

Good AF Management



Оптимално взаимодействие дрожди/бактерии –
необходимо условие за успешна ЯМФ



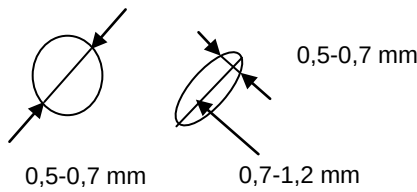
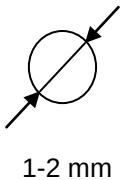
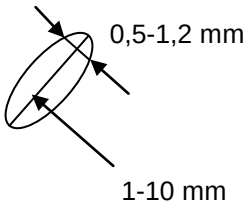
ОПТИМАЛНОТО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДРОЖДИ-БАКТЕРИИ, НЕОБХОДИМО УСЛОВИЕ ЗА УСПЕШНА ЯМФ

Ябълчно-млечната ферментация (ЯМФ) е процес, при който ябълчната киселина се трансформира в млечна киселина и CO_2 . Този процес е много важен при винифициране на гроздето, защото тази вторична ферментация е отговорна за:

- Обезкисляване на виното, т.е. конверсията на L-ябълчната киселина до L – млечна киселина с цел да се осигури микробиологична стабилност;
- Подобряване на органолептиката на виното;

Причина за провеждане на ЯМФ са млечно-киселите бактерии (LAB). Благодарение на развитието на молекулярната биология днес можем да класифицираме LAB, базирайки се на генния анализ (Таблица No: 1)

Таблица No: 1 Най-често срещани LAB във виното

Параметри:	<i>Leuconostoc Oenococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>
Характеристика	Неподвижен, не образува спори 	Неподвижен, не образува спори; 	Неподвижен, не образува спори; 
Факултативна анаеробиоза	+	+	+
Оптимална температура на развитие	20-30° C	20-30° C	20-30° C
Метаболизъм - продукти	CO_2 , млечна киселина, етанол;	DL-или-L млечна киселина;	L млечна киселина, оцетна киселина, CO_2 ;

LAB произвежда освен компонентите показани в (Таблица No: 1) и други компоненти, продукти на вторичния метаболизъм: една част от които са с положителен ефект върху качеството на виното и друга част, която допринася за влошаване на аромата на виното. Позитивните дескриптори се дължат на **ethyl lactat** и **diacetyl**, които придават комплексност на ароматно-вкусовия профил на виното. Те придават на виното аромат на масло, дрожди, мед, ванилия, подправки и препечен хляб. Благодарение на дрождите и LAB се редуцират растителните тонове, астригентността, горчивостта, подобрява се чувството в устата и закръглеността на виното.

Обикновено едно гроздово зърно носи много хиляди бактериални клетки, които могат да достигнат десетки дори стотици видове и щамове на LAB (естествена флора). Метаболизмът на дивите LAB е твърде различен като някои щамове по време на неконтролируема ЯМФ генерират дескриптори (Таблица No: 1). Те развалят качеството на виното и дори в някои случаи вредят на здравето на консуматора.

От гледна точка на физиологията на бактериите, метаболитните пътища, които предизвикват споменатите разваляния на крайния продукт имат за цел да дадат селективни предимства на клетките, които се проявяват в състояние на стрес.

Таблица No:2 Възможни дефекти на виното, които се дължат на неконтролируема ЯМФ

Проблем:	Последици:	Микроорганизми:
Повишено продуциране на диацетил: Разграждане на глицерин: Разграждане на винена киселина:	Млечен тон; Горчивина; Блудкавост на виното и загуба на цвят;	Диви щамове на O oeni; Разновидност на вида Lactobacillus; Разновидност на вида Lactobacillus и Oenococcus;
Продуциране на биологични амини:	Маскиране на плодовия аромат и вредно влияние върху здравето на консуматорите;	Разновидности на вида Lactobacillus и Oenococcus;
Производство на летливи киселини:	Загуба на плодовитост и свежест;	Някои разновидности на вида Lactobacillus;
Производство на летливи феноли:	Животински тонове, маскиране на аромати;	Някои разновидности на вида Lactobacillus и Oenococcus. Някои диви щамове на Oenococcus, продуциращи 4-винилфенол 4-винил гваякол;
Производство на етил карбамат:	Канцерогенни образувания;	Някои щамове на Oenococcus oeni

В една неконтролируема ЯМФ се констатира и вредни въздействия на дрожди главно от вида Brettanomyces. Това са вид дрожди, които устояват чудесно по време на АФ. Докато мъстта остава вино богато на етанол, дрождите Saccharomyces намаляват и Brettanomyces са основните дрожди способни да действат, защото са най-устойчиви на етанол. Множество трудове (Gerbaux et al, 2000) (Murat et al, 2007) Renoof V and Murat M.L 2008) показват всъщност, че е нужно безкомпромисно водене на ЯМФ, за да се предотврати риска от развитие на Brettanomyces.

