

УДК 663.125  
EDN ODZAPZ

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

## Влияние природных микробиомов дрожжей и *Lachancea thermotolerans* на качество красных сухих виноматериалов

Пескова И.В.<sup>✉</sup>, Остроухова Е.В., Тампей И.К., Слатья Е.А.

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

<sup>✉</sup>bioxim2012@mail.ru

**Аннотация.** В последние годы актуализировались исследования по биогеографии вина – изучению географического распределения микроорганизмов виноградников и факторов, влияющих на состав микробиома. Идея микробного терруара заключается в том, что микроорганизмы виноградника уникальны, адаптированы к определенному сорту винограда, условиям его произрастания и способствуют формированию уникальных характеристик вин, вырабатываемых в определенной местности. Целью настоящей работы являлось изучение влияния природного консорциума микроорганизмов как самостоятельно, так и совместно с дрожжами *L. thermotolerans* на формирование химического состава красных сухих виноматериалов. Использовали природные консорциумы дрожжей, полученные с 2-х виноградников Каберне Совиньон; в качестве культуры сравнения принят штамм I-652 из ЦКП КМВ «Магарач». Органические кислоты определяли методом ВЭЖХ, анализ химического состава осуществляли с использованием методов, принятых в энологической практике. Выявлено, что использование последовательной инокуляции мезги дрожжами *L. thermotolerans* и природного консорциума микроорганизмов способствовало увеличению концентрации титруемых кислот в 2,9-4,8 раза, молочной (в 2,2-2,8 раза) и янтарной (в 1,2 раза) кислот, сложных эфиров (в 2,3-2,9 раза), снижению значений pH на 0,18-0,28 в сравнении с контролем. Количество образующей молочной кислоты и сложных эфиров в виноматериалах зависело от используемого штамма *L. thermotolerans* и от места произрастания винограда. Результаты органолептического анализа показали благоприятное влияние данных микроорганизмов на качество виноматериалов, дегустационная оценка которых составляла 7,7-7,8 балла. Полученные результаты показывают перспективность дальнейших исследований по использованию природных консорциумов микроорганизмов, в том числе совместно с *Saccharomyces*, в производстве вина.

**Ключевые слова:** *Lachancea thermotolerans*; Pied de cuve; органические кислоты; сложные эфиры; глицерин; альдегиды.

**Для цитирования:** Пескова И.В., Остроухова Е.В., Тампей И.К., Слатья Е.А. Влияние природных микробиомов дрожжей и *Lachancea thermotolerans* на качество красных сухих виноматериалов // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2024;26(2):160-166. EDN ODZAPZ

ORIGINAL RESEARCH

## The effect of natural microbiomes of yeasts and *Lachancea thermotolerans* on the quality of dry red wines

Peskova I.V.<sup>✉</sup>, Ostroukhova E.V., Tampey I.K., Slastya E.A.

All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of the RAS, Yalta, Republic of Crimea, Russia

<sup>✉</sup>bioxim2012@mail.ru

**Abstract.** In recent years, the research on biogeography of wine - the study of geographical distribution of microorganisms in vineyards, and factors influencing the composition of microbiome - takes an increasing importance. The idea of microbial terroir is that microorganisms of a vineyard are unique, adapted to a particular grape variety, and its growing conditions. They contribute to the formation of unique characteristics of wines produced in a particular area. The purpose of this work was to study the effect of a natural consortium of microorganisms, both independently and together with the yeast *L. thermotolerans*, on the formation of chemical composition of dry red wines. We used natural yeast consortia obtained from 2 'Cabernet Sauvignon' vineyards; the strain I-652 from the Center for Collective Use Collection of Winemaking Microorganisms Magarach was taken as a reference culture. Organic acids were determined using HPLC, chemical composition was analyzed using methods accepted in oenological practice. It was revealed that the use of serial must inoculation with the yeast *L. thermotolerans*, and a natural consortium of microorganisms contributed to an increase in the concentration of titratable acids by 2.9-4.8 times, lactic (2.2-2.8 times) and succinic (1.2 times) acids, compound esters (2.3-2.9 times), and a decrease in pH values by 0.18-0.28 compared to the control. The amount of lactic acid and compound esters formed in wines depended on the *L. thermotolerans* strain used, and vegetation area of grapes. The results of organoleptic analysis showed a beneficial effect of these microorganisms on the quality of wines, tasting assessment of which was 7.7-7.8 points. The results obtained show a long-term benefit of further research on the use of natural consortia of microorganisms, including together with non-*Saccharomyces*, in wine production.

**Key words:** *Lachancea thermotolerans*; Pied de cuve; organic acids; compound esters; glycerol; aldehydes.

**For citation:** Peskova I.V., Ostroukhova E.V., Tampey I.K., Slastya E.A. The effect of natural microbiomes of yeasts and *Lachancea thermotolerans* on the quality of dry red wines. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2024;26(2):160-166. EDN ODZAPZ (in Russian).

