

ИТОГОВЫЙ ОТЧЕТ  
о проделанной работе обладателей грантов  
Государственного Совета Республики Крым молодым ученым  
Республики Крым имени Н. Я. Данилевского

«Изучение биотехнологического потенциала дрожжей вида  
*Lachancea thermotolerans* для применения их в виноделии»

Отраслевые технологии

Семенова Карина Александровна

Младший научный сотрудник лаборатории микробиологии

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский  
национальный научно-исследовательский институт виноградарства и  
виноделия «Магарач» Национального исследовательского центра  
«Курчатовский институт»

Ялта, 2025

## 1. Описание научного проекта.

Кислотность – один из важнейших показателей химического состава винограда и вина, который влияет на формирование вкусовых качеств будущего продукта. Этот показатель в основном зависит от сорта винограда, почвенно-климатических и агротехнологических условий его возделывания. Высокая кислотность придаёт вину свежесть и яркость, а также помогает сохранить его ароматические качества и обеспечивает микробиологическую стабильность в процессе выдержки и хранения.

Данный проект направлен на комплексное изучение биотехнологического потенциала использования дрожжей вида *Lachancea thermotolerans* с целью оценки возможности их применения в винодельческой промышленности для увеличения содержания молочной кислоты в вине и улучшения его сенсорных характеристик.

**2. Цель проекта** – изучение вида дрожжей *Lachancea thermotolerans* для рекомендации по их применению в винодельческой отрасли, с целью улучшения качества продукции и обеспечения её стабильности.

### Задачи проекта:

- Исследовать штаммы дрожжей вида *L. thermotolerans* из коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач» и других коллекций.
- Идентификация штаммов дрожжей вида *L. thermotolerans* для подтверждения видовой принадлежности.
- Оценить морфолого-культуральные и технологические свойств исследуемых штаммов.
- Осуществить подбор режимов и параметров брожения с использованием дрожжей вида *L. thermotolerans* для применения при первичном брожении.
- Провести сравнительный анализ качества вина с использованием традиционных и новых штаммов дрожжей.

- Получить данные для рекомендации к использованию полученных штаммов для дальнейшей апробации в условиях производства.

**3. Все запланированные научные результаты были достигнуты.**

**4. Сведения о фактически проделанной работе, полученные результаты.**

В рамках выполнения проекта были проведены комплексные исследования, направленные на изучение биотехнологического потенциала дрожжей вида *Lachancea thermotolerans* с целью оценки возможности их применения в винодельческой отрасли для улучшения качества и стабильности продукции.

#### **Объекты и методы проведения исследований**

В ходе выполнения проекта были исследованы 19 штаммов дрожжей вида *Lachancea thermotolerans* из коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач» и рабочей коллекции Наумовой Е.С.

Идентификацию исследуемых штаммов дрожжей осуществляли с применением молекулярно-генетических методов. Видовую принадлежность подтверждали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом амплифицированных фрагментов ДНК с использованием эндонуклеаз AspLE I, Hae III и Hinf I.

Оценку морфолого-культуральных и технологических свойств штаммов проводили в лабораторных условиях на синтетической питательной агаризованной среде YPD (глюкоза – 10 %, фруктоза – 10 %, пептон – 2 %, дрожжевой экстракт – 1 %, агар-агар – 2 %, желатин – 1 %).

Способность к образованию сероводорода оценивали методом пробы с уксуснокислым свинцом на виноградном сусле. Фильтровальную бумагу нарезали на бумажные полоски, пропитывали 5% раствором уксуснокислого свинца и помещали в пробирку под ватную пробку сразу после посева культуры. Полоски располагали на одинаковом расстоянии от уровня сусла. По

истечению 7 дней визуально оценивали степень почернения бумаги в следствие образования сульфида свинца.

Оценку холодо- и термостойкости, спиртовыносливости и кислотовыносливости проводили по ростовой реакции клеток дрожжей на низкие и высокие температуры, высокие значения спирта и низкие значения рН среды. Оценку устойчивости штаммов к стрессовым факторам проводили при температуре 10 °С (холодоустойчивость) и 37 °С (термоустойчивость), при содержании этилового спирта 6, 8, 10 и 12 % об. (спиртовыносливость), а также при значении рН среды 2,6 (кислотовыносливость). Трёхсуточную разводку культур на виноградном сусле вносили в репликаторы по 200 мкл и переносили в чашки Петри с агаризованной средой. Температура культивирования культур при оценке спиртовыносливости и кислотовыносливости находилась в пределах  $24 \pm 0,5$  °С. Осмотр чашек проводили ежедневно в течение 5 суток. Визуально отмечали ростовую реакцию изолятов на заданные условия культивирования (наличие роста, отсутствие роста).