Фирма **Lallemand** в сътрудничество със специалисти от **Roja University (Испания)** са направили изследвания на вина, които са претърпели неконтролирана ЯМФ и са констатирани в тях следните компоненти:

Диацетил	- Бели вина – 0,1 ÷ 10 ppm - Червени вина – 0,1 ÷ 30 ppm
Летливи биогенни амини (putrescine, cadaverine)	- Червено вино 1 ppm-100ppm
Летливи етилфеноли (ethylphenol, ethylguaiacol)	- Червено вино 425 mg/l-1000 mg/l

Diacetyl е един от важните компоненти, които оказват значимо влияние върху качеството на виното. Това е продукт, който се дължи на метаболизма на дрождите и LAB (Фиг. 1) Винените дрожди **Saccharomyces cerevisiae** произвеждат диацетил като вторичен продукт на въглехидратен метаболизъм:

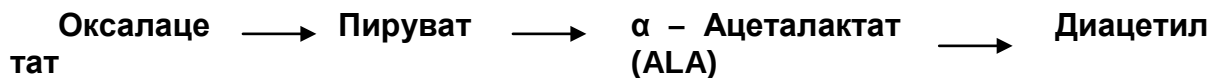
1. Дрождите формират пируват от глюкоза следвайки глюколитичната пътека (чрез глюколиза) **-1-** и последваща декарбоксилаза и формиране на хидроксиетиламин PP известен като ацеталдехид – TPP Комплекс (активен ацеталдехид) **-2-**
2. Следващата стъпка е концентрацията на активния ацеталдехид **-5-** до диацетил. Тази концентрация става с помоща на коензима ацетил CoA. Производството на диацетил се дължи на реакцията на ензима – диацетил синтеза с активния ацеталдехид. Аерацията в този момент увеличава производството на диацетил.
3. Благодарение на дрождения метаболизъм диацетила се редуцира до ацетон с помощта на диацетил редуктаза. Този процес на катализа е съпроводен с NADH, играещ ролята на електронен донор. Диацетил редуктазата е много активна при pH=7,0. При по-ниски стойности на pH този ензим е слабо активен.
4. Посредством ацетон редуктаза концентрацията на ацетона се редуцира и се получава нов продукт – 2,3 бутандиол.

Трябва да отбележим, че най-голяма е концентрацията на диацетила по време на активната фаза на АФ.

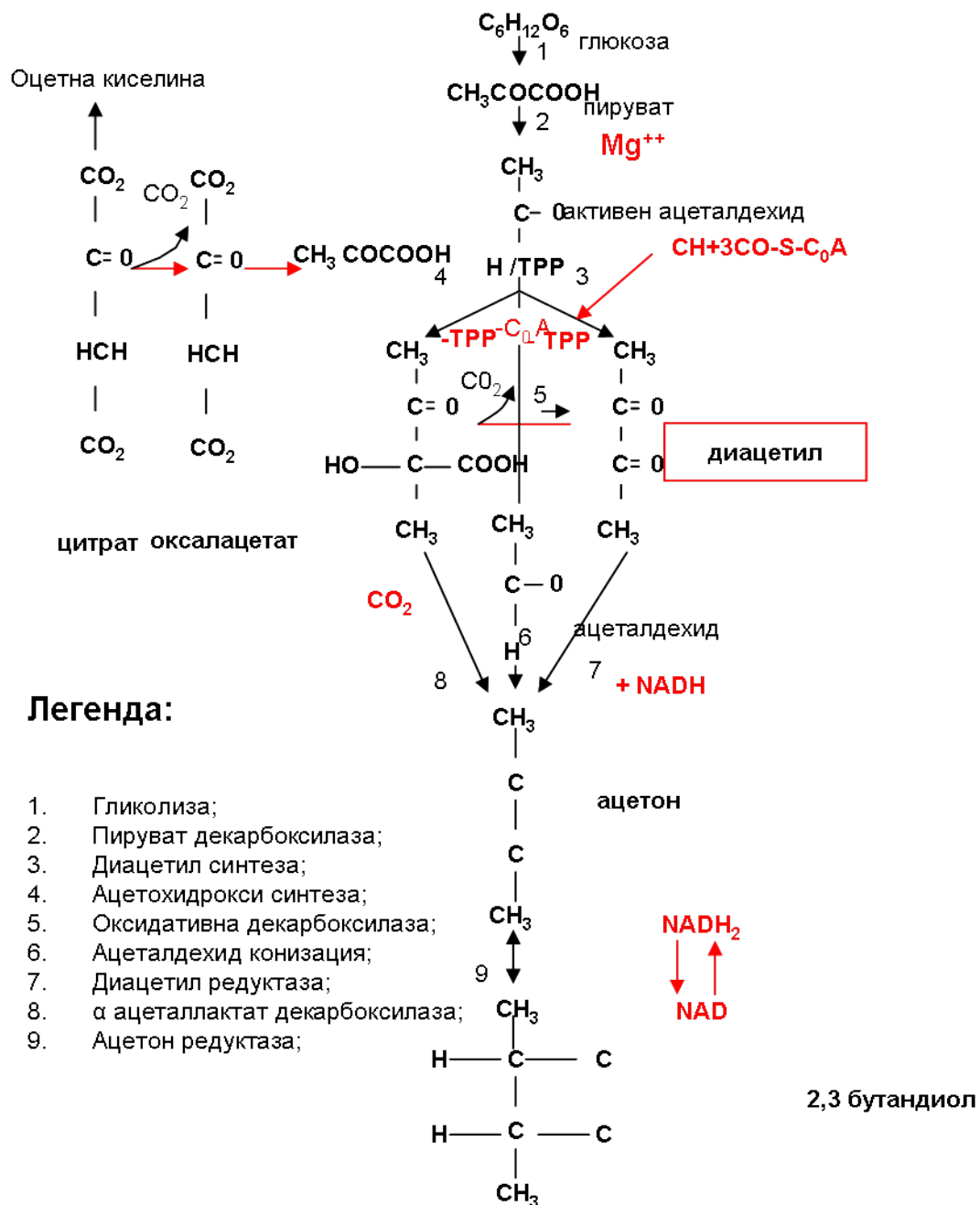
Saccharomyces cerevisiae произвеждат диацетил като вторичен продукт и по още една пътека:

