

УДК 663.252.41; 663.2

ПРИРОДНЫЕ ДРОЖЖИ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ РЕСУРС ДЛЯ ТРАДИЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

© 2009 Д.А. Абдуллабекова, Е.С. Магомедова

Прикаспийский институт биологических ресурсов
Дагестанского научного центра РАН

Поступила в редакцию 18.11.2009

Изучены функциональные свойства дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, изолированных из биоценоза виноградника. Показана встречаемость штаммов, физиолого-биохимический статус которых обуславливает их перспективность при производстве специальных вин из высокосахаристого винограда.

Ключевые слова: *дрожжи, виноград, адаптация, среда культивирования, метаболизм*

Традиционным остается интерес исследователей к изучению дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, свойства которых во многом определяют эффективность процессов, в которых они участвуют. Специфической отраслью производства, где к дрожжам предъявляется комплекс требований, является виноделие. Дифференцированный подбор чистых культур во многом обеспечивает оптимальное проведение брожения и, в конечном итоге, оказывает существенное влияние на вкус и аромат напитков. Выделение дрожжей-сахаромицетов из естественных местообитаний с целью отбора ценных для практического виноделия форм, улучшение и создание на их основе промышленных штаммов являются важной задачей. Известная приуроченность сахаромицетов к виноградному растению, способному произрастать в многообразном диапазоне природных условий, позволяет вести их изучение в экобиотехнологическом аспекте. Такой подход вносит определенный вклад в теорию познания адаптивных механизмов эукариотов, расширяет сведения по экологической стратегии, позволяет понять механизмы формирования биопотенциала, а также решать задачи прикладного характера – проводить селекцию и отбор перспективных штаммов.

Цель работы: исследование потенциала дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, выделенных из биоценоза виноградников, расположенных в самом оригинальном по теплообеспеченности микрорайоне Дагестана, почвенно-климатические условия которого, сформированные под

влиянием песчаного массива Сарыкум, сложенного из кварцевого песка, позволяют накапливать винограду высокое количество сахаров, отмечаемое в различные годы на уровне 26,1-30,6 г/100 см³ [1, 2].

Дрожжи выделяли по методикам, принятым в микробиологии и идентифицировали по морфологическим, культуральным и физиолого-биохимическим признакам, руководствуясь определителями и пособиями [3-5]. Определение углеводов, этанола, летучих кислот проводили в соответствии с ГОСТами [6]. Летучие соединения определяли на газовом хроматографе «Кристалл-200М» (Россия) с пламенно-ионизационным детектором на капиллярной колонке HP-FFAP (50 м x 0,32 мм) с 10%-ным диэтиленгликольсукцинатом (США), газ-носитель – азот (1,8-2,7 дм³/ч).

Известно, что углеводный метаболизм, являющийся одним из центральных путей обмена дрожжей-сахаромицетов, зависит от многих факторов – индивидуальных особенностей штаммов, состава среды, условий культивирования. Интенсивность и направленность биохимических процессов, количественное и качественное соотношение продуктов обмена отражает потенциальные возможности клетки как ресурса биотехнологии. Накопление углеводов в виноградной ягоде, направляемой на переработку, в практике виноделия может колебаться в широком интервале 14,0-32,0 г/100 см³. Возрастание их концентрации более 20,0-22,0 г/100 см³ способно оказать ингибирующее действие на жизнедеятельность клетки.

В качестве основного критерия оценки биопотенциала дрожжей была принята их способность к сбраживанию высокосахаристых сред. Первоначальный отбор штаммов проводили на основе исследования их способности к наиболее полному усвоению углеводов

Абдуллабекова Динаханум Абиляевна, кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник. E-mail: dina2407@mail.ru

Магомедова Елена Селимовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник. E-mail: milena2760@rambler.ru

виноградного сусла сахаристостью 22,0-31,6 г/100 см³. Согласно полученным результатам 35 исследованных изолятов полностью сбраживали сахара в количествах 22,0 и 24,0 г/100 см³. Быстрое сбраживание и глубокая утилизация 28,0% и 31,6% углеводов была отмечена у 30 и 13 штаммов, соответственно. По ряду элементов технологического порядка с учетом сенсорной оценки сброженных образцов были определены потенциально-перспективные штаммы, исследования которых проводили в соответствии с требованиями, предъявляемым к чистым культурам дрожжей. Одним из важнейших критериев, по которому они оцениваются, является бродильная способность, т.е. скорость и полнота сбраживания сахаров в виноградном сусле сахаристостью 18,0-20,0 г/100 см³, о которой судят по количеству диоксида углерода, выделяемого при брожении в анаэробных условиях [2].

