

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ И ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ / PHYSICO-CHEMICAL AND GENERAL BIOLOGY

Оригинальная статья / Original article

УДК 663.252.2

DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-3-46-53

НОВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ ФЕРМЕНТНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ВИНОДЕЛИЯ

© М.А. Джакашева*, Б.Ш. Кедельбаев*, П. Либерцайт**

*Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова,
Республика Казахстан, 160000, г. Шымкент, пр. Тауке-хана, 5.

**Университет Вены,
Австрия, г. Вена, 1010, Университатринг, 1.

*Проведено исследование воздействия нового отечественного ферментного препарата Пектинол F-RKM 0719, применяемого при изготовлении красных столовых вин в процессе мацерации. Исследуемый ферментный препарат Пектинол F-RKM 0719 был ранее выделен из культуральной жидкости штамма *Aspergillus awamori* F-RKM 0719, полученного в результате многоступенчатой селекции и мутагенеза на кафедре биотехнологии Южно-Казахстанского государственного университета им. М. Ауэзова. В результате разработки комбинированного способа очистки и выделения пектолитического ферментного препарата получен препарат с более высокой полигалактуроназной активностью при достаточно высоком выходе целевого продукта. Способ основан на последовательном удалении из ферментных растворов отдельных групп неактивных примесей с помощью применения активированного угля и анионообменной смолы. Использование гидроксипатита позволяет достичь активации пектиназ за счет удаления низкомолекулярных белков. Отсутствие пектиновых веществ и углеводов делает возможным его использование в виноделии для осветления лучших сортов вин и удаления винного камня, в состав которого входят пектиновые вещества виноградного сока. Использование нового ферментного препарата в процессе мацерации способствует повышению выхода сусла из виноградной мезги, облеечению прессования мезги и осветлению виноматериалов за счет снижения показателей вязкости и взвесей сусла, а также увеличению экстракции фенольных и красящих веществ. Показана эффективность применения ферментативного катализа в производстве красных столовых вин. Ключевые слова: ферментный препарат, пектолитический ферментный препарат, выделение, очистка, виноделие, мацерация.*

Формат цитирования: Джакашева М.А., Кедельбаев Б.Ш., Либерцайт П. Новый отечественный ферментный препарат для виноделия // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7, N 3. С. 46–53. DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-2-46-53

NOVEL ENZYME PREPARATION FOR WINEMAKING

© М.А. DZHAKASHEVA*, B.SH. KEDELBAEV*, P. LIBERZEIT**

*M. Auezov South-Kazakhstan state university,
56 Taukekhan Ave., Shymkent, 160000, Republic of Kazakhstan

**University of Vienna,
1, Univeristatsring, 1010, Vienna, Austria

*A study into the effect of a new enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, used in the production of red table wines during maceration, was carried out. The investigated enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719 was previously isolated from the culture liquid of the *Aspergillus awamori* F-RKM 0719 strain, obtained through multistage selection and mutagenesis at the Department of Biotechnology of the South Kazakhstan State University named after M. Auezov. As a result of the development of a combined method of purification and isolation of a pectolytic enzyme preparation, a preparation with a higher polygalacturonase activity was obtained having a sufficiently high yield of the desired product. The method is based on the sequential removal of individual groups of inactive impurities from the enzyme solutions using activated carbon and anion exchange resin. The use of hydroxyapatite allows the activation of pectinases to be achieved by remov-*

ing low molecular proteins. The absence of pectin substances and carbohydrates makes it possible to use it in winemaking to clarify the best varieties of wine and remove the wine stone, which consists of the pectic substances of grape juice. The use of a new enzyme preparation in the process of maceration contributes to increasing the yield of mash from grape pulp, facilitating the pulp pressing and clarification of wine materials by reducing the viscosities and suspensions of the mash, as well as increasing the extraction of phenolic and colouring substances. The efficiency of enzymatic catalysis in the production of red table wines is demonstrated.

