

НОВЫЕ ДРОЖИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НАТУРАЛЬНО-КРЕПКИХ СТОЛОВЫХ ВИН

Целый ряд производств микробиологической промышленности использует специальные штаммы, выведенные в селекционно-генетических лабораториях с применением мутагенов. К их числу относятся микроорганизмы, применяемые в производстве антибиотиков, витаминов, ферментов, аминокислот и др.

Исключение составляют дрожжи, применяемые в виноделии. Как в отечественной, так и в мировой литературе не описаны селекционные штаммы и тем более культуры, выведенные с использованием мутагенов. В виноделии используются природные дрожжи, отбираемые из естественных субстратов.

В создании штаммов с заданными свойствами представляет интерес проведение селекции винных дрожжей с использованием мутагенов.

С этой целью нами проведены работы, как с различными дрожжами, используемыми в виноделии Армении, так и с дрожжами для изготовления натурально-крепких столовых вин, повышения их активности спиртонаквливающей способности.

В качестве мутагенов были использованы ультрафиолетовые лучи, пары диэтилсульфата и комбинация этих мутагенов.

Изучения посвященные использованию индуцированной изменчивости в селекции микроорганизмов наиболее обширно представлены у актиномицетов-продуцентов антибиотиков. Сведений по индуцированной изменчивости у винных дрожжей нет. Имеются лишь данные по спонтанной изменчивости. В течение всей истории виноделия микроорганизмы обязательные компоненты его производства считались естественными участниками брожения. Дрожжи "попадали" в сусло из окружающей среды, с субстрата.

Работы по получению чистых культур дрожжей для винодельческой промышленности в нашей стране были начаты еще в прошлом веке (1891г.) в Магарачской биохимической лаборатории Никитского ботанического сада химиком-виноделом Саломоном. Он первый про-

водил в Магарачском подвале сбраживание виноградного сусла на чистых культурах дрожжей. Затем эти работы были продолжены Рудзским (1893) и Ховренко (1893-1908), выделившими ряд местных чистых культур дрожжей и установивших их преимущество перед западноевропейскими.

Чербаков (1909) исследовал динамику брожения в различных температурных условиях десяти местных крымских и бессарабских рас, сравнивая их с западноевропейскими культурами дрожжей для виноделия.

С 1908 г. по свидетельству Фролова-Багреева (1913), все вина "Магарачского" подвала сбраживались на чистых культурах, причем местные расы всегда давали лучший результат по сравнению с западноевропейскими (Саенко, 1950).

Квасников и Хролова (1948) выделили много местных рас дрожжей, из них некоторые: Ркацителы - 6, Сапераны - 46 и ВМР-3 широко внедрены в производство различных районов Средней Азии.

Путем отбора по признаку кислотоустойчивости из Феодосийского и Судакского районов - Одицовой и Бурьяном была выделена активная пылевидная раса Феодосия I-19, сохраняющая жизнеспособность и крупный размер своих клеток даже при pH 2,5. Эта раса дрожжей обладает ценными производственными качествами: быстро размножается, энергично бродит, хорошо дображивает.

В Армении исследования микрофлоры винограда и местных вин были начаты в 1927 г. Здесь впервые были выделены пленкообразующие дрожжи для хересного производства. Простосердовым, Африкьяном (1933, 1935) были выделены хересные дрожжи Аштарак-53, Кудрявцевым (1936) изучены дрожжи некоторых районов виноделия Армении и дана их характеристика. Диланяном (1948), выделены ряд культур дрожжей примененных для получения хереса без пленки; Саруханяном (1960) дана оценка культуральных и биологических особенностей чистых культур некоторых производственных дрожжей. По выявлению дрожжевой флоры виноделия республики проведены также работы Ахияном (1958), Мовсисяном (1959) и Севоян (1971). Авакяном (1966, 1975), Даниелян (1976) изучено распространение дрожжей в различных винодельческих зонах Армении и выделено около 1500 штаммов дрожжей девяти родов, девятнадцать видов. В результате отбора из них выделено 17 новых активных штаммов винных дрожжей для применения в производстве различных типов вин.

Унаиан Е. (1966) при обследовании осадков и пленок молодых вин-заводов Паракарского, Эчмадзинского, Октемберянского районов был выделен ряд перспективных штаммов для хересного производства.

Применение мутагенных факторов знаменует собой новый этап в истории селекции вообще и, в частности, селекции микроорганизмов (Алиханян, 1961).

Алиханян, Налбандян, Авакян (1971) первыми изучив действие ультрафиолетовых лучей, диэтилсульфата в парообразной форме и их комбинации на изменчивость винных дрожжей, выяснили выживаемость, степень изменчивости и условия получения активных культур дрожжей с ценными свойствами для производства.

При изготовлении натурально-крепких столовых вин отбирается виноградный сок с высокой концентрацией сахара (30% и выше). Экспериментально доказано, что дрожжи в 25%-ом растворе виноградного сахара должны преодолеть противодействие - 58 атм. Оказалось, что повышение концентрации сахара значительно замедляет темп брожения, отрицательно влияет на жизнеспособность дрожжей и нарастающую концентрацию спирта в среде.

Для изготовления натурально-крепких столовых вин из высокосахаристых сортов винограда, применяемые в практике штаммы дрожжей недостаточно эффективны и иногда штамм теряет свою активность.