Дрожжи, изолированные из природы, обычно не обладают высокой бродильной активностью, поэтому часто проводится направленная селекция с целью её повышения за счёт снижения аэробного дыхания. Изучение бродильной способности у выделенных дрожжей при культивировании на низкосахаристом сусле показало их высокую биохимическую активность. Согласно полученным данным, динамика разложения углеводов, исследованная на 5 штаммах, носила одинаковый характер. Во всех вариантах брожение наблюдалось на вторые сутки после инокуляции разводки в количестве 3 млн/см³, высокая бродильная активность, отмечаемая в течение 72 часов, сменялась медленным дображиванием. Количество сахаров, ассимилированных в период активного брожения, составляло 61-68% от исходного. Штаммы отличались индивидуальностью по скорости и полноте сбраживания сахаров. Брожение завершалось на 15-18 сутки, количество остаточных сахаров по вариантам колебалось в пределах 0,2-0,3 г/100 см³.

Бродильную способность у этих культур исследовали также при сбраживании сусла с высокой концентрацией сахаров, создающих высокое осмотическое давление, угнетающее брожение. Дополнительным ингибитором процесса является продуцируемый спирт. Изучение проводили по методике, принятой в микробиологии виноделия, но в качестве среды культивирования использовали сусло с повышенной сахаристостью – 27,7 г/100 см³ [2]. Для увеличения концентрации углеводов низкосахаристое виноградное сусло, используемое в предыдущих опытах, обогащали глюкозой. Согласно полученным данным, брожение в этом эксперименте на всех штаммах также отмечалось на вторые сутки, однако в этом случае

из среды в течение 72 часов было утилизировано в 1,5-1,9 раз меньше сахаров, чем из низкосахаристого сусла. Далее разница в количестве сброженных сахаров в обеих средах была не столь значительной, а на 15-18 сутки их уровень практически совпадал. Для штаммов при культивировании на высокосахаристом сусле был характерен длительный период дображивания. Так, из всего количества ассимилированных сахаров 76,5-82,5% было сброжено за 9, а остальные за 30 суток. Концентрация остаточных сахаров по вариантам колебалась в пределах 3,9-5,4 г/100 см³.

Результаты дрожжей выявили встречаемость в природе форм с достаточно высокой бродильной активностью, о чём свидетельствуют скорость, характер, период и полнота сбраживания углеводов на низкосахаристом виноградном сусле. Биохимическая активность штаммов при культивировании на средах с повышенной концентрацией углеводов закономерно снижалась, однако их метаболический статус в условиях, ингибирующе действующих на жизнедеятельность, оставался на достаточно высоком уровне. Способность к быстрому забраживанию, время, в течение которого ассимилируется значительная доля углеводов и количество сброженных сахаров, возможно, обусловлено быстрой адаптацией дрожжей к осмотическому давлению и спирту в культивируемой среде – факторам, угнетающим брожение. Способность дрожжей к продуцированию спирта – основного продукта их углеводного обмена, является важным свойством, по которому ведётся отбор культур, так как они способны завершить брожение с различным накоплением этанола.

Спиртообразующую способность проверяли у 10 штаммов, при культивировании на сусле с сахаристостью 27,7 г/100 см³ в условиях свободного доступа кислорода. Согласно полученным данным, количество этанола, синтезируемого культурами, варьировало в пределах 13,4-15,3% об. По-видимому, преимущество в процессе образования спирта у дрожжей связано с более энергичным фосфорилированием углеводов и более полным превращением побочных продуктов брожения в этанол и диоксид углерода. Вопрос о разной величине выхода этанола имеет большое значение при производстве специальных вин с незаконченным процессом брожения, что связано с его расходом на доспиртовывание. Штаммы, выделенные из природы, продуцировали 0,5405-0,5950 мл. спирта из 1 грамма сахаров с учётом их несброженного количества. Наряду с синтезом этанола в процессе брожения образуются комплекс летучих соединений, относящихся к альдегидам, кетонам, сложным эфирам, высшим

спиртам, кислотам, играющим важную роль, как в обмене веществ дрожжевой клетки, так и в создании ароматообразующего комплекса вин. Количественное содержание этих компонентов при метаболизме скрининговых штаммов на высокосахаристых средах находилось в пределах, мг/дм³: ацетальдегид 13,5-24,2; ацетон 0,3-1,2; метилацетат 1,2-2,1; этилацетат 17,2-23,5; высшие спирты 202,4-236,9; летучие кислоты 0,3-0,9 г/дм³, что сравнимо с уровнем их накопления при жизнедеятельности дрожжей на виноградном сусле с сахаристостью, не препятствующей их нормальному развитию.

