

Влияние диоксида серы на рост природных штаммов молочнокислых бактерий вина

Танашук Т.Н.[✉], Шаламитский М.Ю., Загоруйко В.И., Семенова К.А., Иванова Е.В.,
Кишковская С.А.

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

[✉]magarach_microbiol.lab@mail.ru

Аннотация. Работа является продолжением исследований устойчивости природных штаммов молочнокислых бактерий (МКБ) с высокой активностью сбраживать *L*-яблочную кислоту к стрессовым условиям винодельческого производства. Представлены результаты исследования влияния диоксида серы на рост 13 природных штаммов МКБ (8 штаммов *Oenococcus oeni*, 3 штамма *Lactocaseibacillus paracasei* и один штамм *Lentilactobacillus hilgardii*) из рабочей коллекции лаборатории микробиологии института «Магарач» с высокой активностью сбраживать яблочную кислоту при низких значениях pH. Исследование показало, что наличие диоксида серы в среде культивирования способствовало снижению активности роста всех штаммов по сравнению с культивированием в средах без диоксида серы. При добавлении в среду диоксида серы в количестве 30/7 мг/л все штаммы независимо от видовой принадлежности незначительно снизили рост, не утратив способности к размножению; сохранилась тенденция к замедлению их роста при снижении pH среды и температуры культивирования. Увеличение количества диоксида серы до 60 мг/л оказало влияние на значительное снижение клеточного роста штаммов, при этом данная концентрация была менее эффективна для большинства штаммов при значении pH 3.4. Чувствительность МКБ к SO₂ была различна в зависимости от штаммов и их видовой принадлежности. Штаммовые различия наиболее проявлялись при повышении pH и температуры, т.е. в условиях, приближенных к оптимальным. Анализ полученных данных позволил среди 13 штаммов выделить два штамма *O. oeni* (К.19-3 и К.48-5), которые лучше адаптировались к количеству диоксида серы 60/13 мг/л. Оптимальной дозой диоксида серы в виноградном сусле для исследованных штаммов можно принять концентрацию до 30/7 мг/л. Полученные результаты также подтверждают технологические рекомендации по проведению яблочно-молочного брожения (ЯМБ) при низких дозах диоксида серы для снижения рисков замедления или остановки этого процесса.

Ключевые слова: активность роста; штаммы видов *O. oeni*, *L. paracasei*, *L. hilgardii*; яблочно-молочное брожение; pH среды; температура культивирования.

Для цитирования: Танашук Т.Н., Шаламитский М.Ю., Загоруйко В.И., Семенова К.А., Иванова Е.В., Кишковская С.А. Влияние диоксида серы на рост природных штаммов молочнокислых бактерий вина // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2022;24(4):381-386. DOI 10.34919/IM.2022.88.74.012.

O R I G I N A L R E S E A R C H

The effect of sulfur dioxide on the growth of original strains of lactic acid bacteria in wine

Tanashchuk T.N.[✉], Shalamitskiy M.Yu., Zagoruiko V.I., Semenova K.A., Ivanova E.V.,
Kishkovskaya S.A.

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

[✉]magarach_microbiol.lab@mail.ru

Abstract. This work is an extension of studies on the resistance of original strains of lactic acid bacteria (LAB) with high activity to ferment *L*-malic acid to the stressful conditions of winemaking. Study results of the effect of sulfur dioxide on the growth of 13 original LAB strains (8 strains of *Oenococcus oeni*, 3 strains of *Lactocaseibacillus paracasei*, and one strain of *Lentilactobacillus hilgardii*) from the working collection of the Laboratory of Microbiology of the Institute Magarach, and possessing high activity to ferment malic acid at low pH values are presented. The study showed that presence of sulfur dioxide in the cultivation medium contributed to a decrease in the growth activity of all strains compared with cultivation in media without sulfur dioxide. When sulfur dioxide was added to the medium in the amount of 30/7 mg/L, all strains, regardless of species, have slightly reduced growth without losing the ability to reproduce; a tendency to slow down their growth with a decrease in the medium pH and the cultivation temperature has remained. The increase in the amount of sulfur dioxide to 60 mg/l had the effect of significant reducing the cell growth of strains, while this concentration was less effective for most strains at pH 3.4. The sensitivity of LAB to SO₂ was different depending on strains and their species. Strain differences were most pronounced with an increase in pH and temperature, i.e. under conditions close to optimal. The analysis of the obtained data made it possible to isolate two strains of *O. oeni* (K.19-3 and K.48-5) among 13 strains, which were better adapted to the amount of sulfur dioxide 60/13 mg/L. For the studied strains, a concentration of up to 30/7 mg/L can be taken as the optimal dose of sulfur dioxide in the must of grapes. The results obtained also confirm technological recommendations for operating malolactic fermentation (MLF) at low doses of sulfur dioxide to reduce the risk of slowing down or stopping this process.

