

УДК 663:550.36 (470.67)

## СОДЕРЖАНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ДРОЖЖАХ РОДА *SACCHAROMYCES* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Э. А. Исламмагомедова, Э. А. Халилова,  
Р. З. Гасанов, А. А. Абакарова

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН

---

Установлено, что геотермальная вода в среде культивирования штаммов *S. cerevisiae* Y-503 и *S. oviformis* M-12X в аэробных условиях способствовала улучшению биотехнологических показателей хлебопекарных дрожжей, в анаэробных условиях – интенсификации биосинтеза этанола, что, возможно, связано с минеральным составом дрожжей. Обнаружено, что использование винного штамма *S. cerevisiae* Y-3980 с оптимальным комплексом макро- и микроэлементов оказало влияние на формирование технологических и органолептических свойств игристого вина.

It was found that geothermal water in the culture medium of strains *S. cerevisiae* Y-503 and *S. oviformis* M-12X under aerobic conditions promoted the improvement of biotechnological indicators of baker's yeast, while under anaerobic conditions – intensification of ethanol biosynthesis. That is, probably, connected with the mineral composition of yeast. It was also found that the use of the wine strain *S. cerevisiae* Y-3980 with the optimal complex of macro- and microelements had an impact on the formation of technological and organoleptic properties of sparkling wine.

Ключевые слова: макро-; микроэлементы; дрожжи *Saccharomyces*; аэробное культивирование; спиртовое брожение; игристое вино.

Keywords: macro-; microelements; yeast *Saccharomyces*; aerobic cultivation; alcoholic fermentation; sparkling wine.

Для нормального роста и развития дрожжей требуется широкий спектр макро- и микроэлементов, играющих важную роль в метаболизме клетки [1, 2]. Минеральные вещества участвуют в регуляции таких физиологических процессов, как преобразование сахара в этанол, флокуляция, влияют на стрессоустойчивость дрожжей. Известна тесная связь между содержанием микроэлементов и жизнеспособностью клеток в условиях этанольного, холодового и термического шока [1, 3, 4].

Условия культивирования оказывают влияние на метаболизм дрожжей [5] и продукты их биосинтеза [6]. В настоящее время актуален поиск биохимически активных штаммов с перспективой использования их в различных биотехнологиях [7]. Ранее было установлено, что минеральные и органические компоненты геотермальных вод могут быть использованы в качестве дополнительного источника питания дрожжевых организмов [8]. Исследование механизмов влияния биологически активных веществ геотермальных вод на метаболизм дрожжей рода *Saccharomyces* послужило основанием для создания биотехнологий различного назначения [9]. Разработаны технологии получения высокопродуктивных пресованных и сушеных хлебопекарных дрожжей в аэробных условиях культивирования (пат. № 2084519; 2151795; 2188232) и технологии биосинтеза этанола из мелассы, позволяющие увеличить на 25% выход спирта улучшенного качества, – в анаэробных условиях (пат. РФ № 2329302; 2495936).

В производстве игристых вин применение современных биотехнологий позволяет получить качественное вино с улучшенным вкусом и сокращением времени изготовления [10]. На формирование качества игристых вин оказывают влияние

многие факторы, в том числе способность дрожжей в условиях вторичной ферментации адаптироваться к этанолу, кислотности, давлению, температуре [11]. Нами селекционирован штамм *S. cerevisiae* Y-3980, предназначенный для вторичного сбраживания тиражной смеси под давлением (пат. РФ № 2526493). Для проведения брожения необходимо, чтобы в виноматериалах содержались определенные концентрации макро- и микроэлементов (в виде свободных ионов или в составе комплексных соединений с органическими веществами), играющих существенную роль в процессах первичного и вторичного виноделия. Однако на формирование технологических и органолептических свойств вина минеральные вещества могут оказать отрицательное влияние. Так, например, избыток ионов тяжелых металлов может привести к подавлению производительности дрожжей и нарушению промышленных процессов ферментации, придает вину посторонний неприятный привкус [12-14]. В настоящее время актуальна разработка практических рекомендаций для повышения эффективности биотехнологий, основанных на использовании дрожжей. Представляет интерес изучение содержания минеральных веществ в дрожжах рода *Saccharomyces* в зависимости от условий культивирования.

