

УДК 663.223.3

UDC 663.223.3

**ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ  
АЗОТИСТЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ  
СБРАЖИВАНИИ СУСЛА НОВЫМИ  
РАСАМИ ДРОЖЖЕЙ**

**CHANGE IN THE CONCENTRATION OF  
NITROUS CONNECTIONS DURING THE  
FERMENTATION OF MUST BY THE NEW  
RACES OF YEAST**

Толмачева Екатерина Николаевна  
канд. техн. наук  
*Кубанский государственный аграрный  
университет, Краснодар, Россия*

Tolmacheva Ekaterina Nikolaevna  
Cand.Tech.Sci.  
*Kuban state agrarian university, Krasnodar, Russia*

Агеева Наталья Михайловна  
д.т.н., профессор

Ageeva Natalia Mikhailovna  
Dr.Sci.Tech., professor

Даниелян Армен Юрьевич  
аспирант  
*Государственное научное учреждение Северо-  
Кавказский зональный научно-исследовательский  
институт садоводства и виноградарства ФАНО,  
Краснодар, Россия*

Danielyan Armen Yurievich  
postgraduate student  
*State Scientific Organization North Caucasian  
Regional Research Institute of Horticulture and  
Viticulture of the FANO of Agricultural Sciences,  
Krasnodar, Russia*

Установлено изменение концентрации азотистых соединений – аминного, аммонийного, общего азота и белка – при сбраживании виноградного сусла различными расами дрожжей. Выделены дрожжи, обеспечивающие снижение количества азотистых соединений на стадии активного брожения

We have established a change in the concentration of nitrous connections - amino, ammonium, total nitrogen and protein - during the fermentation of grape must by different races of yeast. Yeast which ensure reduction in the number of nitrous connections at the stage of the active fermentation were isolated

Ключевые слова: ВИННЫЕ ДРОЖЖИ,  
БРОЖЕНИЕ, АМИННЫЙ, АММОНИЙНЫЙ,  
ОБЩИЙ АЗОТ, БЕЛОК, ПРОТЕАЗА

Keywords: WINE YEAST, FERMENTATION,  
AMINO, AMMONIUM, TOTAL NITROGEN,  
PROTEIN, PROTEASE

**Введение**

В процессе сбраживания виноградного сусла винными дрожжами происходит формирование химического состава вина, обусловленное биосинтетическими функциями винных дрожжей. При брожении существенное изменение претерпевает коллоидная фракция сусла: согласно данным [1, 2], на начальном этапе брожения концентрация азотистых соединений уменьшается, а в период стационарной фазы развития дрожжевых клеток – увеличивается за счет их перехода из дрожжевой клетки. Интенсивность процессов синтеза-гидролиза азотистых соединений зависит от активности ферментных систем, катализирующих процессы образования и разрушения высокомолекулярных соединений, в

том числе белков и их комплексов. В свою очередь, активность ферментных систем определяется спецификой физиолого-биохимических свойств рас дрожжей, применяемых для сбраживания сусла.

**Цель работы** – установить изменение концентрации азотистых соединений в виноматериалах при использовании новых рас дрожжей.

**Объекты и методы исследований.** В качестве объекта исследований использовали сусло из белого сорта винограда Шардоне. Для сбраживания виноградного сусла из белых сортов винограда применяли новые расы активных сухих дрожжей, имеющие следующие характеристики:

- Actiflore F33, производитель фирма LAFFORT, вид *Saccharomyces cerevisiae*: дрожжи спиртоустойчивы до 16 % об. и сульфоустойчивы, обладают кислотопонижающей способностью;

- Vitilevure Csm Yseo, производитель YSEO process, предназначены для выработки фруктовых, плодовых и виноградных вин. Специально селекционированный штамм L 6885. Дрожжи этой расы проводят частичное расщепление яблочной кислоты, обладают высокой толерантностью, спиртоустойчивы. Обеспечивают низкое накопление летучих кислот и сернистых производных;

- Excellence XR (производство LAMOTHE-ABIET): универсальная раса дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae*, спирто - и сульфоустойчивы.

