

УДК 663.252.41; 663.2

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ  
ДРОЖЖЕЙ-САХАРОМИЦЕТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ  
ПРИУРОЧЕННОСТИ К РАСТИТЕЛЬНОМУ СУБСТРАТУ

© 2011 Д.А. Абдуллабекова., Е.С. Магомедова, Г.Г. Магомедов

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН, г. Махачкала

Поступила в редакцию 14.03.2011

Показано, что физиолого-биохимические особенности дрожжей-сахаромицетов, изолированных с различных видов растений – винограда и плодов абрикоса, могут быть обусловлены первичной адаптацией к растению. Отмечена возможность использования штаммов, независимо от их приуроченности к субстрату обитания, для получения качественных спиртосодержащих напитков из этих видов сырья.

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

Современная технология отечественных вин основана на использовании чистых культур дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с известными свойствами, которые способствуют соблюдению режимов производства и обеспечивают качество продукции. Для получения виноградных и плодово-ягодных вин обычно применяются дрожжи, выделенные с одноименных растительных субстратов. Дифференцированный подход к выбору культур обусловлен особенностями обмена клетки, которые, возможно, являются результатом их адаптации к первоначальному источнику обитания в природе. Исследования физиолого-биохимических признаков сахаромицетов в зависимости от приуроченности к виду растения, дополняя сведения о метаболизме эукариотической клетки, способствуют скринингу ценных для производства штаммов. Изучение жизнедеятельности дрожжей в этом аспекте составило **цель наших исследований**.

Известно, что специфической средой обитания дрожжей, применяемых в виноделии, являются виноград и плодово-ягодные растения. В работе использовали штаммы, изолированные с ягод винограда и плодов абрикоса, которые собирали и раздавливали с соблюдением необходимых мер стерильности, предусмотренных в

микробиологии [1, 2]. Спонтанно забродившее сусло рассеивали на агаризованную среду в чашках Петри, которые инкубировали при температуре 18-20<sup>0</sup>С. Выросшие изолированно колонии после предварительного микроскопирования выделяли в культуры и для идентификации вида проводили диагностическое тестирование по культурально-морфологическим признакам, согласно определителям и пособиям [1-4]. Выделенные культуры хранили в холодильнике на скошенной агаризованной среде и пересевали каждые 4-6 месяцев.

О метаболизме дрожжей, культивируемых на абрикосовой и виноградной среде, судили по значению показателей, во многом определяющих эффективность технологического процесса – энергии брожения, количеству образовавшегося этилового спирта, несброженных сахаров, титруемых кислот и компонентов летучего комплекса. В работе использовали двухсуточные дрожжевые разводки, которые вводили из расчёта 3 млн. клеток/см<sup>3</sup>. При определении скорости разложения сахаров опыты ставили в склянках объёмом 100 см<sup>3</sup>, закрытых пробками с отверстием, куда вставлялась трубка с тонко оттянутым концом в несколько сантиметров для выхода углекислоты и предотвращения испарения бродящего сока. По ежедневной убыли в массе, соответствующей количеству выделившегося углекислого газа, судили о скорости сбраживания сахаров. Температура брожения колебалась в пределах 22-25<sup>0</sup>С. Количество этанола, остаточных сахаров, титруемых кислот, средних эфиров в сброженных средах определяли в соответствии с действующими ГОСТами [5]. Комплекс летучих компонентов исследовали на газовом хроматографе

*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*

*Магомедов Гаджи Гасайникадиевич, научный сотрудник*

«Кристалл-200М» с пламенно-ионизационным детектором на капиллярной колонке HP-FFAP (50 м x 0,32 мм) с 10%-ным диэтиленгликоль-сукцинатом, газ-носитель азот (1,8-2,7 дм<sup>3</sup>/ч).

