


Аспекты использования дрожжей не-*Saccharomyces* в виноделии

Пескова И.В. 

Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, Россия, Республика Крым, 298600, г. Ялта, ул. Кирова, 31

 yarinka-73@mail.ru

Аннотация. Изменение климата приводит к повышению содержания сахара в виноградном сусле, снижению концентрации органических кислот, прекурсоров ароматобразующих веществ и т.д. и, как следствие, к повышению содержания алкоголя, нарушению баланса вкуса и искажению аромата вина и другие проблемы. Технологические подходы, предлагаемые для их решения, хотя и позволяют достичь цели, но часто негативно влияют на качество вина. Перспективной альтернативой является использование микроорганизмов, не относящихся к *Saccharomyces*, продукты метаболизма которых – глицерин, кислоты, маннопротеины, полисахариды и др. – оказывают влияние на органолептические характеристики вина. Так, использование дрожжей *Candida spp.*, *Metschnikowia spp.*, *Lachancea spp.* способствует снижению содержания этанола в винах на 1,5–2,0% об. *Hansensiaspora spp.*, *Pichia spp.*, *Starmerella spp.*, *Torulaspota spp.* и др. отличаются высокой способностью к синтезу глицерина и полисахаридов. Использование консорциума дрожжей *Saccharomyces* и не-*Saccharomyces* для брожения сусла приводит к усилению ароматических и вкусовых характеристик вин. Отмечено, что среди не сахаромикетов присутствуют организмы, синтезирующие малые количества уксусной кислоты и ацетальдегида, что благоприятно влияет на качество получаемых вин. Настоящая работа является результатом систематизации информации, касающейся некоторых аспектов использования дрожжей несхаромикетов в винодельческой промышленности, их влияния на химический состав вин.

Ключевые слова: *Saccharomyces cerevisiae*; не-*Saccharomyces*; снижение содержания этилового спирта; регулирование кислотности; высшие спирты; сложные эфиры; глицерин; маннопротеины.


Для цитирования: Пескова И.В. Аспекты использования дрожжей не-*Saccharomyces* в виноделии // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2021; 23(2):190-200. DOI 10.35547/IM.2021.23.2.014

REVIEW

Prospects of using non-*Saccharomyces* in winemaking

Peskova I.V. 

All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of the RAS, 31 Kirova Str., 298600 Yalta, Republic of Crimea, Russia

 yarinka-73@mail.ru

Abstract. Climate change leads to an increase in the sugar content of grape must, a decrease in the concentration of organic acids, precursors of aroma-producing substances, etc. and, as a consequence, to an increase in the alcohol content, flavor imbalance and distortion of wine aroma and other problems. Even though technological approaches proposed for solution allow to achieve the goal, they often negatively affect the quality of wine. A promising alternative is using of non-*Saccharomyces* microorganisms with their metabolic products - glycerin, acids, mannoproteins, polysaccharides, etc. affecting the organoleptic characteristics of wine. So, using of yeast *Candida spp.*, *Metschnikowia spp.*, *Lachancea spp.* helps to reduce ethanol content in wines by 1.5-2.0% by volume. *Hansensiaspora spp.*, *Pichia spp.*, *Starmerella spp.*, *Torulaspota spp.* and others are distinguished by a high ability to synthesize glycerin and polysaccharides. Using of yeast consortium of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* for must fermentation leads to an increase in the aroma and flavor characteristics of wines. It was noted that among the non-saccharomycetes there are organisms that synthesize small amounts of acetic acid and acetaldehyde, favorably affecting the quality of wines obtained. This work is the result of information systematization concerning some aspects of using non-*Saccharomyces* in winemaking industry, their effect on the chemical composition of wines.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*; non-*Saccharomyces*; ethanol concentration decrease; acidity regulation; higher alcohols; esters; glycerin; mannoproteins.

For citation: Peskova I.V. Prospects of using non-*Saccharomyces* in winemaking. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2021; 23(2):190-200 (in Russian). DOI 10.35547/IM.2021.23.2.014

Введение

Роль дрожжей *Saccharomyces spp.* в превращении виноградного сока в вино достаточно хорошо изучена. Однако научно-технический прогресс не стоит на месте, и это является причиной возникновения ряда проблем, требующих нетрадиционного взгляда на

привычные вещи. Стремление создавать узнаваемую, отличимую от других и уникальную винопродукцию подтолкнуло энологов к поиску новых технологических приемов, одним из которых является поиск микроорганизмов, способствующих раскрытию индивидуальности и повышению качества готовых вин. Большой интерес в этом плане представляют дрожжи не-*Saccharomyces*, являющиеся представителями микрофлоры виноградной ягоды – *Candida*, *Metschnikowia*,

Pichia, Kluyveromyces, Hanseniaspora, Hansenula, Candida, Debaromyces, Rhodotorula и др.

Цель настоящей публикации – систематизация сведений о возможности использования дрожжей не сахаромикетов в современном виноделии.

Микрофлора виноградной ягоды. Состав микробиома виноградной ягоды зависит от ряда факторов – сорта винограда, условий произрастания и др. [1-3]. Исследователями отмечается, что более 50% дрожжевой микрофлоры виноградной ягоды представлены дрожжами не-Saccharomyces, среди которых преобладают *Hanseniaspora, Kloeckera, Metschnikowia, Candida, Pichia, Wickerhamomyces, Zygosaccharomyces* и *Torulaspota* [2]. На рис. 1 представлены результаты исследований, проводимых сотрудниками института «Магарач» по изучению состава микрофлоры винограда (% встречаемости микроорганизмов), поступающего на переработку на ряде предприятий Республики Крым [4]. Авторами показано, что наиболее распространенными представителями микрофлоры виноградной ягоды являются дрожжи апикулятусы (род *Hanseniaspora/Kloeckera*) и сахаромикеты (род *Saccharomyces*), частота встречаемости которых составляла от 80 до 100%. В 50 % случаев в исследуемой микрофлоре были выявлены представители пленчатых дрожжей и *Saccharomyces*. Частота встречаемости представителей других родов дрожжей не превышала 6%.

Использование не-Saccharomyces в виноделии. Ранее дрожжи не-Saccharomyces считались одной из причин получения вин плохого качества. Однако в последнее время произошла переоценка роли этих микроорганизмов в процессе производства вина. Препараты, содержащие не-Saccharomyces (*Schizosaccharomyces pombe, Lachancea thermotolerans* и *Torulaspota delbrueckii* и др.), в настоящее время производятся на промышленном уровне биотехнологическими компаниями [5] (табл. 1).

Снижение концентрации этанола. Глобальное потепление является причиной высокой сахаристости винограда и, как следствие, высокого содержания этилового спирта в винах. Интерес к снижению его содержания в вине, с одной стороны, связан с необходимостью компенсировать влияние глобального повышения температуры на виноград, что приводит к нарушению баланса между кислотностью виноградного сусла, концентрацией сахаров и фенольной зрелостью винограда к моменту его сбора, с другой – с растущим интересом потребителей, заботящихся о своем здоровье, к винопродукции с пониженным содержанием спирта [6, 7]. Существует ряд приемов, способствующих решению дан-

ной проблемы: выбор терруара; подбор сортов винограда с низкой способностью к накоплению сахаров, варьирование нагрузки на куст, ранний сбор урожая; использование ферментов (глюкозооксидазы), нанофильтрации сусла, обратного осмоса и вакуумного фракционного отделения спирта [6, 8, 9]. Несмотря на эффективность данных приемов, каждый из них имеет определенные недостатки. Так, например, ранний

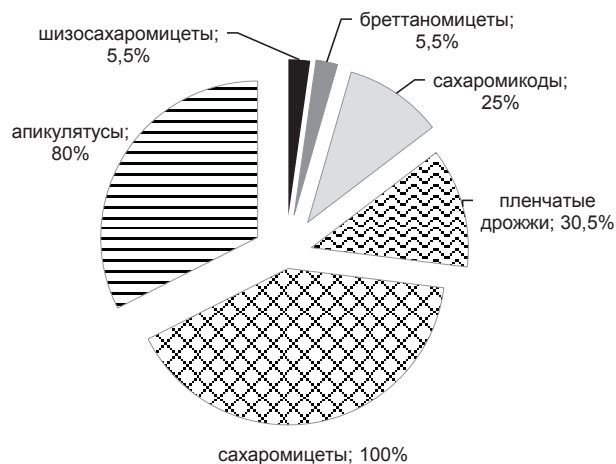


Рис. 1. Качественный состав микрофлоры винограда, поступающего на переработку на ряде предприятий Крыма по [4]