Keywords: enzymatic preparations, pectolytic enzymatic preparations, extraction, purification, maceration

For citation: Dzhakasheva M.A., Kedelbaev B.SH., Liberzeit P. Novel enzyme preparation for winemaking. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimia I Biotekhnologiya*. Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2017, vol. 7, no. 3, pp. 46–53. (in Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-2-46-53

ВВЕДЕНИЕ

Южный Казахстан является крупнейшим аграрным регионом, в котором создается новая отрасль - современное виноделие высокого качества. Успешному решению задач интенсификации технологических процессов производства вина, повышения качества и конкурентоспособности готовой продукции способствует ферментативная обработка сырья, предшествующая процессам прессования и фильтрации [1].

Ферментативная обработка сырья на различных этапах получения сусла увеличивает способность мезги к прессованию, повышает скорость фильтрования, сохраняет цвет, способствует извлечению аромата, снижению горечи, увеличивает концентрацию в соке антоцианов и влияет на его антиоксидантный потенциал [2–4].

Для технических целей возможно использовать «сырой» фермент, тогда как применение фермента в пищевой промышленности требует обязательной стадии очистки [5]. Известно, что затруднения, возникающие при получении высокоочищенных пектолитических ферментных препаратов (ПФП), определяются тем, что в большинстве своем пектиназы являются гликопротеинами, в которых олигосахаридные остатки соединены с белковой молекулой ковалентными связями. В результате ионных и гидрофобных взаимодействий между ферментом и субстратом возможно также образование в культуральных жидкостях (КЖ) фермент-субстратных комплексов, которые проявляют свойства индивидуальных соединений. Фермент-субстратные комплексы могут разрушаться при изменении кислотности среды и ионной силы раствора в результате термической диссоциации или за счет вытеснения остатков субстрата при образовании более прочных ионных пар молекул фермента с другими соединениями [6].

Наличие в ферментном препарате (ФП) примесей углеводов и пектиновых веществ может существенным образом исказить ре-

зультаты анализа состава продуктов ферментализации пектиновых полисахаридов и затруднить выделение физиологически активных фрагментов [7]. Поэтому разработка способов получения высокоочищенных и высокоактивных пектолитических ферментов является весьма актуальной.

Цель исследования – получение высокоактивного ПФП, применяемого для повышения качества красного столового вина.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Культура мицелиального гриба *A. awamori F-RKM 0719* получена в результате многоступенчатой селекции на кафедре «Биотехнология» ЮКГУ им. М. Ауэзова [8], которая депонирована в Республиканском государственном предприятии на праве хозяйственного ведения «Республиканская коллекция микроорганизмов» комитета науки министерства образования и науки Республики Казахстан.

Активность пектолитического комплекса ферментов определяли по методике действующего ГОСТ 20264.3-81. Определение удельной активности ферментов рассчитывали как отношение активности раствора (ед/мл) к общему содержанию белка (мг/мл). За единицу пектолитической активности принимали количество фермента, которое катализирует гидролиз 1 г пектина до продуктов, не осаждаемых серноокислым цинком при проведении гидролиза в строго определенных условиях: $t - 30^{\circ} \text{C}$, $\tau = 1 \text{ ч}$, $\text{pH} - 4$; соотношение фермент-субстрат в реакционной среде, обеспечивающее гидролиз 30%-го пектина, взятого на реакцию. Содержание белка определяли по методу Лоури [9].

Активированные угли для очистки КЖ предварительно размалывали и фракционировали путем просеивания на ситах до получения гранул от 100 до 280 мкм. К КЖ объемом 1000 мл при 4°C добавляли микропористые угли, смесь тщательно перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 мин, после чего сорбент отделяли фильтрованием под

