



**О.Е. Кухаренко**, аспирант отдела микробиологии,  
**В.А. Загоруйко**, д.т.н., проф., член-корр. НААН, директор,  
**Т.Н. Танащук**, к.т.н., с.н.с., нач. отдела микробиологии  
 Национальный институт винограда и вина «Магарач»,  
**Е.В. Костенко**, зам. генерального директора по качеству, главный  
 винодел,  
**Е.В. Закусилова**, начальник ПТЛ ПК № 1  
 ООО «Агрофирма «Золотая Балка»

## СЕЛЕКЦИЯ ДРОЖЖЕЙ В ПРОИЗВОДСТВЕ СОРТОВЫХ ШАМПАНСКИХ ВИНМАТЕРИАЛОВ

Результаты наших исследований в 2009-2010 гг. подтвердили значительную роль дрожжей в формировании ароматобразующего комплекса вин и позволили рекомендовать коллекционную расу дрожжей 630 для производства шампанских виноматериалов из сорта винограда Совиньон зеленый в условиях производства ООО «Агрофирма «Золотая Балка». Однако ведущим признаком при отборе эффективных рас дрожжей для производства шампанских виноматериалов остается их высокая кислотовыносливость.

Виноград, произрастающий в Севастопольской климатической зоне, характеризуется высокими значениями массовой концентрации титруемых кислот и в среднем соответствует величинам pH 2,9-3,2. Однако в годы, неблагоприятные для вызревания винограда, отдельные его партии поступали на переработку с величиной pH 2,6-2,8.

Данные эксперимента по изучению кислотовыносливости коллекционной расы 630, представленные в табл. 1, показали, что раса проявляет высокую физиологическую активность при pH 2,9. При значениях pH 2,7-2,8 клетки дрожжей размножались медленно, что сказывалось на снижении скорости прохождения процесса брожения. В дальнейшем дрожжи адаптировались к среде и сбраживание сахаров происходило полностью в течение 35-28 сут. При показателе pH 2,6 размножения клеток не наблюдалось, что повлияло на резкое снижение бродильной активности культуры.

Таким образом, целью нашей работы явилось проведение производственной селекции расы 630 в направлении отбора кислотостойчивых изолятов при сохранении в виноматериалах сортовых особенностей винограда Совиньон зеленый.

Метод производственной селекции дрожжей, предложенный Кудрявцевым В. И. [1], не нашел широкого применения в практике первичного виноделия в связи с прохождением технологических процессов в нестерильных условиях. Однако исследованиями Л. В. Тюриной было подтверждено, что брожение нестерильного виноградного суслу может проходить на чистых культурах дрожжей. Для этого необходимо своевременное внесение и равномерное распределение дрожжевой разводки в активном состоянии после хорошего отстаивания его с сульфитацией [2].

При выполнении работ применялись общепринятые в энохимии и микробиологии методы [3-5].

Для работы отбирали дрожжевую осадок виноматериала, полученного при сбра-

Представлены результаты исследований по выделению кислотостойчивых изолятов коллекционной расы 630 из производства, которые включают изучение бродильной способности расы в зависимости от pH среды, морфолого-культуральных и физиолого-биохимических свойств селекционированной расы 1-650, Совиньон-ЗБ, сравнительную характеристику виноматериалов, полученных на коллекционной и селекционированной расе.

**Ключевые слова:** виноград сорта Совиньон зеленый, дрожжевая разводка, раса дрожжей, изоляты.

живании высококислотного суслу (массовая концентрация титруемых кислот 11 г/дм<sup>3</sup>) из винограда Совиньон зеленый на чистой культуре дрожжей расы 630 и получивший высокую дегустационную оценку.

Качество винограда оценивали по ДСТУ 2366 [6].

Микробиологический контроль на всех этапах приготовления виноматериалов проводили в соответствии с требованиями ИК

10-04-05-10 [7].

Сусло из винограда Совиньон зеленый перед брожением сульфитировали внесением 75 мг/дм<sup>3</sup> сернистого ангидрида и отстаивали при температуре 10°C в течение 12-14 часов. С целью нивелирования влияния посторонней микрофлоры на процесс брожения разводку чистой культуры дрожжей вносили в сусло при содержании посторонних микроорганизмов в нем не более 75 тыс.

