

ЯБЛОЧНО-МОЛОЧНОЕ БРОЖЕНИЕ

Владан Николич

КОНТРОЛИРУЕМОЕ ЯБЛОЧНО-МОЛОЧНОЕ БРОЖЕНИЕ.

ВРЕМЯ ИНОКУЛЯЦИИ БАКТЕРИЙ

2



WINE
YEASTS



WINE
BACTERIA



NUTRIENTS
/PROTECTORS



SPECIFIC
INACTIVATED YEASTS



ENZYMES



CHITOSAN



VINEYARD
SOLUTIONS





Яблочно-молочное брожение - это процесс брожения, осуществляемый молочнокислыми бактериями, которые превращают яблочную кислоту в молочную, в результате этого получается более мягкое вино с меньшей кислотностью (снижение кислотности в вине).

Объяснение может показаться очень простым, хотя на практике этот процесс является довольно сложным...

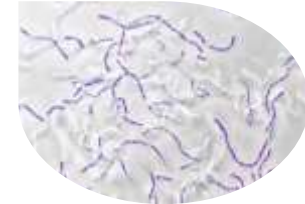
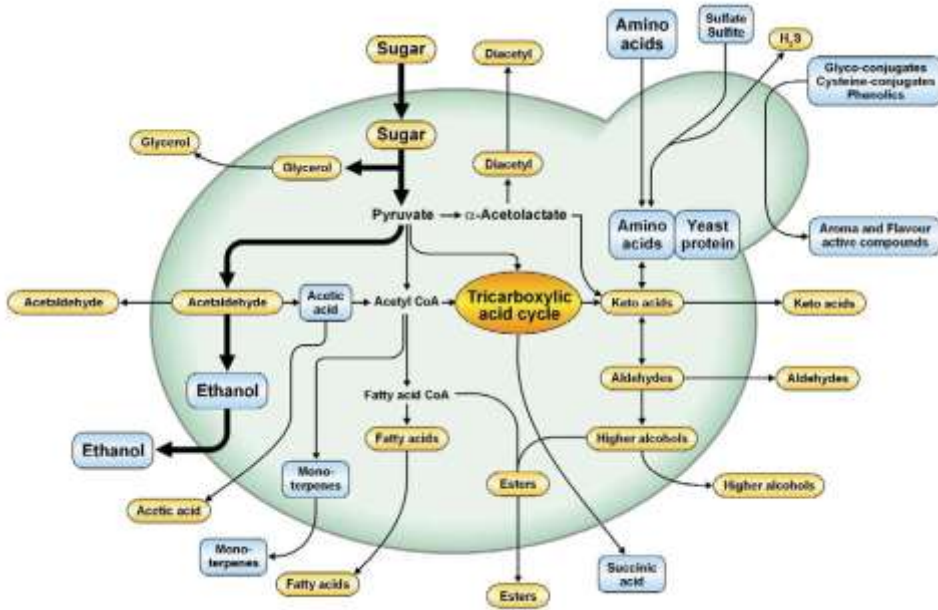


Микробиологический метаболизм

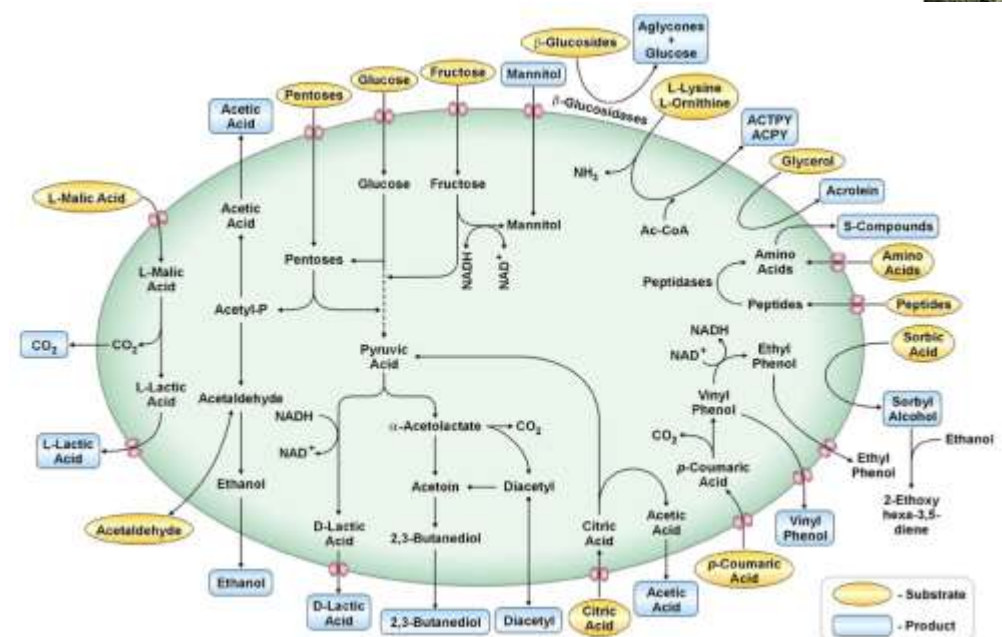
Воздействие на сенсорные характеристики

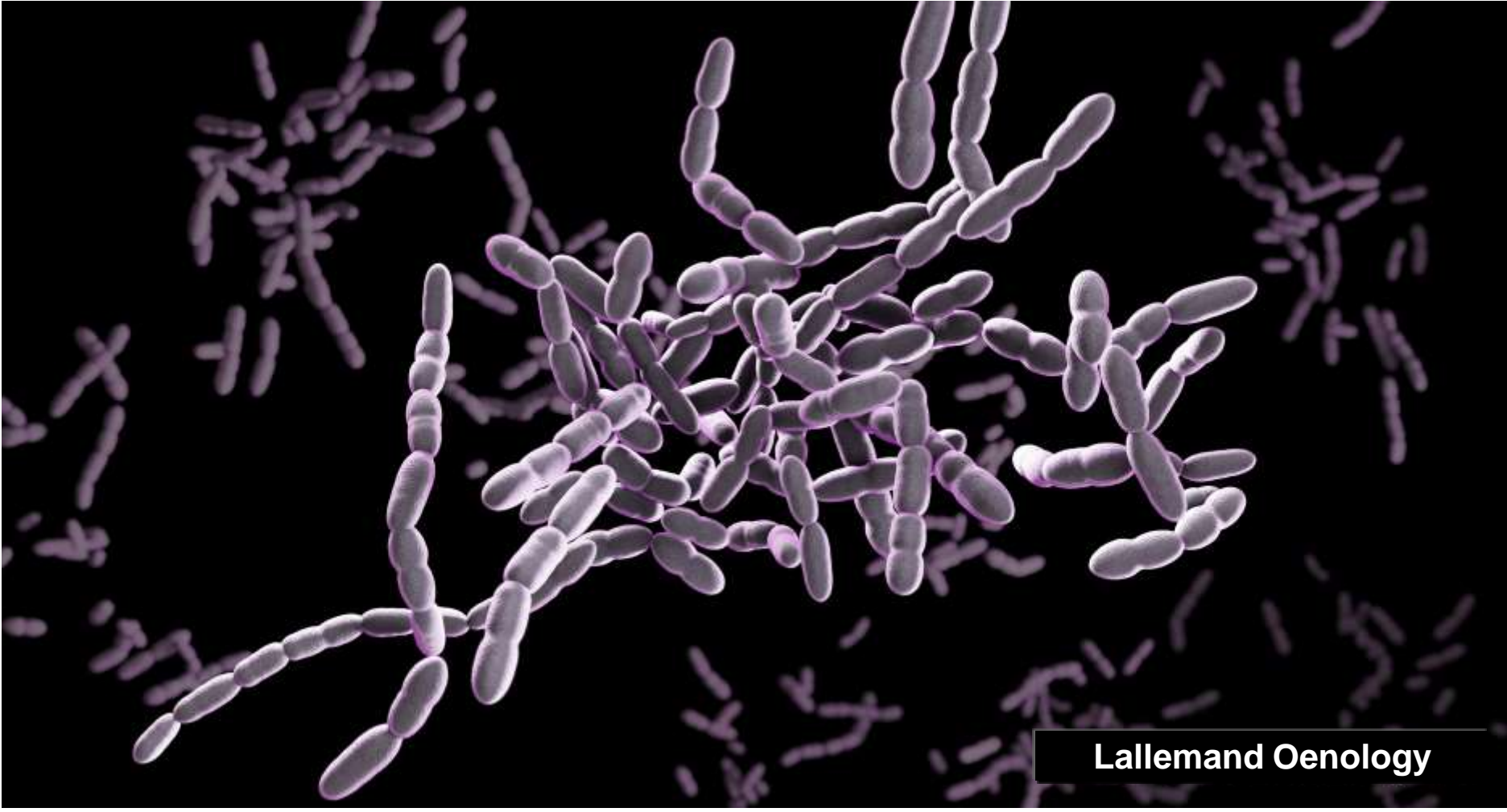


Saccharomyces cerevisiae

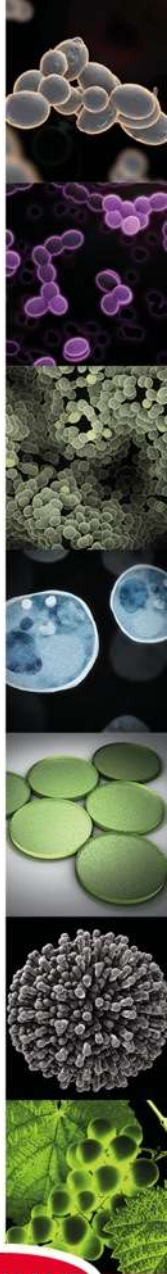


Oenococcus oeni





Lallemand Oenology



WINE YEASTS



WINE BACTERIA



NUTRIENTS /PROTECTORS



SPECIFIC INACTIVATED YEASTS



ENZYMES



CHITOSAN



VINEYARD SOLUTIONS



LALLEMAND OENOLOGY
Original by culture

БАКТЕРИИ В СУСЛЕ И ВИНЕ

МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ – ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ И КОККИ