вакуумом водокольцевого вакуумного насоса «Dolphin LC 0030 A» («Busch», Германия). В фильтрате проверяли содержание белка и пектиназную активность. Оценку содержания пектиновых веществ в КЖ осуществляли по цветности растворов путем измерения оптической плотности на фотоколориметре КФК-2 при длине волны 315 нм. Степень очистки по цветности оценивали как отношение разности между исходной и конечной активностью пектиназы к исходной ее величине и выражали в процентах. Обработку фильтрата КЖ осуществляли сильноосновной анионообменной смолой А-500Р, используя дозировку 80 г/л с последующим перемешиванием суспензии в течение 30 мин при pH 4 и температуре 4°C, после чего адсорбент отделяли фильтрованием под вакуумом водокольцевого вакуумного насоса «Dolphin LC 0030 A» («Busch», Германия). Кислотность раствора регулировали добавлением в среду 0,1М гидроксида натрия. Для активации ПФ использовали наноразмерный Si-гидроксипатит, который был синтезирован методом осаждения из растворов, описанным в работе [10]. В качестве реагентов были использованы насыщенный раствор гидроксида кальция, раствор ортофосфорной кислоты. В качестве реагента - «поставщика» аниона SiO_4^{4-} использовали тетраэтоксисилан.

Наноразмерный Si-гидроксипатит вводили в частично очищенный ферментный раствор в концентрации 30 г/л в течение 30 мин при 4°C и при pH = 6. Десорбцию ферментов проводили с помощью обработки геля 0,3 М фосфатным буфером при pH 7,0. Затем ферментный раствор стабилизировали подкислением 0,1 М уксусной кислотой до pH 4,0. Для обессоливания стабилизированного ферментного раствора проводили диафильтрацию на полуволоконном мембранном модуле УФ-8-50-ПС («Фазеркрафт», Россия) с пределом пропускания 30 кДа при непрерывном добавлении ацетатного буфера с pH 4,0 для сохранения постоянного объема ферментного раствора. Далее раствор концентрировали с помощью ультрафильтрации до 100 мл на том же мембранном модуле с пределом пропускания 30 кДа при стабилизированном давлении 0,1 МПа. Сухой ПФП получали с помощью лиофилизации очищенного раствора на лиофильной сушилке марки LGJ-1A-80, который проходил в три этапа: замораживание раствора до -40 °С, возгонка воды и подсушивание образца.

Опыты проводились на виноматериалах, произведенных в сезон 2015 г. из винограда сорта Каберне Совиньон, выращенного в условиях крестьянского хозяйства «Надежда» Южно-Казахстанской области в цехе микровино-

делия, имевшем 20% сахаров и приблизительно одинаковое содержание красящих и фенольных веществ (ФВ). Исследуемый виноград отделяли от гребней и осуществляли дробление. Полученную мезгу сульфитировали из расчета 70 мг/л и подвергали ферментации в течение 12 ч с использованием ПФ Пектинол F-RKM 0719 в концентрациях 1–7 г/100 кг мезги. По окончании ферментации реакцию останавливали разведением пробы 0,1 М ацетатным буферным раствором (pH 5). Полученное сусло сбрасывали при 23–25 °С в течение 5–8 сут. После отделения самотечных и прессовых фракций сусла от мезги, все фракции сусла направляли на дображивание до содержания в нем сахаров не более 0,5 г/л. После полного прекращения брожения виноматериал снимали с дрожжей. Образцы готовых виноматериалов подвергали физико-химическому анализу.

Определение массовой доли взвесей в сусле осуществляли гравиметрически, относительной вязкости – с помощью вискозиметра через определение времени истечения, массовую концентрацию суммы фенольных веществ (ФВ) - по методу Фолина-Чекольтеу и антоцианов - колориметрическим методом. Для получения значения показателя интенсивности (I) и оттенка (T) виноматериала измерения выполняли в кварцевых кюветах с расстоянием между рабочими гранями 10 мм. Контролем служила дистиллированная вода. Показатель интенсивности (I) определяли как сумму значений оптических плотностей при длинах волн 420 нм, 520 нм: ($I_{520} = A_{420} + A_{520}$). Показатель оттенка (T) рассчитывали как частное от деления A_{420} и A_{520} : ($T = A_{420}/A_{520}$).

Все опыты были выполнены в трехкратной повторности. Оценку статистической достоверности результатов осуществляли с использованием прикладных программ «MathCAD» и «Statistica».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для удаления из КЖ штамма *A. awamori* F-RKM 0719 низкомолекулярных примесей, таких как пектиновые вещества, использовали активированный микропористый уголь марки КАД-Г в различных концентрациях (табл.1).