1. Синтеза започва с формирането на пируват през въглехидратна деградация. Активният ацеталдехид и пирувата се трансформират до α - ацеталактат (ацетохидрокси синтеза). Дрождите ***Saccharomyces cerevisiae*** произвеждат α -ацетолактата в значителни количества по време на АФ, като междинен продукт за получаване на диацетил. α - ацетолактата в значителни количества по време на АФ, като междинен продукт за получаване на диацетил. α - ацетолактата деградира до диацетил чрез оксидативна декарбонисация. Така например при 0,2mg O_2 /l се формират минимални количества α - ацетолактат, а максимума е при 17.4 mg/ O_2 /l.
2. След получаването на диацетил чрез дрождения метаболизъм той се редуцира (диацетил редуктаза) до ацетон.
3. Ацетонът посредством ацетон редуктаза се редуцира до 2,3 бутанзол.

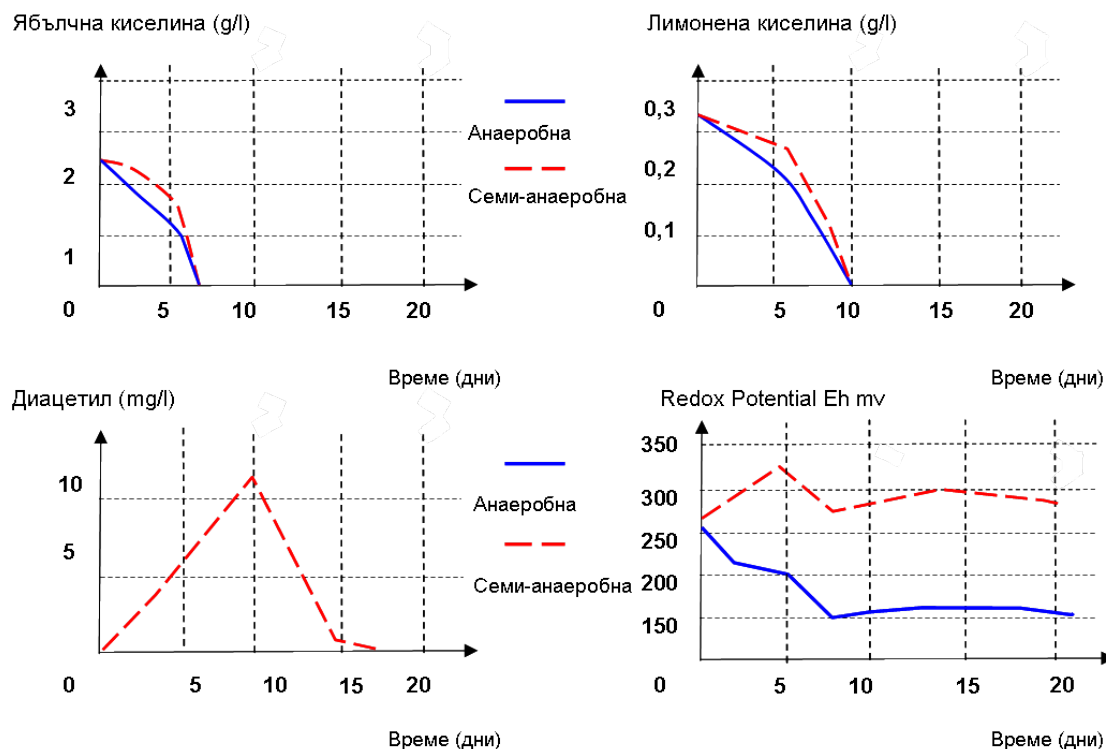
(Jan Clair Nielsen, 1999) докладва, че по време на ЯМФ LAB в частност ***Oenococcus oeni*** не само осъществяват трансформацията на ябълчната киселина в млечна киселина, но и формират вторични продукти, които влияят върху аромата на виното. Фиг. 1 илюстрира трансформацията на цитрата от ***Oenococcus oeni***:
Оксалацетат Пируват



ALA е основният източник за формирането на диацетил. ALA е нестабилен компонент, който при наличие на O_2 лесно се трансформира в диацетил, с помоща на ензима декарбоксилаза. Според (Martineau et al, 1995) диацетилът в определени концентрации оказва положително влияние върху аромата на виното, като му придава маслен, орехов вкус. Прагът на чувствителност е различен при различните вина: 0,2 mg/l за **Cahrdonnay**, 0,9 mg/l за **Pinot Noir**, 2,8 mg/l за **Cabernet Sauvignon**.



