

Руководитель темы:

гл. науч. сотр., д-р техн. наук,
проф. Кишковская С.А.

Ответственный исполнитель:

вед. науч. сотр., канд. техн. наук
Танащук Т.Н.

вед. науч. сотр., канд. техн. наук.
Иванова Е.В.

Исполнители:

науч. сотр. **Шаламитский М.Ю.**

вед. инженер **Загоруйко В.И.**

мл. науч. сотр. **Семенова К.А.**

мл. науч. сотр. **Луткова Н.Ю.**



Лаборатория микробиологии

Госзадание № FEUU-2019-0008

Исследование, научное формирование и
поддержание генофонда штаммов
микроорганизмов виноделия



Всероссийский национальный научно-исследовательский
институт виноградарства и виноделия
основан в 1828 г.

"МАГАРАЧ" РАН



Этап 2023 года заключительный

Цель исследований

Научное формирование генофонда промышленно ценных штаммов микроорганизмов, способствующих повышению качества и безопасности винопродукции.

Повышение качества и безопасности винопродукции на основе применения селекционных штаммов микроорганизмов.



Научная **новизна.**

Получены новые научно-практические данные о видовом разнообразии природных штаммов МКБ, об их устойчивости к фенольным веществам и способности к синтезу биогенных аминов.

В результате проведенного скрининга штаммов МКБ с высокой способностью сбрасывать *L*-яблочную кислоту, по устойчивости к стрессовым условиям виноделия и влиянию на качество и безопасность вина получены 2 новых штамма *Oenococcus oeni*.

Предложены новые подходы к проведению работ по выделению, изучению и сохранению штаммов МКБ виноделия.



Задачи для достижения поставленной цели



Изучение видовой принадлежности природных штаммов МКБ виноделия



Изучение способности природных штаммов МКБ к синтезу биогенных аминов



Исследование устойчивости природных штаммов МКБ к фенольным соединениям вина



Формирование рабочей коллекции МКБ виноделия Крыма



Паспортизация природных штаммов МКБ, перспективных для проведения яблочно-молочного брожения



Проведение работ по поддержанию КМВ «Магарач»



Создание каталога промышленно ценных штаммов микроорганизмов для виноделия



Объекты и методы исследований

13 природных штаммов МКБ кислотопонижателей

9 штаммов *Oenococcus oeni*

3 штамма *Lactobacillus paracasei*

1 штамм *Lentilactobacillus hilgardii*

При проведении исследований применяли подходы и методы, общепринятые в микробиологии виноделия и энохимии, а также хроматографические и генетические методы