Из полученных данных видно, что в диапазоне pH среды 3,0–3,5 с дозировкой 10 г/л достигается наибольшая эффективность очистки ферментных растворов. Из данных табл. 1 видно, что при оптимальном значении pH среды влияние дозировки сорбента в КЖ на эффективность очистки является прямопропорциональной.

Для удаления ионогенных примесей из ферментных растворов и фракционирования

белков фильтрат КЖ обрабатывали сильно-основными анионообменными смолами Amberlite CG-400 (США) и А-500Р (Великобритания),

которые могут быть использованы совместно с традиционными угольными адсорбентами.

Таблица 1
Влияние условий обработки культуральной жидкости активированным углем

Table 1

Influence of active carbon treatment of culture fluid

| Марка угля | Условия обработки | Значение | Удельная активность, ед/мг белка | Степень очистки по цветности, % | Потери активности ПкС, % |
|------------|---------------------------|----------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| КАД-Г | рН культуральной жидкости | 3,0 | 90,1 | 75 | 0,3 |
| | | 3,5 | 94,0 | 75 | 0,8 |
| | | 4,0 | 90,8 | 73 | 1,5 |
| | | 4,5 | 88,0 | 70 | 1,8 |
| | | 5,0 | 85,3 | 60 | 3,0 |
| | | 5,5 | 81,0 | 50 | 5,6 |
| | Дозировка сорбента, г/л | 5 | 83,0 | 54 | 2 |
| | | 10 | 97,5 | 63 | 4,8 |
| | | 15 | 91,4 | 70 | 18 |
| | | 20 | 95,0 | 77 | 25 |

Таблица 2
Влияние рН среды при обработке ферментного раствора сильными анионитами

Table 2

Influence of pH under ferment solution treatment by strong anionite

| рН среды ферментного раствора | Анионит Amberlite CG-400 | | Анионит А-500Р | |
|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| | Степень очистки по цветности, % | Потери активности ПкС, % | Степень очистки по цветности, % | Потери активности ПкС, % |
| 4 | 67 | 14,4 | 74 | 9,0 |
| 5 | 70 | 21,0 | 76 | 10,0 |
| 6 | 77 | 38,5 | 80 | 11,4 |
| 7 | 82 | 67,0 | 91 | 58,0 |

Таблица 3
Влияние рН среды на эффективность адсорбции пектиназ наноразмерным Si- гидроксипатитом

Table 3

Influence of pH on efficiency of pectinases adsorption on nano-Si- hydroxylapatite

| рН среды ферментного раствора | ПкС, % | ПгС, % | Степень очистки по цветности, % | Удельная активность, ед/мг белка |
|-------------------------------|--------|--------|---------------------------------|----------------------------------|
| 3 | 76 | 45 | 72 | 135,7 |
| 4 | 82 | 51 | 74 | 170,0 |
| 5 | 89 | 56 | 83 | 322,0 |
| 6 | 95 | 69 | 92 | 336,3 |
| 7 | 80 | 49 | 97 | 328,4 |

В табл. 2 показано влияние рН среды при обработке ферментного раствора сильными анионитами.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при увеличении рН среды происходит повышение степени очистки по цветности и потери общей пектолитической активности. Но при высокой степени очистки ионитами происходят большие потери ферментного раствора. Наилучшая степень очистки ферментных растворов наблюдается при использовании анионообменной смолы А-500Р при рН 4.

Для комплексного выделения ПФ из частично очищенного раствора использовали наноразмерный Si- гидроксипатит концентрации 30 г/л в течение 30 мин при 4 °С и разных значениях рН раствора (табл. 3).

Как видно из данных табл. 3, наиболее оптимальным значением рН раствора, при котором осуществляется наибольшая удельная активность (336,3 ед/мг белка), является значение, равное 6. Это объясняется тем, что при значениях рН 6, пектиназы заряжаются отрицательно, а ионы кальция – положительно, и за счет взаимодействия заряженных функциональных групп осуществляется сорбция ферментного раствора.

Для обессоливания стабилизированного ферментного раствора и его концентрирования провели диафильтрацию и ультрафильтрацию. Полученный концентрат был лиофильно высушен.