Фигура No: 1 Схема на диацетил биосинтез



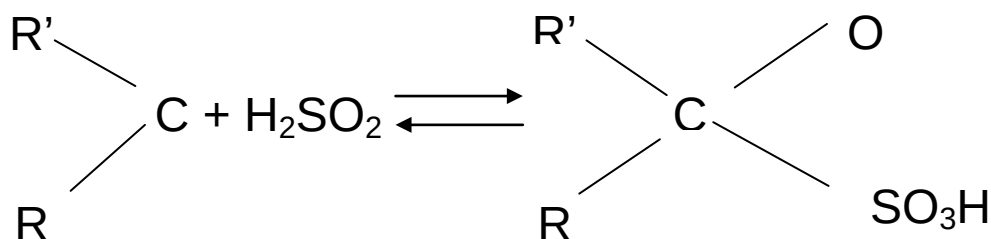
Фигура No: 2 Ефект на анаеробна и семи анаеробна ЯМФ върху ферментацията на цитрата във вино Chardonnay с *Oenococcus oeni*

От Фиг.2 е видна ферментацията на цитрата (в.т.ч. неговите компоненти) по време на ЯМФ с *Oenococcus oeni* при анаеробни и семи анаеробни условия. При анаеробни условия RP намалява до 150 mV и в този момент бактериите стартират своето развитие, а при концентрация на $O_2=0,2$ mg/l започва ферментацията. При семи анаеробни условия RP се стабилизира на 300 mV, а концентрацията на O_2 е 2-4 mg/l. Освен това, Фиг.2 показва влиянието на дяловете върху деградацията на ябълчната и лимонената киселина.

При семианаеробни условия концентрацията на диацетил достига до 13 mg/l, докато при анаеробни условия е едва 2 mg/l. Трябва да отбележим, че концентрацията на диацетил зависи от концентрацията на лимонената киселина: при семи анаеробни условия достига до 29 mg/l, докато при анаеробни условия максимума е 2 mg/l т.е. концентрацията на лимонена киселина не влияе върху концентрацията на диацетил.

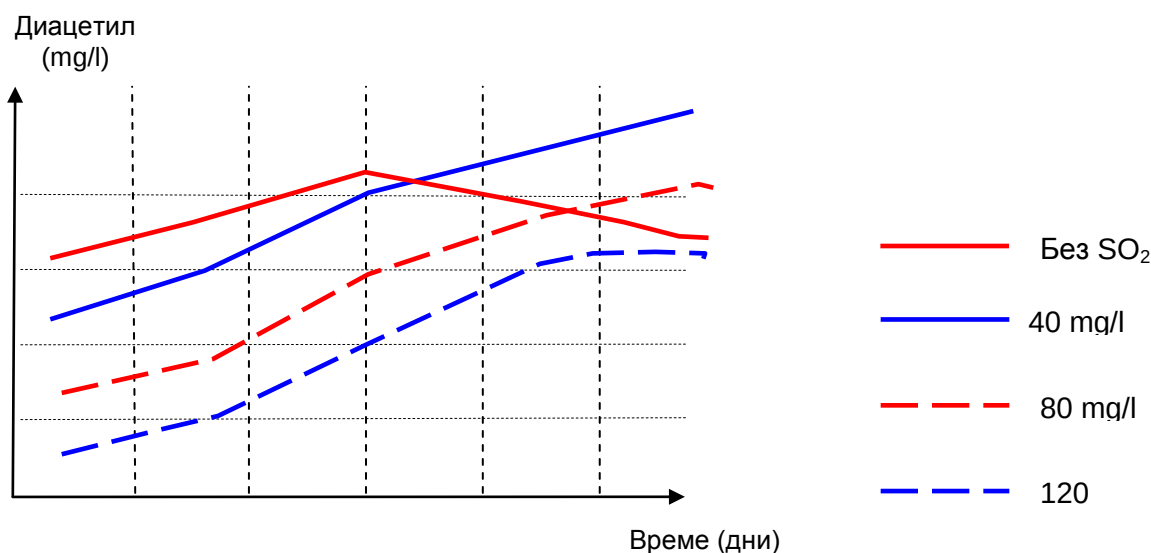
Важен момент при формирането на диацетил е концентрацията на SO_2 по време на АФ. Както знаем, FSO_2 се влага в гроздовата мъст, преди АФ, а и самите дрожди произвеждат SO_2 по време на АФ. SO_2 не се влага по време на ЯМФ защото това би стопирало микробиалната активност.