Key words: growth activity; *O. oeni*, *L. paracasei*, *L. hilgardii* strains; malolactic fermentation; medium pH; cultivation temperature.

For citation: Tanashchuk T.N., Shalamitskiy M.Yu., Zagoruiko V.I., Semenova K.A., Ivanova E.V., Kishkovskaya S.A. The effect of sulfur dioxide on the growth of original strains of lactic acid bacteria in wine. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2022;24(4): 381-386. DOI 10.34919/IM.2022.88.74.012 (in Russian).

Введение

Одним из основных критериев отбора штаммов молочнокислых бактерий (МКБ) для проведения яблочно-молочного брожения (ЯМБ) является их устойчивость к сложным условиям винодельческого производства. Применение диоксида серы в практике виноделия является одним из общепринятых технологических приемов. Эта добавка используется для сохранения качества вина благодаря его антиоксидантному и селективному антимикробному действию, особенно против порчи, вызываемой МКБ [1-4]. Такая чувствительность в основном определяется свободной формой SO_2 , однако в отличие от дрожжевой микрофлоры угнетающее действие на МКБ оказывает и связанная форма SO_2 [5-7].

Как правило, антисептическое действие диоксида серы на МКБ начинает активно проявляться при концентрациях общего $\text{SO}_2 \geq 100$ мг/л и свободного $\text{SO}_2 \geq 10$ мг/л, а при концентрации свободного SO_2 в вине до 30-40 мг/л практически все МКБ погибают в течение нескольких дней [8]. В целом общая концентрация SO_2 ниже 100 мг/л или связанная концентрация SO_2 ниже 50 мг/л рекомендуется для обеспечения успешного ЯМБ. Имеющиеся в научной литературе сведения о граничных дозах SO_2 , способных влиять на подавление роста МКБ, часто разнятся, что в значительной мере связано со штаммовыми различиями МКБ по способности адаптироваться к диоксиду серы и титруемой кислотности среды [9, 10]. Отмечается, что концентрации 1-10 мг/л свободного SO_2 и 50-100 мг/л связанного SO_2 способны подавлять рост молочнокислых бактерий [11]. Другие исследователи также сообщают, что обычно добавляемые дозы SO_2 около 50 мг/л при pH от 3,2 до 3,4 не предотвращают рост МКБ, а просто ограничивают его [8], в то же время его более низкая концентрация может подавлять рост некоторых штаммов [12].

Антибактериальный эффект диоксида серы зависит в основном от pH вина и усиливается при его снижении. Низкий pH (2,9-3,2) замедляет или ингибирует рост и метаболическую активность большинства МКБ и делает их более чувствительными к воздействию SO_2 и этанола. Уровень свободного диоксида серы, необходимый для подавления активности МКБ варьируется от 10 до 20 мг/л для вин с низким pH и от 20 до 50 мг/л для вин с высоким pH [6]. Тем не менее для успешного прохождения ЯМБ необходимо также учитывать синергетический эффект других критических факторов, таких как низкая температура и высокий спирт, что, в свою очередь, требует снижения дозы диоксида серы при проведении ЯМБ высококислотных виноматериалов. Так, вина с низким pH (например, pH 3,0), высоким содержанием этанола (> 12 % по объему) и высоким содержанием диоксида серы (> 50 мг/л) с меньшей вероятностью способствуют росту молочнокислых бактерий и успешному прохождению ЯМБ [13].

В процессе спонтанного ЯМБ в большинстве случаев преобладающим видом является *O. oeni* [14-16]. Штаммы *O. oeni* способны декарбоксиллировать

яблочную кислоту в винах при значениях pH до 3,5, их декарбоксилирующая активность оптимальна при низких значениях pH от 3,0 до 3,2. Более высокие значения pH (3,6-4,2) стимулируют рост штаммов, принадлежащих к лактобациллам. Несмотря на то, что для большинства штаммов *O. oeni* количество свободного диоксида серы 15 мг/л оказывает губительное действие, отдельные штаммы *O. oeni* толерантны к SO_2 [8].

Некоторые штаммы, принадлежащие к родам *Lactobacillus* и *Pediococcus*, также могут способствовать процессу ЯМБ [11, 17, 18]. Сегодня на рынке представлены несколько штаммов *L. plantarum* [19, 20], интерес к которым прежде всего вызван их способностью хорошо функционировать в условиях более высокого pH, быть устойчивыми к диоксиду серы аналогично *O. oeni* и синтезировать разнообразный набор ферментов, которые могут привести к образованию большего количества ароматических соединений [11, 19].