Fig. 1. Qualitative microflora composition of grapes, supplied for processing in a number of Crimean enterprises according to [4]

Таблица 1. Некоторые препараты активных сухих дрожжей не сахаромикетов, представленные на рынке вспомогательных материалов
Table 1. Some active dry yeast preparations, non-saccharomyces, presented on the market of auxiliary materials

Препарат	Область применения	Характеристика
Производитель Lallemand R&D		
FLAVIA	Усиление сортового аромата белых и розовых вин	Чистая культура дрожжей <i>Metschnikowia pulcherrima</i>
LEVEL 2TD	Повышение качества вин	Консорциум дрожжей <i>Torulaspota delbrueckii</i> и <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
BIODIVA	Усиление структуры аромата и вкуса	Чистая культура <i>Torulaspota delbrueckii</i>
Производитель Энартис – Эногруп		
QT	Усложнение ароматики красных вин	Чистая культура <i>Torulaspota delbrueckii</i>
Производитель Oenolina		
Primaflora®VB BIO	Биологическая защита сусла из белых сортов винограда	Чистая культура <i>Torulaspota delbrueckii</i>
Производитель Proenol		
ProMalic	Снижение кислотности	Чистая культура <i>Schizosaccharomyces pombe</i>
Производитель CHR Hansen		
Viniflora® RHYTHM	Рекомендуется для красных сухих вин. Улучшает вкус вина. Рекомендован для вин из сортов Мерло, Зинфандель, Гренаш, Темпранильо и Санджовезе	Консорциум дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (60%) и <i>Lachancea thermotolerans</i> (40%)
Viniflora® HARMONY	Обеспечивает безопасное и надежное алкогольное брожение, усиливает аромат и вкус вина, позволяя производить красные вина с округлым и богатым вкусом с нотками черных фруктов; белые – с усиленными фруктовыми нотками	Консорциум дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Torulaspota delbrueckii</i> и <i>Lachancea thermotolerans</i>

сбор винограда не всегда позволяет получить ожидаемые результаты, поскольку период наступления технологической зрелости чаще всего не совпадает с моментом достижения виноградом фенольной и ароматической зрелости, что необходимо для производства гармоничных вин с развитым ароматом и танинно-бархатистым вкусом, востребованных в настоящее время потребителями [6, 10]. Наряду с потерей части ароматобразующих веществ при проведении операции обратного осмоса или вакуумного фракционного отделения спирта, не стоит забывать о сложности и дороговизне применения данных технологий в промышленном масштабе.

Современным подходом к решению проблемы снижения уровня алкоголя в вине является использование микроорганизмов. Основными микроорганизмами, которым отдают предпочтение производители винопродукции, остаются *Saccharomyces cerevisiae*, преимущество которых перед дрожжами не-*Saccharomyces* или *S. non-cerevisiae*, заключается в способности осуществлять полное сбраживание виноградного сусла в анаэробных условиях.

Получение и применение штаммов дрожжей, способных образовывать малые количества этилового спирта в процессе брожения – одна из задач биотехнологии виноделия, которую решают уже на протяжении более 20 лет [11-13]. Количество образуемого дрожжами этанола зависит от их спиртоустойчивости и спиртообразующей способности. Однако эти показатели являются малоприменимыми в случае оценки штамма дрожжей в аспекте снижения содержания этилового спирта: использование штаммов дрожжей с низкой спиртообразующей способностью может привести к затормаживанию и даже остановке брожения, а не к желаемому снижению концентрации этанола. По мнению Cian M. et al. [14], одним из показателей, на который следует обращать внимание при выборе штамма дрожжей для снижения уровня этанола в вине, является выход спирта с единицы сахара. Согласно мнению авторов, дрожжи *S. cerevisiae*, в том числе и изоляты, выделенные из природной среды, по этому показателю значительно не отличаются, в связи с этим актуальны исследования, направленные на создание генмодифицированных штаммов дрожжей *Saccharomyces spp.* с низкой спиртообразующей способностью. Использование таких микроорганизмов, как показали исследования Tilloy V. et al, способствовало снижению содержания этанола в винах на 0,6–1,3% об. по сравнению с родительским штаммом [11-13]. Модификация затрагивает гены, контролирующие синтез ферментов, участвующих в процессе гликолиза и спиртового брожения – пируватдекарбоксилазу, алкогольдегидрогеназу, триозофосфатизомеразу. Согласно результатам, полученным Varela C. et al. [15], наиболее эффективной стратегией снижения содержания спирта *S. cerevisiae* является сверхэкспрессия гена кодирования фермента глицерин-3-фосфат-дегидрогеназы. Вместе с этим более ранние исследования [16, 17] обнаружили, что избыточная экспрессия данного гена приводит к производству больших количеств метаболитов, отрицательно влияющих на качество вина.

Несмотря на заметный прогресс в промышленной биотехнологии, процесс получения микроорганизмов с нужными свойствами требует определенного времени и не всегда оправдывает ожидания виноделов-практиков, т.к. производство этанола и вторичных продуктов брожения метаболически взаимосвязаны и часто дрожжи *S. cerevisiae*, отличающиеся высокой глицерин- и низкой спиртообразующей способностью, синтезируют большие количества уксусной кислоты, негативно влияющей на органолептические характеристики вина. В связи с этим большую популярность в последнее время получили дрожжи, нетрадиционные для виноделия [18, 19]. Теоретическим обоснованием использования этих микроорганизмов для снижения концентрации этилового спирта в вине, явились особенности их энергетического обмена – баланс между процессами брожения и дыхания при разных условиях.

Ключевым компонентом энергетического метаболизма дрожжей является аденозинтрифосфат (АТФ), роль которого заключается в обеспечении энергией многочисленных биохимических реакций. Образование АТФ в дрожжевой клетке осуществляется в процессе дыхания и/или брожения. Отличительной особенностью некоторых видов дрожжей (в том числе *S. cerevisiae*, *Kluyveromyces spp*, *Torulaspota spp*, *Lachancea spp* [20]) является их способность при высокой концентрации сахаров и в аэробных условиях синтезировать АТФ как в ходе дыхания или брожения, так и при совместном протекании этих двух процессов. Метаболизм глюкозы путем брожения в присутствии кислорода, при подавлении дыхания, называется эффектом Крэбтри, а дрожжи, проявляющие этот признак, – Крэбтри-положительными дрожжами, и, наоборот, микроорганизмы, не обладающие данным свойством, – Крэбтри-отрицательными. По мнению ряда авторов, среди микроорганизмов, представленных на виноградной ягоде, довольно мало Крэбтри-положительных организмов [20-25]. В исследовательской работе Rodrigues A. (Physiological features of *Saccharomyces cerevisiae* and alternative wine yeast species in relation to alcohol level reduction in wine, 2019) представлена систематизация наиболее часто встречаемых представителей микрофлоры виноградной ягоды по их физиологической категории – Крэбтри-положительные и Крэбтри-отрицательные микроорганизмы (табл. 2).

Таблица 2. Физиологическая категория некоторых представителей дрожжевой микрофлоры виноградной ягоды

Table 2. Physiological category of some representatives of the yeast microflora of grape berries

Крэбтри-положительные	Крэбтри-отрицательные
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i>
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	<i>Pichia anomala</i>
<i>Brettanomyces intermedius</i>	<i>Candida utilis</i>
<i>Torulopsis glabrata</i>	<i>Hansenula neofermentans</i>
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>
<i>Candida stellata</i>	<i>Torulaspota delbrueckii</i>

Одним из факторов, влияющим на проявление эффекта Крэбтри, является концентрация глюкозы, которая, согласно исследованиям Verduyn C. et al., должна составлять около 150 мг/дм³ [26]. Продолжение исследований, направленных на установление граничных значений концентраций сахаров, соответствующих минимуму Крэбтри-эффекта, имеет большое значение в виноделии для получения сухих активных культур микроорганизмов.

S. cerevisiae являются Крэбтри-положительными дрожжами, т.е. они способны утилизировать глюкозу в аэробных условиях в процессе дыхания, следовательно, эти микроорганизмы теоретически можно использовать для снижения содержания этанола в вине. И, как показали исследования Quirós M. et al. [27], брожении в аэробных условиях на *S. cerevisiae* приводит к снижению содержания этанола по сравнению с брожением в анаэробных условиях. Однако одновременно с этим явлением авторами было отмечено увеличение концентрации уксусной кислоты, негативно влияющей на качество получаемых вин.