Цель данной работы – исследование содержания минеральных веществ в клетках дрожжей *Saccharomyces* в аэробных условиях культивирования и в процессе спиртового брожения, а также макро- и микроэлементного состава нового винного штамма и его влияния на качество игристого вина.

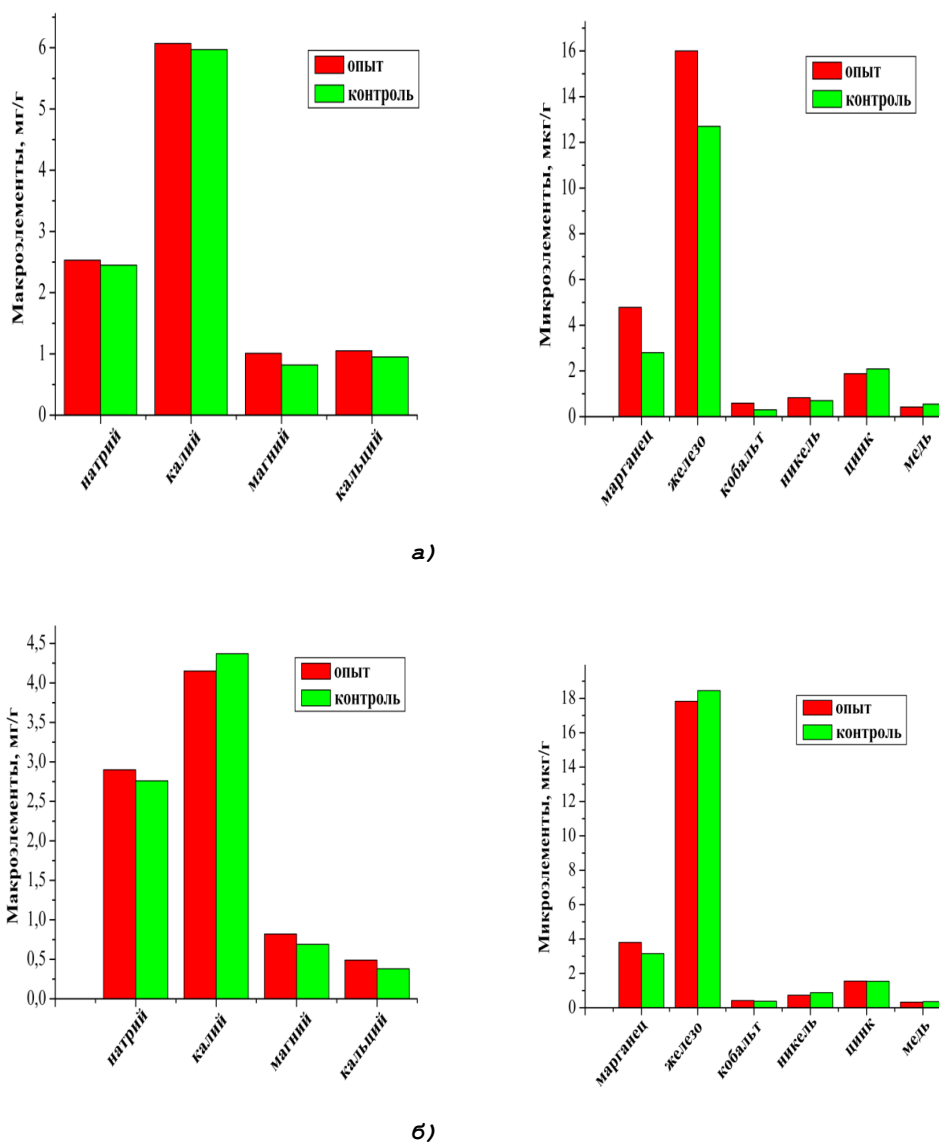
Объектами исследований являлись штаммы *S. cerevisiae* Y-503 (а.с. СССР № 1284998), *S. oviformis* M-12X (а.с. СССР № 1104149) и *S. cerevisiae* Y-3980 (пат. РФ № 2526493), находящиеся в коллекции культур лаборатории биохимии и биотехнологии Прикаспийского института биологических ресурсов ДНЦ РАН и Всероссийской коллекции Государственного унитарного предприятия «ГНИИ Генетика».