- Excellence XP (производство LAMOTHE-ABIET), вид *Saccharomyces cerevisiae*. Рекомендуется для производства высококачественных столовых вин, легко забраживают, не образуют недобродов.

Брожение проводили в анаэробных условиях с применением гидрозатворов.

Массовую концентрацию аминного азота определяли методом Серенсена (формольное титрование), иона аммония – методом

капиллярного электрофореза (Капель 105М), общего азота – с применением реактива Несслера, белка – методом Шахтерле и Поллак, активность протеаз – по трансформации субстрата – белка альбумина [3, 4].

**Постановка эксперимента.** В виноградное сусло из сорта винограда Шардоне в одинаковых количествах (2 г/дм<sup>3</sup>) вносили реактивированные клетки рас дрожжей Actiflore F33, Vitilevure Csm Yseo, Excellence XR, Excellence XP и контроль – Шампанская 7–10С, температура брожения 23–25 °С. Исходная концентрация сахаров в исходном сусле 17 г/100 см<sup>3</sup>, а титруемых кислот 7,8 г/дм<sup>3</sup>. Брожение проводили в герметичных условиях.

**Обсуждение результатов.** Анализ полученных результатов, представленных в таблице 1, показал различную концентрацию азотистых соединений в зависимости от расы дрожжей.

Таблица 1 – Массовая концентрация азотистых соединений в зависимости от расы дрожжей

Показатели	Наименование дрожжей				
	Контроль	Excellence XR	Excellence XP	Vitilevure Csm Yseo	Actiflore F33
азотистые вещества, мг/дм <sup>3</sup>					
аммоний	6,7	4,5	4,0	5,1	6,1
аминный азот	336	428	308	406	385
общий азот	1100	980	1230	1320	1020
белок	30,2	23,6	27,4	30,7	28,6

Следует отметить, что наиболее близкие результаты получены по концентрации аммонийного азота. Аммонийный азот, в том числе соли аммония, – наиболее активная, подвижная и реакционноспособная форма азотистых соединений, хорошо усваиваемая винными дрожжами и участвующая в химических реакциях. Наименьшая концентрация аммонийного азота в пересчете на аммоний-ион была в образцах,

полученных при использовании расы Excellence XR, наибольшая – в контроле (Шампанская 7–10 С).

Количество аминного азота варьировало от 308 мг/дм<sup>3</sup> (раса Excellence XR) до 428 мг/дм<sup>3</sup> (Excellence XR). Это свидетельствует о том, что при использовании рас дрожжей Excellence XR и Excellence XR происходит наиболее существенное вовлечение азотистых соединений в процессы метаболизма клеток и ферментативные реакции.

Концентрация общего азота варьировало в широких пределах от 980 мг/дм<sup>3</sup> (Excellence XR) до 1320 мг/дм<sup>3</sup> (Vitilevure Csm Yseo). Учитывая, что для проведения экспериментов использовано одно и то же виноградное сусло, а брожение проводили в одинаковых условиях, можно считать, что такое различие объясняется спецификой метаболизма клеток винных дрожжей, в том числе активностью таких ферментных систем, как протеазы и пептидазы.

Белок играет важную роль в сложении физико-химических и органолептических свойств вин, особенно игристых и ликерных. Они являются поверхностно-активными веществами и основными стабилизаторами пены; продукты гидролиза белков участвуют в реакциях типизации ликерных вин. В то же время высокие концентрации белка в готовой продукции провоцируют коллоидные помутнения. Анализ полученных экспериментальных данных свидетельствует о том, что концентрация белка в опытных вариантах имела близкие значения, но наименьшее его количество выявлено в виноматериале, полученном при сбраживании сусла расой Excellence XR.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что дрожжи обладают различной способностью к потреблению азотистых веществ. Однако для того, чтобы определить азотопонижающие свойства дрожжей, необходимо проведение дальнейших исследований, которые позволили бы установить оптимальный период контакта биомассы дрожжей и

виноматериала для установления режимов времени максимального азотопонижения.