Результаты изучения скорости сбраживания сахаров, являющейся одной из важных характеристик углеводного обмена дрожжей показали, что при культивировании на родственной среде они проявляли большую активность. На рис. 1 и 2 представлена энергия брожения двух штаммов, на примере которых очевидно преимущество каждого на одноименном субстрате. Так, плодovому штамму для утилизации 90% сахаров, содержащихся в абрикосовом соке, потребовалось 7-8 дней, а виноградному – более 25 (рис. 1). При жизнедеятельности этих культур в виноградном сусле более энергичным оказался виноградный штамм (рис. 2). Результаты данного эксперимента свидетельствуют о влиянии адаптированности дрожжей к определенному растительному субстрату на их энергию брожения. При анаэробной диссимиляции углеводов наряду с образованием основных продуктов жизнедеятельности дрожжей – спирта и диоксида углерода, синтезируются вторичные и побочные продукты брожения, обуславливающие букет и вкус вина.

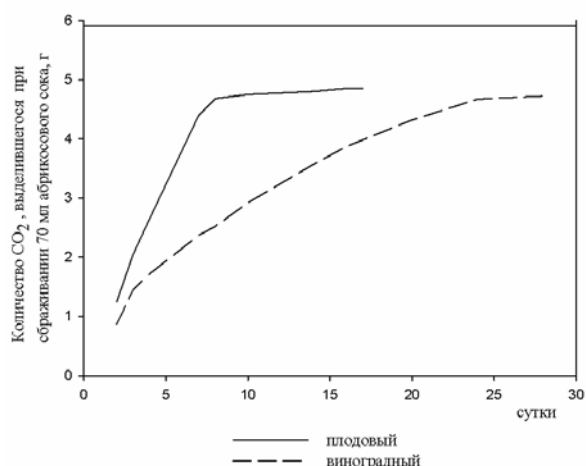


Рис.1. Энергия брожения штаммов на абрикосовом соке

Научный и практический интерес вызвало исследование влияния приуроченности дрожжей к определенному субстрату, на способность к продуцированию этих соединений при их культивировании в средах, полученных из различных видов растительного сырья. В качестве объекта изучения были выбраны штаммы (1-А; 2-А), изолированные с абрикосов, которые инокулировали в абрикосовый (варианты 1, 2) и виноградный (варианты 3, 4) соки, сахаристостью, г/100 см<sup>3</sup> - 13,7; 20,6 и титруемой кислотностью, г/дм<sup>3</sup> - 3,6; 8,0, соответственно. Дрожжи вводили в количестве 3 млн. клеток/см<sup>3</sup>, брожение проводили до его естественной остановки.

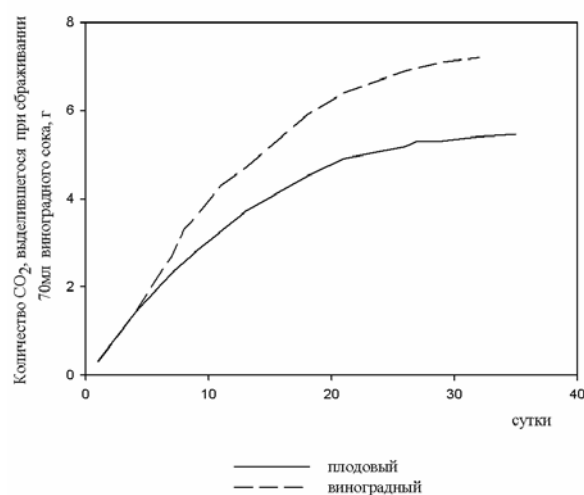


Рис. 2. Энергия брожения штаммов на виноградном соке

Согласно полученным данным, приведенным в таблице, при культивировании плодовых дрожжей на обеих средах состав сброженных субстратов колебался в зависимости от индивидуальных особенностей штамма. Жизнедеятельность плодовых культур в вариантах 1, 2 сопровождалась полным выбраживанием сахаров, в отличие от вариантов 3, 4, где питательной средой служил виноградный сок. В последних отмечали значительно большее количество остаточных сахаров, что может быть связано с тем, что дрожжи при культивировании на виноградном соке отличались меньшей интенсивностью брожения, чем в абрикосовом. Во всех вариантах наблюдали повышение уровня титруемых кислот.