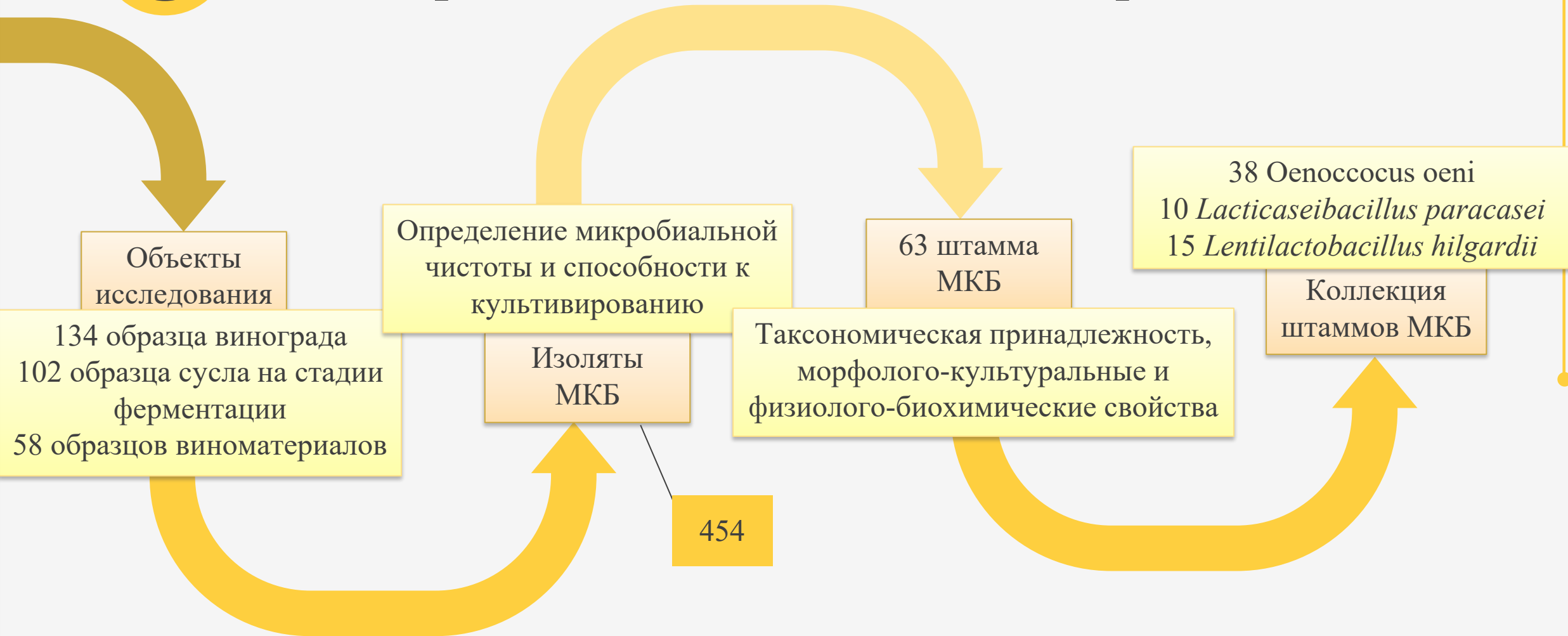
Получение и обработка цифровых изображений с помощью программы «Image Scope M»

Оценка активности роста штаммов с помощью технологии CGQ

Все эксперименты выполняли в трех повторностях, аналитические измерения – в двух повторностях. За критерий значимости отличий между группами данных принимали критерий вероятности $p < 0,10$.