Синтез органических кислот изучали на синтетической среде YNB с корректировкой содержания сахаров до 220 г/л (глюкоза и фруктоза в соотношении 1:1). Внесение трёхсуточной разводки дрожжей проводили в стерильных условиях, культивирование проводили при температуре  $21 \pm 0,5$  °С, в течение 21 суток. Количественное определение органических кислот осуществляли методом капиллярного электрофореза с использованием системы «Капель-105М».

Получение виноматериалов из сорта Мускат Розовый с применением дрожжей вида *Lachancea thermotolerans* проводили по технологии производства белых вин в условиях микровиноделия. Брожение проводили по нескольким схемам внесения культур – при последовательной схеме внесения использовали стартовую культуру *L. thermotolerans* с последующим внесением *Saccharomyces cerevisiae* на 2-е, 4-е и 6-е сутки. Совместная схема

предусматривала коинокуляцию дрожжей видов *S. cerevisiae* и *L. thermotolerans* в соотношении 1:10, 1:50 и 1:100 соответственно. Полученные виноматериалы оценивали по физико-химическим и органолептическим параметрам.

### **Основные результаты исследования**

Проведённая идентификация показала, что все исследуемые штаммы генетически подтверждены как представители вида *L. thermotolerans*. Анализ морфолого-культуральных свойств не выявил существенных различий в размерах и форме клеток. При культивировании на виноградном сусле отмечалось образование кольца, при этом образование поверхностной плёнки не выявлено ни у одного из штаммов.

В ходе оценки технологических свойств установлена значительная вариабельность штаммов по способности к образованию сероводорода. Полное отсутствие его продуцирования отмечено у трёх штаммов, незначительное и среднее образование сероводорода было отмечено у 10 штаммов. В то же время высоким образованием компонента характеризовались 6 штаммов, что снижает их технологическую значимость.

Оценка ростовой реакции штаммов дрожжей показала, что низкие температуры практически не влияли на рост и развитие всех исследуемых штаммов, что свидетельствует об их высокой холодоустойчивости. Высокие температуры не оказали ингибирующего влияния на развитие штаммов, рост был отмечен уже на следующие сутки после внесения. Полное отсутствие роста отмечено у 4 штаммов.

При изучении спиртовыносливости показано, что все штаммы способны развиваться при содержании этилового спирта 6 % об. Повышение концентрации спирта до 8 % об. приводило к ингибированию роста восьми штаммов, тогда как при 10 % об. низкая устойчивость была отмечена лишь у двух штаммов.

Оценка способности штаммов к адаптации в высоко-кислотной среде показала, что только 6 штаммов данного вида не способны развиваться при таких условиях.

Исследование способности к синтезу органических кислот показало, что наибольшее продуцирование молочной кислоты характерно для шести штаммов. При этом два штамма отличались повышенным образованием летучих кислот, что снижает их технологическую ценность. Синтез винной, яблочной и лимонной кислот исследуемыми штаммами не выявлен.

По совокупности технологических показателей из 19 штаммов были отобраны два наиболее перспективных штамма для дальнейших исследований, характеризующиеся высоким уровнем синтеза молочной кислоты, отсутствием или низкой способностью к образованию сероводорода, отсутствием продуцирования уксусной кислоты, средней и высокой холодоустойчивостью, устойчивостью к содержанию этилового спирта до 8 % об. и средней кислотоустойчивостью.

На этапе первичной апробации был проведён подбор режимов брожения. При последовательной схеме внесения использовали стартовую культуру *L. thermotolerans* с последующим внесением *Saccharomyces cerevisiae* на 2-е, 4-е и 6-е сутки. Совместная схема предусматривала коинокуляцию дрожжей видов *S. cerevisiae* и *L. thermotolerans* в соотношении 1:10, 1:50 и 1:100 соответственно. Виноматериалы из винограда сорта Мускат розовый готовили по белому способу.