Способность к образованию компонентов летучего комплекса – летучих кислот, ацетальдегида, эфиров, высших спиртов (ВС), количество которых колебалось в пределах – 0,2-1,1 г/дм<sup>3</sup>, 12,9-63,5 мг/дм<sup>3</sup>, 39,4-99,9 мг/дм<sup>3</sup>, 169,2-232,4 мг/дм<sup>3</sup>, соответственно, зависела от особенностей штамма и среды культивирования. При этом жизнедеятельность плодовых культур на виноградном соке сопровождалась меньшим продуцированием ацетальдегида и высших спиртов, в том числе изобутанола, изоамилола и усилением синтеза пропанола-1, бутанола-1, гексанола, фенилалэтанолола, а также летучих кислот. Одинаковая направленность в количественном изменении вышеперечисленных соединений при инокулировании штаммов с различными индивидуальными свойствами в инородную среду, по-видимому, является проявлением метаболических особенностей, характерных для всех дрожжевых клеток, возникающих в результате приуроченности их к определенному растительному субстрату, и не зависит от штаммовой принадлежности. В связи с отмеченными тенденциями, о специфичности метаболизма плодовых дрожжей в этой среде, на

наш взгляд, можно судить, сравнивая данные об уровне образования летучих кислот, ацетальдегида и высших спиртов в виноградном субстрате, сброженном на штаммах, выделенных с винограда и результаты вариантов 3, 4, приведённых в таблице.

**Таблица.** Поведение штаммов в различных субстратах

Показатели	штаммы					
	абрикосовые				виноградные	
	штамм/вариант				вариант	
	1-А/1	2-А/2	1-А/3	2-А/4	5	6
спирт, %об.	8,1	7,8	10,7	11,2	11,5	12,3
остаточные сахара, г/100 см <sup>3</sup>	0,2	0,3	2,5	0,7	0,2	0,3
титруемые кислоты, г/дм <sup>3</sup>	4,3	4,1	8,6	8,5	7,3	9,0
летучие кислоты, г/дм <sup>3</sup>	0,2	0,2	1,1	0,6	0,3	0,5
ацетальдегид, мг/дм <sup>3</sup>	62,0	63,5	12,9	25,4	22,4	45,6
средние эфиры, мг/дм <sup>3</sup>	99,9	54,1	39,4	94,2	54,1	71,5
высшие спирты, мг/дм <sup>3</sup> :						
пропанол-1	10,9	15,2	21,5	22,9	9,7	15,5
изобутанол	31,9	27,3	14,9	19,7	20,1	38,1
бутанол-1	0,6	0,6	4,4	3,9	0,8	2,2
изоамилол	166,3	120,3	137,2	101,2	152,4	172,3
гексанол	0,2	-	0,6	0,7	0,7	1,7
фенилэтанол	22,5	18,7	28,7	20,8	32,3	48,8
Сумма ВС	232,4	182,1	207,3	169,2	211,0	277,9

Для получения сведений о способности дрожжей, изолированных с винограда, к синтезу этих летучих соединений, поставили серию опытов, где использовали виноградный сок из различных микрорайонов с сахаристостью, г/100 см<sup>3</sup> - 20,1; 21,0 и титруемой кислотностью, г/дм<sup>3</sup> - 5,8; 7,7, который сбраживали на трёх природных и двух коллекционных штаммах по методике, изложенной выше. Согласно экспериментальным данным, во всех опытах, независимо от состава питательной среды и свойств штамма, отмечали полное выбраживание сахаров и возрастание количества титруемых кислот, которое как и продуцирование дрожжами этанола и соединений летучего комплекса - летучих кислот, ацетальдегида и высших спиртов варьировало в зависимости от штамма. Минимальная и максимальная концентрация этих компонентов, полученная в наших исследованиях, приведена в таблице - варианты 5 и 6, соответственно.

