

# Методология оценки культур дрожжей для производства органических вин

Пескова И.В.<sup>✉</sup>, Остроухова Е.В.

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

<sup>✉</sup>bioxim2012@mail.ru

**Аннотация.** Одной из проблем современного виноделия является использование диоксида серы, необходимого для предотвращения окисления и защиты сула и вина от нежелательных микроорганизмов. Однако его негативное воздействие на здоровье потребителей вызвало необходимость поиска альтернативных методов обработки, позволяющих заменить или минимизировать использование  $\text{SO}_2$  в технологическом процессе. Одним из путей решения данной проблемы является использование микроорганизмов. Производители органической винопродукции отдают предпочтение штаммам дрожжей, продуцирующим небольшое количество сульфитов в процессе брожения, однако ассортимент препаратов, содержащих такие штаммы, невелик. Несмотря на многочисленные исследования в данном направлении, в настоящее время отсутствуют критерии выбора штаммов, способствующих снижению используемых доз  $\text{SO}_2$ . В статье изложен новый методологический подход к оценке культур дрожжей для производства вин с нулевой (органических) и пониженной  $\text{SO}_2$ -нагрузкой. Исследования проводили на 17 штаммах дрожжей (*Sacch. cerevisiae*) из ЦКП Коллекция микроорганизмов виноделия «Магарач». Методы, используемые при поведении исследований, являются стандартизированными или общепринятыми в эннологической практике. На основании анализа информации о метаболизме диоксида серы и механизмах  $\text{SO}_2$ -резистентности *Saccharomyces* был обоснован круг потенциальных критериев отбора культуры дрожжей для виноделия с нулевой и/или пониженной  $\text{SO}_2$ -нагрузкой – степень устойчивости дрожжей к диоксиду серы, оцениваемой по изменению ростовой активности культуры при внесении диоксида серы, и способность синтезировать ацетальдегид и диоксид серы в процессе роста. Установлены режимы и параметры культивирования дрожжей для оценки степени их сульфитоустойчивости, способности к синтезу ацетальдегида и диоксида серы. На основании результатов статистической обработки экспериментальных данных разработана методология оценки культур дрожжей для производства органических вин и вин с пониженным содержанием сульфитов.

**Ключевые слова:** органическое виноделие; дрожжи;  $\text{SO}_2$ -резистентность; ацетальдегид; сульфиты;  $\text{SO}_2$ .

**Для цитирования:** Пескова И.В., Остроухова Е.В. Методология оценки культур дрожжей для производства органических вин // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2023;25(1):87-94. DOI 10.34919/IM.2023.25.1.013.

ORIGINAL RESEARCH

## Methodology of assessing yeast cultures for organic wine production

Peskova I.V.<sup>✉</sup>, Ostroukhova E.V.

<sup>✉</sup>bioxim2012@mail.ru

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

**Abstract.** One of the problems of modern winemaking is the use of sulfur dioxide, necessary to prevent oxidation and protect the must and wine from uncontrolled microorganisms. However, its negative impact on the health of consumers has necessitated finding alternative treatment methods to replace or minimize the use of  $\text{SO}_2$  in technological process. One of the ways to solve this problem is to use microorganisms. Producers of organic wine products prefer yeast strains that give a small amount of sulfites during fermentation, but the range of preparations containing such strains is small. Despite numerous studies in this area, there are currently no criteria for selecting strains that help reducing the doses of  $\text{SO}_2$  used. The article presents a new methodological approach to the assessing of yeast cultures for the production of wines with zero (organic) and reduced  $\text{SO}_2$ -load. The studies were carried out on 17 yeast strains (*Sacch. cerevisiae*) from the Magarach Common Use Center: Collection of Winemaking Microorganisms. The methods used in conducting the research are standardized or generally accepted in oenological practice. Based on the analysis of information on the metabolism of sulfur dioxide and the mechanisms of  $\text{SO}_2$ -resistance of *Saccharomyces*, a range of potential criteria for selecting a yeast culture for winemaking with zero and/or reduced  $\text{SO}_2$ -load was substantiated, i.e. the degree of yeast resistance to sulfur dioxide, assessed by the change in growth activity of the culture at the introduction of sulfur dioxide, and the ability to synthesize acetaldehyde and sulfur dioxide during growth. The modes and parameters of yeast cultivation were established to assess the degree of their sulfite resistance, the ability to synthesize acetaldehyde and sulfur dioxide. Based on the results of experimental data statistical processing, a methodology of assessing yeast cultures for the production of organic wines and wines with a reduced content of sulfites was developed.

**Key words:** organic winemaking; yeast;  $\text{SO}_2$ -resistance; acetaldehyde; sulfites;  $\text{SO}_2$ .

**For citation:** Peskova I.V., Ostroukhova E.V. Methodology of assessing yeast cultures for organic wine production. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2023;25(1):87-94 DOI 10.34919/IM.2023.25.1.013 (in Russian).

### Введение

В связи с возросшим требованием населения к безопасности продуктов питания за последние два года в РФ десятки предприятий перестроились на произ-

водство сельхозтоваров, выращенных без использования химикатов [1, 2]. На сегодняшний день общая площадь органических угодий превышает 72 млн га и составляет не менее 1,5% всех сельскохозяйственных земель в мире. По прогнозам “Grand View Research”, объём производства органических продуктов к 2025 г. может составить от 15% до 20% мирового рынка сель-

скохозяйственной продукции [3, 4]. В ряде стран разработаны законы и директивные положения по производству и контролю органической продукции [5]. В России производство и реализацию органических пищевых продуктов регламентируют ГОСТ Р 56104, ГОСТ 33980 и Федеральный закон «Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» от 03.08.2018 № 280-ФЗ (последняя редакция), вступивший в силу с 1 января 2020 г.