- *Oenococcus oeni* (ex *Leuc. oenos*)
- *Leuconostoc mesenteroides*
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus brevis*
- *Pediococcus damnosus*
- *Pediococcus pentosaceus*
- *Lactobacillus hilgardii*

УКСУСНЫЕ БАКТЕРИИ – ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ КОККИ

- *Gluconobacter oxydans*
- *Acetobacter aceti*
- *Acetobacter pasteurianus*



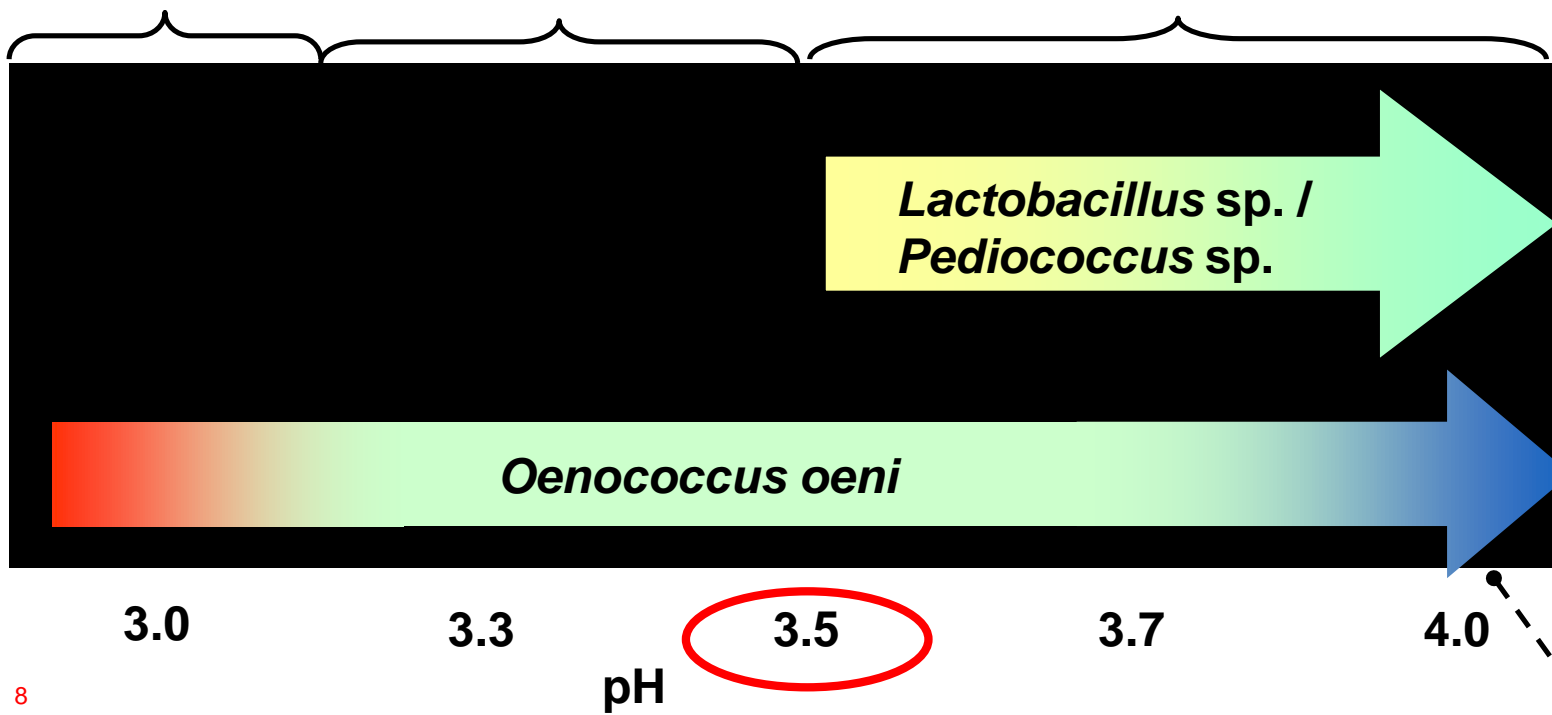
Возможные риски спонтанного ЯМБ – Влияние pH



Риск, что ЯМБ не произойдет

Затруднения вызова спонтанного ЯМБ

Возрастающий риск спонтанного ЯМБ, вызванный *Lactobacillus* и *Pediococcus* sp. (ПАТОГЕНЫ)



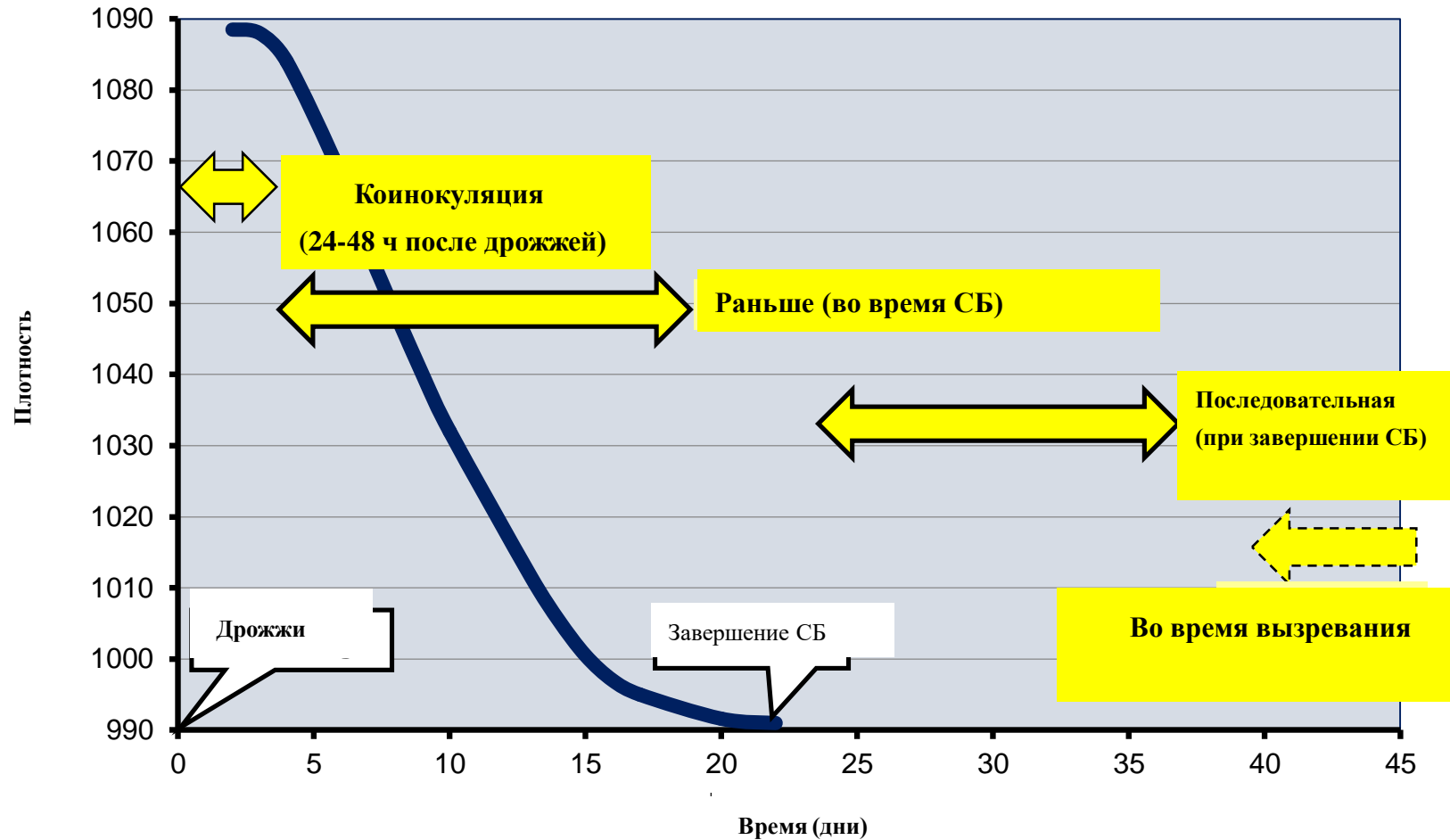
Возможный риск потребления сахара при ЯМБ с *O. oeni* при высоком уровне pH

ОСНОВНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА ПРИМЕНЕНИЯ ОТОБРАННЫХ БАКТЕРИЙ

- ✓ ЛЕГКИЙ СПОСОБ ПРОВЕДЕНИЯ ЯБЛОЧНО-МОЛОЧНОГО БРОЖЕНИЯ С ПОЛНЫМ КОНТРОЛЕМ
- ✓ ВОЗМОЖНОСТЬ ВЛИЯТЬ НА СЕНСОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИНА, ВОЗМОЖНОСТЬ СОЗДАТЬ РАЗЛИЧНЫЙ ПРОФИЛЬ ВИН
- ✓ ПОЛНЫЙ КОНТРОЛЬ НЕЖЕЛАТЕЛЬНОЙ ДИКОЙ МИКРОФЛОРЫ



УПРАВЛЕНИЕ ЯМБ В КАКОЕ ВРЕМЯ НУЖНО ДОБАВЛЯТЬ ОТОБРАННЫЕ ВИННЫЕ БАКТЕРИИ?



WINE YEASTS



WINE BACTERIA



NUTRIENTS /PROTECTORS



SPECIFIC INACTIVATED YEASTS



ENZYMES



CHITOSAN



VINEYARD SOLUTIONS



КОИНОКУЛЯЦИЯ - ТЕМПЕРАТУРА И SO₂

Потенциальное содержание спирта в вине (% об.)	Максимальная Температура во время ЯМБ
<14.5%	28°C
>14.5%	23°C

- Управление SO₂
 - Инокуляция бактерий через 24, 48 либо 72 часа после добавления дрожжей в зависимости от добавления SO₂ при дроблении:
 - ≤ 50 мг/дм³ SO₂ добавляется: ожидание 24 часа перед началом инокуляции
 - 50 – 70 мг/дм³ SO₂ добавляется: ожидание 48 часов
 - > 70 – 90 мг/дм³ SO₂ добавляется: ожидание 72 часа
- Чем ниже уровень pH, тем меньше добавляется SO₂!



Преимущества коинокуляции

- При коинокуляции ЯМБ происходит значительно быстрее, чем при инокуляции после спиртового брожения либо при прохождении спонтанного ЯМБ. Постинокуляция осуществляется, когда уже высокие спирты, повышенное содержание танинов (если проводилась длительная мацерация) – это сложные условия для проведения ЯМБ;
- Контроль спонтанной нежелательной микрофлоры, *Pediacoccus*, *Lactobacillus*, *Brettanomyces* (что очень важно при длительной мацерации);
- Получение более ароматных вин, лучшие сенсорные характеристики;
- Экономия энергии (нет необходимости в нагреве вина)

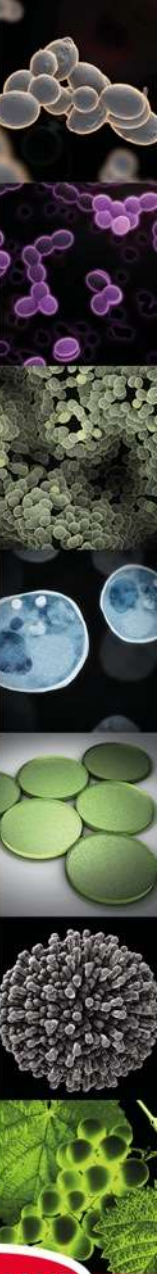
Если брожение остановится при высоком рН, то есть **РИСК** образования летучих кислот из остаточных сахаров



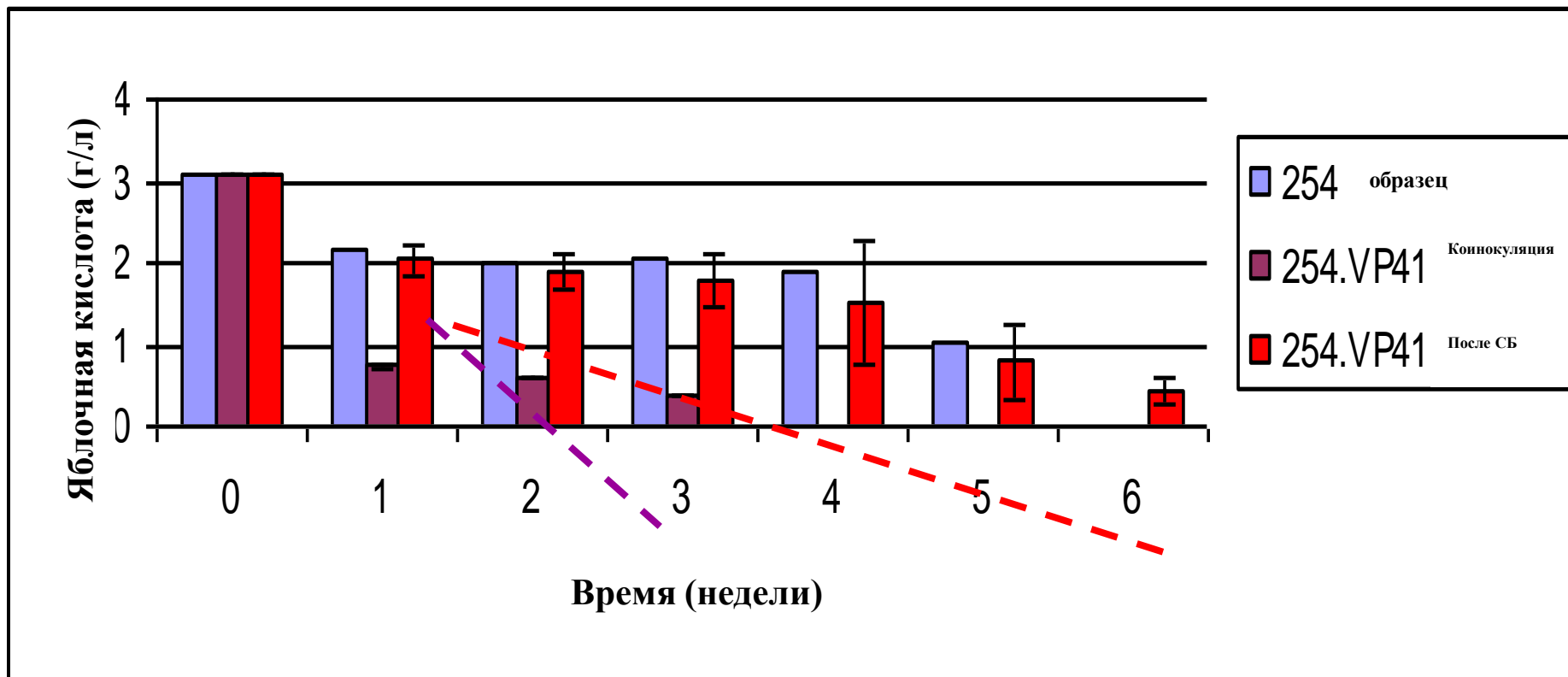
Основные причины быстрого прохождения яблочно-молочного брожения при коинокуляции

Они заключается в лучшей адаптации бактерий, потому что:

- Нет свободного SO₂
- Небольшое количество спирта
- Никаких ингибирующих факторов, которые дрожжи производят на более поздних стадиях брожения, таких как ненасыщенные жирные кислоты, пептиды...



Скорость распада яблочной кислоты



Каким образом коинокуляция контролирует нежелательную микрофлору ?