Таблица 1

**Бродильная способность расы 630 в зависимости от pH среды культивирования**

pH	Активность размножения		Активность брожения (8-е сутки)			Массовая концентрация сахаров в готовом виноматериале, г/дм <sup>3</sup>
	начало размножения, сут.	биомасса, г/5 см <sup>3</sup>	CO <sub>2</sub> , г/40 см <sup>3</sup>	биомасса, г/40 см <sup>3</sup> (с.в.)	массовая концентрация сахаров, г/дм <sup>3</sup>	
2,6	нет роста	нет роста	4,164	0,056	4,2	3,5
2,7	на 4-е	0,012	5,844	0,127	2,9	1,9
2,8	на 3-и	0,020	5,724	0,123	2,7	1,5
2,9	на 2-е	0,041	6,036	0,083	2,1	1,0

Таблица 2

**Морфолого-физиологическая характеристика изолятов дрожжей расы 630**

Штамм	Видовая принадлежность, (Kurtzman С.Р.)	Морфология и размер клеток, мкм	Сероводород, мм	Фенотип	Характеристика клеточных конгломератов
630-3с	Saccharomyces cerevisiae	клетки круглые и овальные (6,5x6,5), (7,0x6,5)	1	S	количество клеток в конгломератах от 4 до 10
630-10с	Saccharomyces cerevisiae	клетки овальные (7,2x6,5)	2	S	крупные конгломераты (до 50 клеток)
630-11с	Saccharomyces cerevisiae	Клетки круглые (6,5x6,5)	0	S	количество клеток в конгломератах от 4 до 15
630-15с	Saccharomyces cerevisiae	клетки круглые и овальные (6,6x6,6), (7,2x6,7)	1	S	количество клеток в конгломератах от 4 до 10
630-16с	Saccharomyces cerevisiae	клетки круглые и овальные (6,5x6,5), (7,0x6,5)	2	S	количество клеток в конгломератах от 4 до 15
630-19с	Saccharomyces cerevisiae	клетки круглые и овальные (6,5x6,5), (7,0x6,5)	2	S	количество клеток в конгломератах от 4 до 30



клеток/см<sup>3</sup>.

10 проб дрожжевого осадка рассеивали на чашки Петри с агаризованным виноградным сусликом. При рассеивании на плотную питательную среду использовали несколько разведений, в работу брали чашки, на которых выросло от 50 до 100 колоний [8]. Морфологию колоний оценивали под лупой и отбирали изолированные однотипные колонии на виноградное суслик с массовой концентрацией сахаров 200 г/дм<sup>3</sup> и рН 2,6. При необходимости суслик подкисляли 10% растворами винной и яблочной кислот (1:1). Условия культивирования – в термостате при температуре 17°C. Всего отбили 250 колоний.

Первичный отбор изолятов осуществляли по их активности к размножению [9] и морфолого-культуральным особенностям расы 630 (форма клеток, их размер, структура осадка, степень осаждения осадка). Проводили повторный рассев выделенных из отдельных колоний культур с целью проверки их чистоты. В результате проведенной работы выделили 21 колонию.

Бродильную активность выделенных изолятов оценивали по скорости и полноте сбраживания сахаров в среде культивирования, в результате чего отобрали 6 штаммов (630-3с, 630-10с, 630-11с, 630-15с, 630-16с, 630-19с), характеристика которых представлена в табл. 2

На основании проведенных исследований был проведен вторичный отбор штаммов дрожжей. Из вышеперечисленных 6 штаммов дрожжей были отобраны 3 штамма, не склонных к образованию сероводорода и крупных конгломератов 630-3с, 630-11с, 630-15с.

Влияние выделенных изолятов на органолептические показатели винообразующих оценивали путем дегустации в лабораторных условиях, результаты которой позволили рекомендовать штамм 630-15с, использование которого не ухудшило органолептическое восприятие винообразующего материала.

Результаты лабораторных исследований штамма представлены в таблице. Брожение проводили в условиях микроиноделия ООО «Агрофирма «Золотая Балка» в стеклянных баллонах в сезоны виноделия 2009 и 2010 гг. (табл. 3).

Полученные результаты свидетельствуют о высокой бродильной активности селекционированной расы в условиях, неблагоприятных для брожения: низкая температура, высокая титруемая кислотность. Полученные опытные винообразующие отличались от контрольных большим выходом, полнотой вкуса и ярким сортовым ароматом, в связи с чем их дегустационная оценка была на 0,1-0,23 балла выше, чем у контрольных винообразующих.

Раса прошла технологическую проверку на винзаводе ООО «Агрофирма «Золотая Балка» в сезон виноделия 2010 г. Произведено 8,8 тыс. дал винообразующего из сорта винограда Совиньон зеленый (акт производственных испытаний).

Раса дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* I-650 Совиньон-ЗБ имеет следующие культурально-морфологические, биохимические и технологические свойства.

