



ВИНО & КАЧЕСТВО

МЕТОДОЛОГИЯ СЕНСОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
«ВИННОГО ГИДА РОССИИ»



Дорогие друзья!

«Винный гид России» является важной составляющей проектов, реализуемых государством в области поддержки производства и продвижения в розничной торговле продукции российских виноделов. На сегодняшний день, отечественный винный рынок конкурентен, потребителю предоставлен весьма широкий выбор вина со всего мира. Основой для повышения лояльности российских покупателей и роста продаж вин из отечественного винограда является ежегодная положительная динамика качества, которую демонстрируют российские виноделы. За их успехами мы следим благодаря объективной оценке экспертов проекта «Винный гид России». Новая методическая инициатива Роскачества направлена на повышение конкурентоспособности отечественных виноделов, она даёт производителям важные инструменты улучшения вкуса и аромата вина, а ведь именно они являются критериями выбора для конечного потребителя. Искренне надеюсь, что с каждой новой акцией «Дни российских вин» в торговых сетях и ресторанах страны мы будем видеть на полках и в винных картах всё больше достойных вин из Крыма, Кубани и других винных регионов Российской Федерации, включенных в Винный гид России.

В.Л. Евтухов,

*Статс-секретарь-заместитель
министра Промышленности и торговли РФ*



Уважаемые коллеги!

Перед вами один из результатов развития проекта «Винный гид России», реализуемого Роскачеством совместно с Минпромторгом и Минсельхозом России.

С 2018 года эксперты Роскачества ежегодно исследуют доступные вина, произведенные из винограда, выращенного на территории Российской Федерации, дают им объективную оценку, информируют потребителей о качестве вин и правилах их выбора. «Винный гид России» завоевал многомиллионную потребительскую аудиторию и является авторитетным источником обратной связи о качестве вин для самих производителей. Этих результатов мы смогли добиться благодаря использованию объективного системного подхода к сенсорной оценке вина – экспертному исследованию аромата и вкуса вин.

Изданием стандартизированных Методических рекомендаций по проведению органолептического тестирования, основанных на обширном международном опыте, Роскачество реализует ещё одно направление своей деятельности: содействие российским производителям в оптимизации производственных и бизнес-процессов. Мировая винодельческая практика уже много лет ориентируется на использование сенсорного метода в оперативной оценке качества сырья и готового вина в процессе производства. Мы уверены, что благодаря этому изданию российские производители, практикующие и начинающие энологи получают новые сведения о тех этапах технологического цикла, улучшения на которых приведут к росту качества различных типов винодельческой продукции и росту доверия к ней со стороны покупателя.

М.А. Протасов,

Руководитель Роскачества



ВИНОДЕЛИЕ – ОДИН ИЗ САМЫХ СЛОЖНЫХ ВИДОВ ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Энология как наука сформировалась на стыке анатомии и физиологии винограда, ампелографии, почвоведения и мелиорации, климатологии, биохимии, коллоидной и органической химии, микробиологии, инженерного дела и технологии виноделия – всего не перечислить!

Меняется климат, пристрастия людей к тем или иным стилям вина, стремительно развиваются технологии, потребители все больше и больше узнают о вине – растут их требования к любимому напитку.

Поэтому так важно идти в ногу со временем, быть в курсе инноваций и достижений мировой энологической науки.

Этот сборник – своеобразный литературный обзор по вопросам, которые вызывают наибольший интерес у наших виноделов.

Темы лишь обозначены, при необходимости можно расширить границы собственных знаний и обратиться к опыту иностранных коллег – в конце публикации есть обширный список литературы, исследований ученых из разных концов света. К счастью, теперь поиск и перевод статей в Интернете не является проблемой.

Теоретические выкладки сопровождаются комментариями наших уважаемых виноделов. Каждый из них прошел богатейшую школу и владеет знаниями во всех областях энологической науки.

Мы надеемся, что их опыт и кругозор помогут начинающим виноградарям и виноделам.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ГЛАВА 1

УБОРКА УРОЖАЯ – ВАЖНЫЙ ЭТАП ДЛЯ ДОСТИЖЕНИЯ ВЫСОКОГО КАЧЕСТВА ВИНА 4

Ирина Годунова,

кандидат биологических наук, член дегустационной комиссии Роскачества

- 1.1 Потепление климата: потери и перспективы 4
- 1.2 Сбор урожая и контроль параметров сула 6
- 1.3 Сроки уборки и ароматика 8
- 1.4 Кислоты и их уровни при уборке урожая 11
- 1.5 Потеря кислотности на винограднике и ее коррекция 15
- 1.6 Фенольные соединения и время уборки урожая 17

ГЛАВА 2

ПОЛИФЕНОЛЬНАЯ ЗРЕЛОСТЬ: МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ СУЛА И ВИНА 20

Ирина Годунова,

кандидат биологических наук, член дегустационной комиссии Роскачества

- 2.1 Группы полифенолов, особенно важных для виноделия ... 21
 - 2.1.1 Флавоноиды 22
 - 2.1.2 Нефлавоноиды 23
- 2.2 Полифенолы-защитники 25
 - 2.2.1 Механизмы защитных реакций 26

ГЛАВА 3

МИКРОБИОЛОГИЯ СУЛА И ВИНА 29

Ирина Годунова,

кандидат биологических наук, член дегустационной комиссии Роскачества

- 3.1 Дрожжи 29
 - 3.1.1 Разнообразие дрожжей в природе 29
 - 3.1.2 Разные подходы к использованию культур дрожжей 29
 - 3.1.3 Коммерческие культуры дрожжей 31
 - 3.1.4 Культуры дрожжей на основе гибридов *Saccharomyces* 32
 - 3.1.5 Условия ферментации и активность дрожжей 34
 - 3.1.6 Автохтонные или «дикие» дрожжи 36
 - 3.1.7 Дикие дрожжи – источники ароматических веществ в вине 37

3.1.8	Дикие дрожжи – источники веществ, влияющих на вкус вина	39
3.1.9	Токсины дрожжей и роль дрожжей-киллеров в виноделии	40
3.2	Молочнокислые бактерии	42
3.2.1	Разнообразие молочнокислых бактерий	42
3.2.2	Молочнокислые бактерии и условия их жизни в сусле и вине	43
3.2.3	Негативные последствия жизнедеятельности молочнокислых бактерий	45
3.3	Уксуснокислые бактерии	49
3.3.1	Особенности жизнедеятельности	49
3.3.2	Уксуснокислые бактерии – причина порчи вина	50
3.3.3	Предотвращение порчи вина уксуснокислыми бактериями	52
3.4	<i>Brettanomyces</i> sp.	54
3.4.1	Особенности жизнедеятельности	54
3.4.2	Летучие фенольные соединения	56
3.4.3	Сера и <i>Brettanomyces</i>	60
3.4.4	Профилактика заражения <i>Brettanomyces</i>	61

ГЛАВА 4

ЗАЩИТА СУСЛА И ВИНА

Ирина Годунова,

кандидат биологических наук, член дегустационной комиссии Роскачества

4.1	Сульфитация – универсальная защита	63
4.1.1	Использование серных соединений в виноделии	63
4.1.2	Источники соединений серы в вине	64
4.1.3	Зависимость уровня сульфитации от состава сусла	65
4.1.4	Сера как антиоксидант	67
4.1.5	Сера – защитник от микрофлоры	68
4.1.6	Варианты существования серы в вине. Расчет необходимого количества молекулярной серы	69
4.1.7	Негативные последствия при излишней сульфитации	71
4.1.8	Нежелательная ароматика: летучие соединения серы	73
4.1.9	Как снизить уровень сульфитации	75
4.1.10	Советы виноделов: как не допустить окисления сусла и вина	76
4.2	Поиски альтернативы серы. Глутатион и его роль в виноделии	78

ЛИТЕРАТУРА

УБОРКА УРОЖАЯ – ВАЖНЫЙ ЭТАП ДЛЯ ДОСТИЖЕНИЯ ВЫСОКОГО КАЧЕСТВА ВИНА

1.1 ПОТЕПЛЕНИЕ КЛИМАТА: ПОТЕРИ И ПЕРСПЕКТИВЫ.

Вопрос изменения климата становится главной темой, которую не устают обсуждать и в винодельческих кругах.

В связи с потеплением климата все острее встает вопрос о поиске оптимальных способов культивирования винограда (Mosedale Jonathan R., Abernethy

Kirsten E., 2016; Cameron W. et al., 2019; Cola G., Mariani L., 2019; Prats-Llinàs M.T., Nieto H., 2020) и выборе сортов (Wolkovich E. M., I. García de Cortázar-Atauri, 2018).

Основная цель – получить ягоды с балансом сахаров, кислот, полифенолов и при этом сохранить ароматические компоненты. Но если лоза испытывает дистресс, связанный с погодными условиями, это становится чрезвычайно трудной задачей (Cornelis van Leeuwen, Philippe Darriet, 2016).

Наши винодельческие регионы – не самые удобные зоны для выращивания лозы. Погода постоянно держит в напряжении виноградарей и виноделов.

Раньше в наших регионах периодически случались сильные морозы, и виноградники без укрытия вымерзали. Летом, особенно в последние годы, жара преодолевает отметку 35-40 градусов и может держаться на этом уровне

не одну неделю. И это при полном отсутствии осадков. Так что вырастить ягоды хорошего качества очень непросто!

Нужно пересматривать подходы к выращиванию винограда и к выбору сортов (Van Leeuwen, Destrac-Irvine et al., 2019; Ignacio Morales-Castilla et al., 2020), а также корректировать технологические приемы на производстве.

Во всем мире ученые ищут пути адаптации к изменению погодных условий (Terribile F., Bonfante A., et al., 2017; Bernardo S., Dinis L., 2018; João A. Santos, Ricardo Costa Santillán D. et al., 2018; Iglesias A., 2019).

Ведется поиск методов адекватных оценок состояния винодельческих зон (Ronald S. Jackson, 2014; Cornelis van Leeuwen, Benjamin Bois, 2018; Galindro A. et al., 2018).

Вот мнение одного из ведущих специалистов алкогольного рынка Дмитрия Мережко – Издателя Simple Wine News и обла-

дателя диплома Wine & Spirit Education Trust (WSET) Лондонской винной школы:

«Во всём мире виноделы сталкиваются с проблемой глобального изменения климата. Это очевидная реальность нашего времени, и степень влияния этих процессов будет только нарастать.

Вот что отмечают чаще всего, везде и постоянно.

1. Смещаются сроки урожая (речь идет где-то о двух-трех неделях, а в ряде регионов о месяце и даже больше – начало сентября вместо середины октября). Виноделы, питомники и компании, занимающиеся пересадкой виноградников, отмечают спрос на более поздние сорта; внутри регионов идёт освоение участков, которые ранее считались менее интересными в связи с невыгодной экспозицией.
2. Меняются исторические стили вина – там, где техническая зрелость когда-то была достижением, теперь легко накапливаются высокие уровни сахара/потенциального алкоголя, требующие балансировки за счёт других структурных параметров. А их может быть недостаточно – танинная структура требует полифенольной зрелости, что является вызовом при раннем сборе (см. п.1), а кислотность формируют температурные контрасты, которые при общем потеплении сглаживаются.
3. Ряд специальных категорий вина, где ключевым является наличие своеобразных природных условий (ботритизация, подмораживание на лозе) испытывает сложности с производством.
4. Изменяется подход к ведению лозы – если ограничение рослости и урожайности ещё недавно воспринималось как аксиома для достижения качества, то сегодня даже на уровне очень высококачественных вин могут применяться прямо противоположные техники, направленные на ограничение накопления сахаров в ягоде.
5. Засухи, эрозия почв – ещё одна реальность, с которой виноделы сталкиваются даже в исторических, премиальных регионах. Вопросы орошения и сохранения баланса минеральных и питательных веществ в почве всё более актуальны.

Но в каждой угрозе есть возможности. Многие зоны, ранее считавшиеся непригодными для виноградарства и виноделия, смогут изменить свой статус. Посмотрите, как расцвели винные регионы Канады, как зона Finger Lakes в США превратилась в признанный винодельческий регион – не в последнюю очередь благодаря нашему соотечественнику Константину Франку.

Многие зоны Ростовской, Воронежской областей смогут давать отличный технический виноград.

Как показывает мировая практика, вовлечение большого количества людей – малых производителей, виноградарей и виноделов, способно помочь российскому виноделию достичь мировых высот».

В условиях глобального потепления все чаще встречаются вина, в которых не хватает кислоты. 30-40 лет назад в винах было около 10 г/л титруемых кислот, сейчас же, в экстремально теплый год, мы не можем рассчитывать даже на половину от этого значения.

Герберт Шёдль (Herbert Schödl)

профессор энологии, дипломированный инженер (HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg)

1.2 СБОР УРОЖАЯ И КОНТРОЛЬ ПАРАМЕТРОВ СУСЛА.

Качество вина закладывается на винограднике. Поэтому винодел должен работать в тесном контакте с виноградарем-агрономом. И не просто быть в контакте, а знать и понимать физиологию лозы и основные принципы возделывания этой сложнейшей культуры (Keller Markus, 2010).

В винодельческих регионах, где осень сухая, длинная и теплая, меньше всего рисков, связанных с уборкой, так как существует



Винодел без азов агрономии – ничто и никто! Необходима коммуникация винодела и агронома на всех стадиях производства винограда.

Винодел обязательно должен владеть азами агрономии. Знать свой терруар, устойчивость и виды формирования лозы, причем принципиально для каждого сорта. Необходима возможность влиять на технологический цикл производства винограда на каждом этапе. От этого зависит качество нового урожая.

В зависимости от состояния виноградника после зимовки нужно принимать решение: как формировать кроны и как в дальнейшем вести лозу, базируясь на погодных условиях прошедшего сезона, а также, безусловно, истории и климатических изменениях за последние 5 лет.

Если виноградарь еще не знает, как оптимально формировать лозу на своем винограднике, можно использовать стандартную технологию обрезки, но обязательно подстраиваться, реконструировать куст в зависимости от условий текущего года: температуры, силы ветра и его направления, влажности, санитарного состояния виноградника.

Удалять ли листья или, наоборот, позволить лозе загустить крону, оставить свисающие побеги с одной стороны (чтобы защитить ягоды от заизюмливания), но поднять с другой, чтобы обеспечить хорошее проветривание куста – масса вопросов, которые должны решаться оперативно на протяжении всего вегетационного периода.

Только так можно получить оптимальную зрелость ягод и рассчитывать на достойное качество урожая.

Погода управляет действиями виноградаря и винодела. Успех – это своевременное и оперативное принятие решения.

Сергей Дубовик,

главный винодел «Мысхако»

небольшая вероятность внезапных метеорологических изменений, которые угрожают потерей качества урожая.

В регионах же с холодной, ветренной и дождливой осенью велик риск гниения ягод и потери большей части урожая, поэтому многие виноградари не рискуют и убирают урожай не вполне вызревшим. Эта ситуация усугубляется при высокой урожайности. Лишняя нагрузка на лозу увеличивает период созревания, и сроки уборки, в идеале, нужно переносить на более удаленный срок.

Но в последнее время в связи с потеплением климата повсеместно приходится убирать виноград раньше из-за излишней сахаристости в ягодах и опасения потери кислотности (Parker A.K., Hofmann R.W. et al., 2015; Jarvis C., Darbyshire R. et al., 2018). Часто при этом виноград не успевает пройти все этапы нормального последовательного формирования фенольных структур.

Поэтому так важны:

- Выбор сортов, подходящих к конкретной территории, с адекватным вегетационным периодом (Ortega-Farias S., Riveros-Burgos C., 2019; Bibliography, 2020);
- Ведение лозы, соответствующее почвенно-климатическим условиям (Meggio F., Pitacco A., 2019);
- И, конечно, хороший год.



Если полюбившемуся вам сорту нужен климат попрохладнее, стоит подыскать клон, известный большей кислотностью и наименьшим накоплением сахара. Разместить его лучше на почвах с хорошим водным резервом, а экспозицию выбрать не южную, а северную.

Для анализа совместимости планируемого к посадке сорта и климата рекомендую работы Амбера Паркера (Amber Parker) и Корнелиса ван Леувена (Cornelis Van Leeuwen). С помощью модели GFV (Grapevine Flowering Veraison Model) им удалось распределить классические европейские сорта по срокам цветения, смене цвета ягоды и, в конечном счёте, созреванию.

Алексей Сапсай,

энолог, агроном, партнер в агентстве Double Magnum Wine Consulting
 Более подробно: «Точки роста», Simple Wine News, 2019 (106)

Все эти факторы могут обеспечить равномерное вызревание и полифенольную зрелость.

Особенно трудно убрать виноград в оптимальные сроки на больших предприятиях, где виноградники насчитывают тысячи гектаров.

Первые партии винограда приходится собирать недозрелыми, а последние – перезрелыми. Но, тем не менее, проводить мониторинг созревания урожая нужно и на больших, и на малых предприятиях, чтобы минимизировать потери качества вина еще на винограднике (Keller M., 2020).

Выбор даты сбора урожая не должен основываться исключительно на внешнем виде винограда, его плотности, кислотности во рту или цвете древесных частей и состояния косточек.

Он должен базироваться на мониторинге процесса созревания путем точного измерения значимых, информативных параметров компонентов ягод (Parker A.K. et al., 2020).

Существует два основных способа определения даты уборки урожая. Первый – это долгосрочный метод, основанный на продолжительности цикла роста.

Второй – мониторинг процесса созревания через определенные промежутки времени. Выбор метода зависит от оснащения лаборатории, а у малых виноделен – от ее наличия.

1.3 СРОКИ УБОРКИ И АРОМАТИКА.

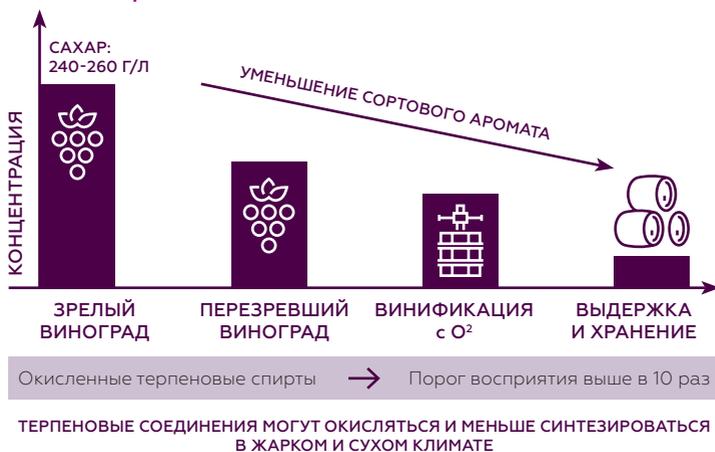
Считается, что при принятии решения об уборке урожая нужно обращать внимание на соотношение кислот-сахаров и зрелость полифенолов. При этом мало учитывается состояние ароматических соединений в свободной и связанной форме. А это важно, так как на жарком юге сохранить достойную ароматику очень сложно. Но желательно.

Монотерпеновые спирты определяют сортовой ароматический профиль, и их уровни должны учитываться при производстве ароматных вин.

Необходимо отслеживать концентрацию монотерпеновых спиртов в их свободных или связанных с сахарами формах.

Когда виноград еще зеленый, терпеновые спирты присутствуют в высоких концентрациях (250-500 мг/кг), но в связанной форме. Тогда как свободные формы либо полностью отсутствуют, либо присутствуют в небольшом количестве (30-90 мг/кг).

ЭВОЛЮЦИЯ СОРТОВЫХ ТЕРПЕНОВЫХ АРОМАТОВ





Добавление жидкого углекислого газа приводит к быстрому формированию редуктивной среды, а значит, к сохранению ягодных ароматов. Углекислый газ также препятствует окислению и появлению коричневых тонов.

Большим плюсом при таком методе является возможность снизить уровень сульфитации, что улучшает сенсорiku вина.

Холодная мацерация. При снижении температуры сортовые ароматические соединения попадают в сок: вина имеют более фруктовый характер, но танины при этом не экстрагируются. Красные вина после нескольких дней холодной мацерации тоже показывают более активные ягодные ноты.

Герберт Шёдль (Herbert Schödl),

профессор энологии, дипломированный инженер (HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg)

Начиная с veraison, концентрация свободных терпенов начинает увеличиваться. Но при перезревании количество таких соединений как линалоол и а-терпинеол уменьшается.

Концентрация связанных терпенов важна с технологической точки зрения, поскольку она может быть в 15 раз выше, чем в свободной форме. Эта доля почти не меняется в процессе винификации, особенно в молодых винах.

Следовательно, это природный ресурс, который может усилить сортовой аромат вина.

Это база для увеличения интенсивности аромата вина с помощью ферментов с гликозидазной активностью.

Грамотная организация технологического процесса – количество и время внесения препаратов – помогает сохранить и приумножить ароматику вина.

Но не все соединения в ягоде обладают приятным ароматом: есть и другие, с нежелательными свойствами, которых следует избегать.

Например, некоторые С6-спирты и соответствующие «листовые» альдегиды имеют растительные ароматы, которые отражаются на вкусе. Они образуются в результате окисления жирных кислот, при нарушении целостности ягод.

Большие емкости для сбора винограда, плохо настроенный комбайн при уборке, дробление белого винограда в окислительной среде – условия возникновения растительных тонов в вине.

Еще одна группа соединений, передающих зеленые тона зеленого перца и горошка – пиразины. Они являются дескрипторами незрелости у Cabernet Sauvignon, Sauvignon Blanc (Bramley R.G.V., Ouzman J., 2019; Farhana R. Pinu et al., 2019) и Merlot.

В вине эти соединения находятся в мизерных количествах – в диапазоне от 5,6 до 42,8 нг/л. Их очень сложно обнаружить и количественно оценить лабораторными методами (Juan Moreno, Rafael Peinado, 2012).

Концентрация пиразинов уменьшается при созревании. Сдерживает этот процесс холодная дождливая погода. Эти соединения чувствительны к свету и, следовательно, дефолиация способствует снижению их концентрации.

Ароматы пиразинов очень стойкие и уничтожаются только при нагревании, что пагубно сказывается на качестве вина.

Самые главные параметры, которые прежде всего учитываются при принятии решения о начале уборки: уровень кислот и сахаров, а еще наличие полифенольной зрелости. На юге при принятии решения о сроках уборки прежде всего оценивается уровень кислот.



Если виноград собирают недозревшим, то в аромате присутствуют тона болгарского перца, связанные с присутствием пиразинов. Эти вещества очень стойкие и разрушаются только при нагревании – можно провести быстрое нагревание дробленого винограда до 65 °С и очень быстрое охлаждение, организовать удаление косточек, избегать попадания гребней. Может помочь быстрое проведение брожения при высокой температуре. В противном случае при выдержке пиразины дают неприятные тона и горечь.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»

МНОГО ЛИСТЬЕВ И МАЛО СВЕТА • И/ИЛИ ХОЛОДНО • И/ИЛИ МАЛО ВЛАГИ

↓ **МЕТОКСИПИРАЗИНЫ** ↑
«Зеленый» травянистый стиль:
ароматы



ГОРОШЕК



ЭВКАЛИПТ



МЕНТОЛ



ЗЕЛЕНЫЙ ПЕРЕЦ

Молекулы пиразинов обладают быстрой растворимостью в водных растворах (Vierra G., 2004), что означает полную их экстракцию в жидкую фазу за короткий промежуток времени. Соответственно, при сборе урожая нужно иметь в виду, что любой контакт сока с гребнями (где пиразинов больше всего), который иногда наблюдается на дне больших емкостей, должен быть исключен.

...При переработке урожая качественное удаление гребней (без их малейшего сдавливания) является обязательной операцией.

...Термовинификация способна значительно (до 75%) снизить концентрацию пиразинов в готовых винах (Davaux F., 2005).

...Но наилучший метод борьбы с пиразинами – превентивный, т.е. правильная агротехника на винограднике!

Алексей Сапсай,

энолог, агроном, партнер в агентстве Double Magnum Wine Consulting
Более подробно на сайте nashevino.ru: «Вам с перцем или без?» от 28 апреля, 2015.



1.4 КИСЛОТЫ И ИХ УРОВНИ ПРИ УБОРКЕ УРОЖАЯ.

Пути метаболизма самых разных веществ при созревании ягоды пересекаются, а кислоты в этих процессах играют непосредственную роль, причём не только при формировании общей и активной кислотности. Они участвуют в сложении окончательной структуры вина и органолептических свойств конечного продукта.

РОЛЬ КИСЛОТ В ЖИЗНИ ВИНА



Основные кислоты в виноградной ягоде – яблочная и винная. Они обуславливают до 90% кислотности сусла. Это слабые органические кислоты, и только часть из них диссоциирована.

Поэтому при оценке кислотности сусла нужно анализировать оба показателя:

- Титруемую (общую) кислотность
- Активную кислотность – pH

Обычно сусло, полученное при прессовании, имеет pH от 3,0 до 4,0.

Более низкий pH у белого сусла, а верхняя граница – очень нежелательный вариант для красного сусла.



Уровни яблочной (маликовой) кислоты зависят от сорта винограда и климата, в котором культивируется лоза. Температура выше 25 градусов провоцирует активизацию внутриклеточного горения – её концентрация уменьшается.

В холодных регионах её количество может превышать 8 г/л, в то время как в тёплых значения колеблются между 1-2 г/л.

Уровни винной кислоты при veraison могут достигать 20 г/л сока.

К моменту зрелости ягод значения лежат в диапазоне от 3,0-3,5 до 9-11 г/л и зависят от сорта и, прежде всего, наличия воды (эффект разбавления).

Поскольку винная кислота в химическом плане сильнее, чем яблочная, и содержится в более высоких концентрациях, она оказывает большее влияние на pH сусла и вина.

Лимонная кислота содержится в винограде в меньших количествах. В здоровом винограде уровни не превышают 300 мг/л, но в ягодах, зараженных Botrytis cinerea, они могут достигать 1 г/л.

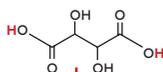
В условиях жаркого климата, при недостатке листьев, ягоды заизюмливаются и очень быстро теряют яблочную кислоту – она буквально сгорает на солнце. Значения могут опуститься до 0,2-0,3 г/л, а титруемой кислотности до 2,7-3,8 г/л (по винной к-те). При этом pH повысится до 4,2-4,5! Такие показатели не позволят сделать качественное вино. Поэтому коррекция кислотности в этом случае обязательна.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»

PH. АКТИВНАЯ = ИСТИННАЯ КИСЛОТНОСТЬ



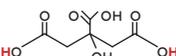
ВИННАЯ (ТАРТАРОВАЯ)



ВЫШЕ СТЕПЕНЬ ДИССОЦИИАЦИИ



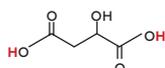
ЛИМОННАЯ



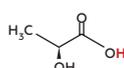
ПАДАЕТ СИЛА КИСЛОТЫ – МЕНЬШЕ ОБРАЗУЕТСЯ H+



ЯБЛОЧНАЯ (МАЛИКОВАЯ)



МОЛОЧНАЯ (ЛАКТАТ)



Множество других кислот, содержащихся в винограде, находятся на гораздо более низких уровнях. Например, α-кетоглутаровая кислота, щавелевая кислота, пировиноградная

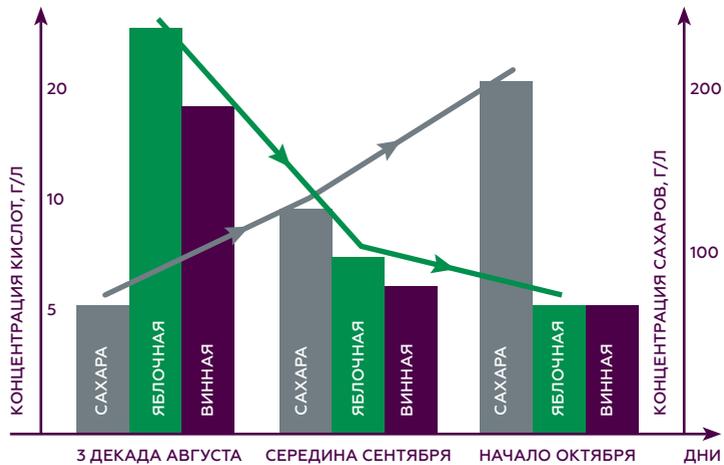
кислота и глюконовая кислота. Существенная роль отводится и фенольным кислотам – как в жизни лозы, так и в формировании структуры и ароматики вина. Но поскольку это слабые кислоты и встречаются они в более низких концентрациях, чем основные кислоты, они не вносят значительного вклада в кислотность, но участвуют в важнейших биохимических процессах, таких как цикл Кребса, реакции полимеризации с антоцианами, образования простых и сложных эфиров и прочих важнейших реакциях.

Отслеживание изменений количества кислот и pH во время созревания ягод даёт ключевые данные, которые будут определять решение относительно времени и порядка уборки урожая. Например: соотношение винной и яблочной кислот. Оно зависит от климатических условий в конкретный год. Содержание винной кислоты остаётся относительно постоянным. Уровни яблочной кислоты достигают пика в veraison и уменьшаются по мере созревания винограда.

Воздействие высоких температур активирует ферменты, которые катаболизируют яблочную кислоту. Одного этого, по-видимому, недостаточно, чтобы объяснить влияние температуры на содержание яблочной кислоты. Снижение синтеза и, возможно, усиление глюконеогенеза (синтеза сахаров) также могут играть роль в снижении содержания яблочной кислоты (Ronald S. Jackson, 2008).

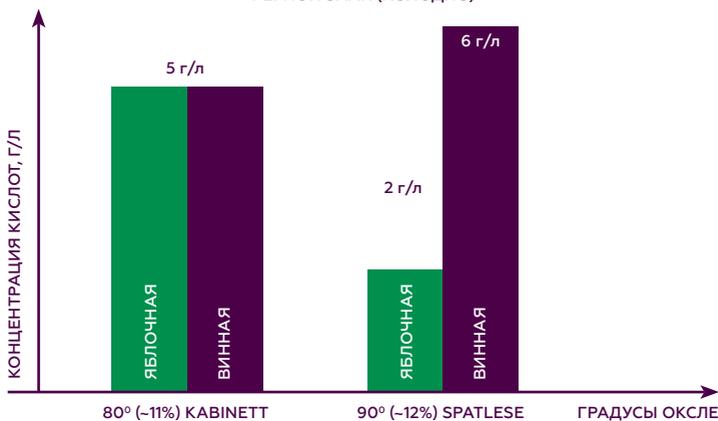
ДИНАМИКА КИСЛОТ И САХАРОВ ВО ВРЕМЯ СОЗРЕВАНИЯ ЯГОД

СОПМ CABERNET SAUVIGNON, PAULLAC, BORDEAUX



СОРТОВАЯ КИСЛОТНОСТЬ

РИСЛИНГ – ВЫСОКИЙ УРОВЕНЬ ВИННОЙ КИСЛОТЫ. ГЕРМАНИЯ, РЕГИОН SAAR (ХОЛОДНО)



Таким образом, виноград, выращенный в холодных регионах, имеет более высокий уровень яблочной кислоты, чем виноград, выращенный в теплых областях. То же самое относится и к ягодам, которые созревают в тени листьев винограда по сравнению с теми, которые подвергаются воздействию прямых солнечных лучей.

Еще одна причина падения концентрации кислоты во время созревания – увеличение размеров ягоды и поглощение воды.

В дополнение к влиянию окружающей среды, на содержание яблочной кислоты могут активно влиять наследственные факторы. У некоторых сортов, таких как Zinfandel, Cabernet Franc, Chenin Blanc, Syrah и Pinot Noir повышенный уровень яблочной кислоты обусловлен генетикой. А у Riesling, Sémillon, Merlot, Grenache и Palomino в ягодах при полном созревании больше винной кислоты (Kliewer et al., 1967, 1971).

Еще один пример активного воздействия кислот на процесс винификации, но уже отрицательный – глюконовая кислота (Mounir M., Shafiei R. et al., 2016). Эта кислота появляется в ягодах при заражении грибом *B. cinerea* (Barbe et al., 2001).

Она образуется в результате окисления сахаров и может превышать 5 г/л.

Этот показатель можно использовать в качестве маркера степени заражения *Botrytis*.

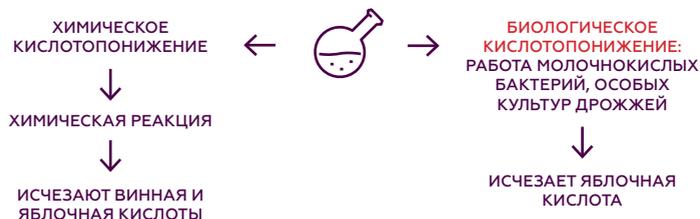
Для изготовления качественных вин используется только сусло с уровнем менее 1 г/л. При концентрации выше 1,5 г/л сусло используется для дистилляции.

1.5 ПОТЕРЯ КИСЛОТНОСТИ НА ВИНОГРАДНИКЕ И ЕЕ КОРРЕКЦИЯ.

КОРРЕКЦИЯ КИСЛОТНОСТИ СУСЛА И ВИНА

УВЕЛИЧЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ = ПОДКИСЛЕНИЕ

СНИЖЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ = РАСКИСЛЕНИЕ



Виноделам разрешено при необходимости подкорректировать параметры сусла – исправить огрехи, допущенные на винограднике.

В северных винодельческих регионах в дождливый холодный год может потребоваться избавиться от лишней кислотности. Или поправить баланс другим путем – проведя шаптализацию. Но нужно помнить, что использование более одной процедуры коррекции в одном и том же сусле запрещено.



Кислотность – важный и обязательный показатель, который нужно отслеживать, начиная с винограда и заканчивая розливом.

Коррекция кислотности должна быть грамотной и своевременной: на основе анализа винограда и дальнейшего направления его использования.

Как правило, лучше сохранить нативную кислотность, чем потом подкислять сусло и корректировать вино.

Ванда Ботнарь,
главный винодел «Кубань-Вино»

На юге другие проблемы: жара и отсутствие влаги.

Когда в течение вегетационного периода наблюдаются температуры выше 30-35 градусов, большой проблемой становится потеря кислотности сусла. Если уровень pH пересекает отметку 3,6, это означает, что после спиртового и яблочно-молочного брожения значения активной кислотности станут еще выше. Как следствие, изменятся биохимические процессы при винификации, снизится устойчивость вина, способность к развитию, обеднеет ароматика, вино потеряет баланс и станет плоским на вкус.

Чтобы спасти ситуацию, нужно подкорректировать активную кислотность сусла внесением кислот, характерных для виноградной ягоды. Это считается разумной практикой при потере кислотности в ягодах и необходимо для получения высокока-

чественных чистых вин с ярким цветом и хорошим вкусом, которые хорошо проявляют себя на выдержке.

Правила Европейского Союза позволяют подкислять новые сусла и вина во время ферментации в южных регионах – в оговорённые законом сроки и соблюдая нормы внесения кислоты.

Для подкисления разрешено использовать молочную, L (-) или DL яблочную, L (+) винную или лимонную кислоты.

Недостатком лимонной кислоты является то, что она легко разлагается микроорганизмами и бактериями, ответственными за малолактоическую ферментацию. Поскольку это приводит к увеличению летучей кислотности и диацетила, лимонную кислоту стараются не использовать в качестве подкисляющего агента. Кроме этого, массовая концентрация лимонной кислоты в столовых винах и столовых виноматериалах должна быть не более 1,0 г/дм (ГОСТ 32030-2013), что недостаточно для заметно-го повышения кислотности.

Винная кислота – наиболее сильная из виноградных кислот и заметно увеличивает ощущение кислотности во рту. Но иногда добавление винной кислоты приводит лишь к незначительному снижению pH, поскольку у сусла работают буферные системы и часть добавленной кислоты выпадает в осадок из-за образования битартрата калия. По оценкам, около 30% добавленной кислоты может осаждаться в виде соли. Поэтому процесс подкисления этой кислотой нужно проводить очень осторожно и вносить кислоту в несколько приемов, так как трудно прогнозировать реакции этого химического соединения с другими компонентами сусла.

При потере кислотности в процессе созревания очень важна коррективировка кислотности. Чаще всего используется винная кислота, но можно использовать яблочную и молочную кислоты.

Снижая pH, легче добиться более чистой ароматики после брожения.

Малолактоическую ферментацию гораздо удобнее контролировать при более низких значениях pH.

Через корректировку кислоты можно добиться лучшей гармонии в вине. Целесообразно перед корректировкой кислотности сделать несколько разных вариантов и сравнить их сенсорные компоненты между собой.

Герберт Шёдль (Herbert Schödl)

профессор энологии, дипломированный инженер (HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg)

Все работы по коррекции сусла должны быть произведены на ранней стадии процесса – до начала брожения. Подкисление проводится сразу после дробления или на сусло. В этом случае дрожжи более успешно адаптируются к параметрам сусла и меньше риск вялотекущего брожения или даже его остановки.

Сергей Дубовик,

главный винодел «Мысхако»

Корректировать кислотность в красном сусле желательно уже после pH 3,6. Для подкисления можно использовать 2/3 винной и 1/3 яблочной кислоты.

После проведения ЯМБ некоторое количество яблочной кислоты может остаться в вине – все зависит от химического состава используемой кислоты.

Сергей Дубовик,

главный винодел «Мысхако»

Считается, что подкисление сусла рекомендуется, когда общая кислотность ниже 4 г/л (по винной кислоте), и доводить его стоит до 4,5-5 г/л (по винной кислоте). На практике, однако, целесообразнее ориентироваться на pH, и установить в качестве порога значения активной кислотности около 3,5-3,6 для красных вин.

Выбор конечного значения pH зависит от типа вина, которое будет производиться, и предпочтений винодела.

Белые вина с pH, близким к 3,1, являются более микробиологически стабильными и выдерживают длительные периоды старения, но они довольно агрессивны во вкусе.



При обработке холодом соли яблочной кислоты остаются в растворе – в отличие от солей винной кислоты, битартратов, которые постепенно выпадают в виде кристаллов.

Корректировать кислотность на предфинальной стадии перед розливом можно молочной кислотой – для белых и для красных вин.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»

В этом источнике приводятся варианты расчетов коррекции всех параметров сула: Juan Moreno, Rafael Peinado, 2012). Enological Chemistry DOI: 10.1016 / B978-0-12-388438-1.00009-1 121. Elsevier Inc.

Напротив, белые вина с pH выше 3,4-3,5 менее устойчивы и имеют меньший срок годности, их вкус не отличается свежестью.

Так что нужна золотая середина.

Считается, что добавление 1 г/л винной кислоты приводит к снижению pH на 0,2 (Juan Moreno, Rafael Peinado, 2012).

Нормальная кислотность очень важна, особенно в спиртуозных винах, так как обеспечивает не только сбалансированный вкус, но и правильное развитие вина и его жизнеспособность.

1.6 ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ВРЕМЯ УБОРКИ УРОЖАЯ.

Фенольные соединения являются ключом к уровню качества вина.

Полифенолы связаны с многочисленными органолептическими и энологи-ческими характеристиками, включая жесткость, мягкость, баланс и потенциал старения.

Каждый сорт формирует свою полифенольную структуру в соответствии со своей генетикой, почвенно-климатическими условиями, высотой над уровнем моря и способами ведения лозы.



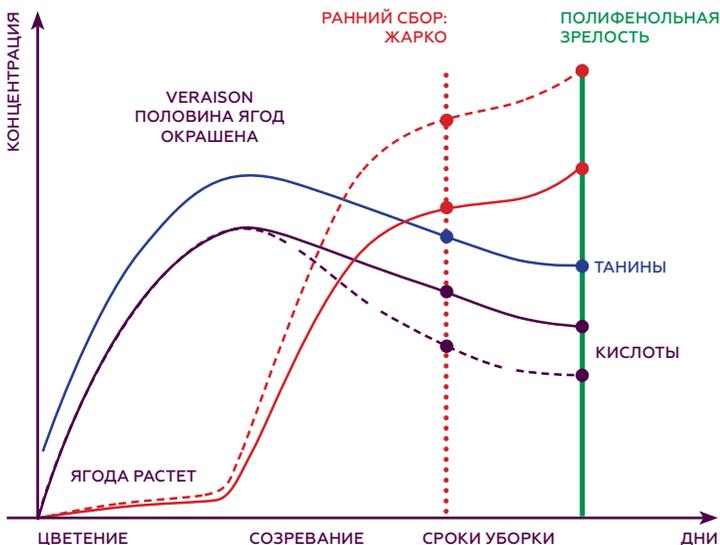
По мере созревания меняется химическая структура полифенолов, их локализация в клетке. Поэтому каждому сроку созревания соответствует свой уровень зрелости танинов. При ранней уборке они не достигают своей законченной формы. «Зеленые» танины практически невозможно «спрятать», они активно нарушают правильную органолептику вина. Незрелая фенольная структура ягод не позволит вину красиво развиваться, к тому же у вина не будет сформирована полноценная антиоксидантная и микробиологическая защита.

Принятые количественные методы часто учитывают только «общие полифенолы», но это не всегда даёт вполне адекватный прогноз развития и потенциала вина. Если бы применялся только этот критерий оценки, то лучшими считались бы вина, которые имеют самый интенсивный цвет и самые высокие уровни танинов – например, прессовая фракция.

В России можно констатировать серьёзную зависимость отставания в фенольной зрелости на участках с избыточным водным стрессом, особенно если у лозы большая листовая поверхность. Этот стресс вреден для белых сортов и вызывает проблемы с фенольной зрелостью у красных. Вовремя выявить остановку фенольного созревания позволит метод Cromoenos испанца Хосе Паскуаля Гарсии Ромеро.

Алексей Сапсай,
 энолог, агроном, партнер в агентстве
 Double Magnum Wine Consulting
 Более подробно на сайте www.bioenos.com/cromoenos и в статье «Точки роста»,
 Simple Wine News, 2019 (106)

НАКОПЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ЯГОДЕ ПРИ СОЗРЕВАНИИ





Традиционно оптимальную зрелость винограда определяют по сахаристости и кислотности, иногда по цвету семян. Однако, если для белых сортов такой способ определения зрелости вполне подходит, то для красных этих показателей недостаточно. Ведь в отличие от технологии производства белых вин, красные нуждаются в мацерации на кожице и семенах, и их фенольная зрелость играет определяющую роль для стиля и потенциала вина.

Фенольная зрелость – наиважнейший фактор в производстве красных высококачественных вин. Поэтому проблеме определения оптимальной даты сбора урожая посвящено множество исследований.

Существует также достаточно большое количество методик определения полифенольного потенциала. Наиболее часто используемые и хорошо себя зарекомендовавшие:

- Метод с/х Палаты Жиронды (Бордо) (Dupuch V., 1998),
- Метод Глориес (Glories Y., Augustin M., 1992),
- Метод Cromoenos (www.bioenos.com/cromoenos).

Алексей Сапсай,

энолог, агроном, партнер в агентстве Double Magnum Wine Consulting
 Более подробно на сайте nashevino.ru,
 «Определение оптимальной даты урожая винограда для красных вин»
 от 14 мая, 2015



На официальных страницах проекта «Винный гид России» в социальных сетях можно найти полезную информацию для виноделов, виноградарей и агрономов: facebook.com/wineguide.rsk

Только для некоторых сортов это считается важным критерием при уборке. Для Гренаша, Пино Нуара, Каберне Франа, выращенных в проблемных холодных климатических зонах, этот показатель считается важным диагностическим признаком.

Ученые-энологи уже давно разработали более точные параметры оценки полифенольной зрелости ягод, которые позволяют принимать взвешенное решение о сроках уборки, планировать методы винификации и прогнозировать дальнейшее развитие вина. Эти данные также являются основой для регулирования полива и перезапуска процесса созревания ягод после засухи.

Многие ученые считают, что фенологические модели, основанные на реакции растения на температуру, являются полезными инструментами для прогнозирования развития виноградной лозы (*Vitis vinifera* L.) в разных климатических условиях. Особенно это становится полезным в сценариях изменения климата (Parker A.K. et al., 2011).

Некоторые варианты подсчета коэффициентов (соотношения между значимыми компонентами суслу) для принятия решения об уборке урожая можно прочитать в этой книге: Juan Moreno u Rafael Peinado 2012, *Enological Chemistry* DOI: 10.1016/B978-0-12-388438-1.00009-1121. Elsevier Inc.

ПОЛИФЕНОЛЬНАЯ ЗРЕЛОСТЬ: МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ СУСЛА И ВИНА

ПОЧЕМУ ЖЕ ТАК ВАЖНА ПОЛИФЕНОЛЬНАЯ ЗРЕЛОСТЬ?

Виноград – удивительный растительный организм, который может существовать

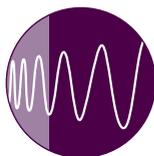
на скудных почвах, при хроническом дефиците воды, на большой высоте и на разных широтах. У лоз есть развитая гормональная и иммунная система, которая помогает справляться с почвенно-климатическими, микробиологическими проблемами и поддерживать связь друг с другом. Они привязаны к определенному месту жительства – не могут убежать от опасности, поэтому в процессе эволюции у лоз выработался широчайший спектр защитных стратегий против биотических и абиотических стрессоров.

ФУНКЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

АНТИОКСИДАНТЫ И ЗАЩИТНИКИ ОТ МИКРОФЛОРЫ, А ТАКЖЕ:



ЗАЩИТА ОТ UV



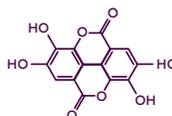
ФУНГИЦИДЫ



АНТИБИОТИКИ
ТОКСИНЫ



ПРОЦЕССЫ
МЕТАБОЛИЗМА –
ГОРМОНЫ И ДР.



ВЕЩЕСТВА ДЛЯ
ПРИВЛЕЧЕНИЯ
НАСЕКОМЫХ-
ОПЫЛИТЕЛЕЙ
(АТТРАКТАНТЫ)



СИГНАЛЬНЫЕ
МОЛЕКУЛЫ ДЛЯ
ПРИВЛЕЧЕНИЯ
ПОЛЕЗНЫХ
БАКТЕРИЙ
(P. RHIZOBIUM)

УКРЕПЛЯЮТ
КЛЕТОЧНУЮ СТЕНКУ,
УМЕНЬШАЮТ
ПРОНИЦАЕМОСТЬ,
УВЕЛИЧИВАЮТ
МЕХАНИЧЕСКУЮ
ПРОЧНОСТЬ



СИГНАЛЬНЫЕ
МОЛЕКУЛЫ ДЛЯ
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ
СОСЕДЕЙ
ОБ
ОПАСНОСТИ



Чтобы получить полифенольную зрелость, необходимо отслеживать водный режим (площадь питания виноградника), обеспечивать лозы всем необходимым, должна быть подобрана оптимальная схема посадки виноградника. Одними из самых важных факторов являются: почва и содержание в ней микро- и макроэлементов, достаточных для обеспечения и формирования качественных гроздей, затем – урожайность, нагрузка на лозу. В наших условиях урожайность выше 10–12 т/га подходит для игристых вин. Есть сорта, которые формируют и 15 т/га. Эффективная урожайность для качественных тихих вин – 8 т/га.

Полифенольную зрелость можно регулировать при наблюдении за развитием ягод, но оптимально сохранять около 2,0 – 2,5 кг на лозу.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»

Виноград способен вырабатывать вещества, нейтрализующие ферменты микро- флоры (такие как целлюлаза и пектиназы), вырабатывать средства биохимической защиты, усилить структуру клеточной стенки с помощью активации синтеза полифенолов (Matern, Grimmig, 1993) и формировать долгосрочный иммунитет, в том числе накапливая токсичные вещества в тканях.

Полифенолы – соединения, без которых невозможно представить нормальную жизнь винограда и производство качественного вина.

Поэтому самой желанной степенью зрелости для виноградаря и винодела является полифенольная зрелость. Особенно если она сочетается с балансом кислот и сахаров. Достичь этого паритета чрезвычайно сложно, особенно в условиях жаркого засушливого климата.

2.1 ГРУППЫ ПОЛИФЕНОЛОВ, ОСОБЕННО ВАЖНЫХ ДЛЯ ВИНОДЕЛИЯ.

Полифенолы – это тысячи и тысячи соединений, существующих в природе. Они образуют полимерные соединения с себе подобными, а также с сахарами, кислотами и др. молекулами. Поэтому в литературе встречается множество классификаций этой группы веществ.

Состав полифенолов в винограде и вине варьируется в зависимости от сезона, климатических условий, структуры и состава почвы, практики виноградарства и технологии виноделия.

Было доказано, что интенсивность и качество света в полевых условиях заметно модулируют биосинтез антоцианинов и флавоноидов (Gonzalez et al., 2015; Friedel et al., 2016).

Также было тщательно изучено влияние различных технологических приемов на полифенольный состав при производстве вина (Garrido, Borges, 2013).

Эта группа соединений оказывает непосредственное влияние на сенсорные характеристики вина – это не только цвет, но и вкусовые ощущения: горечь, терпкость или бархатистость, а также ароматика.

К тому же эти соединения несут большую нагрузку по защите вина от окисления и воздействия микрофлоры (Jeffrey A. Stuart, Ellen L. Robb, 2013).

2.1.1 ФЛАВОНОИДЫ.

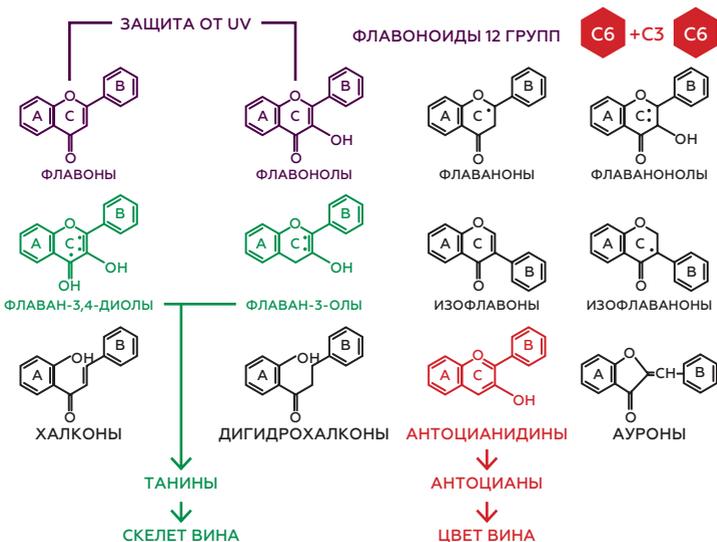
Одна из самых важных для виноделия групп фенольных соединений. На сегодняшний день выявлено более 8000 различных флавоноидов.

Для виноградарей и виноделов особенно интересны следующие группы этих соединений:

1. Антоцианидины, антоцианидингликозиды: мальвидин-3-О-глюкозид, пеонидин-3-О-глюкозид, петунидин-3-О-глюкозид, цианидин-3-О-глюкозид, дельфинидин-3-О-глюкозид и их соответствующие ацилированные формы;
2. Флавонолы и флавоноловые гликозиды: кемпферол, кверцетин и мирицетин;
3. Флаван-3-олы: группа катехина (катехин, эпикатехин, эпигаллокатехин) и продукты полимеризации – процианидины;
4. Флаван-3,4-диолы.

Представители флаван-3-олов и флаван-3,4-диолов, соединяясь друг с другом, формируют соединения с дубящими свойствами – танины (Helmut Konig, Gottfried Unden et al., 2017).

ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА СЕМЕЙСТВА ФЛАВОНОИДОВ





ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

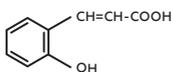
НЕФЛАВОНОИДНОЙ ПРИРОДЫ (ХОРОШО РАСТВОРИМЫ, МНОГО В МЯКОТИ)

Группа
бензойной кислоты
C6 – C1



C6 +C1

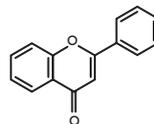
Группа
оксикоричной кислоты
C6 – C3



C6 +C3

ФЛАВОНОИДЫ

Танины
Антоцианы



C6 +C3 C6

2.1.2 «НЕФЛАВОНОИДЫ».

Еще одна обширная и важная группа фенольных соединений.

Эти соединения, в свою очередь, подразделяются на три группы:

1. Гидроксibenзойные кислоты: галловая кислота, эллаговая кислота, ванилиновая, салициловая и др. кислоты;
2. Гидроксикоричные кислоты: п-кумаровая кислота, кофейная кислота и феруловая кислота и др.;
3. Стилбены: ресвератрол, ресвератрол глюкозиды и др.

Фенольные кислоты и группа стилбенов – прекрасные защитники!

Представители группы коричных кислот могут включаться в полисахаридную фракцию растительных клеток уже в течение 24 часов после грибковой атаки. Ацилирование обеспечивает повышенную механическую жесткость и делает полисахариды нечувствительными к активности гидролитических ферментов патогенных грибов.

Или другой пример: считается, что бензойные кислоты воздействуют на ферментные системы микроорганизмов, тем самым подавляя их жизнедеятельность. Ягоды с повышенным содержанием этих кислот (брусника, клюква) долго сохраняют свежесть.

Один из представителей этой группы – салициловая кислота (2-гидроксibenзойная кислота) – обеспечивает растению системную приобретенную резистентность и играет роль регулирующей молекулы в метаболических процессах (Mettraux et al., 2008, Qin et al., 2015).

Кроме этого, эфиры на базе бензойных кислот обладают ароматом лесных ягод.

Фенольные кислоты принимают участие в образовании комплексов с антоцианами, таким образом защищая их от окисления.

ФЕНОЛЬНЫЕ КИСЛОТЫ

СОДЕРЖАТСЯ В КОЖИЦЕ, МЯКОТИ (ХОРОШО РАСТВОРИМЫ), В СЕМЕНАХ



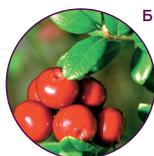
ГРУППА БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ

C6 +C1

Бактерицидное действие + эфир с приятным ароматом = E210 – 213



Ванилиновая, сиреневая, галловая, салициловая и др.



БРУСНИКА



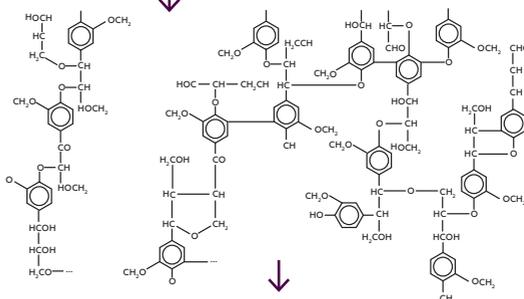
КЛЮКВА

ГРУППА ОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ

C6 +C3

Коричная, кумаровая, феруловая, кофейная, синаповая, каутаровая, кафтаровая и др.

ОКСИКОРИЧНЫЕ СПИРТЫ



ЛИГНИН (КЛЕТОЧНАЯ СТЕНКА)

ОБЩЕЕ КОЛИЧЕСТВО КИСЛОТ В РЯДАХ: C6-C1 И C6-C3, В КРАСНЫХ ВИНАХ: ОТ 50 ДО 100 МГ/ДМ³

Представитель стилбенов: ресвератрол – фитоаллексин, который активно синтезируется в ответ на грибковую инфекцию (Pour Nikfardjam et al., 2006).

Исследования показали, что концентрация ресвератрола зависит от сорта и присутствия агрессора, например, от *Botrytis cinerea* (Magyar, 2011).

В здоровых ягодах зафиксировано меньше этого соединения, чем в винограде с легкой инфекцией. Но в случае очень сильного поражения концентрация ресвератрола резко снижается.

Это связано с активностью лакказоподобного фермента, стильбеноксидазы, который вырабатывается грибом в качестве средства против защитного действия ресвератрола, нейтрализует его (Breuil et al., 1998).

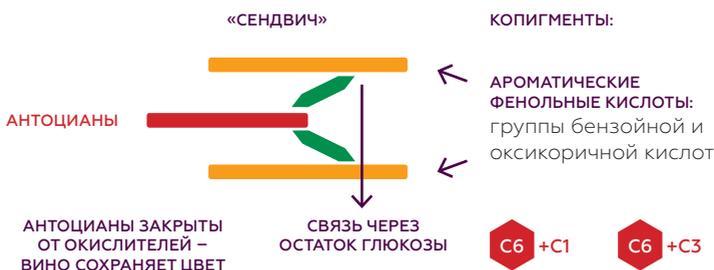
Кроме этого, была доказана выраженная отрицательная корреляция между образованием ресвератрола и содержанием антоцианов в клетках кожицы ягод.

Это связано с конкурентным действием двух ферментов, обеспечивающих профильные синтетические процессы в клетках.



ОБРАЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ И ВЫДЕРЖКЕ – ЗАЩИТА ОТ ОКИСЛЕНИЯ АНТОЦИАНОВ

РЕАКЦИЯ ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНОЙ КОПИГМЕНТАЦИИ АНТОЦИАНОВ И ФЕНОЛОКИСЛОТ



Ресвератрол – довольно эффективная защитная молекула для виноградной лозы, но ее недостаточно, чтобы обеспечить безопасность. Обычно ресвератрол составляет всего 1% или менее от общей концентрации полифенолов.

Поэтому чрезвычайно важны другие классы фенольных соединений.

2.2 ПОЛИФЕНОЛЫ-ЗАЩИТНИКИ.

Они выступают в качестве щита от радиации и ультрафиолетового излучения, от активных форм кислорода и в качестве защитников от нападков микрофлоры.

Естественно, что большая часть этих веществ находится в кожуре ягод – на первом уровне обороны и в виноградных косточках, где сосредоточено самое ценное – генетический потенциал растения (Harborne, 1988; Treutter, 2006).

В большинстве случаев их действие носит многоплановый характер. Несмотря на то, что основная функция антоцианов – защита от ультрафиолетового излучения и интенсивного видимого света, а также их способность выступать в качестве аттрактантов, эти пигменты обладают еще и сильным антимикробным действием.

Свыше 540 различных антоцианов были описаны в растительном мире, более половины было зарегистрировано после 1992 года (Anderson and Jordheim, 2006). В винограде было найдено несколько десятков химических структур на основе антоцианов.

Данные по количеству антоцианов разнятся. И это понятно – они легко вступают в союз с другими фенольными соединениями, сахарами и металлами.

ТАНИНЫ, АНТОЦИАНЫ И ФЕНОЛОКИСЛОТЫ

ОСНОВНАЯ ФУНКЦИЯ – ЗАЩИТА



2.2.1 МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ.

Биологические эффекты флавоноидов связаны с их антиоксидантными свойствами и потенциальной цитотоксичностью. Они действуют как агенты, нейтрализующие активные формы кислорода (Reactive oxygen species, ROS).

Поведение окисленных флавоноидов (хинонов и связанных с ними продуктов окисления) привлекает большое внимание физиологов растений и энологов.

Хиноны токсичны в отношении патогенов и являются сильными антибиотиками, они способны алкилировать белки (Pourcel et al., 2006).

В вине они могут провоцировать реакцию конденсации хинонов с другими компонентами вина, что приводит к образованию темно-коричневых комплексных продуктов, которые постепенно выпадают в осадок.

Интересно, что полимеры кемпферола и кверцетина, результат действия полифенолоксидаз (PPO), обладают более сильным эффектом поглощения ROS, чем соответствующие мономеры.

Эти реакции чрезвычайно полезны лозе в природе, но могут пагубно сказаться

на качестве суслу и/или вина. Контролируя эти процессы, можно избежать винодельческих ошибок.

Для того чтобы полифенолы могли выполнить свою защитную функцию, в ягоде должны работать соответствующие ферментные системы.

Причём, у винограда эти реакции направлены на защиту растительной ткани, а у грибов – на разрушение субстрата.

В окислении флавоноидов принимают участие следующие ферменты:

- лакказы (EC 1.10.3.2)
- катехолоксидаза (тирозидаза) (EC 1.10.3.1)
- пероксидаза (EC 1.11.1.7) (Helmut K. et al., 2017, стр. 442)

В здоровых клетках ферменты и субстраты разделены – локализованы в разных субклеточных компартментах.

Антоцианины, флавонолгликозиды, флаван-3-олы и проантоцианидины изолированы в вакуолях.

Окисление может происходить только после старения или повреждения растительных клеток, а также под воздействием разного рода фитопатогенных микроорганизмов.

Нарушение целостности клеток провоцирует контакт кислорода, полифенолов и окислительных ферментов.

К тому же ранение влечет за собой защитное образование дополнительных полифенолов и соответствующих окислительных ферментов. Запускается цепная реакция: окисленные танины могут реагировать путем ковалентного связывания с пектиназами, целлюлазами и лакказами грибов, что приводит к их ингибированию, а значит к нейтрализации угрозы (Pourcel et al., 2006).

Одно из важнейших веществ, участвующих в защите вина от окисления – глутатион (GSH).

Пока присутствует достаточное количество GSH, хиноны, образующиеся при окислении полифенолов, реагируют с восста-

новленным глутатионом и потемнения не происходит (Hosry et al., 2009; Du Toit, Oberholster, 2014).

Поэтому уровень глутатиона (GSH) в мусте и вине имеет первостепенное значение и определяет степень реакции потемнения.

Кроме глутатиона, восстанавливающими агентами могут быть аскорбиновая кислота и сернистый газ. Эти вещества также восстанавливают о-хиноны в фенолы и подавляют процесс конденсации хинонов.

Для получения более подробной информации по этим вопросам можно обратиться к исследованиям: Ribereau-Gayon et al., 2000; Monagas et al., 2005; Cheynier, 2006; Garrido, Borges, 2013.

МИКРОБИОЛОГИЯ СУСЛА И ВИНА

3.1 ДРОЖЖИ

3.1.1 Разнообразие дрожжей в природе

Вино является конечным продуктом ферментативной активности дрожжей и бактерий. Микробиота виноградного сока может значительно варьироваться, поскольку более 40 родов и 100 различных видов дрожжей были выделены из винограда или вина (Boulton et al., 1996; Renouf et al., 2007; Jolly et al., 2013; Byrsch-Herzberg and Seidel, 2015; Drozd et al., 2015; Setati et al., 2015; Boynton and Greig, 2016; Garofalo et al., 2016; Jara et al., 2016; Rossouw, Bauer, 2016; Villalba et al., 2016).

Это ссылка на одну из научных баз, где описаны представители большей части известных дрожжей и указано их место в современной классификации: www.mycobank.org. «Mycobank – онлайн-база данных, предназначенная для оказания услуг микологическому и научному сообществу путем документирования микологических номенклатурных новинок (новые имена и комбинации) и связанных с ними данных, например, описаний и иллюстраций». Последнее обновление данных случилось совсем недавно – 31 июля 2019 года.

3.1.2 Разные подходы к использованию культур дрожжей

В современной виноделии существует два направления проведения ферментаций:

- На автохтонной культуре дрожжей и бактерий, характерных для данного апелласьона и винодельни;
- С помощью коммерческих культур, которые обеспечивают бесперебойную ферментацию и получение вина с определенными параметрами вкуса и аромата.

В большинстве случаев, особенно на больших производствах, виноделы инокулируют сусло коммерческими штаммами дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. И это оправдано.

Во-первых, добавление активно размножающейся культуры дрожжей обеспечивает быстрый «захват» объема сусла, минимизируя деятельность разного рода бактерий и дрожжей non-*Saccharomyces*.

В начале брожения с помощью «защитных» токсичных веществ они существенно ограничивают жизнедеятельность патологических микроскопических «резидентов».

При вялотекущем процессе посторонняя микрофлора, наряду с дрожжами, получает доступ к пищевым ресурсам, а это может отрицательно повлиять на ход ферментации, что приведёт к образованию нежелательных химических соединений (Helmut Konig, Gottfried Uden, 2017).

Во-вторых, если винодел стремится получить вино определенного стиля, с характерным узнаваемым ароматическим профилем – тоже помогут нужные дрожжи. Они могут принести нейтральный аромат, подчеркивающий сортовые характеристики винограда, или даже усиливающие их. А можно, наоборот, использовать культуру, которая способна заглушить естественный ароматический профиль, навязав свою собственную, активную эфирно-фруктовую ароматическую гамму.

Противоположная стратегия – «автохтонное» брожение, которое вызвано множеством видов и родов дрожжей, занесённых с виноградника и живущих на винодельне. Это всегда рискованное решение! Но в то же время, это «слепок» терруарных и культурологических особенностей конкретной винодельни в определенной географической точке (Zarraonaindia I., Owens S.M., 2015). Это повышает цену и при положительном результате приветствуется настоящими ценителями вина.



Посевной ферментатор. Испания, Риоха, винодельня Altanza.



Важно развивать свою терруарную расу, или даже несколько рас дрожжей, которые бы не только помогали просто превращать сахар в спирт, а подчёркивали особенности географического расположения и почвенно-климатических условий.

Не факт, что культура дрожжей, выделенная с самого лучшего виноградника, перенесенная в другую страну или даже на другой континент, проявит себя положительно в новых условиях.

Ванда Ботнарь,
главный винодел «Кубань-вино»



Действительно, в продаже есть коммерческие дрожжевые культуры, прародители которых жили в Бордо или в Бургундии. Но красивая реклама может ввести в заблуждение: если параметры сула не будут соответствовать генетическим способностям дрожжей – цель не будет достигнута, они не смогут обеспечить бесперебойную ферментацию.

Работа с «культурными» и «дикими» дрожжами – два полюса, два подхода к проведению ферментации. Но возможны и другие технологические приемы.

Уже многие годы существует практика: микробиологи под заказ винодельни выделяют представителей автохтонной дрожжевой микрофлоры с отдельного виноградника и на их основе производят культуры дрожжей.

Например, крымские виноделы на предприятии «Золотая балка» пользуются местной культурой, терруарную копию которой вывели микробиологи ВНИИВиВ «Магарач» РАН.

3.1.3 Коммерческие культуры дрожжей.

Использование чистых культур дрожжей в виноделии практикуется только в течение последних 70 лет из 8000-летней истории производства вина (Jolly et al., 2013).

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ 2-Х КУЛЬТУР ДРОЖЖЕЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЯРКИХ ТИОЛОВЫХ И ТЕРПЕНОВЫХ АРОМАТОВ (RIESLING, SAUVIGNON BLANC, COLOMBARD)

1 ОЧЕРЕДЬ
Saccharomyces cerevisiae



Спиртовое брожение и выявление предшественников тиоловых и терпеновых ароматов.



2 ОЧЕРЕДЬ
FLAVIA™
- Metschnikowia pulcherrima

(культура дрожжей, родители были взяты из дикой среды) Может не принимать участие в спиртовом брожении. Но обладает ферментативной активностью для работы с прекурсорами тиоловых и терпеновых ароматических соединений.

На рынке энологических товаров существует огромное количество культур, которые были выведены специально под сорта винограда, под определенную температуру брожения и состав суслу.

Но в последнее время становится все более распространенной практика использовать non-*Saccharomyces* в дополнение к основной рабочей культуре.

Специально подбираются виды, которые дают гарантированный результат и привносят в вино положительные признаки, сводя к минимуму риск порчи (Ciani and Comitini, 2015; Englezos et al., 2016; Liu et al., 2016; Lleixa et al., 2016; Medina et al., 2016; Padilla et al., 2016).

Примером таких дрожжей могут быть следующие виды: *Torulaspora delbrueckii*, *Lac-hancea thermotolerans*, *Pichia kluyveri* или *Metschnikowia pulcherrima*. И не только они.

**ДЛЯ УСЛОЖНЕНИЯ ВКУСА И АРОМАТА
МОГУТ ИСПОЛЬЗОВАТЬ НЕСКОЛЬКО КУЛЬТУР:**



При составлении сложных культур дрожжей нужно учитывать специфические взаимодействия между ними. Эффекты могут быть абсолютно разными: от жесткой конкуренции – выделения токсинов и снижения уровня жизнедеятельности до синергического эффекта – роста колонии и повышения уровня метаболитов (Ciani et al., 2010, 2016a; Ciani и Comitini, 2015; Wang et al., 2015b, 2016; Albergaria and Arneborg, 2016).

Подобные исследования очень важны для составления программы отбора дрожжей с отдельного виноградника и формирования культуры, позволяющей получать вино с уникальными терруарными свойствами.

**3.1.4 Культуры дрожжей
на основе гибридов *Saccharomyces*.**

Разнообразие штаммов *Saccharomyces cerevisiae* является следствием мутаций и дальнейшим закреплением их при размножении, а также горизонтального или латерального переноса

са генов, числа копий генов, образования гибридных штаммов и других изменений генома (Marsit and Dequin, 2015).

Эти генетические механизмы помогают достаточно быстро адаптироваться к изменению среды обитания (Magwene, 2014; Gasch et al., 2015; Peter and Schacherer, 2016).

Различные виды *Saccharomyces* живут рядом, поэтому неудивительно, что в природе образуются гибриды. Причём чаще, чем считалось прежде (Gonzalez et al., 2006; Lopandic et al., 2016).

Геномные характеристики гибридов варьируются от диплоидов до триплоидов и тетраплоидов (2n, 3 и 4n соответственно) (Erny et al., 2012). Это подтверждает возможность гибридизации между гаплоидами, между гаплоидом и диплоидом или между диплоидами.

Гибридные геномы часто нестабильны, а генетические изменения включают потерю и перестройку хромосом и потерю генов (Belloch et al., 2009; Peris et al., 2012a, b, c).

Поиск и выделение возникающих в природе гибридов особенно интенсивно ведётся в винодельческих регионах, так как эти гибриды могут обладать полезными характеристиками для ферментации сусла с местными характеристиками.

Например, *S. kudriavzevii* является более криотолерантным, чем *S. cerevisiae* и хорошо растёт при температурах, плохо переносимых *S. cerevisiae* (Noe Ar Arroyo-Lopez et al., 2011; Combina et al., 2012; Peris et al., 2012a; Gamero et al., 2013).

Но в то же время этот вид, в отличие от *S. cerevisiae*, плохо переносит условия ферментации (Noe Ar Arroyo-Lopez et al., 2011).

Гибридные штаммы между этими формами сохраняют способность расти при низких температурах в сочетании с ферментативной активностью *S. cerevisiae*.

Интересно, что эти гибриды (*S. cerevisiae/S. kudriavzevii*) приобретают липидный состав мембраны, больше похожий на *S. kudriavzevii*, что объясняет устойчивость этих штаммов к низким температурам (Tronchoni et al., 2012).

Гибридные штаммы демонстрируют новые ароматические профили – как в отношении вновь синтезированных, собственных метаболитов, так и в отношении ферментативной и химической модификации соединений винограда (Gamero et al., 2011). Но предсказать способность гибридов производить тот или иной аромат, исходя из родительских форм, очень трудно (Combina et al., 2012).

3.1.5 Условия ферментации и активность дрожжей.

Практически любой технологический приём – аэрация, внесение питательных веществ, температура ферментации, интенсивность работы с мезгой – будет по-разному влиять на сообщество микроорганизмов.

Сразу после дробления стремительно меняются физико-химические условия в сусле: постепенно исчезает кислород, а значит, создаются особенно неблагоприятные условия для нитчатых грибов – представителей родов *Aspergillus*, *Penicillium*.

Низкий pH сока (pH 3,2-3,8) тоже является серьезным ограничивающим фактором для большинства представителей микробного сообщества, как и высокие концентрации сахара, ингибирующие активность многих дрожжей.

Но несмотря на ужесточение условий жизни, многие организмы сохраняют жизнеспособность в сусле (Cutierrez et al., 1999; Van der Westhuizen et al., 2000b; Torija et al., 2001; Beltran et al., 2002; Van Keulen et al., 2003; Hierro et al., 2006; Renouf et al., 2006b; Xufre et al., 2006).

Чрезвычайно важно вносить активную жизнеспособную разводку культуры дрожжей, чтобы они могли противостоять конкуренции со стороны дикой микрофлоры.

Для того, чтобы инокуляция прошла успешно, нужно соблюдать ряд правил. Самое главное – параметры и температура сусла должны быть максимально приближены к условиям, в которых проходит регидратация сухих дрожжей.

Естественно, что на динамику роста популяции дрожжей влияет добавление антимикробных веществ: диметилдикарбоната (DMDC), лизоцима, диоксида серы (SO₂), обработка высокой температурой или давлением.

Исследователи расходятся во мнении, насколько диоксид серы оказывает влияние на жизнедеятельность дрожжей.

Henick-Kling et al. (1998) констатирует отсутствие влияния сульфитации на дикую дрожжевую микрофлору.

В других исследованиях отмечается небольшое влияние SO₂, что выражается в уменьшении количества дрожжевых клеток (Egli et al., 1998).



Очень важно сохранять температурный режим при внесении дрожжевой разводки в сусло. Перепады температуры при накоплении биомассы чреваты гибелью культуры, а при разнице между дрожжевой разводкой и суслом более чем на 5°C – медленным забраживанием или же вытеснением ЧКД дикой микрофлорой, что в результате заканчивается недобродами.

Ванда Ботнарь,
главный винодел «Кубань-вино»

Большинство микробиологов считает, что коммерческие культуры лучше переносят сульфитацию, чем «дикие» дрожжи.

Обзор влияния диоксида серы на клетки дрожжей освещается в обзоре Divol et al. (2012).

Обычная практика выдерживания суслу на мезге при низких температурах до брожения по-разному влияет на состав дрожжевого сообщества. Преимущество получают виды, устойчивые к низким температурам (Fleet and Heard, 1993).

Проведение холодной мацерации при $T 14\text{ }^{\circ}\text{C}$ более благоприятно для *Hanseniaspora* и *Candida*, чем для *Saccharomyces*, которые доминировали при $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Maturano et al., 2015).

S. cerevisiae хорошо приспособлен к высоким концентрациям сахаров и постоянно повышающейся концентрации этилового спирта (Cray et al., 2013; Ivey et al., 2013; Williams et al., 2015).



Подкормки нужны, тем более, что все коммерческие дрожжи запрограммированы на них.

...Подбирать подкормки необходимо, но обязательно под контролем содержания азотистых соединений в сусле.

Например, в наших условиях очень часто на начало брожения мы вообще не задаём никаких подкормок, так как запас нативного азота достаточен.

Но на более поздних стадиях брожения (на 1/3, 2/3) нужно обязательно определять состав азотистых веществ для правильного подбора коммерческих подкормок. И в этом смысле лучше самим собирать коктейль, а не использовать готовые комплексы.

Признаки азотного голодания проявляются в первую очередь в аромате – сероводородными задушками или посторонними нотами. Поэтому необходима постоянная дегустация броющего суслу, чтобы вовремя среагировать и принять меры.

Оптимальные показатели – это 230 мг/дм^3 . В начале важен аммонийный азот, в конце аминный.

Ванда Ботнарь,
главный винодел «Кубань-вино»

Постепенно, по мере утилизации сахаров, этот вид дрожжей становится главным и заканчивает брожение.

У этих дрожжей в запасе несколько стратегий, обеспечивающих им доминирование: мощный ферментный аппарат, помогающий добывать пищу в условиях истощения готовых питательных веществ, способность переходить на бродильный способ добывания энергии, производство углекислого газа и повышение температуры ферментации, снижение окислительно-восстановительного потенциала, синтез ингибирующих токсичных соединений (Boulton et al., 1996; Bisson and Walker, 2015; Williams et al., 2015; Albergaria and Arneborg, 2016; Ramakrishnan et al., 2016).

S. cerevisiae может расти при более низких окислительно-восстановительных потенциалах, чем большинство дрожжей (Visser et al., 1990).

В условиях засушливого и жаркого лета или при поражении *Botrytis cinerea* в ягодах наблюдается дефицит азотистых веществ, что мо-

жет осложнить ферментацию (Laure de Rességuier, Renan Le Roux et al., 2018). Поэтому необходимо отслеживать и вовремя вносить необходимые подкормки.

3.1.6 Автохтонные или «дикие» дрожжи.

В последние годы тренд на натуральные продукты коснулся всех пищевых производств. И виноделие не стало исключением.

Биодинамическое и натуральное производство вина подразумевает использование только «диких» дрожжей.

Но не только биодинамисты практикуют спонтанные спиртовые и малолактические ферментации. Для небольших виноделен с многовековым опытом это способ выразить терруарные особенности собственных виноградников, сохранить свой собственный сложившийся стиль. При таком подходе есть несомненные плюсы, но возможны и минусы (Bokulich et al., 2014, 2016a; Cappelletti et al., 2015; Belda et al., 2016a; Francesca et al., 2016).

ПРЕДСТАВИТЕЛИ ДИКИХ ДРОЖЖЕЙ В ВИНОДЕЛИИ

CANDIDA PULCHERRIMA → ↑ Глицерин, улучшает качество Chenin Blanc

PICCHIA GUILLIERMONDI → 4-этилфенол = мокрая шерсть, скотный двор

На микроорганизмы, связанные с виноградником, влияет множество факторов: климат, почвы, географическое положение, топография местности, методы ведения лозы, сорт, видовой состав переносчиков: насекомых, птиц и других животных, а также сроки, способ уборки и время до переработки урожая (Bagheri et al., 2015; Ciani and Comitini, 2015; Setati et al., 2015; Padilla et al., 2016a; Robinson et al., 2016, Englezos et al., 2016b; Liu et al., 2016; Lleixa et al., 2016; Medina et al., 2016; Padilla et al., 2016b).

Чтобы сохранить видовое разнообразие и природный баланс, приходится отказываться от активной химической обработки виноградников.

Популяции дрожжей на поверхности ягод подвержены не только климатическим и антропогенным воздействиям, они находятся в постоянной конфронтации с другими членами микросообщества (Ivey et al., 2013; Bisson and Walker, 2015; Ramakrishnan et al., 2016; Villalba et al., 2016).

Практика использования автохтонной микрофлоры скорее свойственна регионам Старого Света, и это понятно. Напри-

мер, в Бургундии, где в основе классификации лежит конкретное место, конкретный виноградник, вино просто обязано быть отражением терруара.

Новые винодельческие регионы скорее ориентированы на выражение сорта и технику исполнения, а значит, в производстве виноделы будут отдавать предпочтение специализированным культурам дрожжей.

Уже давно известно, что на винограднике *Saccharomyces cerevisiae* представляют незначительную популяцию по сравнению с другими микроорганизмами или вообще не обнаруживаются (Ribereau-Gayon, Emile Peynaud et al., 1979, Boulton et al., 1996; Martini et al., 1996; Prakitchaiwattana et al., 2004; Combina et al., 2005; Raspor et al., 2006, Ivey et al., 2013).

Исключение составляют виноградники, которые удобряют мезгой после ферментации.

На винодельне всегда живет уникальное сообщество микроорганизмов, которое прошло естественный отбор – приспособилось к местным параметрам сула. Поэтому на некоторых южных винодельнях «дикие» дрожжи справляются с ферментацией высокосахаристых сусел с очень высоким потенциальным алкоголем, приближающимся к 20% об.

Исследование поверхностей оборудования и воздуха на винодельне показало наличие большого разнообразия дрожжей, которое может быть источником микробной активности в сусле (Martini, 2003; Ciani et al., 2004; Mercado et al., 2004; Renouf et al., 2007; Garijo et al., 2008, 2009; Santamaria et al., 2008; Blanco et al., 2011; Haas et al., 2010; Gonzalez-Arenzana et al., 2012; Ocon et al., 2013).

Представители более 20 родов дрожжей были идентифицированы в сусле в начале процесса ферментации (Veziñhet et al., 1992; Versavaud et al., 1995; Cavalieri et al., 1998; Sabate et al., 1998; Sipiczki, 2002, 2006; Schuller et al., 2005; Renouf et al., 2007; Valero et al., 2007).

А анализ поверхности бочек показал большое количество не только *Saccharomyces*, но и *Candida*, *Cryptococcus* и *Brettanomyces* (Renouf et al., 2006b, 2007).

3.1.7 Дикие дрожжи

– источники ароматических веществ в вине.

Дикая микрофлора может существенно повлиять на сенсорные и структурные особенности вина (Hernandez-Orte et al., 2008; Belda et al., 2015; Padilla et al., 2016b).

У ее представителей есть широкий спектр ферментных систем, способных работать над формированием вкуса и аромата вина: β -глюкозидазы, β -лиазы, эстеразы и ацетилтрансферазы. Например, ферменты β -глюкозидазы высвобождают из моно-терпеновых гликозилированных прекурсоров (без запаха) соединения, определяющие аромат вина. Но дикие дрожжи, принадлежащие к родам *Brettanomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora* /*Kloeckera*, *Kluyveromyces*, *Issatchenkia*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspora*, *Wickerhamomyces*, в разной степени проявляют ферментативную гликолитическую активность (Gonzalez-Pombo et al., 2008, 2011; Hernandez-Orte et al., 2008; Swangkeaw et al., 2009, 2011; Comitini et al., 2011; Domizio et al., 2011; Sadoudi et al., 2012; Cordero-Bueso et al., 2013; Lopez et al., 2014; Sabel et al., 2014; Belda et al., 2015; Hu et al., 2016a; Polizzotto et al., 2016).

Итоговая концентрация летучих тиолов, отвечающих за ароматы самшита, маракуйи, грейпфрута, в большей степени тоже связана с ферментативной активностью дрожжей.

Фермент β -лиаза позволяет высвободить эти соединения из виноградных предшественников, конъюгированных с цистеином и глутатионом – штаммы *M.pulcherrima*, *T.delbrueckii* и *K.marxianus* показали высокую активность β -лиазы (Anfang et al., 2009; Zott et al., 2011; Belda et al., 2016b; Renault et al., 2016).

Еще одна важная группа соединений – сложные эфиры, отвечающие за фруктовую ароматику вина.

Дрожжи non-*Saccharomyces* обладают, с одной стороны, эстеразами – ферментами, участвующими в расщеплении молекул эфиров, с другой – ацетилтрансферазами, способствующими их синтезу (Fukuda et al., 1998).

Продукция сложноэфирных соединений зависит от вида и штамма дрожжей – некоторые представители родов *Candida*, *Hansenula*, *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Rhodotorula*, а также *T. delbrueckii*, *K. gamospora* являются особенно активными продуцентами этих веществ (Padilla et al., 2016b).

Эфиры могут сообщать вину пряные ароматы гвоздики, розы, сложные древесные, камфорные, сосновые и травянистые, а также фруктовые тона (Whitener et al., 2015).

Сложные эфиры на базе летучих кислот и высших спиртов типа изоамилацетата, отвечающего за банановый аромат, или 2-фенилэтилацетата – эфира, несущего аромат розы, могут быть вторичными продуктами дрожжей:

- *Hanseniaspora guilliermondii* и *Hanseniaspora osmophila* (Rojas et al., 2001, 2003; Moreira et al., 2008; Viana et al., 2008);

- *M. pulcherrima*, *P. fermentans* (Clemente-Jimenez et al., 2004);
- *L. thermotolerans* (Whitener et al., 2015, Renault et al., 2009);
- *Starmerella bacillaris* (Andorra et al., 2010).

Еще один эфир, который всегда присутствует в вине – этилацетат. Ароматы, которые он сообщает вину, в зависимости от концентрации, могут нести фруктово-плодовые оттенки, а в больших концентрациях (выше 150 мг/л) – неприятные лаккокрасочные тона. Большинство дрожжей, не принимающих участия в брожении, способны продуцировать ощутимое количество этилацетата (Moreira et al., 2008), что может пагубно сказаться на общей ароматике вина.

Кроме эфиров, во время спиртового брожения образуются высшие спирты – активные ароматические соединения. В концентрации ниже 300 мг/л они способствуют формированию сложности в букете вина. В высоких концентрациях нежелательны, поэтому исследователи обращают особое внимание на дрожжи, являющиеся низкими продуцентами высших спиртов (Rojas et al., 2003; Moreira et al., 2008; Viana et al., 2008).

3.1.8 Дикие дрожжи – источники веществ, влияющих на вкус вина.

Помимо ароматических соединений, синтезируемых *non-Saccharomyces*, дрожжевые клетки являются источниками полисахаридов, в частности, маннопротеинов. Эти вещества воздействуют на вкусовые рецепторы – уменьшают терпкость, добавляют ощущение полноты вкуса, увеличивают сладость и округлость, а также добавляют стойкости аромату (Vidal et al., 2004; Carvalho et al., 2006; Chalier et al., 2007; Juega et al., 2012).

Самое большое количество полисахаридов высвобождается при активности *Schizosaccharomyces* (Domizio et al., 2017).

Исследователи отмечают высокие концентрации полисахаридов в среде, заселенной *Candida*, *Hanseniaspora*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia*, *Saccharomycodes*, *Torulaspota delbrueckii* и *Zygosaccharomyces* (Romani et al., 2010; Comitini et al., 2011; Domizio et al., 2011, 2014).

В процессе ферментации виноградного сусла, кроме этилового спирта, образуется не один десяток разных спиртов, в том числе трёхатомный спирт – глицерин.

Считается, что в концентрации, в которой он содержится в вине, этот спирт не влияет на восприятие вязкости (Gawel, Waters, 2008). Глицерин отвечает за сладость и округлость красного и белого вина (Noble, Bursick, 1984; Hufnagel, Hofmann, 2008).

Некоторые представители дрожжевой микрофлоры особенно активно продуцируют глицерин. Например, штамм *Starmerella bacillaris* (*S. zemplinina*) (Ciani, Maccarelli, 1998; Ciani, Ferraro, 1998; Soden et al., 2000; Romani et al., 2010; Englezos et al., 2015; Polizzotto et al., 2016) или дрожжи, принадлежащие к родам *Kluyveromyces*, *Saccharomyces* и *Schizosaccharomyces* (Romani et al., 2010).

В Долине Луары при производстве Шенен Блана на диких дрожжах приветствуется глицериновая мягкость и сладость.

Но самый главный итог алкогольной ферментации – производство этанола. Это агрессивное вещество, которое активно влияет на сенсорные характеристики, изменяя летучесть ароматических соединений, уменьшает ощущение кислотности, увеличивает восприятие горечи, делает вино «тёплым» (Robinson et al., 2009; Frost et al., 2015).

Ученые уже давно заметили, что способность производить этанол существенно различается у производителей дикой микрофлоры. А это значит, что в условиях глобального потепления и повсеместного повышения спиртуозности вин частичное использование при ферментации non-*Saccharomyces* может помочь в снижении концентрации алкоголя в вине.

И действительно, последние 10 лет в разных концах Земли активно ведётся поиск кандидатов для проведения ферментации с низким выходом спирта (Gonzalez et al., 2013; Quiros et al., 2014; Contreras et al., 2015b; Morales et al., 2015; Canonico et al., 2016; Ciani et al., 2016b; Englezos et al., 2016a; Rocker et al., 2016; Rossouw and Bauer, 2016; Varela et al., 2016).

Например, дрожжи *Starmerella bacillaris* (*S. zemplinina*) имеют очень низкий выход этанола, что делает их наиболее перспективным кандидатом для снижения спиртуозности вина (Magyar, Toth, 2011; Di Maio et al., 2012; Gobbi et al., 2014; Quiros et al., 2014; Canonico et al., 2016; Englezos et al., 2016a).

3.1.9 Токсины дрожжей и роль дрожжей-киллеров в виноделии.

Одним из серьезных факторов, вызывающих проблемы с ферментацией, является производство токсинов дикими дрожжами-киллерами.

Активно о штаммах-убийцах среди *S. cerevisiae* заговорили в начале 60-х годов XX века (Bevan, Makower, 1963).

Дикие дрожжи этого типа могли подавить ферментацию, проводимую на коммерческой культуре дрожжей (Vagnoli et al., 1993; Medina et al., 1997; Perez et al., 2001; Santos et al., 2011; de Ullivarri et al., 2014).

Даже 0,1% дрожжей-киллеров может инактивировать коммерческую культуру дрожжей, особенно если ее активность была снижена (Ronald S. Jackson, 2014).

Интересно, что та же проблема – подавление ферментации – возникла и при проведении биологического кислотопонижения.

Оказалось, что *Oenococcus oeni* (ранее *Leuconostoc oenos*) – культура бактерий, используемая для проведения мало-лактической ферментации (MLF), – тоже может подвергаться атакам вирусов-бактериофагов (Henick-Kling, 1993; Bartowsky, Borneman, 2011; Betteridge et al., 2015).

Встраивание в генетический аппарат дрожжевых клеток вирусной РНК микофага обеспечивает синтез белковых токсинов, к которым чувствительны многие роды и виды дрожжей. Сами «киллеры» не восприимчивы к собственным токсинам, так как выработка этого белка сцеплена со специфическим иммунным фактором, который защищает дрожжей-убийц от собственного яда (Schmitt, Neuhausen, 1994; Breinig et al., 2006).



Обычно при инфицировании вирусные частицы проникают в организм через клеточную стенку. Но у дрожжей это довольно жесткий барьер, поэтому микровирусы передают генетическую информацию во время слияния дрожжевых клеток, что часто происходит в природе.

Оказалось, что приобретение dsРНК, кодирующей токсин, обеспечивает дрожжевым клеткам преимущество в борьбе за существование.

Уничтожение «чувствительных» дрожжевых клеток начинается со связывания токсина с рецепторами клеточной стенки. В дальнейшем клетка может погибнуть из-за повреждения плазматической мембраны или остановки деления и ингибирования синтеза ДНК (Bruenn, 2005; Schmitt, Breinig, 2006).

Но «чувствительные» штаммы могут выжить, сливаясь с клетками-киллерами.

Токсины дрожжей-убийц можно использовать для эффективной защиты. Воздействие этих веществ может быть фатальным даже для достаточно устойчивых и активных природных дрожжей, типа *Dekkera/Brettanomyces*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces* и *Candida* (Santos et al., 2011; de Ullivarri et al., 2014).

Замечено, что чем выше чувствительность к токсинам у «рабочих» дрожжей, тем больше негативное влияние «киллеров» на течение алкогольной ферментации (Shimizu, 1993; Musmanno et al., 1999; Perrone et al., 2013).

3.2 МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ

3.2.1 Разнообразие молочнокислых бактерий.

Человек давно освоил процессы ферментации для производства пищи. Уже более 5000 лет он умеет ферментировать молочные продукты (Stiles, Holzapfel, 1997; Schlegel, 1999).

Но первая чистая культура *Bacterium lactis* была получена J. Lister в 1883 году. Закваски для производства сыра и кислого молока начали производить с 1890 года.

Молочнокислые бактерии (*Lactic acid bacterium*, LAB) встречаются повсеместно: при разложении растительной пищи – овощей и фруктов, в молочных продуктах, ферментированных мясе и рыбе, квашеных и маринованных овощах, силосе, напитках, соках, сточных водах, ротовой полости, половых органах, дыхательных путях человека и животных.

Они являются обязательной частью здоровой микробиоты кишечника человека.

Молочнокислые бактерии в результате переработки химических соединений субстрата вырабатывают молочную кислоту и другие кислоты, чем подкисляют пищу, тем самым предотвращая порчу продуктов и рост патогенных микроорганизмов (Hammes et al., 1991).

Молочнокислые бактерии принадлежат к домену *Bacteria*, типу *Firmicutes*, классу *Bacilli* и отряду *Lactobacillales* (Garrity, 2005; Whitman, 2016).

Неповрежденный виноград содержит <103 КОЕ/г (Lafon-Lafourcade et al., 1983).

Дать более-менее однозначное определение этим организмам невозможно – они очень изменчивы (Axelsson, 2004).

По характеру брожения молочнокислые бактерии принято делить на две группы: гомоферментативные и гетероферментативные. Они отличаются по конечным продуктам ферментации.

Но один признак присутствует всегда – что бы они ни употре-

бляли в пищу в качестве источника углерода или энергии, основной катаболический продукт – молочная кислота.

В сусле или вине встречаются представители 26 видов, принадлежащих к 6 родам, из 33 описанных в литературе.

Существует множество публикаций, посвященных жизнедеятельности молочнокислых бактерий при производстве вина (Fleet, 1993; Dittrich, Großmann, 2005, 2011; Ribereau-Gayon et al., 2006a, b; Fugelsang, Edwards, 2007; Lahtinen et al., 2012).

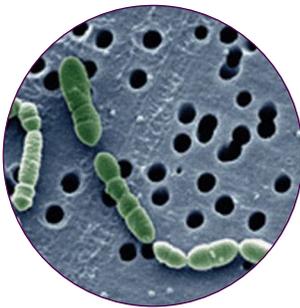
3.2.2 Молочнокислые бактерии и условия их жизни в сусле и вине.

Обычная кислотность сусла при ферментации (pH: 3,0-3,5) сдерживает развитие микрофлоры, и только три группы микроорганизмов приспособились активно существовать в таких условиях: дрожжи, уксуснокислые и молочнокислые бактерии. Не только кислоты сдерживают развитие диких дрожжей и бактерий. Многие из них ингибируются этанолом при концентрации выше 4-8% об.

Помимо дрожжей, некоторые виды *Lactobacillus* (например, *Lb. hilgardii*) и *Oenococcus oeni* могут расти при более высоких концентрациях этанола. *O.oeni* толерантны к 14% об. спирта, а виды *Lb. brevis*, *Lb. fructivorans* и *Lb. hilgardii* найдены в крепленых винах при 20% алкоголя.

Молочнокислые бактерии, выделенные из вина, растут при температуре от 15 до 45 °С. Но комфортнее всего они чувствуют себя при 20 °С.

LAB получают энергию в основном за счет ферментации сахара. В качестве источника углерода и энергии они используют оба основных сахара вина, гексозы – глюкозу и фруктозу.



Молочнокислые бактерии
Oenococcus oeni

В этом случае их деятельность нежелательна, так как они будут являться конкурентами дрожжей, а в результате образуются нежелательные для виноделия вещества.

Гетероферментативные LAB в вине также могут использовать пентозы (арабинозу, ксилозу, рибозу), которые встречаются в небольших концентрациях в вине в виде остаточного сахара.

Молочнокислые бактерии метаболизируют основные кислоты сусла: винную, яблочную и лимонную.

Лимонная кислота превращается в молочную, уксусную кислоту, CO₂ и ацетон. Яблочная трансформируется в L-молочную кислоту и

CO₂ (малолактическая ферментация или яблочно-молочное брожение, ЯМБ).

Последняя реакция наиболее важна для виноделия, особенно в северных регионах виноградарства.

После проведения малолактики вино считается более стабильным, так как из среды удаляются сахара и кислоты – углеродные и энергетические субстраты, необходимые для роста микрофлоры, а также синтезируются защитные вещества бактерий – бактериоцины (Rammelberg and Radler, 1990; De Vuyst, Vandamme, 1994).

Но проведение яблочно-молочного брожения практикуется не всегда.

В белом виноделии ЯМБ скорее исключение, чем правило. Виноделы единодушны: в условиях производства для того, чтобы оградить белое вино от заражения молочнокислыми бактериями и спонтанной ферментации, нужно проявлять особую осторожность и тщательно следить за санитарным состоянием оборудования.

Кроме *O. oeni*, многие молочнокислые бактерии, встречающиеся в вине, способны трансформировать яблочную кислоту в молочную. Например, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. delbruechii*, *Lb. hilgardii*, *Lb. plantarum*, *Lc. Mesenteroides*.

Из этого перечня наиболее предпочтительной культурой, с помощью которой осуществляется биологическое кислотопонижение, все же считается *Oenococcus oeni* – вид, который выдерживает высокую концентрацию этанола и кислот.

Кроме того, у бактерий этого вида прекрасно работают ферментные системы, разрушающие структуры дрожжевых клеток, особенно группа протеолитических ферментов (Aredes Fernández et al., 2011).

Выдержка на осадке способствует нормальному прохождению ЯМБ – бактериям нужны питательные вещества, полученные в результате автолиза дрожжевых клеток. Дрожжевой осадок



Для персонала обязательно применение масок и личная гигиена.

Особых предосторожностей не требуется.

Для производства – это чёткая маркировка тары, коммуникаций, оборудования и их стерилизация после применения во избежание контаминаций.

Ванда Ботнарь,

главный винодел «Кубань-вино»



Если брожение белого и красного сусла проводится в одном цехе, то нужно принимать особые меры безопасности при проведении ЯМБ

в красных винах. Разделить и промаркировать шланги и насосы, а также другой инвентарь, чтобы не занести молочнокислую культуру бактерий в белое сусло.

Сергей Дубовик,

главный винодел «Мысхако»

– прекрасный антиоксидант, поэтому ферментативная активность *O. oeni* усиливает защитную антиоксидантную роль системы тиоредоксина и глутатиона, а вино приобретает дополнительную устойчивость (Apud et al., 2013a, b; Margalef-Catala et al., 2016).

Исследователи отмечают еще один вид, способный проводить яблочно-молочное брожение в вине – *Lb. plantarum* (Bravo-Ferrada et al., 2013).

По сравнению с *O. oeni*, *Lb. Plantarum* обладает большим количеством генов, кодирующих гликозидазы, протеазы, эфиры, декарбоксилазы фенольных кислот, цитрат-лиазы и бактериоцины (плантарицины).

3.2.3 Негативные последствия жизнедеятельности молочнокислых бактерий.

Молочнокислые бактерии в большей степени, чем дрожжи, зависят от наличия питательных веществ и витаминов в сусле.

При нехватке аминокислот *O. oeni* разлагает серосодержащие аминокислоты.



ТИОЭФИРЫ: ДИМЕТИЛСУЛЬФИД (CH₃-S-CH₃)

РАЗНЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ – РАЗНЫЕ ЗАПАХИ



ЯВНО:

Варёная капуста, креветки



ЗАМЕТНО:

Спаржа, кукуруза, патока



НА ГРАНИ ОБНАРУЖЕНИЯ:

Трюфели, маслины



Из цистеина в результате образуется сероводород или 2-сульфанилэтанол, а из метионина – диметилдисульфид. Родственное вещество – диметилсульфид – в низкой концентрации даёт пикантный аромат трюфелей, но в более высокой концентрации – запах варёных креветок, капусты и кукурузы.

Так же образуется пропан-1-ол и 3-метасульфанил пропиононовой кислоты. Последнее вещество имеет фруктово-ягодный вкус (Ribereau-Cayon et al., 2006 a, b).

Молочнокислые бактерии могут вызывать запах, напоминающий мышиный. Виды *Lb. Brevis*, *Lb. Hilgardii* и *Lb. fermentum* вырабатывают 2-ацетилтетрагидропиридин из этанола и лизина (Heresztyn, 1986). Порог восприятия этого вещества очень мал – 1,6 нг/л.

Еще одно соединение может способствовать появлению этого неприятного запаха – 2-ацетил-1-пирролин и 2-этилтетрагидропиридин (Costello P, Henschke P., 2002).

Одним из нежелательных последствий деятельности молочнокислых бактерий является производство биогенных аминов (Arena M., Manca de Nadra M., 2013). Например, гистамин образуется при декарбоксилировании гистидина.

Примерами продуцентов могут быть *O. oeni*, *P. cerevisiae* и *Lb. hilgardii* (Landete et al., 2005; Mangani et al., 2005; Sebastian et al., 2011; Christ et al., 2012).

Биогенные амины могут вызывать проблемы со здоровьем и быть причиной сенсорных дефектов в вине (Palacios et al., 2004).

В странах ЕС, согласно действию COST 917 (2000–2001) «Биологически активные амины в пищевых продуктах», накладываются ограничения для гистамина в вине – например, во Франции 8 мг/л, в Германии 2 мг/л.

МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ (РАЗНЫЕ)

НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫЕ ЗАПАХИ, ВЫШЕ ПОРОГА ВОСПРИЯТИЯ



**СЛИВОЧНОЕ
МАСЛО**



СЫР



**КИСЛОЕ
МОЛОКО**



**КВАШЕНАЯ
КАПУСТА**



**МЫШИНЫЙ
ТОН**

Концентрация ароматов зависит от вида и штамма бактерий, pH сусле, времени начала и прекращения ЯМБ и концентрации O_2



**ЛЕКАРСТВЕННЫЙ
ТОН**

Не все молочнокислые бактерии создают высокие концентрации гистамина, и если речь идёт о культуре бактерий, то желательно выбирать штаммы с подходящими характеристиками (Loépez-Rituerto et al., 2013).

С другой стороны, некоторые LAB (например, избранные штаммы *Lactobacillus* и *Pediococcus*) (Callejo N. et al., 2014) и дрожжи могут нейтрализовывать биогенные амины. Это может стать стратегией по снижению концентрации биогенных аминов в вине (Garcia-Ruiz et al., 2011a).

Еще одно опасное соединение – этилкарбамат. Многие исследователи считают его канцерогеном. Это соединение образуется в процессе жизнедеятельности *O. oeni* и *Lb. hilgardii* при утилизации азотистых веществ в присутствии этанола (Uthurry et al., 2006; Arena et al., 2013).

Кроме перечисленного, молочнокислые бактерии способны синтезировать: диацетил, ацетоин, 2,3-бутандиол, этиллактат, диэтилсукцинат и акролеин. Последнее вещество образуется при разложении глицерина.



Высокая сахаристость сула, недостаток питания дрожжей, резкие перепады температуры могут привести к остановке брожения даже на коммерческих дрожжах (особенно часто под конец процесса). Это открывает простор для деятельности нежелательных молочных бактерий и *Brettanomyces*.

Многие виноделы полагают, что вино само «дойдет» через какое-то время, но очень и очень часто такой подход приводит к печальным результатам.

В этой связи четкий контроль процесса брожения – это необходимость. На начальных этапах брожения мониторинг осуществляется ежедневно с помощью денсиметра или рефрактометра, а на финишной прямой процесса – с помощью химического метода определения остаточного сахара.

Алексей Сапсай,

эннолог, агроном, партнер в агентстве

Double Magnum Wine Consulting

Более подробно об этом можно прочесть на сайте nashevino.ru в статье «Борьба с остаточным сахаром как залог здоровья вин» от 18 ноября 2015 года

Глицерин превращается в пропандиол-1,3 или аллиловый спирт и акролеин, что приводит к горечи (Schütz and Radler, 1984a, b; Claisse O., Lonvaud-Funel A., 2012, 2014; Bauer et al. 2010).

По некоторым данным, горечь во вкусе появляется при взаимодействии акролеина с танинами.

Если брожение долго не начинается и/или идёт не активно, а концентрация сахаров велика при высоком рН, вино может подвергнуться молочнокислому скисанию.

Этой болезни способствует низкая концентрация азота.

Молочное скисание сопровождается возрастанием летучей кислотности. Если образуется больше 1 г/л, заболевание становится очевидным и может сказаться на активности дрожжей, а значит, на течении алкогольной ферментации, и даже остановить ее.

Процесс трансформации сахаров всегда сопровождается повыше-

нием летучей кислотности. Особенно при активности факультативно анаэробных гетеротрофных молочнокислых бактерий (Richter et al., 2001).

Фруктоза под влиянием ферментов молочнокислых бактерий восстанавливается до маннита, и в вине появляется неприятный навязчивый сладкий привкус на фоне резкой уксусной кислотности.

Некоторые виноделы в качестве частичной замены серы используют сорбиновую кислоту как противогрибковое средство.

Но молочнокислые бактерии способны превращать ее в 2-этокси-3,5-гексадиен, что придает вину запах герани (Crowell E.A., Guymon J.F., 1975).

В кислой и спиртуозной среде трансформация сорбиновой кислоты может приводить к синтезу соединений, сообщающих вину тона сельдерея и ананаса, причем этот эффект усиливается с выдержкой.

Некоторые «дикие» виды LAB способны декарбоксилировать кумаровую и феруловую кислоты в винил-фенолы и в дальнейшем восстанавливать их в этил-фенолы. Но концентрация этих соединений не достигает значимых для восприятия величин.

При наличии п-кумаровой кислоты тестовые штаммы *Lb. Plantarum*, *Lb. collinoides* и *P. pentosaceus* (Fras et al., 2014, Silva et al., 2011) вырабатывают 4-винилфенол, что сопровождается появлением лекарственных тонов в вине.

Во второй половине спиртового брожения некоторые виды LAB продуцируют гликозидазы и протеазы, провоцируя лизис дрожжевых клеток. В результате они получают необходимые для роста витамины и питательные вещества.

Но при активной стабильной ферментации дрожжи сдерживают развитие LAB, выделяя токсичные жирные кислоты – гексановую, октановую и декановую кислоты, которые негативно влияют на рост бактерий (Lonvaud-Funel et al., 1988).

Ученые изучают связь между метаболизмом, геномным разнообразием штаммов *O. oeni* и сенсорными признаками вина для получения чистых культур молочнокислых бактерий (Bartowsky, Borneman, 2003).



Последовательная и одновременная инокуляция.

Из опыта лучше последовательная.

Достоинства и недостатки одновременного внесения культуры дрожжей и бактерий:

Плюсы – одновременное внесение энтологических материалов и, в случае удачи, получение виноматериалов с нужным качеством, а значит, уменьшение движений и длительности последующих этапов.

Минусы – риск ухода брожения в уксусное или в отсутствие результата, т.е. повторное инокулирование, а это двойные затраты.

Ванда Ботнарь,
главный винодел «Кубань-вино»

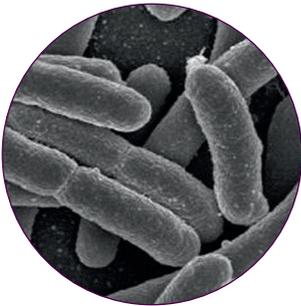
Отдельно ведётся разработка бактериальных и дрожжевых заквасок, которые способны проявлять выборочную активность и работать каждая в своей области (коинокуляция).

Это является постоянным объектом исследования для микробиологов (Du Toit et al., 2011; Sumby et al., 2014) и интереса со стороны виноделов.

3.3 УКСУСНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ

3.3.1 Особенности жизнедеятельности.

Уксуснокислые бактерии – Acetic acid bacteria (AAB) входят в семейство Acetobacteraceae.



Одни из самых распространённых микроорганизмов, вызывающих порчу вина и ягод при уборке урожая.

AAB – аэробные бактерии, поэтому их численность и видовое разнообразие напрямую зависит от наличия кислорода и существенно сокращается во время ферментации суслу.

Воздействие кислорода во время энологических практик, после алкогольного брожения, может очень быстро активировать оставшиеся клетки и увеличить популяцию колонии.

Оптимальное значение pH для комфортного существования уксуснокислых бактерий: 5,5-6,3.

Однако они легко приспосабливаются и растут при pH вина, то есть около 3,0-4,0, и даже ниже (Du Toit, Pretorius, 2002, Mateo et al., 2014).

Еще один химический фактор, определяющий существование AAB – концентрация алкоголя. Для большинства видов этой группы концентрация этанола 5-10% является токсичной. Но некоторые штаммы способны выживать при более высоких концентрациях этанола – до 15%.

Кроме физико-химических параметров суслу для существования AAB важно соседство с другими микроорганизмами. Токсичное влияние метаболитов, которые выделяют грибы и бактерии, способно существенно повлиять на размер чувствительной к ним клеточной популяции (Fleet, 1993).

Но при большой численности уксуснокислые бактерии, продуцируя уксусную кислоту и другие токсичные вещества, способны затормозить спиртовое брожение.

Сдерживающим фактором при развитии AAB является активное образование углекислого газа. Он выделяется при алко-

гольной ферментации и выносит кислород из суслу, создавая анаэробную среду.

Именно поэтому внесение активной культуры *Saccharomyces cerevisiae* в начале брожения создаёт существенное ограничение для роста уксуснокислых бактерий, и не только для них.

В противном случае, если по какой-то причине брожение не начинается, различные виды молочнокислых и уксуснокислых бактерий могут ингибировать рост дрожжей и задержать ферментацию (Gonzalez et al., 2005, Ribereau-Gayon et al., 2000; Fleet, 2001).

После проведения алкогольной ферментации наступает не менее ответственный момент – автолиз дрожжевых клеток высвобождает в среду аминокислоты и витамины, которые могут стимулировать рост уксусных и молочнокислых бактерий (Fleet, 2001).

Перекачки и снятие с осадка провоцируют поступление кислорода и стимулируют рост ААВ.

Наиболее часто на этом этапе в емкостях встречаются виды *Acetobacter* (*A. aceti* и *A. pasteurianus*).

Причем взятие проб из разных частей емкости позволяет предположить, что ААВ все же могут выжить в полуанаэробных условиях (Du Toit et al., 2005).

Это можно объяснить способностью ААВ использовать в качестве акцепторов электронов такие соединения как хиноны и восстанавливаемые полифенолы (Du Toit, Pretorius, 2002).

Количество бактерий обычно резко уменьшается после розлива из-за относительно анаэробных условий в бутылке.

Но если при розливе не используется инертный газ, чрезмерная аэрация может увеличить количество ААВ (Millet, Lonvaud-Funel, 2000).

Впоследствии плохие условия хранения и пересыхание пробки при вертикальном хранении бутылки могут способствовать активизации и росту ААВ.

3.3.2 Уксуснокислые бактерии – причина порчи вина.

ААВ способны превращать большинство сахаров и спиртов в органические кислоты. Например, глюкозу – в глюконовую кислоту, особенно в винограде, поврежденном *Botrytis cinerea* (Barbe et al., 2001).

Появление глюконовой кислоты может рассматриваться как индикатор заражения *Botrytis*.

Фруктоза окисляется до оксофруктозы. Оба продукта жизнедеятельности могут повлиять на органолептику вина, а также связывают дополнительное количество свободной серы, что приводит к необходимости более высокой дозировки SO₂ (Barbe et al., 2001; Du Toit, Pretorius, 2002).

Ферменты уксуснокислых бактерий способны «работать» над целлюлозой, что приводит к разрушению растительных тканей и образованию волокон, а значит, появляются проблемы с фильтруемостью вина (Drysdale, Fleet, 1988).

Но самая известная реакция, проходящая в вине при заражении ААВ, – трансформация этанола в уксусную кислоту (Yetiman A.E., Kesmen Z., 2015).

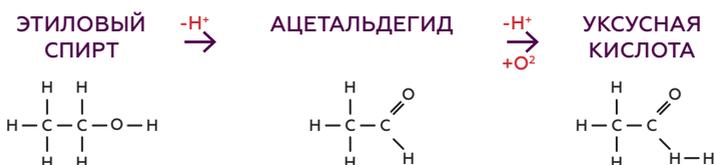
В большинстве случаев спирт используется бактериями как источник углерода (Drysdale, Fleet, 1988; Du Toit, Pretorius, 2002).

Дрожжи и молочнокислые бактерии тоже производят уксусную кислоту, но значительно повлиять на качество вина способны именно ААВ. Во время превращения спирта в уксусную кислоту образуется ацетальдегид и этилацетат.

У этих веществ низкий порог восприятия, это делает их заметными для наших рецепторов в небольшой концентрации.



УКСУСНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ – ПРИЧИНА ОКИСЛЕННОСТИ И РЕЗКОСТИ ВО ВКУСЕ И АРОМАТЕ



Уксуснокислые бактерии чаще всего поражают вина с низким спиртом: 9-12% об., малоокислотные, малоэкстрактивные.

Белые вина подвергаются заболеванию чаще, чем красные, богатые фенольными соединениями.

Ацетальдегид дает тона прелого яблока – тона окисленности, а присутствие этилацетата способствует появлению неприятных лаковых нот.

Кроме этого, уксусный альдегид (ацетальдегид) легко связывается с SO₂, что автоматически сказывается на концентрации свободной серы (Ribéreau-Gayon, Dubourdiou D. et al., 2001).

Глицерин, как и спирт, тоже окисляется ААВ. В результате в вине появляется дигидроксиацетон. Он тоже связывает свободную серу.



Кроме спиртов, снижаются уровни яблочной, винной и лимонных кислот (Drysdale, Fleet, 1989b).

Все эти изменения влияют на сенсорное восприятие конечного вина.

3.3.3 Предотвращение порчи вина уксуснокислыми бактериями.

Долго считалось, что уксуснокислые бактерии не выживают в анаэробной среде, но многие исследователи доказали, что они способны сохранить жизнедеятельность даже в таких неблагоприятных для них условиях (Millet and Funnel, 2000; Piao H., Hawley E., 2015).

Поэтому от начала уборки до хранения в бутылке нужно придерживаться безопасных энологических практик, чтобы всеми возможными способами снизить присутствие ААВ в сусле и вине.

Вот на что нужно обратить особое внимание:

- Доставка винограда на винодельню в самые короткие сроки, желательно при низкой температуре (Gonzalez et al., 2005);



Если нет возможности проводить триаж, желательно убирать виноград в небольшие ящики (до 25 кг). В наших погодных условиях урожай иногда приходится собирать при высокой температуре воздуха (выше 18 градусов), а при доставке ягоды подвергаются серьезной тряске. Если урожай убрали комбайнами – в этом случае обязательно нужно применять сульфитацию, причём прямо на винограднике.

Но эта процедура должна быть под контролем специально назначенного ответственного лица.

Расход метабисульфита – около 50 г/т. При сильно поврежденном винограде доза увеличивается от 70 до 100 г/т.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»



- Качество ягод: гнилой или поврежденный виноград следует удалять в максимально возможной степени;
- Сульфитация. Но нужно учитывать, что ААВ способны выдерживать высокие концентрации серы (Du Toit et al., 2005);
- Контроль pH и поддержание кислотности на протяжении всей винификации. Популяция микроорганизмов снижается вместе со снижением значений pH (Du Toit and Lambrechts, 2002). Низкий pH также способствует присутствию SO₂ в свободной форме (Ribereau-Gayon et al., 2000);
- Рекомендуется быстрое начало ферментации: этанол и CO₂ снизят активность уксусных бактерий (Guillamon et al., 2002);



Невнимательное отношение к уровню вина при выдержке влечет за собой серьезные технологические ошибки. Активность некоторых дрожжей передает вину тона шерри, а аэробных уксуснокислых бактерий – тона уксусной кислоты в вине.

Герберт Шёдль (Herbert Schödl), профессор энологии, дипломированный инженер (HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg)

- Во время выдержки вина в дубовых бочках количество кислорода, которое проникает через древесину, достаточно для поддержания популяции жизнеспособных бактерий (Millet, Lonvaud-Funnel, 2000). Чтобы ограничить проникновение через шпунт, бочки целесообразно хранить шпунтом сбоку;

- Оптимальная температура для комфортного существования ААВ составляет от 25 до 35 °С, с некоторыми колебаниями в зависимости от штаммов и видов. Снижение температуры хранения до 10-15 °С в значительной степени замедляет их рост;



- Санитарные условия на винодельне определяют наличие видов в сусле. Об этом свидетельствуют исследования Gonzalez et al. (2005);
- Фильтрация через ячейку 0,45 мкм до розлива в бутылки предотвратит присутствие ААВ в бутылкованном вине, хотя такие радикальные меры всегда сопровождаются потерей соединений, которые важны для качества и аромата вина;
- У вин с низким содержанием алкоголя и высоким рН при выдержке в бочках существует высокий риск порчи ААВ, так как эти бактерии хорошо развиваются в пористых твёрдых материалах, таких как дубовая клепка. Но обычная практика обработки бочек паром плюс применение серы очень эффективны для сдерживания развития бактерий.

Чрезвычайно важно поддерживать чистоту на винодельне. Обязательна мойка емкостей, прессов, конвейеров, шлангов и другого инвентаря 1% раствором каустической соды перед приемкой новой партии винограда.

Загрузка винограда в грязные, неподготовленные емкости влечёт за собой появление и нежелательную активность посторонней микрофлоры, и прежде всего уксуснокислых бактерий.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»

3.4 BRETTANOMYCES SP.

3.4.1 Особенности жизнедеятельности.

С начала 80-х годов XX века в научной литературе появилось множество исследований, посвящённых патологической активности *Brettanomyces* в виноделии (Chatonnet et al., 1989, 1993b).

Виноделы научились предупреждать заражение вина и нашли методы борьбы с этими дрожжами.

Обработка тары.
Хозяйство
Vergelegen, ЮАР.



Но в последнее время, в связи с ограничением сульфитации или отказом от сульфитации, модой на использование старых бочек, падением кислотности и увеличением сахаристости сусел, все чаще в винах прослеживаются последствия присутствия *Brettanomyces* (*Dekkera*).

Во время винификации особенно ответственными являются периоды «межвластия»: в последней части алкогольного брожения, перед началом ЯМБ, во время выдержки вина, а также после бутелирования при отсутствии стерилизующей фильтрации и должной сульфитации (Renouf et al., 2006b, 2007).

Если брожение шло активно, представители нежелательной дрожжевой микрофлоры находятся в угнетенном состоянии. Но при остановках брожения или при вялотекущем процессе неприятные последствия такого контакта становятся очевидными (Ribéreau-Gayon, Dubourdieu D., 2006b).

ОПАСНО!

Перерыв между спиртовым и яблочно-молочным брожением – угроза заражения посторонней микрофлорой.

**АЛКОГОЛЬНОЕ
БРОЖЕНИЕ**

**ЯБЛЧНО-МОЛОЧНОЕ
БРОЖЕНИЕ**

• НИЗКИЙ
УРОВЕНЬ S

• ЕСТЬ ПИТАТЕЛЬНЫЕ
ВЕЩЕСТВА

• НЕТ КОНКУРЕНЦИИ
СО СТОРОНЫ ДРОЖЖЕЙ

УГРОЗА РАЗВИТИЯ BRETTANOMYCES

Исследователи отмечают, что наиболее частыми и опасными гостями на винодельнях могут быть *Brettanomyces bruxellensis* и *Brettanomyces middleleus* (Chatonnet et al., 1992b).

В течение нескольких недель, следующих за завершением алкогольной ферментации, численность жизнеспособной популяции *S. cerevisiae* быстро падает, опускаясь ниже нескольких сотен клеток/мл, что открывает возможности для активного развития *Brettanomyces*.

После окончания алкогольного брожения популяция этих нежелательных дрожжей может достигать 10⁴-10⁵ клеток/мл.

Клетки остаются активными и во время хранения вина в бутылках.

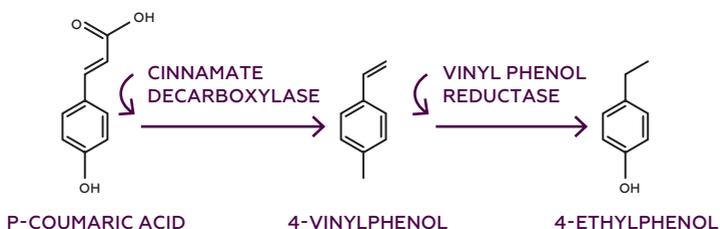
Дело в том, что эти дрожжи могут поддерживать жизнедеятельность при анаэробии, потребляя следовые количества сахаров, которые не были полностью ферментированы *S. cerevisiae*. По этой же причине повышенной опасности подвергаются сладкие и ботритизированные вина.

3.4.2 Летучие фенольные соединения.

Представители *Brettanomyces* обладают мощным ферментативным аппаратом, позволяющим разрушать растительные структуры: пектин, лигнин, целлюлозу, целлобиозу и др.

Такой контакт может вызывать очень нежелательное изменение ароматики вина. Виной тому летучие фенолы, которые образуются в концентрациях от нескольких десятков до нескольких сотен мкг/л (Dubois, 1983; Chatonnet and Boidron, 1988).

Ферменты *Brettanomyces* на первом этапе трансформируют оксикоричные кислоты в винилфенолы (циннамат-декарбоксилаза), и на втором – в этилфенолы (винилфенолредуктаза (VPR)).



Второй фермент отсутствует у *Saccharomyces cerevisiae*, поэтому этот вид дрожжей не способен производить, например, этил-4-фенол – соединение, которое дает тона «скотного двора».

Некоторые штаммы молочнокислых бактерий (например, *Pediococcus pentosaceus*) могут, но в ограниченной степени, декарбоксиллировать п-кумаровую кислоту и феруловую кис-

лоту в винилфенолы и затем восстанавливать их до соответствующих этилфенолов (Chatonnet et al., 1992b, 1995; Cavin et al., 1993).

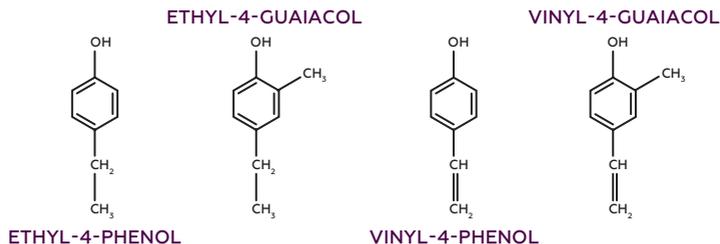


ДРОЖЖИ BRETTANOMYCES



Источником гидроксикоричных кислот может быть не только сусло, но и дубовая клепка при выдержке вина (Ronald S. Jackson, 2008) или гребни при ферментации по кахетинской технологии.

При заболевании вина *Brettanomyces* наиболее широко представлены следующие летучие соединения: винил-4-фенол, винил-4-гваякол, этил-4-фенол и этил-4-гваякол.



Наши рецепторы улавливают эти вещества в минимальных дозах, а значит, ароматика вина может существенно пострадать.

Белые вина содержат различные количества винилфенолов, но почти не содержат этилфенолов. Напротив, красные вина содержат небольшие количества винилфенолов и имеют гораздо большие концентрации этилфенолов.

Летучий фенольный состав розовых вин находится между красными и белыми винами (Chatonnet et al., 1992b, 1993b).

Нужно учитывать тот факт, что некоторые коммерческие дрожжи способны к ферментативному декарбоксилированию двух коричневых кислот (п-кумаровой кислоты и феруловой кислоты) с образованием винил-4-фенола и винил-4-гваякола соответственно. Эти штаммы маркируются как POF, или Phenolic Off Flavour.

Эту особенность нужно учитывать при выборе пектолитических ферментов. Неочищенные ферменты могут содержать циннамат-эстеразу, которая подготовит почву для синтеза летучих винилфенолов.

Особенно в белых винах, где эта техническая ошибка приведет к появлению лекарственного тона.

Винил-4-фенол сообщает вину лекарственный тон, запах гуаши и пластыря, а винил-4-гваякол – аромат гвоздики.

Этил-4-фенол привносит запах конюшни или скотного двора, а этил-4-гваякол даёт дымные, пряные ароматы (Ribéreau-Gayon, Dubourdieu D., 2006b).

ВРЕТТАНОМЫСЕС – КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ: ЛЕТУЧИЕ ФЕНОЛЫ



Бретт, к сожалению, в своё время был завезён со старыми бочками из Франции. К счастью, у нас таких нет! Если на предприятии эта беда своевременно не была обнаружена – это катастрофа. Такую тару только сжигать, больше ничем её не продезинфицируешь. Самое главное – не вестись на некоторые дегустационные «откровения», что якобы Бретт иногда добавляет винам шарма или экзотики.

Ванда Ботнарь,
главный винодел «Кубань-вино»

Интересен эксперимент, который доказывает, что *Brettanomyces* способны развиваться в полностью анаэробных условиях в сухих винах и производить заметные количества этилфенолов, используя очень небольшие концентрации остаточных сахаров (глюкоза, фруктоза, арабиноза и трегалоза). Потребление 300 мг/л остаточных сахаров позволяет *Brettanomyces* произвести количество ароматических соединений, которое превысит порог нашего восприятия.

В этом эксперименте красное вино, в котором завершилась и алкогольная, и малолактическая ферментации, биологически стабильное, сухое, выдержанное в бочке, было засеяно культурой *Brettanomyces* (105 кл./мл).

Через 30 дней при 20 °С в анаэробных условиях инокулированный образец содержал более миллиграмма этилфенола на литр (Ribéreau-Gayon, Dubourdiou D., 2006b, стр. 243)!



Еще один неприятный признак жизнедеятельности *Brettanomyces* – «мышинный тон» в вине.

Этот запах и послевкусие связаны с относительно нелетучими продуктами (ацетамид ($\text{CH}_3\text{-CO-NH}_2$)), поэтому становятся заметными при прошествии некоторого времени, когда жидкость начинает испаряться (Ribéreau-Gayon et al., 1975; Heresztyn, 1986a).

Порог восприятия этих соединений (в воде) очень низкий, около 1,6 нг/л.

3.4.3 Сера и *Brettanomyces*.

Концентрация диоксида серы в винах является важным параметром в контроле риска загрязнения *Brettanomyces* во время выдержки вина, особенно при повышении температуры (Chatonnet et al., 1993a).

Замечено, что концентрация в 30 мг/л свободного SO_2 всегда приводит к полному уничтожению всех жизнеспособных популяций через 30 дней.

Но исследователи отмечают, что вино должно содержать достаточную кислотность – pH на уровне 3,4-3,5, тогда при содержании 2,0-2,5% свободного SO_2 в активной молекулярной форме (Ribéreau-Gayon, Dubourdieu D., 2006b, стр.243) удаётся избежать активизации *Brettanomyces*.

Содержание свободной/молекулярной серы при разной кислотности (pH) вина приводятся в книге Ronald S. и Jackson Ph.D. Wine Science (Third Edition), 2008 на странице 433, или в более позднем издании 2014 года.

Если же кислотность потеряна и pH достигает 3,8, в вине остается только 1% активного молекулярного SO_2 . В этом случае концентрации в 30 мг/л свободной серы может не хватить для устранения опасности загрязнения.

В книге Ribéreau-Gayon, Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. Handbook of Enology (2006b), Vol. 2, 2nd ed., на стр.254 описан еще один эксперимент. Исследовали партию вина из Cabernet Sauvignon, которая хранилась в бочках в течение 9 месяцев. Пробы забирались через 3 месяца после сульфитирования. Была отмечена обратная корреляция между концентрацией диоксида серы и этилфенола.

Таким образом, нужно учитывать, что при хранении бочек (в первый год) шпунтом сбоку нет возможности сульфитирования между переливками, поэтому нужно обеспечить относительно высокое количество свободного SO_2 (30-35 мг/л), для того, чтобы через 3 месяца оставалось приблизительно 20 мг/л,

что считается достаточным для ингибирования развития *Brettanomyces*.

При переливках уровень сульфитации контролируется и сопровождается дезинфекцией бочек. Особенно важно обработать верхние слои дерева – по некоторым данным, *Brettanomyces* может оставаться активным в древесине на глубине до 0,8 см.

Предыдущие обсуждения подчеркивают роль сульфитации при защите вина от инфекции *Brettanomyces* и появления патологических запахов летучих фенолов.

3.4.4 Профилактика заражения *Brettanomyces*.

Совершенно очевидно, что при принятии защитных мер риск заражения существенно уменьшается.

1. Необходимо проследить за тем, чтобы в результате брожения в вине осталось как можно меньше остаточных сахаров. Так как даже нескольких сотен мг/л, при наличии этих дрожжей, достаточно для синтеза значительных количеств этилфенолов во время хранения вина и в бочке, и в бутылке.
2. Вино должно выдерживаться при температуре ниже 15 °С.
3. Чрезмерное заражение можно устранить фильтрацией или мгновенной пастеризацией.



ДРОЖЖИ. РОД: BRETTANOMYCES

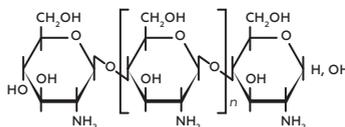
МЕТОДЫ БОРЬБЫ:

- НИЗКАЯ ИЛИ ВЫСОКАЯ ТЕМПЕРАТУРА, ПАР
- ЖЕСТКАЯ ФИЛЬТРАЦИЯ • СЕРА • ХИТОЗАН

Производители энологических товаров (Lalvin) предлагают препарат для борьбы с *Brettanomyces* – хитозан.

Эти биополимеры обратили на себя внимание ученых почти 200 лет назад. Хитозан получают из хитина панцирей красных крабов или из плесневых грибов (*Aspergillus niger*).

По своей химической структуре хитозан относится к полисахаридам. Мономером хитина является N-ацетил-1,4-β-D-глюкопиранозамин.



Производители заверяют, что это биоразлагаемое вещество и что после контакта с почвой хитозан перерабатывается микро-

организмами, которые превращают его в растворимые метаболиты. То есть он не токсичен для экосистем и считается гипоаллергенным средством.

Препараты хитозана широко применяются в различных областях сельского хозяйства, продовольствия, косметики и медицины.

Он разрешен Европейским союзом в декабре 2010 года (Уведомление FDA GRAS № 397).

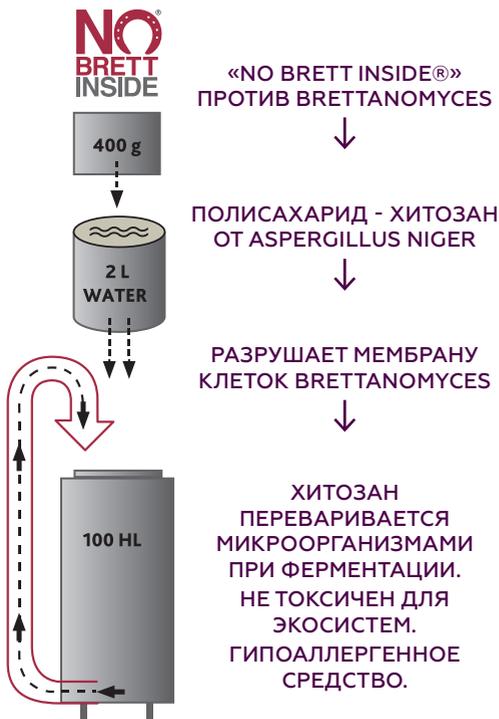
Должен вестись строжайший микробиологический контроль за всеми этапами производства, сульфитный режим и своевременное вмешательство для недопущения возникновения опасной микрофлоры или её уничтожения путём стерилизующей фильтрации или пастеризацией.

...Подготовка к сезону тары с обязательной пропаркой и дезинфекцией.

...Очень важно следить за уровнем вина и осуществлять регулярные доливки.

Ванда Ботнарь,
главный винодел «Кубань-вино»

КАТАЛОГ LALVIN:



ЗАЩИТА СУСЛА И ВИНА

4.1 СУЛЬФИТАЦИЯ – УНИВЕРСАЛЬНАЯ ЗАЩИТА.

Ученые уже не один десяток лет ищут замену серным соединениям.

Но пока найти столь же универсального защитника, который может работать и как антиоксидант, и как антимикробный агент, не удается.

Попытки производства бессерных вин предпринимаются множеством виноделов, особенно сейчас, на волне увлечения натуральными винами.

Но вино – очень вкусный и питательный продукт, поэтому органические вещества, из которых оно состоит, могут с удовольствием употребляться в пищу множеством самых разных представителей микрофлоры.

У винограда есть защитные системы, но их чаще всего бывает недостаточно, а значит, у вина нет шансов на длительное и красивое старение. Поэтому вина без защиты живут недолго и очень плохо переносят транспортировку.

Не все биодинамисты настроены против серы. Один из современных основоположников этого движения, Nicolas Joly, в своей книге «Вино от неба и до земли» (2005) пишет: «Принцип «вино без серы» не может быть воздвигнут в правило.

В жизни все является вопросом пропорции. Только излишки вредны...

...Разговоры о «вине без серы» – это то дерево, которое заслоняет лес.

Настоящие проблемы заключаются в другом...

...Сера – форма света. Можно сделать вино без серы, но оно практически не подлежит транспортировке, кроме как, если в него не добавлялись иные консерванты, по нашему мнению, губительные для вина (аскорбиновая кислота, сорбат калия и т.д.).»

4.1.1 Использование серных соединений в виноделии.

Горящая сера использовалась древними египтянами, греками и римлянами в качестве фумиганта, но конкретного упоминания об использовании ее в виноделии не было. Первое документальное свидетельство о связи серы и вина содержится в отчете, опубликованном в Rotenburg в Германии в 1487 году (Anonymous, 1986).

Кусочки дерева покрывали порошковой серой, иногда с ладаном, и сжигали в перевернутых бочках, которые в последствии опечатывались.

Методы сжигания серы были самыми разными.

Исследования показали, что до 60 мг SO_2 на литр может быть поглощено вином, разлитым в бочки после фумигации (Amerigne et al., 1980). Этого достаточно, чтобы действовать в качестве эффективного антимикробного агента.

Подобное попадание серы в вино имеет давнюю историю, но специальное добавление диоксида серы началось лишь в XX веке (Somers, Wescombe, 1982).

Сульфитацию можно проводить с помощью сжиженного газа (из баллонов), или в виде метабисульфита калия ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$). Бисульфитные соли быстро ионизируются в кислотной среде суслу и переходят в диоксид серы.

Двуокись серы обладает не только антимикробными, но и антиоксидантными свойствами, предупреждая появление окисленных тонов в ароматике. Но в то же время она может влиять на цветность и служить источником нежелательных запахов в вине.



Правильно подобранный препарат даёт нужный эффект – на сусле лучше работать водным раствором сернистого ангидрида (газом) или, в крайнем случае, раствором метабисульфита, так как внесение порошка приводит к обугливанию ягод в месте попадания, а это влияет на аромат и состояние мезги.

В больших емкостях для суслу и вино-материала можно работать газом из сульфодозатора. Важно не допускать связывания свободной серы и прирастания общей, так как только свободная и молекулярная сера, которая зависит от свободной, а также от pH, выполняют и антиокислительную и антимикробиологическую функцию.

Ванда Ботнарь,
главный винодел «Кубань-вино»

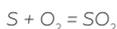
4.1.2 Источники соединений серы в вине.

Соединения серы всегда содержатся в сусле и вине в тех или иных концентрациях.

Обработка лоз серосодержащими фунгицидами, применение различных соединений серы на винодельне, естественное содержание серы в ягодах – все это источники появления целого спектра серных соединений.

Обзоры по образованию и появлению соединений серы в вине часто встречаются в литературе: Maujean, 2001; Rauhut, 1993, 1996, 2003; Ribereau-Gayon et al., 2000a, b; Swiegers et al., 2005; Vermeulen et al., 2005; Smith et al., 2015.





При проведении сульфитации на винодельне необходимо учитывать наличие серных соединений, попавших в сусло с виноградника вместе с фунгицидными препаратами. Нельзя собирать виноград раньше указанного производителем срока ожидания.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»

Один из источников соединений серы в вине – сами дрожжи. Штаммы *Saccharomyces cerevisiae* продуцируют сульфиды в зависимости от собственной генетики, состава виноградного сусла и условий ферментации (pH и температуры) (Larsen et al., 2003; Fleet, 2007).

Большинство штаммов *Saccharomyces cerevisiae* (80%) продуцируют менее 10 мг/л SO_2 , и только 4 штамма – больше 30 мг/л (Werner, 2013).

Но существуют « SO_2 -образующие дрожжи», которые способны производить сульфиты в количествах, превышающих 100 мг/л (Suzzi et al., 1985).

Последние тенденции, связанные с сокращением употребления серы, требуют от ученых появления дрожжевых культур с пониженным образованием серных соединений и ацетальдегида (Comitini et al., 2017).

4.1.3 Зависимость уровня сульфитации от состава сусла.

Чтобы соединения серы приносили пользу, при внесении требуется скрупулёзный расчёт. Нужно учитывать массу факторов: здоровье ягод, кислотность и спиртуозность сусла, концентрацию сахара и ацетальдегида, температуру и др.

«ОБЩАЯ» СЕРА = «СВОБОДНАЯ» + «СВЯЗАННАЯ»



«СВОБОДНАЯ» СЕРА АНТИОКСИДАНТ!

БАКТЕРИЦИДНЫЙ ЭФФЕКТ:

- действует на клеточные мембраны;
- ингибирует ферменты;
- мутагенное действие.

«СВЯЗАННАЯ» СЕРА

Бактериостатический эффект, действие слабее в 5-6 раз

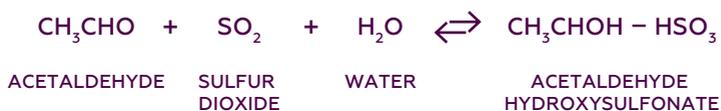
↘ ↙
«ОБЩАЯ» СЕРА

«свободная сера» < 20% + «связанная сера» < 80%

Диоксид серы в вине существует в различных свободных и связанных состояниях. Из свободных форм в виде растворенного газа существует только небольшая часть: от 7,5% при pH 2,9 до 1% при pH 3,8.

Дополнительная небольшая фракция существует в виде свободных сульфит-ионов (SO_3^{2-}) (от 0,004% при pH 2,9 до около 0,04% при pH 3,8). Подавляющее большинство ионного диоксида серы встречается в виде бисульфит-ионов (HSO_3^-).

Диоксид серы обратимо или необратимо связывается с различными составляющими вина. Наиболее распространенными из них являются гидроксисульфонаты, главным образом с карбонильными соединениями, особенно с ацетальдегидом.



Дополнительные продукты присоединения гидроксисульфонатов включают пировиноградную кислоту, α -кетоглутарат, сахара, сахарные кислоты и дубильные вещества.

Антоцианы – еще один важный связывающий субстрат в молодых красных винах.

Около 40-70% добавленного диоксида серы в сусле связывается с сахарами, особенно с альдосахарами, главным образом с глюкозой (Ronald S. Jackson., 2014).

Равновесие постоянно меняется.

Во время ферментации комплексы сахар-диоксид серы разрушаются дрожжевыми ферментами, высвобождая диоксид серы.

Активность молочнокислых бактерий во время малолактической ферментации способствует разрушению связи серных соединений с ацетальдегидом и высвобождению диоксида серы. Иногда это может замедлить или даже остановить малолактическую ферментацию, а также привести к потере цвета в результате обесцвечивания антоцианов при взаимодействии с серой.

А все реакции связывания, наоборот, могут значительно снизить концентрацию активного (свободного) диоксида серы в сусле или в вине.

Виноделы сталкиваются со сложностями при подсчете необходимо-достаточного количества серы при сульфитации, так как из-за множества взаимопревращений соединений серы трудно определить действительную концентрацию активной молекулярной серы.



При проведении оклейки или другой технической операции, связанной с переливкой вина, необходимо дробно проводить легкую сульфитацию – около 10 мг/л SO_2 , но обращать внимание на общее содержание, не превышающее параметры НД, и вкусовые ощущения.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»

Технические операции тоже могут нарушить равновесие и снизить уровень свободной серы в вине. Это нужно учитывать и вовремя восполнять потери.

Например, образование гидроксисульфонов с ацетальдегидом способствует дополнительному биосинтезу ацетальдегида клетками дрожжей.

Только тогда, когда практически все свободные карбонильные соединения связаны с диоксидом серы, содержание свободного SO_2 будет находиться в прямой линейной зависимости от внесения соединений серы.

«СВОБОДНАЯ» И «СВЯЗАННАЯ»

ОБРАТИМЫЕ РЕАКЦИИ:

Связь соединений с серой может разрушаться, и они опять будут принимать участие в реакциях защиты вина



НЕОБРАТИМЫЕ РЕАКЦИИ:



Виноград с плесенью
 ↓
 Продукты окисления сахаров
 (кетосоединения) + SO_2
 ↓
 «Связанная» сера

4.1.4 Сера как антиоксидант.

Небольшое количество диоксида серы придаёт более свежий запах готовому вину, возможно, путем образования нелетучих сульфонов с ацетальдегидом.

Сульфитация защищает от окисления летучие тиолы, такие как 3-меркаптогексан-1-ол (Blanchard et al., 2004).

А также помогает ингибировать нежелательное изменение цвета вина, связанное с реакцией Майяра. Предполагается, что это связано со взаимодействием бисульфитов с карбонильной группой сахаров.

Еще одна известная защитная реакция – взаимодействие соединений серы с хинонами (Embs, Markakis, 1965). Для красных вин это особенно важно!

Окисление сульфитов до сульфатов способствует восстановлению дихинонов до их соответствующих дифенолов, что по сути является защитной реакцией от окисления компонентов вина (Walker, 1975).

При наличии кислорода диоксид серы (в форме сульфита) может быть окислен до сульфата. Реакция не идет напрямую, проходит в несколько этапов и связана с перекисью водорода, образующейся при автоокислении о-дифенолов (Danilewicz, 2007).

Эти химические процессы объясняют медленное исчезновение диоксида серы при бутылочной выдержке вина и потерю антиоксидантной защиты.

С какого-то момента большинство серных соединений переходят в необратимо связанную форму. Потеря защитника влечёт за собой:

- потемнение цвета из-за окисления фенольных соединений;
- окисление этанола в ацетальдегид и появление тонов окисленности;
- потерю ароматических соединений.

При достаточной концентрации молекулярной серы перекись водорода быстро восстанавливается до воды, а это значит, что купируется окисление этанола в ацетальдегид, аскорбиновой кислоты и дифенолов.

4.1.5 Сера – защитник от микрофлоры

Кроме антиоксидантных, сера обладает антимикробными свойствами, которые очень давно являются объектами исследования ученых.

Механизм действия активных соединений серы связан с нарушением работы структур клеток – расщеплением дисульфидных связей в молекулах ферментов и регуляторных белков (Beech and Thomas, 1985).

Также могут пострадать нуклеиновые кислоты и липиды мембран.

Диоксид серы быстро инактивирует широкий спектр микробов.

Значения от 0,8 до 1,5 мг/л (ppm) молекулярного SO_2 обычно рассматриваются как достаточные для подавления роста большинства диких дрожжей и бактерий (Beech et al., 1979; Sudraud and Chauvet, 1985).

При осветлении сусла из здорового винограда уровень общей серы должен быть 50-70 мг/л, больного – 100 мг/л, но не более 120 мг/л.

Если сульфитация не была проведена, на отстое белого сусла возможно преждевременное забраживание на дикой дрожжевой микрофлоре, начиная со дна чана, даже при низкой температуре около 10-12 градусов.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»

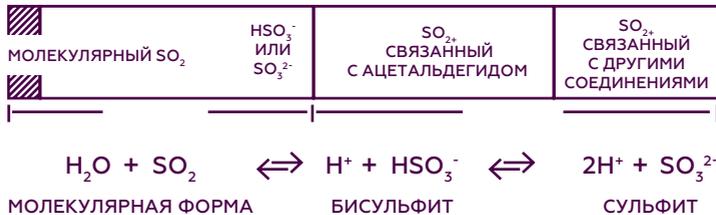
Часть ученых ставят под сомнения эти данные, предполагая, что спирт является основным фактором потери активности дикой микрофлоры сусла.

Тем не менее, сульфитация особенно показана при дроблении заплесневелого винограда из-за высокой активности микрофлоры и присутствия соединений, с ней связанных. Например, галактуроновой кислоты, выделяющейся при деградации пектина под воздействием ферментов микроорганизмов.

Добавление после брожения необходимо прежде всего в том случае, если вино загрязняется патологическими дрожжами, такими как, *Brettanomyces spp.*, *Saccharomyces ludwigii* и *Zygosaccharomyces bailii*. Для достижения эффективного контроля в этом случае требуется значительно большее количество сульфитных добавок, чем обычно. Все эти организмы относительно нечувствительны к диоксиду серы.

4.1.6 Варианты существования серы в вине. Расчет необходимого количества молекулярной серы.

При оценке антимикробного действия принято оценивать только содержание молекулярного диоксида серы как наиболее активного соединения. Но молекулярная форма быстро переходит в свои ионные состояния: бисульфитов и сульфитов.



Поэтому при расчете необходимо учитывать параметры сусла: температуру и pH, так как активная кислотность влияет на растворимость и константы диссоциации серных соединений.

Уровень свободного диоксида серы, необходимый для получения желаемого количества молекулярного SO₂, можно рассчитать, так как известно, как величина pH влияет на процентное содержание молекулярной серы от свободного диоксида серы.

Например, чтобы нейтрализовать существующую микрофлору в сусле (при pH 3,2), нужно 1,5 мг/л молекулярной серы:

Ниже указано, что при pH 3,2 процент молекулярной серы от «свободной» составляет 3,9%.

Составляем пропорцию:

1,5 мг – 3,9% (молекулярная сера)
 x мг – 100% («свободная» сера)
 $x = (1,5 \times 100) : 3,9 = 38,5 \text{ мг/л}$.

То есть для того, чтобы получить в сусле/вине (при pH 3,2) 1,5 мг/л молекулярной серы, нужно, чтобы в сусле/вине было 38,5 мг/л «свободной» серы.

Процент молекулярного SO₂ при различных значениях pH приведен ниже: pH 2,9 (7,5%); pH 3,0 (6,1%); pH 3,1 (4,9%); pH 3,2 (3,9%); pH 3,3 (3,1%); pH 3,4 (2,5%); pH 3,5 (2,0%); pH 3,6 (1,6%); pH 3,7 (1,3%); pH 3,8 (1,0%); pH 3,9 (0,8%) (Ronald S., Jackson Ph.D., Wine Science, 2008, стр. 314).

Можно воспользоваться одним из калькуляторов подсчета количества серных соединений, размещенных на проверенных сайтах энологических школ.

Этот расчёт будет достаточно точным в течение короткого периода времени после сульфитации. Через некоторый отрезок времени наступит равновесие между связанными и свободными соединениями серы. Необходимо учитывать тот факт, что при потере кислотности калькулятор может выдать значения, превышающие положенные нормы сульфитации.

Несмотря на токсичность SO₂ для большинства микроорганизмов, некоторые дрожжи демонстрируют сравнительную нечувствительность к сере.

Нужно учитывать тот факт, что дрожжи в состоянии покоя более чувствительны к диоксиду серы (как, впрочем, и к другим стрессовым факторам), чем метаболически активные клетки.



Вина (особенно красные), сделанные из перезревших, часто заизюмленных ягод, с высоким содержанием спирта, повышенной кислотностью – высоким pH, зачастую с остаточным сахаром наиболее уязвимы к микробиальным заражениям, поэтому для сохранения качества должны быть выполнены следующие условия:

- Спиртовое брожение должно быть доведено до конца (содержание остаточного сахара должно быть менее 4 г/л);
- После спиртового и яблочно-молочного брожения (опционально) вино должно быть должным образом сульфитировано (по калькулятору) для обеспечения его защиты от Brettanomyces и других вредоносных дрожжей и бактерий.

Алексей Сапсай,
 энолог, агроном, партнер в агентстве
 Double Magnum Wine Consulting
 Более подробно на сайте nashevino.ru,
 в статье «Борьба с остаточным сахаром
 как залог здоровья вина»
 от 18 ноября 2015 года

Сульфитация на начальных этапах винификации ограничивает рост именно диких дрожжей. Инокуляция сусле растущей культурой дрожжей дает им преимущество – большую толерантность к сере.

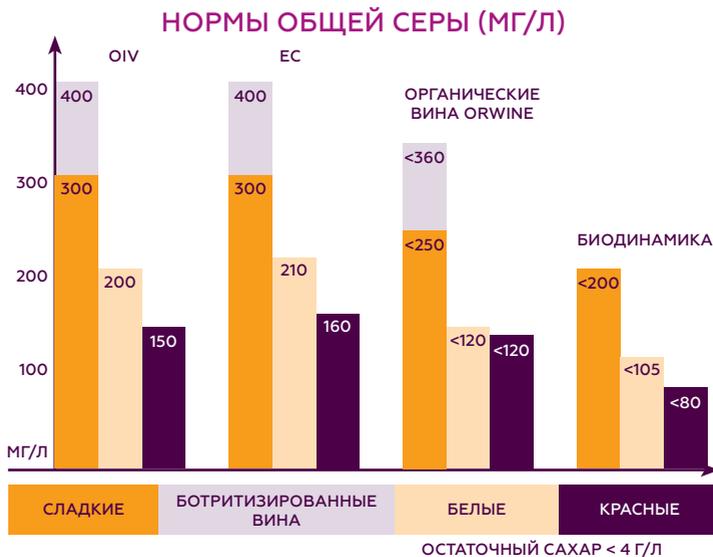
4.1.7 Негативные последствия при излишней сульфитации.

Положительные эффекты при сульфитации всегда сопровождаются негативными последствиями. Именно поэтому при внесении соединений серы нужно очень тщательно рассчитывать дозу.

Например, диоксид серы подавляет реакцию между кафтаровой кислотой и глутатионом, поэтому внесение его при дроблении белого винограда может ограничить своевременное окисление этих антиоксидантов, усиливая тенденцию изменения цвета белых вин к более коричневому тону при старении (Singleton et al., 1985).

Кроме этого, диоксид серы увеличивает абсорбцию фенолов из мозги, что особенно нежелательно в белом виноделии.

Или диоксид серы может значительно снизить содержание тиамин в сусле – спровоцировать необратимое расщепление тиамин на два неактивных ингредиента. Эта реакция может потребовать коррекции тиамин, особенно в сусле из ботритизированного винограда.



С другой стороны, благодаря уменьшению образования перекиси водорода, образующейся при автоокислении фенолов, SO_2 ограничивает образование ацетальдегида, а значит, развитие цветостабилизирующих антоцианино-таниновых полимеров.

Свободные антоцианы гораздо более подвержены необратимому обесцвечиванию, чем полимеризованные формы.

Неправильно рассчитанный уровень сульфитации способствует появлению нежелательных ароматов. При концентрации диоксида серы около 100 мг/л появляется запах зажженной спички (Amerine and Roessler, 1983).

Диоксид серы также может вступать в реакцию с дубовыми клепками, образуя соединения с лигнином. Предполагается, что после разложения этих соединений образуется сероводород, который реагирует с пиразинами. Это может привести к образованию тиопиразинов, и при экстракции в вино привнесет неприятный затхлый тон (Tanner, Zanier, 1980).

Последнее время потребители озабочены наличием серы в вине. Это вызвало волну производства вин с малым содержанием соединений серы.

Хотя в пищевой промышленности эти вещества используются как консерванты давно и очень широко. В Европе их присутствие обозначено на этикетке как E220 (диоксид серы) или как E224 (метабисульфит калия).

С конца 60-х годов считается, что для здоровых людей потребление в день 400 мг SO_2 (в свободной и связанной форме) в течение нескольких недель не имеет побочных эффектов (Hötzel et al., 1969).

Несмотря на это, Объединенный комитет экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам (1974 г.) установил приемлемое суточное потребление сульфита в размере 0,7 мг/кг массы тела.

Поэтому закономерен интерес ученых к влиянию этих веществ на здоровье человека.

Действительно, есть группа чувствительных людей (астматиков и аллергиков), у которых газообразный SO_2 может спровоцировать приступы астмы.

В организме этих потребителей сульфиты, поглощенные кровью из пищеварительного тракта, могут попадать в легкие, что и вызывает обострение заболевания.

Еще одно наблюдение – отмечено частичное разрушение витамина В1.

Кроме этого, очень небольшая группа людей обладает редким генетическим дефектом – сульфитурией, что делает их неспособными инактивировать сульфиты до сульфатов (Duran et al.,

1979). Но эта группа редко доживает до возраста, при котором вино вводится в рацион питания.

Напротив, у здоровых людей ферментные системы быстро переводят сульфиты в сульфаты. Почки удаляют ежедневно около 2,4 г этих соединений.

Метаболизм серы, поступающей в организм человека с пищевыми продуктами, – абсолютно естественный процесс.

Большая часть сульфата, содержащегося в крови, поступает из сульфита, выделяющегося при клеточном метаболизме серосодержащих аминокислот. Концентрация сульфитов, полученных в результате получения пищи, во много раз выше, чем при потреблении вина.

Большинство исследователей считают, что отрицательное влияние серных добавок в вине на здоровье человека сильно преувеличено и внимание должно быть сфокусировано на выяснении правильного использования диоксида серы в строго необходимых количествах.

4.1.8 Нежелательная ароматика: летучие соединения серы.

Летучие соединения серы образуются несколькими путями, включающими ферментативные и/или неферментативные процессы.

Неферментативный путь: фотохимические и термические реакции во время винификации и хранения вин под искусственным светом.

Ферментативный путь связан с трансформацией серосодержащих аминокислот (метионина и цистеина) и олигопептидов (например, глутатиона).

Формирование нежелательных серных ароматов (сероводорода и связанных с ним соединений) напрямую связано с метаболизмом азота в дрожжевой клетке при ферментации.

При недостатке азота во время роста колонии дрожжей источником сульфидов могут быть аминокислоты – такие как цистеин, метионин, S-аденозилметионин и трипептид глутатион (Spiropoulos and Bisson, 2000; Spiropoulos et al., 2000; Bell and Henschke, 2005).

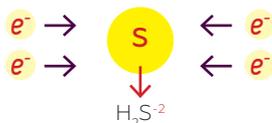
Анаэробные (восстановительные) условия ферментации и низкий pH способствуют образованию сероводорода и родственных соединений (Linderholm et al., 2008).

Пороговые значения для H₂S находятся в диапазоне 11-80 мкг/л (Amoore, Hautala, 1983). Концентрации, превышающие эти значения, вызывают неприятный запах, напоминающий тухлые яйца. Более низкие уровни в молодых винах способствуют «дрожжевому» вкусу или тону брожения.

ПОВЕДЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЫ ПРИ ДЕФИЦИТЕ КИСЛОРОДА

-O₂ ВОССТАНОВИТЕЛЬНАЯ СРЕДА

S ведет себя как **окислитель** – забирает электроны у других.



Восстановленные соединения серы – образуются в бочке или в бутылке при выдержке.

Незначительное превышение пороговых значений вызывает так называемую «редукцию» (Dittrich, 2005).

Не все штаммы *Saccharomyces cerevisiae* одинаково активно продуцируют сероводород. Различия в способности синтезировать сернистые соединения не только обусловлены генетически, но в то же время находятся в зависимости от факторов окружающей среды.

H₂S образуется на ранних и средних стадиях ферментации и всегда зависит от состава и концентрации питательных веществ в сусле (Spiropoulos et al., 2000; Spiropoulos, Bisson, 2000).

Дефицит витаминов и микроэлементов, участвующих в синтезе серосодержащих аминокислот, снижение запасов источника серы – глутатиона – всё это способствует выработке H₂S (Jiranek et al., 1995a, b; Spiropoulos et al., 2000; Wang et al., 2003).

Образование сероводорода также может происходить на конечной стадии ферментации, когда возникает дефицит питательных веществ.

При падении уровня азотистых соединений в результате распада глутатиона образуется цистеин, на следующем этапе он подвергается ферментативной атаке цистеин-дисульфогидратазы. Распад аминокислоты заканчивается образованием H₂S.

Предполагается, что глутатион, который накапливается в дрожевой клетке, может быть источником до 40% сульфида в клетках с азотным голоданием (Hallinan et al., 1999).

Кроме этого, бесконтрольная выдержка на осадке и несвоевременные переливки могут быть источником сероводорода (Ribéreau-Gayon et al., 2000a, b; Maujean, 2001; Rauhut, 2003; Bell and Henschke, 2005).

Повышенное производство H₂S приводит к более высокому образованию летучих соединений серы (Rauhut, 2003).

Практически всегда это сопровождается нежелательным изменением ароматических характеристик вина.

ТИОЛЫ (МЕРКАПТАНЫ) + СПИРТЫ

«СКОТНЫЙ ДВОР»



2-меркаптоэтанол



«ГНИЛАЯ КАПУСТА»



Метантиол =
метилмеркаптан

«РЕЗИНА»



Этандитиол=



Соединения этилового и метилового спирта с веществами, содержащими серу, достаточно устойчивы, от них практически невозможно избавиться. Они вызывают появление неприятных тонов горелой резины, резиновых покрышек, скотного двора, фекалий (Rauhut, 2003).

«ЖЖЕНАЯ РЕЗИНА», «ГНИЛОЙ ЛУК»



Этантиол (этилмеркаптан) = $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}$

«ФЕКАЛЬНЫЙ ЗАПАХ»



4.1.9 Как снизить уровень сульфитации.

Практика доказывает, что, соблюдая определенные правила на производстве, можно существенно снизить уровень сульфитации.

Для этого нужно:

- Собирать только здоровый виноград;
- При возможности собирать виноград в небольшие ящики;
- Желательно организовать уборку в прохладное время суток;
- Организовать быструю доставку на винодельню;
- Проводить триаж перед загрузкой ягод в ферментатор;
- Ограничить воздействие кислорода при дроблении, особенно белых сортов;
- Контролировать уровень редокс-потенциала на протяжении винификации;

- Контролировать уровень pH сусла;
- Соблюдать чистоту на винодельне;
- Вовремя проводить чистку и обработку емкостей для выдержки вина;
- Организовать розлив и укупорку с использованием инертного газа.

Красные и белые сорта винограда требуют разного уровня сульфитации.

Более высокое содержание полифенолов в красных винах частично компенсирует необходимость добавления соединений серы.

Таким образом, учитывая известные науке факторы, можно, с одной стороны, существенно снизить уровень сульфитации, с другой – защитить вино, не принося вред потребителям.

4.1.10 Советы виноделов:

Как не допустить окисления сусла и вина.

Вот мнения виноделов о возможных путях снижения окисления компонентов сусла и вина, а значит, об автоматическом снижении уровня сульфитации.

Грамотная организация уборки и доставки винограда, применение инертных газов на всех этапах производства от приемки до розлива, современное оборудование, здоровый виноград – всё это существенно снижает интенсивность окислительных процессов.



Использование сухого льда и серных соединений хорошо работает на стадиях приёмки винограда, который предполагается перерабатывать по редуktivному режиму. Главное условие – здоровый виноград, потому что, если есть признаки порчи или поражения винограда гнилью, эти средства не помогут исправить ситуацию, придется использовать ферменты, нужны уголь и ПВПП.

Использование инертного газа становится обязательным условием сопровождения всех белых вин от последней переливки до розлива.

На нашем производстве применяется азот, который хорошо справляется со свободным кислородом, не допуская его связывания с компонентами сусла.

Для предотвращения окисления вина при выдержке и хранении необходимо использовать гидрозатворы. Практикуется также хранение вина в атмосфере азота под слабым избыточным давлением.

Некачественное, устаревшее оборудование может быть причиной окисления вина при перекачках. На современных предприятиях вместо центробежных насосов используют винтовые или поршневые.

Желательно отказываться от гибких соединений в пользу стационарных коммуникаций.

Ванда Ботнарь,
главный винодел «Кубань-вино»

Приемка винограда – один из важнейших этапов производства вина. Ключевые факторы качества вина: качество винограда, температура и редуktivность условий, при которых происходит подготовка винограда перед ферментацией. Использование сухого льда охлаждает мезгу и вытесняет кислород. При производстве белого вина этот метод приносит очень позитивные эффекты для будущего вина. Особенно важно следить за уровнем вина после окончания брожения. Это позволит избежать лишнего окисления вина. Поэтому важно иметь в подвале емкости разного объема. Не слишком хороший вариант – танк с плавающей крышкой. Долгосрочное хранение вина в таких емкостях приводит к его окислению.

Герберт Шёдль (*Herbert Schödl*),
профессор энологии, дипломированный инженер
(HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg)



Даже при обработке холодом нужно следить за уровнем вина в емкостях. Чем ниже температура, тем выше растворимость кислорода, а значит, возможность окисления. Жидкость в гидрозатворе должна содержать растворенные сернистые соединения.

Сергей Дубовик,
главный винодел «Мысхако»



Каждая технологическая операция привносит в вино определённую дозу O_2 , который в случае избытка может привести к окислению вина ещё до розлива. Приборы замера растворённого в вине кислорода – верные помощники винодела, ведь беду можно предотвратить, прибегнув к дезоксигенации. Для этого есть соответствующие приспособления и установки.

Белое ароматное вино, проходящее стабилизацию холодом, должно быть обязательно защищено от окисления инертным газом. Кислород гораздо активнее растворяется в холодном вине, а значит, аромат обязательно пострадает, особенно при недостатке свободного SO_2 .

В вине 1 мг/л O_2 нейтрализует примерно 4 мг/л SO_2 (св.).

Таким образом, если концентрация O_2 стала 5 мг/л, а SO_2 (св.) в вине всего 20 мг/л, то, скорее всего, через какое-то время (2-5 мес. в зависимости от температуры вина) защита вина исчезнет и оно начнет «угасать»... Более того, если вино будет розлито с такими показателями, то кислород, проникающий через пробку, быстро приблизит состояние «окисленности» и погубит некогда замечательное ароматное вино.

И это будет ошибка именно винодела, а не торговца или транспортника с неправильными условиями хранения и транспортировки.

Алексей Сапсай,
энолог, агроном, партнер в агентстве *Double Magnum Wine Consulting*
Про дезоксигенацию можно прочитать у *Robillard B.*, 2009. Более подробно на
сайте nashevino.ru, статья «Управление растворенными газами в вине»
от 25 мая 2015 года

4.2 2 Поиски альтернативы серы. Глутатион и его роль в виноделии.

Поиски защитников вина от окисления ведутся учеными в разных направлениях. Одно из них – исследование свойств глутатиона.

Глутатион (L-γ-глутамил-L-цистеинилглицин) – трипептид, один из основных антиоксидантов в живых клетках. Он образуется в результате реакции цистеина с глутаматом и глицином. Глутатион предотвращает разрушение клеток и может реагировать с тяжелыми металлами и другими токсичными соединениями (Penninckx, 2002; Du Toit et al., 2007).

Многие ученые посвящали свои исследования этому соединению. В последнее время в связи с запросом рынка на бессерные вина этот интерес растет.

Глутатион был обнаружен в дрожжевых клетках Hopkins and Kendall в 1921 году (Kockova-Kratochvilova, 1990).

В дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* он может составлять 0,5-1% от сухого веса.

Серосодержащий трипептид встречается в восстановленной (GSH), окисленной форме (GSSG) и различных смешанных дисульфидах, например GS-S-CoA и GS-S-Cys (Penninckx, 2002).

Исследователи отмечают, что на уровень глутатиона влияет содержание усвояемого азота – при дефиците азотного питания падает концентрация глутатиона (Park et al., 2000a, b).

К концу ферментации наблюдается увеличение содержания трипептида – часть клеток дрожжей лизирует и провоцирует его выход в сусло и вино. Кроме этого, концентрация глутатиона напрямую зависит от штамма дрожжей (Lavigne et al., 2007). Поэтому уровень этого важнейшего антиоксиданта может быть повышен выбором подходящего штамма, а также выдержкой вина на осадке. Глутатион, хранящийся в клетках дрожжей, может использоваться в качестве эндогенного источника серы при азотном голодании (Mehdi and Penninckx, 1997).

Но нужно учитывать тот факт, что сера при этом может быть задействована в других биохимических реакциях, что может привести к появлению неприятных летучих соединений (Rauhut et al., 2001; Penninckx, 2002, Rauhut, 2003).

В то же время он может предотвращать окисление белого сусла за счёт связывания хинонов (Cheynier et al., 1986, 1989).

Lavigne-Cruege и Dubourdieu (2002, 2007) обнаружили, что добавление 10 мг/л глутатиона при розливе в бутылки защищает летучие тиолы, которые отвечают за сортовой аромат бутылочных вин во время их выдержки, купируют нежелательное

изменение цвета у белых вин и уменьшают появление летучих соединений, связанных с нетипичным старением вин.

Таким образом, в течение последних двух десятилетий различными исследовательскими группами были проведены обширные исследования воздействия глутатиона на развитие и защиту вина.

Были разработаны стратегии, повышающие его концентрацию и защищающие его восстановленную форму.

Отдельное направление – поиски штаммов *Saccharomyces cerevisiae* с повышенным содержанием глутатиона (Mezzetti et al., 2014).

Уже получены культуры, способные лучше адаптироваться к стрессам, возникающим до, во время и после алкогольной ферментации (Penninckx, 2002; Kritzinger et al., 2013a).

Естественно, что на рынке появились энологические препараты на базе сухих неактивных дрожжевых клеток, обогащённые глутатионом (IDY).

Они помогают защищать цвет и улучшать сенсорные характеристики вина (Pozo-Bayon et al., 2009a, b, c; Badea, Antocse, 2015, Rodriguez-Bencomo et al., 2016).

Международная организация винограда и вина (OIV) в 2015 году приняла новую энологическую практику обработки суслу и вина с использованием глутатиона (резолюции OIV-OENO 445-2015 и OIV-OENO 446-2015). Максимально допустимое добавление – 20 мг/л глутатиона в сусло или вино.

Некоторые новые предложения в отношении глутатиона находятся в процессе разработки.



На официальных страницах проекта «Винный гид России» в социальных сетях много полезной информации о виноделии и виноградарстве, а также актуальные «винные» новости. Подписывайтесь: vk.com/wineguiderussia!

ЛИТЕРАТУРА

1. Albergaria H., Arneborg N., 2016, Dominance of *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation processes: role of physiological fitness and microbial interactions. *Appl Microbiol Biotechnol* 100: 2035–2046.
2. Amerine M. A. and Ough C. S., 1980, *Methods for Analysis of Musts and Wines*. John Wiley, New York.
3. Amerine M. A., Roessler E. B., 1983, *Wines, Their Sensory Evaluation*. Freeman, New York.
4. Amoore J.E., Hautala E., 1983, Odor as an aid to chemical safety: odor thresholds compared with threshold limit values and volatilities for 214 chemicals in air and water dilution. *J Appl Toxicol* 3: 272–290.
5. Anderson Ø.M., Jordheim M., 2006, The anthocyanins. In: Anderson Ø.M., Markham K.R. (eds), *Flavonoids – chemistry, biochemistry and applications*. CRC Taylor & Francis Group, Boca Raton, 471–551.
6. Andorra I., Berradre M., Roze´s N., Mas A., Guillamo´n J.M., Esteve-Zarzoso B., 2010 Effect of pure and mixed cultures of the main wine yeast species on grape must fermentations. *Eur Food Res Technol* 231: 215–224.
7. Anonymous, 1986, The history of wine: Sulfurous acid – used in wineries for 500 years. *German Wine Rev.* 2, 16–18.
8. Apud G.R., Stivala M.G., Fernandez P.A., Rodriguez Vaquero M.J., 2013a, Proteolytic activity of *Oenococcus oeni* enables the increase in antioxidant and antihypertensive activities from wine. *Curr Pharm Biotechnol* 14: 809–813.
9. Apud G.R., Vaquero M.J., Rollan G., Stivala M.G., Fernandez P.A., 2013b, Increase in antioxidant and antihypertensive peptides from Argentinean wines by *Oenococcus oeni*. *Int J Food Microbiol* 163: 166–170.
10. Aredes Fernandez P.A., Stivala M.G., Rodriguez Vaquero M.J., Fari´as M.E., 2011, Increase in antioxidant and antihypertensive activity by *Oenococcus oeni* in a yeast autolysis wine model. *Biotechnol Lett* 33: 359–364.
11. Arena M.E., Lisi M.S., Manca de Nadra M.C., Alberto M.R., 2013 Wine composition plays an important role in the control of carcinogenic precursor formation by *Lactobacillus hilgardii* X 1 B. *J Sci Food Agric* 93:142–148.
12. Axelsson L., 2004, Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen S., von Wright A., Ouwehand A.C. (eds), *Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects*, 3rd ed. Marcel Dekker, New York, 1–66.
13. Badea G.A., Antoche A.O., 2015, Glutathione as a possible replacement of sulfur dioxide in winemaking technologies: a review. *Sci Pap Ser B Horticult* LIX: 123–139.
14. Bagheri B., Bauer F.F., Setati M.E., 2015, The diversity and dynamics of indigenous yeast communities in grape must from vineyards employing different agronomic practices and their influence on wine fermentation. *S Afr J Enol Vitic* 36: 243–251.
15. Barbe J.C., De Revel G., Joyeux A., Bertrand A., Lonvaud-Funel A., 2001, Role of botrytized grape micro-organisms in SO₂ binding phenomena. *J Appl Microbiol* 90: 34–42.
16. Bartowsky E.J., Xia D., Gibson R.L., Fleet G.H., Henschke P.A., 2003, Spoilage of bottled red wine by acetic acid bacteria. *Lett Appl Microbiol* 36: 307–314.
17. Bartowsky E.J., Borneman A.R., 2011, Genomic variations of *Oenococcus oeni* strains and the potential to impact on malolactic fermentation and aroma compounds in wine. *Appl Microbiol Biotechnol* 92: 441–447.
18. Bauer R., du Toit M., Kossmann J., 2010, Influence of environmental parameters on production of the acrolein precursor 3-hydroxypropionaldehyde by *Lactobacillus reuteri* DSMZ 20016 and its accumulation by wine lactobacilli. *Int J Food Microbiol* 137: 28–31.
19. Beech F.W., Burroughs L.F., Timberlake C.F., Whiting G.C., 1979, Progrès recent sur l'aspect chimique et l'action antimicrobienne de l'anhydride sulfureux. *Bull. O. I. V.* 52: 1001–1022.

20. Beech F.W., Thomas S., 1985, Action antimicrobienne de l'anhydride sulfureux. Bull. O.I.V. 58: 564–579.
21. Bernardo Sara, Dinis Lia-Tânia, Machado Nelson, Moutinho-Pereira José, Grapevine abiotic stress assessment and search for sustainable adaptation strategies in Mediterranean-like climates. A review, *Agronomy for Sustainable Development*, 10.1007/s 13593-018-0544-0, 38, 6, 2018.
22. Belda I., Navascue´s E., Marquina D., Santos A., Calderon F., Benito S., 2015, Dynamic analysis of physiological properties of *Torulaspora delbrueckii* in wine fermentations and its incidence on wine quality. *Appl Microbiol Biotechnol* 99: 1911–1922.
23. Belda I., Ruiz J., Alastreuy-Izquierdo A., Navascue´s E., Marquina D., Santos A., 2016a, Unraveling the enzymatic bias of wine "flavorome": a phylo-functional study of wine related yeast species. *Front Microbiol* 7:12.doi:10.3389/fmicb, 2016.
24. Bell S-J., Henschke P.A., 2005, Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Aust J Grape Wine Res* 11: 242–295.
25. Belloch C., Perez-Torrado G.S.S., Perez-Ortin J.E., Garcia-Martinez J., Querol A., Barrio E., 2009, Chimeric genomes of natural hybrids of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces kudriavzevii*. *Appl Environ Microbiol* 75: 2534–2544.
26. Beltran G., Torija M.J., Novo M., Ferrer N., Poblet M., Guillamon J.M., Rozes N., Mas A., 2002, Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: A six-year follow-up study. *Syst Appl Microbiol* 25: 287–293.
27. Betteridge A., Grbin P., Jiranek V., 2015, Improving *Oenococcus oeni* to overcome challenges of wine malolactic fermentation. *Trends Biotechnol* 33: 547–553.
28. Bevan E.A., Makower M., 1963, The physiological basis of the killer character in yeast. *Proc Int Congr Genet* 1: 202–203.
29. Bibliography, The Science of Grapevines, 10.1016/B978-0-12-816365-8.09993-0, 395–517, 2020.
30. Bisson L.F., Walker G.A., 2015, The microbial dynamics of wine fermentation. In: Holzapfel W. (ed), *Advances in fermented foods and beverages improving quality, technology and health benefits*. Woodhead, Cambridge, 434–476.
31. Blanco P., Orriols I., Losada A., 2011, Survival of commercial yeasts in the winery environment and their prevalence during spontaneous fermentations. *J Ind Microbiol Biotechnol* 38: 235–239.
32. Blanchard L., Darriet P., Dubourdieu, D., 2004, Reactivity of 3-mercaptopexanol in red wine: impact of oxygen, phenolic fractions, and sulfur dioxide. *Am. J. Enol. Vitic.* 55, 115–120.
33. Bokulich N.A., Thorngate J.H., Richardson P.M., Mills D.A., 2014, Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. *Proc Natl Acad Sci USA* 25: E139–148. doi:10.1073/pnas.1317377110.
34. Bokulich N.A., Collins T.S., Masarweh C., Allen G., Heymann H., Ebeler S.E., Mills D.A., 2016a, Associations among wine grape microbiome, metabolome and fermentation behavior suggest microbial contribution to regional wine characteristics. *mBio* 7(3): e00631–e00616. doi:10.1128/mBio.00631-16.
35. Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E., 1996, *Principles and practices of winemaking*. Chapman and Hall, New York.
36. Boynton P.J., Greig D., 2016, Species richness influences wine ecosystem through a dominant species. *Fungal Ecol* 22: 611–671.
37. Bramley R.G.V., Ouzman J., Trought M.C.T., Neal S.M., Bennett J.S., 2019, Spatio-temporal variability in vine vigour and yield in a Marlborough Sauvignon Blanc vineyard, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 25, 4, 430–438.
38. Bravo-Ferrada B.M., Hollmann A., Delfederico L., Valde´s La Hens D., Caballero A., Semorile L., 2013, Patagonian red wines: selection of *Lactobacillus plantarum* isolates as potential starter cultures for malolactic fermentation. *World J Microbiol Biotechnol* 29: 1537–1549.
39. Breinig F., Sendzik T., Eisfeld K., Schmitt M.J., 2006, Dissecting toxin immunity in virus-infected killer yeast uncovers an intrinsic strategy of self-protection. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 3810–3815.

40. Breuil A.C., Adrian M., Pirio N., Meunier P., Bessis R., Jeandet P., 1998, Metabolism of stilbene phytoalexins by *Botrytis cinerea*: 1. Characterisation of a resveratrol dehydrodimer. *Tetrahedron Lett* 39: 537–540.
41. Bruenn J.A., 2005, The *Ustilago maydis* killer toxins. In: Schmitt M.J., Schafrath R. (eds) *Microbial protein toxins*. Springer, Berlin, 157–174.
42. Byrsch-Herzberg M., Seidel M., 2015, Yeast diversity on grapes in two German wine growing regions. *Int J Food Microbiol* 214: 137–144.
43. Cameron W., Petrie P.R., Barlow E.W.R., Patrick C.J., Howell K., Fuentes S., 2019, Advancement of grape maturity: comparison between contrasting cultivars and regions, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 26 (1), 53-67.
44. Canonico L., Canonico L., Comitini F., Oro L., Ciani M., 2016, Sequential fermentation with selected immobilized non-*Saccharomyces* yeast for reduction of ethanol content in wine. *Front Microbiol* 7: 278. doi:10.3389/fmicb.2016.00278.
45. Callejo 'n S., Sendra R., Ferrer S., Pardo I., 2014, Identification of a novel enzymatic activity from lactic acid bacteria able to degrade biogenic amines in wine. *Appl Microbiol Biotechnol* 98: 185–198.
46. Capozzi V., Garofalo C., Chiriatti M.A., Grieco F., Spano G., 2015, Microbial terroir and food innovation: the case of yeast biodiversity in wine. *Microbiol Res* 181: 75–83.
47. Carvalho E., Mateus N., Plet B., Planet I., Dufourc E., De Freitas V., 2006, Influence of wine pectic polysaccharides on the interactions between condensed tannins and salivary proteins. *J Agric Food Chem* 54: 8936–8944.
48. Cavaliere D., Barberio C., Casalone E., Pinzauti F., Sebastiani F., Mortimer R., Polsinelli M., 1998, Genetic and molecular diversity in *Saccharomyces cerevisiae* natural populations. *Food Technol Biotechnol* 36: 45–50.
49. Cavin J.F., Andioc V., Etievant P.X., Divies C., 1993, *Am. J. Enol. Viticult.*, 44 (1), 76–80.
50. Chalier P., Angot B., Delteil D., Doco T., Gunata Z., 2007, Interactions between aroma compounds and whole mannoprotein isolated from *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Chem* 100: 22–30.
51. Chatonnet P., Boidron J.-N., Dubourdieu D., 1989, *Conn. Vigne Vin*, 23, 59.
52. Chatonnet P., Dubourdieu D., Boidron J.-N., Pons M., 1992b, *J. Sci. Food Agric.*, 60, 165.
53. Chatonnet P., Boidron J.-N., Dubourdieu D., 1993a, *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 27 (4), 277.
54. Chatonnet P., Dubourdieu D., Boidron J.-N., Lavigne V., 1993b, *J. Sci. Food Agric.*, 62, 191.
55. Chatonnet P., Labadie D., Bouton S., 2003) *J. Int. Sci. Vigne Vin.*, 37 (3), 81.
56. Christ E., Keonig H., Pfeiffer P., 2012, Bacterial formation of biogenic amines in grape juice: the influence of cultivation conditions. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 108 :73–78.
57. Ciani M., Maccarelli F., 1998, Oenological properties of non- *Saccharomyces* yeasts associated with wine-making. *World J Microbiol Biotechnol* 14: 199–203.
58. Ciani M., Ferraro L., 1998, Combined use of immobilized *Candida stellata* cells and *Saccharomyces cerevisiae* to improve the quality of wines. *J Appl Microbiol* 85: 247–254.
59. Ciani M., Mannazzu I., Maringeli P., Clemente F., Martini A., 2004, Contribution of winery resident *Saccharomyces cerevisiae* strains to spontaneous grape must fermentations. *Antonie Van Leeuwenhoek* 85: 159–164.
60. Ciani M., Comitini F., Mannazzu I., Domizio P., 2010, Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non-*Saccharomyces* yeasts in winemaking. *FEMS Yeast Res* 10: 123–133.
61. Ciani M., Comitini F., 2015, Yeast interactions in multi-starter wine fermentation. *Curr Opin Food Sci* 1: 1–6.
62. Ciani M., Morales P., Comitini F., Tronchoni J., Canonico L., Curiel J.A., Oro L., Rodrigues A.J., Gonzalez R., 2016b, Non-conventional yeast species for lowering ethanol content of wines. *Front Microbiol* 7: 642. doi:10.3389/fmicb.2016.00642.

63. Cheynier V, Trousdale E, Singleton V.L., Salgues M., Wylde R., 1986, Characterization of 2-S-glutathionyl caffeic acid and its hydrolysis in relation to grape wines. *J Food Sci* 34: 217–221.
64. Cheynier V, Souquet J.M., Moutounet M., 1989, Glutathione content and glutathione to hydroxycinnamic acid ratio in *Vitis vinifera* grapes and musts. *Am J Enol Vitic* 40: 320–324.
65. Cheynier V., 2006, Flavonoids in wine. In: Anderson Ø.M., Markham K.R. (eds), *Flavonoids chemistry, biochemistry and applications*. CRC Taylor & Francis Group, Boca Raton, 263–318.
66. Claisse O., Lonvaud-Funel A., 2012, Development of a multilocus variable number of tandem repeat typing method for *Oenococcus oeni*. *Food Microbiol* 30: 340–347.
67. Claisse O, Lonvaud-Funel A., 2014, Multiplex variable number of tandem repeats for *Oenococcus oeni* and applications. *Food Microbiol* 38: 80–86.
68. Clemente-Jimenez J.M., Mingorance-Carzola L., Martinez-Rodriguez S., Las Heras-Vazquez F.J., Rodriguez-Vico F., 2004, Molecular characterization and oenological properties of wine yeasts 88 L.F. Bisson et al. isolated during spontaneous fermentation of six varieties of grape must. *Food Microbiol* 21: 149–155.
69. Cola G, Mariani L, Maghradze D, Failla O., 2019, Changes in thermal resources and limitations for Georgian viticulture, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 26, 1, 29-40.
70. Combina M, Mercado L, Borgo P, Elia A, Joofre V, Ganga A, Martinez C., Catania C., 2005, Yeasts associated to Malbec grape berries from Mendoza, Argentina. *J Appl Microbiol* 98: 1055–1061.
71. Combina M., Perez Torrado R., Tronchoni J, Belloch C., Querol A., 2012, Genome-wide gene expression of a natural hybrid between *Saccharomyces cerevisiae* and *S. kudriavzevii* under enological conditions. *Int J Food Microbiol* 157: 340–345.
72. Comitini F., Gobbi M., Domizio P., Romani C., Lencioni L., Mannazzu I., Ciani M., 2011, Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol* 28: 873–882.
73. Comitini F., Capece A., Ciani M., Romano P., 2017, New insights on the use of wine yeasts. *Curr Opin Food Sci* 13: 44–49.
74. Contreras A., Hidalgo C., Schmidt S., Henschke P.A., Curtin C., Varela C., 2015b, The application of non- *Saccharomyces* yeast in fermentations with limited aeration as a strategy for the production of wine with reduced alcohol content. *Int J Food Microbiol* 205: 7–15.
75. Cordero-Bueso G., Esteve-Zaroso B., Cabellos J.M., Gil-Diaz M., Arroyo T., 2013, Biotechnological potential of non-*Saccharomyces* yeasts isolated during spontaneous fermentations of Malvar, *Vitis vinifera* cv. L.) *Eur Food Res Technol* 25: 193–207.
76. Cornelis van Leeuwen, Philippe Darriet, 2016, The Impact of Climate Change on Viticulture and Wine Quality, *Journal of Wine Economics*, 10.1017/jwe.2015.21, 11 (1), 150–167.
77. Cornelis van Leeuwen, Benjamin Bois, 2018, Update in unified terroir zoning methodologies, *E3S Web of Conferences*, 10.1051/e3sconf/20185001044, 50 (01044).
78. Costello P.J., Henschke P.A., 2002, Mousy off-flavor of wine: precursors and biosynthesis of the causative n-heterocycles 2-ethyltetrahydropyridine, 2-acetyltetrahydropyridine, and 2-acetyl-1-pyrroline by *Lactobacillus hilgardii* DSM 20176. *J Agric Food Chem* 50: 7079–7087.
79. Cray J.A., Bell A.N., Bhaganna P, Mswaka A.Y., Timson D.J., Hallsworth J.E., 2013, The biology of habitat dominance; can microbes behave as weeds? *Microbial Biotechnol* 6: 453–492.
80. Crowl E.A., Guymon M.F., 1975, Wine constituents arising from sorbic acid addition, and identification of 2-ethoxyhexa-3,5-diene as source of geranium-like off-odor. *Am J Enol Viticult* 26: 97–102.

81. Danilewicz J. C., 2007, Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine model system: Central role of iron and copper. *Am. J. Enol. Vitic.* 58, 53–60.
82. Davaux F., Synthèse des travaux effectués sur 5 ans par l'IFV Sud-Ouest sur le Fer Servadou et l'IBMP. Institut Français de la Vigne et du Vin, 2005.
83. De Ullivarri M.F., Mendoza L.M., Raya R.R., 2014, Killer activity of *Saccharomyces cerevisiae* strains: partial characterization and strategies to improve the biocontrol efficacy in winemaking. *Antonie Van Leeuwenhoek* 106: 865–878.
84. De Vuyst L., Vandamme E.J., 1994, Bacteriocins of lactic acid bacteria: Microbiology, genetics and applications. Blackie, London.
85. Di Maio S., Genna G., Gandolfo V., Amore G., Ciaccio M., Oliva D., 2012, Presence of *Candida zemplinina* in sicilian musts and selection of a strain for wine mixed fermentations. *S Afr J Enol Vitic* 33: 80–87.
86. Dittrich H.H., Großmann M., 2005, *Mikrobiologie des Weines*, 3rd ed. Ulmer, Stuttgart.
87. Dittrich H.H., Großmann M., 2011, *Mikrobiologie des Weines*, 4th edn. Ulmer, Stuttgart.
88. Divol B., du Toit M., Duckitt E., 2012, Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts. *Appl Microbiol Biotechnol* 95(3): 601–613.
89. Domizio P., Romani C., Lencioni L., Comitini F., Gobbi M., Mannazzu I., Ciani M., 2011, Outlining a future for non-*Saccharomyces* yeasts: selection of putative spoilage wine strains to be used in association with *Saccharomyces cerevisiae* for grape juice fermentation. *Int J Food Microbiol* 147: 170–180.
90. Domizio P., Liu Y., Bisson L.F., Barile D., 2014, Use of non-*Saccharomyces* wine yeasts as novel sources of mannoproteins in wine. *Food Microbiol* 43: 5–15.
91. Domizio P., Liu Y., Bisson L.F., Barile D., 2017, Cell wall polysaccharides released during the alcoholic fermentation by *Schizosaccharomyces pombe* and *S. japonicus*: quantification and characterization. *Food Microbiol* 61: 136–149.
92. Drozdz`l, Makarewicz M., Sroka P., Satora P., Jankowski P., 2015, Comparison of the yeast microbiota of different varieties of cool-climate grapes by PCR-RAPD. *Potravinarstvo* 1: 293–298.
93. Drysdale G.S., Fleet G.H., 1988, Acetic acid bacteria in winemaking: A Review. *Am J Enol Vitic* 39: 143–154.
94. Dubois P.J., 1983, Volatile phenols in wine. In *Flavour of Distilled Beverages* (ed. J.R. Piggott). Soc. Chem. Ind., London.
95. Dupuch V. Maturité phenolique et la date de récolte: les apports de la méthode CASV, 1998. Доступно по адресу: http://www.vigvein-sudouest.com/publications/itv-colloque/documents/COLLOQUE_Methode-CASV_Dupuch.pdf
96. Duran K., Korteland J., Beemer F.A., Heiden C.V.D., de Bree P.K., Brink M., Wadman S.K., 1979, Variability of sulfuturia: Combined deficiency of sulfite oxidase and xanthine oxidase. In: *Models for the Study of Inborn Errors of Metabolism*, F. A. Hommes (ed.), 103–107. Elsevier, Amsterdam.
97. Du Toit W.J., Lambrechts M.G., 2002, The enumeration and identification of acetic acid bacteria from South African red wine fermentations. *Int J Food Microbiol* 74: 57–64.
98. Du Toit W.J., Pretorius I.J., 2002, The occurrence, control and esoteric effect of acetic acid bacteria in winemaking. *Ann Microbiol* 52: 155–179.
99. Du Toit W.J., Pretorius I.J., Lonvaud-Funel A., 2005, The effect of sulphur dioxide and oxygen on the viability and culturability of a strain of *Acetobacter pasteurianus* and a strain of *Brettanomyces bruxellensis* isolated from wine. *J Appl Microbiol* 98: 862–871.
100. Du Toit J.W., Lisjak K., Stander M., Prevoo D., 2007, Using LC-MSMS to assess glutathione levels in South African white grape juices and wines made with different levels of oxygen. *J Agric Food Chem* 55: 2765–2769.
101. Du Toit M., Engelbrecht L., Lerm E., Krieger-Weber S., 2011, *Lactobacillus*: the next generation of malolactic fermentation starter cultures – an overview. *Food Bioprocess Technol* 4: 876–906.

102. Egli C.M., Edinger W.D., Mitrakul C.M., Henick-Kling T., 1998, Dynamics of indigenous and inoculated yeast populations and their effect on the sensory character of Riesling and Chardonnay wines. *J Appl Microbiol* 85:779–789
103. Fleet G.H., Heard G.M., 1993, Yeasts – growth during fermentation. In: Fleet G.H. (ed), *Wine microbiology and biotechnology*. Harwood Assoc Press, Australia, 27–54.
104. Embs R.J., Markakis P., 1965, The mechanism of sulfite inhibition of browning caused by polyphenol oxidase. *J. Food Sci.* 30, 753–758.
105. Englezos V., Rantsiou K., Torchio F., Rolle L., Gerbi V., Cocolin L., 2015, Exploitation of the non-Saccharomyces yeast *Starmerella bacillaris* (synonym *Candida zemplinina*) in wine fermentation: physiological and molecular characterizations. *Int J Food Microbiol*, 199: 33–40.
106. Englezos V., Rantsiou K., Cravero F., Torchio F., Ortiz-Julien A., Gerbi V., Rolle L., Cocolin L., 2016a, *Starmerella bacillaris* and *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermentations to reduce ethanol content in wine. *Appl Microbiol Biotechnol* 100: 5515–5526.
107. Englezos V., Torchio F., Cravero F., Marengo F., Giacosa S., Gerbi V., Rantsiou K., Rolle L., Cocolin L., 2016b, Aroma profile and composition of Barbera wines obtained by mixed fermentations of *Starmerella bacillaris* (synonym *Candida zemplinina*) and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Sci Technol* 73: 567–575.
108. Ery C., Raoult P., Alais A., Butterlin G., Delobel P., Matel-Radd R., Casaregola S., Legras J.-L., 2012, Ecological success of a group of *Saccharomyces cerevisiae*/*Saccharomyces kudriavzevii* hybrids in the northern European winemaking environment. *Appl Environ Microbiol* 78: 3256–3265.
109. Farhana R. Pinu, Sergey Tumanov, Claire Grose, Victoria Raw, Abby Albright, Lily Stuart, Silas G. Villas-Boas, Damian Martin, Roger Harker and Marc Greven, Juice Index: an integrated Sauvignon blanc grape and wine metabolomics database shows mainly seasonal differences, *Metabolomics*, 10.1007/s11306-018-1469-y, 15, 1, 2019.
110. Francesca N., Gaglio R., Alfonso A., Settanni L., Corona O., Mazzei P., Romano R., Piccolo A., Moschetti G., 2016, The wine: typicality or mere diversity? The effect of spontaneous fermentations and biotic factors on the characteristics of wine. *Agric Sci Proc* 8: 769–773.
111. Fleet G.H., 1993 (ed.), *Wine microbiology and biotechnology*. Harwood Academic, Chur.
112. Fleet G.H., 2001, Wine. In: Doyle M.P., Beuchat L.R., Montville T.J. (eds), *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*, 2nd ed. ASM Press, Washington, DC, 267–288.
113. Fleet G.H., 2007, Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety. *Curr Opin Biotechnol* 18: 170–175.
114. Francesca N., Gaglio R., Alfonso A., Settanni L., Corona O., Mazzei P., Romano R., Piccolo A., Moschetti G., 2016, The wine: typicality or mere diversity? The effect of spontaneous fermentations and biotic factors on the characteristics of wine. *Agric Sci Proc* 8: 769–773.
115. Fras P., Campos F.M., Hogg T., Couto J.A., 2014, Production of volatile phenols by *Lactobacillus plantarum* in wine conditions. *Biotechnol Lett* 36: 281–285.
116. Friedel M., Frotscher J., Nitsch M., Hofmann M., Bogs J., Stoll M., Dietrich H., 2016, Light promotes expression of monoterpene and flavonol metabolic genes and enhances flavour of winegrape berries (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling). *Aust J Grape Wine Res* 22: 409–421.
117. Frost R., Quinones I., Veldhuizen M., Alava J.I., Small D., Carreiras M., 2015, What can the brain teach us about winemaking? An fMRI study of alcohol level preferences. *PLoS One* 10(3): e0119220.
118. Fugelsang K.C., Edwards C.G., 2007, *Wine microbiology. Practical applications and procedures*. Springer, Heidelberg.
119. Fukuda K., Yamamoto N., Kiyokawa Y., Yanagiuchi T., Wakai Y., Kitamoto K., Inoue Y., Kimura A., 1998, Balance of activities of alcohol acetyltransferase and esterase in *Saccharomyces cerevisiae* is important for production of isoamyl acetate. *Appl Environ Microbiol* 64: 4076–4078.

120. Galindro Anibal, Ana Alexandra Marta-Costa, Adelaide Cerveira, João Matias, 2018, A climate index proposal for the wine sector: a descriptive statistical approach, E3S Web of Conferences, 10.1051/e3sconf/20185001028, 50 (01028).
121. Gamero A., Hernandez-Orte P., Querol A., Ferreira V., 2011, Effect of aromatic precursor addition to wine fermentations carried out with different *Saccharomyces* species and their hybrids. *Int J Food Microbiol* 147: 33–44.
122. Gamero A., Tronchoni J., Querol A., Belloch C., 2013, Production of aroma compounds by cryotolerant *Saccharomyces* species and hybrids at low and moderate fermentation temperatures. *J Appl Microbiol* 114: 1405–1414.
123. Garrido J., Borges F., 2013, Wine and grape polyphenols – a chemical perspective. *Food Res Int* 54: 1844–1858.
124. Garrity G.M. (ed.), 2005, *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2nd ed., vol. 2. The proteo bacteria. Part A. Introductory essays. Appendix 2: Taxonomic outline of Archaea and Bacteria. Springer, Heidelberg, 207–220.
125. Garcia-Ruiz A., Gonzalez-Rompinelli E.M., Bartolome B., Moreno-Arribas M.V., 2011a, Potential of wine-associated lactic acid bacteria to degrade biogenic amines. *Int J Food Microbiol* 148: 115–120.
126. Garcia-Ruiz A., Moreno-Arribas M.V., Martin-Alvarez P.J., Bartolome B., 2011b, Comparative study of the inhibitory effects of wine polyphenols on the growth of enological lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 145: 426–431.
127. Garcia-Ruiz A., Gonzalez de Llano D., Esteban-Fernandez A., Requena T., Bartolome B., Moreno-Arribas M.V., 2014, Assessment of probiotic properties in lactic acid bacteria isolated from wine. *Food Microbiol* 44: 220–225.
128. Garijo P., Santamaria P., Lopez R., Sanz S., Olarte C., Gutierrez A.R., 2008, The occurrence of fungi, yeasts and bacteria in the air of a Spanish winery during vintage. *Int J Food Microbiol* 125: 141–145.
129. Garijo P., Lopez R., Santamaria P., Oco'n E., Olarte C., Sanz S., Gutierrez A.R., 2009, Presence of lactic acid bacteria in the air of a winery during the vinification period. *Int J Food Microbiol* 136: 142–146.
130. Garofalo C., Tristezza M., Grieco F., Spano G., Capozzi V., 2016, From grape berries to wine: population dynamics of clusturable yeasts associated to «Nero di Troica» autochthonous grape cultivar. *World J Microbiol Biotechnol* 32:59. doi:10.1007/s11274-0416-2017-4.
131. Gasch A.P., Payseur B.A., Pool J.E., 2015, The power of natural variation for model organism biology. *Trends Genet* 32:147. doi:10.1016/j.tig.2015.12.0003.
132. Gawel R., Waters E.J., 2008, The effect of glycerol on the perceived viscosity of dry white table wine. *J Wine Res* 19: 109–114.
133. Glories Y., Augustin M., Maturité phénolique du raisin, conséquences technologiques: application aux millésimes 1991 et 1992 // Actes du colloque: Journée technique du CIVB. Bordeaux, 21 janvier, 56–61
134. Gobbi M., De Vero L., Solieri L., Comitini F., Oro L., Giudici P., 2014) Fermentative aptitude of non-*Saccharomyces* wine yeast for reduction in the ethanol content in wine. *Eur Food Res Technol* 239:41–48.
135. Gonzalez A., Hierro N., Poblet M., Mas A., Guillamon J.M., 2005, Application of molecular methods to demonstrate species and strain evolution of acetic acid bacteria population during wine production. *Int J Food Microbiol* 102: 295–304.
136. Gonzalez S.S., Barrio E., Gafner J., Querol A., 2006, Natural hybrids from *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus* and *Saccharomyces kudriavzevii* in wine fermentations. *FEMS Yeast Res* 6: 1221–1234.
137. Gonzalez S.S., Barrio E., Querol A., 2008, Molecular characterization of new natural hybrids of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces kudriavzevii* in brewing. *Appl Environ Microbiol* 74: 2314–2320.
138. Gonzalez-Pombo P., Farina L., Carrau F., Batista-Viera F., Brena B.M., 2011, A novel extracellular β -glucosidase from *Issatchenkia terricola*: isolation, immobilization and application for aroma enhancement of white Muscat wine. *Process Biochem* 46: 385–389.

139. Gonzalez-Arenzana L., Santamaria P., Lopez R., Tenorio C., Lopez-Alfaro I., 2012, Ecology of indigenous lactic acid bacteria along different winemaking processes of Tempranillo red wine from La Rioja., Spain). *Sci World J* 2012: 796327.
140. Gonzalez R., Quiros M., Morales P., 2013, Yeast respiration of sugars by non-Saccharomyces yeast species: a promising and barely explored approach to lowering alcohol content of wines. *Trends Food Sci Technol* 29: 55–61.
141. Gonzalez C.V., Fanzone M.L., Cortes L.E., Bottini R., Lijavetzky D.C., Ballare C.L., Boccalandro H.E., 2015, Fruit-localized photoreceptors increase phenolic compounds in berry skins of fieldgrown *Vitis vinifera* L. cv. Malbec. *Phytochemistry* 110: 46–57.
142. Guillamon J.M., Gonzalez A., Poblet M., Mas A., 2002, Development of molecular techniques for the analysis of acetic acid bacteria in winemaking. In: *Yeast–Bacteria Interactions*. Lallemand Technical Meetings, 10. Lallemand, SA, 45–49.
143. Gutierrez A.R., Santamaria P., Epifanio S., Garijo P., Lopez R., 1999, Ecology of spontaneous fermentation in one winery during 5 consecutive years. *Lett Appl Microbiol* 29: 411–415.
144. Haas D., Gallier H., Habib J., Melkes A., Schlacher R., Buzina W., Friedl H., Martin E., Reinthaler F.F., 2010, Concentrations of viable airborne fungal spores and trichloroanisoole in wine cellars. *Int J Food Microbiol* 144: 126–132.
145. Hallinan P., Saul D.J., Jiranek V., 1999, Differential utilisation of sulphur compounds for H₂S liberation by nitrogen by nitrogen-starved wine yeasts. *Aus J Grape Wine Res* 5: 82–90.
146. Hammes W.P., Weis N., Holzapfel W.P., 1991, The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In: Balows A., Trüper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K.H. (eds), *The prokaryotes*, 2nd ed. Springer, New York, 1535–1594.
147. Harborne J.B., 1988, *The flavonoids*. Chapman & Hall, London.
148. Helmut König, Gottfried Uden, Jürgen Frohlich, 2017, *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, 2nd ed. Springer International Publishing AG.
149. Henick-Kling T., 1993, Malolactic fermentation. In: Fleet G.H. (ed) *Wine microbiology and biotechnology*. Harwood Academic, Amsterdam, 289–326.
150. Henick-Kling T., Edinger W., Daniel P., Monk P., 1998, Selective effects of sulfur dioxide and yeast starter culture addition on indigenous yeast populations and sensory characteristics of wine. *J Appl Microbiol* 84: 865–876.
151. Heresztyn T., 1986, Formation of substituted tetrahydropyridines by species of *Brettanomyces* and *Lactobacillus* isolated from mousy wines. *Am J Enol Viticult* 37: 127–132.
152. Hernandez-Orte P., Cersosimo M., Loscos N., Cacho J., Garcia-Moruno E., Ferreira V., 2008, The development of varietal aroma from non-floral grapes by yeasts of different genera. *Food Chem* 107: 1064–1077.
153. Hierro N., Gonzalez A., Mas A., Guillamon J.M., 2006, Diversity and evolution of non-Saccharomyces yeast populations during wine fermentation: effect of grape ripeness and cold maceration. *FEMS Yeast Res* 6: 102–111.
154. Hötzel D., Muskat E., Bitsch I., Aign W., Althoff J.-D., Gremer, H.D., 1969, Thiamin-Mangel und Unbedenklichkeit von Sulfid für den Menschen. *Int. Z. Vitaminforsch.* 39, 372–383.
155. Hosry L.E., Auezova L., Sakr A., Hajj-Moussa E., 2009, Browning susceptibility of white wine and antioxidant effect of glutathione. *Int J Food Sci Technol* 44: 2459–2463.
156. Hufnagel J.C., Hofmann T., 2008, Quantitative reconstruction of the nonvolatile sensometabolome of a red wine. *J Agric Food Chem* 56: 9190–9199.
157. Ivey M., Massel M., Phister T.G., 2013, Microbial interactions in food fermentations. *Annu Rev Food Sci Technol* 4: 141–162.
158. Ignacio Morales-Castilla, Iñaki García de Cortázar-Atauri, Benjamin I. Cook, Thierry Lacombe, Amber Parker, Cornelis van Leeuwen, Kimberly A. Nicholas, Elizabeth M. Wolkovich, 2020, Diversity buffers winegrowing regions from climate change losses, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 10.1073/pnas.1906731117 (201906731).

159. Jara C., Laurie V.F., Mas A., Romero J., 2016, Microbial terroir in Chilean valleys: diversity of non-conventional yeast. *Front Microbiol* 7: 663. doi:10.3389/fmicb.2016.00663.
160. Jarvis C., Darbyshire R., Goodwin I., Barlow E.W.R., Eckard R., 2018, Advancement of winegrape maturity continuing for winegrowing regions in Australia with variable evidence of compression of the harvest period, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 25, 1, 101-108.
161. Jeffrey A. Stuart, Ellen L. Robb., 2013, *Bioactive Polyphenols from Wine Grapes*. Springer New York, Heidelberg Dordrecht London, Library of Congress Control Number: 2013934545.
162. Jiranek V., Langridge P., Henschke P.A., 1995a, Amino acid and ammonium utilization by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts from a chemically defined medium. *Am J Enol Vitic* 46: 75–83.
163. Jiranek V., Langridge P., Henschke P.A., 1995b, Regulation of hydrogen sulfide liberation in wineproducing *Saccharomyces cerevisiae* strains by assimilable nitrogen. *J Appl Environ Microbiol* 61: 461–467.
164. João A. Santos, Ricardo Costa, Helder Fraga, 2018, New insights into thermal growing conditions of Portuguese grapevine varieties under changing climates, *Theoretical and Applied Climatology*, 10.1007/s00704-018-2443-3.
165. Joly Nicolas. *Wine from Sky to Earth: Growing & Appreciating Biodynamic Wine*, 2005, 2nd edition.
166. Jolly N.P., Varela C., Pretorius I.S., 2013, Not your ordinary yeast; non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res* 14: 215–237.
167. Juan Moreno, Rafael Peinado, 2012, *Enological Chemistry* DOI: 10.1016/B978-0-12-388438-1.00009-1 121. Elsevier Inc.
168. Juega M., Nunez Y.P., Carrascosa A.V., Martinez-Rodriguez A.J., 2012, Influence of yeast mannoproteins in the aroma improvement of white wines. *J Food Sci* 77: M499–M504.
169. Keller Markus, 2010, *The science of grapevines*. Academic Press, Burlington. Library of Congress QK495.V55 K44 2010.
170. Keller M., 2020, Phenology and growth cycle, *The Science of Grapevines*, 10.1016/B978-0-12-816365-8.00002-6, 61-103.
171. Kliewer W.M., 1967, The glucose-fructose ratio of *Vitis vinifera* grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 18, 33–41.
172. Kliewer W.M., 1971, Effect of day temperature and light intensity on concentration of malic and tartaric acids in *Vitis vinifera* L. grapes. *J. Am. Sci. Hortic. Sci.* 96, 372–377.
173. Kockova-Kratochvilova A., 1990, *Yeasts and yeast-like organisms*. VCH Verlagsgesellschaft –Weinheim, New York, 216–217.
174. Kritzinger E.C., Bauer F.F., du Toit W.J., 2013a, Influence of yeast strain, extended lees contact and nitrogen supplementation on glutathione concentration in wine. *Aust J Grape Wine Res* 19: 161–170.
175. Kritzinger E.C., Bauer F.F., du Toit W.J., 2013b, Role of glutathione in winemaking: a review. *J Agric Food Chem* 61: 269–277.
176. Kinzurik M.I., Herbst-Johnstone M., Gardner R.C., Fedrizzi B., 2016, Hydrogen sulfide production during yeast fermentation causes the accumulation of ethanethiol, S-ethyl thioacetate and diethyl disulfide. *Food Chem* 209: 341–347.
177. Kinzurik M.I., Ly K., David K.M., Gardner R.C., Fedrizzi B., 2017, The GLO1 gene is required for full activity of O-acetyl homoserine sulfhydrylase encoded by MET17. *ACS Chem Biol* 12(2): 414–421.
178. Lafon-Lafourcade S., Carre E., Ribéreau-Gayon P., 1983, Occurrence of lactic acid bacteria during the different stages of vinification and conservation of wines. *Appl Environ Microbiol* 46: 874–880.
179. Lahtinen S., Ouwehand A.-C., Salminen S., von Wright A. (eds), 2012, *Lactic acid bacteria. Microbial and functional aspects*, 4th edn. CRC Press, Boca Raton.
180. Landete J.M., Ferrer S., Pardo I., 2005, Which lactic acid bacteria are responsible for histamine production in wine? *J Appl Microbiol* 99: 580–586.

181. Larsen J.T., Nielsen J.C., Kramp B., Richelieu M., Riisager M.J., Arneborg N., Edwards C.C., 2003, Impact of different strains of *Saccharomyces cerevisiae* on malolactic fermentation by *Oenococcus oeni*. *Am J Enol Vitic* 54: 246–251.
182. Lavigne-Cruege V., Dubourdieu D., 2002, Role of glutathione on development of aroma defects in dry white wines. In: 13th International enology symposium, management and wine marketing, Montpellier, Proceedings (Troguis H., Gafner J., Sütterlin A., eds. International Association of Enology, Management and Wine Marketing, Breisach Germany, TS Verlag, Neuenburg a. Rhein, 331–347).
183. Lavigne V., Pons A., Dubourdieu D., 2007, Assay of glutathione in must and wines using capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence detection – changes in concentration in dry white wines during alcoholic fermentation and aging. *J Chromatogr A* 1139: 130–135.
184. Laure de Ressaéguier, Renan Le Roux, Théo Petitjean, Séverine Mary, Hervé Quénel, Cornelis van Leeuwen, 2018, Variability of climate, water and nitrogen status and its influence on vine phenology and grape composition inside a small winegrowing estate, E3S Web of Conferences, 10.1051/e3sconf/20185001016, 50 (01016).
185. Linderholm A.L., Findleton C.L., Kumar G., Hong Y., Bisson L.F., 2008, Identification of genes affecting hydrogen sulphide formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol* 74(5): 1418–1427.
186. Liu P.-T., Lu L., Duan C.-Q., Yan G.-L., 2016, The contribution of indigenous non-*Saccharomyces* wine yeast to improved aromatic quality of Cabernet Sauvignon wines by spontaneous fermentation. *Food Sci Technol* 71: 356–363.
187. Lleixa J., Martín V., del Portillo M.C., Carrau F., Beltran G., Mas A., 2016, Comparison of fermentation and wines produced by inoculation with *Hanseniaspora vineae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Front Microbiol* 7:338. doi:10.3389/fmicb.2016.00338.
188. Lonvaud-Funel A., Joyeux A., Desens C., 1988, Inhibition of malolactic fermentation of wines by products of yeast metabolism. *J Sci Food Agric* 44: 183–191.
189. Lopandic K., Pfliegler W., Tiefenbrunner W., Gangl H., Sipiczki M., Sterflinger K., 2016, Genotypic and phenotypic evolution of yeast interspecies hybrids during high sugar fermentation. *Microbiol Biotechnol* 100:6331–6343.
190. Lopez-Rituerto E., Avenoza A., Busto J.H., Peregrina J.M., 2013, NMR study of histidine metabolism during alcoholic and malolactic fermentations of wine and their influence on histamine production. *J Agric Food Chem* 61:9464–9469.
191. Lopez S., Mateo J.J., Maicas S., 2014, Characterisation of *Hanseniaspora* isolates with potential aroma-enhancing properties in Muscat wines. *S Afr J Enol Vitic* 35: 292–303.
192. Magyar I., 2011, Chapter 6 – botrytized wines. *Adv Food Nutr Res* 63: 147–206.
193. Magyar I., Toth T., 2011, Comparative evaluation of some oenological properties in wine strains of *Candida stellata*, *Candida zemplinina*, *Saccharomyces uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol* 28: 94–100.
194. Magwene P.M., 2014, Revisiting Mortimer’s genome renewal hypothesis: heterozygosity, homothallism, and the potential for adaptation in yeast. In: Landry CR, Aubin-Horth A. (eds), *Ecological genomics: ecology of genes and genomes*. Springer, Heidelberg, 37–48.
195. Mangani S., Guerrini S., Granchi L., Vincenzini M., 2005, Putrescine accumulation in wine: role of *Oenococcus oeni*. *Curr Microbiol* 51: 6–10.
196. Margalef-Catala M., Araque I., Bordons A., Reguant C., Bautista-Gallego J., 2016, Transcriptomic and proteomic analysis of *Oenococcus oeni* adaptation to wine stress conditions. *Front Microbiol* 7:1554. doi:10.3389/fmicb.2016.01554.
197. Martini A., 2003, Biotechnology of natural and winery-associated strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Int Microbiol* 6: 207–209.
198. Marsit S., Dequin S., 2015, Diversity and adaptive evolution of *Saccharomyces* wine yeast: a review. *FEMS Yeast Res* 15:fov067. doi:10.1093/femsyr/fov067.

199. Mateo E., Torija M.J., Mas A., Bartowsky E.J., 2014, Acetic acid bacteria isolated from grapes of South Australian vineyards. *Int J Food Microbiol* 178: 98–106.
200. Matern U., Grimmig B., 1993, Polyphenols in plant pathology. In: Scalbert A. (ed), Polyphenolic phenomena. INRA editions, Paris, 143–147.
201. Maturano Y.P., Mestre M.V., Esteve-Zarzoso B., Nally M.C., Lerena M.C., Toro M.E., Vazquez F., Combina M., 2015, Yeast population dynamics during prefermentative cold soak of Cabernet Sauvignon and Malbec wines. *Int J Food Microbiol* 199: 23–32.
202. Maujean A., 2001, La chimie du soufre dans les moûts et les vins. *J Int Sci Vigne Vin* 35: 171–194.
203. Medina K., Boido E., Farina L., Dellacassa E., Carrau F., 2016, Non-Saccharomyces and Saccharomyces strains co-fermentation increases acetaldehyde accumulation effect on anthocyanin-derived pigments in Tannat red wines. *Yeast* 33: 339–343.
204. Medina K., Carrau F.M., Giogia O., Bracesco N., 1997, Nitrogen availability of grape juice limits killer yeast growth and fermentation activity during mixed-culture fermentation with sensitive commercial yeast strains. *Appl Environ Microbiol* 63: 2821–2825.
205. Meggio F., Pitacco A., 2019, Partitioning of seasonal aboveground biomass of four vineyard-grown varieties: Development of a modelling framework to infer temperature-rate response functions, *Scientia Horticulturae*, 10.1016/j.scienta.2019.108796, 258 (108796).
206. Mehdi K., Penninckx M.J., 1997, An important role for glutathione and γ -glutamylpeptidase in the supply of growth requirements during nitrogen starvation of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology* 143: 1885–1889.
207. Mercado L., Dalcerio A., Masuelli R., Combina M., 2004, Diversity of *Saccharomyces* strains on grapes and winery surfaces: analysis of their contribution to fermentative flora of Malbec wine from Mendoza (Argentina) during two consecutive years. *Food Microbiol* 24: 403–412.
208. Metraux J.-P., Lamodièrre E., Catinot J., Lamotte O., Garcion C., 2008, Salicylic acid and induced plant defenses (In: Daayf F., Lattanzio V., eds), Recent advances in polyphenol research, vol 1. Wiley-Blackwell, Oxford, 202–210.
209. Mezzetti F., De Vero L., Giudici P., 2014, Evolved *Saccharomyces cerevisiae* wine strains with enhanced glutathione production obtained by an evolution – based strategy. *FEMS Yeast Res* 14: 977–987.
210. Millet V., Lonvaud-Funel A., 2000, The viable but non-culturable state of wine microorganisms during storage. *Lett Appl Microbiol* 30: 126–141.
211. Monagas M., Bartolome B., Gomez-Cordoves C., 2005, Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45: 85–118.
212. Morales P., Rojas V., Quiros M., Gonzalez R., 2015, The impact of oxygen on the final alcohol content of wine fermented by a mixed starter culture. *Appl Microbiol Biotechnol* 99: 3993–4003.
213. Moreira N., Mendes F., Guedes de Pinho P., Hogg T., Vasconcelos I., 2008, Heavy sulphur compounds, higher alcohols and esters production profile of *Hanseniaspora uvarum* and *Hanseniaspora guilliermondii* grown as pure and mixed cultures in grape must. *Int J Food Microbiol* 124: 231–238.
214. Mosedale Jonathan R., Abernethy Kirsten E., Smart Richard E., Wilson Robert J., Maclean Ilya M. D., 2016, Climate change impacts and adaptive strategies: lessons from the grapevine, *Global Change Biology*, 22, 11, 3814–3828.
215. Musmanno R.A., Di Maggio T., Coratza G., 1999, Studies on strong and weak killer phenotypes of wine yeasts: production, activity of toxin in must, and its effect in mixed culture fermentation. *J Appl Microbiol* 87: 932–938.
216. Mounir M., Shafiei R., Zarmehrkhorshid R., Hamouda A., Ismaili Alaoui M., Thonart P., 2016, Simultaneous production of acetic and gluconic acids by a thermotolerant *Acetobacter* strain during acetous fermentation in a bioreactor. *J Biosci Bioeng* 121: 166–171.