Для изучения влияния геотермальной воды на минеральный обмен *S. cerevisiae* Y-503 и *S. oviformis* M-12X использовался следующий состав опытной среды культивирования дрожжей: меласса (содержание углеводов 20,0 г/100 см<sup>3</sup>), подземная вода из скважины № 26 Махачкалинского месторождения, разбавленная водопроводной водой до минерализации 4,0 г/л и гидроортофосфат аммония (2,58 г/л). В аэробных условиях культивирования контролем служила традиционная мелассная питательная среда, применяемая в настоящее время на предприятиях России, производящих хлебопекарные дрожжи [8], в анаэробных – производящих этанол [15]. Исследования выполнялись на лабораторной установке глубинным методом, в периодическом режиме, при температуре 30 °С, рН 4.5.

При изучении минерального состава *S. cerevisiae* Y-3980 в качестве контроля использовался промышленный штамм *S. cerevisiae* Litto-Levure. Культивирование дрожжей проводили в тиражной среде из виноматериалов, %: Пино-40, Рислинг-20, Али-Готе-20, Шардоне-20. Бродильная смесь содержала 2,5% углеводов, 11,2% спирта, 0,3 г/дм<sup>3</sup> фенольных веществ, 17,8 г/дм<sup>3</sup> редуцтонов, имела 9,1 г/дм<sup>3</sup> титруемой и 0,17 г/дм<sup>3</sup> летучей кислотности. Посевной материал составлял 3% от объема среды. Вторичное сбраживание виноматериалов проводилось периодическим способом в акратофоре при 9-10 °С и давлении 0,4-0,5 МПа, рН 3,3-3,5 в течение 20 дней [16].

Исследование макро- и микроэлементного состава осуществляли методом атомно-абсорбционной спектроскопии [17].

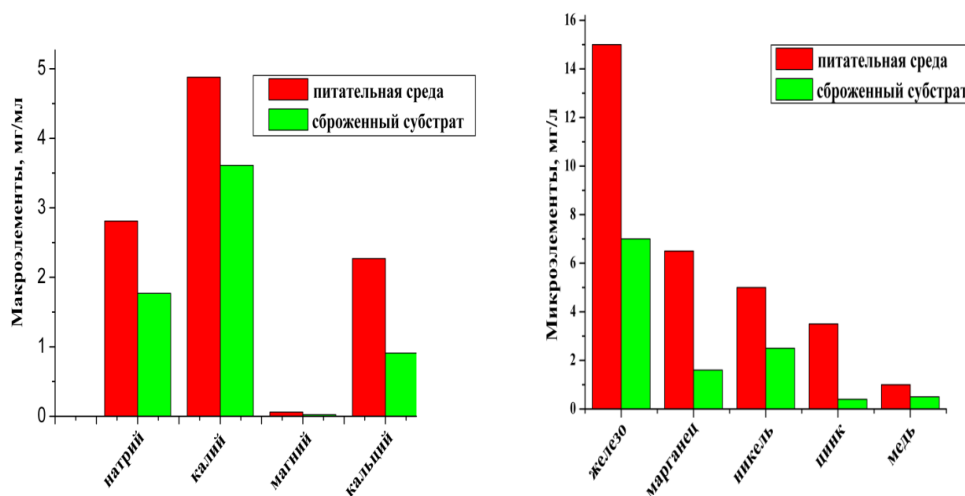
Анализ суммарного содержания минеральных веществ в биомассе дрожжей *S. cerevisiae* Y-503 в зависимости от условий культивирования показал повышенное накопление макро- и микроэлементов в аэробных условиях (рис. 1а). Выявлено, что в опытной биомассе содержится большее количество ионов магния, марганца, железа и кобальта, влияющих на физиологическую активность и пищевую ценность хлебопекарных дрожжей: магний и марганец входят в состав активного центра ряда ферментов, в том числе осуществляющих синтез запасных углеводов; железо – в состав ферментов энергетического метаболизма, кобальт стимулирует синтез витаминов В<sub>12</sub> и рибофлавина [1, 6, 14]. Обнаружено повышение активности ферментов углеводного обмена и улучшение биотехнологических показателей дрожжей [18]. Возможно, этому способствовало оптимальное содержание в биомассе макро- и микроэлементов, играющих важную роль в поддержании и регуляции многих метаболических процессов в клетке.