### Введение

Современная тенденция в виноделии, связанная со стремлением производителей винопродукции производить качественное, конкурентоспособное вино с уникальными, узнаваемыми потребителем характе-

ристиками – использование разных видов дрожжей, в том числе и *Saccharomyces*, что позволяет улучшить ароматический профиль вина, регулировать содержание органических и летучих кислот, этанола, глицерина и других продуктов метаболизма дрожжей, обеспечивать защиту виноматериалов и вин от микроорганизмов, вызывающих порчу [1-3]. Среди

© Пескова И.В., Остроухова Е.В.,  
Тампей И.К., Слатья Е.А., 2024

препаратов активных сухих дрожжей (АСД), представленных на рынке вспомогательных материалов виноделия, присутствуют АСД, содержащие дрожжи *non-Saccharomyces*. Чаще всего это *Torulaspora delbrueckii*, *Lachancea thermotolerans* и *Metschnikowia pulcherrima*. Достаточно популярными стали препараты, содержащие консорциумы микроорганизмов, в состав которых входят *Saccharomyces* и *non-Saccharomyces* или только *non-Saccharomyces* [4].

Большинство *non-Saccharomyces* неустойчивы к этанолу и характеризуются низкой бродильной способностью, особенно в присутствии диоксида серы [5-8]. Поэтому для обеспечения завершения процесса брожения необходима одновременная или последовательная инокуляция *non-Saccharomyces* с *Saccharomyces cerevisiae* [6-10].

Не меньший интерес в последние годы проявляется в отношении микроорганизмов, потенциально адаптированных к условиям конкретной местности и сорту винограда [11-13]. Использование микробиомов дрожжей виноградной ягоды для производства вина является экономически более выгодным, чем использование промышленных культур – это особенно важно для небольших фермерских хозяйств. Кроме того, эти микроорганизмы способствуют обогащению вин метаболитами, формирующими уникальные ароматические и вкусовые характеристики терруарных вин [11]. Однако проведение брожения на спонтанной микрофлоре может сопровождаться развитием нежелательных микроорганизмов, вызывающих порчу вина, остановкой брожения и др. В какой-то степени снизить эти риски возможно за счет использования приема *Pied de cuve* – инициация брожения путем внесения бродящего сусла. Это позволяет добиться быстрого накопления биомассы дрожжей, что снижает риски окисления сусла и развития нежелательных микроорганизмов.

Совместное использование микроорганизмов требует понимания их взаимоотношений в процессе брожения. Взаимодействия могут происходить на разных уровнях, включая конкуренцию за доступные ресурсы, выброс токсичных соединений или обмен метаболитами, физический контакт между клетками и др. [14-18], что в конечном итоге повлияет на качество получаемого продукта.

Так, количество молочной кислоты, образующейся в результате брожения, зависит не только от штамма *L. thermotolerans*, но и от параметров проведения инокуляции среды: совместная или последовательная с *Saccharomyces* [19-21]. Отмечаемые некоторыми авторами антагонистические отношения *Saccharomyces* и *L. thermotolerans*, обусловленные механизмами межклеточного контакта и секрецией антимикробных пептидов [22], являются причиной образования более низкого количества молочной кислоты при совместной инокуляции этих микроорганизмов в сравнении с их последователь-

ной инокуляцией [20, 21, 23]. В какой-то степени избежать конкурентных отношений микроорганизмов, относящихся к разным родам/видам, возможно при использовании сообщества, выделенного из одной экологической ниши, поскольку само его существование свидетельствует о сложившихся взаимоотношениях микроорганизмов. Последнее позволяет рассматривать, в определенной степени, природный микробиом как консорциум [ГОСТ Р 57095-2016 Биотехнология. Термины и определения. Дата введения 2017-05-01].

**Цель работы** – изучение влияния природного консорциума дрожжей и *L. thermotolerans* на химический состав и органолептическое качество красных сухих виноматериалов.

#### Материалы и методы исследования

Объектами исследований являлись красные сухие виноматериалы, полученные в условиях микро-виноделия из винограда сорта Каберне Совиньон, произрастающего в Крыму в с. Вилино (крымский западно-приморский предгорный район) 2023 года урожая. Сбор винограда осуществляли с двух участков (координаты: 44°51'35,4"N; 33°39'30,1"E – участок 1; и 44°51'33,9"N; 33°36'23,8"E – участок 2).

В таблице представлены данные о содержании сахаров, титруемых (ТК) и органических кислот в винограде (сусле), величине pH.

Технология производства виноматериалов предусматривала дробление винограда, сульфитацию мезги из расчета  $75 \pm 2$  мг/дм<sup>3</sup> общего диоксида серы, брожение мезги при плавающей шапке с перемешиванием 3-4 раза в сутки, при температуре  $20 \pm 2$  °C до 1/3 остаточных сахаров, прессование мезги, дображивание сусла, декантацию виноматериалов, хранение при температуре 11°C. Брожение мезги осуществляли с использованием монокультуры дрожжей *Sacch. cerevisiae* Одесский черный-СД-13 (I-652) (контроль) из Коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач», рекомендуемой для производства красных вин [24, 25]; разводки природного консорциума дрожжей (доля *Saccharomyces* составляла не менее 80 %) (PdC) и последовательной инокуляции дрожжей *L. thermotolerans* (штамм 84 (Lth 84) и 86 (Lth 86) из рабочей коллекции лаборатории микробиологии института «Магарач») и PdC, вносимых в количестве 3 % от массы мезги. Учитывая возмож-