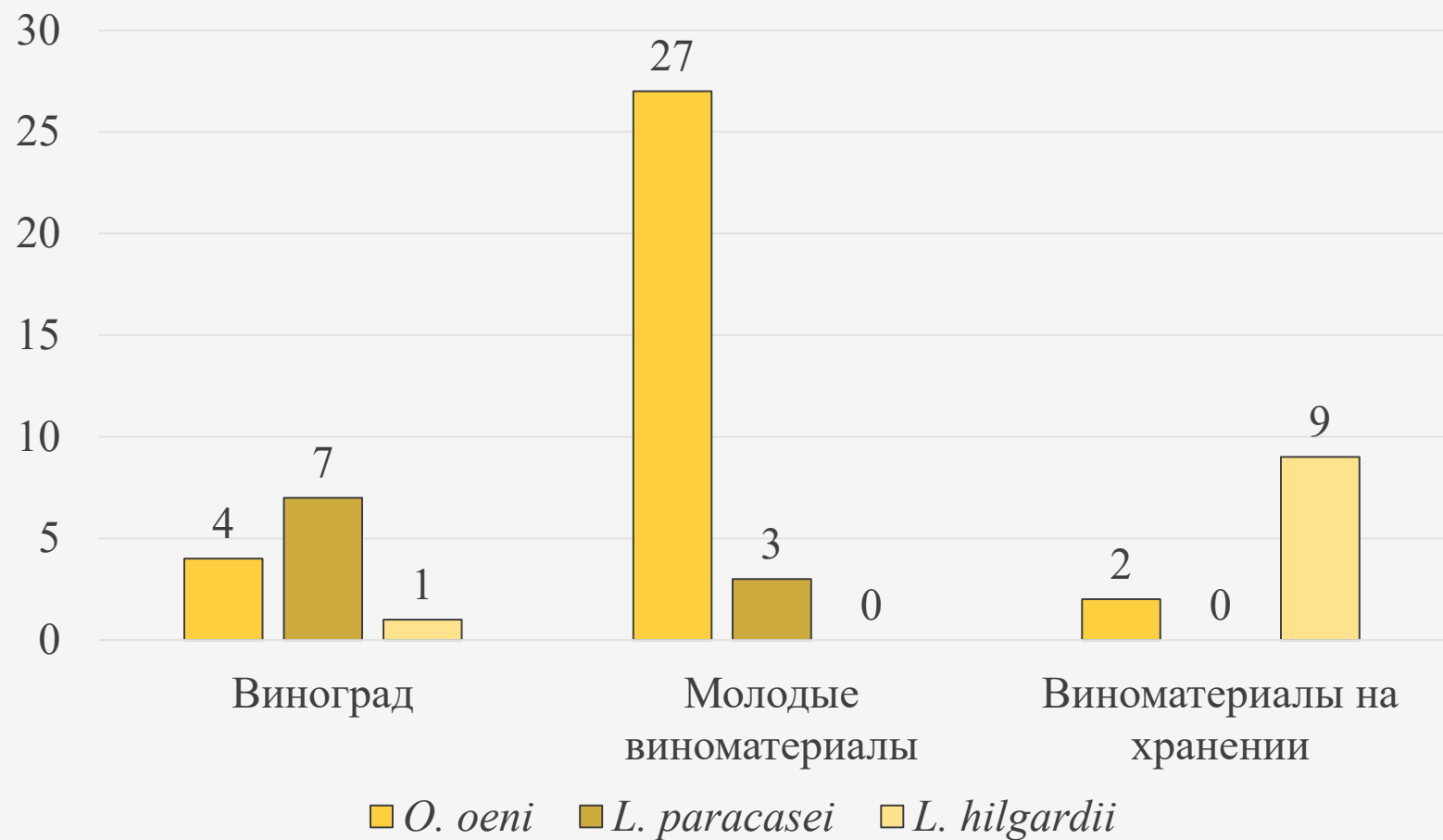


Формирование коллекции штаммов МКБ, выделенных в виноградо-винодельческих зонах Крыма





Источники выделения МКБ





Методические рекомендации по выделению, изучению и сохранению штаммов МКБ виноделия

Выделение

Микроскопирование проб

Получение накопительной культуры МКБ

Рассев накопительной культуры МКБ на агаризованную среду

Описание и отбивание колоний на жидкую среду

Предварительный отбор изолятов по форме – кокки, палочки

Отбор изолятов по принадлежности к МКБ

Определение принадлежности к роду

Изучение

Таксономическая принадлежность

Способность к культивированию

Фенотипические признаки

Анализ показателе безопасности

способность к синтезу биогенных аминов

Способность к сбраживанию *L*-яблочной кислоты

Устойчивость к:

Потребление лимонной кислоты и синтез диацетила

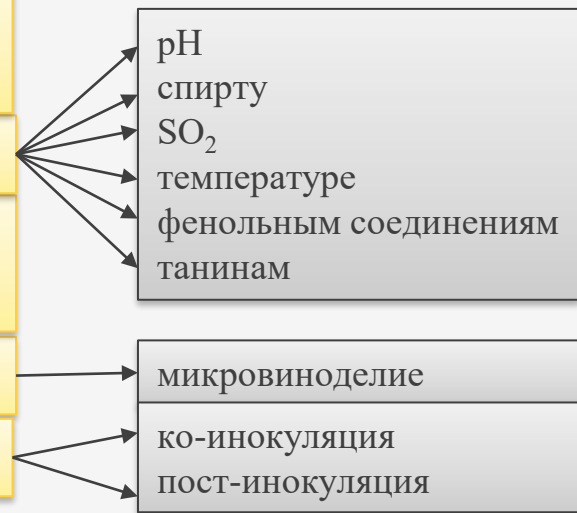
Сенсорный анализ

Рекомендации к применению

Сохранение

Метод глубокой заморозки

Лиофилизация (по литературным данным)