Известно [5, 6], что дрожжевые клетки используют азотистые вещества для построения тканей и клеточной структуры, поддержания жизнедеятельности, а также высокой дыхательной и бродильной активности. Важнейшим предшественником потребляемого органического азота является аммиак или аммонийный азот, который дрожжи вида *Saccharomyces cerevisiae* усваивает, в первую очередь, и только потом потребляют аминный азот. Поэтому для активации клеток АСД предусматривается внесение подкормки в виде азотистого питания. В своих экспериментах азотистую подкормку мы не вносили с целью изучения потребления дрожжами тех азотистых соединений, которые присутствуют в среде.

Для проведения эксперимента использовали виноградное сусло со следующими концентрациями азотистых веществ; мг/дм<sup>3</sup>: общего азота – 1010, аминного азота – 226; белка – 46,4. Дрожжи исследуемых рас дрожжей вносили в одинаковом количестве – 3,0 млн. клеток/см<sup>3</sup>. Наблюдение проводили в течение 10 суток, чтобы не допустить угнетения дрожжей и отследить начало автолиза клеток.

Полученные результаты (таблица 2) показали, что наибольшее снижение суммы азотистых соединений наблюдалось на 3–4 сутки с момента начала брожения независимо от расы дрожжей, однако динамика изменения концентрации общего азота и его остаточная концентрация на 10 сутки существенно зависела от расы дрожжей. Так, наименьшее количество общего азота, а, следовательно, наибольшая азотопонижающая способность были характерны для расы Excellence XR (110 мг/дм<sup>3</sup>), далее следует Excellence XR (150 мг/дм<sup>3</sup>). Активное потребление дрожжами аминного азота начиналось уже на первые сутки брожения и продолжалось до шести суток, затем снижение концентрации азота несколько

замедлялось, что свидетельствовало о снижении бродильной активности и частичного перехода клеток в угнетенное состояние.

Наименьшее количество аминного азота на десятые сутки с момента начала брожения выявлено в виноматериалах, полученных с применением расы Excellence XR (44 мг/дм<sup>3</sup>). Одинаковый результат получен при использовании рас Excellence XP и Шампанская 7–10С (62 мг/дм<sup>3</sup>).

Таблица 2 – Изменение массовой концентрации азотистых веществ при брожении в зависимости от расы дрожжей

Продолжительность брожения, сутки	Наименование расы дрожжей				
	Контроль	Excellence XR	Excellence XP	Vitilevure Csm Yseo	Actiflore F33
Массовая концентрация общего азота, мг/дм <sup>3</sup>					
1	980	940	930	940	950
2	830	780	810	800	810
3	690	530	590	710	680
4	480	420	480	630	450
6	320	300	330	520	340
8	250	260	220	340	290
10	210	150	110	270	250
Массовая концентрация аминного азота, мг/дм <sup>3</sup>					
1	210	196	200	212	212
2	192	170	182	200	197
3	170	153	162	184	180
4	156	126	134	169	162
6	122	98	118	148	134
8	94	66	80	124	122
10	62	44	62	96	100
Массовая концентрация белка, мг/дм <sup>3</sup>					
1	42,4	42,0	41,3	40,6	40,2
2	38,6	34,2	31,8	37,2	38,6
3	30,2	21,8	25,6	31,6	30,2
4	24,4	15,5	16,2	25,2	24,4
6	19,6	10,3	9,4	21,5	19,6
8	16,8	8,8	10,2	17,3	16,8
10	18,2	8,2	10,8	14,7	18,2

Анализ тенденций изменения массовой концентрации белка свидетельствует о том, что наименьшее его значение, в первые сутки брожения, было у рас Vitilevure Csm Yseo и Actiflore F33.

С увеличением продолжительности брожения наибольшая трансформация белка наблюдалась при использовании рас Excellence XR и Excellence XP. Их применение обеспечило наименьшую концентрацию остаточного белка в виноматериалах (8,2 мг/дм<sup>3</sup> и 10,8 мг/дм<sup>3</sup> соответственно).