Процесс производства органических вин исключает использование каких-либо химических добавок, синтетических консервантов и др. В первую очередь это касается исключения или снижения используемых доз диоксида серы, защищающего вино от окисления и микробиологической порчи, но являющегося небезопасным для здоровья потребителей продукции. Несмотря на то, что, согласно действующему в России ГОСТ 33980, диоксид серы разрешен для применения только во фруктовых винах или медовых напитках и запрещен при производстве винодельческой продукции, Роскачеством внесено предложение пересмотреть данную норму для органических вин и разрешить ограниченное применение диоксида серы при его производстве с целью сохранения качественных и потребительских характеристик продукции [6]. В связи с этим исследования, направленные на поиск путей снижения диоксида серы в винодельческой продукции без ухудшения ее качества, остаются актуальными.

На данный момент предложен ряд альтернатив диоксиду серы физико-химического характера. Наиболее используемыми из них являются температурное воздействие, микрофльтрация, ультразвук, ультрафиолет, ряд химических веществ (лизоцим, сорбиновая кислота и др.). Однако исследователями отмечается негативное влияние некоторых из этих приемов на органолептические характеристики вин, а ряд из них не разрешен в органической виноделии [7]. В Резолюции OIV-OENO 631-2020 [8] отмечено, что особое внимание при выработке вин с пониженной SO<sub>2</sub>-нагрузкой должно быть обращено на микробную нагрузку сусла и виноматериалов; активность оксидаз, в том числе грибного происхождения (лактазы), требующих большего количества диоксида серы для их инактивации; концентрацию SO<sub>2</sub>-связывающих веществ в вине и сусле; рН сусла; температуру, при которой осуществляются технологические процессы и хранение винопродукции; присутствие в сусле и вине эндогенных антиоксидантов. На основании этого предложен ряд рекомендаций, позволяющих снизить дозу используемого при производстве вина диоксида серы, которые касаются выбора сорта винограда, места его произрастания, оптимизации времени сбора, технологических приемов и др.

Одним из способов снижения доз вносимого диоксида серы, является научно-обоснованное и объектно-ориентированное использование микроорганизмов. Работы в данном направлении активизировались в последние годы [9–17]. Появились исследо-

вания, показавшие, что снижению дозы сульфитации при производстве вин способствует фракционное добавление дрожжей в два приема и совместная инокуляция сахаромикетов и молочно-кислых бактерий [9]. Особый интерес вызывает вопрос биозащиты [9, 10]. Установлено, что дрожжи, традиционно не используемые в виноделии, *Torulaspora delbrueckii* и *Metschnikowia pulcherrima*, внесенные на этапе предбродильной подготовки сусла/мезги, ограничивают развитие естественной микробиоты, в частности, микроорганизмов, способных вызывать порчу, – *B. bruxellensis* и уксуснокислых бактерий – так же, как и диоксид серы [11], что, как следствие, приведет к снижению конечной концентрации сульфитов в вине.

В качестве частичной альтернативы диоксиду серы, как антиоксиданту, рассматривается возможность использования инактивированных дрожжей, обладающих способностью поглощать растворенный в виноматериалах/винах кислород [12, 13]. По мнению Salmon J.M. et al. [14–15], потребление кислорода нежизнеспособными дрожжами напрямую связано с процессом окисления клеточных липидов и эргостерола. Кроме этого, в результате автолиза дрожжей виноматериалы обогащаются глутатионом и цистеином, являющимися сильными антиоксидантами [17]. Однако, как отмечают сами исследователи, неконтролируемая выдержка виноматериалов на дрожжевом осадке может привести к появлению нежелательных оттенков в аромате из-за образующихся летучих серосодержащих соединений [18].

Резюмируя вышеизложенное, отметим, что, несмотря на многочисленность исследований, касающихся разных аспектов органического виноделия, единого методического подхода к контролю процесса производства органических вин и вин с пониженным содержанием диоксида серы, в том числе в отношении выбора культуры дрожжей, в настоящий момент не существует.

*Целью настоящих исследований* являлась разработка подхода к оценке культур дрожжей для производства вин с нулевой (органических) и пониженной SO<sub>2</sub>-нагрузкой.

#### **Объекты и методы исследования**

Экспериментальные исследования осуществляли на пастеризованном сусле, полученном из винограда сорта Алиготе одной партии. Массовая концентрация сахаров в сусле составляла 228 г/дм<sup>3</sup>, титруемых кислот – 6,7 г/дм<sup>3</sup>, рН – 3,4.

Исследования осуществлялись с использованием 17 штаммов дрожжей *Saccharomyces* из ЦКП Коллекция микроорганизмов виноделия «Магарач» [19], отличающихся по своим культурально-морфологическим и физиолого-биохимическим характеристикам: I-527 (47 К), I-525 (Севастопольская 23), I-271 (Феодосия 1-19), I-307 (Ленинградская), I-491 (Мускат белый), I-492 (Мускат розовый), I-279 (Кокур 3), I-144 (Мускат венгерский), I-637 (Мускат-Р (4)), I-187 (Алиготе-14), I-106 (Токай 22); I-652 (Одесский черный-СД-13), I-25 (Каберне 5), I-250 (Бордо-60), I-24 (Бордо 20), I-640 (Меганом красный 3), I-440

(Магарач 17-35).

Сульфитоустойчивость штаммов оценивали по ростовой реакции клеток дрожжей на диоксид серы в реальном времени при помощи технологии CGQ [20, 21]. Определение массовой концентрации ацетальдегида и разных форм диоксида серы осуществляли принятыми в винодельческой практике методами анализа с использованием КФК-3-«ЗОМЗ» и Минитратора HANNA HI84500 [22].

### Результаты и обсуждение

Согласно ГОСТ 32030 и ГОСТ Р 55242, общее содержание диоксида серы в сухих винах регламентируется не более 200 мг/дм<sup>3</sup>; при этом в литературных источниках и технологической документации для выработки вин рекомендуется использовать диоксид серы в дозах от 75 мг/дм<sup>3</sup> (в исключительных случаях от 60 мг/дм<sup>3</sup>) и выше [23, 24]. Проведенные нами многолетние исследования (отчеты НИР ФГБУН «ВНИИ-ВиВ «Магарач» ГС № 0833-2019-0022) показали возможность получения качественных и микробиально стабильных вин при содержании диоксида серы в системе «мезга-сусло-виноматериал-вино» на уровне 0–60 мг/дм<sup>3</sup>. В связи с этим в рамках настоящей статьи к винам с пониженной SO<sub>2</sub>-нагрузкой отнесены вина, при выработке и хранении которых концентрация диоксида серы поддерживалась на уровне 10-60 мг/дм<sup>3</sup>, к органическим – при выработке и хранении которых диоксид серы не применялся (нулевая SO<sub>2</sub>-нагрузка).