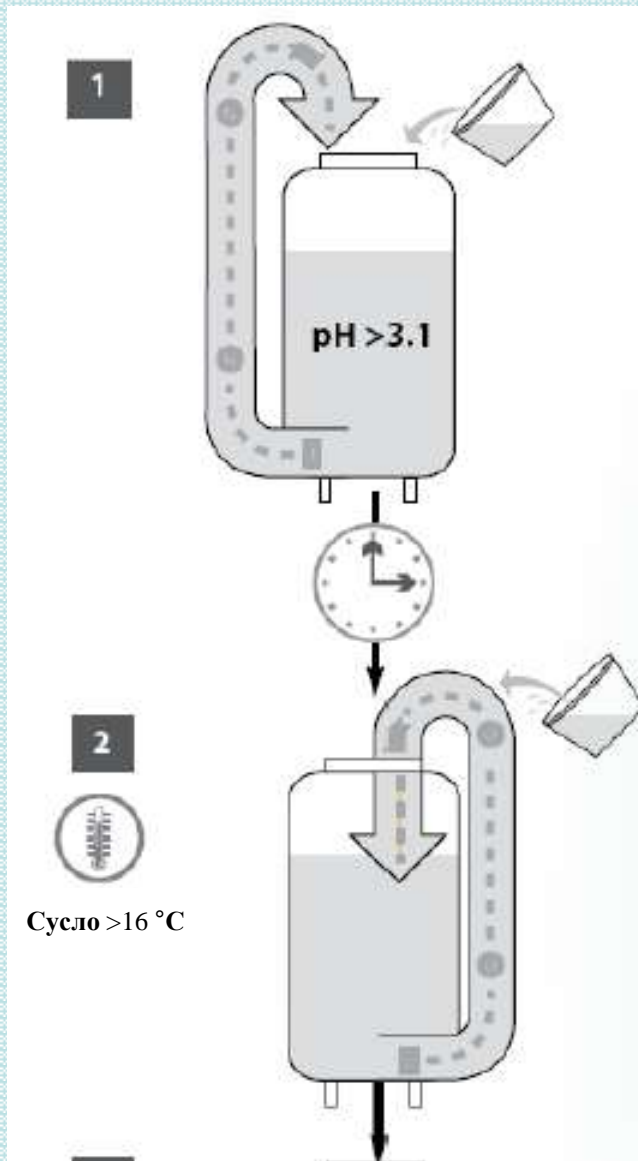
- Мы должны помнить, что нежелательную микрофлору невозможно уничтожить, но мы можем ее контролировать!!!!!!
- Длительная мацерация довольно благоприятна для роста нежелательной микрофлоры (*Pedicoccus*, *Lactobacillus*, *Brettanomyces*) – необходим контроль патогенов



Развитие различных микроорганизмов при СБ и ЯМБ



Инструкции для коинокуляции



- Отобранные, регидратированные и защищенные дрожжи
- Выбирайте дрожжи с низкой потребностью в азоте, подходящие к желаемому стилю вина
- Время добавления бактерий зависит от SO₂:
< 50 мг/дм³ SO₂ добавлено: нужно подождать 24 часа;
от 50 до 80 мг/дм³ SO₂ добавлено: нужно подождать 48 часов;
> 80 мг/дм³ SO₂ добавлено: нужно подождать 72 часа

Примечание: При измерении свободного SO₂ через 24 часа после добавления, если pH > 3.3, свободный SO₂ должен быть < 25 мг/дм³, если pH < 3.3, он должен быть < 10 мг/дм³

pH > 3.3

Примените культурные винные бактерии серии 1-Step, не требующие акклиматизации

pH > 3.6

Применение коинокуляции с бактерией *L. plantarum*

Рекомендуется *ML-Prime* (гомоферментативная бактерия для гексозы сахара)

Выбор дрожжей очень важен при совмещении с ЯМБ!!!!

- Выбирайте дрожжи, которые производят небольшое количество SO_2 в процессе брожения;
- Выбирайте дрожжи, которые не требуют много подкормки;
- Выбирайте дрожжи, у которых быстро начинается автолиз.



СОВМЕСТИМОСТЬ ДРОЖЖЕЙ / БАКТЕРИЙ

Совместимость с ЯМБ	НИЗКАЯ	СРЕДНЯЯ	ВЫСОКАЯ
Потребность дрожжей в подкормке			
НИЗКАЯ	DV10 EC1118	ICV D21 QA23	ICV D47 71B
СРЕДНЯЯ	SIMI WHITE*	R-HST L2056 RC212 BDX*	ICVD254*
ВЫСОКАЯ**	BM45 1116	L2323* L2226*	CY3079* ICV D80*

*Регидратация с GOFERM / ** GOFERM + FERMAID на 1/3 стадии СБ

19



LALLEMAND OENOLOGY

Original by culture



Зачем вводить бактерии в процессе виноделия как можно раньше?

- ✓ Для обеспечения быстрого завершения ЯМБ (экономия времени, вина готовы к продаже раньше)
- ✓ Для снижения риска роста нежелательных бактерий и *Brettanomyces* (уважение работы, проделанной на винограднике, сохранение качественного потенциала вина)
- ✓ Для внесения положительного вклада в сенсорные характеристики вина при успешном ЯМБ
- ✓ Для экономии энергии и денег (не требуются подогрев вина, затраты на анализ мониторинга ЯМБ)



ИНОКУЛЯЦИЯ ПОСЛЕ СПИРТОВОГО БРОЖЕНИЯ

Преимущества

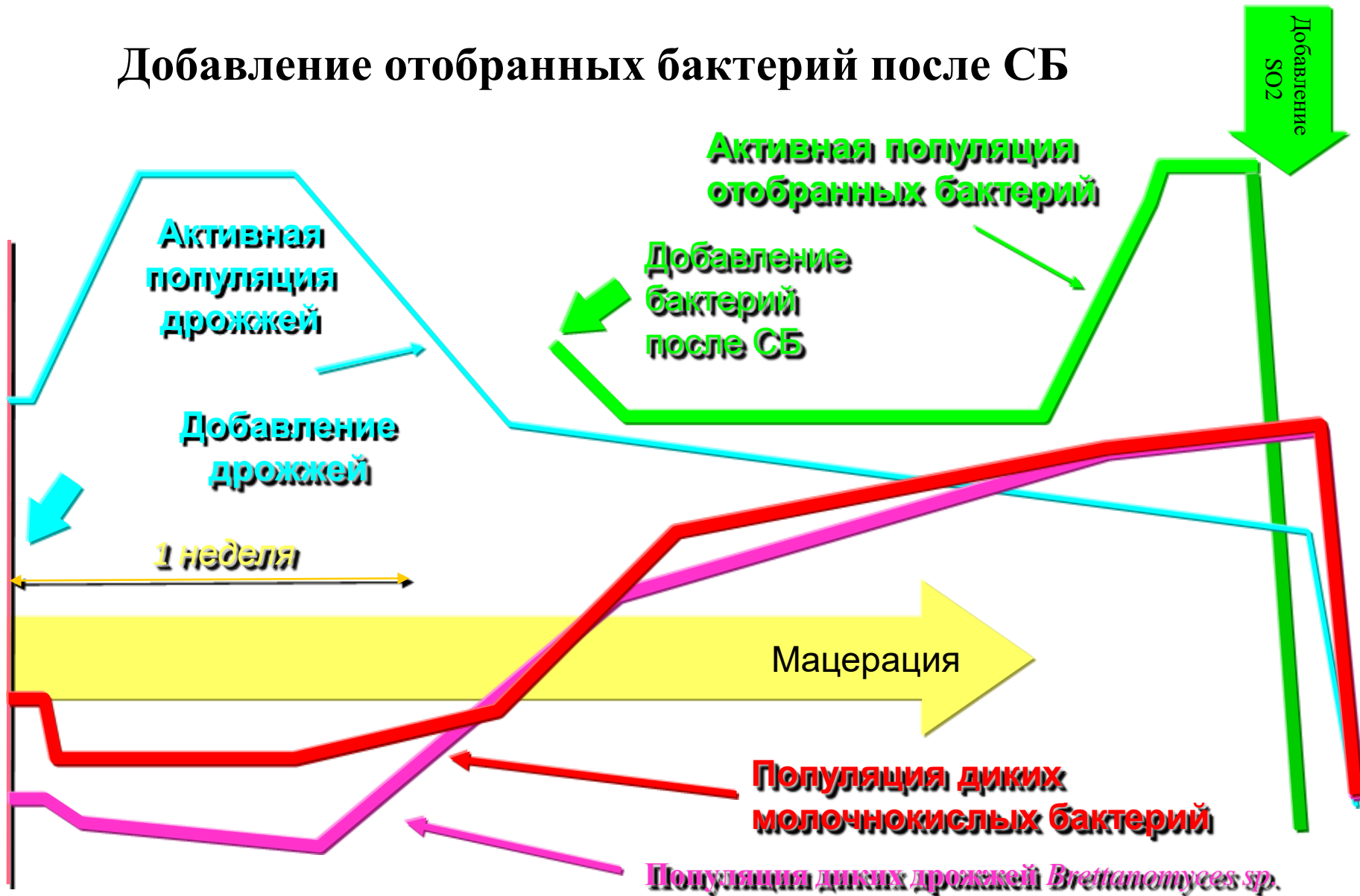
- Летучая кислотность не увеличивается
- Более легкий контроль ЯМБ после спиртового брожения

Риски

- ЯМБ не начинается либо затруднено из-за высокого содержания спирта
- Недостаток питательных веществ после спиртового брожения
- При высоком рН возможно преобладание диких бактерий над культурными