SO_2 реагира с различни компоненти на виното, които имат въглехидратен компонент, както диацетила (Burroughs L. Faus Sparks A.H., 1973).



Фигура No: 3А Намаляване на SO₂ по време на стареене.

Тази реакция е реверсивна и е много важна за концентрацията на диацетила във виното.



Фигура No: 3 В Намаляване на SO₂ по време на стареене.

Фиг.3В илюстрира влиянието на SO₂ върху концентрацията на диацетил по време на стареене на виното.

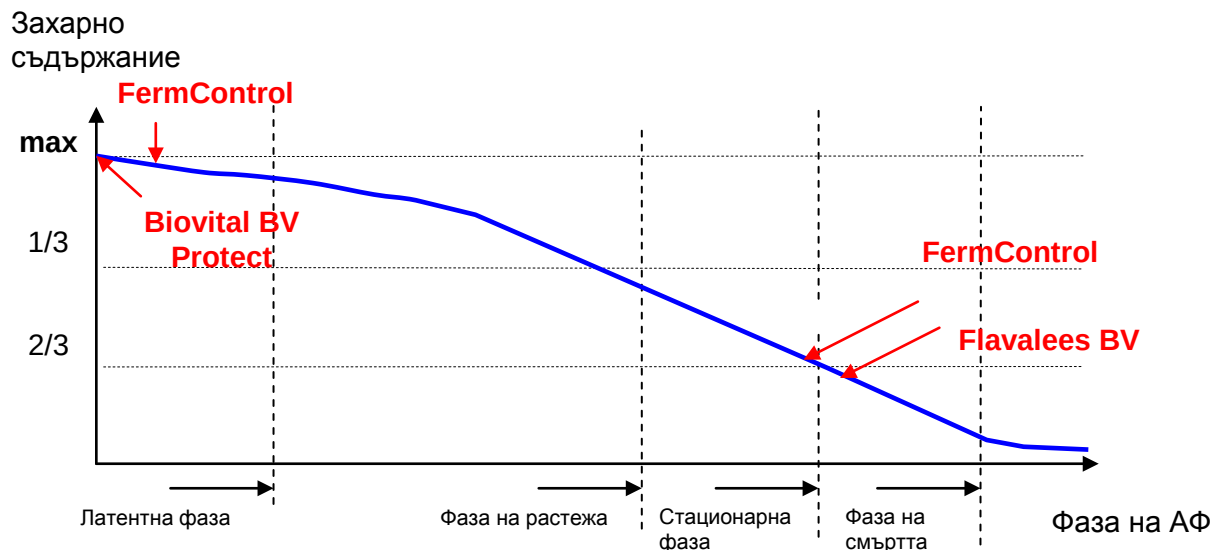
По време на стареенето на виното SO₂ се изпарява и реагира реверсивно с различни компоненти на виното. Резултатите показват, че след подаване на SO₂ във виното той се комбинира с част от диацетила. Тази реакция води до повишаване на концентрацията на диацетил по принцип. Различни публикации (**Martineav et al, 1995**) (**Rankine et al 1969**) описват влиянието на диацетила и неговата концентрация върху ароматно-вкусовия профил на виното. Резултатите от тези изследвания показват, че независимо от реверсивността на реакцията на SO₂ с диацетила то актуалната концентрация на последния във виното се корелира с развитието на органолептиката на виното. **В резултат на тези изследвания можем да стигнем до заключението, че диацетилът не е компонент, който въздейства позитивно върху аромата на виното, тъй като с повишаване на концентрацията му във виното се променя**

стила на виното. При концентрация 2-4 mg/l диацетилът придава на виното нотки на орехи, карамел, дрожди и влага, докато при концентрация 5-14 mg/l придава аромат на масло.

ЕФЕКТ НА МЪСТТА И КОМПОНЕНТИТЕ НА ВИНОТО ВЪРХУ БАКТЕРИАЛНОТО РАЗВИТИЕ

Известно е, че лимитиращите фактори, които са определящи за развитието на ЯМФ са pH, SO₂, t° и алкохолно съдържание на % v/v. Тези специфични фактори влияят върху успешното развитие на ЯМФ синергично и това значително намалява шанса за нормално развитие на ЯМФ. Освен това, **Saccharomyces cerevisiae** още в момента на старта на АФ оказват инхибиращо влияние върху останалите микроорганизми в мъстта (те произвеждат алкохол и SO₂). За да са жизнеспособни и да се развиват, бактериите **Oenococcus oeni** се нуждаят от по-специални хранителни вещества. Старата концепция на хранене на дрождите с неограничен амоняк под формата на DAP (диамониев фосфат) е вредна и неприложима за бактериите. **Oenococcus oeni** използват органични храни в.т.ч. аминокиселини, пептиди, витамини от β - групата, микроелементи (Mg, Mn).