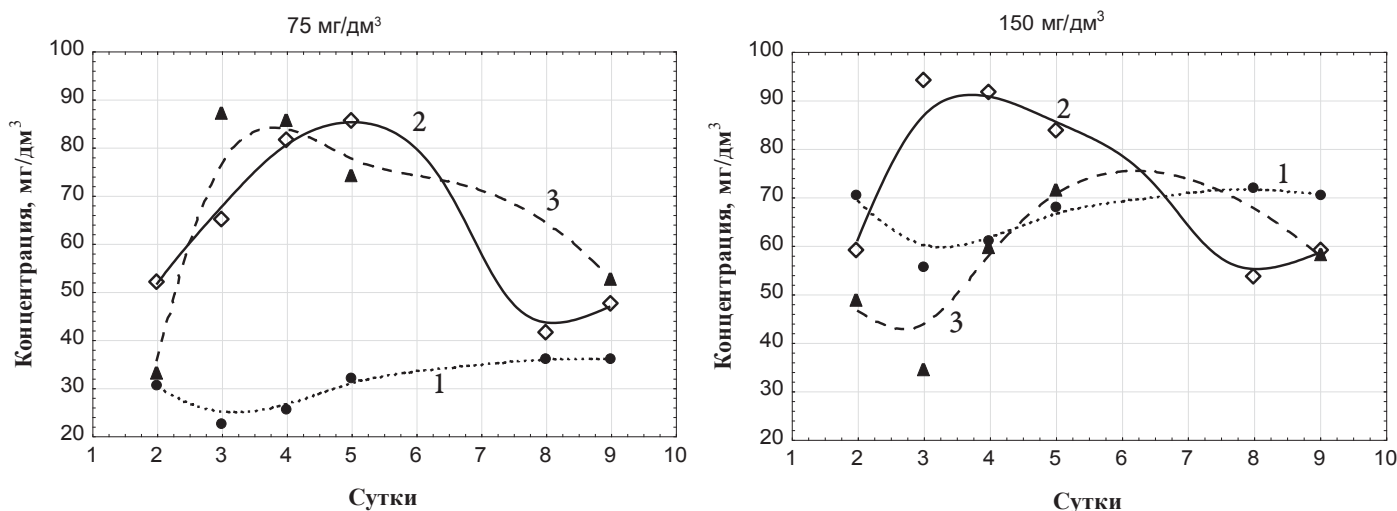
При решении задачи по обоснованию критериев отбора культур дрожжей для производства вин с пониженным содержанием SO<sub>2</sub> исходили из того, что дрожжи должны обладать хорошей бродильной активностью; способностью доминировать при инокуляции в виноградное сусло и низкой способностью к синтезу диоксида серы и SO<sub>2</sub>-связывающих веществ (в первую очередь, ацетальдегида, образующего наиболее устойчивые соединения с диоксидом серы). Теоретический этап исследований включал проработку вопроса о факторах и механизмах синтеза диоксида серы и ацетальдегида дрожжами. Выделены следующие современные представления, имеющие значение для достижения цели настоящей работы. Синтез диоксида серы и SO<sub>2</sub>-связывающих соединений дрожжами в процессе жизнедеятельности связан с механизмами детоксикации SO<sub>2</sub>, приоритетными из которых считаются выведение SO<sub>2</sub> из клетки с помощью специализированных насосов для оттока сульфита и синтез ацетальдегида [25–30]. Механизмы детоксикации диоксида серы закреплены генетически, но степень их участия в данном процессе варьирует в широком диапазоне в зависимости от штамма дрожжей, его восприимчивости к диоксиду серы и способности реагировать на стрессовые условия; температуру брожения; концентрацию ассимилируемого азота и других факторов [9]. Дрожжи, устойчивые к действию диоксида серы, синтезируют большие количества ацетальдегида как в присутствии SO<sub>2</sub>, так и в его отсутствие [30]. Синтез SO<sub>2</sub>-связывающих соединений и количество синтезируемого дрожжами

диоксида серы во многом зависит от концентрации SO<sub>2</sub> в среде культивирования. Данная информация, во-первых, позволила нам определить в качестве одного из потенциальных критериев отбора культуры дрожжей для виноделия с нулевой и/или пониженной SO<sub>2</sub>-нагрузкой степень устойчивости дрожжей к диоксиду серы, оцениваемой по изменению ростовой активности культуры при внесении диоксида серы, и способность синтезировать ацетальдегид и диоксид серы в процессе роста. Во-вторых, выявила необходимость установления режимов и параметров культивирования дрожжей для оценки степени их сульфитоустойчивости, способности к синтезу ацетальдегида и диоксида серы.

В связи с этим на первом этапе экспериментальных исследований анализировали динамику форм диоксида серы, ацетальдегида (как основного SO<sub>2</sub>-связывающего вещества) и сульфатов (одного из продуктов окисления свободной формы сернистой кислоты) в процессе брожения при разных дозах сульфитации сусла. При планировании эксперимента учитывали, что все используемые в настоящем исследовании штаммы дрожжей являются сульфитоустойчивыми, (т.е., согласно существующей методике оценки сульфитоустойчивости, способны забраживать при содержании свободной формы SO<sub>2</sub> в сусле 100 мг/дм<sup>3</sup> [31]). Необходимо было выбрать дозы сульфитации сусла, позволяющие, с одной стороны, зафиксировать различия между штаммами по сульфитоустойчивости, а с другой стороны, были приближены к условиям производства вин с пониженной SO<sub>2</sub>-нагрузкой. На основании вышеизложенного нами были выбраны два режима сульфитации сусла – 75 и 150 мг/дм<sup>3</sup>. Внесение SO<sub>2</sub> (в виде 3% раствора Кадефита) осуществляли с использованием пипетки, погружая носик в сусло, быстро перемешивали и закрывали емкость. Брожение осуществлялось в трех повторностях в емкостях объемом 1000 см<sup>3</sup>, заполненных пастеризованным виноградным суслом не менее, чем на 70% с частичным доступом воздуха на штамме Ленинградская при температуре 22±2 °С. Отбор проб осуществляли ежедневно до момента достижения равновесия содержания свободных и связанных форм диоксида серы. Результаты эксперимента показали, что независимо от режимов сульфитации динамика содержания разных форм диоксида серы и ацетальдегида имела сходный полиномиальный характер (рис. 1).