В виноделии республики для изготовления натурально-крепких столовых вин применяется штамм дрожжей *Sacch vini* Агавнатун-3 (А3), который накапливает в бродящей среде до 13,7 об% спирта.

После отбора чистых клонов дрожжи нами подвергались обработке мутагенами.

Методика обработки диэтилсульфатом. Диэтилсульфат (ДЭС) применялся в парообразном виде в специальной камере воздействия по разработанной нами методике. В начале готовится водная суспензия двухсуточных дрожжевых культур, с густотой 108 клеток в мл. Берутся стерильные фильтровальные бумаги, диаметром 8 - 9 см, на которые наносятся по 2 мл суспензии и просушиваются в шкафу, при температуре 25-28°, сохраняя все условия стерильности в течение 2-3 часов. После этой операции на фильтровальной бумаге остаются только дрожжевые клетки. Одна из этих бумаг с

дрожжами сохраняется без воздействия химического мутагена в качестве контроля, а остальные подвергаются воздействию паровозного ДЭС в специальной, герметически закрытой стеклянной камере, на дне которой всегда (сначала и до конца опыта) находится жидкий ДЭС, в результате его испарения в камере создается атмосфера этого мутагена. После соответствующей экспозиции фильтровальные бумаги вынимаются из камер и в колбах объемом 50 мл суспензируются смывом на встряхивателе в 10 мл стерильной водопроводной воде. Для удаления частиц фильтровальной бумаги, смыв фильтруется ватным фильтром в стерильных условиях в отдельную просирку. Вновь полученная суспензия высевается на поверхности соответствующей твердой питательной среды в чашках Петри для дальнейших исследований.

Методика обработки ультрафиолетовыми лучами. Была использована методика, разработанная сотрудниками ВНИИ "Генетика". Источником УФ лучей служили газоразрядные две бактерицидные лампы БУВ-15, расположенные горизонтально в одной плоскости.

Водные суспензии двухсуточных исходных дрожжей облучались в открытых чашках Петри, диаметром 7-8 см на расстоянии 15 см от источника света, при равномерном перемешивании суспензии. В каждую чашку наливалось по 4 мл суспензии с таким расчетом, чтобы высота жидкости не превышала 2 мм. Часть исходной суспензии оставлялась в качестве контроля. Перед облучением лампы прогревались в течение 10-15 минут. Во избежание фотореактивации все операции во время облучения и при рассеивании облученного материала проводились при красном свете. Необлученные и облученные суспензии высевались на поверхности соответствующей твердой питательной среды в чашках Петри.

Методика комбинированной обработки диэтилсульфатом и ультрафиолетовыми лучами. При комбинированном воздействии диэтилсульфатом и ультрафиолетовыми лучами часть исходной суспензии обрабатывалась паровозным диэтилсульфатом, как описывалось выше, затем водная суспензия этих дрожжей облучалась ультрафиолетовыми лучами (другая часть служила контролем).

Питательные среды. Для выращивания и изучения исследуемых культур применялись следующие питательные среды: солодовое су-ло 7⁰. Балл. +2% агара; тиражное вино + 2% агара; виноградное

сусло сахаристостью 20-30% из различных сортов винограда, тиражное вино из шампанских сортов винограда крепостью 10,9 об% + 2,2 - 5,2 % сахарозы, хересный виноматериал крепостью 15,5 - 17,5 об%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Морфологическое изменение. Исходные дрожжи (Агавнатун 3-54/93) подвергали воздействию физических, химических мутагенов или их комбинацией (Алиханян, Налбандян, 1971). При облучении УФ-лучами применяли дозы от 500 до 4500 эрг/мм². Диэтилсульфат применялся в парообразном состоянии в экспозициях 25, 50, 75, 100 часов. В таблице I приведены результаты опыта по влиянию УФ-лучей различной интенсивности на выживаемость и морфологическую изменчивость дрожжей А 3-54/93. Как видно из таблицы, при облучении дрожжей УФ-500 эрг/мм² выживаемость составляет 37,8%. Самая низкая выживаемость - 0,0018%, зарегистрирована при дозе УФ-4000 эрг/мм². Естественная изменчивость у дрожжей А3-54/93 составляет 4,9%. Высокий процент (54,2 - 70,2) морфологических вариантов встречается при дозах УФ от 2000 до 4000 эрг/мм². Среди изменившихся колоний наибольшую долю составляют карликовые колонии. Встречаются также цветные мутанты от белых до бурых оттенков, колонии с шероховатыми, неровными краями, с зернистой поверхностью. Колонии из расщепов шероховатых вариантов, а также карликовых, полученные с помощью мутагенов, имели ту же конфигурацию, что в момент отбора.

Изучение вариантов колоний по величине из расщепов контрольных и обработанных мутагенами дрожжей на 7-й день роста представлены на рис. I в виде гистограмм. Как видно из этих данных (гистограмма А) колонии из расщепов необлученных дрожжей А3-54/93 имеют размеры от 4,0 до 6,0 мм. После облучения их УФ - 1000 эрг/мм² (гистограмма Б) наряду с неизменившимися формами наблюдаются новые варианты, в количестве 25%, имеющие размеры от 2,0 до 3,9 мм. В гистограмме В показано распределение вариантов дрожжей по величине, полученных после их обработки УФ интенсивностью 2000 эрг/мм².