Таким образом, с помощью методов сорбции и ионного обмена выделен и получен новый отечественный ФП Пектинол F-RKM, удельная активность которого составила 385,0

ед/мг белка, пектиназная активность – 10,8 ед/мл и полигалактуроназная активность – 6,8 ед/мл. Разработанный способ очистки учитывает отрицательное влияние ионной силы раствора на эффективность сорбционных и ионных процессов за счет максимальной рН стабильности ПФ, так как наиболее длительные стадии обработки проводятся при значениях рН среды не выше 4.

Целью дальнейшей работы является исследование эффективности действия ФП Пектинол F-RKM 0719 при получении высококачественных столовых красных вин. Эффективность действия нового ФП Пектинол F-RKM 0719 в различных концентрациях на основные показатели виноматериалов (выход самотечных и прессовых фракций сусла, вязкость сусла и содержание в нем взвесей, концентрация ФВ) (табл. 4). Контролем служили виноматериалы без ферментативной обработки.

На основании полученных данных для производства высококачественных красных столовых вин можно рекомендовать ФП Пектинол F-RKM 0719 в дозировке 5 г/100 кг мезги.

Однако, для достоверности полученных результатов, необходимо провести дегустационную оценку. В табл. 5 представлена органолептическая оценка красного столового вина, приготовленного с использованием ПФП в зависимости от его концентрации.

В результате дегустационной оценки установлено, что ферментативная обработка мезги позволяет получить высококачественные прозрачные вина с более насыщенным цветом и вкусом..

Таблица 4

Влияние ФП Пектинол F-RKM 0719 на основные физико-химические показатели виноматериалов

Table 4

Influence of Pectinol F-RKM 0719 on physical and chemical properties of vine material

| Показатели | Контроль | Дозировка ФП, г/100 кг мезги | | | | | |
|--|-----------|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 7 |
| Общий выход сусла и выход сусла-самотека, мл | 560 (410) | 660 (407) | 675 (430) | 685 (440) | 698 (447) | 712 (473) | 712 (474) |
| Взвеси, г/100 мл | 3,2 | 3,0 | 2,9 | 2,7 | 2,5 | 2,4 | 2,4 |
| Относительная вязкость | 1,61 | 1,57 | 1,50 | 1,43 | 1,38 | 1,34 | 1,34 |
| ФВ, мг/л | 1830 | 1860 | 1940 | 2120 | 2258 | 2380 | 2388 |
| Антоцианы, мг/л | 520 | 526 | 536 | 559 | 637 | 692 | 690 |
| Интенсивность окраски | 1,19 | 1,20 | 1,22 | 1,29 | 1,32 | 1,35 | 1,34 |
| Оттенок окраски | 1,09 | 1,06 | 1,02 | 0,95 | 0,84 | 0,80 | 0,81 |

Таблица 5

Органолептическая оценка красного столового вина, приготовленного в различных концентрациях ФП Пектинол F-RKM 0719

Table 5

Organoleptic assessment of red table wine made using different concentrations of Pectinol F-RKM 0719

| Дозировка ФП, г/100 кг мезги | Органолептическая характеристика | Дегустационная оценка, балл |
|------------------------------|---|-----------------------------|
| Контроль | Опалесцирующая жидкость красного цвета, аромат хорошо развитый винный, вкус гармоничный | 7,4 |
| 4 | Прозрачная жидкость рубинового цвета, тонкий, хорошо развитый аромат, вкус гармоничный, полный | 7,8 |
| 5 | Прозрачная жидкость рубинового цвета, хорошо развитый аромат, вкус полный, бархатистый, гармоничный | 8,0 |
| 7 | Прозрачная жидкость с кирпичными тонами, хорошо развитый, грубоватый аромат, вкус гармоничный | 7,8 |

Наилучшая дегустационная оценка получена в виноматериалах, приготовленных с обработкой ФП в концентрации 5 г/100 кг мезги. Дальнейшее увеличение дозы ФП приводит к излишнему насыщению ФВ, что придает вину грубость во вкусе