Установлено, что по окончании первых суток культивирования общее содержание диоксида серы в сусле снижалось, независимо от дозы внесенного SO<sub>2</sub>, на 51-58%. Возможно, это связано с физическими процессами, проходящими на этом этапе, и вовлечением диоксида серы в метаболизм дрожжей для синтеза серусодержащих аминокислот. Значительное количество диоксида серы связывалось компонентами сусла уже в первые двое суток брожения, а равновесное состояние разных форм сульфита наступало по истечении пяти-шести суток. Независимо от дозы сульфитации сусла значительное увеличение содержания свободных форм диоксида серы наблюдалось, начиная с



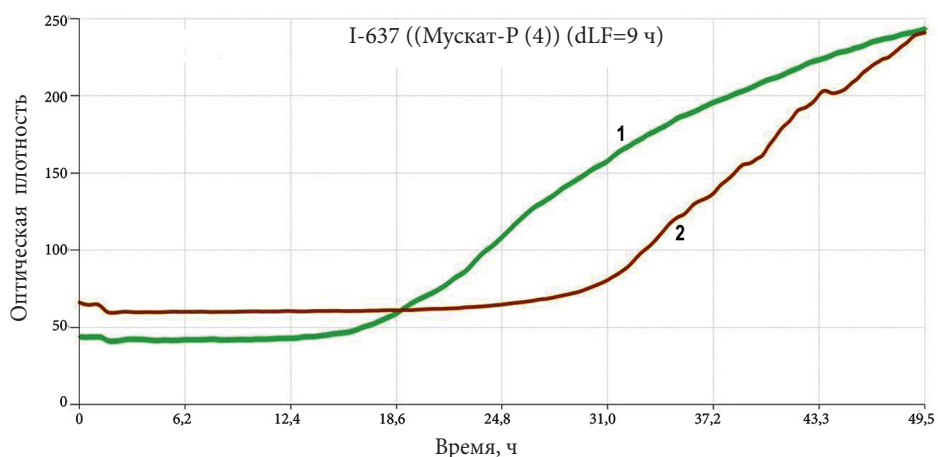


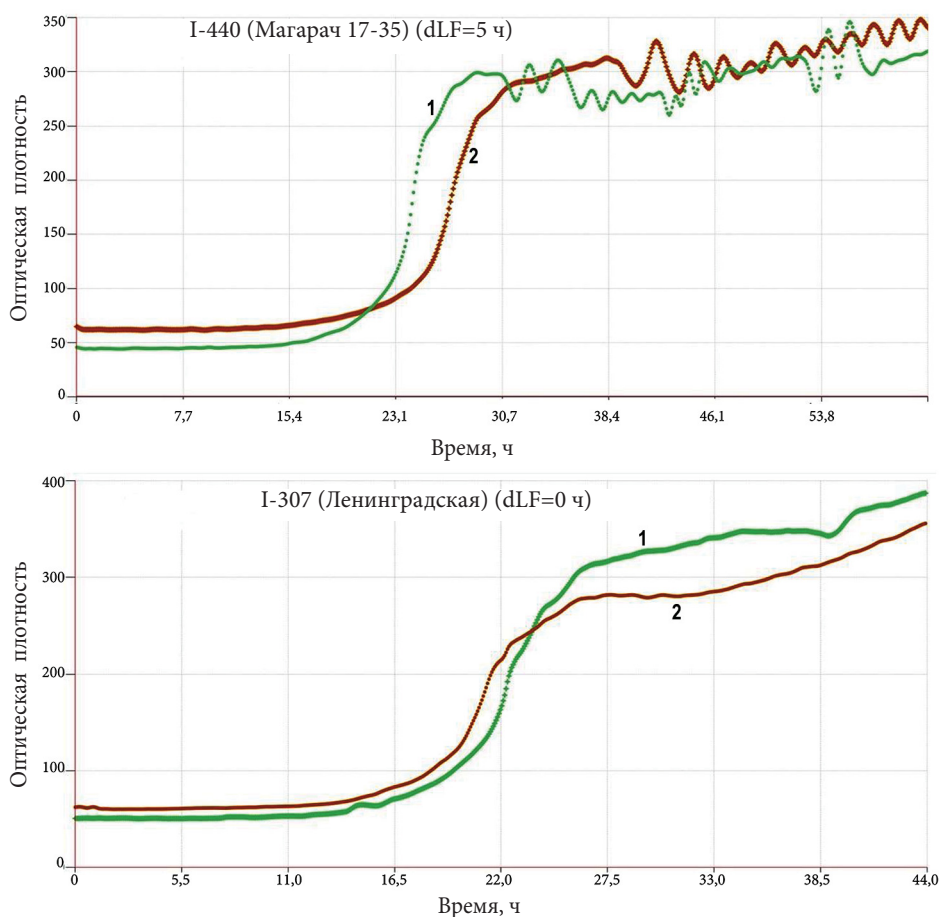
**Рис. 1.** Динамика форм сернистой кислоты, ацетальдегида, сульфат-ионов при брожении виноградного сусла при разных дозах сульфитации: 1 – связанные формы  $\text{SO}_2$ ; 2 – альдегиды; 3 – сульфаты

**Fig. 1.** Dynamics of forms of sulfurous acid, acetaldehyde, sulfate-ions during grape must fermentation at different doses of sulfitation: 1 - bound forms of  $\text{SO}_2$ ; 2 - aldehydes; 3 - sulfates