**Таблица.** Показатели химического состава и pH опытных партий винограда Каберне Совиньон, полученных с разных участков виноградника

**Table.** Indicators of chemical composition and pH of experimental batches of 'Cabernet Sauvignon' grapes obtained from different sections of the vineyard

Уча- сток	Массовая концентрация, г/дм <sup>3</sup>								pH
	сахаров	ТК	органических кислот					уксусной	
			лимонной	винной	яблочной	янтарной	молочной		
1	253	4,9	0,1	4,5	1,3	0,0	0,5	0,0	3,68
2	251	4,3	0,1	5,0	0,9	0,0	0,4	0,1	3,60

ность возникновения антагонистических отношений *Saccharomyces* и *L. thermotolerans* и низкую толерантность последних к этиловому спирту, варианты опыта включали последовательную инокуляцию мезги: сначала вносили разводку *L. thermotolerans*, затем – при наступлении угнетенного состояния клеток *L. thermotolerans* (определяли прямым микроскопированием) и накопления спирта 6-8 % об. – вносили PdC.

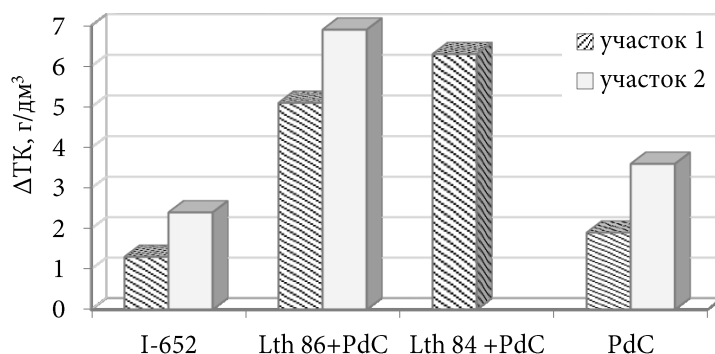
Приготовление и контроль разводки природного консорциума дрожжей осуществляли в соответствии с протоколом [26], согласно которому отбирали среднюю пробу винограда с каждого из участков за неделю до промышленного сбора. Виноград дробили, прессовали, полученное сусло сульфитировали из расчета 10 мг/дм<sup>3</sup> общего диоксида серы, вносили азотсодержащую подкормку. Контроль спонтанно забродившей разводки осуществляли по плотности бродающей среды, результатам сенсорного анализа, активности брожения (снижение плотности сусла в сутки составляло 10-15 ед.). Для инициации брожения в мезгу вносили разводку природного консорциума микроорганизмов, плотность которой составляла 1010-1030.

Массовую концентрацию органических кислот и глицерина в виноматериалах определяли методом ВЭЖХ с использованием гель-эксклюзионного разделения на колонке Supelcogel 610H в системе 0,01 N хлорной кислоты, методами спектрофотометрии (210 нм) и рефрактометрии на хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Япония). Погрешность метода составляла 10 % при P=0.95. Исследование химического состава сусла и виноматериалов осуществляли с использованием методов, основанных на принципах потенциометрии и колориметрии, принятых в энологической практике [27].

Образцы сброженного сусла готовили в двух-трех повторностях: общее количество образцов составляло 14. Все химические анализы проводили в трех повторностях. Статистическую обработку осуществляли с использованием программы SPSS Statistics 17.0. Органолептическое тестирование виноматериалов осуществлено дегустационной комиссией института «Магарач» по 8-балльному отрезку 10-балльной шкалы.

### Результаты и обсуждение

Наблюдаемое повышение температур окружающей среды влечет за собой изменение метаболизма виноградного растения, которое проявляется в снижении содержания кислот в ягодах, повышении pH, что негативно сказывается на качестве и стабильности вин. Это предопределило первоочередность оценки влияния исследуемых микробиологических подходов на формирование комплекса кислот виноматериалов. Содержание титруемых кислот в виноматериалах, полученных в ходе эксперимента, варьировало в диапазоне 6,2-11,2 г/дм<sup>3</sup>. При этом установлено, что использование природного консорциума дрожжей сопровождалось увеличением титруемой кислотности

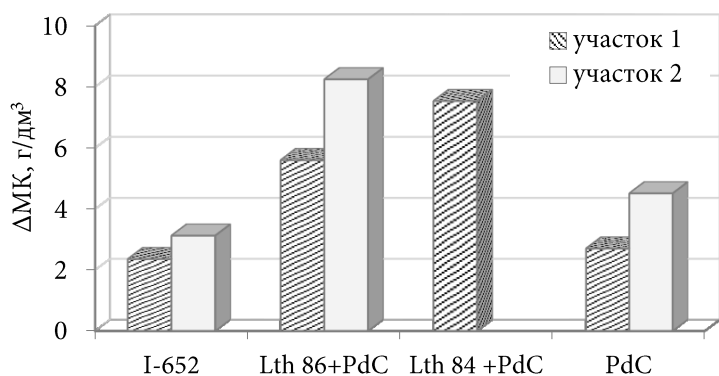


**Рис. 1.** Изменение концентрации титруемых кислот в цепочке виноград-виноматериал в зависимости от используемых микроорганизмов