Таблица 1

Выживаемость и морфологическая изменчивость
дрожжей Агавнатун 3-54/93 под воздействием УФ-лучей
различной интенсивности

Наименование культур	Доза УФ эрг/мм ²	Количество живых клеток в 1 мл суспензии	Выживаемость (%)	Морфологическая изменчивость %
Агавнатун 3-54/93	Контроль	109,85.10 ⁴	100	4,9
"	500	41,52.10 ⁴	37,8	22,3
"	1000	19,22.10 ⁴	17,5	35,1
"	2000	5,51.10 ⁴	3,2	54,2
"	3000	1,09.10 ³	0,1	68,2
"	4000	0,11.10 ²	0,0018	70,2

Таблица 2

Выживаемость дрожжей Агавнатун 3-54/93-319
при обработке паровым ДЭС, УФ лучами и их комбинацией

Наименование культур	Доза УФ лучей эрг/мм ²	Время действия ДЭС/час	Живые клетки в 1 мл суспензии	% выживаемости
Агавнатун 3-54/93-319	Контроль		753,0.10 ³	100
"	1000	-	344,8.10 ²	4,58
"	2000	-	1,5.10 ²	0,02
"	-	25	235,0.10 ³	31,19
"	-	50	8,30.10 ²	0,11
"	-	75	6,40.10 ²	0,084
"	1000	25	2,75.10 ²	0,036
"	2000	25	0,00	0,00
"	500	50	1,30.10 ²	0,017
"	1000	50	0,00	0,00
"	250	75	1,70.10 ²	0,022
"	500	75	3,5.10	0,0046

Как видно из данных гистограммы, в результате облучения появились 53% новых вариантов, размеры которых резко отличаются от контрольных, из них 36% имеют размеры 1,0 - 3,9 мм, 15% от 6,1 до 9,9 мм. Количество неизменных по величине колоний равняется 47%. Колонии из рассева дрожжей АЗ - 54/93 после радиации УФ интенсивностью 4000 эрг/мм², на 7-й день роста имели размеры от 0,4 до 3,9 мм (70%) и 6,1 - 7,9 мм (6%).

Нами испытывалось также влияние паровоздушного ДЭС, УФ лучей и их комбинация на выживаемость и морфологическую изменчивость дрожжей АЗ-54/93-319 (таблица 2).

Как видно из этих данных при обработке клеток АЗ-54/93-319 паровоздушным ДЭС в течение 25, 50, 75 часов выживаемость варьирует между 31,2 и 0,08%. Дальнейшее повышение времени действия ДЭС до 100 часов приводило к полной гибели этих дрожжей.

Дрожжи полностью гибли также при комбинированной обработке ДЭС-24 часов + УФ - 200 эрг/мм² и ДЭС - 50 часов + УФ - 1000 эрг/мм². Низкий процент выживаемости (0,02 и 0,004) зарегистрирован при обработке ДЭС - 75 часов + УФ - 250 и 500 эрг/мм².

Данные таблицы 3 показывают результаты измерения размеров колоний из рассева контрольных и обработанных мутагенами дрожжей АЗ-54/93-310 на 7-й день инкубации. Как видно из этих данных варианты из рассева необработанных дрожжей имеют размеры 3,5 - 5,49 мм.

Больше всего "минус" вариантов (86%) образовалось при действии ДЭС в течение 25 часов и в случае комбинированной обработки ДЭС - 25 часов + УФ - 1000 эрг/мм² - 64%.

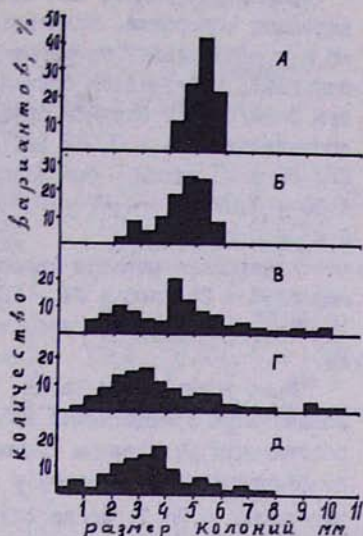


Рис. 1. Изменение размера колоний у дрожжей АЗ-54/93 под воздействием УФ-лучей: А-контроль; Б-УФ-1000 эрг/мм²; В-УФ-2000 эрг/мм²; Г-УФ-3000 эрг/мм²; Д-УФ-4000 эрг/мм².

Сравнение средних величин колоний, полученных путем биометрической обработки, показывает (табл.4), что между контрольными и обработанными мутагенами дрожжами, по рассматриваемому признаку, наблюдается большая разница. Если у дрожжей Агавизтун 3-54/93-319 средняя арифметическая (по величине колонии) составляет $4,74 \pm 0,042$ мм, то после обработки ДЭС в течение 25, 50 и 75 часов - она равнялась соответственно $2,87 \pm 0,070$ мм, $3,80 \pm 0,087$ мм; $4,07 \pm 0,082$ мм, при облучении УФ - 1000 эрг/мм^2 - $6,61 \pm 0,204$ мм.

Уменьшение размера колоний наблюдается и при комбинированном (ДЭС - 25 час. + УФ - 1000 эрг/мм^2 и ДЭС - 75 час. + УФ - 250 эрг/мм^2) действии соответственно $2,87 \pm 0,212$ мм и $3,49 \pm 0,354$ мм.

Было установлено также, что существует заметная разница по показателям коэффициента изменчивости между контрольными и обработанными мутагенами дрожжами. Из данных таблицы 4 видно, что коэффициент изменчивости у штамма А 3-54/93-319 (контрольная) равняется 8,96 %, после облучения УФ - 1000 эрг/мм^2 доходит до 30,86 %, а после обработки ДЭС в экспозициях 25, 50 и 75 часов составляет соответственно 24,39; 23,02; 20,14%.