LAV зависят до голяма степен от азотното състояние на гроздето, (зрялост, наторяване и др.) и влагането на хранителни вещества по време на АФ и ЯМФ. В тази връзка е много важно АФ да се провежда с използването на комплексни хранителни вещества на органична основа и правилен избор на щам дрожди (ниско производство на SO₂ и слаба потребност от хранителни вещества).



Фигура No: 4 Съвременна концепция за хранене на микроорганизмите по време на АФ.

Използването на стартерни култури дрожди дава своя благоприятен дял при винифициране на гроздето с цел да се оптимизира неговото качество. По време на АФ дрождения метаболизъм оперира на две различни нива:

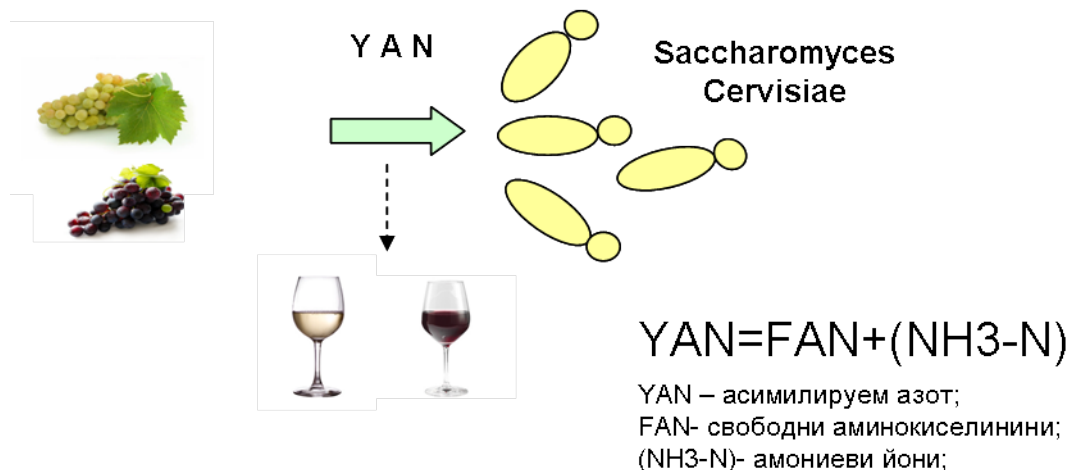
- a) Производство на нови ароматни компоненти;
- b) Трансформиране на ароматните прекурсори, представени в гроздовата мъст.

В гроздовата мъст има компоненти, които подлежат на трансформация до ароматни компоненти единствено чрез дрождения метаболизъм. Факт е, че гроздовата мъст от различни райони, след ферментация със селектирани дрожди **Saccharomyces cerevisiae** се произвеждат вина, които са различни, в качествено и количествено отношение спрямо композицията на първоначалната мъст (**Deljini and Bardi, 1993**).

Използването на дрождени стартери (*cerevisiae*) от ADY като посявка в гроздовата мъст гарантира производството на вина, които се характеризират с повече комплексност и по-добър аромат. Това добро качество зависи от три фактора: ниво на захарта и стойност на асимилируемия азот (YAN); ниво на pH.

Ако нивото на захарта е по-високо, това рефлектира в нивото на алкохолното съдържание на виното. Но този факт не съответства на изискванията на консуматора, т.е. той предпочита вино с по-малък алкохолен градус ($\leq 15\%$ v/v).

Грозде ($\leq 13\%$ v/v)



Фигура No: 5 Асимилируем азот

Следващият проблем е понижаване на нивото на асимилируемия азот в гроздето. Само по себе си това е възможно, защото се свежда до дефицит на азот,

но едновременно с това се намалява и концентрацията на микро и макроелементите. Това ще доведе до тенденция на проблемна АФ.

Повишаване на нивото на рН води до риск от развитие на нежелани микроорганизми и промяна на метаболизма на дрождите. Очевидно оптималното решаване на проблема с нормалното провеждане на АФ е сложен проблем. През 2009 година фирма **2B FermControl** разработи нов продукт – **FermControl™ BIO**, който се базира на продукти от автолизатни дрожди (дрожден екстракт, стени на дрожди, аминокиселини органични, бленд от витамини. Този продукт подобрява популацията на дрождите и техния метаболизъм, повишава формирането на плодови естери, инхибира формирането на редуктивни компоненти, редуцира производството на оцетна киселина; Създава по-добри условия за развитието на LAB.

Преди употреба **FermControl BIO** се разтваря във вода с $t^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$ и се разбърква добре за да се хомогенизира.

Продуктът се дозира в мъстта както следва:

Мъст < 23° BRIX	30 g/hl
Мъст > 23° BRIX	40 g/hl

Влагането на **FermControl BIO** в мъстта става на два пъти по време на АФ:

- A. Два дни след като са се засети дрождите се доставят 15 g/hl. **FermControl BIO** (при захарно съдържание < 23°BRIX);
- B. При изферментиране на 2/3 от захарта се добавят още **FermControl BIO**.

Ferm Control BIO действа оптимално при YAN=120-140 ppm и в случай, когато YAN е незадоволителен т.е. има дефицит и се добавя към **FermControl** 20-30 g/hl DAP по време на първото влагане на **FermControl**

Ferm Control BIO се съхранява при $t^{\circ}=15^{\circ}$ до 24 месеца. Продукта има годност до една седмица след отваряне на опаковката.