Культурально-морфологические свойства. Размер клеток на виноградном суслике-агаре (средний) составляет 6,6x7,2 мкм. Форма клеток округлая и овальная. Размножается почкованием. На водном агаре, содержащем уксуснокислый натрий, клет-

Таблица 3  
**Химический состав молодых винообразующих из сорта винограда Совиньон зеленый, приготовленных в условиях микроиноделия брожением на коллекционных и селекционированных расах**

Винообразующий	Штамм дрожжей	Химические показатели винообразующих по окончании спиртового брожения				Дегустационная оценка
		объемная доля этилового спирта, %	массовая концентрация титруемых кислот, г/дм <sup>3</sup>	массовая концентрация летучих кислот, г/дм <sup>3</sup>	массовая концентрация сахаров, г/дм <sup>3</sup>	
Шампанский винообразующий контроль 2009 г.	47-К	11,8	9,5	0,35	4,2	7,9 цвет - светло-соломенный; аромат - чистый, цветочный; вкус - легкий, питкий, простой
Шампанский винообразующий опыт 2009 г.	I-630	12,2	9,3	0,46	2,3	8,0 цвет - светло-соломенный; аромат - чистый, ярко выражен тон листа черной смородины; вкус - легкий, хорошо развит тон листа черной смородины
Шампанский винообразующий контроль 2010 г.	47-К	10,5	9,6	0,46	1,2	7,7 цвет - светло-соломенный; аромат - нечистый, сильная задушка; вкус - простой, окисленный
Шампанский винообразующий опыт 2010 г.	I-650 Совиньон ЗБ	10,7	9,6	0,56	1,2	7,93 цвет - светло-соломенный; аромат - чистый, тонкий, цветочный с оттенками смородинового листа; вкус - освежающий, чистый

ки образуют аски со спорами шаровидной формы с гладкими оболочками, 1-4 в аске. Органические среды: виноградное суслик, солодовое суслик-агар. Колонии на солодовом суслик-агаре гладкие, сферические, выпуклые с ровными краями. После брожения виноградного суслика образуют плотный конгломератный осадок. Фенотип – чувствительный (S).

Физиолого-биохимические свойства. Сбраживает: глюкозу, сахарозу, мальтозу, раффинузу. Не сбраживает: лактозу, галактозу и простые декстрины. Оптимальная температура роста на виноградном суслике со свободным доступом воздуха (под ватной пробкой) 16±1°C; факультативный анаэроб, кислотоустойчивый, рН 2,7, оптимальный рН 2,9-3,1; усваивает органический и неорганический азот виноградного суслика.

Технологические свойства. Активно сбраживает суслик винограда с массовой концентрацией 240 г/дм<sup>3</sup> сахаров, 150 г/дм<sup>3</sup> общего диоксида серы при рН среды 2,8-3,0 и температурах 15±2°C. Обеспечивает быстрое осветление среды после выбраживания сахаров и образование плотного компактного осадка. Синтезирует мало изобутанола и изоамиланола, уксусной кислоты и уксусного альдегида, синтезирует много жирных кислот.

Раса хранится в коллекции Национального института винограда и вина «Магарач» (номер I-650, Совиньон-ЗБ) и депонирована в коллекции микроорганизмов Института микробиологии и вирусологии им. Заболотнова НАН, г. Киев, коллекционный номер ИВМ У-5054.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кудрявцев В. И. О непрерывной селекции микроорганизмов из производства // Микробиология. – 1951. – 20. – № 2. – С.155-167.
2. Туркина Л. В. Изучение дрожжевой флоры винообразующих Закарпатской области УССР и отбор лучших рас // Труды ВНИИВиВ «Магарач». – 1962. – Т.11. – С.42-60
3. Бурьян Н. И. Практическая микробиология виноделия. – Симферополь: Таврида. – 2003. – 559 с.
4. Жданова Н. И. Селекция микроорганизмов – продуцентов практически важных веществ / Промышленная микробиология // М.: Высшая школа, 1989. – С.77-96
5. Методы теххимического и микробиологического контроля в виноделии // М.: Изд-во Пищевая промышленность, 1980. – 145 с.
6. ДСТУ 2366:2009 Виноград свіжий технічний. Технічні умови.
7. ИК 10-04-05-40-89 Инструкция по микробиологическому контролю винодельческого производства.
8. ГОСТ 26669-85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов ГОСТ.
9. Одинцова Е. Н. Ведущий признак отбора дрожжей для виноделия и их распространение в природе // Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве. – Труды конференции по микробиологии, 1950 г. – М.: Изд-во АН СССР, 1952. – С.64-81.

Поступила 16.12.2013

© О.Е.Кухаренко, 2013  
© В.А.Загоруйко, 2013  
© Т.Н.Танашук, 2013  
© Е.В.Костенко, 2013  
© Е.В.Закусилова, 2013