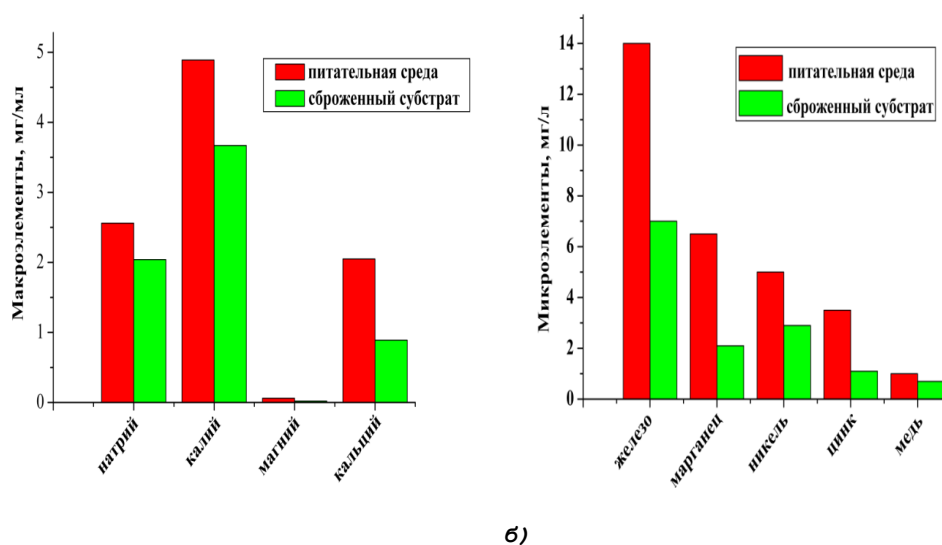
**Рис. 1.** Влияние аэробных (а) и анаэробных (б) условий культивирования на содержание макро- и микроэлементов в биомассе дрожжей *S. cerevisiae* Y-503. Опыт – дрожжи, выращенные в меласной среде с геотермальной водой; контроль – дрожжи, выращенные в меласной традиционной среде

В результате исследования минерального состава биомассы *S. cerevisiae* Y-503 в анаэробных условиях культивирования обнаружено, что суммарное содержание макроэлементов в опытной биомассе несколько выше по сравнению с контролем, микроэлементов – близко по значению (рис. 1б). Катионы натрия и кальция в опытной биомассе, совместно с гуминовыми веществами, входящими в состав геотермальной воды, повлияли на функциональную активность клеток, на характер и скорость течения основных метаболических процессов. Ионы магния, кальция и марганца в дрожжах способствовали активации ключевых ферментов спиртового брожения и интенсификации процесса биосинтеза этанола [9, 18].

Содержание минеральных веществ в биомассе штамма *S. oviformis* M-12X демонстрирует их большее накопление в опытных вариантах как в аэробных ( $\approx$  на 28%), так и анаэробных ( $\approx$  на 27%) условиях культивирования. Интерес представляет изучение динамики потребления макро- и микроэлементов дрожжами *S. oviformis* M-12X в процессе спиртового брожения (рис. 2). Обнаружено, что общая концентрация минеральных веществ в среде культивирования с геотермальной водой превышала контроль на 4,8%. Содержание ионов натрия и кальция в опытной питательной среде превосходило аналогичные показатели в контроле на 9,8 и 10,7% соответственно; количество остальных элементов близко по значению.



а)



**Рис. 2.** Содержание макро- и микроэлементов в средах культивирования дрожжей *S. oviformis* M-12X и сброженных субстратах; (а) – мелассная среда с геотермальной водой; (б) – мелассная традиционная среда

Установлено уменьшение концентрации всех исследуемых элементов в сброженных субстратах (питательных средах после окончания процесса брожения). Обнаружено более активное (в 1,2 раза) потребление минеральных веществ, в том числе ионов натрия, магния, марганца и меди в среде с геотермальной водой по сравнению с контрольным вариантом (рис. 3). Наиболее востребованными и в контроле, и в опыте оказались ионы цинка, в опыте на 20% больше. Накопление и распределение этого микроэлемента в клетках зависит как от состава среды, так и от условий культивирования [19]. Действуя в качестве кофактора многих ферментов, цинк играет важную роль в белковом, углеводном и фосфорном обмене дрожжевой клетки [1]. Цинк также оказывает существенное влияние на процесс образования этанола, так как входит в состав ферментов спиртового брожения – алкогольдегидрогеназы и альдолазы, уровень активности которых в опыте значительно превышал аналогичные показатели контрольного варианта [9, 18]. Возможно, комплекс минеральных и органических компонентов мелассы и геотермальной воды в составе среды культивирования дрожжей способствовал более интенсивному потреблению макро- и микроэлементов в процессе спиртового брожения.