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью адсорбционной очистки микропористым углем КАД-Г и ионообменной очистки с использованием анионообменной смолы А-500Р из культуральной жидкости штамма *A. awamori F-RKM 0719* выделены ферментные растворы пектиназ с минимальным снижением общей активности. Активационный эффект ферментных растворов достигнут с применением наноразмерного Si- гидроксипатита, который при взаимодействии с молекулами ферментов вытесняет остатки субстрата из аллостерических и эффекторных

центров. Применение методов ультрафильтрации и диафильтрации показало высокую эффективность удаления низкомолекулярных примесей и обессоливания растворов от достаточно высоких концентраций буфера, полученных в результате адсорбционной и ионообменной очистки. Реализация разработанного способа получения ПФП Пектинол F-RKM 0719 позволяет существенно увеличить общий выход активности ферментов по удельной активности более чем в 6 раз.

В результате обработки мезги новым ФП Пектинол F-RKM 0719 удалось увеличить выход суслу и уменьшить показатели относительной вязкости и содержания взвесей. Кроме того, значительно улучшены физико-химические и органолептические показатели, свидетельствующие о высокой гидролитической активности разработанного ФП.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ajayi A.A., Osunlalu E.O., Peter-Albert C.F., Adejuwon A. O. Studies on pectinolytic and proteolytic enzymes from deteriorated grapes (*Vitis vinifera*) // *Covenant Journal of Physical and Life Sciences*. 2014. V. 1, N 2. P. 1–15.
2. Агеева Н.М., Маркосов В.А. Влияния ферментных препаратов на состав ароматообразующих компонентов в красных столовых винах // *Виноделие и виноградарство*. 2013. N 3. С. 19–22.
3. Romero-Cascales I., Ros-García J.M., López-Roca J.M., Gómez-Plaza E. The effect of a commercial pectolytic enzyme on grape skin cell wall degradation and color evolution during the maceration process // *Food Chemistry*. 2012. V. 130. P. 626–631.
4. Мехузла Н.Н., Щербakov С.С., Семенов

ва М.В., Синицын А.П. Ферментные препараты отечественного производства для получения природно-полусладких вин // *Виноделие и виноградарство*. 2010. N 4. С.10-11.

5. Prasanna B.D., Sathyanarayana N. Gummati, Praveen V. Vadlani. *Biotechnology and Biochemical Engineering. Select Proceeding of ICACE 2015*. Springer, 2016. 239 p.

6. Донцов А.Г., Шубаков А.А. Пектинолитические ферменты: очистка, активация, микробиологический синтез. Екатеринбург: УрО РАН, 2010. С. 82–90.

7. Донцов А.Г., Шубаков А.А. Активация полигалактуроназ в процессе очистки: эффект использования кальцийсодержащих носителей // *Естеств. и техн. науки*. 2009. N 6. С. 196–198.

8. Dzhakasheva M.A., Kedelbayev B.Sh.

Getting the active strain of *Aspergillus awamori* – pectinase producer // *International journal of applied and fundamental research*. 2014. V. 11, N 4. P. 593–597.

9. Lowry O.H., Roserbrough N.J., Fan A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. V. 193. P. 265–275.

REFERENCES

1. Ajayi A.A., Osunlalu E.O., Peter-Albert C.F., Adejuwon A.O. Studies on pectinolytic and proteolytic enzymes from deteriorated grapes (*Vitis vinifera*). *Covenant Journal of Physical and Life Sciences*. 2014, vol. 1, no. 2, pp. 1–15.

2. Ageeva N.M., Markosov V.A. Influence of Drugs on the Composition of Aromaforming Components in the Red Table Wines. *Vinodeliye i vinogradarstvo* [Winemaking and viticulture]. 2013, vol. 3, pp. 19–22. (in Russian)

3. Romero-Cascales I., Ros-García J.M., López-Roca J.M., Gómez-Plaza E. The effect of a commercial pectolytic enzyme on grape skin cell wall degradation and color evolution during the maceration process. *Food Chemistry*. 2012, vol. 130, pp. 626–631.