Установлено, что при последовательной схеме внесения с использованием одного из отобранных штаммов *L. thermotolerans* наблюдалось увеличение массовой концентрации молочной кислоты с 0,6 до 1,3 г/л. При совместной схеме внесения существенного увеличения данного показателя не выявлено. Дегустационная оценка показала более высокие баллы у образцов, полученных при последовательной схеме внесения дрожжей на 2-е и 6-е сутки брожения.

## **Выводы**

1. Штаммы характеризуются выраженной вариабельностью по ключевым технологическим признакам, включая устойчивость к стрессовым факторам и способность к синтезу органических кислот.
2. Отобраны два штамма с оптимальным сочетанием технологически значимых свойств, перспективных для применения в виноделии.
3. Показано преимущество последовательной схемы инокуляции с использованием *L. thermotolerans* для повышения содержания молочной кислоты и улучшения органолептических характеристик виноматериалов.
4. Цель проекта достигнута, полученные результаты позволяют рекомендовать отобранный штамм для дальнейшей производственной апробации.

**Заключение.** В ходе выполненной работы комплексно исследованы 19 штаммов дрожжей вида *L. thermotolerans*, изучены их морфолого-культуральные, технологические свойства, устойчивость к стрессовым факторам, способность к синтезу органических кислот. По результатам технологической и органолептической оценки дрожжей вида *L. thermotolerans* был отобран 1 перспективный штамм для дальнейших исследований. Получены предварительные данные по режимам и параметрам брожения с применением данной культуры.

**Научная новизна** работы заключается в проведении комплексной оценки штаммов дрожжей вида *Lachancea thermotolerans* из отечественных коллекций с учётом их морфолого-культуральных, физиолого-биохимических и технологических характеристик. Впервые для исследуемых штаммов проведено системное сопоставление устойчивости к стрессовым факторам винодельческого процесса с их способностью к синтезу молочной кислоты и влиянию на качество виноматериалов при различных схемах инокуляции. Полученные результаты расширяют представления о биотехнологическом

потенциале данного вида дрожжей и обосновывают целесообразность их применения в современных технологиях виноделия.

**Теоретическая значимость.** Работа расширяет научные представления о физиолого-биохимических и технологических особенностях дрожжей вида *Lachancea thermotolerans* и их роли в процессах брожения. Полученные данные показывают большие штаммовые различия, позволяют уточнить влияние различных схем инокуляции на формирование качества виноматериалов.

**Практическая значимость.** Результаты работы могут быть использованы для оптимизации технологии естественного повышения кислотности и улучшения органолептических показателей продукции. Отобранный штамм дрожжей рекомендован для применения на производстве, особенно при переработке винограда с пониженной кислотностью.

**5. Все планируемые работы выполнены полностью.**

**6. Нет.**

**7. Нет.**

**8. Выступления на научных конференциях -**

Стендовый доклад на тему «*Lachancea thermotolerans* – перспективы применения в виноделии» на Международной научно-практической конференции: «Современные тенденции науки и образования в области виноградарства и виноделия», посвященной 180-летию со дня рождения Льва Сергеевича Голицына, НИЦ «Курчатовский институт» - «Магарач» (Ялта, 10 сентября 2025).

**9. К реализации проекта привлекались ученые – да.**

Заведующий лабораторией микробиологии Шаламитский М.Ю., старший научный сотрудник лаборатории микробиологии Червяк С.Н. в целях научного консультирования проекта.

Младший научный сотрудник лаборатории микробиологии Луткова Н.Ю. с целью проведения части опытов по технологическим параметрам.

Младший научный сотрудник лаборатории хранения винограда Романов А.В. с целью проведения количественного анализа органических кислот на синтетической среде с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель-105М»

10. Нет.

11. Нет.

12. Расходование средств обладателей грантов Государственного Совета Республики Крым молодым ученым Республики Крым имени Н. Я. Данилевского:

№ п/п	Направления расходования средств гранта	Сумма расходов (тыс. рублей)
1.	Реактивы и расходные материалы	61 500,0
2.	Лабораторная посуда	53 400,0
3.	Источник питания BioRad PowerPac Basic	40 000,0
4.	Заработная плата	106 100,0
5.	НДФЛ	39 000,0
Итого		300 000,0

29.12.2025.

(Дата)



(Подпись)

Семенова Т.А.

(Расшифровка подписи)