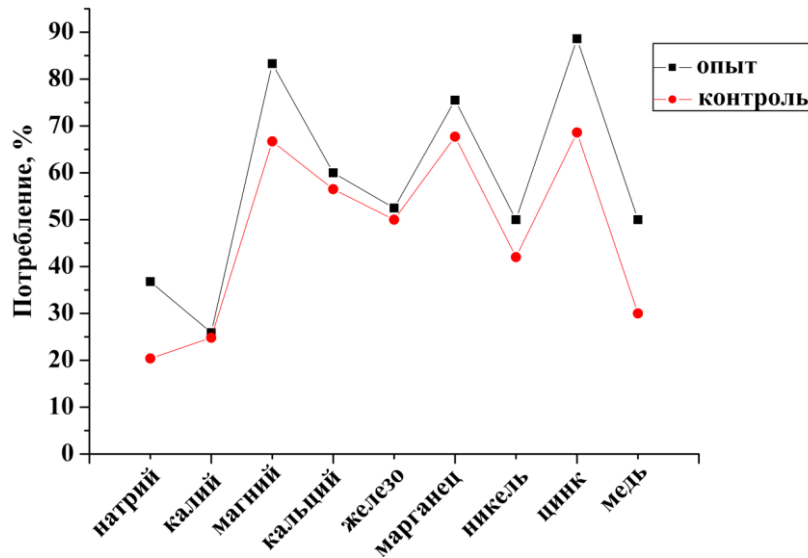


Рис. 3. Потребление минеральных веществ дрожжами *S. oviformis* M-12X в процессе спиртового брожения

В результате исследования качественного состава биомассы дрожжей *S. cerevisiae* Y-3980 (опыт) и *S. cerevisiae* Litto-Levure (контроль), используемых для производства игристого вина, выявлена идентичность минеральных веществ (см. таблицу). Количественное изучение макро- и микроэлементов показало, что их суммарное содержание в опытных дрожжах было ниже данного показателя в контроле. В обоих вариантах в количественном отношении преобладали ионы калия; в опытной биомассе повышено содержание натрия и кальция, оказывающих влияние на технологический процесс и качество вина [1]. Ионы кальция играют ключевую роль в процессе флокуляции дрожжей [20]. В опытном варианте выявлено повышение концентрации отдельных микроэлементов – железа, стронция, лития и свинца. Известно, что железо способствует усилению процесса бродильной активности дрожжей и влияет на свойства игристого вина. В отличие от многих живых организмов, дрожжи могут поглощать соединения свинца без угнетения обмена веществ; в следовых количествах литий и природный стронций также необходимы микроорганизмам и являются составной частью их клеток [14, 21]. В контрольном варианте биомассы обнаружено увеличение содержания таких элементов, как цинк, медь, никель, кадмий и хром. В повышенных концентрациях тяжелые металлы оказывают токсическое действие на дрожжи, однако в обоих вариантах не наблюдалось угнетения роста и размножения клеток [16, 22]. Дрожжи *S. cerevisiae* Y-3980 по показателям физиологической и бродильной активности не уступали контрольному варианту – штамму *S. cerevisiae* Litto-Levure.

**Минеральный состав игристых вин и штаммов дрожжей,  
 используемых для их производства**

Элемент	<i>S. cerevisiae</i> Y-3980 (опыт)	<i>S. cerevisiae</i> Litto-Levure (контроль)