Вместе с тем проведение брожения на Крэбтри-отрицательных дрожжах – *Kluveromyces spp.*, *Metschnikowia spp.*, *Candida spp.*, *Torulaspora delbrueckii* и *Zygosaccharomyces bailii*, *Lachancea thermotolerans*, как показал ряд исследований [27-31], способствует не только снижению концентрации этанола, но и уксусной кислоты. В случае использования *Torulaspora delbrueckii* и *Zygosaccharomyces bailii* концентрация этанола в вине снижалась на 1,5–2,0% об. [28]; *Lachancea thermotolerans* – на 0,6–1,4% об. [32]. В случае использования *Lachancea thermotolerans* снижение содержания этанола связано со способностью данных микроорганизмов метаболизировать сахара в процессе брожения виноградного сусла двумя путями – трансформация пирувата в лактат с участием лактатдегидрогеназы и в этанол с участием алкогольдегидрогеназы [32-35] (рис. 2). Таким образом, использование части глюкозы для синтеза молочной кислоты приводит к

снижению концентрации этилового спирта.

Практика показала, что наиболее перспективным приемом снижения концентрации этанола является совместное использование *Saccharomyces spp.* и дрожжей не сахаромецетов [36-39]. Такой подход позволяет избежать затухания или вялого брожения за счет поэтапного метаболизма глюкозы сначала в аэробных условиях дрожжами не сахаромецетами, а затем в анаэробных условиях – *Saccharomyces spp.* до полного сбраживания. В частности, сообщалось о снижении концентрации этанола от 0,9 до 1,6% об. при совместном культивировании дрожжей *S. cerevisiae*, *Candida zemplinina*. и *Metschnikowia pulcherrima* по сравнению с концентрацией этанола в вине при брожении на монокультуре *S. cerevisiae* [36-40]. В случае использования *L. thermotolerans* существенное снижение этилового спирта наблюдалось при совместном использовании *L. thermotolerans* с более сильными бродильщиками – *S. cerevisiae* и *S. pombe* [41].

Регулирование кислотности. В практике виноделия чаще стоит задача снижения кислотности с чем успешно справляются молочно-кислые бактерии *Oenococcus oeni* и различные виды *Lactobacillus* и *Pediococcus* за счет преобразования L-яблочной кислоты в L-молочную, в результате чего улучшается аромат и облагораживается, смягчается вкус вина. Яблочно-молочное брожение может начаться естественным путем, но в производственных условиях его обычно инициируют путем внесения *O. oeni*, что предотвращает появление нежелательных бактерий, негативно влияющих на качество вина.

Снизить кислотность возможно не только путем яблочно-молочного брожения. В 1980-1990 годах в институте «Магарач» Кишкковской С.А. и сотр. в результате селекции был получен штамм *Schizosaccharomyces* КП-1, хорошо зарекомендовавший себя в производственных условиях. На основании изучения биологии дрожжей *Schizosaccharomyces*, влияния продуктов их метаболизма на качество вин была разработана

технология биологического кислотопонижения виноградного сусла/мезги [42]. Технология прошла производственные испытания на предприятиях отрасли стран СНГ и была принята к внедрению. Совместно с Институтом микробиологии Латвии впервые были получены препараты активных сухих дрожжей *Schizosaccharomyces*, которые были успешно апробированы в производстве столовых и крепленых виноматериалов.

Возможность использования *S. pombe* для регулирования кислотности вина связана с их способностью развивать яблочно-спиртовое брожение, в ходе которого практически вся L-яблочная кислота может трансформироваться в этанол (рис. 3): яблочная кислота транспортируется в дрожжевую клетку с помощью переносчика карбоновых кислот (mae1p), затем при участии малатдегидрогеназы трансформируется в пируват, который поступает в митохондрии [43].

В отличие от *S. cerevisiae*, у которых ма-

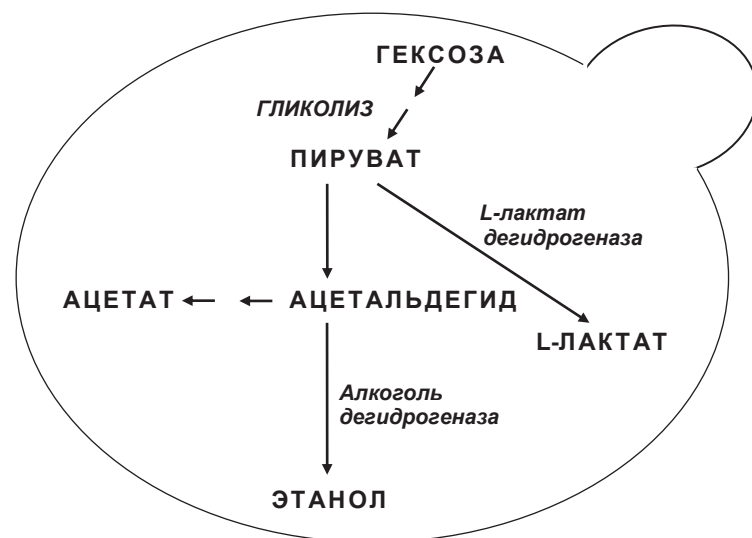


Рис. 2. Схематическое изображение ферментативного метаболизма сахаров *L. thermotolerans* по [34]

Fig. 2. Schematic representation of fermentative metabolism of sugars *L. thermotolerans* according to [34]

латдегидрогеназа расположена в митохондриях (практически не функционирующих в условиях виноделия), *Schizosaccharomyces pombe* имеет активную транспортную систему для поглощения внеклеточной яблочной кислоты и достаточно активную малатдегидрогеназу, содержащуюся в цитозоле [43]. Степень разложения L-яблочной кислоты *Schizosaccharomyces pombe* зависит от штамма и обычно колеблется от 75% до 100% [44, 45].

Несмотря на то, что *Schizosaccharomyces pombe* способны значительно снизить содержание яблочной кислоты, некоторыми исследователями отмечалась их способность синтезировать метаболиты, негативно влияющие на органолептические характеристики вина – уксусная кислота, биогенные амины [25, 46]. Кроме того, брожение на *S. pombe* может приводить к увеличению содержания этилового спирта – разложение 2,33 г/дм³ яблочной кислоты дает около 0,1% об. этанола [47]. По мнению авторов [47], это один из проблемных моментов широкого использования данных микроорганизмов для биологического кислотопонижения в промышленных масштабах. Были предприняты попытки решить данную проблему путем проведения частичного брожения с использованием *S. pombe* или с использованием иммобилизованных клеток *S. pombe*, но ни один из этих подходов не был полностью успешным.

Не менее интересными в аспекте снижения кислотности сусле являются дрожжи *Issatchenkia orientalis* (*Pichia kudriavzevii*), выделенные корейскими учеными в результате исследования микрофлоры винограда [48] и обладающий высокой метаболической активностью в отношении яблочной кислоты. Этот вид дрожжей чувствителен к этанолу и присутствует в сусле в небольших количествах только в начале брожения. S.K. Hong et al [48] показали, что снизить концентрацию яблочной кислоты на 91±6% по сравнению с исходными значениями возможно при использовании иммобилизованных (на древесном угле с использованием альгината натрия) дрожжей *Issatchenkia orientalis*. Авторы отмечают, что наиболее активно метаболизм яблочной кислоты происходил в первые 12 ч после внесения иммобилизаторов.

Известно, что высокой кислотностью характеризуется виноград, выращиваемый в прохладных регионах. Однако в последние годы в связи с изменением климата встал вопрос не снижения, а сохранения кислотности вин. В связи с этим приобрели актуальность исследования, направленные на поиск биотехнологических приемов решения данной проблемы. *Lachancea thermotolerans* – дрожжи, вызывающие в последнее время особый интерес из-за их способности синтезировать во время спиртового брожения молочную кислоту (до 9,6 г/дм³) и глицерин [49]. Результаты исследований показали, что использование *L. thermotolerans* при производстве вин способствует повышению концентрации молочной кислоты до 3,18 г/дм³ и снижению pH на 0,22 [32]; увеличению общей кислотности на 5,40–6,28 г/дм³ [50].