Известно, что температура окружающей среды – важный природный фактор, способный оказать селекционирующее влияние на популяцию дрожжей, эволюционно сложившихся как мезофилы, большинство из которых способно развиваться при 0-5⁰С, с наибольшей скоростью растёт при 20-30⁰С и имеет максимальную температуру, при которой рост прекращается, между 30-40⁰С. Исследование температурного интервала роста клеток, адаптированных к условиям повышенной теплообеспеченности позволило выявить, что границы их устойчивости к температуре находятся в интервале 3-43⁰С. Кроме того, штаммы тестировали на устойчивость к повышенной температуре 37⁰С, находящейся вне оптимума, отмечаемого как для брожения, так и роста дрожжевых клеток. Исследование показало, что при этой температуре бродильная активность и рост клеток по сравнению с 27⁰С снижались, оставаясь на достаточно высоком уровне. Так, рост клеток через 48 часов при 27⁰С и 37⁰С в наших опытах составил, млн.кл./см³ – 193,7 и 127,3 соответственно, а по литературным данным за такой период при 37⁰С количество клеток было в 5-7 раз меньше, чем при 27⁰С, то есть наблюдалось явное торможение функции размножения при повышенной температуре [7].

Наблюдаемые метаболические особенности культур в зависимости от температурного фактора, возможно, обусловлены их акклиматизацией к условиям повышенной теплообеспеченности среды обитания.

Выводы: при культивировании природных дрожжей-сахаромицетов в условиях, ингибирующих их деятельность как агентов брожения, у отдельных штаммов отмечено активное проявление функциональных свойств, возможно возникшее как результат взаимодействия генотипа с естественной средой обитания. Выделены штаммы, биохимический статус которых позволяет отнести их к перспективным ресурсам для производства специальных вин и направленной селекции. Показано, что поиск дрожжей, способных к оптимизации определенных биотехнологических процессов, целесообразен при их изучении в экобиотехнологическом аспекте.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Крылатов, А.К. Климатические зоны винограда в Дагестане // Виноградарство и виноделие СССР. – 1960. - №2. – С. 38-43.
2. Абрамов, Ш.А. Сарькум – уникальный микрорайон виноделия Дагестана / Ш.А. Абрамов, О.К. Власова, Д.А. Абдуллабекова // Виноград и вино России. – 1998. - №1. – С.11-12.
3. Бурьян, Н.И. Микробиология виноделия. 2-е изд. доп. – Симферополь: «Таврия», 2002. – 403 с.
4. Бабьева, И.П. Методы выделения и идентификации дрожжей / И.П. Бабьева, В.И. Голубев. – М.: Пищевая пром-сть., 1979. – 116 с.
5. Кудрявцев, В.И. Систематика дрожжей. – М.: Изд-во АН СССР, 1954. – 427 с.
6. Государственный контроль качества винодельческой продукции. – М.: Издательство стандартов, 2003. – 872 с.
7. Кишкковская, С.А. Термотолерантные варианты винных дрожжей / С.А. Кишкковская, Н.И. Бурьян // Микробиология. – 1980. – Том XLIX, №1. – С. 156-159.

NATURAL YEAST – THE PERSPECTIVE RESOURCE FOR TRADITIONAL TECHNOLOGIES

© 2009 D.A. Abdullabekova, E.S. Magomedova

Pri-Caspian Institute of Biological Resources of Dagestan Scientific Centre RAS

Functional properties of *Saccharomyces cerevisiae* yeast, isolated from biocenosis of vineyard are studied. Strains occurrence, which physiological-biochemical status causes their perspectivity by effecting special wines from high-sugar grapes is shown.

Key words: yeast, grapes, acclimatization, medium of cultivation, metabolism

Dinahanum Abdullabekova, Candidate of Technical Sciences, Leading Research Fellow. E-mail: dina2407@mail.ru
Elena Magomedova, Candidate of Biology, Leading Research Fellow. E-mail: milena2760@rambler.ru