четвертых суток брожения и достигая в среднем 33 % от начального содержания при дозе  $\text{SO}_2$  75 мг/дм<sup>3</sup> и 100 % – при дозе 150 мг/дм<sup>3</sup>. При внесении в сусло 75 мг/дм<sup>3</sup> диоксида серы наибольшая концентрация сульфатов (в среднем 74,2 мг/дм<sup>3</sup>) фиксировалась на третьи сутки брожения, альдегидов (в среднем 85,4 мг/дм<sup>3</sup>) – на 5-е сутки; напротив, при сульфитации 150 мг/дм<sup>3</sup> наибольшие значения содержания сульфатов наблюдалось на пятые-шестые сутки, а альдегидов – на вторые сутки. При этом в момент достижения максимального уровня концентрация сульфатов в сусле, сульфитированном из расчета 75 мг/дм<sup>3</sup>  $\text{SO}_2$ , была на 21 % выше таковой при дозе диоксида серы 150 мг/дм<sup>3</sup>, что свидетельствует о большей скорости окисления свободной формы сернистой кислоты при меньшей дозе сульфитации. Содержание альдегидов в сусле при дозе диоксида серы 150 мг/дм<sup>3</sup> на протяжении всего процесса превышало таковое при сульфитации 75 мг/дм<sup>3</sup> в среднем на 20%, что позволяет предполагать увеличение синтеза компонентов дрожжевой клеткой как ответ на стресс, созданный присутствием диоксида серы. Таким образом, полученные результаты показали, что при сравнительной оценке способности культур дрожжей к синтезу диоксида серы и альдегидов анализ содержания компонентов целесообразно производить по окончании экспоненциальной фазы роста дрожжей; сульфитация сусла из расчета 150 мг/дм<sup>3</sup> общего  $\text{SO}_2$  является более информативной в аспекте изучения биосинтетической способности дрожжей, чем доза 75 мг/дм<sup>3</sup>. Исходя из стремления приблизить условия эксперимента к технологическим реалиям, для проведения дальнейших исследований была выбрана доза сульфитации – 100 мг/дм<sup>3</sup>.

Суть второго этапа исследований заключалась в выявлении показателей для отбора штаммов дрожжей для производства органических вин и вин с пониженным содержанием диоксида серы. Культивирование осуществляли на установке CGQ фирмы Aquilabiolabs при температуре 25°C и перемешивании среды со скоростью 150 об/мин. в двух колбах емкостью 250 см<sup>3</sup>, содержащих по 100 см<sup>3</sup> пастеризованного виноградного сусла. В одну из колб добавляли  $\text{SO}_2$  из расчета 100 мг/дм<sup>3</sup> (опыт). В обе колбы вносили дрожжевую разводку до начальной концентрации клеток в среде  $0,5 \times 10^6$  клеток/см<sup>3</sup>. Измерения останавливали при достижении культурой стационарной фазы роста. На этом этапе осуществляли отбор среды культивирования для проведения исследований химического состава. Анализ данных показал, что длительность лаг-фазы исследуемых культур *Sacch. cerevisiae* в среде без  $\text{SO}_2$  (LFa) варьировала от шести до пятнадцати часов. В результате статистической обработки экспериментальных данных выделено три условные группы дрожжей, значительно различающихся по увеличению длительности лаг-фазы в присутствии диоксида серы (LFb), что позволило предположить разную степень их  $\text{SO}_2$ -резистентности (рис. 2).





**Рис. 2.** Кривые роста культур дрожжей в отсутствии (1) и присутствии (2) SO<sub>2</sub>  
**Fig. 2.** Growth curves of yeast cultures in the absence (1) and presence (2) of SO<sub>2</sub>

**Таблица.** Значения показателей роста и метаболизма культур дрожжей, объединенных в группы по SO<sub>2</sub>-резистентности (диапазон значений/среднее значение)

**Table.** Growth and metabolism values of yeast cultures grouped by SO<sub>2</sub>-resistance (range/mean value)

Показатель	Группа штаммов					
	1	2	3	1	2	3
	изменение длительности лаг-фазы, ч					
	≥ 8	2-6	<2	≥ 8	2-6	<2
	сусло без SO <sub>2</sub>			сусло + 100 мг/дм <sup>3</sup> SO <sub>2</sub>		
Массовая концентрация в среде, мг/дм <sup>3</sup>						
альдегидов	18,7-67,9 41,8	18,2-66,2 43,9	43,3-67,9 54,7	28,4-52,1 44,0	32,7-72,3 49,7	34,5-69,7 48,7
SO <sub>2</sub> своб.	0,7-3,2 2,4	1,3-5,1 3,0	1,9-7,1 3,9	3,2-7,1 4,4	3,2-9,6 5,9	5,8-12,8 7,7
SO <sub>2</sub> связ.	4,7-18,1 13,3	6,6-18,1 10,9	2,8-25,8 17,1	46,5-83,4 60,0	32,2-82,4 60,0	44,4-62,9 55,3
Время генерации, ч	3,2-8,0 5,3	2,8-4,0 3,4	2,5-4,9 3,4	2,9 5,5	3,5 3,8	3,4 3,2
Длительность лаг-фазы, ч	8-13 10,2	7-14 10,8	6-15 10,6	17-23 19,7	12-18 14,8	7-15 10,6

Для первой группы характерно увеличение лаг-фазы (dLF-LFb-LFa) на восемь часов и более (условно названы «чувствительные»); второй – на два-шесть часов; третьей – без изменения («устойчивые»). Кроме изменения длительности лаг-фазы, выде-