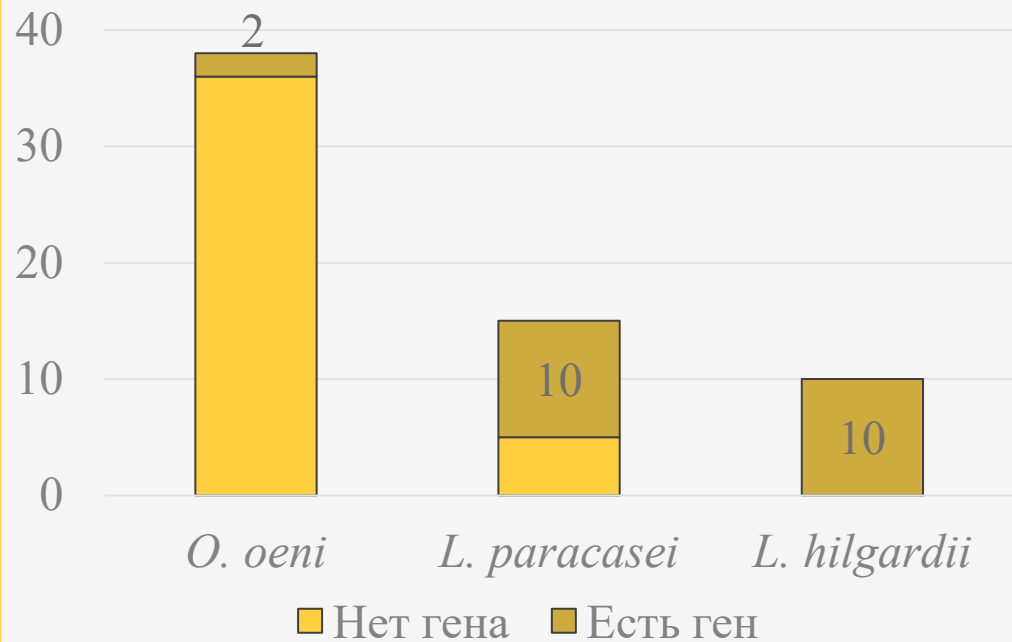
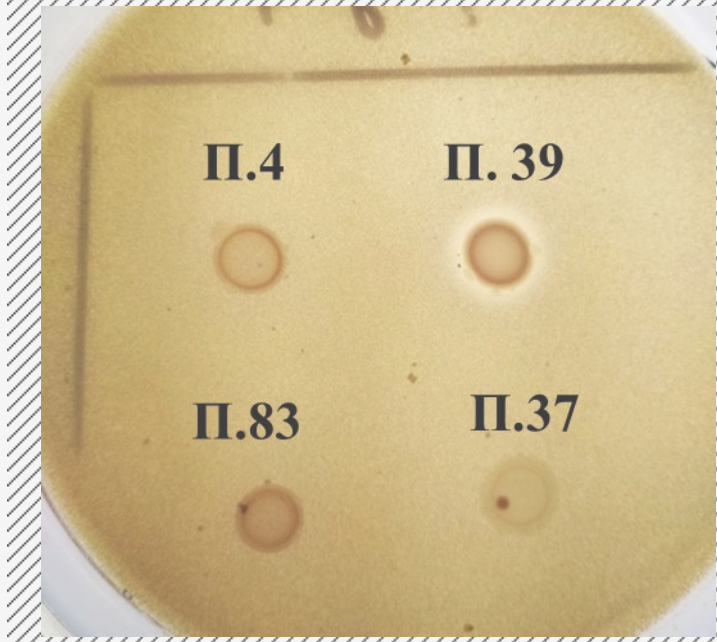