Добавление отобранных бактерий после СБ



WINE YEASTS



WINE BACTERIA



NUTRIENTS /PROTECTORS



SPECIFIC INACTIVATED YEASTS



ENZYMES

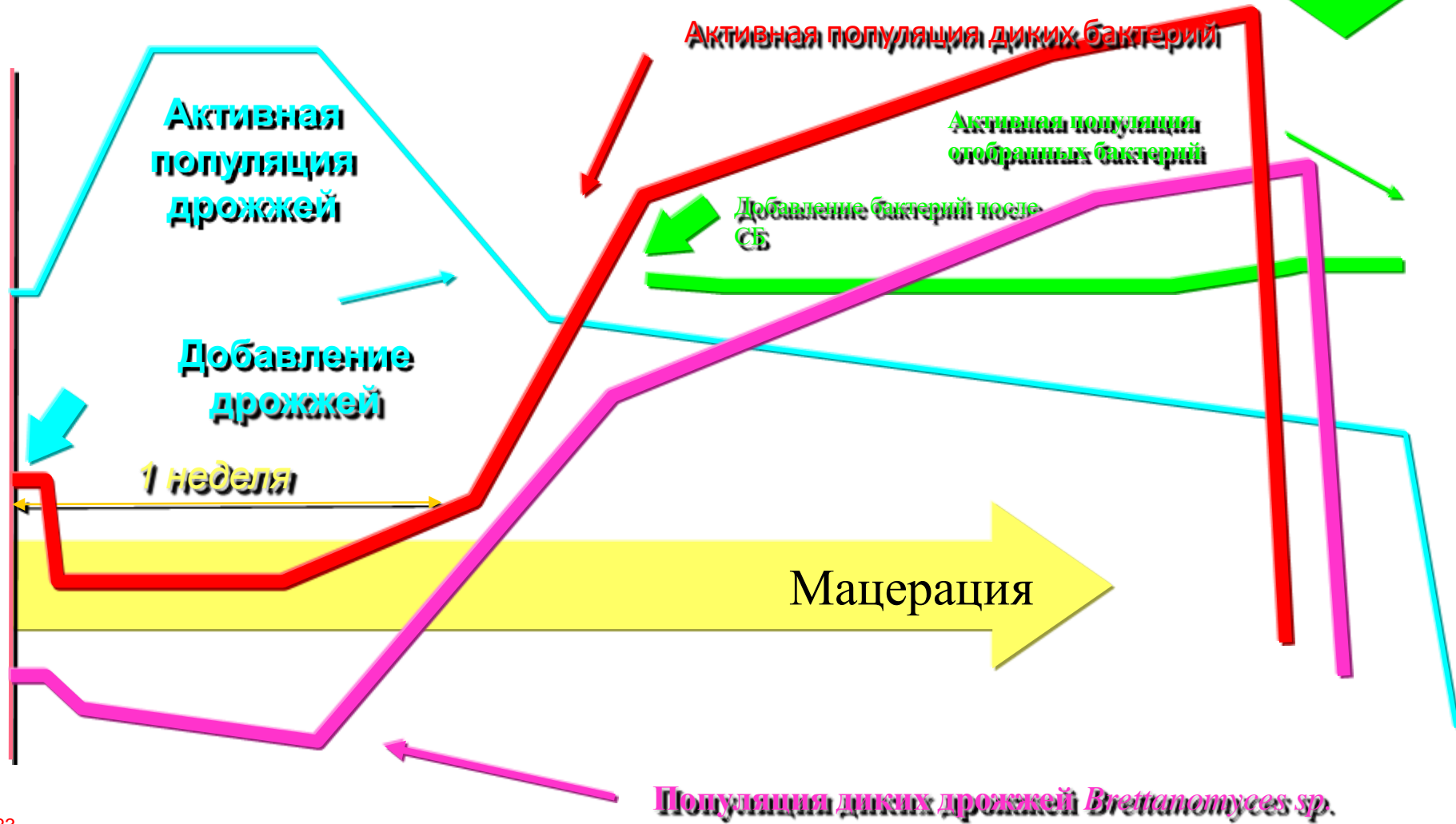


CHITOSAN



VINEYARD SOLUTIONS

Добавление отобранных бактерий после СБ – риски при высоком рН



WINE YEASTS



WINE BACTERIA



NUTRIENTS /PROTECTORS



SPECIFIC INACTIVATED YEASTS



ENZYMES



CHITOSAN



VINEYARD SOLUTIONS

Выбор дрожжей очень важен при проведении ЯМБ!!!!

- Выбирайте дрожжи, которые производят небольшое количество SO₂ в процессе брожения;
- Выбирайте дрожжи, которые не требуют много подкормки;
- Выбирайте дрожжи, у которых быстро начинается автолиз.

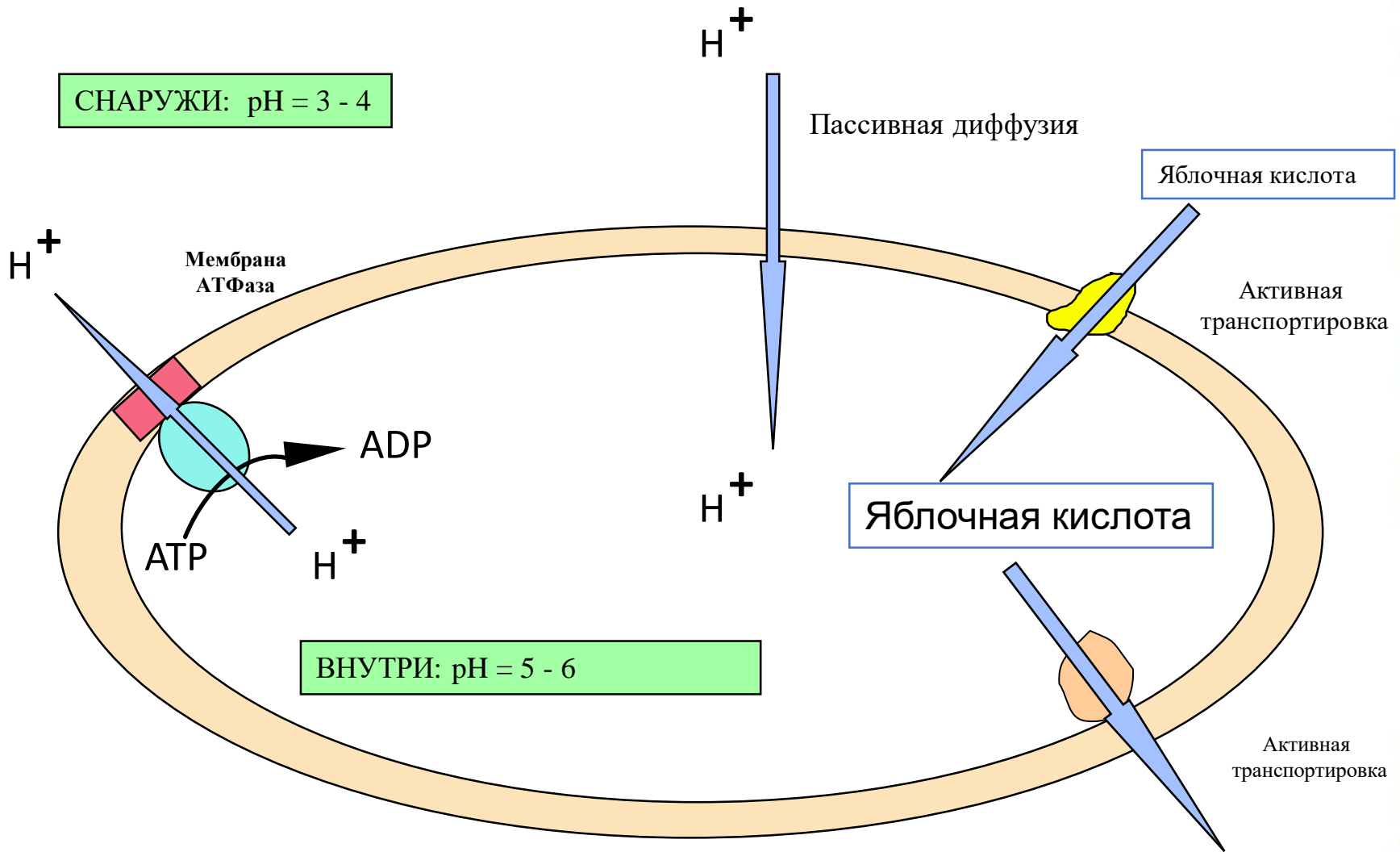


pH !!!!!!!

- *Oenococcus oeni* меняют метаболизм, когда pH менее 3,5 – не атакуют сахар, вырабатывая диацетил из лимонной кислоты!!! Нет летучей кислотности!!!!!!
- первичным является разложение органических КИСЛОТ



Плазматическая мембрана: Функции



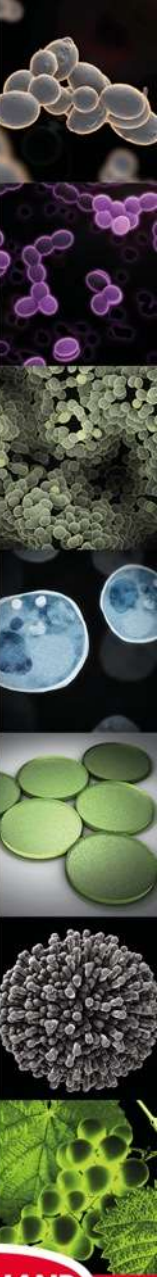
Новый подход




- ОЧЕНЬ ВАЖНА КОИНОКУЛЯЦИЯ С *Lactobacillus plantarum*, отобранной в Университете (г. Пьяченца, Италия) с интересными микробиологическими и энологическими свойствами для красных вин с высоким рН
 - Не воздействует на спиртовое брожение (СБ)
 - Без риска образования ЛК из гексозного сахара (глюкозы и фруктозы).