**Fig. 1.** Changes in the concentration of titratable acids in the chain grapes - wine depending on the microorganisms used

сти от сусла до виноматериалов ( $\Delta\text{ТК} = \text{ТК}_{\text{виноматериал}} - \text{ТК}_{\text{сусло}}$ ) на 1,9 и 3,6 г/дм<sup>3</sup> (при использовании сырья и PdC с участка 1 и 2, соответственно), что в среднем в 1,5 раза выше, чем в случае использования культуры дрожжей I-652 (рис. 1). Дрожжи *L. thermotolerans* в ходе брожения способны часть сахаров метаболизировать с образованием молочной кислоты [7, 21, 28, 29]. Применение на начальных этапах брожения мезги дрожжей *L. thermotolerans* с последующим дображиванием на PdC привело к увеличению концентрации титруемых кислот в виноматериалах относительно сусла на 5,1-6,9 г/дм<sup>3</sup>: это в среднем в 2,9-4,8 раза выше, чем в контроле, где значения показателя варьировали от 1,3 до 2,4 г/дм<sup>3</sup>, и в 1,9-3,3 раза выше, чем при использовании только PdC. Отметим, что использование PdC с участка 2 приводило к более существенному увеличению содержания титруемых кислот в цепочке «сусло-виноматериал», чем в случае PdC с участка 1. Аналогичная тенденция прослеживалась и в отношении культуры I-652. Можно предположить, что установленный факт обусловлен как составом консорциумов, выделенных с разных участков, так и составом винограда, в частности, содержанием аминокислот, которые могут служить восстановительными субстратами для цикла трикарбоновых кислот, обеспечивая источник электронов для передачи энергии в митохондриях [30]. Данный вывод подтверждается результатами исследований Nothersall J.S и Ahmed A. [31], показавших наличие прямой корреляционной зависимости между интенсификацией транс- и дезаминирования аминокислот увеличением оборота ЦТК в определенных условиях.

Концентрация молочной кислоты (МК) в сусле исследуемых партий винограда составляла 0,4-0,5 г/дм<sup>3</sup>. Проведение брожения мезги на дрожжах I-652 и PdC сопровождалось увеличением ее содержания относительно сусла соответственно на 2,4-3,1 и 2,7-4,5 г/дм<sup>3</sup> (рис. 2). Последовательная инокуляция *L. thermotolerans* и PdC позволила получить виноматериалы, концентрация молочной кислоты в которых составляла 6,1-8,7 г/дм<sup>3</sup>, что в 2,2-2,8 раза выше, чем в контрольных вариантах и в 1,8-2,5 раза выше, чем при брожении только на PdC. В виноматериалах, по-



**Рис. 2.** Изменение концентрации молочной кислоты (ΔМК) в цепочке виноград-виноматериал в зависимости от используемых микроорганизмов

**Fig. 2.** Changes in the concentration of lactic acid (ΔLA) in the chain grapes – wine depending on the microorganisms used

лученных из винограда, произрастающего на участке 1, наибольший прирост содержания молочной кислоты был отмечен при использовании штамма *L. thermotolerans* 84. То, что прирост содержания молочной кислоты в виноматериалах связан именно с ее синтезом *L. thermotolerans* и зависит от штамма дрожжей, продемонстрировано в ходе ранее проведенных исследований [29]. Молочная кислота оказывает благоприятное влияние на вкус виноматериалов, делая его мягким, округлым, что и было подтверждено при органолептической оценке качества виноматериалов, полученных с использованием штаммов *L. thermotolerans*.

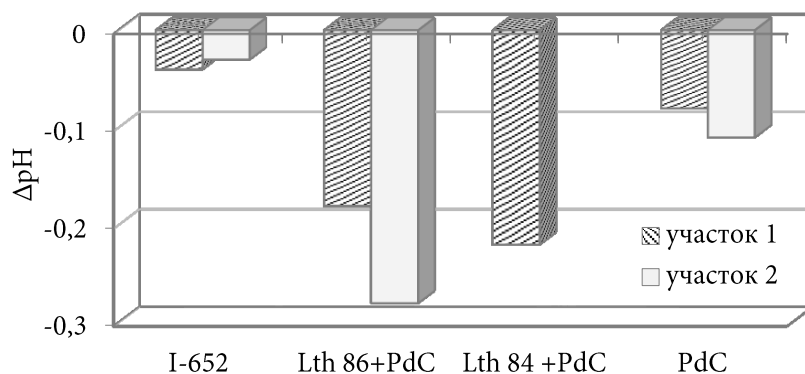
Динамика яблочной кислоты в ходе брожения виноградного сусла/мезги является результатом нескольких физиологических процессов дрожжей, интенсивность которых предопределяется в первую очередь родом/видом/штаммом микроорганизмов: образование кислоты в цикле Кребса и, напротив, ее окисление, дегидратирование, декарбоксилирование [19, 33, 34]. Выявлено, что реализация брожения на культуре I-652 приводила к увеличению концентрации яблочной кислоты в виноматериалах в среднем в 1,5 раза относительно значений показателя в сусле, достигая 1,5-1,9 г/дм³. Осуществление брожения на PdC способствовало еще большему накоплению яблочной кислоты в виноматериалах (до 1,8-2,1 г/дм³), превышая исходные значения в 1,8 раза, что возможно, связано с метаболизмом *Saccharomyces*, входящими в состав PdC. При инокуляции сусла *L. thermotolerans* концентрация яблочной кислоты в нем перед внесением PdC составляла 1,2-1,6 г/дм³, что в 1,1-1,2 раза превышало таковую в исходном сусле. При этом дальнейшее сбраживание мезги на PdC привело к снижению содержания яблочной кислоты до 1,1-1,3 г/дм³. Для объяснения представленных данных требуется проведение дальнейших исследований.