Влияние штаммов МКБ на безопасность вина по синтезу биогенных аминов

гистамин
тирамин
кадаверин
путресцин
триптамин
β-фенилаланин

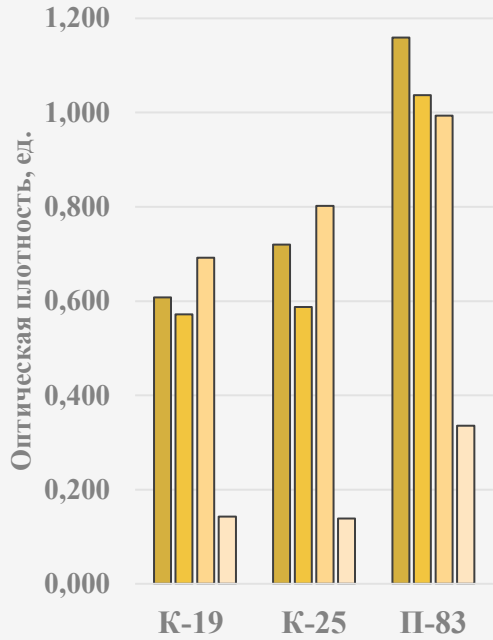
Качественный тест

1 штамм из 63 исследованных

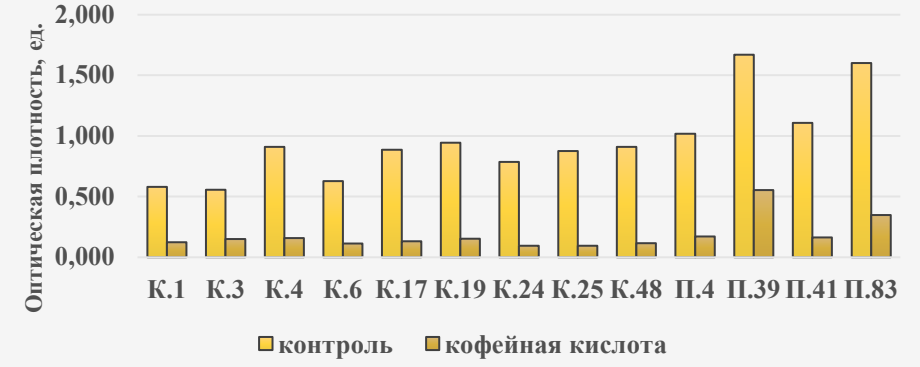
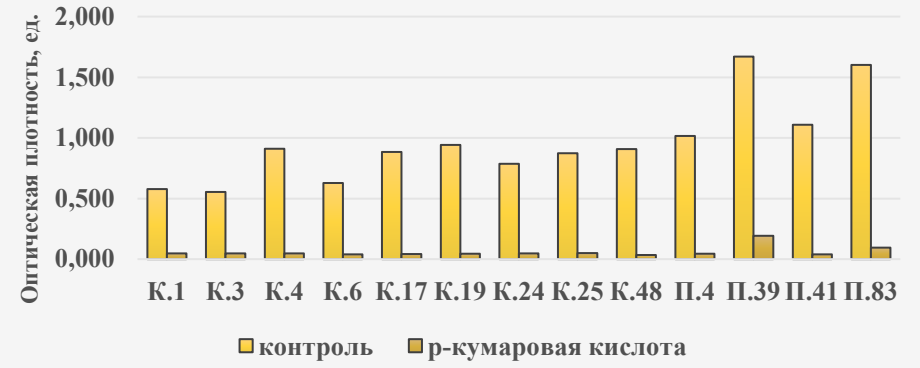
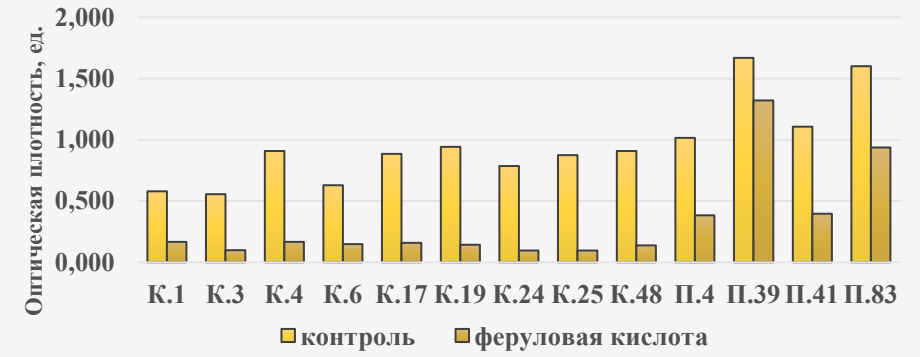
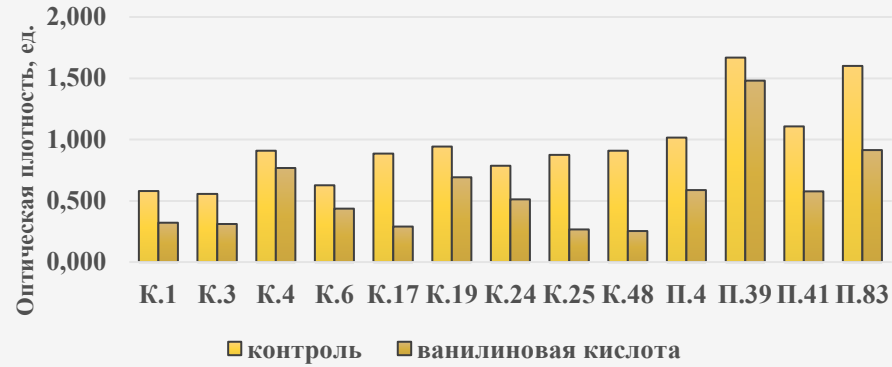
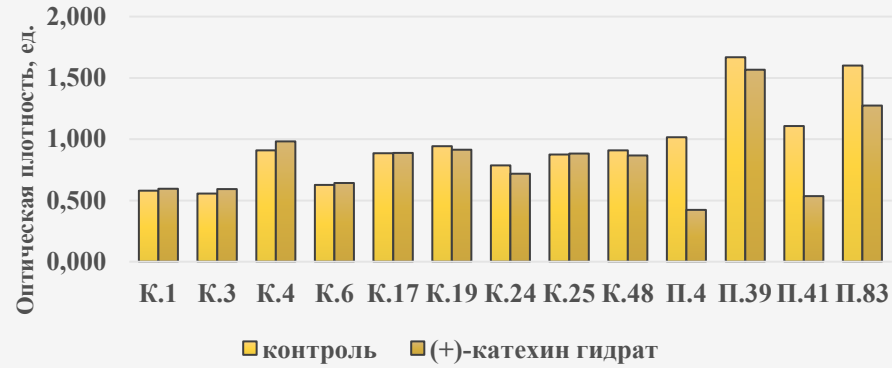
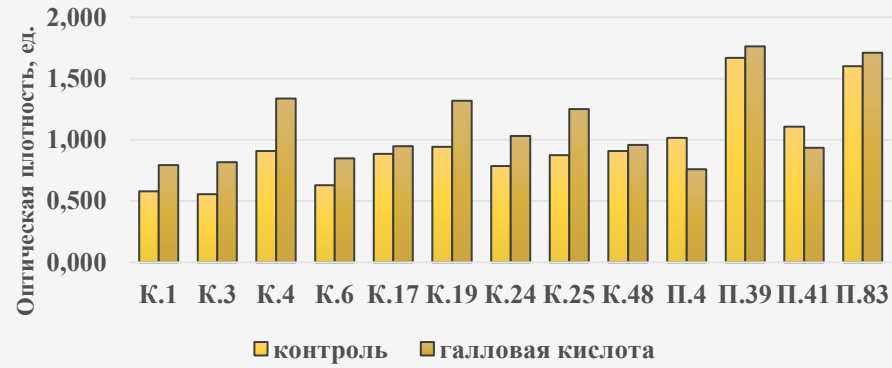