Для виноделов, которые опасаются коинокуляции в условиях высокого рН / высокого потенциального спирта

27



		
<p>Название</p>	<p><i>Lactobacillus plantarum</i></p>	<p><i>Oenococcus oeni</i></p>
<p>Ферментация сахара (гексозы)</p>	<p>Гомоферментативное = 2 молекулы МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ</p>	<p>Гетероферментативное = МОЛОЧНАЯ + УКСУСНАЯ + CO2</p>
<p>Параметры вина для лучшего проведения ЯМБ</p>	<p>pH > 3.5 Спирт менее 15,5 % об. Общий SO2 менее 50 млн. кл./мл Т выше 17 C</p>	<p>pH > 3.1 Спирт менее 15,5 % об. Общий SO2 менее 50 млн. кл./мл Т выше 17 C</p>

МЕТАБОЛИЗМ БАКТЕРИИ

Факультативный гетероферментативный обмен

(**MLPrime™** метаболизм)

ГЛЮКОЗА ФРУКТОЗА



Обязательный гетероферментативный обмен
(Стандартный метаболизм отобранной винной бактерии)

ГЛЮКОЗА ФРУКТОЗА



Другие свойства

MLPrime™

- Не производит биогенных аминов
 - Без распада лимонной кислоты

➔ Не производит диацетил

➔ Бактерия не может разлагать кутаровую кислоту до кумаровой кислоты, которая является прекурсором образования летучего фенола

(как в случае с *Brettanomyces*)



Применение **ML Prime™**

- ✓ Отлично подходит для красного вина с высоким уровнем рН, яблочно-молочное брожение завершается через 3-5 дней
 - ✓ Быстрое начало ЯМБ и быстрый распад яблочной кислоты во время спиртового брожения
 - ✓ Не влияет на спиртовое брожение
 - ✓ Не увеличивает летучую кислотность на высоком уровне рН
 - ✓ 100 % доминирует над дикими молочнокислыми бактериями
 - ✓ Ранняя стабилизация вина
 - ✓ Нет отклонений в органолептике - хорошее качество вина
 - ✓ Тенденция к сохранению цвета
- ⇒ Гарантированное качество вина в сравнении со **спонтанным ЯМБ**



ML Prime™

➤ **ОЧЕНЬ НАДЕЖНЫЙ ПРОДУКТ
В РАМКАХ ПРИМЕНЕНИЯ**



Тип вина	Красное вино - традиционная винификация, термовинификация
Время добавления бактерии	24 ч после дрожжей – используется только для коинокуляции
pH	> 3.4 – (содержание яблочной кислоты – максимум 3 г/л)
Температура	От 20 до 26 °C
Добавление SO₂ в виноград/сусло	< 5 г/гЛ
Начальный уровень яблочной кислоты	< 3 г/л
Дозировка	Верная дозировка (10 г/гЛ)

32

Нет потребности в подкормке / Нет ограничений по начальному содержанию сахара



ПОСЛЕ
ЗАПУСКА

Знание о ML Prime сегодня

Коинокуляция
на красном сусле

Частичное
потребление
яблочной кислоты
на белом сусле
(коинокуляция либо
последовательная
инокуляция)

Последовательная
инокуляция
на красных винах
?

Единственное
решение
при торможении
ЯМБ
?



WINE
YEASTS



WINE
BACTERIA



NUTRIENTS
/PROTECTORS



SPECIFIC
INACTIVATED YEASTS



ENZYMES



CHITOSAN



VINEYARD
SOLUTIONS



ПРИМЕР ИЗ ПРАКТИКИ Германия: ML PRIME. Сложное вино Шардоне

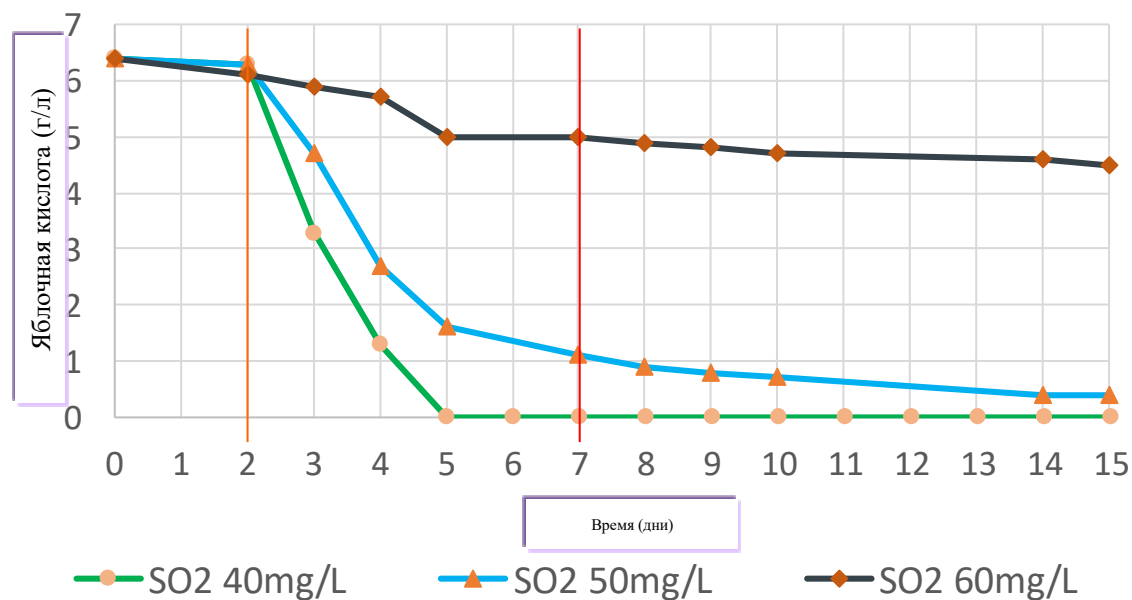


- *O. Oeni* не способны начать ЯМБ в такой сложной матрице
- Кроме O-MEGA после повторной инокуляции при двойной дозировке
- ML Prime способны провести ЯМБ даже при обычной дозировке менее чем за 3 недели

34

ПРИМЕР ИЗ ПРАКТИКИ ML PRIME двойная дозировка при коинокуляции Пино Менье опыты pH=3.1: воздействие содержания SO₂

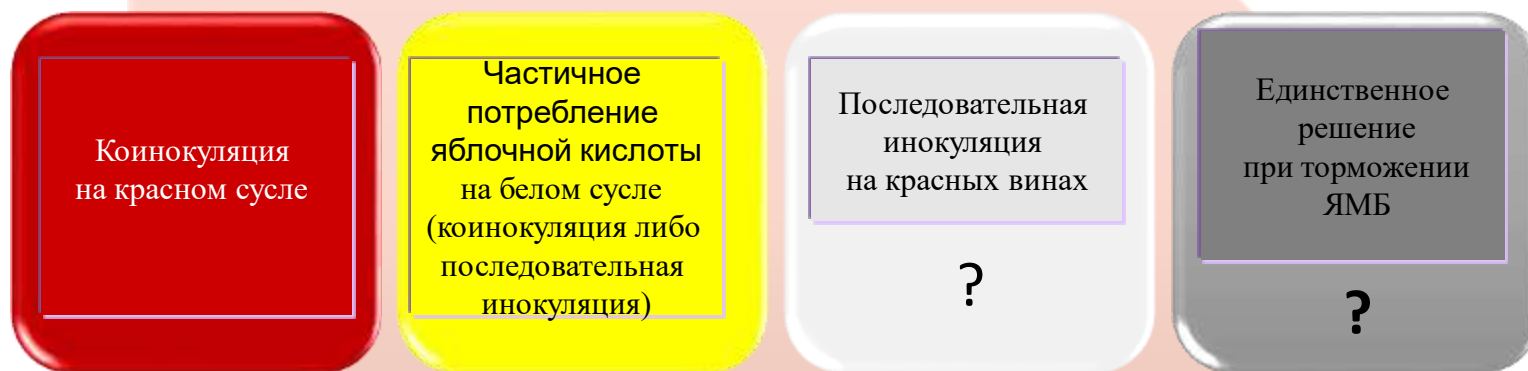
Распад яблочной кислоты – Пино Менье - pH=3.1
Температура=18°C
Двойная дозировка ML Prime (20 г/гл)



Чувствительность к содержанию SO₂ в сусле с ML Prime
Даже при двойной дозировке ML Prime ЯМБ остановится, если добавление SO₂ составляет 6 г/гл