Полученные результаты показали, что лучшей азотопонижающей способностью обладают различные расы Excellence XR и Excellence XP, которые можно рекомендовать для применения в технологи белых столовых вин с целью азотопонижения.

Лизис клеток наблюдался только на десятые сутки с начала момента брожения. Он выявлен в виноматериалах, приготовленных в применении рас дрожжей Excellence XP, Шампанская 7-10С и Vitilevure Csm Yseo: обнаружено незначительное увеличение массовой концентрации белка.

Такое различие в потреблении азотистых веществ исследуемых рас дрожжей можно объяснить различными факторами, среди которых важнейшее значение имеют накопление биомассы клеток и активность протеолитических ферментов.

Известно, что количество азотистых соединений и их изменение в процессе брожения обуславливается активностью протеолитических ферментов, в том числе винных дрожжей [6, 7]. Их наличие в сусле и виноматериалах играет большую роль в процессах формирования качества вина и достижения розливостойкости, так как они осуществляют гидролиз белков, комплексов биополимеров на их основе, пептидов до простейших соединений, а при брожении сусла, в том числе, и аминокислот. В связи с этим исследовали активность протеаз при брожении виноградного сусла из

сорта Шардоне с использованием экспериментальных рас дрожжей Actiflore F33, Vitilevure Csm Yseo, Excellence XR, Excellence XP.

Проведенные эксперименты (рисунок) показали, что наибольшая величина активности наблюдалась на 3–4 сутки у всех исследованных рас дрожжей.

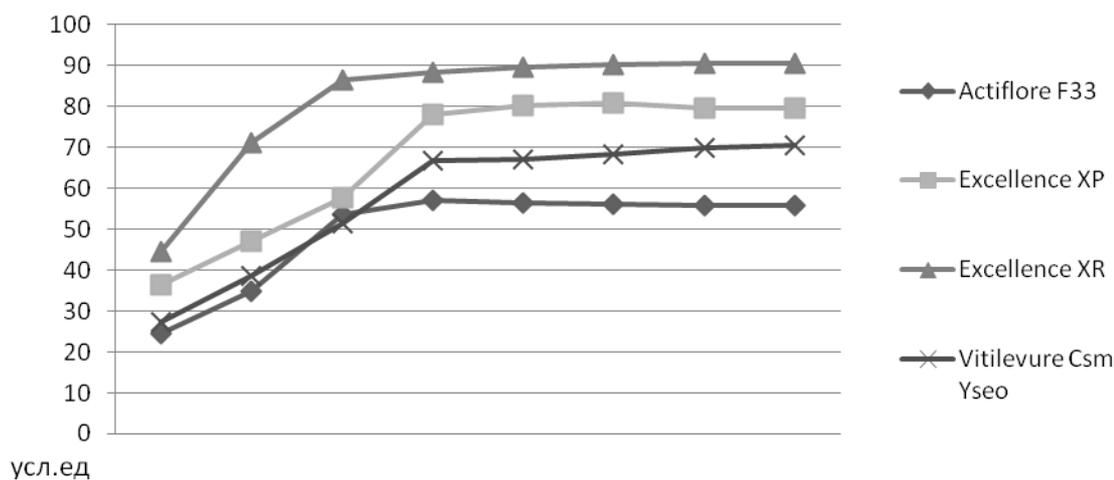


Рисунок – Динамика изменения активности протеаз в зависимости от расы дрожжей

По нашему мнению, это объясняется тем, что дрожжи переходят в стадию активного физиологического состояния. Этот период соответствует завершению экспоненциальной стадии развития клеток, когда количество жизнедеятельных физиологически активных дрожжей достигает максимума. В дальнейшем высокая величина активности протеаз сохраняется, однако у дрожжей Vitilevure Csm Yseo и Excellence XR незначительно возрастает, для других (Actiflore F33, Excellence XP) – стабилизируется и даже несколько снижается. Сравнительный анализ показал, что наибольшая величина активности протеаз характерна для расы Excellence XR: ее максимальная величина была на 4–6 сутки.