Резкое повышение коэффициента изменчивости по рассматриваемому признаку отмечается в случае комбинированной обработки дрожжей ДЭС в экспозиции 25 часов + УФ - 1000 эрг/мм^2 (60,62%) и ДЭС 75 часов + УФ - 250 эрг/мм^2 (66,19%).

Влияние мутагенов на изменчивость физиолого-биохимической активности винных дрожжей и отбор ценных культур.

Для оценки вариантов по способности накапливать спирт при брожении высокосахаристого (30%) сусла было выделено 50 вариантов штамма А3-54/93. Из опыта по обработке УФ по 100 из каждой дозы и контроля, т.е. рассева клеток не обработанных мутагенами. Отбор колоний проводится без учета морфологической изменчивости.

Брожение осуществлялось в пробирках с 10 мл стерильного виноградного сусла из сорта Воскеат (сахаристость 30%, pH 3,64, титруемая кислотность - 8,7 г/л). На 15 день брожения определялось содержание спирта и количество остаточного сахара (уско-

Таблица 3

Количество "плюс" и "минус" вариантов в различных
сериях опытов по величине колоний у дрожжей
Агавнатун 3-54/93-319

Серия опытов	"Минус" варианты	"Нулевые" варианты	"Плюс" варианты
	колонии имеющие размеры 0,1 - 3,49 мм %	колонии имеющие размеры 3,5 - 5,49 мм %	колонии имеющие размеры 5,5 - 13,99 мм %
I. Контроль (без об- работки)	0,0	100,0	0,0
2. Обр. УФ - 1000 эрг/мм ²	55,0	35,0	10,0
3. Обр. ДЭС - 25 часов	86,0	14,0	0,0
4. Обр. ДЭС - 25 часов + УФ - 1000 эрг/мм ²	64,0	33,0	3,0
5. Обр. ДЭС - 50 часов	20,0	73,0	7,0
6. Обр. ДЭС - 75 часов	26,0	73,0	1,0
7. Обр. ДЭС - 75 часов + УФ - 250 эрг/мм ²	48,8	51,2	0,0

Таблица 4

Изменчивость дрожжей Агавинатун 3-54/93-319
в различных сериях опыта

Наименование культур и вариантов обработки	Количество вариантов в опыте n	Средняя арифметическая $M \pm m$	Среднее квадратическое отклонение σ	Коэффициент изменчивости $C = \frac{\sigma \cdot 100}{M}$
А3-54/93-319 (контроль)	100	$4,74 \pm 0,042$	0,42	8,96
-"- обр. УФ-1000 эрг/мм	100	$6,61 \pm 0,204$	2,04	30,86
-"- обр. ДЭС-25 час.	100	$2,87 \pm 0,070$	0,70	24,39
-"- обр. ДЭС-25 час. + УФ-1000 эрг/мм ²	67	$2,87 \pm 0,212$	1,70	60,62
-"- обр. ДЭС-50 час.	100	$3,80 \pm 0,087$	0,87	23,02
-"- обр. ДЭС-75 час.	100	$4,07 \pm 0,082$	0,82	20,14
-"- обр. ДЭС-75 час. + УФ-250 эрг/мм ²	43	$3,49 \pm 0,354$	2,31	66,19

ренным рефрактометрическим методом). На рис. 2 приведены гистограммы распределения вариантов по способности накапливать спирт. Как видно из этих данных, основная масса изменчивости возникает под действием всех доз УФ за счет "минус" вариантов, тогда как "плюс" варианты возникают в опытах с применением умеренных доз УФ (2000 и 3000 эрг/мм²). Если в контроле накопление спирта различными вариантами колебалось от 12,5 об% до 13,7 об%, то в опытах с УФ изменчивость падала до 4,0 об% и повышалась до 15,5 об%. Из 400 индуцированных вариантов этого опыта были отобраны 12 "плюс" вариантов, которые трижды проверены, в опытах со сравнительно большим объемом сусла

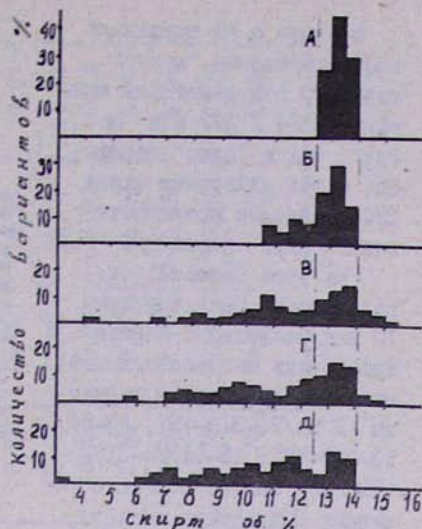


Рис. 2. Способность дрожжей АЗ-54/93 накапливать спирт при брожении высокосахаристого сусла: А-контроль; Б-УФ-1000 эрг/мм²; В-УФ-2000 эрг/мм²; Г-УФ-3000 эрг/мм²; Д-УФ-4000 эрг/мм².

и с применением более точной методики. Для определения крепости использовали пикнометрический метод (по удельному весу). Для определения содержания сахара применяли способ Бертрана. В качестве наиболее активного штамма был отобран вариант АЗ-54/93-319, образующий 15,45 об % спирта, тогда как исходный штамм АЗ-54/93 образовывал только 13,0 %.