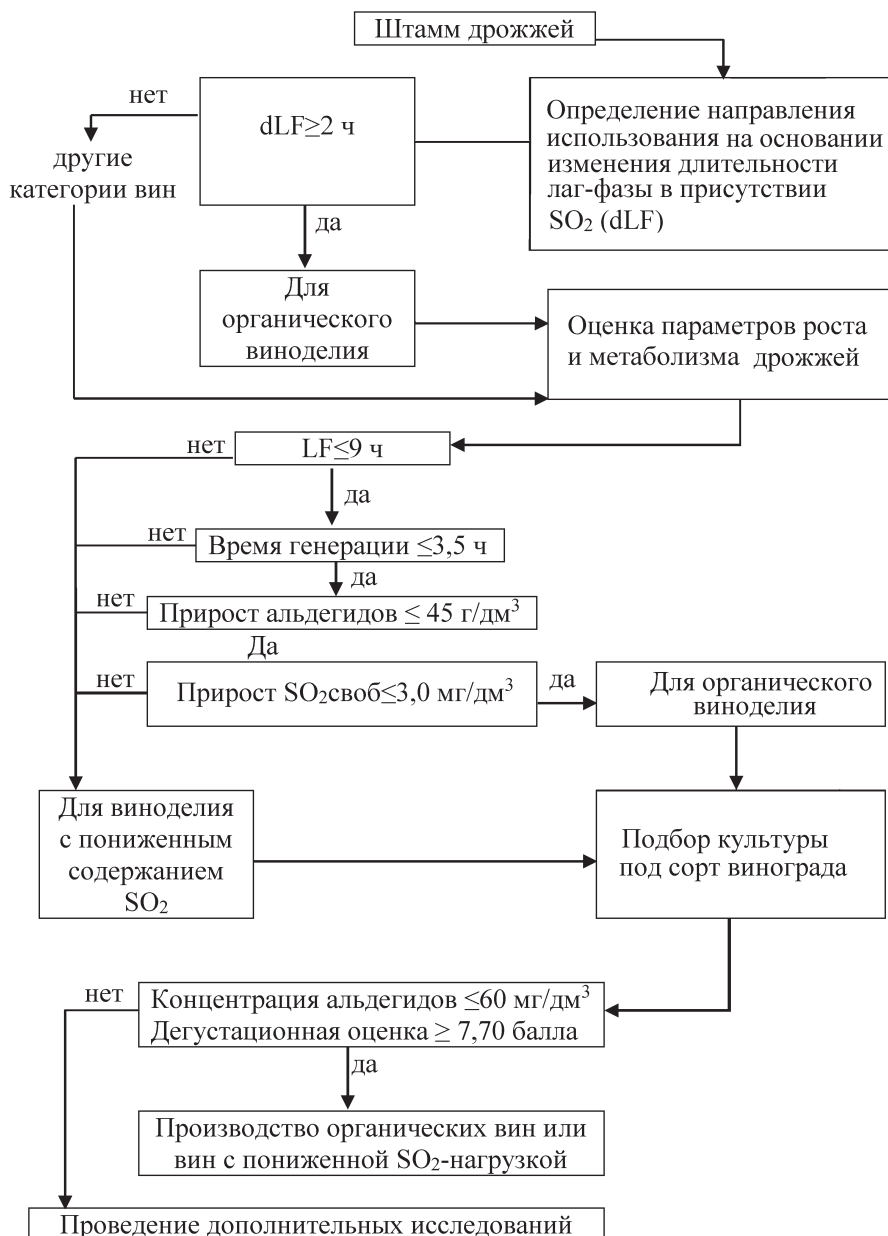
ленные группы значимо (Wilks L=0,228; α<0,05) отличались по совокупности показателей роста дрожжей (времени и длительности генерации и длительности лаг-фазы), продуцированию в среде ацетальдегида и свободной формы диоксида серы при различных условиях культивирования (табл.).

Культуры дрожжей, вошедшие в третью группу (наиболее устойчивые к диоксиду серы), отличались от культур других групп большей альдегидобразующей способностью в отсутствие диоксида серы. При этом концентрация свободных форм сернистой кислоты в среднем была в 1,5 раза выше, чем при использовании штаммов других групп при разных условиях культивирования. Последний факт препятствует использованию культур третьей группы для выработки вин с нулевой SO<sub>2</sub>-нагрузкой, но представляет экономический интерес для виноделия с пониженной SO<sub>2</sub>-нагрузкой.

Отличительной чертой штаммов дрожжей, отнесенных к первой и второй группам, является невысокая способность к продуцированию альдегидов и свободных форм сернистой кислоты в среде без диоксида серы, что позволяет их использовать для вин с пониженной SO<sub>2</sub>-нагрузкой [32]. Однако необходимо учитывать, что культуры дрожжей, объединенные в первую группу, отличались повышенным временем генерации, что свидетельствует о низкой скорости роста данных культур. Это может явиться ограничивающим фактором для их применения в органическом виноделии.

На основании анализа совокупности полученных результатов была разработана методология, включающая этапы, условия и параметры скрининга дрожжей для производства вин с нулевой и пониженной SO<sub>2</sub>-нагрузкой. Алгоритм принятия решений по выбо-

ру штамма дрожжей представлен на рис. 3. На первом этапе на основании оценки изменения длительности лаг-фазы определяется наиболее перспективное направление использования того или иного штамма –



**Рис. 3.** Алгоритм отбора культуры дрожжей для производства органических вин и вин с пониженным содержанием диоксида серы

**Fig. 3.** Algorithm for selecting a yeast culture for the production of organic wines and wines with a reduced content of sulfur dioxide

для производства органических вин или вин с пониженной  $SO_2$ -нагрузкой. Второй этап предусматривает культивирование дрожжей на установке CGQ фирмы Aquilabiolabs (или аналогичной) на сусле без диоксида серы для выработки органических вин и с диоксидом серы ( $100 \text{ мг/дм}^3$ ) – для вин с пониженной  $SO_2$ -нагрузкой с фиксированием длительности лаг-фазы, времени генерации, прироста содержания альдегидов и свободной формы диоксида серы.

Исследования предыдущих лет показали, что на синтез альдегидов дрожжами влияет состав сусла, определяемый сортом винограда. Поэтому третий этап предусматривает приготовление виноматериалов и выбор культур дрожжей по содержанию в виноматериалах альдегидов (что особенно важно в случае

производства вин с пониженной  $SO_2$ -нагрузкой) и органолептическим характеристикам. Предельное содержание альдегидов в виноматериалах (не более  $60 \text{ мг/дм}^3$ ) установлено эмпирическим путем. Такой уровень альдегидов был присущ более, чем 77% молодых виноматериалов с нулевой и пониженной  $SO_2$ -нагрузкой, характеризующихся хорошим качеством (дегустационная оценка составляла не менее 7,7 балла). С использованием предложенного методического подхода составлен рейтинг культур дрожжей из ЦКП Коллекция микроорганизмов виноделия «Магарач», перспективных для производства органических вин (I-440, I-24>I-527>I-25, I-279>I-271>I-250, I-652) и вин с пониженной (I-492, I-307>I-187>I-144>I-250, I-652)  $SO_2$ -нагрузкой, в т.ч. для сортов винограда Алиготе, Кокур белый, Ркацители, Мускат белый, Каберне-Совиньон, Мерло. Штаммы I-250 и I-652 по результатам двухэтапной оценки по ряду параметров подходят для выработки вин как с нулевой, так и с пониженной  $SO_2$ -нагрузкой, что подтвердилось результатами органолептического тестирования.