Наименьшая активность протеаз выявлена у расы дрожжей Actiflore F33, что согласуется с материалами исследования, представленными в предыдущем разделе.

Образовавшаяся в виноматериалах биомасса клеток дрожжей была отделена от виноматериала путем центрифугирования с целью определения активности протеаз в клетках винных дрожжей исследуемых рас.

В результате эксперимента установлена наибольшее значение активности протеаз у клеток рас дрожжей Excellence XR и Excellence XR составляющая 134 усл.ед. и 128 усл.ед. соответственно.

Эти данные говорят о том, что в процессе последующего хранения виноматериалов на дрожжевом осадке возможна секреция протеаз из клетки в виноматериал, которая может привести как к снижению, так и увеличению белка в виноматериале.

### **Выводы**

Таким образом, для пролонгирования устойчивости столового виноматериала к коллоидным помутнениям необходимо использовать ту расу дрожжей, которая обеспечивает более глубокий гидролиз азотистых соединений. Согласно полученным данным это расы Excellence XR и Excellence XR.

### **Список литературы**

1. Бурьян Н.И. Совершенствование технологических процессов производства столовых вин на основе регулирования обмена веществ у дрожжей // Автореф. дис. д-ра техн. наук. - Ялта, 1983. - 82 с.
2. Агеева Н.М. Стабилизация виноградных вин: теоретические аспекты и практические рекомендации. – Краснодар: Просвещение-Юг, 2007. - 251 с.
3. Родопуло А.К. Основы биохимии виноделия. - М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1983. - 220 с.
4. Риберо-Гайон Ж. Виноделие (Возбудители брожения. Приготовление вин) / Ж.Риберо-Гайон, Е.Пейно. – М.: Пищ.пром-сть, 1971. – 414 с.
5. Саенко Н.Ф. Технологические требования к микрофлоре, применяемые в виноделии / Н.Ф.Саенко, М.А.Мальцева. – М.: Пищ. пром-сть, 1976. – 392 с.
6. Moreno-Arriba M., Polo M. Winemaking Biochemistry and Microbiology: Current Knowledge and Future Trends // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. - 2005. - № 4. - PP. 265-286.

7. Yranzo J.F. Ubeba, Perez A.Y. Briones, Canas P.M. Yzgierdo. Study of the onological characteristics and enzymatic activit es of wine yeasts // Food Microbiol. - 1998. - 15, №4. - PP. 399-406.

### References

1. Bur'jan N.I. Sovershenstvovanie tehnologicheskikh processov proizvodstva stolovyh vin na osnove regulirovanija obmena veshhestv u drozhzhej // Avtoref. dis. d-ra tehn. nauk. - Jalta, 1983. - 82 s.
2. Ageeva N.M. Stabilizacija vinogradnyh vin: teoreticheskie aspekty i prakticheskie rekomendacii. – Krasnodar: Prosveshhenie-Jug, 2007. - 251 s.
3. Rodopulo A.K. Osnovy biohimii vinodelija. - M.: Legkaja i pishh. prom-st', 1983. - 220 s.
4. Ribero-Gajon Zh. Vinodelie (Vozbuditeli brozhenija. Prigotovlenie vin) / Zh.Ribero-Gajon, E.Pejno. – M.: Pishh.prom-st', 1971. – 414 s.
5. Saenko N.F. Tehnologicheskie trebovanija k mikroflоре, primenjaemye v vinodelii / N.F.Saenko, M.A.Mal'ceva. – M.: Pishh. prom-st', 1976. – 392 s.
6. Moreno-Arriba M., Polo M. Winemaking Biochemistry and Microbiology: Current Knowledge and Future Trends // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. - 2005. - № 4. - PP. 265-286.
7. Yranzo J.F. Ubeba, Perez A.Y. Briones, Canas P.M. Yzgierdo. Study of the onological characteristics and enzymatic activit es of wine yeasts // Food Microbiol. - 1998. - 15, №4. - PP. 399-406.