Проведенный анализ показывает, что оценка устойчивости штаммов к диоксиду серы является важным этапом селекционных работ и способствует расширению выбора штаммов-кислотопонижателей по возможности их применения в зависимости от конкретных условий прохождения ЯМБ.

Цель исследований: провести скрининг природных штаммов МКБ кислотопонижателей по устойчивости к диоксиду серы.

Объекты и методы исследований

Объектами исследования являлись 13 природных штаммов МКБ (8 штаммов *Oenococcus oeni*, 3 штамма *Lactocaseibacillus paracasei* и один штамм *Lentilactobacillus hilgardii*) из рабочей коллекции лаборатории микробиологии института «Магарач», выделенные из винограда и вин Крыма в 2018-2019 гг., показавшие лучшую устойчивость к стрессовым факторам (pH, температура и спирт) по сравнению с другими штаммами и способность сбрасывать яблочную кислоту при низких значениях pH [21-23].

Для культивирования МКБ использовали виноградное сусло, разведенное водой до содержания сахаров 50 г/л с добавлением 1 % дрожжевого экстракта. Корректировку pH сред проводили добавлением DL-яблочной кислоты (Sigma-Aldrich) и концентрированной соляной кислоты (HCl). Накопительные культуры получали при культивировании на среде при pH 4,5 и температуре (28±0,5) °C. Для засева культуру отбирали на этапе перехода в стационарную фазу роста с использованием технологии Aquilla CGQ, основанной на наблюдении за ростом микроорганизмов в реальном времени [24]. Рост культуры оценивали с помощью измерения оптической плотности суспензии на фотоэлектроколориметре КФК-3 в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 590 нм (D_{590}).

Реакцию роста штаммов на диоксид серы определяли по результатам культивирования при значениях pH среды 4,5; 3,4; 3,0 и при температурах 18 и 28 °C. В опытную среду добавляли бисульфит аммония до конечной концентрации общего диоксида серы 30 г/л и 60 г/л. Количество общего и свободного диоксида

серы определяли через два часа после внесения, которое составило 30,1/6,7 мг/л (массовая концентрация общего диоксида серы/массовая концентрация свободного диоксида серы) и 59,8/12,9 мг/л. Среды разливали в стеклянные микробиологические пробирки под ватно-марлевыми пробками по 7 мл и вносили по 2 % ($D_{590} = 0,9-1,0$) накопительной культуры. Пробирки с посевами перемешивали несколько раз в сутки. Штаммы культивировали в течение семи суток. При значениях $D_{590} > 0,500$ активность роста оценивали как высокую; от 0,500 до 0,300 – как среднюю; менее 0,299 – как слабую. Отсутствие роста определяли при сравнении с оптической плотностью среды сразу после засева.

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

Результаты и их обсуждение

Работа является продолжением исследований устойчивости 13 природных штаммов МКБ с высокой способностью сбрасывать яблочную кислоту к стрессовым условиям винодельческого производства. На данном этапе рассматривали влияние диоксида серы на рост штаммов. Анализ полученных данных показал, что наличие диоксида серы в среде культивирования способствовало снижению активности роста всех штаммов по сравнению с культивированием в средах без диоксида серы (табл. 1, 2; рис.1, 2), что согласуется с другими исследованиями по данной

проблеме [10, 25].

При добавлении в среду диоксида серы в количестве 30 мг/л все штаммы независимо от видовой принадлежности незначительно снизили рост, не утратив способность к размножению. Наиболее значимыми факторами являлись рН и температура, по сравнению с которыми данное количество диоксида серы оказывало незначительное влияние на рост штаммов. Сохранилась тенденция к замедлению их роста при снижении рН среды и температуры культивирования, а также их индивидуальная физиологическая характеристика по отклику на изменение рН и температуры среды (табл. 1).

Увеличение количества диоксида серы до 60 мг/л оказало значительно более сильное влияние на снижение клеточного роста штаммов, при этом данная концентрация была менее эффективна для большинства штаммов при значении рН 3,4. Несмотря на распространенное мнение, что антимикробный эффект, как правило, усиливается при более низких уровнях рН, в нашем случае антисептическое действие 60 мг/л SO_2 для отдельных штаммов неожиданно сильнее проявилось при рН 4,5. Так, доля штаммов, рост которых отсутствовал при температуре 18 °С, составила один штамм при рН 3,4 и 10 штаммов при рН 4,5; отсутствие роста при температуре 28 °С отмечены для трех штаммов при рН 3,4 и для шести штаммов при рН 4,5. Такой же результат встречается и у других исследователей, которые в своих работах отмечали большее антисептическое действие диоксида серы при рН 4,0, чем при рН 3,5 (табл. 1) [26].