Наличие генов биогенных аминов

22 штамма из 63 исследованных



- контроль
- танин из белого винограда
- танин из древесины каштана
- танин из галлового орешка



Влияние фенольных веществ винограда на рост МКБ





Физико-химический состав виноматериалов сорт винограда Саперави

Показатели	I-25 (контр.)	I-25 + К.1	I-25 + К.4	I-25 + К.19	I-25 + К.25	I-25 + П.83
Объемная доля спирта, %	12,1	12,1	11,8	11,9	11,7	11,8
pH	3,23	3,27	3,31	3,65	3,62	3,22
Массовая концентрация титруемых кислот, г/л	8,85	8,50	8,57	7,07	6,75	8,57
Массовая концентрация летучих кислот, г/л	0,36	0,3	0,3	0,56	0,53	0,33
Наличие яблочной кислоты (бумажная хроматограмма)	+	+	+	–	–	+
Массовая концентрация сернистой кислоты, своб., г/л	30,7	38,4	35,8	44,8	46,1	35,8
Фенольные (общие)	3632,8	2910,8	3380,7	3495,3	3506,76	3277,6
Альдегиды	46,6	43,1	37,8	13,2	10,6	15,8
Количество дней ЯМБ	–	–	–	16	16	–



Физико-химический состав виноматериалов сорт винограда Каберне

Показатели	I-25 (контр.)	I-25 + К.1	I-25 + К.4	I-25 + К.19	I-25 + К.25	I-25 + П.83
Объемная доля спирта, %	12,3	12,3	12,8	12,7	12,8	13,2
pH	3,27	3,53	3,52	3,54	3,57	3,50
Массовая концентрация титруемых кислот, г/л	6,7	6,0	6,4	6,4	6,4	7,0
Массовая концентрация летучих кислот, г/л	0,6	0,66	0,66	0,69	0,76	0,56
Наличие яблочной кислоты (бумажная хроматограмма)	+	–	– +	–	–	+
Массовая концентрация сернистой кислоты, своб., г/л	28,2	61,4	48,6	48,6	74,2	61,4
Фенольные (общие)	2177,4	1707,5	2028,4	1787,8	1753,4	2028,42
Альдегиды	49,6	36,2	43,1	38,7	37,0	38,7
Количество дней ЯМБ	–	13	более 14	7	7	более 14



Влияние pH виноградного сусла на ЯМБ

pH	К.1	К.4	К.19	К.25	П.83
Виноматериалы из красных сортов винограда (Каберне, Саперави)					
3,1	—	—	+	+	—
3,2	+	—+	+	+	—
3,3	+	—+	+	+	—
3,4	+	+	+	+	+
Виноматериалы из белых сортов винограда (Алиготе, Ркацители)					
2,9	—+	—	—+	—+	—
3,0	—+	—	—+	—+	—
3,2	+	—	+	+	—
3,4	+	—	+	+	—+



Технологическая характеристика штаммов МКБ (в/м Каберне, рН 3,4)