### Выводы

Таким образом, результаты проведенных исследований показали статистически подтвержденную возможность использования ростовых (изменение длительности лаг-фазы, время генерации) и биосинтетических (синтезировать ацетальдегид и диоксид серы в процессе роста) характеристик штаммов в качестве критериев скрининга дрожжей для производства органических вин и вин с пониженным содержанием диоксида серы. На основании полученных результатов была разработана методология оценки культур дрожжей для производства органических вин и вин с пониженным содержанием сульфитов.

### Благодарность

Выражаем благодарность ведущему научному сотруднику лаборатории микробиологии ФБГУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН», кандидату технических наук Танащук Т.Н. за неоценимую помощь в проведении микробиологических исследований; сотрудникам лаборатории Лутковой Н.Ю., Вьюгиной М.А. и Евстафьевой О.Ю. за осуществление химических методов анализа.



**Источник финансирования**

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 0833-2019-0022.

**Financing source**

The work was conducted under public assignment No. 0833-2019-0022.

**Конфликт интересов**

Не заявлен.

**Conflict of interest**

Not declared.

**Список литературы / References**

- Willer H., Lernoud J., Kemper L. The world of organic agriculture 2019: summary. FiBL & IFOAM – Organics International (2019): The World of Organic Agriculture. Frick and Bonn. <https://shop.fibl.org/CHen/mwdownloads/download/link/id/1202/?ref=1> (date of access: 10.10.2022).
- Madge D. Organic viticulture: an Australian manual. Mildura: Primary Industries Research Victoria, Department of Primary Industries. 2005:1-174.
- Lernoud J., Willer H. Current statistics on organic agriculture worldwide: area, operators, and market. FiBL & IFOAM – Organics International (2019): The World of Organic Agriculture. Frick and Bonn. <https://shop.fibl.org/CHen/mwdownloads/download/link/id/1202/?ref=1> (date of access 20.10.2022).
- Мироненко О.В. Органический рынок России. Итоги 2017 года. Перспективы на 2018 год. <http://rosorganic.ru/files/Mironenko%20Analitika%202017-18.pdf> (дата обращения: 20.12.2021).  
Mironenko O.V. Russian organic market. Results of 2017. Outlook for 2018. <http://rosorganic.ru/files/Mironenko%20Analitika%202017-18.pdf> (date of access 20.12.2021) (*in Russian*).
- EU rules for organic wine production. 2013. [https://orgprints.org/29867/1/ifoameu\\_reg\\_wine\\_dossier\\_201307.pdf](https://orgprints.org/29867/1/ifoameu_reg_wine_dossier_201307.pdf) (date of access: 22.10.2022).
- Роскачество предложило стандартизировать использование диоксида серы в органическом вине. 2022. <https://alcoexpert.ru/itnews/49400-roskachestvo-predlozhilo-standartizirovat-ispolzovanie-dioksida-sery-v-organicheskom-vine.html> (дата обращения: 12.01.2023).  
Roskachestvo proposed to standardize the use of sulfur dioxide in organic wine 2022. <https://alcoexpert.ru/itnews/49400-roskachestvo-predlozhilo-standartizirovat-ispolzovanie-dioksida-sery-v-organicheskom-vine.html> (date of access 12.01.2023) (*in Russian*).
- Zara G., Nardi T. Yeast metabolism and its exploitation in emerging winemaking trends: from sulfite tolerance to sulfite reduction. *Fermentation*. 2021;7(2):17. DOI 10.3390/fermentation7020057.
- Resolution OIV-OENO 631-2020. Review of practices for the reduction of SO<sub>2</sub> doses used in winemaking. <https://www.oiv.int/public/medias/7593/oiv-oeno-631-2020-en.pdf> (date of access 24.11.2022).
- Zironi R., Comuzzo P., Tat L., Scobioala S. Strategies to reduce SO<sub>2</sub> use in early phases of winemaking. In *www.infowine.com – Internet Journal of Enology and Viticulture*. 2009;10:1. <https://www.infowine.com/intranet/libretti/libretto7435-01-1.pdf>.
- Di Gianvito P., Englezos V., Rantsiou K., Coccolin L. Bioprotection strategies in winemaking. *International Journal of Food Microbiology*. 2022;364:109532. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109532.
- Simonin S., Alexandre H., Maréchal R.T. Bio-protection in oenology: a real alternative to sulfites? *Internet Journal of Viticulture and Enology*. 2021;6:2. [https://www.infowine.com/en/technical\\_articles/bio-protection\\_in\\_oenology\\_a\\_real\\_alternative\\_to\\_sulfiteswhy\\_sc\\_19523.htm](https://www.infowine.com/en/technical_articles/bio-protection_in_oenology_a_real_alternative_to_sulfiteswhy_sc_19523.htm) (date of access 12.01.2023).
- Schneider V., Müller J., Schmidt D. Oxygen consumption by postfermentation wine yeast lees: factors affecting its rate and extent under oenological conditions. *Food Technology and Biotechnology*. 2016;54(4):395-402. DOI 10.17113/ftb.54.04.16.4651.
- Pons-Mercadé P., Anguela S., Giménez P., Heras J.M., Sieczkowski N., Rozès N., Canals J.M., Zamora F. Measuring the oxygen consumption rate of some inactivated dry yeasts: comparison with other common wine antioxidants. *OENO One*. 2021;55(2):147-158. DOI 10.20870/oenone.2021.55.2.4618.
- Salmon J.M., Fornairon-Bonnefond C., Mazaauric J.P., Moutounet M. Oxygen consumption by wine lees: Impact on lees integrity during wine ageing. *Food Chem*. 2000;71:519-528. DOI 10.1016/S0308-8146(00)00204-1.
- Salmon J.M. Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: Practical implications. *Food Sci Technol*. 2006;39:959-965. DOI 10.1016/j.lwt.2005.11.005.
- Fornairon-Bonnefond C., Salmon J.M. Impact of oxygen consumption by yeast lees on the autolysis phenomenon during simulation of wine aging on lees. *J. Agric. Food Chem*. 2003;51(9):2584-2590. DOI 10.1021/jf0259819.
- Kritzinger E.C, Bauer F.F, du Toit W.J. Role of glutathione in winemaking: a review. *J. Agric. Food Chem*. 2013;61(2):269-277. DOI 10.1021/jf303665z.
- Müller N., Rauhut D., Tarasov A. Sulfane sulfur compounds as source of reappearance of reductive off-odors in wine. *Fermentation*. 2022;8(2):53. DOI 10.3390/fermentation8020053.
- ЦКП: Коллекция микроорганизмов виноделия. Каталог культур. «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН». <http://magarach-institut.ru/kollekcija-mikroorganizmov-vinodelija-magarach/> (дата обращения: 10.07.2022).  
Magarach Common Use Center: Collection of Winemaking Microorganisms <http://magarach-institut.ru/kollekcija-mikroorganizmov-vinodelija-magarach/> (date of access 10.07.2022) (*in Russian*).
- Morgan S.C., Haggerty J.J., Johnston B., Jiranek V., Durall D.M. Response to sulfur dioxide addition by two commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Fermentation*. 2019;5(3):69. DOI 10.3390/fermentation5030069.
- 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*. *Microbial Cell Factories*. 2016;15:127. DOI 10.1186/s12934-016-0526-3.
- Методы технoхимического контроля в виноделии / Под ред. Гержиковой В.Г. 2-е изд. Симферополь: Таврида, 2009:1-303.  
Methods of technochemical control in winemaking. Edited by Gerzhikova V.G. Simferopol: Tavrida. 2009:1-303 (*in Russian*).
- Остроухова Е.В., Пескова И.В., Пробейголова П.А. Исследование влияния технологических приемов производства красных сухих виноматериалов на формирование их вкуса // Проблемы развития АПК региона. 2015;1(21):74-78.  
Ostroukhova E.V., Peskova I.V., Probeigolova P.A. The research on the effect of processing technologies of red dry wine materials production on the formation of their flavour.