Таблица 1. Активность роста природных штаммов МКБ в зависимости от условий культивирования (SO_2 , t, рН)
Table 1. Growth activity of original MLB strains depending on the cultivation conditions (SO_2 , t, рН)

| Фактор | рН 3,0 | | | рН 3,4 | | | рН 4,5 | | |
|-------------------------------|-------------|--------------------|------------------|-------------|--------------------|------------------|-------------|--------------------|------------------|
| | D_{590} | количество штаммов | активность роста | D_{590} | количество штаммов | активность роста | D_{590} | количество штаммов | активность роста |
| t – 18 °С | 0,663-0,536 | 3 | высокая | 1,337-0,560 | 12 | высокая | 1,901-0,632 | 12 | высокая |
| | 0,480-0,304 | 9 | средняя | 0,340 | - | средняя | 0,436 | 1 | средняя |
| | 0,251 | 1 | слабая | - | - | слабая | - | - | слабая |
| | - | - | нет роста | - | - | нет роста | - | - | нет роста |
| t – 28 °С | 1,319-0,636 | 6 | высокая | 1,800-0,640 | 12 | высокая | 2,082-0,825 | 13 | высокая |
| | 0,492-0,353 | 7 | средняя | 0,370 | 1 | средняя | - | - | средняя |
| | - | - | слабая | - | - | слабая | - | - | слабая |
| | - | - | нет роста | - | - | нет роста | - | - | нет роста |
| t – 18 °С SO_2 – 30 мг/л | 0,621-0,512 | 3 | высокая | 1,455-0,505 | 6 | высокая | 1,869-0,528 | 9 | высокая |
| | 0,351-0,304 | 9 | средняя | 0,448-0,329 | 7 | средняя | 0,484-0,438 | 4 | средняя |
| | 0,245 | 1 | слабая | - | - | слабая | - | - | слабая |
| | - | - | нет роста | - | - | нет роста | - | - | нет роста |
| t – 28 °С SO_2 – 30 мг/л | 1,100-0,550 | 5 | высокая | 1,974-0,566 | 10 | высокая | 2,039-0,692 | 13 | высокая |
| | 0,462-0,309 | 6 | средняя | 0,493-0,440 | 3 | средняя | - | - | средняя |
| | 0,275-0,251 | 2 | слабая | - | - | слабая | - | - | слабая |
| | - | - | нет роста | - | - | нет роста | - | - | нет роста |
| t – 18 °С SO_2 – 60 мг/л | - | - | высокая | - | - | высокая | 1,030 | 1 | высокая |
| | - | - | средняя | - | - | средняя | 0,441-0,432 | 2 | средняя |
| | 0,124-0,101 | 7 | слабая | 0,164-0,101 | 12 | слабая | - | - | слабая |
| | 0,100-0,069 | 6 | нет роста | 0,089 | 1 | нет роста | 0,095-0,075 | 10 | нет роста |
| t – 28 °С SO_2 – 60 мг/л | - | - | высокая | - | - | высокая | 1,574-0,699 | 4 | высокая |
| | - | - | средняя | - | - | средняя | - | - | средняя |
| | 0,131-0,103 | 7 | слабая | 0,155-0,103 | 10 | слабая | 0,202-0,108 | 3 | слабая |
| | 0,095-0,068 | 6 | нет роста | 0,096-0,084 | 3 | нет роста | 0,100-0,082 | 6 | нет роста |