Учитывая особенности метаболизма дрожжей

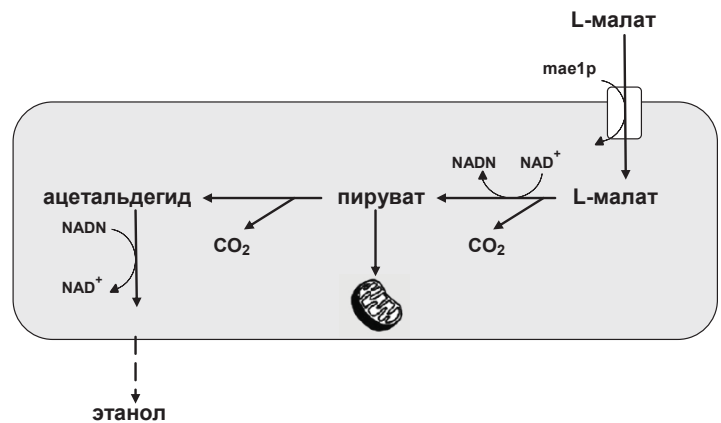


Рис. 3. Схематическое изображение разложения L-яблочной кислоты *Schizosaccharomyces pombe* по [43]

Fig. 3. Schematic representation of breakdown of L-malic acid *Schizosaccharomyces pombe* according to [43]

L. thermotolerans, Benito A. et al. предложили для регулирования кислотности вин использовать консорциум микроорганизмов *Schizosaccharomyces pombe* и *Lachancea thermotolerans* [51] – в то время как яблочная кислота потребляется *Schizosaccharomyces pombe*, *Lachancea thermotolerans* компенсирует снижение кислотности вина путем синтеза молочной кислоты.

L. thermotolerans обладают еще одной интересной особенностью. Эти дрожжи способны метаболизировать уксусную кислоту в качестве источника углерода, что позволяет их использовать для процесса биологической деацетификации вин с высокой летучей кислотностью [52]. Отмечено, что метаболизм уксусной кислоты *L. thermotolerans* зависит от ряда факторов – от кислорода (метаболизм должен больше сдвинут в сторону дыхания) и концентрации сахаров (высокие концентрации сахаров препятствуют или затормаживают потребление уксусной кислоты) [52]. Способность снижать концентрацию уксусной кислоты обнаружена и у дрожжей *T. delbrueckii* [23].

Кроме рассмотренных микроорганизмов изменять кислотность вина способны *Candida stellata* (повышение кислотности за счет синтеза янтарной кислоты), *Z. florentinus* (синтезирует небольшие количества уксусной кислоты, некоторые штаммы потребляют уксусную кислоту), *Starmerella bacillaris* (утилизируют яблочную и уксусную кислоту; синтезируют пировиноградную кислоту) [53-55].

Влияние на органолептические характеристики вина. Формирование аромата, цвета и вкуса вина связывают не только с веществами, переходящими в вино из винограда, но и с продуктами их трансформации, а также новыми соединениями, образующимися в процессе брожения в результате жизнедеятельности микроорганизмов. Состав ароматобразующего комплекса вина является следствием взаимодействия ряда факторов биотической (микроорганизмы) и абиотической (условия брожения, созревания, хранения, выдержки и др.) природы. В процессе своей жизнедеятельности не-*Saccharomyces* образуют вещества, играющие важную роль в формировании органолептического качества вин [32, 51, 56-62] (табл. 3).

Одной из групп веществ, основная масса кото-

Таблица 3. Влияние некоторых не-Saccharomyces на химический состав вина по [62]**Table 3.** The effect of some non-Saccharomyces on the chemical composition of wines according to [62]

Дрожжи	Действие
<i>Starmerella bacillaris</i>	глицерол ↑
<i>Hanseniaspora vineae</i>	ацетаты (особенно 2-фенил-этил-ацетат) ↑, терпены ↑, биогенные амины ↓
<i>Hansenula anomala</i>	C ₆ -спирты ↓
<i>Lachancea thermotolerans</i>	L-молочная кислота ↑, кислотность ↑
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	эфир ↑, терпены ↑, тиолы ↑
<i>Pichia guilliermondii</i>	стабильность цвета ↑
<i>Pichia kluyveri</i>	тиолы ↑, эфиры ↑
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	L-яблочная кислота ↓, кислотность ↓
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	уксусная кислота ↓, эфиры ↑, тиолы ↑
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	полисахариды ↑

рых образуется в процессе брожения и участвует в формировании фруктовых оттенков аромата вин, являются эфиры. Среди них значительное влияние на аромат вина оказывают этилацетат (фруктовый, растворитель), изоамилацетат (грушевая эссенция), изобутилацетат (банановый аромат), этилгексаноат (яблочный аромат) и 2-фенилэтилацетат (медовый, фруктовый, цветочный аромат). Образование эфиров осуществляется в процессе метаболизма липидов и ацетил-СоА дрожжами и в ходе выдержки вина в результате этерификации высших спиртов. Исследование биосинтетической способности дрожжей, не относящихся к *S. cerevisiae*, показало их возможность влиять на состав и содержание эфиров в вине. Так, несмотря на невысокую эфиробразующую способность дрожжей *L. thermotolerans*, отмеченную рядом исследователей [32, 50], эти дрожжи синтезировать большие (в сравнении с *S. cerevisiae*) количества этилбутаноата и этиллактата [63-65]. Использование консорциума дрожжей *Hanseniaspora guilliermondii*, *Pichia anomala* и *S. cerevisiae*, приводило к увеличению (в сравнении с брожением на монокультуре *S. cerevisiae*) концентрации эфиров уксусной кислоты; а совместное использование *S. cerevisiae* с *M. pulcherrima*, *Pichia kluyveri* – к накоплению этилоктаноата [62]. *S. pombe* характеризуется менее выраженной эфир- и спиртообразующей способностью по сравнению с *S. cerevisiae* и другими видами дрожжей [41, 59]. По мнению ряда авторов, эта особенность *S. pombe* может быть весьма полезной при желании производить вино с выраженными сортовыми особенностями винограда [58, 66, 67].

В целом варьирование используемых для производства вина микроорганизмов и/или их консорциумов, является средством для регулирования количественного и качественного состава эфиров вина и, как следствие, одним из способов направленного формирования органолептического качества получаемой продукции. Однако при этом необходимо помнить, что состав и концентрация комплекса эфиров (и других ароматобразующих компонентов) определяется не только штаммом используемых дрожжей,

но и составом сырья – одни и те же микроорганизмы при производстве вин из разных сортов винограда могут как увеличивать концентрацию эфиров, так и снижать ее. Такие противоречивые сведения были получены при использовании консорциума дрожжей *S. cerevisiae* и *M. pulcherrima* [56, 68, 69] и монокультуры *T. delbrueckii* [67, 70-72].

Высшие спирты – вторичные продукты метаболизма дрожжей, которые могут оказывать как положительное так и отрицательное влияние на аромат вина. Концентрация высших спиртов выше 400 мг/дм³ придает неприятный острый запах и вкус вину, в то время как при содержании не более 300 мг/дм³ – фруктовый аромат. Как и в случае других групп ароматобразующих веществ, состав высших спиртов и их содержание зависит от сорта винограда и штамма дрожжей. Наиболее активными продуцентами высших спиртов остаются *Saccharomyces cerevisiae* (способны синтезировать до 300 мг/дм³) [56], не-Saccharomyces образуют более низкие их количества [49, 73]. Вместе с этим, совместное использование дрожжей *S. cerevisiae* и не-Saccharomyces позволяет в какой-то степени корректировать состав и содержание высших спиртов в вине. Так, проведение брожения с использованием *Pichia fermentans* и *S. cerevisiae* приводило к увеличению содержания 1-пропанола (сивушный), н-бутанола (сивушный) и 1-гексанола (зеленая трава), *S. cerevisiae* и *L. thermotolerans* – 2-фенилэтанола (цветочный, роза) [56] в сравнении с брожением на монокультуре *S. cerevisiae*. Снижению суммарной концентрации высших спиртов способствовало проведение брожения суслу на *T. delbrueckii* и *S. cerevisiae* [66]; *L. thermotolerans* и *S. cerevisiae* [32, 49, 50]. В то же время Comitini F. et al. [64] отмечали увеличение концентрации высших спиртов в винах, полученных с использованием *L. thermotolerans*. По мнению ряда ученых, такие противоположные результаты объясняются особенностями разных штаммов дрожжей в плане способности образовывать высшие спирты, а также условиями проведения брожения, в частности, доступностью кислорода [74, 75, 76].

Сортовой аромат некоторых вин во многом определяется терпеновыми веществами, содержащимися в виноградной ягоде. Большая часть этих соединений в винограде представлена в виде гликозилированных форм – β-D-глюкопиранозидов или более сложных дисахаридов (6-O-(α-L-арабинофуранозил)-β-D-глюкопиранозиды, 6-O-(α-L-рамнопиранозил)-β-D-глюкопиранозиды и 6-O-(β-D-апиофуранозил)-β-D-глюкопиранозиды). До 50% (в зависимости от сорта винограда) гликозилированных форм терпенов представлены апиозилгликозидами, затем следуют рутинозиды (от 6% до 13%) и, наконец, глюкозиды (от 4% до 9%). Качественный состав и количественное содержание гликозилированных форм терпенов зависит от сорта винограда. Они не обладают запахом, в результате их ферментативного и/или химического гидролиза происходит высвобождение обладающих

запахом агликонов, которые и участвуют в формировании сортового аромата вин. Ферментативный гидролиз моногликозидов происходит при участии β -глюкозидазы, в то время как гидролиз дисахаридных гликозидов представляет собой двухэтапный процесс: на первом этапе при участии соответствующей экзогликозидазы отщепляется внешний остаток сахара, на втором – β -глюкозидаза катализирует процесс отщепления глюкозы (рис. 4).

Информации, касающейся гликозидазной активности винодельческих штаммов дрожжей немного. Исследователями отмечено, что в большинстве случаев, *S. cerevisiae* отличаются низкой активностью α -рамнозидазы, α -арабинозидазы или β -апиозидазы [77]. Напротив, дрожжи не-Saccharomyces (*Kloeckera spp.*, *Candida spp.*, *Debaryomyces spp.*, *Rhodotorula spp.*, *Pichia spp.*, *Zygosaccharomyces spp.*, *Hanseniaspora spp.* и *Kluyveromyces spp.*) продуцируют внеклеточную β -глюкозидазу, активность которой зависит от рода дрожжей, и играют важную роль в гидролизе гликозилированных форм терпенов [2, 56, 63]. Способностью гидролизировать связанные формы терпеновых спиртов обладают *T. delbrueckii*, *L. thermotolerans* [56, 63]. Эта способность в значительной мере зависит от штамма микроорганизмов. Степень гликозидазной активности не сахаромикетов зависит от ряда факторов. Так, например, β -глюкозидазы *C. molischiana*, *C. wickerhamii* и *P. anomala*, более устойчивы к условиям виноделия (низким значениям pH, низким температурам, высоким уровням сахара или этанола) чем у других видов дрожжей, а β -глюкозидазная активность дрожжей *Hansenula*, зависит от концентрации глюкозы [2]. Некоторые штаммы *T. asahii* способны продуцировать большие количества β -глюкозидазы в условиях низкого pH, а *H. uvarum* и *S. cerevisiae* показали более высокую продукцию β -глюкозидазы при высоком содержании сахара [78].

Исследования состава ароматобразующего комплекса вин, полученных с использованием не сахаромикетов, выявили способность дрожжей *L. thermotolerans* накапливать в среде хо-триенол и нерол, *Pichia kluyveri* – хо-триенол и оксид-линалоол; *D. pseudopolymorphus* и *S. cerevisiae* – цитронеллол, нерол и гераниол [79]. Значительным изменениям подвергается ароматобразующий комплекс вин при использовании консорциумов культур. Так, некоторыми исследователями отмечено увеличение концентрации терпеновых спиртов при совместное использование *D. vanriji* и *S. cerevisiae*; *C. zemplinina* и *S. cerevisiae*; *T. delbrueckii* и *S. cerevisiae* [68, 80].

Оценивая влияние дрожжей не сахаромикетов на органолептическое качество вина, нельзя не отметить особенность некоторых микроорганизмов образовать

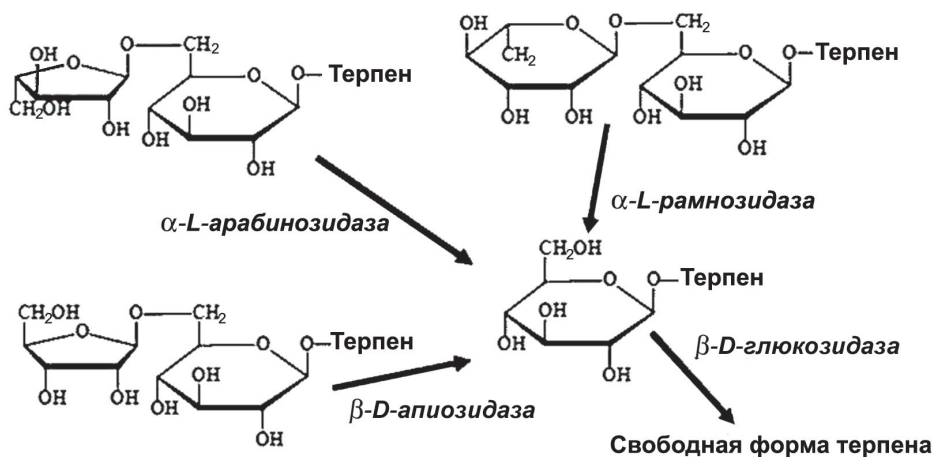


Рис. 4. Гидролиз дисахаридов по [2]
Fig. 4. Disaccharide hydrolysis according to [2]

небольшие количества ацетальдегида и уксусной кислоты. Такая особенность характерна для дрожжей *T. delbrueckii* [81] или *L. thermotolerans* [82]. Другие виды, такие как *Schizosaccharomyces sp.*, могут образовывать уксусную кислоту в концентрациях, превышающих пороговую.

Большое количество исследований в области изучения возможности использования не сахаромикетов в виноделии, посвящена их роли в обогащении вина полисахаридами [83-87]. Источником полисахаридов вина является как виноград (арабиногалактаны) так и дрожжи *Saccharomyces spp.* (маннопротеины, образующиеся во время спиртового брожения или выдержки на дрожжевых осадках) [83, 84]. В ряде работ показано, что не-Saccharomyces способны выделять большие количества маннопротеинов, чем *Saccharomyces* [66, 83, 85]. Так, например, исследования Domizio P. et al. [88] показали, что количество полисахаридов, высвобождаемое в среду к концу спиртового брожения штаммами *Schizosaccharomyces*, примерно в 3-7 раз превышало такое в случае использования *S. cerevisiae* и зависело от используемого штамма – в условиях эксперимента большее количество полисахаридов было обнаружено при сбраживании на *Schizosaccharomyces japonicus* в сравнении с *Schizosaccharomyces pombe*. Высокой способностью к синтезу данных соединений отличаются некоторые штаммы *Hanseniaspora osmophila*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia fermentans*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Starmerella bacillaris*, *Torulasporea delbrueckii* и *Zygosaccharomyces florentinus*, выделенные с виноградной ягоды [83, 87].

Одним из преимуществ дрожжей не-Saccharomyces перед *Saccharomyces* является, отмечаемая многими исследователями способность синтезировать большие количества глицерина, оказывающего благоприятное влияние на вкус вина [66, 89, 90]. Такая особенность не сахаромикетов обусловлена высокой активностью глицерин-3-фосфатдегидрогеназы по сравнению с алкогольдегидрогеназой [91]. Некоторые авторы отмечают, что увеличение концентрации глицерина обычно связано с увеличением концентрации уксусной кислоты, что может отрицательно сказаться на качестве вина [92]. Такой вывод был сделан при

исследовании дрожжей *Candida stellata*, способных синтезировать от 10 до 14 г/дм³ глицерина, тогда как *S. cerevisiae* обычно образуют от 4 до 10 г/дм³ глицерина. Использование дрожжей *T. delbrueckii* способствует накоплению глицерина в вине без увеличения содержания уксусной кислоты [66, 89].

Это только некоторые аспекты использования дрожжей не-Saccharomyces в виноделии. Сфера их применения в производстве вина может быть достаточно широкой – от интенсификация цвета красных вин за счет увеличения содержания пиреоантицианидинов (некоторыми исследователями отмечено увеличение концентрации пиреоантицианидинов при использовании *S. pombe* [24, 25] и *L. thermotolerans* [22, 35, 93] до обеспечения безопасности пищевых продуктов [94] – снижение концентрации глюконовой кислоты (рядом исследователей отмечена способность некоторых штаммов *S. pombe* удалять до 91 % глюконовой кислоты из вина во время алкогольного брожения [94] – известно, что глюконовая кислота может быть причиной микробной нестабильности и повышенной летучей кислотности вин); биогенных аминов [94] и др.

Заключение

Таким образом, проблемы и задачи современного виноделия, обусловленные изменением климата, потребностью в новых механизмах управления качеством с целью повышения конкурентоспособности отечественных вин, требуют новых подходов к их решению. Одним из них является рациональное использование биопотенциала микроорганизмов, в частности, дрожжей не-Saccharomyces, которые, благодаря особенностям энергетического метаболизма, являются достаточно перспективным средством снижения концентрации этилового спирта. Наибольший интерес в этом аспекте представляют дрожжи *Kluyveromyces spp.*, *Metschnikowia spp.*, *Candida spp.*, *Torulaspora delbrueckii* и *Zygosaccharomyces bailii*, *Lachancea thermotolerans*, а также консорциумы микроорганизмов, в состав которых входят как сильные бродильщики (чаще всего *S. cerevisiae*) и не сахаромыцеты – *Candida zemplinina*, *Metschnikowia pulcherrima*, *L. thermotolerans*.

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют об эффективности дрожжей не-Saccharomyces в аспекте регулирования кислотности вин, как в сторону ее снижения, например, за счет метаболизма яблочной кислоты дрожжами *Schizosaccharomyces pombe* и *Issatchenkia orientalis*, так и увеличения – за счет синтеза молочной кислоты *Lachancea thermotolerans*. Согласно литературным данным, совместное использование *Schizosaccharomyces pombe* и *Lachancea thermotolerans* является возможной альтернативой использования молочнокислых бактерий для проведения яблочно-молочного брожения. Исследования в данном направлении продолжаются. Значительную роль дрожжи не-Saccharomyces оказывают на формирование органолептических характеристик вина. Исследователями отмечается отличительная способность не-Saccharomyces в аспекте не только трансформации компонентов виноградного сусла (например, гликозилированных форм), что характерно для представителей *Kloeckera*, *Candida*, *Debaryomyces*,

Rhodotorula, *Pichia*, *Zygosaccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, но и синтеза компонентов, оказывающих непосредственное влияние на формирование аромата, цвета и вкуса вин – *Hanseniaspora osmophila*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia fermentans*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Starmerella bacillaris*, *Torulaspora delbrueckii* и *Zygosaccharomyces florentinus*.

Несмотря на это, использование не-Saccharomyces в виноделии требует проведения дополнительных исследований, касающихся не только выделения новых, эффективных в производственных условиях штаммов микроорганизмов, их биосинтетической способности, но и факторов, влияющих на метаболизм микроорганизмов, взаимоотношений (антагонизм или коадаптация, взаимодействие) с дрожжами других видов, в частности с *S. cerevisiae*.

Источник финансирования

Не указан.

Financing source

Not specified.

Конфликт интересов

Не заявлен.

Conflict of interests

Not declared.

References

1. de Ponzzes-Gomes C. M.P.B.S., de Mélo D.L.F.M., Santana C. A., Pereira G.E., Mendonça M. O.C., Gomes F. C.O., Oliveira E.S., Barbosa Jr A.M., Trindade R.C., Rosa C.A. *Saccharomyces cerevisiae* and не-Saccharomyces yeasts in grape varieties of the São Francisco Valley. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2014;45(2):411-416.
2. Mateo J.J., Maicas S. Application of He-Saccharomyces Yeasts to Wine-Making Process. *Fermentation*. 2016;2:14.
3. Ageeva N. M., Suprun I. I., Prakh A.V. Variety of microorganisms groups living on berries of grapes. *Scientific Journal of CubSAU*. 2015;111(07):1586-1595 (in Russian).
Агеева Н.М., Супрун И.И., Прах А.В. Видовое многообразие микрофлоры на ягодах винограда // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2015;111(07):1586-1595.
4. Tanashchouk T.N., Zagorouiko V.A., Skorikova T.K., Kukhareno O.Ye., Shalamitskii M.Yu., Travnikova Ye.E. Evaluation of the risks associated with the production of sparkling wines based on a study of the ecology of wild yeast and bacterial microflora. *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 2013;2:19-22 (in Russian).
Танашчук Т.Н., Загоруйко В.А., Скорикова Т.К., Кухаренко О.Е., Шаламитский М.Ю., Травникова Е.Э. Оценка рисков производства шампанских виноматериалов и вин на основе изучения экологии дрожжевой и бактериальной дикой микрофлоры // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2013;2:19-22.
5. Morata A., Suarez-Lepe J.A. New biotechnologies for wine fermentation and ageing. In *Advances in Food Biotechnology*, 1st ed.; Ravishankar Rai, V., Ed.; John Wiley & Sons, Ltd.: West Sussex, UK. 2016:287-301.
6. Kontoudakis N., Esteruelas M., Fort F., Canals J.M., De Freitas V., Zamora F. Influence of the heterogeneity of grape phenolic maturity on wine composition and quality. *Food Chem*. 2011;124:767-774.
7. Kontoudakis N., Esteruelas M., Fort F., Canals J.M., Zamo-

- ra, F. Use of unripe grapes harvested during cluster thinning as a method for reducing alcohol content and pH of wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 2011;17:230–238.
8. García-Martín N., Perez-Magariño S., Ortega-Heras M., González-Huerta C., Mihnea M., González-Sanjosé M. L., Palacio L., Prádanos P., Hernández A. Sugar reduction in musts with nanofiltration membranes to obtain low alcohol-content wines. *Separation and Purification Technology.* 2010;76(2):158–170.
9. Pati S., La Notte D., Clodoveo M. L., Cicco G., Esti M. Reverse osmosis and nanofiltration membranes for the improvement of must quality. *Eur Food Res Technol.* 2014; 239:595–602.
10. Ostroukhova E.V., Peskova I.V., Probeigolova P.A., Verik G.N. A study of the interrelationship between the carbohydrate and acid maturity and the phenolic maturity of the grape 'Cabernet- Sauvignon'. *Magarach. Viticulture and Winemaking.* 2012;1:30–32 (in Russian).
Остроухова Е.В., Пескова И.В., Пробейголова П.А., Верик Г.Н. Исследование взаимосвязи углеводно-кислотной и фенольной зрелости винограда сорта Каберне-Совиньон // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2012;1:30–32.
11. Schmidtke L.M., Blackman J.W., Agboola S.O. Production technologies for reduced alcoholic wines. *J Food Sci.* 2012;77(1):25–41.
12. Kutyna D.R., Varela C., Henschke P.A., Chambers P.J., Stanley G.A. Microbiological approaches to lowering ethanol concentration in wine. *Trends Food Sci Technol.* 2010;21(6):293–302.
13. Tilloy V., Ortiz-Julien A., Dequin S. Reduction of ethanol yield and improvement of glycerol formation by adaptive evolution of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* under hyperosmotic conditions. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80(8):2623–2632.
14. Cian M., Morales P., Comitini F., Tronchoni J., Canonico L., Curiel J.A., Oro L., Rodrigues A.J., Gonzalez R. Non-conventional Yeast Species for Lowering Ethanol Content of Wines. *Frontiers in Microbiology.* 2016;7:article 642.
15. Varela C., Kutyna D.R., Solomon M.R., Black C.A., Borneman A., Henschke P.A. Evaluation of gene modification strategies for the development of low-alcohol-wine yeasts. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012;78:6068–6077.
16. Remize F., Roustan J.L., Sablayrolles J.M., Barre P., Dequin S. Glycerol overproduction by engineered *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains leads to substantial changes in by-product formation and to a stimulation of fermentation rate in stationary phase. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999;65:143–149.
17. Cambon B., Monteil V., Remize F., Camarasa C., Dequin S. Effects of GPD1 over expression in *Saccharomyces cerevisiae* commercial wine yeast strains lacking ALD6 genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006;72:4688–4694.
18. Gonzalez R., Quirós M., Morales P. 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.* 2013; 29(1):55–61.
19. Gobbi M., De Vero L., Solieri L., Comitini F., Oro L., Giudici P., Ciani M. Fermentative aptitude of non-*Saccharomyces* wine yeast for reduction in the ethanol content in wine. *Eur Food Res Technol.* 2014;239(1):41–48.
20. Hagman A., Piškur J. A study on the fundamental mechanism and the evolutionary driving forces behind aerobic fermentation in yeast. *PLoS One.* 2015;10(1):e0116942.
21. Ortiz M.J., Barrajon N., Ba M.A., Arevalo-Villena M., Briones A. Spontaneous must fermentation: Identification and biotechnological properties of wine yeasts. *LWT Food Sci. Technol.* 2013;50:371–377.
22. Benito S. The impacts of *Lachancea thermotolerans* yeast strains on winemaking. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018;102:6775–6790.
23. Benito S. The impact of *Torulaspora delbrueckii* yeast in winemaking. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018;102:3081–3094.
24. Benito S., Palomero F., Gálvez L., Morata A., Calderón F., Palmero D., Suárez-Lepe J.A. Quality and composition of red wine fermented with *Schizosaccharomyces pombe* as sole fermentative yeast, and in mixed and sequential fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Technol. Biotechnol.* 2014;52:376–382.
25. Benito S. The impacts of *Schizosaccharomyces* on winemaking. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2019;103:4291–4312.
26. Verduyn C., Zomerdijs T. P. L., van Dijken J. P., Scheffers W.A. Continuous measurement of ethanol production by aerobic yeast suspensions with an enzyme electrode. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 1984;19(3):181–185.
27. Quirós M., Rojas V., Gonzalez R., Morales P. Selection of non-*Saccharomyces* yeast strains for reducing alcohol levels in wine by sugar respiration International. *Journal of Food Microbiology.* 2014;181:85–91.
28. Contreras A., Hidalgo C., Schmidt S., Henschke P.A., Curtin C., Varela C. 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.* 2015;205:7–15.
29. Peskova I., Tanashchuk T., Ostroukhova E., Slastya E., Levchenko S., Lutkova N. Prospects of using *Lachancea thermotolerans* yeast in winemaking. *E3S Web of Conferences.* 2021;247:01012.
30. Bely M., Renault P., da Silva T., Masneuf-Pomerade I., Albertin W., Moine V., Coulon J., Sicard, D., de Vienne, D., Marullo, P. Non-conventional yeasts and alcohol level reduction. In: *Teissedre P.-L. Alcohol Level Reduction in Wine. Vigne et Vin Publications Internationales*, 2013;33–37.
31. Contreras A., Hidalgo C., Henschke P.A., Chambers P.J., Curtin C., Varela C. Evaluation of non-*Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *Appl Environ Microb.* 2014;80:1670–1678.
32. Benito A., Calderon F., Palomero F., Benito S. Quality and composition of Airen wines fermented by sequential inoculation of *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Technol Biotechnol.* 2016;54(2):135–144.
33. Banilas G., Sgouros G., Nisiotou A. Development of microsatellite markers for *Lachancea thermotolerans* typing and population structure of wine-associated isolates. *Microbiol. Res.* 2016;193:1–10.
34. Hranilovic A., Gambetta J.M., Schmidtke L., Boss P.K., Grbin P.R., Masneuf-Pomarede I., Bely M., Albertin W., Jiranek V. Oenological traits of *Lachancea thermotolerans* show signs of domestication and allopatric differentiation. *Sci. Rep.* 2018;8:1–13.
35. Sgouros G., Mallouchos A., Filippousi M.-E., Banilas G., Nisiotou A. Molecular Characterization and Ecological Potential of A High Lactic Acid-Producing *Lachancea thermotolerans* Vineyard Strain. *Foods.* 2020;9(595):16.
36. Ciani M., Canonico L., Oro L., Comitini F. Sequential fermentation using non-*Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *BIO Web of Conferences.* 2014;3:4.
37. Contreras A., Curtin C., Varela C. Yeast population dynamics reveal a potential 'collaboration' between *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum* for the production of reduced alcohol wines during Shiraz fermentation. *Appl Microbiol Biot.* 2015;99:1885–1895.
38. Contreras A., Hidalgo C., Henschke P.A., Chambers P.J.

ВИНОДЕЛИЕ

- Evaluation of non-*Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *Appl Environ Microb.* 2014; 80:1670–1678.
39. Torchio F., Englezos V., Cravero F., Marengo F., Giacosa S., Gerbi V., Rantsiou K., Rolle L., Cocolin L. Aroma profile and composition of Barbera wines obtained by mixed fermentations of *Starmerella bacillaris* (synonym *Candida zemplinina*) and *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT-Food Sci Technol.* 2016;73:567–575.
40. Varela C., Sengler F., Solomon M., Curtin C. Volatile flavour profile of reduced alcohol wines fermented with the non-conventional yeast species *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum*. *Food Chem.* 2016;209:57–64.
41. Benito A., Calderon F., Benito S. Combined use of *S. pombe* and *L. thermotolerans* in winemaking. Beneficial effects determined through the study of wines' analytical characteristics. *Molecules.* 2016;21:1744.
42. Kishkovskaya S.A. Yeast of genus *Schizosaccharomyces* and its role in the technology of winemaking. *Itogi nauki i tekhniki. VINITI. Chemistry and technology of food products.* 1992;8:1-76 (in Russian).
Кишковская С.А. Дрожжи рода *Schizosaccharomyces* и их роль в технологии виноделия // Итоги науки и техники. ВИНИТИ. Сер. Химия и технология пищевых продуктов. 1992;8:1-76.
43. Loira I., Morata A., Palomero F., González C., Suárez-Lepe J.A. *Schizosaccharomyces pombe*: A Promising Biotechnology for Modulating Wine Composition. *Fermentation.* 2018; 4(70):12.
44. Benito S., Palomero F., Morata A., Calderón F., Suárez-Lepe J.A. New applications for *Schizosaccharomyces pombe* in the alcoholic fermentation of red wines. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2012;47:2101–2108.
45. Suárez-Lepe J.A., Palomero F., Benito S., Calderón F., Morata A. Oenological versatility of *Schizosaccharomyces spp.* *Eur. Food Res. Technol.* 2012;235:375–383.
46. Benito A., Jeffares D., Palomero F., Calderon F., Bai F.-Y., Bahler J., Benito S. Selected *Schizosaccharomyces pombe* strains have characteristics that are beneficial for winemaking. *PLoS ONE.* 2016;11:e0151102.
47. Taillandier P., Strehaiano P. The role of malic acid in the metabolism of *Schizosaccharomyces pombe*: Substrate consumption and cell growth. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1991;35:541–543.
48. Hong S.K., Lee H.J., Park H.J., Hong Y.A., Rhee I.K., Lee W.H., Choi S.W., Lee O.S., Park H.D. Degradation of malic acid in wine by immobilized *Issatchenkia orientalis* cells with oriental oak charcoal and alginate. *Lett. Appl. Microbiol.* 2010;50:522–529.
49. Gobbi M., Comitini F., Domizio P., Romani C., Lencioni L., Mannazzu I., Ciani M. *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: a strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine. *Food Microbiol.* 2013;33:271–281.
50. Balikci E.K., Tanguler H., Jolly N.P., Erten H. Influence of *Lachancea thermotolerans* on cv. Emir wine fermentation. *Yeast.* 2016;33:313–321.
51. Benito A., Calderon F., Palomero F., Benito S. Combined use of selected *Schizosaccharomyces pombe* and *Lachancea thermotolerans* yeast strains as an alternative to the traditional malolactic fermentation in red wine production. *Molecules.* 2015;20:9510–9523.
52. Vilela A. *Lachancea thermotolerans*, the Non-*Saccharomyces* Yeast that Reduces the Volatile Acidity of Wines. *Fermentation.* 2018;4(56).
53. Vilela A. Use of Nonconventional Yeasts for Modulating Wine Acidity. *Fermentation.* 2019; 5(27):15.
54. Lencioni L., Romani C., Gobbi M., Comitini F., Ciani M., Domizio P. Controlled mixed fermentation at winery scale using *Zygorulaspota florentina* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Int. J. Food Microbiol.* 2016;234:36–44.
55. Lencioni L., Taccari M., Ciani M., Domizio P. *Zygorulaspota florentina* and *Starmerella bacillaris* in multistarter fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* to reduce volatile acidity of high sugar musts. *Aust. J. Grape Wine Res.* 2018;24:368–372.
56. Benito S., Hofmann T., Laier M., Lochbuhler B., Schuttler A., Ebert K., Fritsch S., Rucker J., Rauhut D. Effect on quality and composition of Riesling wines fermented by sequential inoculation with non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur. Food Res. Technol.* 2015;241:707–717.
57. Belda I., Ruiz J., Esteban-Fernandez A., Navascues E., Marquina D., Santos A., Moreno-Arribas M.V. Microbial contribution to wine aroma and its intended use for wine quality improvement. *Molecules* 2017;22(2):12.
58. Ruiz J., Belda I., Beisert B., Navascues E., Marquina D., Calderon F., Rauhut D., Santos A., Benito S. Analytical impact of *Metschnikowia pulcherrima* in the volatile profile of Verdejo white wines. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018;102:8501–8509.
59. Chen K., Escott C., Loira I., del Fresno J.M., Morata A., Tesfaye W., Calderon F., Suarez-Lepe J.A., Han S., Benito S. Use of non-*Saccharomyces* yeasts and oenological tannin in red winemaking: influence on colour, aroma and sensorial properties of young wines. *Food Microbiol.* 2018;69:51–63.
60. Tataridis P., Kanellis A., Logothetis S., Nerantzis E. Use of non-*Saccharomyces Torulaspora delbrueckii* yeast strains in winemaking and brewing. *Jour. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad.* 2013;124:415–426.
61. Hranilovic A., Gambetta J. M., Jeffery D.W., Grbin P. R., Jiranek V. Lower-alcohol wines produced by *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces cerevisiae* co-fermentations: The effect of sequential inoculation timing. *International Journal of Food Microbiology.* 2020;329:108651.
62. Benito A., Calderon F., Benito S. The Influence of Non-*Saccharomyces* Species on Wine Fermentation Quality Parameters. *Fermentation.* 2019;5(3):54.
63. Whitener M.E.B., Stanstrup J., Carlin S., Divol B., Du Toit M., Vrhovsek U. Effect of non-*Saccharomyces* yeasts on the volatile chemical profile of Shiraz wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 2017;23:179–192.
64. Comitini F., Gobbi M., Domizio P., Romani C., Lencioni L., Mannazzu I., Ciani M. Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol.* 2011;28:873–882.
65. Hranilovic A., Bely M., Masneuf-Pomarede I., Jiranek V., Albertin W. The evolution of *Lachancea thermotolerans* is driven by geographical determination, anthropisation and flux between different ecosystems. *PLoS ONE.* 2017;12:e0184652.
66. Belda I., Navascues E., Marquina D., Santos A., Calderon F., Benito S. Dynamic analysis of physiological properties of *Torulaspora delbrueckii* in wine fermentations and its incidence on wine quality. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2015;99:1911–1922.