В ходе эксперимента отмечена тенден-

ция к увеличению концентрации янтарной кислоты в опытных виноматериалах относительно таковой в сусле: наибольшее содержание янтарной кислоты – 1,4-1,7 г/дм³ – зафиксировано в образцах, полученных с использованием последовательной инокуляции сусла *L. thermotolerans* и PdC, наименьшее – при сбраживании сусла на культуре I-652. Известно, что янтарная кислота обладает ингибирующим эффектом в отношении молочнокислых бактерий при преобладании ее молярной концентрации над молярной концентрацией L-яблочной кислоты [35]. В виноматериалах, полученных с использованием последовательной инокуляции микроорганизмов, соотношение молярных концентраций янтарной и яблочной кислот, составляло 1,5-1,6; культуры I-652 и PdC – не превышало 1,02. Этот факт необходимо учитывать при планировании проведения яблочно-молочного брожения.

Важным критерием отбора культур дрожжей для виноделия является низкая способность синтезировать уксусную кислоту и ацетальдегид. Многие исследователи отмечают способность *L. thermotolerans* снижать концентрацию уксусной кислоты [6, 36]. В условиях эксперимента наименьшие количества уксусной кислоты идентифицированы в контрольных образцах виноматериалов – в среднем 0,2 г/дм³, наибольшие – при проведении брожения мезги с использованием природного консорциума микроорганизмов – 0,4-0,5 г/дм³. Вместе с этим отметим, что в виноматериалах, полученных при использовании последовательной инокуляции дрожжей, концентрация уксусной кислоты составляла 0,2-0,3 мг/дм³, что в 1,8-2,2 раза ниже, чем при проведении брожения только на PdC. Это может быть связано с жизнедеятельностью *L. thermotolerans*. Концентрация ацетальдегида в виноматериалах, варьировала в диапазоне от 28 до 42 мг/дм³.

Изменение профиля органических кислот при проведении брожения мезги, как на культуре дрожжей I-652, так и на PdC не оказало значительного влияния на изменение показателя pH относительно значений в исходном сусле, которые в виноматериалах варьировали в диапазоне от 3,46 до 3,64 (рис. 3).



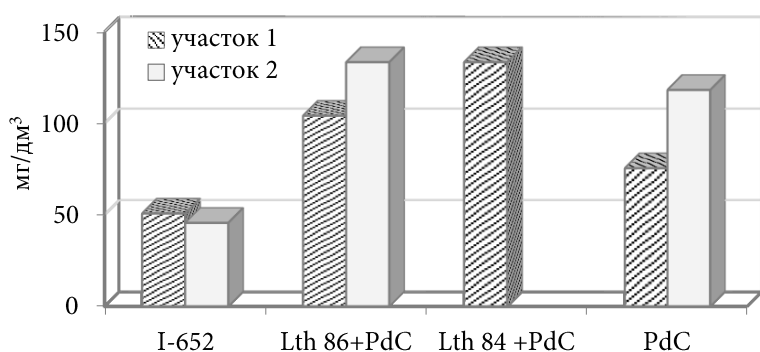
**Рис. 3.** Изменение значений pH (ΔрН) в цепочке виноград-виноматериал в зависимости от используемых микроорганизмов

**Fig. 3.** Changes in pH values (ΔpH) in the chain grapes – wine depending on the microorganisms used

Напротив, использование последовательной инокуляции дрожжей *L. thermotolerans* и PdC способствовало снижению значений рН на 0,18-0,28 единицы.

Важным компонентом, оказывающим влияние на сложение вкуса вин и образующимся в ходе брожения, является глицерин. По имеющимся сведениям, дрожжи *L. thermotolerans* способны синтезировать большие количества глицерина [20, 21, 23]. В условиях эксперимента не выявлено различий по глицеринообразующей способности культуры I-652 и природного консорциума микроорганизмов: концентрация глицерина в контрольных вариантах виноматериалов варьировала от 8,1 до 8,3 г/дм<sup>3</sup>, а в образцах, полученных с использованием PdC, в среднем составляла 8,2 г/дм<sup>3</sup>. Осуществление брожения мезги путем последовательного применения *L. thermotolerans* и PdC, приводило в 1,4-1,5 раза большему накоплению глицерина в виноматериалах, достигая 11,5-12,6 г/дм<sup>3</sup>: при этом 88-95 % глицерина было образовано в период брожения мезги на *L. thermotolerans*.