ПОСЛЕ
ЗАПУСКА

ML Prime – Новые испытания

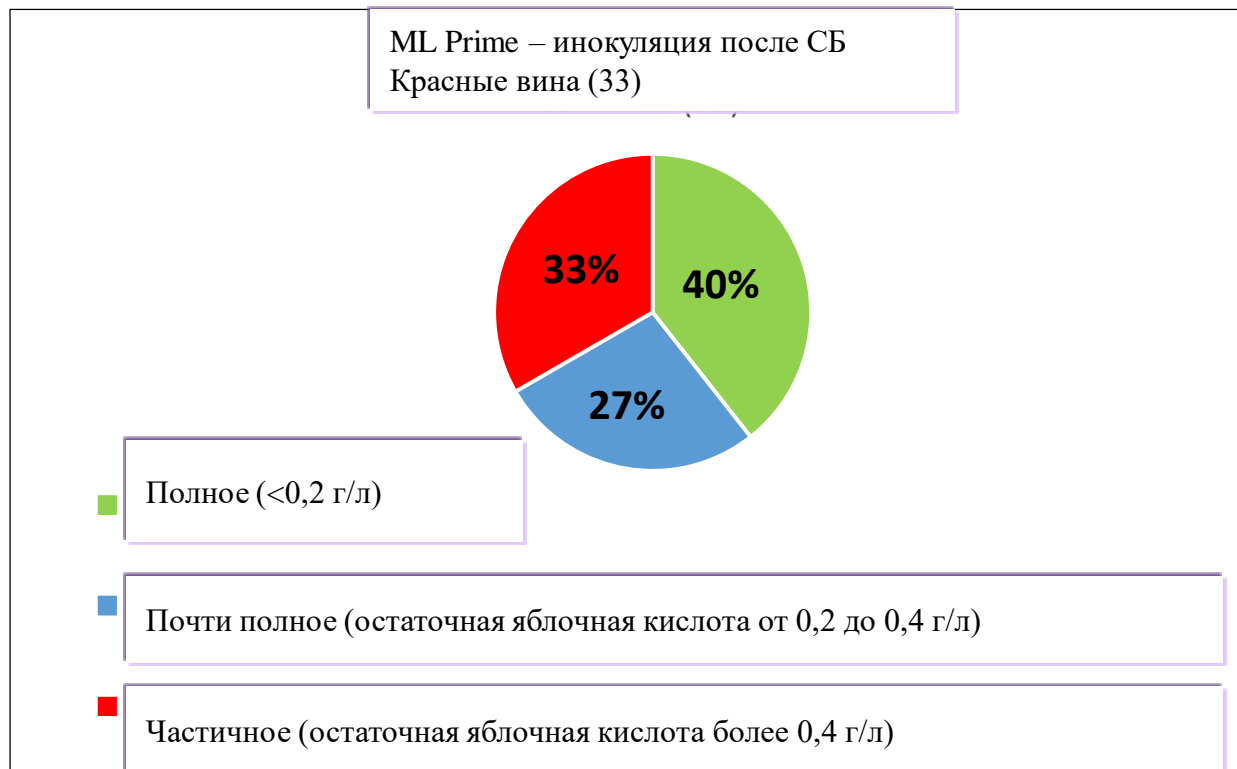


Доступно все больше результатов:
Полное ЯМБ и частичное ЯМБ!

Может сработать (но не 100%,
необходимо выполнить
предварительный тест в
лаборатории)



ML Prime: инокуляция после СБ в лаборатории Бланьяк: 33 образца красного вина



- Невозможно достичь того же % успеха, что и при применении ML Prime при коинокуляции
- Важно провести предварительное тестирование (в лаборатории), прежде чем рекомендовать винодельням применять ML Prime после СБ



Опыт работы в ICV, полученный в результате 3-летних испь
70% вин можно применять ML Prime после СБ



ПОСЛЕ
ЗАПУСКА

ML Prime – Новые испытания

Коинокуляция
на красном сусле

Частичное
потребление
яблочной кислоты
на белом сусле
(коинокуляция либо
последовательная
инокуляция)

Последовательная
инокуляция
на красных винах

?

Единственное
решение
при торможении
ЯМБ

?

В экстремально сложных условиях...
Очень высокий SO_2 / очень высокое
содержание молочной кислоты

Может быть решением (но не 100%,
необходимо выполнить
предварительный тест в лаборатории)



ПРИМЕР ИЗ ПРАКТИКИ: ML PRIME ЯМБ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ SO₂ В КРАСНОМ ВИНЕ

11% об.
ТРІ: 45
ІС: 3,5

Свободный SO₂: 30
Общий SO₂: 72

Яблочная кислота: 1,9
Молочная кислота: 0,1
Общая кислотность: 3,70
рН: 3,52

ML PRIME (10 г/гл)

Ácido L-málico / Ácido L-láctico (10-12-19)	1,9 / 0,2
Ácido L-málico / Ácido L-láctico (13-12-19)	1,5 / 0,4
Ácido L-málico / Ácido L-láctico (17-12-19)	1,0 / 0,8
Ácido L-málico / Ácido L-láctico (20-12-19)	0,6 / 1,0
Ácido L-málico / Ácido L-láctico (26-12-19)	0,1 / 1,3

ЯМБ завершено
через 12 дней

ML PRIME (20 г/гл)

Ácido L-málico / Ácido L-láctico (10-12-19)	1,9 / 0,2
Ácido L-málico / Ácido L-láctico (13-12-19)	1,1 / 0,7
Ácido L-málico / Ácido L-láctico (17-12-19)	0,4 / 1,2
Ácido L-málico / Ácido L-láctico (20-12-19)	0,1 / 1,4

ЯМБ завершено
через 8 дней



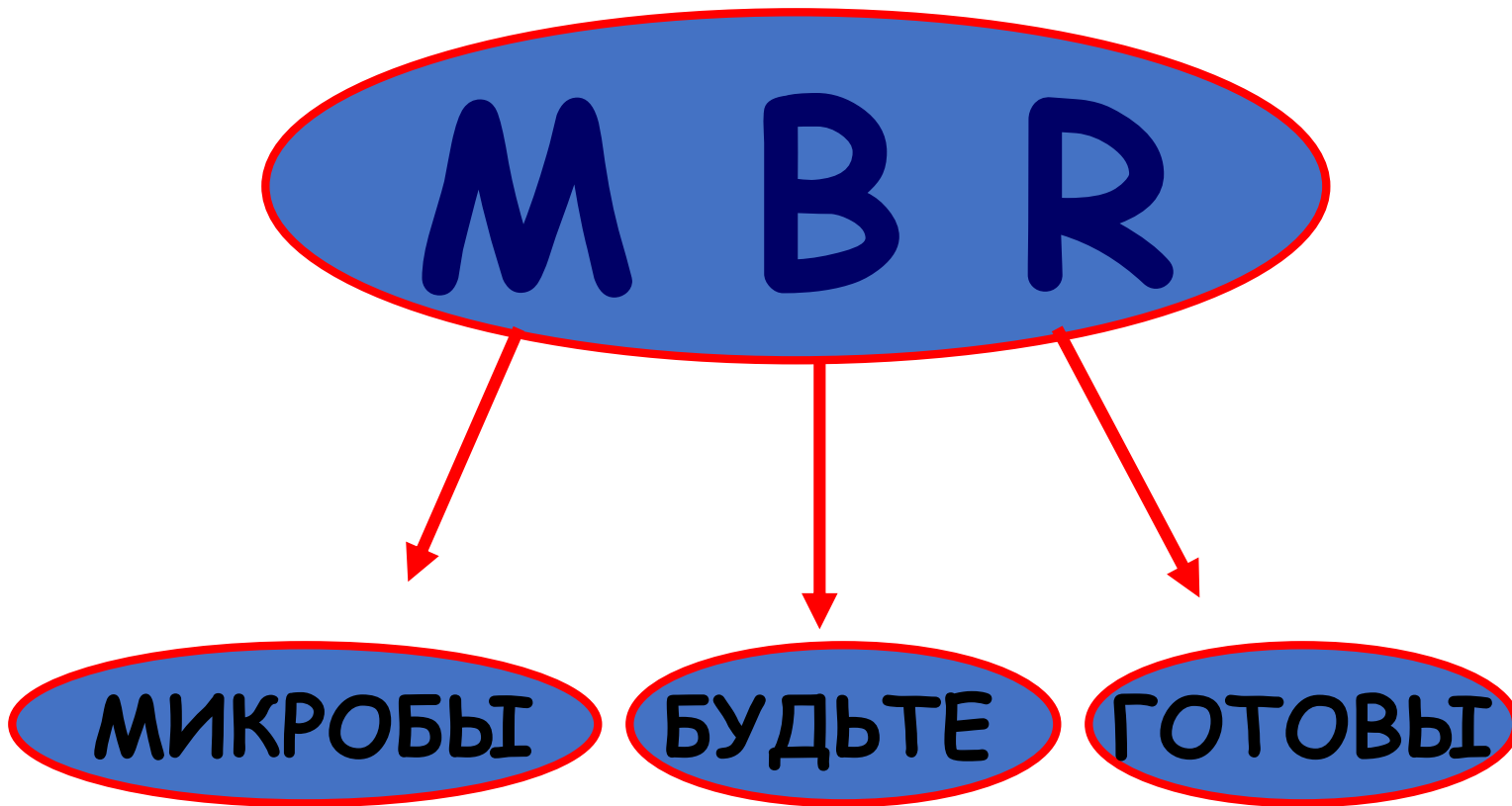
Применение ML Prime после СБ

Предварительные тесты в лаборатории



Объем регидратации	Объем образца	Объем вина
50 мл	0,2 мл	100 мл
50 мл	2 мл	1000 мл
50 мл	1,5 мл	750 мл
100 мл	0,4 мл	100 мл