- Problems of AIC development of the region. 2015;1(21):74-78 (in Russian).
24. Пробейголова П.А., Остроухова Е.В. Роль технологических факторов в формировании аромата красных столовых вин // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2019;21(1):57-60.  
Probeigolova P.A., Ostroukhova E.V. The role of technological factors in aroma development of red table wines. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2019;21(1):57-60 (in Russian).
25. Walker M.E., Zhang J., Sumbly K.M., Lee A., Houllès A., Li S., Jiranek V. Sulfate transport mutants affect hydrogen sulfide and sulfite production during alcoholic fermentation. *Yeast*. 2021;38(6):367–381. DOI 10.1002/yea.3553.
26. Divol B.E., du Toit M., Duckitt E. Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012;95:601–613. DOI 10.1007/s00253-012-4186-x.
27. Garcia-Rios E., Nuevalos M., Barrio E., Puig S., Guillamon J.M. A new chromosomal rearrangement improves the adaptation of wine yeasts to sulfite. *Environmental Microbiology*. 2019;21:1771–1781. DOI 10.1111/1462-2920.14586.
28. Valero E., Tronchoni J., Morales P., Gonzalez R. Autophagy is required for sulfur dioxide tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Biotechnology*. 2019;13:599–604. DOI 10.1111/1751-7915.13495.
29. Zimmer A., Durand C., Loira N., Durrens P., Sherman D.J., Marullo P. QTL dissection of lag phase in wine fermentation reveals a new translocation responsible for *Saccharomyces cerevisiae* adaptation to sulfite. *PLoS ONE*. 2014;9(1):e86298. DOI 10.1371/journal.pone.0086298.
30. Casalone E., Colella C.M., Daly S., Gallori E., Moriani L., Polsinelli M. Mechanism of resistance to sulphite in *Saccharomyces cerevisiae*. *Current Genetics*. 1992;22:435–440. DOI 10.1007/BF00326407.
31. Бурьян Н.И. Микробиология виноделия. Симферополь: Таврида. 1997:1–431.  
Buryan N.I. Microbiology of winemaking. Simferopol: Tavrida. 1997:1–431 (in Russian).
32. Чурсина О.А., Загоруйко В.А., Легашева Л.А., Мартыновская А.В., Погорелов Д.Ю. Технологические аспекты использования штамма *Lachancea thermotolerans* в коньячном производстве // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2022;5:32-36.  
Chursina O.A., Zagorouiko V.A., Legasheva L.A., Martinovskaya A.V., Pogorelov D.Yu. Technological aspects of using the yeast strain *Lachancea thermotolerans* in brandy production. *News of Higher Educational Institutions. Food Technology*. 2022;5:32-36 (in Russian).

---

### Информация об авторах

**Ирина Валериевна Пескова**, канд. техн. наук, вед. науч. сотр. лаборатории тихих вин; e-мэйл: yarinka-73@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5107-518X>;

**Елена Викторовна Остроухова**, д-р техн. наук, глав. науч. сотр. лаборатории тихих вин; e-мэйл: elenostroukh@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0638-9187>.

### Information about authors

**Irina V. Peskova**, Cand. Techn. Sci., Leading Staff Scientist, Still Wines Laboratory; e-mail: yarinka-73@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5107-518X>;

**Elena V. Ostroukhova**, Dr. Techn. Sci., Chief Staff Scientist, Still Wines Laboratory; e-mail: elenostroukh@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0638-9187>.

Статья поступила в редакцию 08.02.2023, одобрена после рецензии 17.02.2023, принята к публикации 21.02.2023