В формировании аромата молодых вин дрожжи играют важную роль, при этом динамика ароматобразующих компонентов (высших спиртов, сложных эфиров, карбонильных соединений и др.) в ходе брожения при прочих равных условиях обусловлена родом/видом/штаммом используемых микроорганизмов [19, 29]. Многие исследователи отмечают положительное влияние на ароматобразующий комплекс вин консорциумов дрожжей, включающих разные виды *Saccharomyces* или *Saccharomyces* и неп-*Saccharomyces*, в том числе *L. thermotolerans* [7, 19-21, 28, 36-38]. Как видно из данных, представленных на рис. 4, использование для брожения мезги природного консорциума дрожжей способствовало обогащению (в сравнении с контролем) получаемых виноматериалов сложными эфирами. В большей степени это выражено в случае использования PdC и винограда, полученных с участка 2, – концентрация сложных эфиров в виноматериалах составляла в среднем 118,3 мг/дм<sup>3</sup>, что в 2,6 раза выше, чем в контрольных образцах. В случае участка 1 при брожении мезги на PdC накопление сложных эфиров в виноматериалах превосходило таковое в контрольных образцах в 1,5 раза, достигая в среднем 75,5 мг/дм<sup>3</sup>. Выявленные отличия



**Рис. 4.** Концентрация сложных эфиров в виноматериалах, полученных с использованием разных микроорганизмов

**Fig. 4.** Concentration of compound esters in wines obtained using different microorganisms

виноматериалов, полученных с разных участков виноградника, по содержанию сложных эфиров могут являться следствием различий состава винограда и консорциума дрожжей. Проведение начала брожения на *L. thermotolerans* привело к еще большему увеличению содержания сложных эфиров в виноматериалах: в образцах с участка 2 – в среднем на 13 % по сравнению с реализацией процесса только на PdC, а с участка 1 – на 38 (Lth 86) – 77 (Lth 84) %. Концентрация альдегидов в виноматериалах, полученных с участка 1, составляла 28,2-42,4 мг/дм<sup>3</sup>, в образцах с участка 2 – 28,2-29,0 мг/дм<sup>3</sup>: однозначного влияния используемых биотехнологических приемов на содержание альдегидов в условиях опыта не выявлено.

Органолептическое тестирование виноматериалов показало, что все образцы характеризовались темно-рубиновым цветом; сложным ароматом ягодного направления (с преобладанием тонов черной смородины, вишни) с оттенками паслена и пряной нотой; полным гармоничным, бархатисто-танинным вкусом – средние дегустационные оценки составляли 7,7-7,8 балла. При этом в аромате виноматериалов, полученных путем брожения на PdC, отмечено усиление леденцовых, во вкусе и послевкусии – вишневых и пасленовых оттенков; образцы, выработанные с использованием *L. thermotolerans*, отличались более свежим, но мягким вкусом.

#### Выводы

В результате исследований оценено влияние природного консорциума дрожжей и *L. thermotolerans* на химический состав и качество красных сухих виноматериалов в сравнении с реализацией брожения на культуре *Saccharomyces cerevisiae*. Показано, что последовательная инокуляция мезги дрожжами *L. thermotolerans* и PdC способствовало увеличению содержания в виноматериалах титруемых кислот, молочной и янтарной кислот, сложных эфиров, снижению значений рН. Степень влияния PdC индивидуально и в сочетании с *L. thermotolerans* зависела от участка виноградника, обуславливающего особенности химического состава винограда и, возможно, состава консорциума микроорганизмов, а также штамма *L. thermotolerans*. Опытные и контрольные виноматериалы характеризовались высоким качеством (7,7-7,8 балла), при этом использование PdC усилило ягодно-леденцовые, вишневые и пасленовые оттенки в аромате и вкусе виноматериалов; применение *L. thermotolerans* придавало свежесть и мягкость вкусу образцов. Представленные результаты являются первым этапом исследований, направленных на выделение промышленно ценных штаммов виноделия из природной среды и разработке технологии производства вин с их использованием.

#### Благодарность

Выражаем благодарность сотрудникам лаборатории микробиологии ФГБУН «ВНИИВиВ «Магараж» РАН» за микро-

биологическое сопровождение эксперимента.

### Источник финансирования

Работа выполнена в рамках государственного задания № FNZM-2024-0001.

### Financing source

The work was conducted under public assignment No. FNZM-2024-0001.

### Конфликт интересов

Не заявлен.

### Conflict of interests

Not declared.