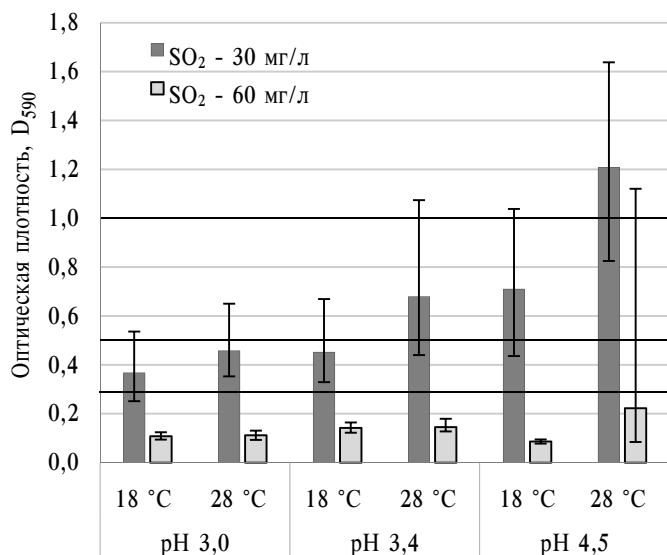


Рис. 1. Влияние диоксида серы на рост природных штаммов *O. oeni*

Fig. 1. The effect of sulfur dioxide on the growth of original strains *O. oeni*

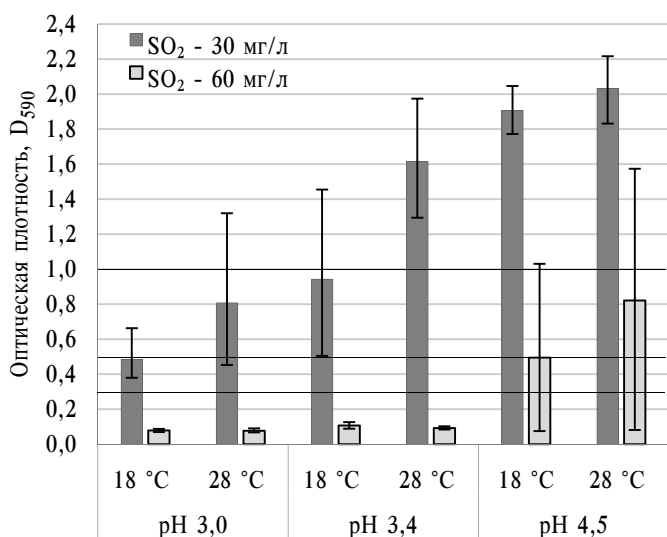


Рис. 2. Влияние диоксида серы на рост природных штаммов *L. paracasei* и *L. hilgardii*

Fig. 2. The effect of sulfur dioxide on the growth of original strains *L. paracasei* and *L. hilgardii*

Чувствительность МКБ к SO₂ была различна в зависимости от штамма и их видовой принадлежности, а также варьировала в зависимости от условий культивирования, что, вероятно, связано с физиологической возможностью штамма к адаптации, определенной толерантностью к pH [27]. В целом исследование показало, что штаммовые различия наиболее проявляются при повышении pH и температуры, т.е. в условиях, приближенных к оптимальным (рис. 1, 2).

Штаммы вида *O. oenos* по сравнению со штаммами рода *Lactobacillus* были более устойчивыми к концентрации диоксида серы 60 мг/л при низких значениях pH 3,0 и 3,4. Усиление ростовой активности семи штаммов (К.1, К.3, К.4, К.6, К.24, К.25, К.48) вида *O. oenos* отмечено при повышении pH от 3,0 до 3,4 и температуры от 18 до 28 °C. При значении pH 4,5 эти

Таблица 2. Характеристика природных штаммов МКБ по устойчивости к диоксиду серы

Table 2. The characteristic of original MLB strains by resistance to sulfur dioxide

| Штамм | Массовая концентрация SO ₂ , мг/л | pH 3,0 | | pH 3,4 | | pH 4,5 | |
|---------|--|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
| | | 18 °C | 28 °C | 18 °C | 28 °C | 18 °C | 28 °C |
| | | К 1-2 | 30 | 0,351 | 0,422 | 0,403 | 0,566 |
| | 60 | 0,113 | 0,117 | 0,147 | 0,142 | 0,084 | 0,091 |
| К 3-1 | 30 | 0,251 | 0,309 | 0,380 | 0,568 | 0,713 | 0,865 |
| | 60 | 0,106 | 0,106 | 0,132 | 0,148 | 0,083 | 0,087 |
| К 4-2 | 30 | 0,536 | 0,650 | 0,658 | 1,074 | 0,746 | 1,638 |
| | 60 | 0,110 | 0,124 | 0,146 | 0,153 | 0,095 | 0,108 |
| К 6-4 | 30 | 0,321 | 0,372 | 0,369 | 0,484 | 0,436 | 0,980 |
| | 60 | 0,114 | 0,111 | 0,156 | 0,141 | 0,085 | 0,091 |
| К 17-1 | 30 | 0,360 | 0,462 | 0,448 | 0,860 | 0,741 | 1,552 |
| | 60 | 0,101 | 0,093 | 0,123 | 0,134 | 0,078 | 0,202 |
| К 19-3 | 30 | 0,512 | 0,550 | 0,669 | 1,048 | 0,742 | 1,632 |
| | 60 | 0,111 | 0,126 | 0,139 | 0,155 | 0,095 | 1,121 |
| К 24-3 | 30 | 0,347 | 0,275 | 0,329 | 0,440 | 0,632 | 1,018 |
| | 60 | 0,094 | 0,095 | 0,137 | 0,128 | 0,089 | 0,119 |
| К 25-10 | 30 | 0,325 | 0,251 | 0,395 | 0,493 | 0,636 | 1,084 |
| | 60 | 0,100 | 0,103 | 0,134 | 0,130 | 0,086 | 0,100 |
| К 48-5 | 30 | 0,304 | 0,411 | 0,414 | 0,580 | 1,038 | 1,282 |
| | 60 | 0,124 | 0,131 | 0,164 | 0,179 | 0,082 | 0,085 |
| П 4-7 | 30 | 0,418 | 0,763 | 0,505 | 1,294 | 1,772 | 1,831 |
| | 60 | 0,069 | 0,068 | 0,089 | 0,084 | 0,441 | 0,698 |
| П 39-2 | 30 | 0,621 | 1,100 | 1,455 | 1,974 | 2,046 | 2,216 |
| | 60 | 0,088 | 0,091 | 0,111 | 0,103 | 1,030 | 1,574 |
| П 41-2 | 30 | 0,480 | 0,696 | 0,746 | 1,315 | 1,801 | 1,893 |
| | 60 | 0,075 | 0,069 | 0,101 | 0,086 | 0,432 | 0,930 |
| П 83-1 | 30 | 0,379 | 0,453 | 1,066 | 1,875 | 2,010 | 2,185 |
| | 60 | 0,084 | 0,081 | 0,127 | 0,096 | 0,075 | 0,082 |