На второй ступени отбора обработке мутагенами подвергался вариант АЗ-54/93-319. Изменчивость по спиртообразованию у вариантов штамма АЗ-54/93-319, выращенных из вегетативных клеток, обработанных УФ, ДЭС и комбинацией УФ + ДЭС приведена на рис. 3. Как видно из этих данных, отдельные "плюс" варианты накапливают до 18,0 об % спирта, превосходя исходный штамм А-3 почти на 50%. Заметна разница по изменчивости под действием ДЭС, УФ - лучей и комбинированной обработки ДЭС и УФ - лучами.

В опыте с УФ возникали преимущественно "минус" варианты под действием комбинации УФ и ДЭС как "минус", так и "плюс" варианты, а под действием паров ДЭС возникали преимущественно "плюс" варианты.

На этой (второй) ступени отбора были выделены 10 высокоактивных вариантов. Среди них особого внимания заслуживают 3 варианта АЗ-54/93-319-432, АЗ-54/93-319-582, АЗ-54/93-319-420. Все они полностью сбраживают 30% сахара в сусле, образуя 18,0 об % спирта.

Бродильные свойства вновь выделенных штаммов были тщательно проверены в колбах с высокосахаристым виноградным суслом емкостью 3,0 л. Брожение осуществлялось на исходном штамме А-3

и на вновь выделенных с различных этапов селекции. Для выяснения динамики разложения сахара определения проводились со второго до 15 дня брожения. Как видно из этих данных, исходный штамм А-3 на 15 день брожения накапливает 12,2 об % спирта с остаточным сахаром в сусле 9,7%. Брожение у исходного штамма достигает максимума к пятому дню, образуя 11,8 об % спирта и 10,2% остаточного сахара, практически прекращаясь на 8-9 день брожения. С увеличением концентрации спирта дрожжевые клетки контрольных образцов теряют свою активность брожения.

Среди выделенных из естественного рассева исходного дикого штамма А-3 лучшие варианты АЗ-54 и АЗ-54/93 накапливают на 15 день брожения всего 13,35 и 13,8 об % спирта с 7,75 % и 7,0% остаточного сахара в сусле, тогда как у двух экспериментально

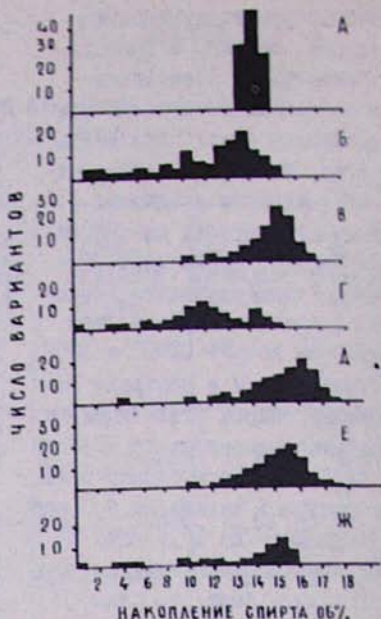


Рис. 3. Способность дрожжей АЗ-54/93-319 накапливать спирт при брожении высокосахаристого сусла: А-контроль Б-УФ лучи-1000 эрг/мм²; В-ДЭС-25 час; Г-ДЭС-25 час.+УФ лучи-1000 эрг/мм²; Д-ДЭС-50 час; Е-ДЭС-75.; Ж-75 час+УФ лучи-250 эрг/мм².

Таблица 5

Динамика разложения сахаров высокосахаристого сусла
и накопления спирта при брожении исходными и вновь
выделенными дрожжами (по дням)

Наименование культур и происхождение	День брожения					
	2-ой	3-ий	4-ый	5-ый	6-ой	7-ой
Агавнатун 3 исходный "дикий" штамм	5,59 ^{x/}	11,25	11,55	11,85	12,00	12,03
	20,75 ^{xx/}	11,25	10,75	10,25	10,00	9,92
Агавнатун 3-54 естественный вар.	7,05	12,15	12,75	13,20	13,27	13,27
	18,25	9,75	8,75	8,00	7,87	7,87
Агавнатун 3-54/93 естественный штамм	4,32	8,55	10,05	11,70	12,60	13,12
	22,75	15,75	13,25	10,50	9,00	8,13
Агавнатун 3-54/93-319	5,02	10,50	12,30	13,72	14,25	14,77
УФ-штамм (из I обраб.)	21,63	12,50	9,50	7,15	6,25	5,38
Агавнатун 3-54/93-319-432	8,40	13,39	15,75	16,80	17,10	17,25
ДЭС - штамм (из II обраб.)	16,00	6,75	3,75	2,00	1,50	1,25

x/ - спирт об %

xx/ - остаточный сахар г/100 мл

Продолжение таблицы 5

Наименование культур и происхождение	День брожения							
	8-ой	9-ый	10-ый	11-ый	12-ый	13-ый	14-ый	15-ый
Агавнатун 3 исходный "дикий" штамм	12,06	12,10	12,15	12,15	12,15	12,15	12,15	12,15
	9,85	9,80	9,75	9,75	9,75	9,75	9,75	9,75
Агавнатун 3-54 естественный вар.	13,27	13,30	13,30	13,35	13,35	13,35	13,35	13,35
	7,87	7,82	7,80	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75
Агавнатун 3-54/93 естествен.штамм	13,35	13,50	13,65	13,70	13,73	13,78	13,80	13,80
	7,75	7,50	7,25	7,15	7,09	7,05	7,00	7,00
Агавнатун 3-54/93-319	14,85	14,92	15,00	15,00	15,00	15,22	15,22	15,22
УФ-штамм (из I обраб.)	5,25	5,13	5,00	5,00	5,00	4,63	4,63	4,63
Агавнатун 3-54/93-319-432	14,40	17,45	17,55	17,70	17,70	17,77	17,85	17,95
ДЭС-штамм (из II обраб.)	1,00	0,96	0,75	0,50	0,50	0,37	0,25	0,08