Сравнение результатов по продуцированию плодовыми и виноградными дрожжами летучих соединений показало, что максимальное количество летучих кислот, бутанола-1 и пропанола-1, было в вариантах 3, 4, а ацетальдегида, гексанола, фенилэтанола приближалось к значениям, характерным для виноградных дрожжей. Образование изоамилола, как известно обладающего неприятным сивушным оттенком и являющегося наиболее токсичным из спиртов, у плодовых штаммов отмечали в меньших количествах, чем у последних. В целом,

биосинтезирующая способность плодовых культур в виноградном сусле сравнима со штаммами, приуроченными к винограду, что, по-видимому, обусловлено влиянием состава этой питательной среды на метаболизм дрожжей-сахаромицетов.

В литературе имеются сведения об эффективном использовании штаммов, изолированных с определённых растительных субстратов, в средах, не характерных для их жизнедеятельности. Так, например, показана способность дрожжей, выделенных с ягод черной смородины, к активному сбраживанию не только чёрно-смородинового, но и яблочного сула. Большинство из них на родственном соке образуют больше углекислого газа, этанола, биомассы, меньше вторичных метаболитов, в том числе ацетальдегида [6]. Известно, что ацетальдегид, являющийся важным продуктом обмена клетки, имеет большое технологическое значение, так как участвуя в синтезе многих соединений, влияет на формирование качества виноматериалов. В связи с этим полученные нами сведения о продуцировании природными дрожжами уксусного альдегида в разных плодово-ягодных соках, могут быть полезны при подборе штаммов. Дегустация опытных виноградных и абрикосовых напитков показала, что независимо от приуроченности использованного штамма к растительному субстрату, их цвет, вкус и аромат соответствовали требованиям, предъявляемым при производстве натуральных спиртосодержащих напитков из этого сырья.

**Выводы:** проявление отдельных физиолого-биохимических признаков природных штаммов, изолированных с винограда и плодов абрикоса, может быть обусловлено их первичной адаптацией к растительным субстратам. Метаболические особенности, отмечаемые при культивировании этих дрожжей на инородных средах, не исключают возможности использования их для приготовления из последних качественных спиртосодержащих напитков. Получение сведений о характере связи между приуроченностью дрожжей-сахаромицетов к субстрату обитания и их жизнедеятельностью на плодово-ягодных соках различного вида, сделает поиск штаммов в интересах биотехнологии более целенаправленным.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Бабьева, И.П.* Методы выделения и идентификации дрожжей / *И.П. Бабьева, В.И. Голубев.* – М.: Пищевая пром-сть, 1979. 116 с.
2. *Бурьян, Н.И.* Микробиология виноделия. 2-е изд. доп. – Симферополь: Таврия, 2002. 403 с.
3. *Кудрявцев, В.И.* Систематика дрожжей – М.: Изд-во АН СССР, 1954. 427 с.
4. *Рибера-Гайон, Ж.* Теория и практика виноделия / *Ж. Рибера-Гайон, Э. Пейно, П. Рибера-Гайон, П. Сюдро.* – М.: Пищевая пром-сть, 1980. Т. 2. 352 с.
5. Государственный контроль качества винодельческой продукции. – М.: Издательство стандартов, 2003. 872 с.
6. *Колесник, И.М.* Новые штаммы для плодово-ягодного виноделия / *И.М. Колесник, М.М. Жолудев, Н.Н. Мартыненко, И.М. Грачева* // Виноделие и виноградарство. 2004. №3. С. 15-17.

## STUDYING OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF TRUE YEASTS DEPENDING ON CONFINEDNESS TO VEGETATIVE SUBSTRATUM

© 2011 D.A. Abdullabekova., E.S. Magomedova, G.G. Magomedov

Pri-Caspian Institute of Biological Resources DSC RAS, Makhachkala

It is shown that physiological and biochemical features of true yeasts, isolated from various kinds of plants – grapes and apricot fruits, can be caused by primary adaptation to a plant. The possibility of using strains is marked, irrespective of their confinedness to the habitation substratum, for reception qualitative alcohol-containing drinks from these kinds of raw materials.

Key words: *yeast, fruits, grapes, adaptation, cultivation environment, metabolism*