67. Belda I., Ruiz J., Beisert B., Navascues E., Marquina D., Calderon F., Rauhut D., Benito S., Santos A. Influence of *Torulaspora delbrueckii* in varietal thiol (3-SH and 4-MSP) release in wine sequential fermentations. *Int. J. Food Microbiol.* 2017;257:183–191.
68. Sadoudi M., Tourdot-Marechal R., Rousseaux S., Steyer D., Gallardo-Chacon J.J., Ballester J., Vichi S., Guerin-Schneider R., Caixach J., Alexandre H. 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.* 2012;32:243–253.
69. Comitini F., Gobbi M., Domizio P., Romani C., Lencioni L., Mannazzu I., Ciani M. Selected non-*Saccharomyces* wine yeast in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol.* 2011;28:873–882.
70. Renault P., Coulon J., de Revel G., Barbe J.C., Bely M. Increase of fruity aroma during mixed *T. delbrueckii/S. cerevisiae* wine fermentation is linked to specific esters enhancement. *Int. J. Food Microbiol.* 2015;207:40–48.
71. Puertas B., Jimenez M.J., Cantos-Villar E., Cantoral J.M., Rodriguez M.E. Use of *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* in semi-industrial sequential inoculation to improve quality of Palomino and Chardonnay wines in warm climates. *J. Appl. Microbiol.* 2017;122:733–746.
72. Azzolini M., Tosi E., Lorenzini M., Finato F., Zapparoli G. Contribution to the aroma of white wines by controlled *Torulaspora delbrueckii* cultures in association with *Saccharomyces cerevisiae*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2015;31:277–293.
73. Parapouli M., Hatziloukas E., Drainas C., Perisynakis A. The effect of Debina grapevine indigenous yeast strains of *Metschnikowia* and *Saccharomyces* on wine flavour. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2010;37:85–93.
74. Escribano R., Gonzalez-Arenzana L., Portu J., Garijo P., Lopez-Alfaro I., Lopez R., Santamaria P., Gutierrez A.R. Wine aromatic compound production and fermentative behaviour within different non-*Saccharomyces* species and clones. *J. Appl. Microbiol.* 2018;124:1521–1531.
75. Escribano-Viana R., Gonzalez-Arenzana L., Portu J., Garijo P., Lopez-Alfaro I., Lopez R., Santamaria P., Gutierrez A.R. Wine aroma evolution throughout alcoholic fermentation sequentially inoculated with non-*Saccharomyces/Saccharomyces* yeasts. *Food Res. Int.* 2018;112:17–24.
76. Shekhawat K., Porter T.J., Bauer F.F., Setati M.E. Employing oxygen pulses to modulate *Lachancea thermotolerans-Saccharomyces cerevisiae* Chardonnay fermentations. *Ann. Microbiol.* 2018;68:93–102.
77. Bisson L.F., Karpel J.E. Genetics of yeast impacting wine quality. *Ann. Rev. Food Sci. Technol.* 2010;1:139–162.
78. Wang Y., Xu Y., Li J. A Novel extracellular β -glucosidase from *Trichosporon asahii*: Yield prediction, evaluation and application for aroma enhancement of cabernet sauvignon. *J. Food Sci.* 2012;77:505–515.
79. Cordero Otero R.R., Ubeda Iranzo J.F., Briones-Perez A.I., Potgieter N., Villena M.A., Pretorius I.S., van Rensburg P. Characterization of the β -glucosidase activity produced by enological strains of non-*Saccharomyces* yeasts. *J. Food Sci.* 2003;68:2564–2569.
80. García A., Carcel C., Dulau L., Samson A., Aguera E., Agosin E. Influence of a mixed culture with *Debaryomyces vanriji* and *Saccharomyces cerevisiae* on the volatiles of a Muscat wine. *J. Food Sci.* 2002;67:1138–1143.
81. Henick-Kling T., Edinger W., Daniel P., Monk P. Selective effects of sulfur dioxide and yeast starter culture addition on indigenous yeast populations and sensory characteristics of the wine. *J. Appl. Microbiol.* 1998;84:865–876.
82. Boynton P.J., Duncan G. The ecology and evolution of non-domesticated *Saccharomyces* species. *Yeast.* 2014;12:449–462.
83. Domizio P., Liu Y., Bisson L.F., Barile D. Use of non-*Saccharomyces* wine yeasts as novel sources of mannoproteins in wine. *Food Microbiol.* 2014;43:5–15.
84. Benito A., Calderon F., Benito S. Mixed alcoholic fermentation of *Schizosaccharomyces pombe* and *Lachancea thermotolerans* and its influence on mannose-containing polysaccharides wine Composition. *AMB Express.* 2019;9:17–25.
85. Belda I., Navascues E., Marquina D., Santos A., Calderon F., Benito S. Outlining the influence of non-conventional yeasts in wine ageing over lees. *Yeast.* 2016;33:329–338.
86. Garcia M., Apolar-Valiente R., Williams P., Esteve-Zarzoso B., Arroyo T., Crespo J., Doco T. Polysaccharides and Oligosaccharides Produced on MalvarWines Elaborated with *Torulaspora delbrueckii* CLI 918 and *Saccharomyces cerevisiae* CLI 889 Native Yeasts from D.O. “vinos de Madrid”. *J. Agric. Food Chem.* 2017;65:6656–6664.
87. Domizio P., Lencioni L., Calamai L., Portaro L., Bisson L.F. Evaluation of the yeast *Schizosaccharomyces japonicus* for use in wine production. *Am. J. Enol. Vitic.* 2018;69:266–277.
88. Domizio P., Liu Y., Bisson L.F., Barile D. Cell wall polysaccharides released during the alcoholic fermentation by *Schizosaccharomyces pombe* and *S. japonicus*: Quantification and characterization. *Food Microbiol.* 2017;61:136–149.
89. Jolly N.P., Varela C., Pretorius I.S. Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res.* 2014;14:215–237.
90. Jolly N.P., Augustyn O.P.H., Pretorius I.S. The Role and Use of Non-*Saccharomyces* Yeasts in Wine Production. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 2017;27:15–39.
91. Garcia M., Esteve-Zarzoso B., Cabellos J., Arroyo T. Advances in the Study of *Candida stellata*. *Fermentation.* 2018;4:74.
92. Prior B.A., Toh T.H., Jolly N., Baccari C.L., Mortimer R.K. Impact of yeast breeding for elevated glycerol production on fermentation activity and metabolite formation in Chardonnay. *S Afr J Enol Vitic.* 2000;21:92–99.
93. Morata A., Loira I., Tesfaye W., Banuelos M. A., Gonzalez C., Suarez Lepe J. A. *Lachancea thermotolerans* Applications in Wine Technology. *Fermentation.* 2018;4(53):12.
94. Benito Á., Calderón F., Benito S. New Trends in *Schizosaccharomyces* Use for Winemaking In book: Grape and Wine Biotechnology. 2016 DOI:10.5772/64807.

Информация об авторах

Ирина Валериевна Пескова, канд.техн.наук, вед. науч. сотр. лаборатории тихих вин, тел. +7(978) 857 72 16, yarinka-73@mail.ru; ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-5107-518X>

Information about authors

Irina V. Peskova, Cand.Tech.Sci., Leading Staff Scientist of Still Wines Laboratory, ph. +7(978) 857 72 16, yarinka-73@mail.ru; ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-5107-518X>

Статья поступила в редакцию 18.05.2021, одобрена после рецензии 19.05.2021, принята к публикации 20.05.2021