Таблица 6

Химический состав вина, полученного с исходными и вновь выделенными на различных этапах селекции дрожжами Агавнатун 3 на 15 день брожения

Штамы, происхождение	Спирт об %	Сахар г/100мл	Титруе- мые кис- лоты, г/л	Летучие кислоты, г/л	pH	Альде- гиды мг/л	Апе- тали мг/л	Азот общий мг/л	Азот амин- ный мг/л
Контроль (виноградное сусло)	-	30,0	6,5	0,1	3,64	-	-	1290,0	516,0
A3, исходный штамм	12,5	9,75	6,6	1,1	3,64	19,90	8,52	896,0	215,0
A3-54, естественный штамм	13,35	7,75	6,5	0,9	3,62	20,68	8,78	840,0	210,0
A3-54/93, естественный штамм	13,80	7,00	6,7	0,8	3,60	21,18	9,28	784,0	197,0
A3-54/93-319, УФ-штамм (после 1-й обр.)	15,22	4,63	6,6	0,7	3,58	24,20	11,80	672,0	185,0
A3-54/93-319-432, ДЭС-штамм (после 2 обр.)	17,92	0,08	6,8	0,8	3,59	29,30	12,50	560,0	175,0
A3-54-319-420 ДЭС-штамм (после 2-й обр.)	17,90	0,12	6,7	0,7	3,60	24,20	10,60	558,0	173,0
A3-54/93-319-582, ДЭС+ УФ-штамм (после 2-й обр.)	17,92	0,10	6,7	0,7	3,59	26,30	11,80	562,0	176,0

полученных штаммов АЗ-54/93-319 (на I ступени отбора) и АЗ-54/93-319-432 (на II ступени отбора) брожение протекает энергичнее, образуя к седьмому дню брожения 14,7 и 17,2 об % спирта соответственно с остаточным сахаром 5,38 % и 1,25%. Дальнейшее брожение с участием этих штаммов замедляется. Темпы брожения снижаются и почти останавливаются на 10-11 день. Вино на 15 день брожения имело крепость 15,2 и 17,9 об % соответственно с остаточным сахаром 4,63 и 0,08%.

Как видно из этих данных, штамм АЗ-53/93-319-432, полученный на второй ступени отбора с применением ДЭС, на 15 день почти полностью обрабатывает сахар в сусле, оставляя в нем следы (0,08 %).

Активность бродильных свойств этих штаммов изучалась в колбах емкостью 250 мл с 150 мл виноградного сока, с сахаристостью 30%, кислотностью 6,5 г/л. В сусло вносились клетки испытуемых штаммов с одинаковым титром. Для определения выделявшейся углекислоты колбы ежедневно взвешивались. По интенсивности выделения и общему количеству углекислоты судили о обрабатывающей способности (активности) дрожжей.

Из полученных данных видно, что наименьшее количество углекислоты выделялось в колбах с "диким" штаммом А-3, а наибольшее количество углекислоты в колбах со штаммами АЗ-54/93-319-432, АЗ-54/93-319-420 и АЗ-54/93-319-582.

Наряду со спиртонакапливающей способностью при применении выделенных штаммов в полученном виноматериале проводилось изучение ряда показателей.

Из данных таблицы 6 видно, что наиболее высокая крепость обнаружена в виноматериалах, полученных на мутантных формах Агавнатурн 3-54/93-319; АЗ-54/93-319-432 и АЗ-54/93-319-582. В этих случаях был зарегистрирован и минимальный остаточный сахар. В этих пробах ниже содержание общего и аминокислотного азота. По другим показателям разницы нет.

Таким образом можно заключить, что полученные дрожжи отличаются высокой спиртонакапливающей способностью. Они не теряют своей активности по спиртовыводности и способны полностью выбраживать виноградное сусло с высокой сахаристостью (до 30%). Полученные вина отличаются хорошим вкусом и букетом и относятся к числу высококачественных натурально-крепких вин.

Полученные мутантные формы сохраняются на различных средах, как музейные для передачи на производство.