	Биомасса, мг/кг (в пересчете на а. с. в.) [22]	Игристое вино, мг/дм <sup>3</sup>	Биомасса, мг/кг (в пересчете на а. с. в.) [22]	Игристое вино, мг/дм <sup>3</sup>
Натрий	251,14±14,08	49,20±1,77	158,86±12,64	54,40±2,09
Калий	6929,71±97,86	212,80±13,70	7622,26±99,43	267,50±18,21
Кальций	20,40±2,08	1,30±0,12	10,91±1,86	0,70±0,06
Магний	258,57±20,88	128,50±10,25	325,42±28,97	130,50±11,70
Литий	0,34±0,03	0,06±0,01	0,14±0,01	0,06±0,01
Железо	2,06±0,15	0,73±0,05	1,77±0,10	0,57±0,04
Кадмий	0,14±0,01	1,30±0,12	0,28±0,02	0,70±0,06
Цинк	4,46±0,42	0,05±0,01	6,09±0,59	0,02±0,00
Медь	5,71±0,50	0,07±0,01	8,86±0,79	0,03±0,00
Свинец	0,48±0,05	0,03±0,01	0,20±0,02	0,03±0,01
Никель	2,03±0,18	0,13±0,01	2,51±0,22	0,11±0,01
Стронций	6,00±0,53	0,06±0,01	3,71±0,39	0,07±0,01
Хром	0,17±0,02	0,40±0,04	0,89±0,08	0,90±0,08
В сумме	7481,21±136,8	394,63±26,11	8141,90±145,12	455,59±32,28

Анализ минеральных веществ в шампанском выявил идентичность состава макро- и микроэлементов в обоих вариантах; их суммарное содержание в опыте было несколько ниже данного показателя в контроле. В количественном отношении в обоих вариантах преобладали ионы калия, обеспечивающие бактерицидные свойства вин [1]. Обнаружено, что общее содержание микроэлементов в опытном варианте шампанского на 13,6% выше по сравнению с контролем, при этом повышена концентрация таких металлов, как цинк, медь, кадмий и железо. Цинк необходим для работы более 300 ферментов в организме человека, токсичность этого элемента проявляется при дозировках, в сотни раз превышающих концентрацию в исследуемых нами образцах. Определенное соотношение уровней цинка и меди влияет на содержание в крови липопротеинов, работу антиокислительных ферментов. Известна взаимосвязь между цинком и кадмием, физиологическая роль которого заключается в связывании и транспорте тяжелых металлов с низкомолекулярными белками [23]. Анализ концентрации ионов свинца, никеля, лития и стронция в шампанском продемонстрировал отсутствие значительной разницы между контрольным и опытными вариантами, содержание хрома было меньше в 2,5 раза в опыте. В исследуемых нами образцах концентрации микроэлементов находились в пределах нормы, были в десятки раз ниже их токсических доз и практически не влияли на вкус вина [24].

Таким образом, установлено, что опытные варианты биомассы отличались повышенной концентрацией ионов натрия и кальция, оказывающих влияние на физиологическую активность дрожжей. Комплекс макро-, микроэлементов в биомассе *S. cerevisiae* Y-503 и *S. oviformis* M-12X, и биологически активные вещества геотермальной воды в составе среды выращивания, в процессе аэробного культивирования способствовали улучшению биотехнологических показате-