штаммы показали слабый рост или отсутствие роста. Для двух штаммов (К.17, К.19) вида *O. oenos* сохранилась тенденция к усилению роста при pH 4,5 и температуре 28 °C. Штаммы вида *L. paracasei* (П.4, П.39, П.41) активно размножались в среде при значении pH 4,5. При значениях pH 3,0 и 3,4 диоксид серы в количестве 60 мг/л оказывал сильное ингибирующее действие на их рост. Слабый рост или отсутствие роста для всех вариантов в присутствии 60 мг/л диоксида серы наблюдали для штамма вида *L. hilgardii* (П.83-1). Полученные данные подтверждают наличие существенных штаммовых отличий МКБ, в том числе среди штаммов, принадлежащих к одному виду (табл. 2).

Выводы

Таким образом, исследование подтвердило актуальность применения для ЯМБ штаммов вида *O. oeni*, однако нельзя исключать прохождение естественного ЯМБ с видами *Lactobacillus* [22, 28]. В результате предыдущих работ для дальнейшей селекции нами были отобраны пять штаммов *O. oeni* (К.3-1, К.6-4, К.19-3, К.25-10, К. 48-5), три штамма *L. paracasei* (П.4 7, П.39 2, П.41 2) и штамм *L. hilgardii* (П. 83 1), показавшие лучшую устойчивость к низким значениям рН, низким значениям температуры, высоким значениям спирта. Полученные данные проведенного исследования позволили среди этих штаммов выделить два штамма К.19-3 и К.48-5, которые лучше адаптировались к количеству диоксида серы 60/13 мг/л при низких значениях рН 3,0-3,4.

Оптимальной дозой диоксида серы в виноградном сусле для исследованных штаммов можно принять концентрацию до 30/7 мг/л. Полученные результаты также подтверждают технологические рекомендации по проведению ЯМБ при низких дозах сернистой кислоты, вносимой в виноградное сусло перед брожением, так как присутствие большого количества SO₂ может значительно замедлить или остановить процесс. По этой причине концентрация диоксида серы на этапе брожения должна тщательно контролироваться и регулироваться. Исследование также показало существенное снижение ростовой активности исследованных штаммов при более низких значениях рН и, следовательно, даже при применении «сильных» штаммов для раскисления высококислотных сусел количество разводки, необходимой для индукции ЯМБ, необходимо увеличивать.

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках государственного задания № FEUU-2019-0008.

Financing source

The work was conducted under public assignment No. FEUU-2019-0008.

Конфликт интересов

Не заявлен.

Conflict of interests

Not declared.