ЛИТЕРАТУРА

- Щербаков Е.Я. Об изменчивости и селекции *Asp. niger* используемых в промышленности для получения лимонной кислоты.
- Одинцова Е.Н. Экспериментальное получение полезных форм микроорганизмов, стр.129. Труды института микробиологии АН, СССР, вып.Х, М. 1961/.
- Бурьян Н.И. Селекция производственных рас винных дрожжей.
- Простосердов Н.Н. Виноделие и виноградарства СССР. Рефераты научных работ за 1955 г., вып.1, М.,стр. 16-17, 1957.
- Африкян Р.Л. Херес в Армении. Винодельческая опытная станция, Ереван, рукопись, 1933.
- Простосердов Н.Н. Херес в Армении. Доклад Московской сельскохозяйственной Академии им.Тимирязева, вып. 3, стр.74,1946.
- Кудрявцев В.И. Микрофлора переброженных соков диких ягод Дальнего Востока. Вестник Дальневосточного филиала АН СССР, № 17,65, 1936.
- Емельянов А.А. Изучение различных рас *Sacch. ellipsoideus* *Armeniacus* Октемберянского района Арм.ССР. Серия научных работ № 17, Института виноделия и виноградарства АН Арм.ССР, стр.22,1947.
- Мазилкин И.А. Микрофлора основных бродильных производств. Арм.ССР, Ереван, 304, 1960.
- Диланян А.М. Влияние высоких концентраций сахара на бродильные свойства местных штаммов винных дрожжей. Вопросы с/х микробиологии АН. Арм.ССР, вып. 17/Х, 181, 1958.
- Сарухян Ф.Г.
- Ахинян Р.М.

- Мовсесян Г.П. Производственное испытание некоторых местных штаммов винных дрожжей. Бюллетень НТИ Арм.НИИ ВВШ, № 1, 26-28, 1957.
- Севоян А.Г. Сохраняемость и биологические свойства некоторых местных рас производственных дрожжей. Автореферат канд. диссертации, Ереван, 24, 1965.
- Авакян Б.П. Влияние условий на образование продуктов брожения. Известия МСХ Арм.ССР, № 1, 35-41, 1963.
- Даниелян Л.Г. Биологические свойства выделенных культур дрожжей для виноделия Армении, Автореф. канд. дисс., Ереван, 31, 1976.
- Унянян Б.С. Армянские хересные дрожжи с повышенной спирто-выносливостью, Автореферат канд. дисс. Ереван, 21, 1968.
- Алиханян С.И. Налбандян Г.М. Селекция винных дрожжей с применением мутагенов. Сообщение I. Получение штаммов *Sacch. vinici* используемых при изготовлении натуральных крепких столовых вин из высокосахаристых сортов винограда. Генетика 7, № 9, 127, 1971.
- Ս.Ի. Ալիխանյան, Գ.Մ. Նալբանդյան, Բ.Պ. Ավագյան

ԿՈՐ ԵՐԱՐԱՍՏՆԵՐ ԲՆԱԿԱՆ ԹՈՒՆԴ ՍԵՂԱՆԻ
ԳԻՆԻՆԵՐԻ ՍՏԱՅՄԱՆ ՀԱՄԱՐ

/ Ամփոփում /

Ինչպես հայտնի է, միկրոբիոլոգիական արդյունաբերության շատ մյուս-
դերում /անալիտիկական, վիտամինների, ֆերմենտների, ամրաթթուների, ո-
րոշ օրգանական թթուների/ արդեն վաղուց օգտագործվում են հատուկ եղա-
նակով /մուտագենների օգնությամբ/ սելեկցիան միկրօօրգանիզմներ: Նրանք,
ընդլայնված անջատվածի համեմատությամբ, միջավայրում կուտակում են մի-
ջանի ասանյակ, որոշ դեպքերում նույնիսկ մի բանի հազար անգամ ավելի
շատ արգասիքներ:

Գրականության մեջ զինու շարահանների սելեկցիան շտամներ չեն նը-
կարագրված, առավել ևս չեն նկարագրված շտամներ, որոնք ստացված լինեն
մուտագենների օգնությամբ: Գինեգործական արդյունաբերության մեջ օգտա-
գործվում են շարահաններ, որոնք տարբեր մասնագետների կողմից անջատ-
ված են ինքնաբերաբար խմորվող խաղողահյութից կամ երիտասարդ գինիներից:

նստմանքներից:

Քսական սեղանի թունդ գինիների արտադրություն ժամանակ շատ են այն-պիսի դեպքերը, երբ գինին ստացվում է մնացորդային շաքարով: Կիրառված շաքարասնկերի ցածր սպիրտադիմացկունությունը պատճառով սպիրտային խմորումը ժամանակից շուտ դանդաղում և լրիվ կանգ է առնում: Թերի խմորված /մնացորդային շաքարով/ սեղանի գինիները անկայուն են այն տեսակետից, որ բարենպաստ միջավայր են գինիների որակը իջեցնող զանազան միկրոօրգանիզմների աճի ու զարգացման համար:

Ելնելով վերոհիշյալից, ներկա աշխատանքի նպատակն է եղել ուսումնասիրել ուլտրամանիշակազույն ճառագայթների ու դիէթիլսուլֆատի ազդեցությունը գինու շաքարասնկերի փոփոխականության վրա, ինչպես նաև ստանալ սպիրտադիմացկուն, ակտիվ, ամրացված ժառանգական հատկանիշներով շաքարասնկեր բնական թունդ սեղանի գինիների արտադրություն համար:

Ուլտրամանիշակազույն ճառագայթների աղբյուր են ծառայել երկու իրար կողք-կողքի հորիզոնական դրված մանրեռնային ԲՈՒԱ - 15 լամպերը:

Շաքարասնկերը՝ *Saccharomyces cerevisiae* Աղավառուն 3 - 54/93 ճառագայթահարվել են ջրային սուսպենզիայում, բաց Պետրիի թասերի մեջ տարբեր պահածամանակներով:

Դիէթիլսուլֆատը օգտագործվել է զոլորշիների ձևով հերմետիկ փակ խցիկների մեջ, մեր կողմից մշակված մեթոդիկայով:

Փորձարկվել է նաև այդ երկու մուտագենների համատեղ ազդեցությունը վերոհիշյալ շաքարասնկերի փոփոխականության վրա:

Մուտագեններով մշակված շաքարասնկերը, համապատասխան նոսրացումներով, ցանվել են կոշտ սննդամիջավայրի վրա Պետրիի թասերի մեջ ու կայունացրեցին 28° պայմաններում աճեցման 7-րդ օրը ենթարկվել են ստուգման: Ստուգվել են մորֆոլոգիական հատկանիշների փոփոխականությունն ու, ամենակարևորը, բարձր շաքարայնությամբ խաղողահյութի խմորման ակտիվությունը:

Դիտարկումները ցույց են տվել, որ մուտագեններով մշակված բոլոր տարբերակներում բարձր աուգոս են կազմում զամած զադուլները: Պատահում են նաև զուսնավոր մուտագեններ - սպիտակից մինչև շակաճակազույնը, կնժոռոտված, հատիկավոր մակերեսով, ոչ հարթ եզրերով զադուլներ, ինչպիսիք չեն նկատվում ստուգիչում:

Ուսումնասիրվող շաքարասնկերի մեջ բարձր մորֆոլոգիական փոփոխականություն է նկատված /70,2 օ/օ/ ուլտրամանիշակազույն ճառագայթների ազդեցության 4000 էրգ/մմ² տարբերակում, որտեղ տվյալ շաքարասնկերի կենսակայունությունը ամենացածրն է՝ 0,0018 օ/օ:

Ուսումնասիրվողները ցույց են տվել, որ փորձարկվող մուտագենների ազդեցությամբ փորձական շաքարասնկերի մեջ տեղի են ունենում առաջին հատկանիշների մեծ ընդգրկման փոփոխություններ: Առա-

ջանում են ,միևուս, և ,զլյուս, մոտանանք, որոնցից առաջինները իրենց խմորման ակտիվությամբ զիջում, իսկ երկրորդները զերազանցում են ստուգվելին:

Ըստ առաջնային հատկանիշների ընտրությունը/այն էբարձր շաքարայնությամբ քաղցուն խմորելիս միջավայրում հնարավորին չափ շատ սղ-պիրտ կուտակելու ունակությունը /մեր կողմից կատարվել է հետևյալ հաջորդականությամբ:

Ակզբնական շաքարասնկերը ենթարկվել են ուլտրամանիշակազույն մա-ռազայինների ազդեցության 1000, 2000, 3000 և 4000 էրգ/մմ² զարբե-րաչափերով: Յուրաքանչյուր տարբերակից, ինչպես նաև ստուգվելից, առանց հաշվի առնելու անջատվող շաքարասնկի մորժուղովան, ստուգման են վեր-ցրվել 100-ական զաղուկներ:

Խմորումը իրականացվել է փորձանոթներում մանրեագուրկ մսկեհատ սորտի խաղողայնութի հետ: /30 օ/օ շաքարայնությամբ 3,64, տիտլը-վող թթվությունը 8,7 գ/լ/: Խմորման 15 -րդ օրը բոլոր նմուշներում արագացված ռեթրակտմետրիկ եղանակով որոշվել է կուտակված սպիրտի ու մնացորդային շաքարի տոկոսը:

Այս փուլից անջատված ամենակտիվ շաքարասուսկը, ըստ սպիրտակու-տակման հատկանիշի, ընտրության երկրորդ փուլում նորից է մառազայնա-հարկվել կամ մշակվել դիէթիլսուլֆատով կամ էլ ենթարկվել այդ երկու մուտագենների համատեղ ազդեցության: Եվ ընտրության նույն գործողու-թյունը կրկնվել է այն հաջորդականությամբ, որը նկարագրվեց վերևում:

Այս կերպ ընտրության առաջին փուլում անջատված է Ա-8-54/93-319 մուտանտը, որը ի վիճակի է բարձրաշաքար /30 օ/օ/ քաղցուն խմորելիս կուտակել մինչև 15,5 ծավալային տոկոս սպիրտ, այն դեպքում, երբ նույն շաքարասնկերի սկզբնական շտամը /ստուգիչ 1/ ԱՋ-54/93-ը նույն քաղցուն խմորելիս, կուտակում է միայն 13 ծավալային տոկոս:

Ընտրության երկրորդ փուլում անջատված են 10 բարձր ակտիվությամբ շտամներ, որոնցից 3-ը /ԱՋ-54/93-319-432, ԱՋ-54/93-319-582, ԱՋ-54/93-319-420/ արժանի են հատուկ ուշադրության: Դրանք բոլորը, լրիվ խմորելով 30 օ/օ քաղցուն միջավայրում, կուտակում են մինչև 18 ծավա-լային տոկոս սպիրտ:

Այսպիսով, կարելի է եզրակացնել, որ ստացված շաքարասնկերը աչքի են ընկնում բարձր սպիրտակուտակման հատկանիշներով և կարող են լրիվ խմորել բարձր շաքարայնությամբ /30 օ/օ/ խաղողայնութ: Դա հնարավո-րություն է ընձեռում կրճատելու քաղցուի խմորման ժամանակը, վերաց-նում է թերի խմորման երևույթները և զգալիորեն բարձրացնում զինու-որակը: Ստացված զինիները աչքի են ընկնում իրենց որակով, փնջով և կա-րող են դասվել բարձրակարգ բնական սեղանի թունդ զինիների շարքին: