

БИОЗАЩИТА
НА ЭТАПАХ ДО
НАЧАЛА БРОЖЕНИЯ



Gaïa™

Доверьтесь природе, чтобы
защитить ваше сусло



 IOC
Révélons votre différence

БИОЗАЩИТА: ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ КАК СРЕДСТВО КОНТРОЛЯ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

В период от сбора винограда до его поступления в бродильную ёмкость может произойти бурное размножение микроорганизмов, ответственных за нежелательные изменения и неконтролируемое начало процесса брожения. Опасность возрастает в случае увеличения длительности операций, проводимых до брожения, во время перевозки винограда или сусла на большие расстояния, предферментационной «холодной» или «пелликулярной» (настой на кожице) макерации, при настое на сусловом осадке или настое сусловых осадков, хранении сусла при низких температурах, а также в процессе подвяливания винограда после его сбора. Особенно, если эти технологические операции проходят в условиях повышенных температур ($>8^{\circ}\text{C}$) или преднамеренного сокращения использования SO_2 . Изменение климата и агротехнических приёмов ведут к получению уровня зрелости винограда, который тоже способствует развитию микроорганизмов, оказывающих неблагоприятное влияние на вино.

Для борьбы с этой вредной микрофлорой в филиале Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV) в Боне был селекционирован не имеющий способности к брожению штамм дрожжей GAIA™ вида *Metshnikowia fructicola*. Он занимает экологическую нишу, уменьшая риск появления отклонений и преждевременного забраживания сусла. При использовании либо во время загрузки в ёмкость, либо на более ранних стадиях (виноградоуборочный комбайн, приёмный бункер, пресс) GAIA™ проявляет себя как действенное природное средство для сокращения сульфитации в период до начала брожения. При этом облегчается также внедрение и распространение в среде селекционированных дрожжей *S. cerevisiae* во время их последующей инокуляции для проведения брожения.

Перед лицом поставленных новых социальных целей и технологических задач данная концепция биозащиты, биоконтроля, «полезной контаминации» призвана стать основным инструментом для виноделов в управлении процессами винификации на стадиях до начала брожения.

ОСНОВНЫЕ РИСКИ, ВОЗНИКАЮЩИЕ НА ЭТАПАХ, ПРЕДШЕСТВУЮЩИХ БРОЖЕНИЮ

↗ ПЛЕСЕНИ

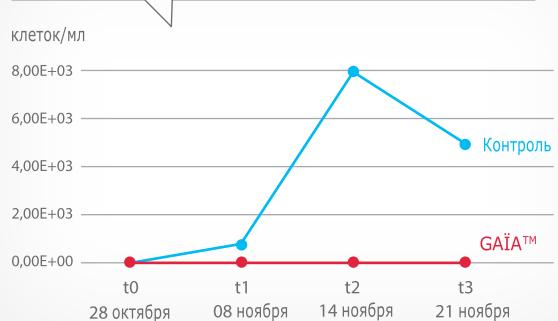
Микрофлора винограда и сусла при хорошем санитарном состоянии сырья не столь безобидна, как можно было бы думать. Если сбор урожая, прессование и заполнение ёмкости производить в стерильных условиях (только микрофлора, находящаяся на винограде), то в первую очередь будет наблюдаться развитие плесени даже без спонтанного забраживания в течение нескольких дней.

Развитие плесени на поверхности сусла (микрофлора винограда) при отсутствии контаминации, связанной с винодельческим цехом и технологическим оборудованием – Результаты наблюдений после 9 дней при температуре 20°C



Кроме плесени, наблюдаемой на поверхности сусла в ёмкости и не представляющей особой опасности в практике виноделия, существует более реальная проблема в связи с технологией увяливания винограда после его сбора, при производстве вин типа амароне, например. В течение нескольких недель, когда проводят предшествующую винификации операцию подсушивания в условиях винодельни, часто происходит сильное развитие *Botrytis cinerea*, что ухудшает качество сырья. Рост этого гриба уменьшается до самого низкого уровня при использовании дрожжей вида *Metschnikowia fructicola* GAÏA™.

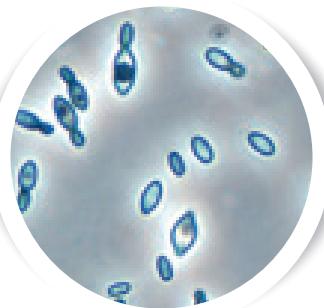
Рост *Botrytis cinerea* во время операции подвяливания винограда



ДРОЖЖИ АПИКУЛЯТУС

Hanseniaspora uvarum (известны также под названием *Kloeckera apiculata*) - разновидность находящихся на винограде дрожжей апикулятусов, приносят наибольший вред в виноделии. Морфологический признак - лимоновидная форма клетки. Многие представители ответственны за сильное увеличение уровня летучей кислотности (в 4 раза выше, чем *S. cerevisiae*) и концентрации этилацетата (тон растворителя /лака - в 10 раз выше, чем *S. cerevisiae*).

Эти дрожжи часто составляют подавляющее количество микрофлоры зрелого здорового винограда. Выбраживают в среднем до 5-6 % об. спирта, но крайне быстро размножаются или во время перевозки винограда, или при проведении мацерации в предферментационный период при невысокой температуре. В этих условиях (от 15°C) повышается их устойчивость к спирту, и в некоторых случаях наблюдается преобладание этого рода в конце спиртового брожения.

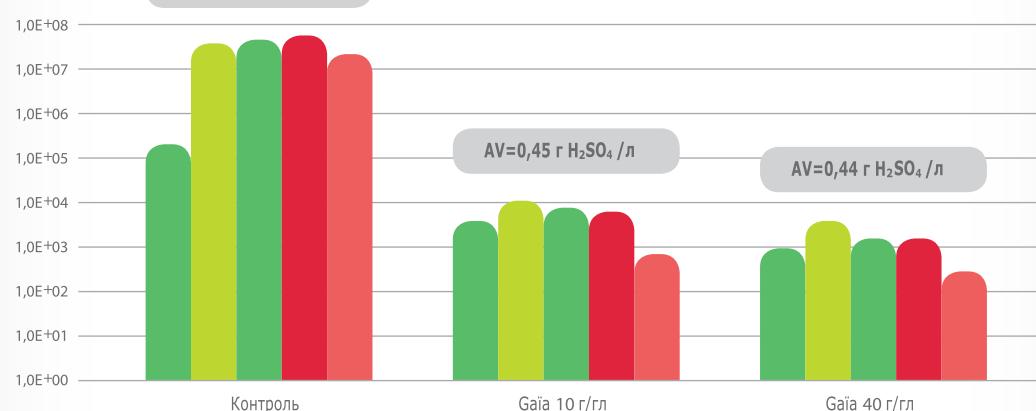


Распространение апикулятусов в виноградном сырье до начала брожения может быть уменьшено благодаря присутствию дрожжей рода *Metschnikowia*, практически лишённых бродильной способности и не продуцирующих уксусную кислоту. Применение селекционированного штамма *Metschnikowia fructicola* GAÏA™ даёт возможность контролировать процесс биозащиты.

Развитие популяции дрожжей *Hanseniaspora uvarum* и конечная концентрация уксусной кислоты (AV) при проведении биозащиты до брожения путём внесения GAÏA™ и без проведения биозащиты пастеризованное сусло Пино Нуар / Шардоне pH 3,6 несульфитированное - фаза до брожения при t=13°C

Популяция дрожжей
(клеток/мл)

AV=0,78 г H₂SO₄ /л



Этап до брожения при низких температурах

● T 2 суток ● T 5 суток

● T 7 суток (до задачи S.cerevisiae)

Спиртовое брожение

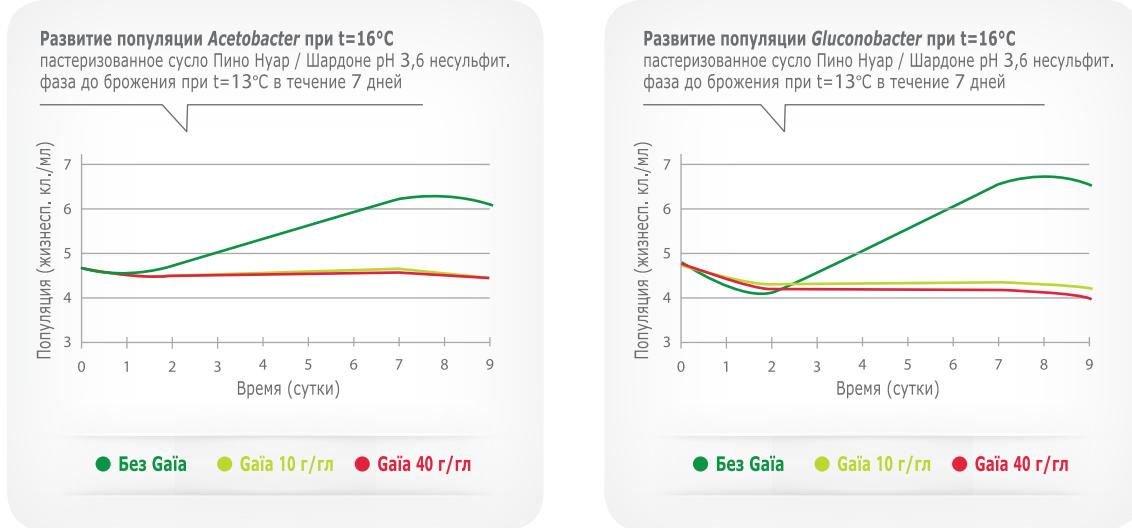
● T 9 суток ● T 12 суток

BRETTANOMYCES BRUXELLENSIS

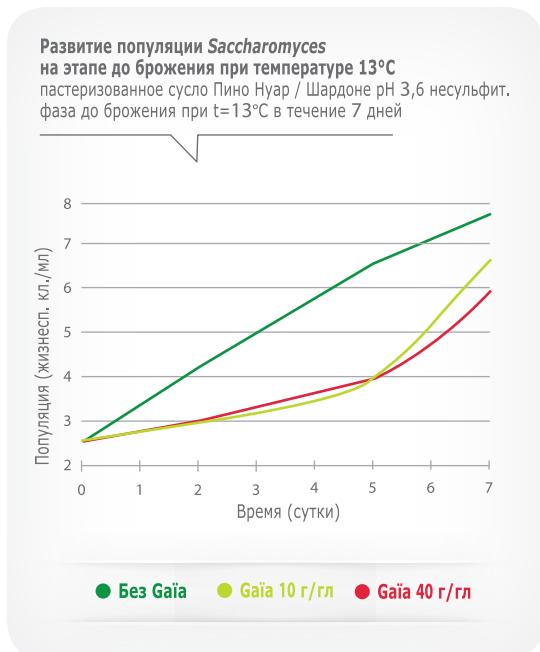
Контаминация этого вида дрожжами, ответственными за появление так называемых фенольных запахов, происходит в основном во время выдержки вина или в период ожидания начала яблочно-молочного брожения. Иногда случается, что они вступают в игру на гораздо более ранних стадиях, в частности развиваются в бродячем сусле. GAIA™ может ингибировать частично такой ранний рост бретаномицетов, но лучшим средством борьбы с ними является ко-инокуляция молочнокислых бактерий *O.oeni* в начале спиртового брожения, способ очень эффективный в плане биоконтроля.

УКСУСНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ

Обычно развитие уксуснокислых бактерий на стадиях, предшествующих брожению, наблюдается в редких случаях. Однако при бактериальной контаминации в результате микробной атаки или распространения насекомыми (известная в винодельческом производстве мушка-дрозофилы), на мезге могут находиться большие популяции, продуцируя летучие кислоты в опасной концентрации. В экспериментальных условиях, воспроизводящих ситуацию заражения бактериями, был доказан эффект биконтроля, производимый GAIA™ в отношении *Acetobacter* и *Gluconobacter*.



САМОПРОИЗВОЛЬНОЕ НАЧАЛО БРОЖЕНИЯ



Технологический процесс производства вина может включать длительную предферментационную фазу, во время которой неизбежен риск роста диких дрожжей *Saccharomyces* до уровня, когда они способны вызвать. преждевременно спиртовое брожение. Опасность тем больше, чем выше температура и чем ниже уровень SO₂. Это происходит при настаивании на сусловом осадке или сусловых осадков, холодной и пелликулярной мациерации, хранении виноградного сока, осветлении сусла....

Несвоевременное забраживание вызывает затруднения как сенсорного, так и технологического характера: помехи процессу осветления сусла, необходимость регулярных фильтраций, расходы на охлаждение, продуцирование ацетальдегида и / или SO₂ дикими сахаромицесами, отсутствие направленного контроля органолептического профиля и качества вина, сложности с внесением чистой культуры *S. cerevisiae*, возможные остановки брожения...

GAIA™ тормозит развитие популяций диких дрожжей до уровня (рис. 4), задерживающего начало брожения. Температура сусла - ключевой фактор эффективности этого технологического приёма, поскольку, чем она ниже, тем более благоприятными оказываются условия для *Metschnikowia fructicola* по сравнению с *Saccharomyces*.

СПЕКТР ПРИМЕНЕНИЯ

В виноградоуборочной машине

Зашитить ваш виноград на самых ранних стадиях
Чтобы избежать распространения микроорганизмов при сборе винограда и его доставке на переработку.

В кузове (таре) для перевозки сырья

Контроль при транспортировке винограда
Применяется в условиях высоких температур, длительных перевозок и ожидания, плохого санитарного состояния.

В процессе подвяливания винограда

Сдерживать развитие гриба *Botrytis cinerea* во время операции подвяливания винограда
Уменьшается значительно распространение гнили, обычно наблюдаемое в сушильнях.

Приёмка винограда на переработку

Зашитить сусло на протяжении всего периода до начала брожения
Позволяет бороться против вредных микроорганизмов и преждевременного забраживания.

При заполнении ёмкости для холодного настаивания до брожения

Борьба против повышения летучей кислотности и предупреждение возможных случаев забраживания
Позволяет бороться против *Hanseniaspora uvarum* и спонтанного брожения, что обеспечивает проведение работы по экстрагированию антоцианов в водной фазе.

В пресс при проведении настоя на кожице (пелликулярная мацерация)

Уменьшить опасность забраживания и снизить дозы сульфитации
Сдерживает развитие дрожжей, вызывающих брожение, в частности в случае сульфитации в меньших дозах, чтобы обеспечить хорошее осветление сусла после отжима.

При выходе из пресса сусла, идущего на приготовление шампанских виноматериалов (классический метод)

Сенсорные отклонения и управление ароматическим профилем вина
В связи с изменением условий созревания винограда (высокий pH) и при стремлении ограничить содержание сульфитов внесение GAïA™ в приёмник для сусла или во время заполнения ёмкости для осветления поможет предотвратить накопление уксусной кислоты и её эфиров, вызываемое деятельностью дрожжей или бактерий и изменения в аромате, нарушающие элегантность и тонкость игристых вин (при классическом методе).



Перед осветлением (отстоем) сусла при получении белых и розовых вин

Уменьшить опасность забраживания и снизить дозы сульфитации
Ограничивает бродильную активность, препятствующую процессу осветления, в частности при сульфитировании в меньших дозах, в условиях повышенной температуры или увеличенной продолжительности операции.

При настоє сусловых осадков (производство белых и розовых вин)

Уменьшить опасность забраживания и снизить дозы сульфитации
Сдерживает развитие дрожжей, вызывающих брожение, в частности в случае сульфитирования в меньших дозах, в условиях повышенной температуры или увеличенной продолжительности операции.

До задачи дрожжей в виноматериал при резервуарном методе

Уменьшить опасность забраживания и образование ацетальдегида при повышении температуры сусла
Фаза, когда поднимают температуру сусла (хранившегося в условиях низких температур), чтобы начать вторичное брожение, может длиться до 72 часов. Результатом этого является нежелательное развитие микроорганизмов, что в том числе приводит к образованию ацетальдегида в большом количестве. Добавление GAïA™ в охлаждённое сусло перед повышением температуры предотвращает самопроизвольное забраживание.

В сусло перед закладкой на хранение

Защита сусла при длительном хранении и перевозках
Поддерживать оптимальные условия для хранения сусла и его использования в течение года. Снизить расходы на охлаждение и фильтрацию, чтобы избежать брожения.

РЕКОМЕНДУЕМЫЕ УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Эффективность биозащиты зависит от разных факторов: температурный режим, момент добавления, изначальная микробная нагрузка на винограде, длительность фазы до брожения, равномерность распределения препарата при использовании, дозировка, содержание сульфитов.

В отличие от SO₂ и термической обработки GAÏA™ не действует априори какfungицидное или бактерицидное средство, но не допускает развития исходных популяций дрожжей и бактерий до уровня, приводящего к порче

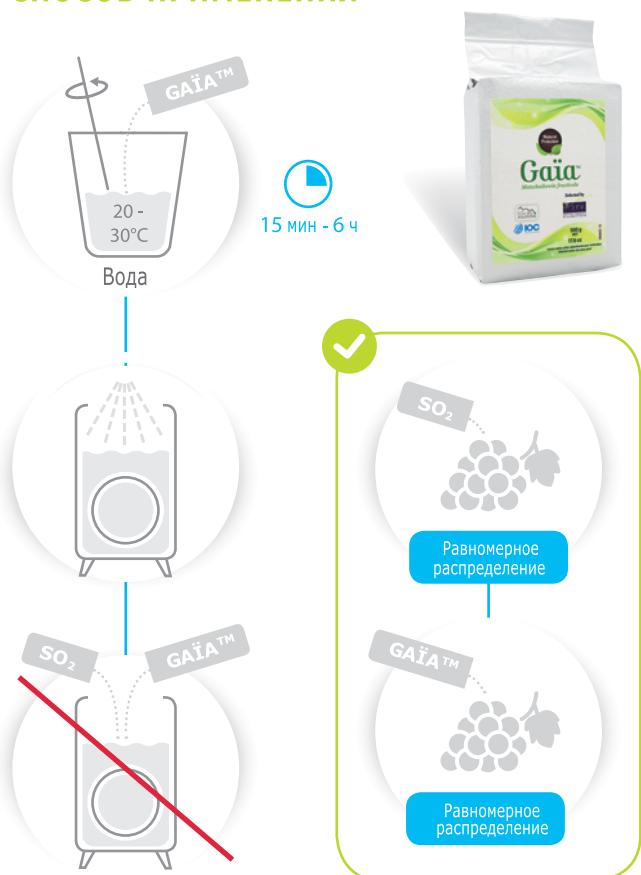
или несвоевременному забраживанию. В связи с этим представляется очевидным, что, чем раньше произвести инокуляцию GAÏA™, тем эффективнее будет биоконтроль.

Температура сусла является ключевым фактором, так как, чем она ниже, тем условия более благоприятны для дрожжей *Metschnikowia fructicola* по сравнению с *Saccharomyces cerevisiae*, и тем надёжнее биозащита, которую они обеспечивают относительно спонтанного начала нежелательного брожения.

ТЕМПЕРАТУРА СУСЛА	0°C	8°C	12°C	16°C
Средняя длительность фазы перед брожением	Несколько недель, возможно, месяцев без бродильной активности	7-10 дней, возможно, больше, затем пониженная бродильная активность	4-5 дней, затем пониженная бродильная активность	2 дня, затем пониженная бродильная активность

БИОЗАЩИТА С GAÏA™: ПРОСТОЙ СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

- Регидратация дрожжей GAÏA™ проводится в воде, не содержащей хлор и сахар, при t=20-30°C. Хорошо перемешать, чтобы разбить образующиеся комки.
- Жизнеспособность дрожжей в полученной суспензии сохраняется в течение 6 часов, поэтому её можно готовить заранее в винце в случае применения на винограднике. Если предполагается использовать суспензию позже, добавить сусло после 45 минут регидратации, чтобы продлить срок её хранения.
- Осторожно перемешать суспензию до однородного состояния перед тем, как равномерно распределить на винограде или в сусле (используя пульверизатор, лейку, постепенное введение в процессе заполнения ёмкости, «ремонтаж» - перемешивание снизу вверх сразу же после инокуляции дрожжей...).
- Биозащита с помощью GAÏA™ может заменить SO₂ или же дополнить его действие. Для этого избегать внесения GAÏA™ одновременно с сульфитацией. Необходимо равномерно распределить SO₂ (не более 5 г/л) во всей массе винограда/сусла перед тем, как добавлять GAÏA™. Таким же образом, если GAÏA™ вносится до проведения сульфитирования, обеспечить равномерное распределение дрожжей в общем объёме перед тем, вводить диоксид серы и производить его перемешивание.
- Принимая во внимание крайне малое потребление азота, при применении GAÏA™ не требуется вносить изменения в схему питания дрожжей, используемых в дальнейшем для проведения брожения.





СПЕЦИАЛЬНЫЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

	ДОЗА	РЕКОМЕНДАЦИИ
Мацерация до брожения винограда красных сортов при низких температурах (холодное настаивание)	7-10 г/л, если санитарное состояние винограда хорошее; до 25 г/л, если высокий pH / плохое санитарное состояние, заражение уксуснокисл. бактер.	Равномерное добавление по мере заполнения ёмкости (или ранее). Не рекомендуется $t > 15^{\circ}\text{C}$, чтобы избежать спонтанного забраживания. Оптимальная температура $< 12^{\circ}\text{C}$.
Пелликулярная мацерация винограда белых сортов	7-10 г/л	Равномерное внесение при заполнении пресса или ранее.
Осветление сусла (белые и розовые вина)	7 г/л	Добавление по мере заполнения ёмкости или ранее. Температура $< 10^{\circ}\text{C}$.
Настой на сусловом (гущевом) осадке / настой сусловых осадков	7-10 г/л	Добавление по мере заполнения ёмкости. Температура $< 8^{\circ}\text{C}$ или $< 12^{\circ}\text{C}$ в зависимости от длительности операции и уровня сульфитации.
Биозащита винограда до транспортировки на винодельню	7-10 г/л	Автоматическая система распыления в виноградоуборочной машине или внесение вручную по мере заполнения кузова (тары). Желательно добавлять дополнительно на дно кузова (тары) в случае вытекания сока при раздавливании ягод в слое винограда.
Хранение / перевозка сусла на холода	10 г/л (20 г/л, если микробная нагрузка в производственном цехе или температура превышает 0°C)	Добавление при заполнении ёмкости. Не поднимать температуру сусла для инокуляции, сохранять температуру около 0°C .
Повышение температуры сусла для проведения вторичного брожения (резервуарный метод)	10 г/л	Добавление в охлаждённое сусло (0°C) перед тем, как поднимать его температуру или ранее.
Виноград, предназначенный для увяливания после сбора	50 г/100 кг	Автоматический пульверизатор для ящиков с виноградом (<i>Gaïa Spray System</i>) или внесение на винограднике накануне сбора. Применение специального набора <i>Gaïa Appassimento</i> .



УЗНАЙТЕ БОЛЬШЕ О ГАЇА™ И БИОЗАЩИТЕ

GERBAUX V., 2016 : Maîtrise du déroulement de la fermentation alcoolique en conditions pratiques. Revue Française d'oenologie 277 : 9-11.

GERBAUX V., DAVANTURE I., GUILLOTEAU A., JULIEN-ORTIZ A., RAGINEL F. ET SILVANO A., 2015 : Macération préfermentaire à froid des vins rouges - *Metschnikowia fructicola* GAÏA MP98.3: une nouvelle voie microbiologique pour sécuriser le procédé et optimiser l'impact sensoriel. Revue des Œnologues 155 :29-33.

KURTZMAN C. et DROBY S., 2011: *Metschnikowia fructicola*, a New Ascosporic Yeast with Potential for Biocontrol of Postharvest Fruit Rots. System. Appl. Microbiol. 24, 395-399.

LACHANCE M.-A., 2011: Chapter 46 *Metschnikowia Kamienski* (1899). The Yeasts. A taxonomic study. Elsevier Science. 593-595.

LIU J., WISNIEWSKI M., DROBY S., TIAN S., HERSHKOVITZ V. et TWORKOSKI T., 2011: Effect of heat shock treatment on stress tolerance and biocontrol efficacy of *Metschnikowia fructicola*. FEMS Microbiol Ecol 76 :145–155.

PILLET O., 2016 : Limitation des teneurs en sulfites par le contrôle de la flore microbienne et de son comportement avant et pendant fermentation alcoolique. Revue des Œnologues 161S.

PILLET O., DAVAUX F., GABILLOT P., PEYROT S., SILVANO A. et ROBILLARD B., 2016 Stratégies de limitation des sulfites dans les vins - Quelle alternatives? Partie 1/3 : L'axe microbiologique, bioprotection et étapes préfermentaires. Revue des Œnologues 21-24. Traduction italienne. Strategie per limitare i solfiti nei vini – quali alternative ? Comparto microbiologico, bioprotezione et stadi pre-fermentativi 11 :14-18.

ЧАСТО ЗАДАВАЕМЫЕ ВОПРОСЫ

Как действует биоконтроль при помощи GAÏA™?

При инокуляции дрожжей GAÏA™, их рост не столь необходим: вносимой популяции оказывается достаточно для контроля микрофлоры. Поэтому речь чаще идёт о выживаемости, а не о размножении. GAÏA™ потребляет очень незначительное количество азота (порядка 10 мг/л).

Может ли GAÏA™ защитить вино от контаминации *Brettanomyces* во время его выдержки?

Можно, но мы не рекомендуем. В процессе регидратации восстанавливаются жизненные функции дрожжевых клеток, и это особенно важно для сред с малым содержанием воды, как, например, недроблённый виноград. Кроме того, при регидратации получают суспензию дрожжей, что крайне необходимо для максимально равномерного распределения и быстрого распространения популяции во всей массе подлежащего защите винограда или сусла.

Очевидно, задействовано несколько механизмов. Высокий уровень плотности популяции, вносимой при инокуляции GAÏA™ и способность выживать в обеднённых средах, как поверхность виноградной ягоды, и в сусле при низких температурах даёт конкурентные преимущества в отношении других микроорганизмов. Кроме того, идёт борьба за тиамин: GAÏA™ отнимает его у дрожжей *Hanseniaspora uvarum*, которым тиамин нужен в большом количестве. Также известно, что GAÏA™ может продуцировать пульхериминовую кислоту, образующую комплексы с железом, что делает его недоступным для гриба *Botrytis cinerea*.

Как дрожжи GAÏA™ могут размножаться, не потребляя или почти не потребляя азот и сахар? Как они выживают?

Используя GAÏA™, можно сократить дозы SO₂, что позволяет избежать сенсорных рисков, связанных с сульфитами: тонн редукции, маскировка фруктовых ароматов, сухость во вкусе. Уменьшается также накопление летучих кислот и этилацетата, наблюдаемое иногда в период до брожения. Непосредственного сенсорного влияния GAÏA™ не было выявлено.

Оказывает ли GAÏA™ сенсорное влияние?

GAÏA™ - технологический инструмент для применения на этапах перед брожением. В присутствии спирта численность популяции GAÏA™ быстро падает в отличие от *Brettanomyces*. Если GAÏA™ может в какой-то мере сдерживать развитие бретаномицетов в предферментационной фазе, то биоконтроль перестаёт действовать при спиртовом брожении, и в благоприятных условиях *Brettanomyces* способны возобновить свой рост. Лучшим способом избежать распространения этой микрофлоры остаётся использование энобактерий, особенно на ранних стадиях (ко-инокуляция).

Можно ли использовать GAÏA™ без регидратации?