### Список литературы / References

- Mas A., Portillo M.C. Strategies for microbiological control of the alcoholic fermentation in wines by exploiting the microbial terroir complexity: A mini-review. *International Journal of Food Microbiology*. 2022;367:109592. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109592.
- Vejarano R., Gil-Calderón A. Commercially available non-*Saccharomyces* yeasts for winemaking: current market, advantages over *Saccharomyces*, biocompatibility, and safety. *Fermentation*. 2021;7:171. DOI 10.3390/fermentation7030171.
- Gonzalez R., Guindal A.M., Tronchoni J., Morales P. Biotechnological approaches to lowering the ethanol yield during wine fermentation. *Biomolecules*. 2021;11:1569. DOI 10.3390/biom11111569.
- Roudil L., Russo P., Berbegal C., Albertin W., Spano G., Capozzi V. Non-*Saccharomyces* commercial starter cultures: scientific trends, recent patents and innovation in the wine sector. *Recent Pat. Food. Nutr. Agric*. 2020;11:27–39. DOI 10.2174/2212798410666190131103713.
- Ciani M., Comitini F. Use of non-*Saccharomyces* yeasts in red winemaking. In book *Red Wine Technology*. Editor(s): Antonio Morata. Academic Press, 2019:51-68. DOI 10.1016/B978-0-12-814399-5.00004-9.
- Azzolini M., Tosi E., Lorenzini M., Finato F., Zapparoli G. Contribution to the aroma of white wines by controlled *Torulaspota delbrueckii* cultures in association with *Saccharomyces cerevisiae*. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 2015;31:277–293. DOI 10.1007/s11274-014-1774-1.
- Benito Á., Calderón F., Palomero F., Benito S. Quality and composition of Airén wines fermented by sequential inoculation of *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Technol. Biotechnol*. 2016;54:135–144. DOI 10.17113/ftb.54.02.16.4220.
- Benito S., Hofmann T., Laier M., Lochbühler B., Schüttler A., Ebert K., Fritsch S., Röcker 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. DOI 10.1007/s00217-015-2497-8.
- Hranilovic A., Li S., Boss P.K., Bindon K., Ristic R., Grbin P.R., Van der Westhuizen T., Jiranek V. Chemical and sensory profiling of Shiraz wines co-fermented with commercial non-*Saccharomyces* inocula. *Aust. J. Grape Wine Res*. 2018;24:166–180. DOI 10.1111/ajgw.12320.
- Benito Á., Calderón F., Benito S. The combined use of *Schizosaccharomyces pombe* and *Lachancea thermotolerans* – Effect on the anthocyanin wine composition. *Molecules*. 2017;22:739. DOI 10.3390/molecules22050739.
- Carrau F., Boido E., Ramey D. Yeasts for low input winemaking: Microbial terroir and flavor differentiation. *Adv Appl Microbiol*. 2020;111:89-121. DOI 10.1016/bs.aambs.2020.02.001.
- Bozoudi D., Tsaltas D. Grape microbiome: potential and opportunities as a source of starter cultures. Ch. 10 in book *Grape and Wine Biotechnology*. Morata A., Loira I., Rijeka: IntechOpen, 2016. DOI 10.5772/64806.
- Абдуллабекова Д.А., Магомедова Е.С. Дрожжевая микрофлора виноградников: экологические и биотехнологические аспекты // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2018;3(105):64-66. Abdullabekova D.A., Magomedova E.S. Yeast microflora in the vineyards: environmental and biotechnological dimensions. *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 2018;3(105):64-66 (in Russian).
- Mencher A., Morales P., Curiel, J.A., Gonzalez R., Tronchoni J. *Metschnikowia pulcherrima* represses aerobic respiration in *Saccharomyces cerevisiae* suggesting a direct response to co-cultivation. *Food Microbiology* 2021;94:103670. DOI 10.1016/j.fm.2020.103670.
- Mencher A., Morales P., Tronchoni J., Gonzalez R. Mechanisms involved in interspecific communication between wine yeasts. *Food*. 2021;10:1734. DOI 10.3390/foods10081734.
- Englezos V., Rantsiou K., Giacosa S., Río Segade S., Rolle L., Cocolin L. Cell-to-cell contact mechanism modulates *Starterella bacillaris* death in mixed culture fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Food Microbiology*. 2019;289:106–114. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.009.
- Roullier-Gal C., David V., Hemmler D., Schmitt-Kopplin P., Alexandre H. Exploring yeast interactions through metabolic profiling. *Scientific Reports*. 2020;10:6073. DOI 10.1038/s41598-020-63182-6.
- Shekhawat K., Patterton H., Bauer F.F., Setati M.E. RNA-seq based transcriptional analysis of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lachancea thermotolerans* in mixed culture fermentations under anaerobic conditions. *BMC Genomics*. 2019;20:145. DOI 10.1186/s12864-019-5511-x.
- Hranilovic A., Albertin W., Capone D.L., Gallo A., Grbin P.R., Danner L., Bastian S.E.P., Masneuf-Pomarede I., Coulon J., Bely M., Jiranek V. Impact of *Lachancea thermotolerans* on chemical composition and sensory profiles of Viognier wines. *J Fungi (Basel)*. 2022;8(5):474. DOI 10.3390/jof8050474.
- Sgouros G., Mallouchos A., Filippousi M.-E., Banilas G., Nisiotou A. Molecular characterization and enological potential of a high lactic acid-producing *Lachancea thermotolerans* vineyard strain. *Foods*. 2020;9(5):595. DOI 10.3390/foods9050595.
- 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. DOI 10.1016/j.fm.2012.10.004.
- Kemsawasd V., Branco P., Almeida M.G., Caldeira J., Albergaria H., Arneborg N. Cell-to-cell contact and antimicrobial peptides play a combined role in the death of *Lachancea thermotolerans* during mixed-culture alcoholic fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Lett*. 2015;362:fnv103. DOI 10.1093/femsle/fnv103.
- Kapsopoulou K., Mourtzini A., Anthoulas M., Nerantzis E. Biological acidification during grape must fermentation using mixed cultures of *Kluveromyces thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *World J. Microbiol. Biotech*. 2007;23:735–739. DOI 10.1007/s11274-006-9283-5.
- Танащук Т.Н., Иванова Е.В., Кишковская С.А., Шаламитский М.Ю., Луткова Н.Ю., Загоруйко В.И., Семенова К.А. Каталог промышленных штаммов дрожжей для виноделия.