- Тщательно перемешать
- Развести при 20-22 °С (комнатная температура)
- Анализ на яблочную кислоту через 2, 3 и 7 дней
- Уровень яблочной кислоты должен быть ниже 0,2 г / л через 7 дней (может быть через 2 либо 3 дня)

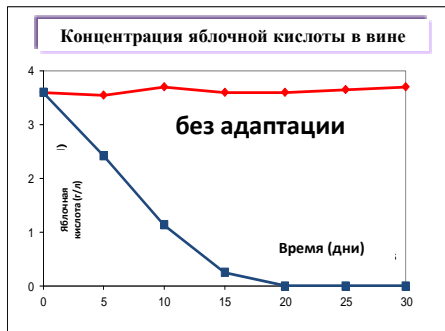
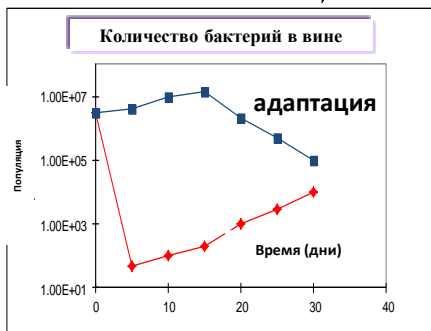
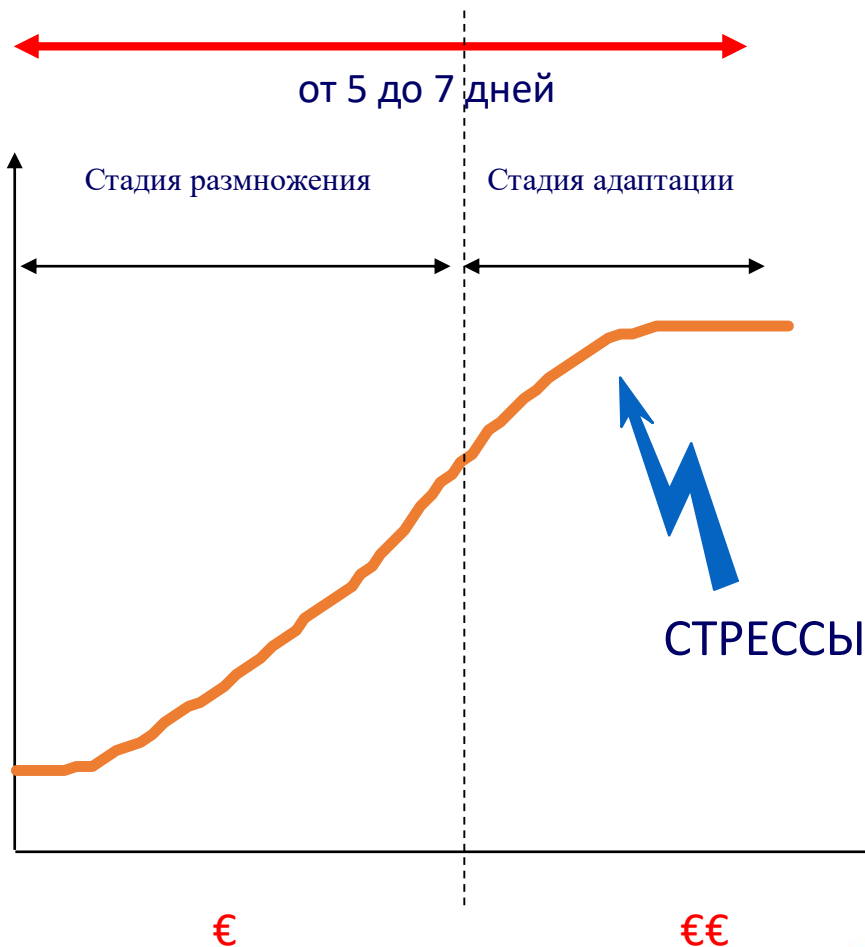
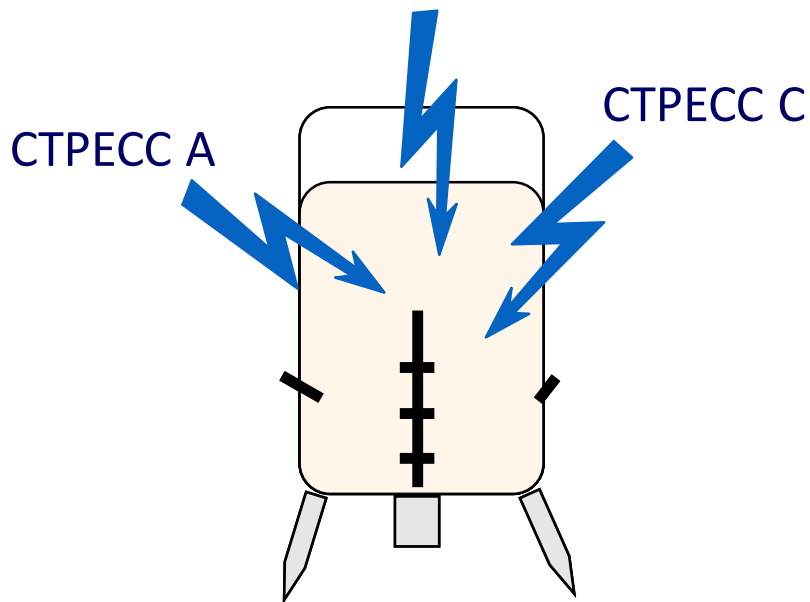


К ПРЯМОЙ ИНОКУЛЯЦИИ



ПРОЦЕСС МВР: ПРОМЫШЛЕННОЕ БРОЖЕНИЕ - ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ

СТРЕСС В



Прямая инокуляция – MBR®



Процесс MBR® был разработан Лаллеманд для укрепления клеточной мембраны *Oenococcus oeni* и адаптации клеток к этим суровым условиям для выполнения прямой инокуляции.

Возможна прямая инокуляция либо простая регидратация перед инокуляцией вина.



Регидратация бактерии MBR®

ВАЖНО соблюдать протокол:
Высокая продолжительность регидратации,
а также слишком высокие температуры
вызовут потерю жизнеспособности



Вода без хлора:
20 °C



15 минут
максимум



Вода без хлора
⇒ Прямая инокуляция
либо растворение в воде



Концепция одного действия: 1-Step®



Из-за более щадящих условий во время производства (отсутствие стресса) этим культурам необходимо будет достичь окончательной акклиматизации на винодельне путем регидратации в растворе биоактиватора с добавлением вина. Через 24 часа высокоактивный препарат можно внести в объем вина.



WINE
YEASTS



WINE
BACTERIA



NUTRIENTS
/PROTECTORS



SPECIFIC
INACTIVATED YEASTS



ENZYMES



CHITOSAN



VINEYARD
SOLUTIONS



1-Step Инструкция по инокуляции 1000 гл вина

1A

Тщательно перемешайте и растворите содержимое питательной смеси для бактерий в 100 л чистой воды (18-25 °C)

Подкормка

Бактерии

100 л

1B

Добавьте содержимое пакетика бактериальной культуры и осторожно перемешайте

Через 20 минут

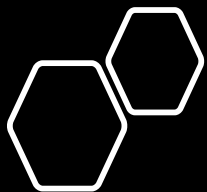
1000 гл вина

Вино pH > 3,2,
спирт < 15 % об.,
общий SO₂ < 40 мг/дм³,
температура > 17 °C

100 л вина
pH > 3,5

После акклиматизации
проверьте, как развивается
CO₂, и перенесите
бактериальную культуру

- ✓ Осторожно смешайте бактерии / питательный раствор со 100 л вина
- ✓ Температура: 17-20 °C
- ✓ Акклиматизация 12-24 ч



Инструкции для коинокуляции



Инструкция по применению

- Растворите биоактиватор в воде без хлора, температура 17-23 °С
- Добавьте содержимое бактерий и аккуратно перемешайте с биоактиватором и водой
- Подождите максимум 2 часа
- Добавьте бактерии в сусло через 24 часа после добавления дрожжей
- Если рН составляет 3,4-3,5, добавьте все содержимое бактерий, если рН 3,6, 3,7, 3,8, добавьте половину дозировки бактерий
- Если рН <3,4 не делайте коинокуляцию, лучше применить после СБ в стандартном протоколе





СПАСИБО



WINE YEASTS



WINE BACTERIA



NUTRIENTS/PROTECTORS



ENZYMES



SPECIFIC INACTIVATED YEASTS



CHITOSAN



VINEYARD SOLUTIONS

Visionary biological solutions / www.lallemandwine.com



LALLEMAND OENOLOGY

Original *by culture*