За да се подсили развитието на бактерии те в края на АФ и по време на ЯМФ е целесъобразно да се влагат **Flavalees BV** (монопотеини инактивирани дрожди). (Фиг. 4) Този продукт стимулира развитието на **Oenococcus oeni** посредством два механизма.

A. Провежда ензимна хидролиза и по този начин се осигуряват натурални азотни хранителни вещества (IY, AA).

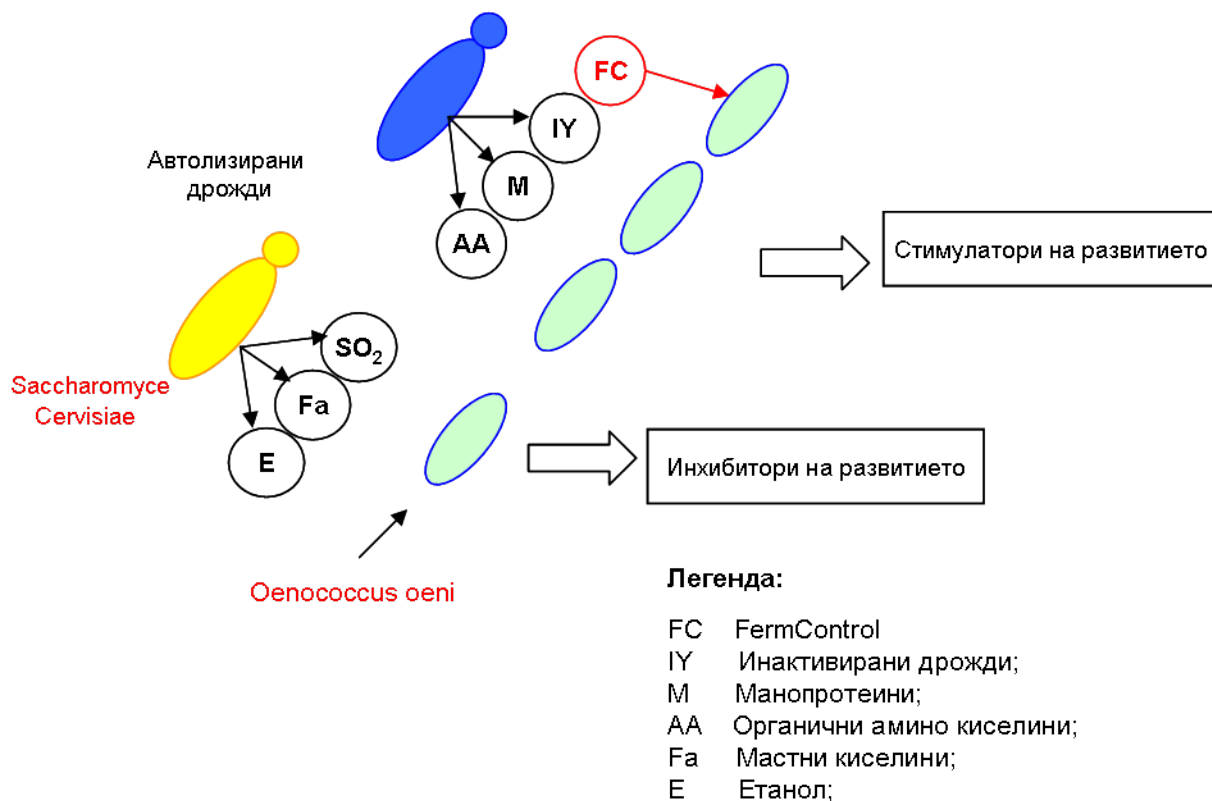
B. Абсорбира масните киселини със средна верига т.е. детоксикира медиата.

Освен това, много важен момент е при рехидратация на дрождите *Saccharomyces cerevisiae* да се използва **Biovital BV Protect** за да се гарантира нормалното им развитие и жизнеспособност до края на АФ, като по този начин се осигурява по-качествен автолизатен материал.

Ефектът на компонентите на мътта и виното върху бактериалното развитие на *Oenococcus oeni* схематично е даден на (Фиг. 6)

ЗНАЧЕНИЕ И БАКТЕРИАЛНОТО ХРАНЕНЕ

Бактериите, които са причина за ЯМФ се нуждаят от специфична храна различна от тази, която консумират дрождите. Подобно както при АФ и при ЯМФ има риск от забавяне или спиране на процеса.



Фигура No: 6 Влияние на *Saccharomyces cerevisiae* - живи и в аутолизирани варианти (основни фактори)

В повечето случаи това се дължи на дефицит на хранителни вещества. За да се избегне този риск е необходимо да се познава бактериялния starter, за да се избере такава комбинация от хранителни вещества, което да гарантира развитието на бактериите **Oenococcus oeni**, като те доминират и действат инхибиращо на нежеланите микроорганизми, които се развиват по време на ЯМФ (**Dekkera/Brettanomyces**).

