



Дрожжевая дикая микрофлора винограда. Мифы и реальность.

Биозащита
на предшествующих брожению
стадиях винификации

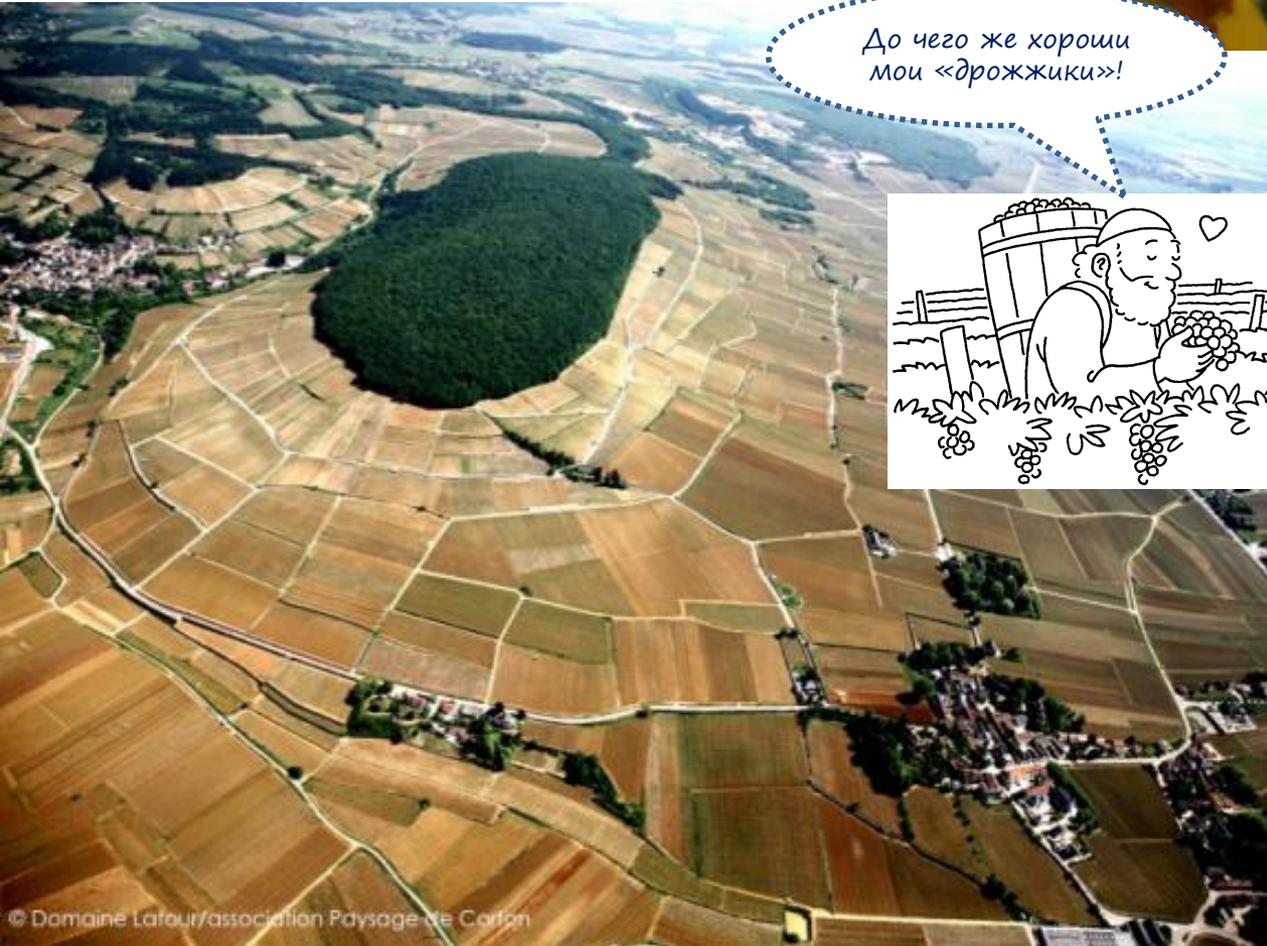
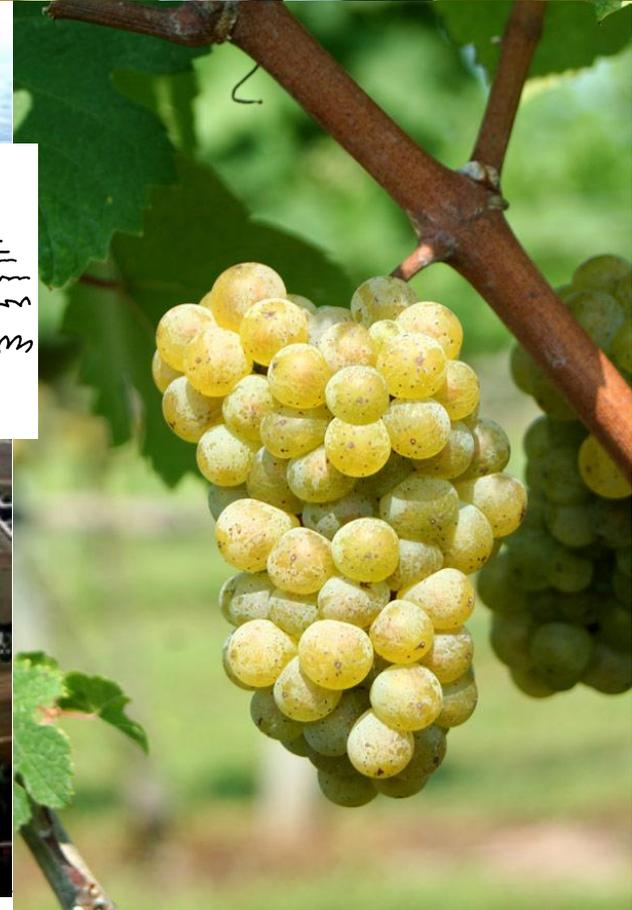
Vincent Gerbaux – IFV исследовательский центр в Боне
28 января 2021 г.



Виноградарство и микробиология...

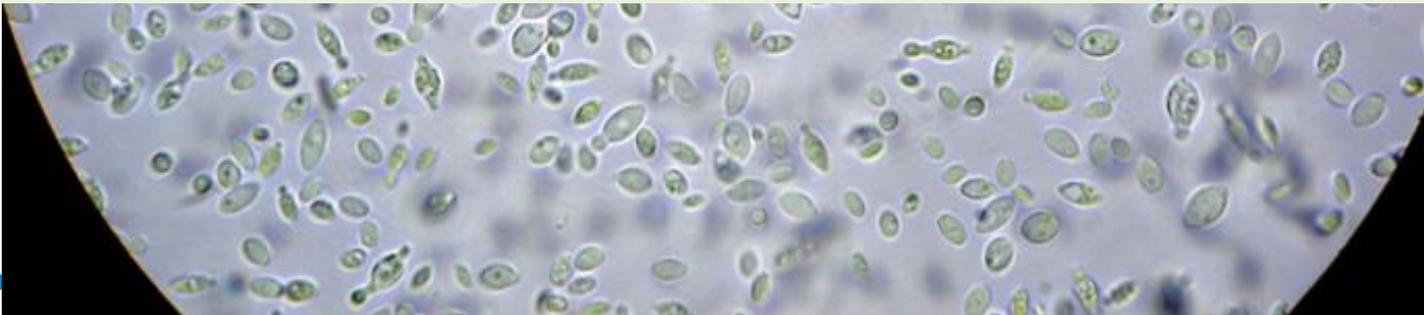


До чего же хороши
мои «дрожжики»!





**Фаза процесса винификации, предшествующая брожению, может способствовать формированию ароматов фруктового направления,
... если в сусле не доминирует вредная, вызывающая порчу микрофлора**



Вопрос 1

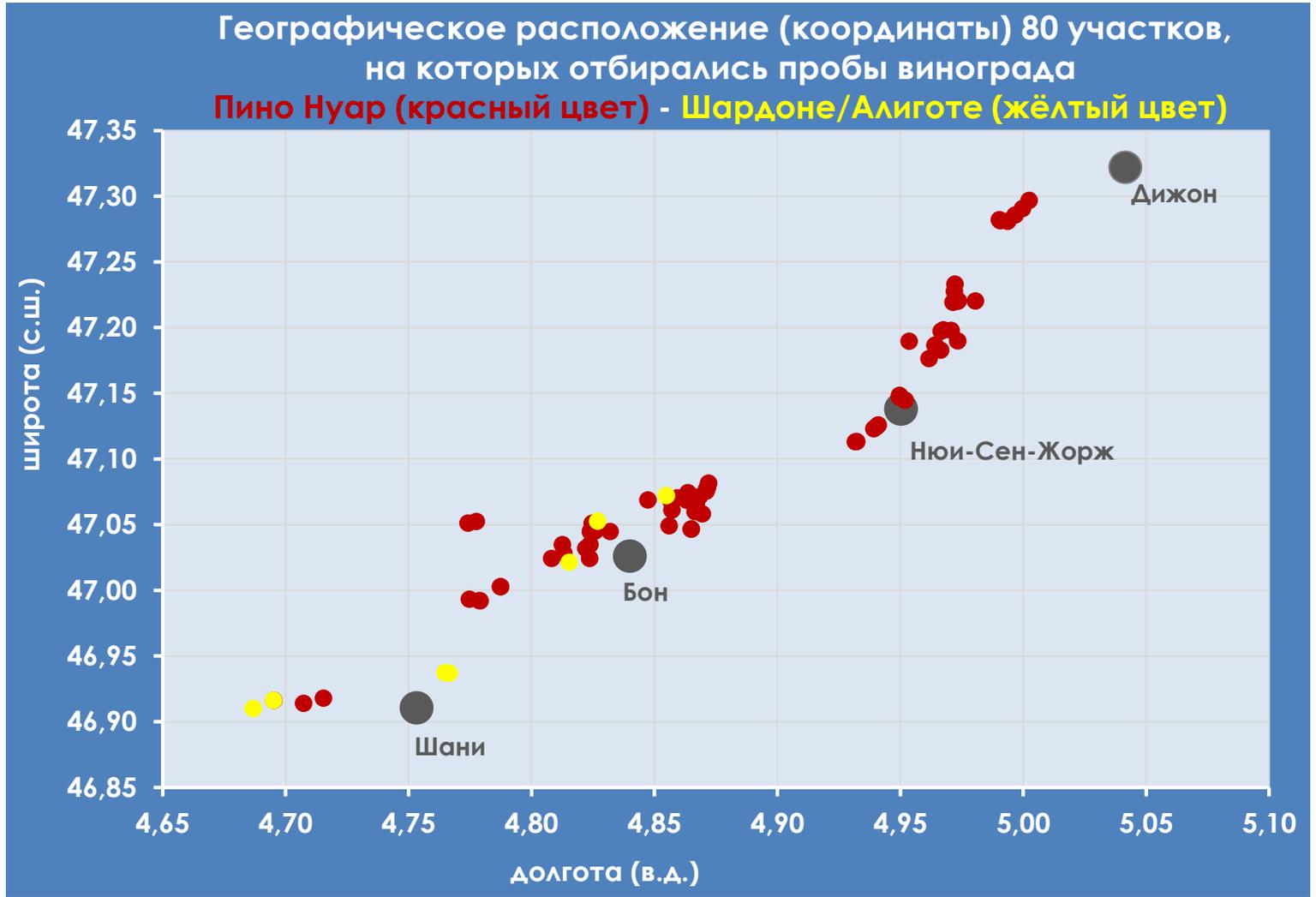
Присутствуют ли на виноградных ягодах дрожжи, вызывающие спонтанное спиртовое брожение?

Влияние микрофлоры винограда в стадии зрелости на технологический процесс производства вина

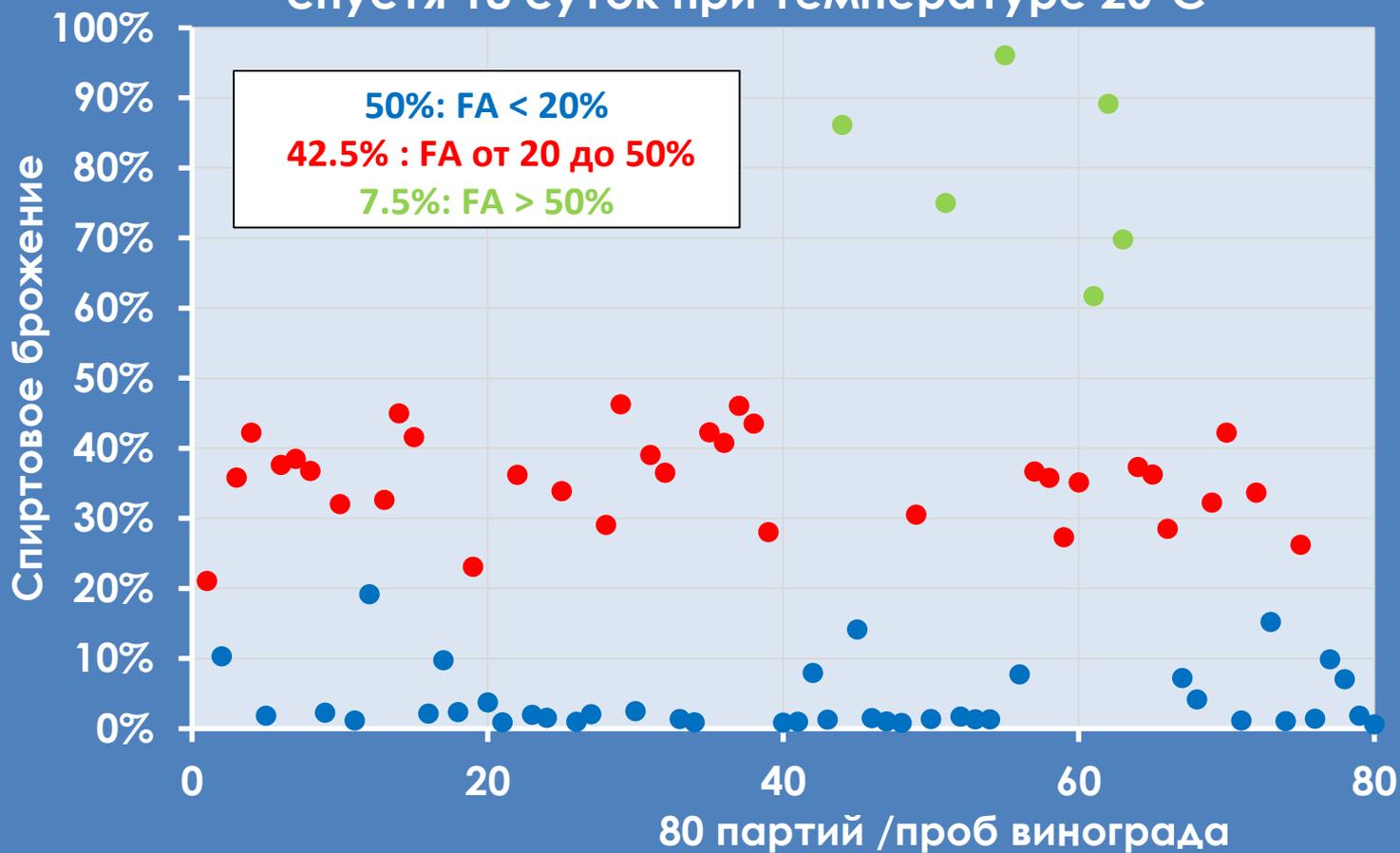
**Отбор проб винограда с 80 участков в регионе Бургундия
(11 - органическая система выращивания винограда /
69 – с применением фитосанитарных обработок)**

**Мацерация (настаивание мезги) в условиях
микровиноделия при температуре 20°C (80 партий)
Контроль спиртового брожения по весу**

**Все операции проводились с использованием продезинфицированного
оборудования и посуды.**



Состояние процесса спиртового брожения спустя 18 суток при температуре 20°C

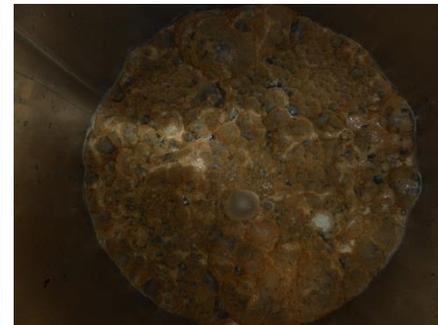
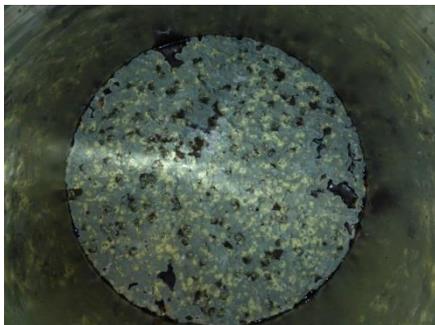


Вопрос 2

Каков же видовой состав
микрофлоры, присутствующей
на ягодах винограда?



Развитие плесени на поверхности сусла в 39% партий на 4 –ый /15-ый день инкубации (спиртовое брожение < 10%)

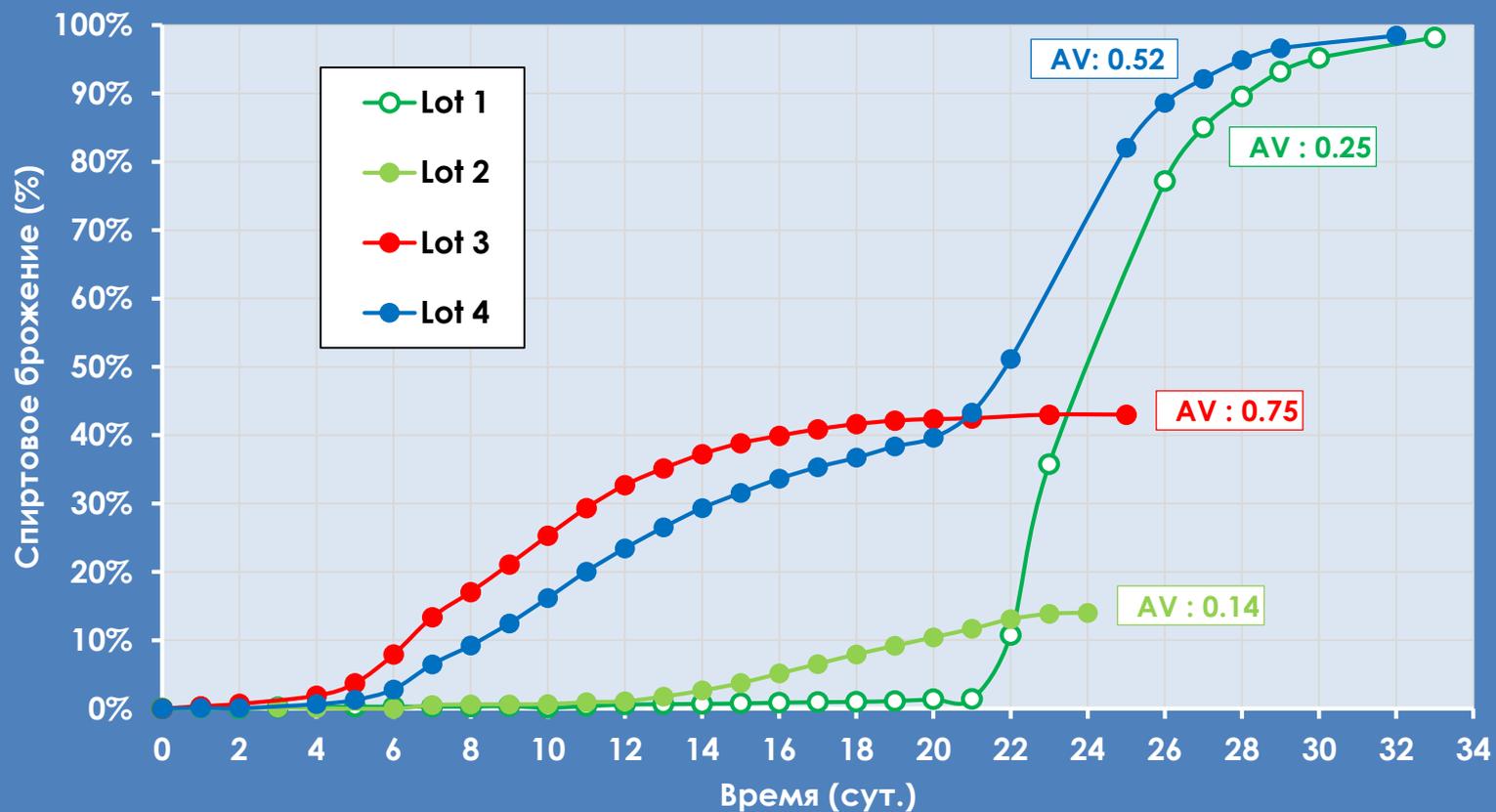


После 20 суток инкубации

**внесение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (RC212)
в сусло, в котором сброжено не менее 5% сахара,**

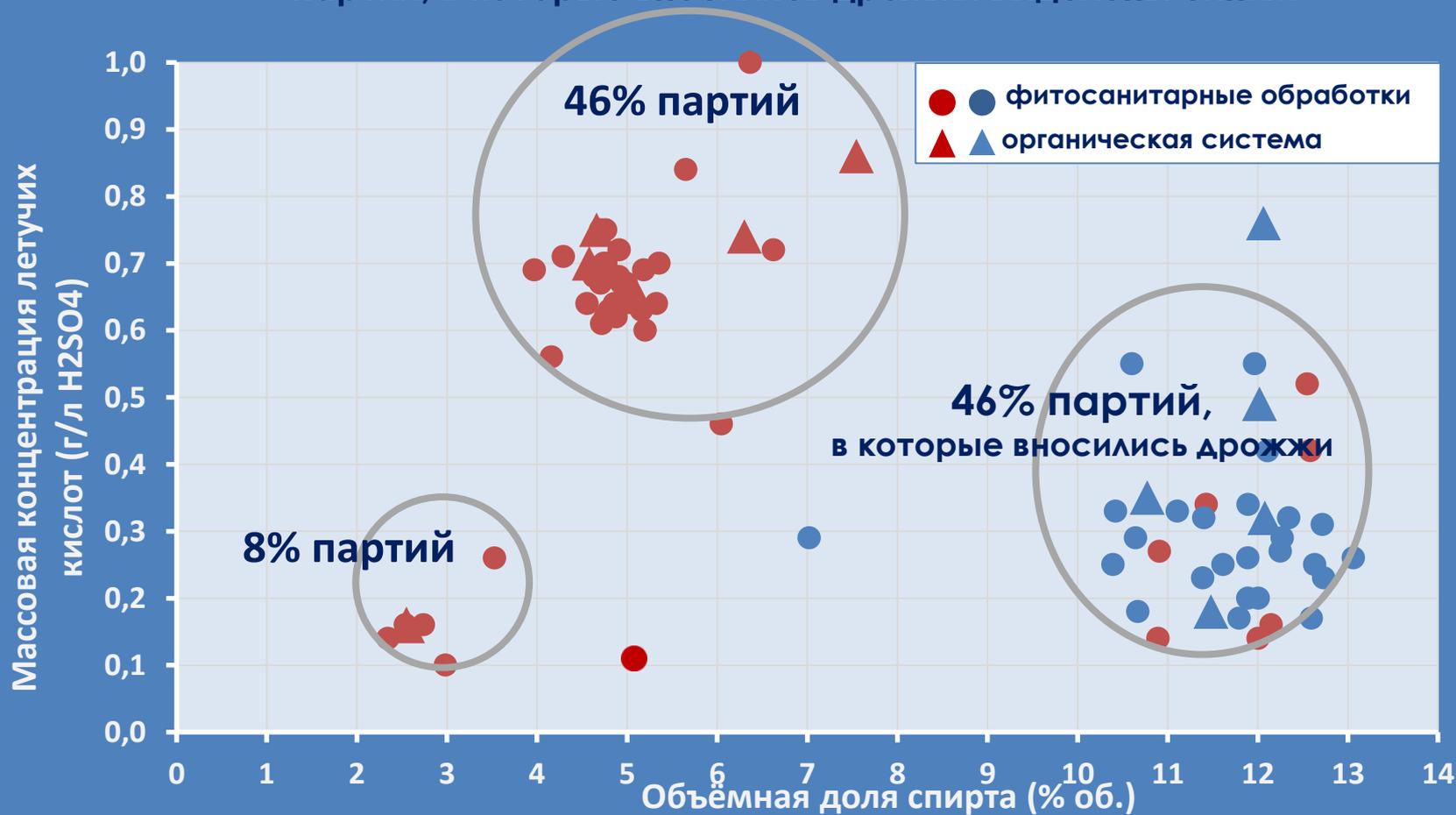
что составило 30 партий из 80.

Динамика процесса спиртового брожения и конечная концентрация летучих кислот (г/л H₂SO₄) - 4 участка
 Партия 1: внесены дрожжи RC212 на 20-ый день



Аналитические параметры вина с прекращённым брожением (20 - 50 суток инкубации при температуре 20°C)

партии, в которые не вносились дрожжи, выделены красным - партии, в которые вносились дрожжи выделены синим



**Популяция дрожжей *Brettanomyces*
контроль 80 партий винограда (4 месяца)
всегда < 10 КОЕ/мл**

(подсчёт в чашках Петри со специальной питательной средой)

Состав микрофлоры винограда, находящемся в хорошем санитарном состоянии:

- плесневые грибы;
- дрожжи с очень низкой способностью к брожению и продуцированию уксусной кислоты (в частности *Metschnikowia*);
- слабобродящие дрожжи, выделяющие уксусную кислоту в больших количествах (в частности *Hanseniaspora*);
- очень незначительное присутствие дрожжей с высокой бродильной способностью, выделяющих уксусную кислоту в малых количествах (в частности *Saccharomyces*);
- не выявлено наличие *Brettanomyces*.

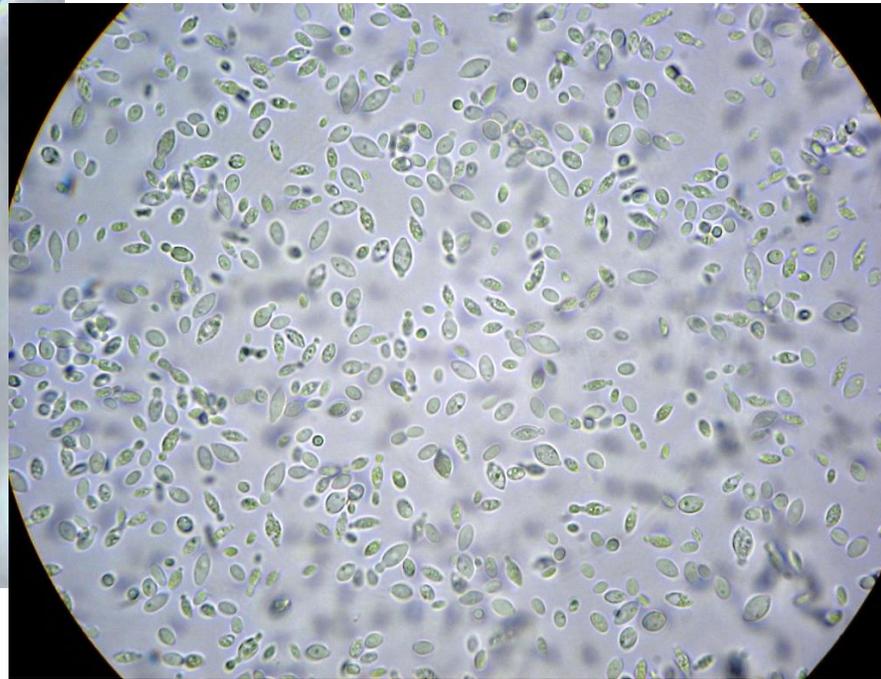
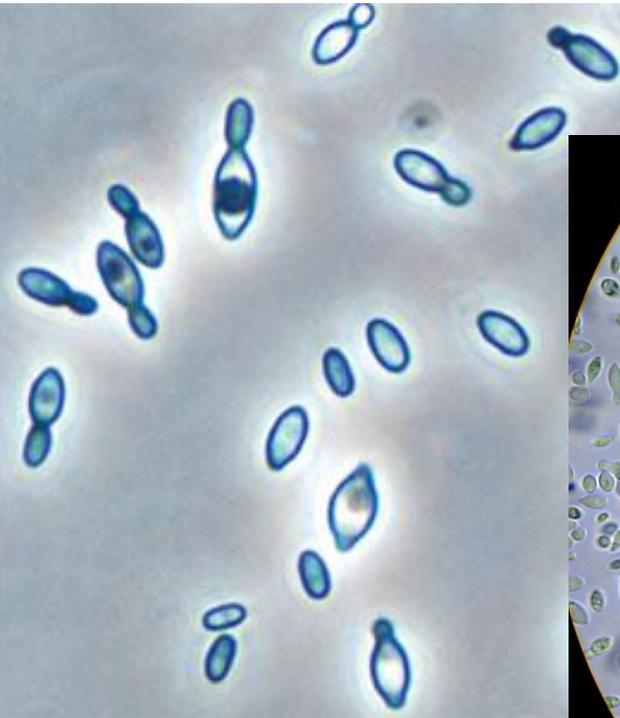
Вопрос 3

«Терруарные» дрожжи брожения –
это миф?

Вопрос 4

Какие технологические риски связаны с присутствующей на винограде микрофлорой?

Hanseniaspora uvarum (*Kloeckera apiculata*)



**Рост дрожжей *Hanseniaspora uvarum*
при температуре 15° в сусле Пино Нуар
сульфитация не проводилась
(массовая концентрация сахаров - 230 г/л)**

**Увеличение популяции в два раза в течение 4 часов
(средний показатель - 4 штамма / 9 опытов)
около 8 часов - для *Saccharomyces cerevisiae***

**При изначальном уровне контаминации 500 КОЕ/мл
популяция *Hanseniaspora uvarum* достигает
2 млн клеток/мл в течение 48 часов.**

Активность дрожжей *Hanseniaspora uvarum*

Сусло Пино Нуар (сульфитация не проводилась)

Изначальная контаминация - 280 клеток/мл

Холодная мацерация/настой до брожения в течение 7 суток
при температуре 15°C

Внесение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*
для проведения брожения

Массовая концентрация уксусной кислоты:

до брожения (Т 7 сут.) - **0.42 г/л**

после брожения - **0.73 г/л**

(средние значения – 9 опытов)

Hanseniaspora производит этилацетат в количестве,
в 10 раз превышающем уровень его накопления сахаромецетами.

Вопрос 5

Как бороться с распространением дрожжей *H. uvarum*, которые явно преобладают в составе микрофлоры на поверхности виноградной ягоды, особенно в случае увеличенной продолжительности операций, проводимых до брожения?

Для предотвращения распространения дрожжей *Hanseniaspora uvarum*

«классический» приём - **сульфитирование**

инновационное решение - внесение на ранних стадиях
технологического процесса дрожжей ***Metschnikowia***,
чтобы обеспечить биозащиту сусла

В исследовательском центре IFV в Боне селекционирован штамм
дрожжей *Metschnikowia fructicola*, выделенный из биомассы
винограда, произрастающего в Бургундии, для контроля развития
спонтанной микрофлоры во время проведения операции холодной
мацерации (настаивания на мезге) при производстве красных вин

Metschnikowia fructicola Gaïa

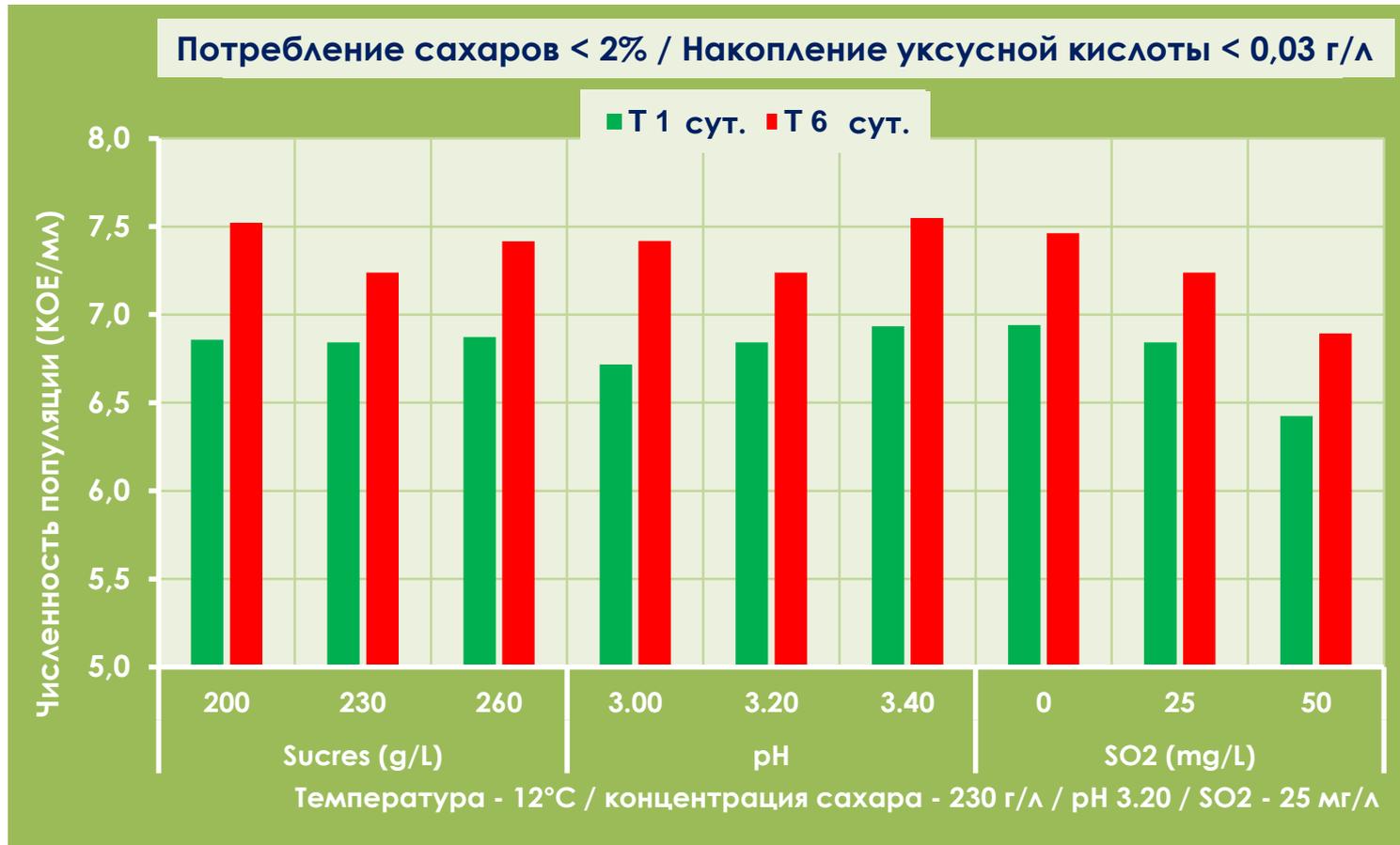
Дрожжи из оригинальной коллекции, состоящей из 552 штаммов, выделенных на винограде и из сусла в Бургундии

Базовые критерии селекции:

- быстрое распространение в среде в условиях невысоких температур;
- очень слабая способность к брожению;
- низкий уровень продуцирования уксусной кислоты;
 - благоприятное влияние на ароматический баланс.

Селекционные работы в течение шести лет

Активность *Metschnikowia Gaïa* – пастеризованное сусло Пино Нуар (T0: добавление в дозе 25 г/гЛ)



Исследования проводились совместно с ИОС

Ассамбляж Пино Нуар / Шардоне

без сульфитации, массовая концентрация сахаров = 230 г/л,

содержание ассимилируемого азота = 400 мг/л

эксперимент в лабораторных условиях на пастеризованном сусле

инкубация при температуре 13°C

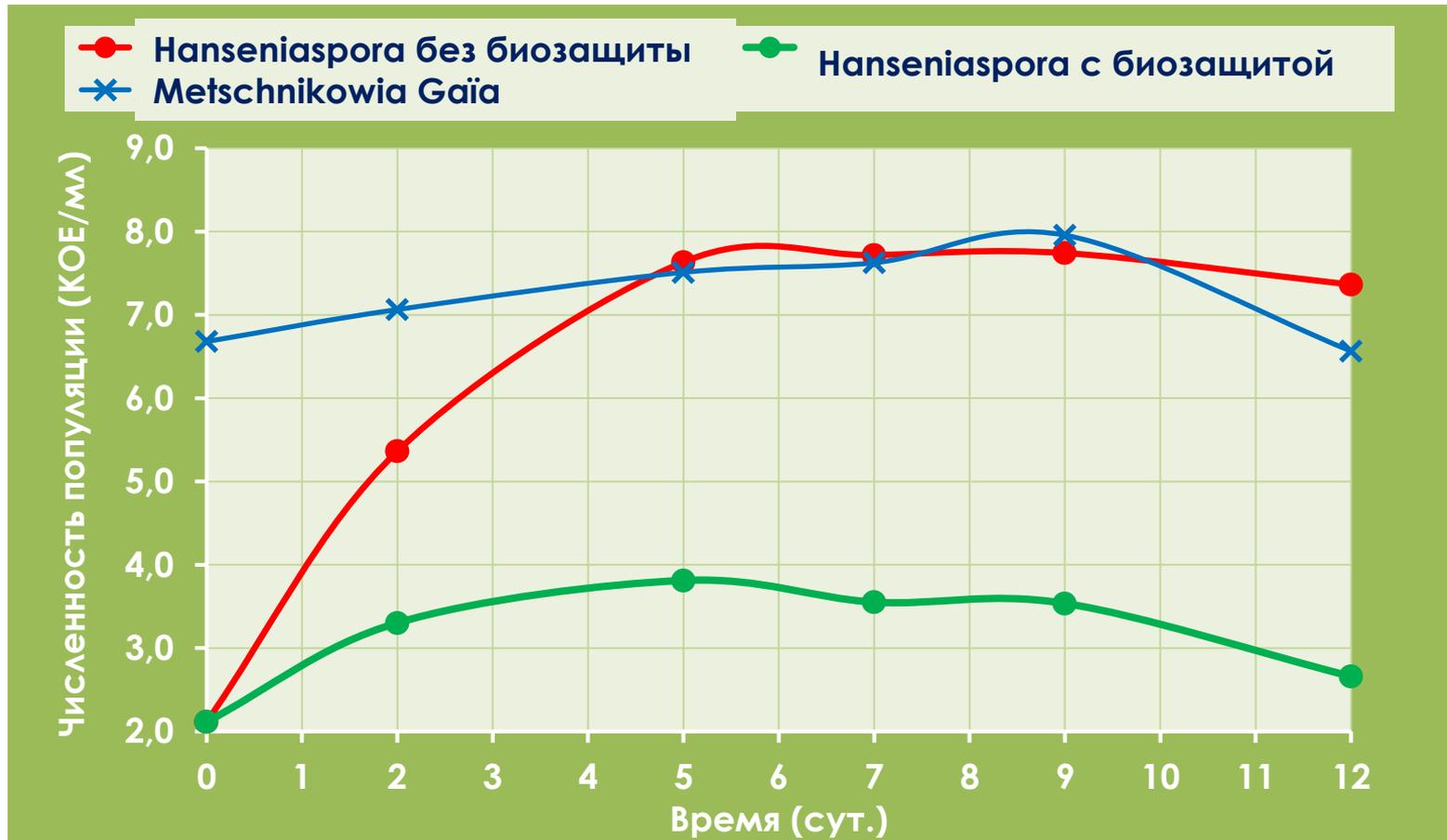
T0: контаминация (*Hanseniaspora* и уксуснокислые бактерии)

T 3 часа: опыт - внесение *Metschnikowia Gaïa* (25 г/гЛ),

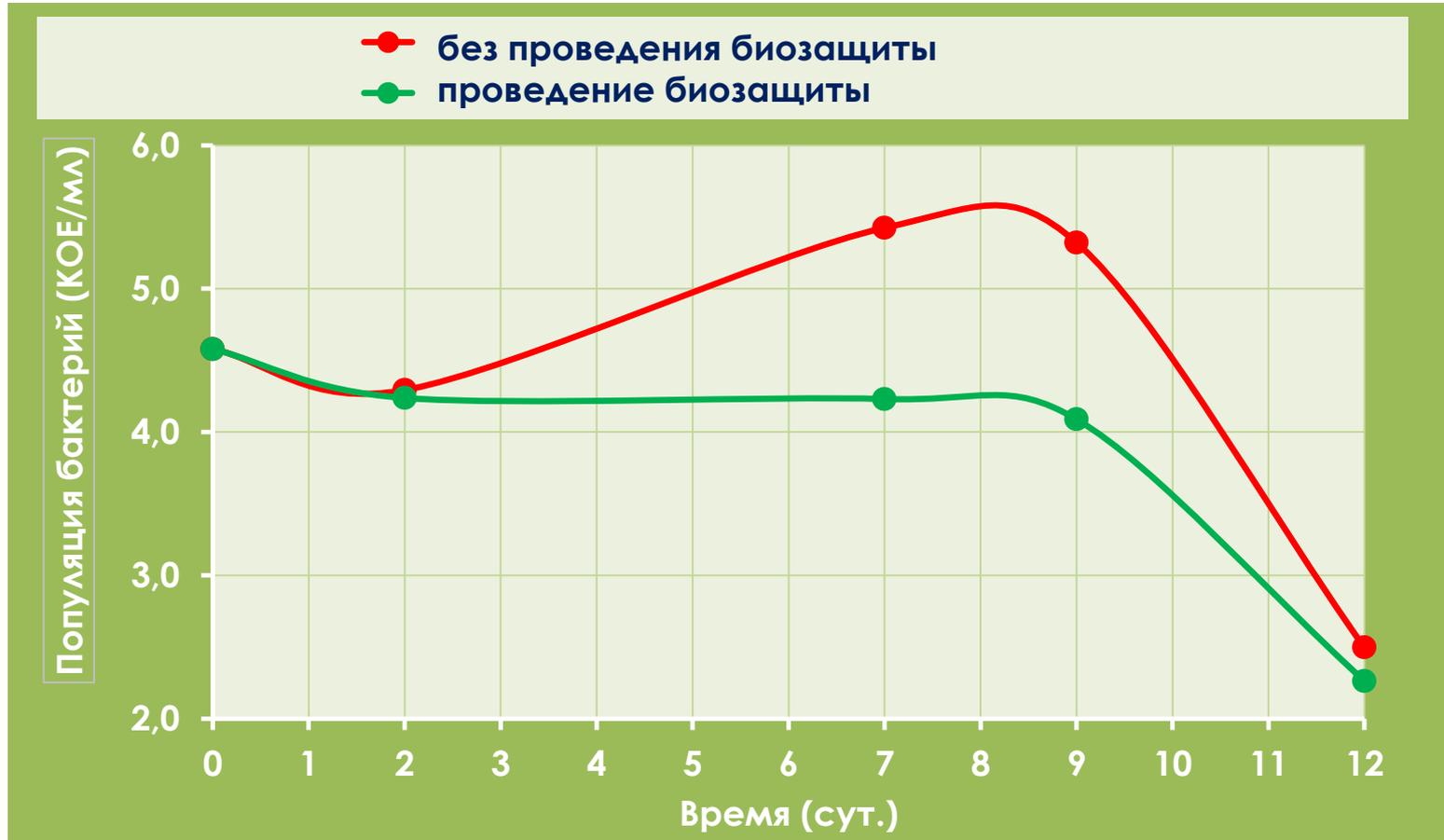
контроль – без биозащиты

T 7 суток: задача дрожжей *Saccharomyces R9008*

Контаминация *Hanseniaspora* (100 клеток/мл изначально)



Контаминация - уксуснокислые бактерии (10 000 КОЕ/мл изначально)



Массовая концентрация уксусной кислоты (г/л) после завершения спиртового брожения

	Биозащита Gaïa	
	да	нет
отсутствие контаминации	0.31	0.49
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	0.40	0.73 *
уксуснокислые бактерии	0.30	0.59

- Концентрация этилацетата - 388 мг/л
(порог восприятия = 140 мг/л)

Биозащита против *Hanseniaspora* ЗАВИСИМОСТЬ ОТ ДОЗЫ *Metschnikowia Gaïa*

Сусло Пино Нуар пастеризованное (массовая концентрация сахаров – 230 г/л)

Температура - 15°C

T0: контаминация *Hanseniaspora* (60 клеток/мл)

T0 + 3 ч : внесение *Gaïa*



Влияние *Metschnikowia Gaïa* на продуцирование уксусной кислоты дрожжами *Saccharomyces*

Сорт винограда Пино Нуар (без сульфитации)

T0: опыт с внесением *Gaïa* и контроль без добавления *Gaïa* (T=15°C)

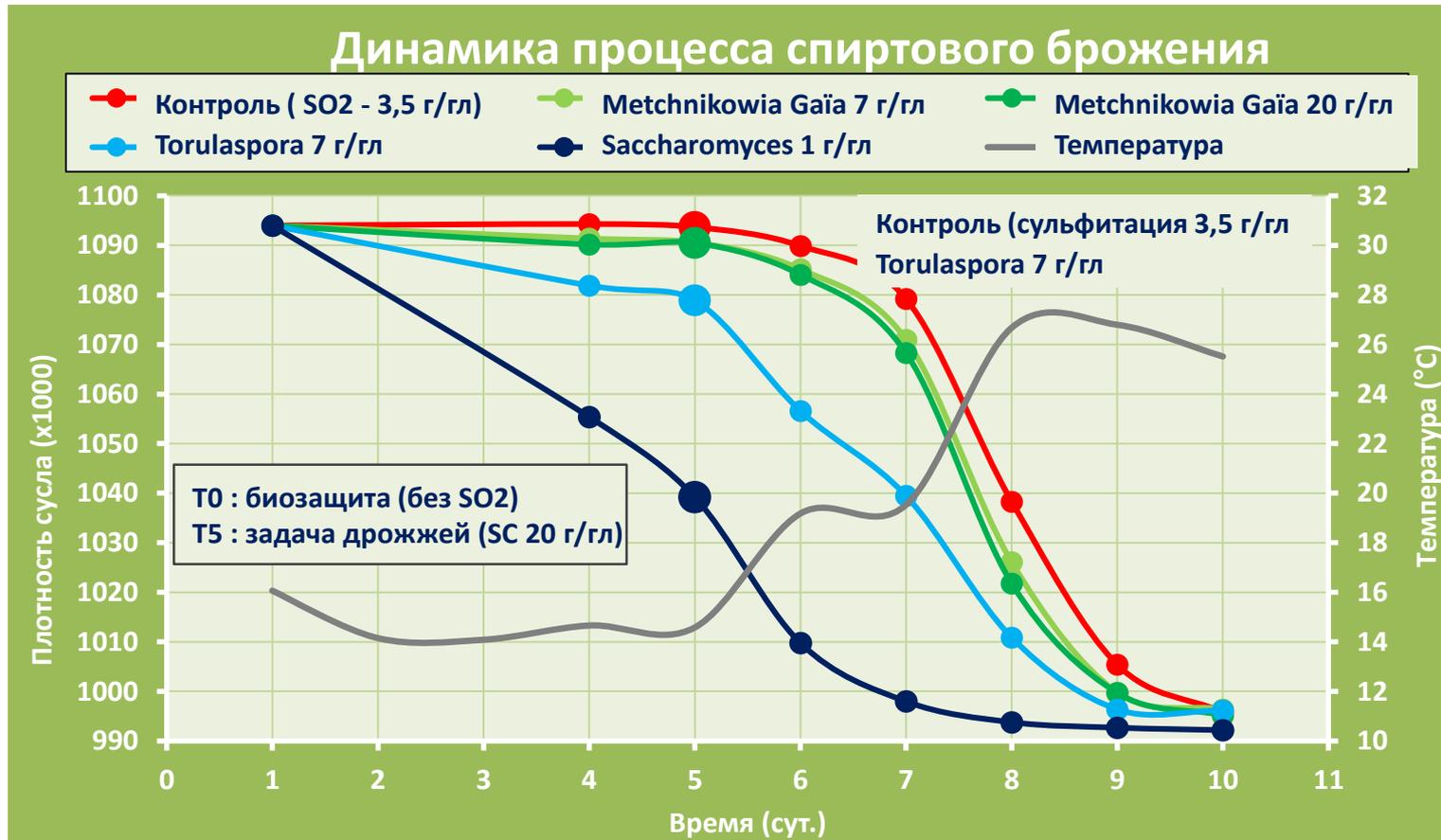
(средняя доза *Gaïa*: 10 г/гЛ в опытах в лабораторных условиях и 20 г/гЛ в производственных)

T 5 суток: внесение дрожжей *Saccharomyces*

(4 штамма – средняя доза 20 г/гЛ)

Массовая концентрация уксусной кислоты (в г/л) после завершения спиртового брожения		
	Контроль	<i>Gaïa</i>
В лабораторных условиях (10 опытов)	0.45	0.26
В производственных условиях (5 опытов)	0.33	0.24

Экспериментальное исследование в производственных условиях Пино Нуар – мацерация / настаивание мезги при низких температурах до брожения



Биозащита с помощью Gaïa позволяет эффективно провести технологическую операцию настаивания на мезге / мацерации до брожения

Влияние дрожжей Gaïa на интенсивность окраски сусла после загрузки в ёмкость

Пино Нуар (сульфитирование не проводилось)

T0: опыт с добавлением Gaïa и контроль без внесения дрожжей (температура 15°C)

(средняя доза Gaïa - 20 г/гЛ)

T 5 суток: внесение дрожжей *Saccharomyces*

(средняя доза - 20 г/гЛ)

Интенсивность окраски сусла после загрузки в ёмкость
(оптическая плотность при длине волны 420+520+620)

	Контроль	Gaïa
В производственных условиях (5 опытов)	7.9	8.3

Заключение

Metschnikowia – вид дрожжей, присутствующих на винограде, представляет интерес для использования в качестве биозащиты на предшествующих брожению стадиях винификации.

Биомасса *Metschnikowia fructicola* Gaïa ингибирует дрожжи *Hanseniaspora*, продуцирующие уксусную кислоту в большом количестве и доминирующие в составе микрофлоры виноградной ягоды. Предотвращает чрезмерное развитие уксуснокислых бактерий.

Gaïa проявляет активность при невысоких температурах (10 - 15°C) и устойчивость к диоксиду серы при его концентрации, не превышающей 50 мг/л. Позволяет эффективно проводить операцию холодной мацерации / настаивания на мезге и способствует реализации процесса брожения в дальнейшем при внесении самого широкого спектра предназначенных для этого дрожжей.

Цель проведения биозащиты - не «ароматизировать» вина, а раскрыть потенциал винограда и выразить особенности места его произрастания.

Биозащита в винодельческой практике - технология будущего

Помимо использования дрожжей, не относящихся к роду *Saccharomyces*, в частности *Metschnikowia*, в предшествующей брожению фазе, биозащита может распространяться и на стадию вина.

Так было выявлено, что молочнокислые бактерии, проводящие яблочно-молочное брожение, могут удалять приносящие вред дрожжи *Brettanomyces* на начальном этапе контаминации...

И в настоящее время ведутся исследования по разработке других методов биозащиты.

**Благодарим за внимание
Будьте здоровы!**