4. Mekhuzla N.N., Shcherbakov S.S., Semenova M.V., Sinitsyn A.P. Enzyme preparations for domestic production of natural semi-sweet wines. *Vinodeliye i vinogradarstvo* [Winemaking and viticulture]. 2010, vol. 4, pp. 10–11. (In Russian)

5. Prasanna B.D., Sathyanarayana N. Gummati, Praveen V. Vadlani. *Biotechnology and Biochemical Engineering*. Select Proceeding of ICACE 2015. Springer, 2016, 239 p.

6. Dontsov A.G., Shubakov A.A. *Pektinoliticheskie fermenty: ochistka, aktivatsiya, mikrobiologicheskii sintez* [Pectolytic Enzymes: Purification, Activation, Microbiological Synthesis]. Yekaterinburg. Ural Branch of Russian Academy of Science Publ., 2010, pp. 82–90.

7. Dontsov A.G., Shubakov A.A. Activation of polygalacturonases in the purification process: the effect of using calcium-containing carriers. *Estestvennye i tekhnicheskie nauki* [Natural and technical sciences]. 2009, vol. 6, pp. 196–198. (in Russian)

8. Dzhakasheva M.A., Kedelbayev B.Sh. Getting the active strain of *Aspergillus awamori* – pectinase producer. *International journal of applied and fundamental research*. 2014, vol. 11, no. 4, pp. 593–597.

9. Lowry O.H., Roserbrough N.J., Fan A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951, vol. 193, pp. 265–275.

10. Le Van Tkuan, Doan Van Dat, Temirkhanova G.E. Sintez i issledovanie morfologii kremnii- ameshchennogo nanorazmernogo gidroksiapatita [Synthesis and study of the morphology of silicon-substituted nanosized hydroxyapatite]. *Sbornik dokladov IV Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Nauchnaya initsiativa inostrannykh studentov i aspirantov Rossiiskikh vuzov»* [Proc. IV Int. Sci.-Pract. Conf. «Scientific Initiative of International Students and Post-Graduate Students of Russian Universities»]. Tomsk, 2011, pp. 346–349. (in Russian)

10. Le Van Tkuan, Doan Van Dat, Temirkhanova G.E. Sintez i issledovanie morfologii kremnii- ameshchennogo nanorazmernogo gidroksiapatita [Synthesis and study of the morphology of silicon-substituted nanosized hydroxyapatite]. *Sbornik dokladov IV Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Nauchnaya initsiativa inostrannykh studentov i aspirantov Rossiiskikh vuzov»* [Proc. IV Int. Sci.-Pract. Conf. «Scientific Initiative of International Students and Post-Graduate Students of Russian Universities»]. Tomsk, 2011, pp. 346–349. (in Russian)

Критерии авторства

Джакашева М.А., Кедельбаев Б.Ш., Либерцайт П. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Джакашева М.А., Кедельбаев Б.Ш., Либерцайт П. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

Dzhakasheva M.A., Kedelbaev B.Sh., Lieberzeit P. carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Dzhakasheva M.A., Kedelbaev B.Sh., Lieberzeit P. have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Принадлежность к организации

Мадина А. Джакашева

Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова,
Докторант кафедры «Биотехнология»
Dzhakasheva_m@mail.ru

Бахытжан Ш. Кедельбаев

Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова,
Д.т.н., профессор кафедры «Биотехнология»
kedelbaev@yandex.ru

Питер Либерцайт

Университет Вены,
Доктор естественных наук, профессор,
зав. кафедрой «Физическая химия»
Peter.Lieberzeit@univie.ac.at

Поступила 24.03.2017

AUTORS' INDEX
Affiliation

Madina A. Dzhakasheva

M. Auezov South-Kazakhstan State University,
Doctoral Candidate
Biotechnology Department
email: Dzhakasheva_m@mail.ru

Bakhydzhan Sh. Kedelbaev

M. Auezov South-Kazakhstan State University,
Doctor of Engineering, Professor
Biotechnology Department
email: kedelbaev@yandex.ru

Peter Lieberzeit

University of Vienna
Doctor of Natural Sciences, Professor,
Head of the Department «Physical Chemistry»
e-mail: Peter.Lieberzeit@univie.ac.at

Received 24.03.2017