Список литературы / References

- Reguant C., Carrete R., Constanti M., Bordon A. Population dynamics of *Oenococcus oeni* strains in a new winery and the effect of SO₂ and yeast strain. *FEMS Microbiol. Lett.* 2005;246:111-117. DOI 10.1016/j.femsle.2005.03.045.
- Kunkee R.E. Selection and modification of yeasts and lactic acid bacteria for wine fermentation. *Food Microbiol.* 1984;1:315-332. DOI 10.1016/0740-0020(84)90065-0.
- Krieger-Weber S. Application of yeast and bacteria as starter cultures. Chapter 27. *Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine.* Edited by König H., Uden G., Fruchlich J. Berlin: Springer, 2017:489-511. DOI 10.1007/978-3-540-85463-0_27.
- Lasik M. The application of malolactic fermentation process to create good-quality grape wine produced in cool-climate countries: A Review. *Eur. Food Res. Technol.* 2013;237:843-850. DOI 10.1007/s00217-013-2083-x.
- Osborne J.P., Dubé Morneau A., Mira de Orduna R. Degradation of free and sulfur-dioxide-bound acetaldehyde by malolactic lactic acid bacteria in white wine. *J. Appl. Microbiol.* 2006;101:474-479. DOI 10.1111/j.1365-2672.2006.02947.x.
- Gil-Sánchez I., Bartolomé Suáldea B., Moreno-Arribas M.V. Malolactic fermentation. *Red Wine Technol. Academic Press.* 2019;6:85-98. DOI 10.1016/B978-0-12-814399-5.00006-2.
- Lafon-Lafourcade S., Peynaud E. Sur l'action antibactérienne de l'anhydride sulfureux sous forme libre et sous forme combinée. *Conn. Vigne Vin.* 1974;8(2):187-203. DOI 10.20870/oenone.1974.8.2.2101.
- Ribéreau-Gayon P, Dubourdiou D, Donéche B, Lonvaud A. Lactic acid bacteria. *Hand-book of enology: Volume 1. The Microbiology of Wine and Vinifications.* 2-nd Edition. John Wiley & Sons, Ltd. 2006:115-137.
- Ruiz P., Izquierdo P.M., Seseña S., Palop M.L. Analysis of lactic acid bacteria populations during spontaneous malolactic fermentation of Tempranillo wines at five wineries during two consecutive vintages. *Food Control.* 2010;21:70-75. DOI 10.1016/j.foodcont.2009.04.002.
- Bauer R., Dicks L.M.T. Control of malolactic fermentation in wine: A Review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 2004;25(2):74-88. DOI 10.21548/25-2-2141.
- Du Toit M., Engelbrecht L., Lerm E., Krieger-Weber S. *Lactobacillus*: the next generation of malolactic fermentation starter cultures: an Overview. *Food Bioproc. Tech.* 2011;4:876-906. DOI 10.1007/s11947-010-0448-8.
- Hall N., Krieger-Weber S. *Microbiology of malolactic fermentation. Malolactic fermentation importance of wine lactic acid bacteria in winemaking.* Edited by Morenzoni R., Specht K.S. Lallemand Inc. 2015:59-62.
- Bartowsky E.J., Fleet G.H. *Malolactic Fermentation. Australian Winemaking.* Edited by Bulleid N., Jiranek V. Trivinum Press: Adelaide. 2013:1-7.
- Liu S.Q. Malolactic fermentation in wine - beyond deacidification. *J. Appl. Microbiol.* 2002;92(4):589-601. DOI 10.1046/j.1365-2672.2002.01589.x.
- Costantini A., García-Moruno E., Moreno-Arribas M.V. Biochemical transformations produced by malolactic fermentation. *Wine Chemistry and Biochemistry.* Edited by Moreno-Arribas M.V., Polo M.C. Springer, 2009:27-57. DOI 10.1007/978-0-387-74118-5_2.
- Carr F.J., Chill D., Maida N. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Crit. Rev. Microbiol.* 2002;28:281-370. DOI 10.1080/1040-840291046759.
- Berbegal C., Peña N., Russo P., Grieco F., Pardo I., Ferrer S., Spano G., Capozzi V. Technological properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from grape must fermentation. *Food Microbiol.* 2016;57:187-194. DOI 10.1016/j.fm.2016.03.002.
- López-Seijas J., García-Fraga B., da Silva A.F., Zas-García X., Lois L.C., Gago-Martínez A., Leão-Martins J.M., Siero C. Evaluation of malolactic bacteria associated with wines from Albariño variety as potential starters: Screening for quality and safety. *Foods* 2020;9:99. DOI 10.3390/foods9010099.
- Lerm E., Engelbrecht L., du Toit M. Selection and characterisation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* South African wine isolates for use as malolactic fermentation starter cultures. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 2011;32(2):280-295. DOI 10.21548/32-2-1388.
- Fumi M.D., Krieger-Weber S., De le'ris-Bou M., Silva A., du Toit M. A new generation of malolactic starter cultures for high pH wines. *Proceedings International IVIF Congress 2010, WB3 Microorganisms-Malolactic-Fermentation.* 2010.
- Танащук Т.Н. Выделение и характеристика молочнокислых бактерий виноделия. «Магарач». Вино-