217. Noble A.C., Bursick G.F., 1984, The contribution of glycerol to perceived viscosity and sweetness in white wine. *Am J Enol Vitic* 35: 110–112.
218. Noe Arroyo-Lopez F., Perez-Traves L., Querol A., Barrio E., 2011, Exclusion of *Saccharomyces kudriavzevii* from a wine model system mediated by *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 28: 423–435.
219. Ocon E., Garijo P., Sanz S., Olarte C., Lopez R., Santamaria P., Gutierrez A.R., 2013, Analysis of airborne yeast in one winery over a period of one year. *Food Control* 30: 585–589.
220. Ortega-Farías S., Riveros-Burgos C., 2019, Modeling phenology of four grapevine cultivars, *Vitis vinifera* L. in Mediterranean climate conditions, *Scientia Horticulturae*, 10.1016/j.scienta.2019.02.025, 250, 38–44.
221. Padilla B., Garcia-Fernandez D., Gonzalez B., Izidora I., Esteve-Zarzoso B., Beltran G., Mas A., 2016a, Yeast biodiversity from DOQ Priorat inoculated fermentations. *Front Microbiol* 7:930.doi:10.3389/fmicb.2016.00930.
222. Padilla B., Gil J.V., Manzanares P., 2016b, Past and future of non-*Saccharomyces* yeasts: From spoilage microorganisms to biotechnological tools for improving wine aroma and complexity. *Front Microbiol* 7:411. doi:10.3389/fmicb.2016.00411.
223. Palacios A., Suárez C., Krieger S., Didier T., Otaño L., Peña F., 2004, Perception by wine drinkers of sensory defects caused by uncontrolled malolactic fermentation. *Proc. XVI es Entretiens Scientifiques Lallemand, Porto*, 45–52.
224. Parage C., Tavares R., Rety S., Baltenweck-Guyot R., Poutaraud A., Renault L., Heintz D., Lugan R., Marais G., Aubourg S., Hugueney P., 2012, Structural, functional and evolutionary analysis of the unusually large stilbene synthase gene family in grapevine (*Vitis vinifera*). *Plant Physiol* 160(5): 1407–1419.
225. Park S.K., Boulton R.B., Noble A.C., 2000a, Formation of hydrogen sulphide and glutathione during fermentation of white grape must. *Am J Enol Vitic* 51(2): 91–97.
226. Park S.K., Boulton R.B., Noble A.C., 2000b, Automated HPLC analysis of glutathione and other volatile thiols in grape musts and wine using pre-column derivatization with fluorescence detection. *Food Chem* 69: 475–480.
227. Parker A.K., Hofmann R.W., Leeuwen C., A.R.G. McLachlan and M.C.T. Trought., 2015, Manipulating the leaf area to fruit mass ratio alters the synchrony of total soluble solids accumulation and titratable acidity of grape berries, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21, 2, 266–276.
228. Parker A.K., I.G. de Cortazar-Atauri, C. Van Leeuwen I. Chuine., 2011, General phenological model to characterise the timing of flowering and veraison of *Vitis vinifera* L.
229. Parker A.K., Iñaki García de Cortázar-Atauri, Laurence Gény, Jean-Laurent Spring, Agnès Destrac, Hans Schultz, Daniel Molitor, Thierry Lacombe, Antonio Graça, Christine Monamy, Manfred Stoll, Paolo Storchi, Mike C.T. Trought, Rainer W. Hofmann, Cornelis van Leeuwen, 2020, Temperature-based grapevine sugar ripeness modelling for a wide range of *Vitis vinifera* L. cultivars, *Agricultural and Forest Meteorology*, 10.1016/j.agrformet.2020.107902, 285–286 (107902).
230. Perez F., Ramirez M., Regodon J.A., 2001, Influence of killer strains of *Saccharomyces cerevisiae* on wine fermentation. *Antonie Van Leeuwenhoek* 79: 393–399.
231. Peris D., Lopes C.A., Belloch L., Querol A., Barrio E., 2012a, Comparative genomics among *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces kudriavzevii* natural hybrid strains isolated from wine and beer reveals different origins. *BMC Genomics* 13: 407.
232. Peris D., Lopes C.A., Arias A., Barrio E., 2012b, Reconstruction of the evolutionary history of *Saccharomyces cerevisiae*? *S. kudriavzevii* hybrids based on multilocus sequence analysis. *PLoS One* 7(9): e45527. doi:10.1371/journal.pone.0045527.
233. Peris D., Belloch C., Lopandic K., Alvares-Perez J.M., Querol A., Barrio E., 2012c, The molecular characterization of new types of *Saccharomyces cerevisiae*? *S. kudriavzevii* hybrid yeast unveils a high genetic diversity. *Yeast* 29: 81–91.
234. Perrone B., Giacosa S., Rolle L., Coccolin L., Rantsiou K., 2013, Investigation of the dominance behavior of *Saccharomyces cerevisiae* strains during wine fermentation. *Int J Food Microbiol* 165: 156–162.

235. Penninckx M.J., 2002, An overview on glutathione in *Saccharomyces* versus non-conventional yeasts. *FEMS Yeast Res* 2: 295–305.
236. Peter J., Schacherer J., 2016, Population genomics of yeasts: towards a comprehensive view across a broad evolutionary scale. *Yeast* 33: 73–81.
237. Piao H., Hawley E., Kopf S., DeScenzo R., Sealock S., Henick-Kling T. et al., 2015, Insights into the bacterial community and its temporal succession during the fermentation of wine grapes. *Front Microbiol* 6: 809.
238. Polizzotto G., Barone E., Ponticello G., Fasciana T., Barbera D., Corona O., Amore G., Giammanco A., Oliva D., 2016, Isolation, identification and oenological characterization of non-*Saccharomyces* yeasts in a Mediterranean island. *Lett Appl Microbiol* 63: 131–138.
239. Pourcel L., Routaboul J.-M., Cheyrier V., Lepiniec L., Debeaujon I., 2006, Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends Plant Sci* 12: 29–36.
240. Pour Nikfardjam M., Gy L., Dietrich H., 2006b, Resveratrol-derivatives and antioxidative capacity in wines made from botrytized grapes. *Food Chem* 96: 74–79.
241. Pozo-Bayon M.A., Andujar-Ortiz I., Moreno-Arribas M.V., 2009a, scientific evidences beyond the application of inactive dry yeast preparations in winemaking. *Food Res Int* 42: 754–761.
242. Pozo-Bayon M.A., Andujar-Ortiz I., Alcaide-Hidalgo J.M., Martin-Alvarez P.J., Moreno-Arribas M.V., 2009b, Characterization of commercial inactive dry yeast preparations for enological use based on their ability to release soluble compounds and their behavior toward aroma compounds in model wines. *J Agric Food Chem* 57: 10784–10792 11, Usage and Formation of Sulphur Compounds, 285.
243. Pozo-Bayon M.A., Andujar-Ortiz I., Moreno-Arribas M.V., 2009c, Volatile profile and potential of inactive dry yeast-based winemaking additives to modify the volatile composition of wines. *J Sci Food Agric* 89: 1665–1673.
244. Prakitchaiwattana C.J., Fleet G.H., Heard G.M., 2004, Application and evaluation of denaturing gradient gel electrophoresis to analyze the yeast ecology of wine grapes. *FEMS Yeast Res* 4: 865–877.
245. Prats-Llinàs Maria Teresa, Héctor Nieto, Theodore M. DeJong, Joan Girona, Jordi Marsal, 2020, Using forced regrowth to manipulate Chardonnay grapevine (*Vitis vinifera* L.) development to evaluate phenological stage responses to temperature, *Scientia Horticulturae*, 10.1016/j.scienta.2019.109065, 262 (109065).
246. Qin X., Xiao H., Xue C., Yu Z., Ynag R., Cai Z., Si L., 2015, Biocontrol of gray mold in grapes with the yeast *Hanseniaspora uvarum* alone and in combination with salicylic acid or sodium bicarbonate. *Postharvest Biol Technol* 100: 160–167.
247. Quiros M., Rojas V., Gonzalez R., Morales P., 2014, Selection of non-*Saccharomyces* yeast strains for reducing alcohol levels in wine by sugar respiration. *Int J Food Microbiol* 181: 85–91.
248. Ramakrishnan V., Walker G.A., Fan Q., Ogawa M., Luo Y., Luong P., Joseph C.M.L., Bisson L.F., 2016, Inter-kingdom modification of metabolic behavior: [GAR +] prion induction in *Saccharomyces cerevisiae* mediated by ecosystem bacteria. *Front Ecol Evol* doi: 10.3389/fevo.2016.00137.
249. Rammelberg M., Radler F., 1990, Antibacterial polypeptides of *Lactobacillus* species. *J Appl Bacteriol* 69: 177–184.
250. Raspor P., Milek D.M., Polanc J., Smole Mozina S., Cadez N., 2006, Yeasts isolated from three varieties of grapes cultivated indifferent locations of the Dolenjska vine-growing region, Slovenia. *Int J Food Microbiol* 109: 97–102.
251. Rauhut D., 1993, Yeasts – production of sulphur compounds. In: Fleet G.H. (ed), *Wine microbiology and biochemistry*. Harwood Academic, Chur, 183–223.
252. Rauhut D., 1996, *Qualitätsmindernde schwefelhaltige Stoffe im Wein. -Vorkommen, Bildung, Beseitigung-*, Dissertation Justus-Liebig-Universität Gießen, Geisenheimer Berichte Band 24, Gesellschaft zur Förderung der Forschungsanstalt Geisenheim (ed).

253. Rauhut D., Shefford P.G., Roll C., Kürbel H., Lohnertz O., 2003, Effect on diverse oenological methods to avoid occurrence of atypical aging and related off-flavours in wine. In: Lonvaud Funel A., de Revel G., Darriet P. (eds), 7th International symposium of oenology, Editions Tec & Doc, Lavoisier, Londres, Paris, 376–379.
254. Renouf V., Falcou M., Miot-Sertier C., Perello M.C., de Revel G., Lonvaud-Funel A., 2006b, Interactions between *Brettanomyces bruxellensis* and the other yeasts species during the first steps of winemaking. *J Appl Microbiol* 100: 1208–1219.
255. Renouf V., Claisse O., Lonvaud-Funel A., 2007, Inventory and monitoring of wine microbial consortia. *Appl Microbiol Biotechnol* 75: 149–164.
256. Renault P., Miot-sertier C., Marullo P., Lagarrigue L., Lonvaud-funel A., Bely M., 2009, Genetic characterization and phenotypic variability in *Torulaspora delbrueckii* species: potential applications in the wine industry. *Int J Food Microbiol* 134: 201–120.
257. Renault P., Coulon J., Moine V., Thibon C., Bely M., 2016, Enhanced 3-Sulfanylhexan-1-ol production in sequential mixed fermentation with *Torulaspora delbrueckii*/*Saccharomyces cerevisiae* reveals a situation of synergistic interaction between two Industrial strains. *Front Microbiol* 7:293. doi:10.3389/fmicb.2016.00293.
258. Рыберо-Гайон Ж., Эмиль Пейно и др., 1979, Теория и практика виноделия. т.2, Характеристика вин. Созревание винограда. Дрожжи и бактерии. М., «Пищевая промышленность».
259. Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., 1964, *Traité D'oenologie*, Tome 1, Maturation du Raisin, Fermentation Alcoolique, Vinification. Dunod, Paris.
260. Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P., 1975, *Traité d'oenologie*. Sciences et Techniques du Vin, Vol. II: Caractère des Vins, Maturation du Raisin. Levures et Bactéries. Dunod, Paris.
261. Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P., 1976, Sciences et Techniques du Vin, Vol. III: Vinification – Transformation du Vin. Dunod, Paris.
262. Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P., 1977, Sciences et Techniques du Vin, Vol. IV: Clarification et Stabilization. Matériaux et Installations, Dunod, Paris.
263. Ribereau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lonvaud A., 2000a, Handbook of enology, The microbiology of wine and vinifications, vol 1. Wiley, Chichester.
264. Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D., 2000b, Handbook of enology, The chemistry of wine stabilisation and treatments, vol. 2. Wiley, Chichester.
265. Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud A., 2006a, Handbook of enology, 2nd ed., vol. 1, The microbiology of wine and vinifications. John Wiley, Chichester.
266. Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D., 2006b, Handbook of Enology. Vol. 2, 2nd ed. The chemistry of wine stabilization and treatment. Vol.1, 2nd ed. John Wiley, Chichester.
267. Richter H., Vlad D., Uden G., 2001, Significance of pantothenate for glucose fermentation by *Oenococcus oeni* and for suppression of the erythritol and acetate production. *Arch Microbiol* 175: 26–31.
268. Renouf V., Falcou M., Miot-Sertier C., Perello M.C., de Revel G., Lonvaud-Funel A., 2006b, Interactions between *Brettanomyces bruxellensis* and the other yeasts species during the first steps of winemaking. *J Appl Microbiol* 100: 1208–1219.
269. Renouf V., Claisse O., Lonvaud-Funel A., 2007, Inventory and monitoring of wine microbial consortia. *Appl Microbiol Biotechnol* 75: 149–164.
270. Robillard B., 2009, *Pratiques de la desoxygénation et d'autres choses*. Institut Oenologique de Champagne.
271. Robinson A.L., Ebeler S.E., Heymann H., Boss P.K., Solomon P.S., Trengove R.D., 2009, Interactions between wine volatile compounds and grape and wine matrix components influence aroma compound headspace partitioning. *J Agric Food Chem* 57: 10313–10322.

272. Robinson H.A., Pinharanda A., Bensasso A., 2016, Summer temperature can predict the distribution of wild yeast populations. *Ecol Evol* 6: 1236–1250.
273. Rocker J., Strub S., Ebert K., Grossmann M., 2016, Usage of different aerobic non-Saccharomyces yeasts and experimental conditions as a tool for reducing the potential ethanol content in wines. *Eur Food Res Technol*. doi:10.1007/s00217-016-2703-3.
274. Rodriguez-Bencomo J.J., Andujar-Ortiz I., Sanchez-Patan F., Moreno-Arribas M.V., Pozo-Bayon M.A., 2016, Fate of the glutathione released from inactive dry yeast preparations during the alcoholic fermentation of white musts. *Aust J Grape Wine Res* 22: 46–51.
275. Rojas V., Gil J.V., Pinaga F., Manzanares P., 2001, Studies on acetate ester production by non-Saccharomyces wine yeasts. *Int J Food Microbiol* 70: 283–289.
276. Rojas V., Gil J.V., Pinaga F., Manzanares P., 2003, Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. *Int J Food Microbiol* 86: 181–188.
277. Ronald S. Jackson PhD, in *Wine Science (Third Edition)*, 2008.
278. Ronald S. Jackson PhD, in *Wine Science (Fourth Edition)*, 2014.
279. Ronald S. Jackson, 2014, Site Selection and Climate, *Wine Science*, 10.1016/B978-0-12-381468-5.00005-1, 307-346.
280. Romani C., Domizio P., Lencioni L., Gobbi M., Comitini F., Ciani M., Mannazu I., 2010, Polysaccharides and glycerol production by non-Saccharomyces wine yeasts in mixed fermentation. *Quad Vitic Enol Univ Torino* 31: 185–189.
281. Rossouw D., Bauer F.F., 2016, Exploring the phenotypic space of non-Saccharomyces wine yeast biodiversity. *Food Microbiol* 55: 32–46.
282. Sabate J., Cano J., Querol A., Guillamon J.M., 1998, Diversity of Saccharomyces strains in wine fermentations: analysis for two consecutive years. *Lett Appl Microbiol* 26 :452–455.
283. Sabel A., Martens S., Petri A., Konig H., Claus H., 2014, *Wickerhamomyces anomalus* ASI: a new strain with potential to improve wine aroma. *Ann Microbiol* 64: 483–491.
284. Sadoudi M., Tourdot-Marechal R., Rousseaux S., Steyer D., Gallardo-Chacon J., Ballester J., Vichi S., Guerin-Schneider R., Caixach J., Alexandre H., 2012, Yeast e yeast interactions revealed by aromatic profile analysis of Sauvignon Blanc wine fermented by single or co-culture of non-Saccharomyces and Saccharomyces yeasts. *Food Microbiol* 32: 243–253.
285. Santamaria P., Lopez R., Lopez E., Garijo P., Gutierrez A.R., 2008, Permanence of yeast inocula in the winery ecosystem and presence in spontaneous fermentations. *Eur Food Res Technol* 227: 1563–1567.
286. Santillán David, Iglesias Ana, Isabelle La Jeunesse, Luis Garrote, Vicente Sotes, 2019, Vineyards in transition: A global assessment of the adaptation needs of grape producing regions under climate change, *Science of The Total Environment*, 10.1016/j.scitotenv.2018.12.079, 657, 839-852.
287. Santos A., Navascues E., Bravo E., Marquina D., 2011, *Ustilago maydis* killer toxin as a new tool for the biocontrol of the wine spoilage yeast *Brettanomyces bruxellensis*. *Int J Food Microbiol* 145: 147–154.
288. Schlegel H.G., 1999, *Geschichte der Mikrobiologie*. Acta Historica Leopoldina, Halle.
289. Schmitt M.J., Neuhausen F., 1994, Killer toxin-secreting double-stranded RNA mycoviruses in the yeasts *Hanseniaspora uvarum* and *Zygosaccharomyces bailii*. *J Virol* 68: 1765–1772.
290. Schmitt M.J., Breinig F., 2006, Yeast viral killer toxins: lethality and self-protection. *Nat Rev Microbiol* 4: 212–221.
291. Schuller D., Alves H., Dequin S., Casal M., 2005, Ecological survey of Saccharomyces cerevisiae strains from vineyards in the Vinho Verde region of Portugal. *FEMS Microbiol Ecol* 51: 167–177.
292. Schütz H., Radler F., 1984a, Propanediol-1,2-dehydratase and metabolism of glycerol of *Lactobacillus brevis*. *Arch Microbiol* 139: 366–370.

293. Sebastian P, Herr P, Fischer U, König H, 2011, Molecular identification of lactic acid bacteria occurring in must and wine. *S Afr J Enol Vitic* 32: 300–309.
294. Setati M.E., Jacobson D., Bauer F.F., 2015, Sequence-based analysis of the *Vitis vinifera* L. cv Cabernet Sauvignon grape must microbiome in three South African vineyards employing distinct agronomic systems. *Front Microbiol* 6:1358. doi:10.3389/fmicb.2015.01358.
295. Singleton V. L., Salgues M., Zaya J., Trousdale E., 1985, Caftaric acid disappearance and conversion to products of enzymic oxidation in grape must and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 36, 50–56.
296. Silva I., Campos F.M., Hogg T., Couto J.A., 2011, Wine phenolic compounds influence the production of volatile phenols by wine-related lactic acid bacteria. *J Appl Microbiol* 111: 360–370.
297. Sipiczki M., 2002, Taxonomic and physiological diversity of *Saccharomyces bayanus*. In: Ciani M. (ed). *Biodiversity and biotechnology of wine yeasts*. Research Signpost, Kerala, 53–69.
298. Shimizu K., 1993, Killer yeast. In: Fleet G.H. (ed). *Wine microbiology and biotechnology*. Harwood Academic, Newark, 243–263.
299. Smith M.E., Bekker M.Z., Smith P.A., Wilkes E.N., 2015, Sources of volatile sulfur compounds in wine. *Aust J Grape Wine Res* 21: 705–712.
300. Soden A, Francis I., Oakey H., Henschke P.A., 2000, Effects of co-fermentation with *Candida stellata* and *Saccharomyces cerevisiae* on the aroma and composition of Chardonnay wine. *Aust J Grape Wine Res* 6: 21–30.
301. Somers T.C., 1982, Pigment phenomena – from grapes to wine. In: *Grape and Wine Centennial Symposium Proceedings*, A. D. Webber, pp. 254–257. University of California, Davis.
302. Spiropoulos A., Tanaka J., Flerianos I., Bisson L.F., 2000, Characterization of hydrogen sulphide formation in commercial and natural wine isolates of *Saccharomyces*. *Am J Enol Vitic* 51: 233–248.
303. Spiropoulos A., Bisson L.F., 2000, MET17 and hydrogen sulphide formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol* 66:4421–4426.
304. Stiles M.E., Holzapfel W.H., 1997, Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol* 36: 1–29.
305. Sudraud P, Chauvet S., 1985, Activité antilevure de l'anhydride sulfureux moléculaire. *Connaiss. Vigne e Vin* 19, 31–40.
306. Sumbly K.M., Grbin P.R., Jiranek V., 2013, Characterization of EstCOo8 and EstC34, intracellular esterases, from the wine-associated lactic acid bacteria *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*. *J Appl Microbiol* 114 :413–422.
307. Sumbly K.M., Grbin P.R., Jiranek V., 2014, Implications of new research and technologies for malolactic fermentation in wine. *Appl Microbiol Biotechnol* 98: 8111–8132.
308. Suzzi G., Romano P., Zambonelli C., 1985, *Saccharomyces* strain selection in minimizing SO₂ requirement during vinification. *Am J Enol Vitic* 36: 199–202.
309. Swangkeaw J., Vichitphan S., Butzke C.E., Vichitphan K., 2009, The characterization of a novel *Pichia anomala* β -glucosidase with potentially aroma-enhancing capabilities in wine. *Ann Microbiol* 59: 335–343.
310. Swangkeaw J., Vichitphan S., Butzke C.E., Vichitphan K., 2011, Characterization of β -glucosidases from *Hanseniaspora* sp. and *Pichia anomala* with potentially aroma-enhancing capabilities in juice and wine. *World J Microbiol Biotechnol* 27: 423–430.
311. Swiegers J.H., Bartowsky E.J., Henschke P.A., Pretorius I.S., 2005, Yeast and bacteria modulation of wine aroma and flavour. *Aust J Grape Wine Res* 11: 139–173.
312. Tanner H., Zanier C., 1980, Der Kork als Flaschenverschluß aus der Sicht des Chemikers. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* 71, 62–68.
313. Terribile F., Bonfante A., A. D'Antonio, R. De Mascellis, C. De Michele, G. Langella, P. Manna, F.A. Mileti, S. Vingiani and A. Basile, 2017, A geospatial decision support system for supporting quality viticulture at the landscape scale, *Computers and Electronics in Agriculture*, 10.1016/j.compag.2017.05.028, 140, 88–102.

314. Torija M.J., Rozes N., Poblet M., Guillamon J.M., Mas A., 2001, Yeast population dynamics in spontaneous fermentations: comparison between two different wine-producing areas over a period of three years. *Antonie Van Leeuwenhoek* 79: 345–352.
315. Treutter D., 2006, Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environ Chem Lett* 4: 147–157.
316. Tronchoni J., Rozes N., Querol A., Guillamon J.M., 2012, Lipid composition of wine strains of *Saccharomyces kudriavzevii* and *Saccharomyces cerevisiae* grown at low temperature. *Int J Food Microbiol* 155: 191–198.
317. Uthurry C.A., Suárez Lepe J.A., Lombardero J., Garcia del Hierro J.R.J., 2006, Ethyl carbamate production by selected yeasts and lactic acid bacteria in red wine. *Food Chem* 94: 262–270.
318. Vagnoli P., Musmanno R.A., Cresti S., di Maggio T., Coratza G., 1993, Occurrence of killer yeasts in spontaneous wine fermentations from the Tuscany region of Italy. *Appl Environ Microbiol* 59: 4037–4043.
319. Varela C., Sengler F., Solomon M., Curtin C., 2016, Volatile flavour profile of reduced alcohol wines fermented with the non-conventional yeast species *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum*. *Food Chem* 209: 57–64.
320. Valero E., Cambon B., Schuller D., Casal M., Dequin S., 2007, Biodiversity of *Saccharomyces* yeast strains from grape berries of wine producing areas using starter commercial yeasts. *FEMS Yeast Res* 7: 317–329.
321. Van der Westhuizen T.J., Augustyn O.H.P., Pretorius I.S., 2000b, Geographical distribution of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from vineyards in the coastal regions of the Western Cape in South Africa. *S Afr J Enol Vitic* 21 :3–9.
322. Van Keulen H., Lindmark D.G., Zeman K.E., Gerlosky W., 2003, Yeasts present during spontaneous fermentation of Lake Erie Chardonnay, Pinot Gris and Riesling. *Antonie Van Leeuwenhoek* 83: 149–154.
323. Van Leeuwen, Destrac-Irvine, Dubernet, Duchêne, Gowdy, Marguerit, Pieri, Parker, de Rességuier, Ollat, 2019, An Update on the Impact of Climate Change in Viticulture and Potential Adaptations, *Agronomy*, 10.3390/agronomy9090514, 9, 9, 514.
324. Vermeulen C., Gijs L., Collin S., 2005, Sensorial contribution and formation pathways of thiols in foods: a review. *Food Rev Int* 21: 69–137.
325. Versavaud A., Courcoux P., Roulland C., Dulau L., Hallet J.-N., 1995, Genetic diversity and geographical distribution of wild *Saccharomyces cerevisiae* strains from the wine-producing area of Charentes, France. *Appl Environ Microbiol* 61: 3521–3529.
326. Vezinhet F., Hallet J.-N., Valade M., Poulard A., 1992, Ecological survey of wine yeast strains by molecular methods of identification. *Am J Enol Vitic* 43: 83–86.
327. Viana F., Gil J.V., Genoves S., Valles S., Manzanares P., 2008, Rational selection of non-*Saccharomyces* wine yeasts for mixed starters based on ester formation and enological traits. *Food Microbiol* 25: 778–785.
328. Vidal S., Francis L., Williams P., Kwiatkowski M., Gawel R., Cheynier V., Waters E., 2004, The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium. *Food Chem* 85: 519–525.
329. Vierra G., Cabernet Sauvignon: the «green» herbaceous character, 2004.
330. Villalba M.L., Saez J.S., del Monaco S., Lopes C.A., Sangorrin M.P., 2016, TdKT a new killer toxin produced by *Torulaspora delbrueckii* effective against wine spoilage yeasts. *Int J Food Microbiol* 217: 94–100.
331. Visser W., Scheffers W.A., Battenburg-van de Vegte W.H., Van Dijken J.P., 1990, Oxygen requirements of yeasts. *Appl Environ Microbiol* 56: 3785–3792.
332. Walker J.R.L., 1975, Enzymic browning in foods: A review. *Enz. Technol. Dig.* 4, 89–100.

333. Wang X.D., Bohlscheid J.C., Edwards C.G., 2003, Fermentative activity and production of volatile compounds by *Saccharomyces* grown in synthetic grape juice media deficient in assimilable nitrogen and/or pantothenic acid. *J Appl Microbiol* 94: 349–359.
334. Wang C., Mas A., Esteve-zarzoso B., 2015b, Interaction between *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation. *Int J Food Microbiol* 206: 67–74.
335. Wang C., Mas A., Esteve-Zarzosa B., 2016, The interaction between *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeast during alcoholic fermentation is species and strain specific. *Front Microbiol* 7:502. doi:10.3389/fmicb.2016.00502.
336. Werner M., 2013, Beeinflussung der analytischen und sensorischen Qualität von Weißwein in Abhängigkeit der Mostzusammensetzung unter besonderer Berücksichtigung schwefelhaltiger Komponenten. Dissertation Justus-Liebig-Universität Gießen, URN: urn:nbn:de:hebis:26-opus-94665. <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2013/94666>.
337. Whitman W.B. (ed), 2016, *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*. Wiley Online Library. <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/9781118960608/toc>.
338. Whitener M.E.B., Carlin S., Jacobson D., Weighill D., Divol B., Conterno L., Du Toit M., Vrhovsek U., 2015, Early fermentation volatile metabolite profile of non-*Saccharomyces* yeasts in red and white grape must: a targeted approach. *LWT-Food Sci Technol* 64: 412–422.
339. Williams K.M., Liu P., Fay J.C., 2015, Evolution of ecological dominance in yeast species in high-sugar environments. *Evolution* 69: 2079–2093.
340. Wolkovich E.M., I. García de Cortázar-Atauri, I. Morales-Castilla, K.A. Nicholas, T. Lacombe, 2018, From Pinot to Xinomavro in the world's future wine-growing regions, *Nature Climate Change*, 10.1038/s41558-017-0016-6, 8, 1, 29–37.
341. Xufre A., Albergaria H., Inacio J., Spencer-Martins I., Girio F., 2006, Application of fluorescence in situ hybridization (FISH) to the analysis of yeast population dynamics in winery and laboratory grape must fermentations. *Int J Food Microbiol* 108: 376–384.
342. Yetiman A.E., Kesmen Z., 2015, Identification of acetic acid bacteria in traditionally produced vinegar and mother of vinegar by using different molecular techniques. *Int J Food Microbiol* 204: 9–16.
343. Zarraonaindia I., Owens S.M., Weisenhorn P., West K., Hampton-Marcell J., Lax S et al., 2015, The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota. *MBio* 6.doi:10.1128/mBio. 02527-14.