лей дрожжей, важных для хлебопекарного производства; а в процессе анаэробного – интенсификации биосинтеза этанола. Можно предположить влияние ионов кальция, железа, цинка на бродильную активность и устойчивость дрожжей *S. cerevisiae* Y-3980 к стрессовым факторам в условиях вторичной ферментации, а также на формирование технологических и органолептических свойств шампанского вина.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Walker G. Metals in yeast fermentation processes // *Advances in Applied Microbiology*. 2004. Vol. 54. P. 197-229.
2. Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Бондаренко Д.И. Дикарбоксилатный транспортер плазматической мембраны *Saccharomyces cerevisiae* переносит цитрат и модулируется катионами // *Биологические мембраны*. 2008. Т. 25, № 6. С. 467-478.
3. Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Лагутина Л.С. Транспорт сукцината в клетки *Saccharomyces cerevisiae* после продолжительной холодовой преинкубации // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2009. Т. 45, № 5. С. 577-485.
4. Zhao X.Q., Bai F.W. Zinc and yeast stress tolerance: micronutrient plays a big role // *Biotechnology*. 2012. Vol. 158, Issue 4. P. 176-183.
5. Особенности изменения содержания субстратов эндогенного дыхания в клетках *Saccharomyces cerevisiae* при низкой температуре / Д.А. Аливердиева, Д.В. Мамаев, Л.С. Лагутина, К.Ф. Шольц. // *Биохимия*. 2006. Т. 71, № 1. С. 50-58.
6. Improving industrial yeast strains exploiting natural and artificial diversity / J. Steensels, T. Snoek, E. Meersman, N.M. Picca, K. Voordeckers, K.J. Verstrepen // *Microbiology Reviews*. 2014. N 38. P. 947-995.
7. Matallana E., Aranda A. Biotechnological impact of stress response on wine yeast // *Lett. Appl. Microbiol.* 2017. Vol. 64 (2). P. 103-110.
8. Новая питательная среда для выращивания дрожжей / Ш.А. Абрамов, С.Ц. Котенко, Д.А. Эфендиева, Э.А. Халилова, Э.А. Исламмагомедова, С.М. Даунова // *Прикладная биохимия и микробиология*. 1995. Т. 31, № 2. С. 232-233.
9. Исламмагомедова Э.А., Халилова Э.А., Котенко С.Ц. Использование геотермальных вод Дагестана в научных исследованиях и биотехнологических процессах // *Аридные экосистемы*. 2016. Т. 22, № 2 (67). С. 63-71.
10. Torresi S., Frangipane M.T., Anelli G. Biotechnologies in sparkling wine production, Interesting approaches for quality improvement: A review // *Food Chemistry*. 2011. N 129. P. 1232-1241.
11. New insights into the physiological state of *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol acclimation for producing sparkling wines / A. Borrull, G. Lopez-Martínez, E. Miro-Abella, Z. Salvado, M. Poblet, R. Cordero-Otero, N. Rozes // *Microbiology*. 2016. N 5. P. 20-29.
12. Nicola R., Walker G. Interaction between yeasts and zinc // *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*. 2009. P. 237-257.
13. Copper tolerance and biosorption of *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation / X.Y. Sun, Y. Zhao, L.L. Liu, B. Jia, F. Zhao, W.D. Huang, J.C. Zhan // *PLoS One*. 2015. 10(6): e0128611. DOI: 10.1371/journal.pone.0128611 (дата обращения: 10.02.2017).
14. Galani-Nikolakaki S., Kallithrakas-Kontos N., Katsanos A.A. Trace element analysis of Cretan wines and wine Products // *The Science of the Total Environment*. 2002. N 285. P. 155-163.



15. Биотехнология активного синтеза этанола в сбраживаемой среде на основе использования геотермальной воды нефенольного класса / Ш.А. Абрамов, Э.А. Халилова, Э.А. Исламмагомедова, С.Ц. Котенко, С.О. Магадова // Вестн. Даг. науч. центра. 2009. № 34. С. 21-28.

16. Физиолого-биохимические особенности винного штамма *Saccharomyces cerevisiae* Y-3980 / С.Ц. Котенко, Э.А. Халилова, Э.А. Исламмагомедова, Д.А. Аливердиева // Фундаментальные исследования. 2015. № 7. С. 255-259.

17. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. М, 1984. С. 21-229.

18. Котенко С.Ц., Исламмагомедова Э.А., Халилова Э.А. Ферментативная активность и морфологические особенности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-503 при культивировании в аэробных и анаэробных условиях // Юг России. 2010. № 1. С. 12-16.

19. Nicola R., Walker G. Accumulation and cellular distribution of zinc by brewing yeast // Enzyme and Microbial Technology. 2009. Vol. 44, Issue 4. P. 210-216.

20. The role of trace metals in wine 'reduction' / M. Viviers, M. Smith, E. Wilkes, P. Smith, D. Johnson // Wine & Viticulture Journal. 2014. N 29 (1). P. 38-40.

21. Heavy metal uptake in the enological food chain / M.G. Volpe, F. Cara, F. Volpe, A. Mattia, V. Serino // Food Chemistry. 2009. N 117(3). P. 553-560.

22. Котенко С.Ц., Исламмагомедова Э.А., Халилова Э.А. Биотехнологические свойства нового штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-3980 // Изв. высш. учеб. заведений. Сев.-Кавк. регион. Естеств. науки. 2016. № 4. С. 45-49.

23. Особенности состава виноградного сусла и вина [Интернет-ресурс]. URL: <http://www.znaytovar.ru/new2984.html> (дата обращения: 10.02.2017).

24. ГОСТ Р 51165-2009. Российское шампанское. Общие технические условия : Введ. 2011. М.: Изд-во стандартов, 2011. 12 с.

Поступила в редакцию 26.04.2017 г.

Принята к печати 30.06.2017 г.