- Симферополь: ИП Корниенко А.А., 2024:1– 52.  
Tanashchuk T.N., Ivanova E.V., Kishkovskaya S.A., Shalamitsky M.Yu., Lutkova N.Yu., Zagoruiko V.I., Semenova C.A. Catalog of industrial yeast strains for winemaking. Simferopol: IE Kornienko A.A., 2024:1– 52 (in Russian).
25. Пескова И.В., Танащук Т.Н., Остроухова Е.В., Луткова Н.Ю., Вьюгина М.А. SO<sub>2</sub>-резистентность как критерий отбора штаммов *Saccharomyces cerevisiae* для органического виноделия // Техника и технология пищевых производств. 2023;53(1):60–68. DOI 10.21603/2074-9414-2023-1-2415. Peskova I.V., Tanashchuk T.N., Ostroukhova E.V., Lutkova N.Yu., Vyugina M.A. Resistance to sulfur dioxide as a criterion for selecting *Saccharomyces cerevisiae* for organic winemaking. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):60–68. DOI 10.21603/2074-9414-2023-1-2415 (in Russian).
26. Modestin L. Mise en place d'un protocole d'utilisation de pied de cuve pour sécuriser les fermentations alcooliques sous certification Demeter. [https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03941629v1/file/2022\\_MODESTIN%20Lor%C3%A9na%20%281%29.pdf](https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03941629v1/file/2022_MODESTIN%20Lor%C3%A9na%20%281%29.pdf) (дата обращения 22.04.2024).
27. Методы технохимического 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).
28. 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. DOI 10.1051/e3sconf/202124701012.
29. Пескова И.В., Остроухова Е.В., Сулейманова М.И. Синтез органических кислот *Lachancea thermotolerans* при брожении виноградной мезги // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2024;26(1):74–80. DOI 10.34919/IM.2024.67.96.012.  
Peskova I.V., Ostroukhova E.V., Suleimanova M.I. Synthesis of organic acids using *Lachancea thermotolerans* during fermentation of grape must. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2024;26(1):74–80. DOI 10.34919/IM.2024.67.96.012 (in Russian).
30. Peter G.J., Düring L., Ahmed A. Carbon catabolite repression regulates amino acid permeases in *Saccharomyces cerevisiae* via the TOR signaling pathway. The Journal of Biological Chemistry. 2006;281(9):5546–5552. DOI 10.1074/jbc.M513842200.
31. Hothersall J.S., Ahmed A. Metabolic fate of the increased yeast amino acid uptake subsequent to catabolite derepression. J Amino Acids. 2013;2013:461901. DOI 10.1155/2013/461901.
32. Saayman M., Viljoen-Bloom M. The biochemistry of malic acid metabolism by wine yeasts – A review. S. Afr. J. Enol. Vitic. 2006;27(2):113–122. DOI 10.21548/27-2-1612.
33. 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;8:14812. DOI 10.1038/s41598-018-33105-7.
34. 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. DOI 10.1111/ajgw.12269.
35. Torres-Guardado R., Rozès N., Esteve-Zaroso B., Reguant C., Bordons A. Influence of succinic acid on *Oenococcus oeni* and malolactic fermentation. Oeno One. 2022;56:195–204. DOI 10.20870/oeno-one.2022.56.3.5403.
36. 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. DOI 10.1016/j.fm.2010.12.001.
37. Binati R.L., Lemos Junior W.J.F., Luzzini G., Slaghenaufi D., Ugliano M., Torriani S. Contribution of non-*Saccharomyces* yeasts to wine volatile and sensory diversity: A study on *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia* spp. and *Starmerella bacillaris* strains isolated in Italy. Internat. J. Food Microbiol. 2019;318:108470. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108470.
38. Nisiotou A., Mallouchos A., Tassou C., Banilas G. Indigenous yeast interactions in dual-starter fermentations may improve the varietal expression of Moschofilero wine. Front. Microbiol. 2019;10:1712. DOI 10.3389/fmicb.2019.01712.

### Информация об авторах

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

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

**Ирина Константиновна Тампей**, вед. инженер лаборатории тихих вин; e-мейл: bioxim2012@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0008-6767-564X>;

**Евгений Анатольевич Сlastья**, канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории химии и биохимии вина; e-мейл: phyton.crimea@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-6750-9587>.

### 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>;

**Irina K. Tampey**, Leading Engineer, Still Wines Laboratory; e-mail: bioxim2012@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0001-1535-7083>;

**Evgenij A. Slastya**, Cand. Biol. Sci., Staff Scientist, Laboratory of Chemistry and Biochemistry of Wine; e-mail: phyton.crimea@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-6750-9587>.

Статья поступила в редакцию 27.04.2024, одобрена после рецензии 16.05.2024, принята к публикации 20.05.2024.