- градарство и виноделие. 2018;105(3):84-86.
- Tanashchuk T.N. Isolation and performance profile of lactic acid bacteria in winemaking. *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 2018;105(3):84-86 (*in Russian*).
22. Танащук Т.Н., Шаламитский М.Ю., Погорелов Д.Ю. Оценка штаммов молочнокислых бактерий по способности усваивать *L*-яблочную кислоту. «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2019;21(4):328-332. DOI 10.35547/IM.2019.21.4.010.
- Tanashchuk T.N., Shalamitskiy M. Yu., Pogorelov D.Yu. Evaluation of strains of lactic acid bacteria for capability to assimilate *L*-malic acid. *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 2019;21(4):328-332. DOI 10.35547/IM.2019.21.4.010 (*in Russian*).
23. Танащук Т.Н., Шаламитский М.Ю., Загоруйко В.И. Скрининг природных штаммов молочнокислых бактерий вина по устойчивости к рН, температуре и спирту. «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2022;24(1):55-62. DOI 10.35547/IM.2022.86.57.009.
- Tanashchuk T.N., Shalamitskiy M.Yu., Zagoruiko V.I. Screening of original strains of lactic acid bacteria in wine by resistance to pH, temperature and alcohol. *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 2022;24(1):55-62. DOI 10.35547/IM.2022.86.57.009 (*in Russian*).
24. Bruder S., Reifenrath M., Thomik T., Boles E., Herzog K. Parallelized online biomass monitoring in shake flasks enables efficient strain and carbon source dependent growth characterization of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Cell Fact.* 2016;15:127. DOI 10.1186/s12934-016-0526-3.
25. Costello P.J, Henschke P.A, Markides A.J. Standardized methodology for testing malolactic bacteria and wine yeast compatibility. *Aust. J. Grape Wine Res.* 2008;9(2):127-137. DOI 10.1111/j.1755-0238.2003.tb00263.x.
26. Delfini C., Morsiani M.G. Resistance to sulfur dioxide of malolactic strains of *Leuconostoc oenos* and *Lactobacillus* sp. isolated from wines. *Sci. Aliments.* 1992;12(3):493-511.
27. Guzzo J., Jobin M., Diviés C. Increase of sulfite tolerance in *Oenococcus oeni* by means of acidic adaptation. *FEMS Microbiol. Lett.* 1998;160:43-47. DOI 10.1111/j.1574-6968.1998.tb12888.x.
28. Bravo-Ferrada B.M., Hollmann A., Delfederico L., Valdés La Hens D., Caballero A., Semorile L. Patagonian red wines: selection of *Lactobacillus plantarum* isolates as potential starter cultures for malolactic fermentation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2013;29(9):1537-1549. DOI 10.1007/s11274-013-1337-x.

Информация об авторах

Татьяна Николаевна Танащук, канд. техн. наук, вед. науч. сотр. лаборатории микробиологии; e-мэйл: magarach_microbiol.lab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7847-1246>;

Максим Юрьевич Шаламитский, зав. лабораторией микробиологии; e-мэйл: mshalamitskiy@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0001-5888-6228>;

Валентина Ивановна Загоруйко, вед. инженер лаборатории микробиологии; e-мэйл: val-ya.yalta64@mail.ru;

Карина Александровна Семенова, мл. науч. сотр. лаборатории микробиологии; e-мэйл: karina.semenova.2013@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0271-129>;

Елена Владимировна Иванова, канд. техн. наук, вед. науч. сотр. лаборатории микробиологии; e-мэйл: lenochka_ivanova_58@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5989-6604>;

Светлана Альбертовна Кишковская, д-р техн. наук, гл. науч. сотр. лаборатории микробиологии; e-мэйл: microbiolog9@rambler.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1281-0612>.

Information about authors

Tatiana N. Tanashchuk, Cand. Tech. Sci, Leading Staff Scientist, Laboratory of Microbiology; e-mail: magarach_microbiol.lab@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7847-1246>;

Maksim Yu. Shalamitskiy, Head of the Laboratory of Microbiology; e-mail: mshalamitskiy@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0001-5888-6228>;

Valentina I. Zagoruiko, Leading Engineer, Laboratory of Microbiology; e-mail: val-ya.yalta64@mail.ru;

Karina A. Semenova, Junior Staff Scientist, Laboratory of Microbiology; e-mail: kari-na.semenova.2013@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0271-1290>;

Elena V. Ivanova, Cand. Tech. Sci., Leading Staff Scientist, Laboratory of Microbiology; e-mail: lenochka_ivanova_58@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5989-6604>;

Svetlana A. Kishkovskaya, Dr. Tech. Sci., Chief Staff Scientist, Laboratory of Microbiology; e-mail: microbiolog9@rambler.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1281-0612>.

Статья поступила в редакцию 01.11.2022, одобрена после рецензии 11.11.2022, принята к публикации 23.11.2022.