Показатели	сусло	I-25 + К.1	I-25 + К.4	I-25 + К.19	I-25 + К.25	I-25 + П.83
рН	3,4	3,5	3,5	3,5	3,5	3,4
Массовая концентрация титруемых кислот, г/л	6,7	6,0	6,4	6,0	6,1	7,0
Массовая концентрация L-яблочной кислоты, г/л	1,68	0,19	0,12	0,13	0,16	0,98
Массовая концентрация молочной кислоты, г/л	—	1,94	2,0	2,15	1,86	1,54
Массовая концентрация летучих кислот, г/л	0,6	0,66	0,66	0,69	0,76	0,56
Массовая концентрация лимонной кислоты, г/л	1,3	1,0	1,08	1,27	1,28	1,03
Массовая концентрация янтарной кислоты, г/л	0,35	0,77	0,78	0,96	0,94	0,83
Количество дней ЯМБ		14	более 14	7	7	более 21



Паспортизация штаммов **МКБ**

Устойчивость	К.19	К.25	П.83
Температура, °С, не менее	14	16	16
Массовая концентрация общего диоксида серы, мг/ л, не более	60	30	60
рН, не менее	3,0	3,0	3,5
Объемная доля этилового спирта, %, не более	12	10	12



Поддержание КМВ «Магарач»



Проведена инвентаризация КМВ «Магарач».
На 01 декабря 2023 года все коллекционные культуры в наличии и сохранили жизнеспособность.



Коллекция пополнена тремя селекционными штаммами МКБ и одним штаммом дрожжей.



Изучено влияние способов хранения на сохранность свойств коллекционных штаммов.



Подготовлен к печати каталог промышленных штаммов дрожжей для виноделия



Разработаны и утверждены методические рекомендации по применению селекционных штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* из КМВ «Магарач» при производстве виноматериалов.



Результаты исследований

Получены новые научные данные о видовом разнообразии природных штаммов МКБ, об их устойчивости к фенольным веществам и способности к синтезу биогенных аминов

По результатам анализа данных исследований за период 2019-2023 гг. сформирована рабочая коллекция 63 природных штаммов МКБ с описанием их таксономической принадлежности, морфологических и физиолого-биохимических свойств

Рекомендованы для практического применения два штамма *O. oeni* — активные кислотопонижатели, проведена их паспортизация и депонирование в КМВ «Магарач»

Подготовлен к печати каталог промышленных штаммов для виноделия КМВ «Магарач» и разработаны две методические рекомендации и один стандарт организации.

Проведена плановая инвентаризация КМВ «Магарач», коллекция пополнена тремя селекционными штаммами МКБ и одним штаммом дрожжей; показано, что различные способы хранения коллекционных культур не оказывают значимого влияния на сохранность их культуральных и технологических свойств





Результаты научно-технической деятельности

За отчетный период по теме научной работы опубликованы 2 статьи, 1 статья – передана в печать.

Стандарт организации (№01586301.044–2023)
Молочнокислые бактерии для виноделия. Метод определения наличия генов *hdc*, *tdc*, *odc* и *agdi*, отвечающих за синтез биогенных аминов.

Разработаны методические рекомендации по использованию селекционных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* из КМВ «Магарач» для получения виноматериалов

Разработаны методические рекомендации по выделению, изучению и сохранению МКБ виноделия

Подготовлен к печати каталог промышленных штаммов дрожжей для виноделия.

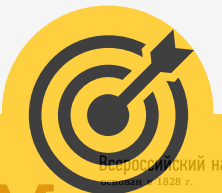


Результаты хоздоговорной деятельности

Выполнена научно-исследовательская работа по теме «Морфолого-физиологическая и технологическая характеристика штаммов винных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, в геном которого включены гены ферментов яблочно-молочного брожения» в рамках гранта в форме субсидий 28 сентября 2021 г. № 075-15-2021-1071

Заключены хоздоговора в 2023 г. (курсы повышения квалификации, обеспечение отрасли чистыми культурами дрожжей, микробиологический анализ образцов винопродукции), на 26.10.2023 г поступило средств 2302,0 тысяч рублей.

Спасибо за
внимание!



Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия

"МАГАРАЧ" РАН