Фирма **2B FermControl** разработи такъв продукт – **MaloControl™ BIO**, който е бленд на натурални витамини и специално обработени автолизни продукти. Този продукт балансира храненето на LAB и е много важен фактор за постигане на успешна ЯМФ.

MaloControl гарантира оптимален метаболизъм на бактериите и повишава ябълчно млечната активност. Преди употреба продуктът се разтваря в гроздов сок с $t^{\circ}=20-30^{\circ}$ и се разбърква, за да се хомогенизира. Получената суспензия се влага във виното два часа преди засяване на бактериалната starterна култура. Много добри резултати при ЯМФ се получават при нисък азотен профил (≥ 120 ppm).

MaloControl повишава метаболизма на бактериите и ябълчно-млечната активност, създава по-добри условия за развитие на бактериялния starter.

Дозите за **MaloControl** са:

Вино с YAN на гроздето >120 ppm 4 g/hl

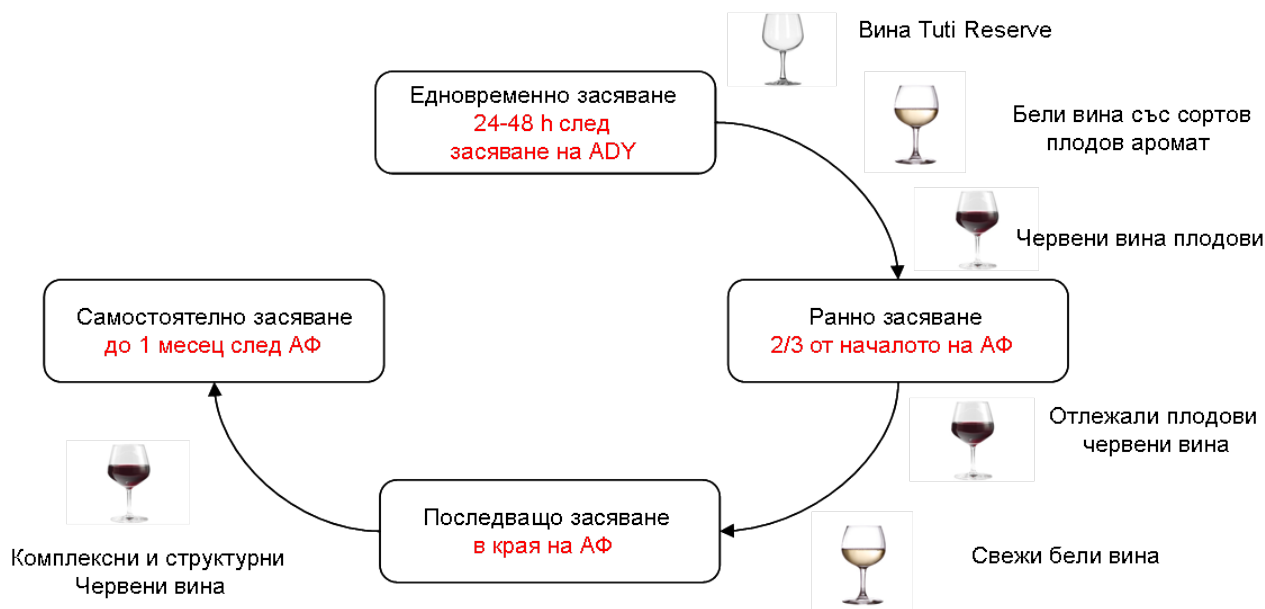
Вино с YAN на гроздето < 120 ppm 8 g/hl

КОНТРОЛ НА ЯМФ ПОСРЕДСТВОМ НОВИ ЩАМОВЕ БАКТЕРИИ

От изнесеното дотук става ясно, че при определени условия LAB по време на ЯМФ конвертира ябълчната киселина до млечна киселина, но и произвежда вторични продукти, които обогатяват или влошават аромата на виното. Те съвместно със селектираните ADY провеждат вторичен метаболизъм (мастни киселини, въглехидрати, естери, киселини и етанол). Освен това, освобождават нелетливи глюконати (агликони) и превръщането им в летливи компоненти (монотерпени, изопринозин феноли, бензолни деривати и др.)

Като пример можем да разгледаме производството на диацетил, който придава «маслена нотка» на виното. Както бе показано на (Фиг.1) един от начините за производство на диацетил е конверсията на натуралната лимонена киселина във виното от **Oenococcus oeni**. Известно е, че този «маслен тон» е нежелателен за

плодовите бели вина като **Riesling** и **Sauvignon Blanc**. Това е основната причина да се мениджира производството на диацетил. От практическа гледна точка количеството на произведения диацетил може да се редуцира, като се влияе върху конверсията на лимонената киселина. Този метод е предложен от Chr. Hansen и BWK в Германия през 1999. Методът предвижда засяването на ябълчно млечните бактерии да се осъществява веднага след края на АФ или след един месец след края на АФ (Фиг.7) и селекция на нови селектирани бактерии.



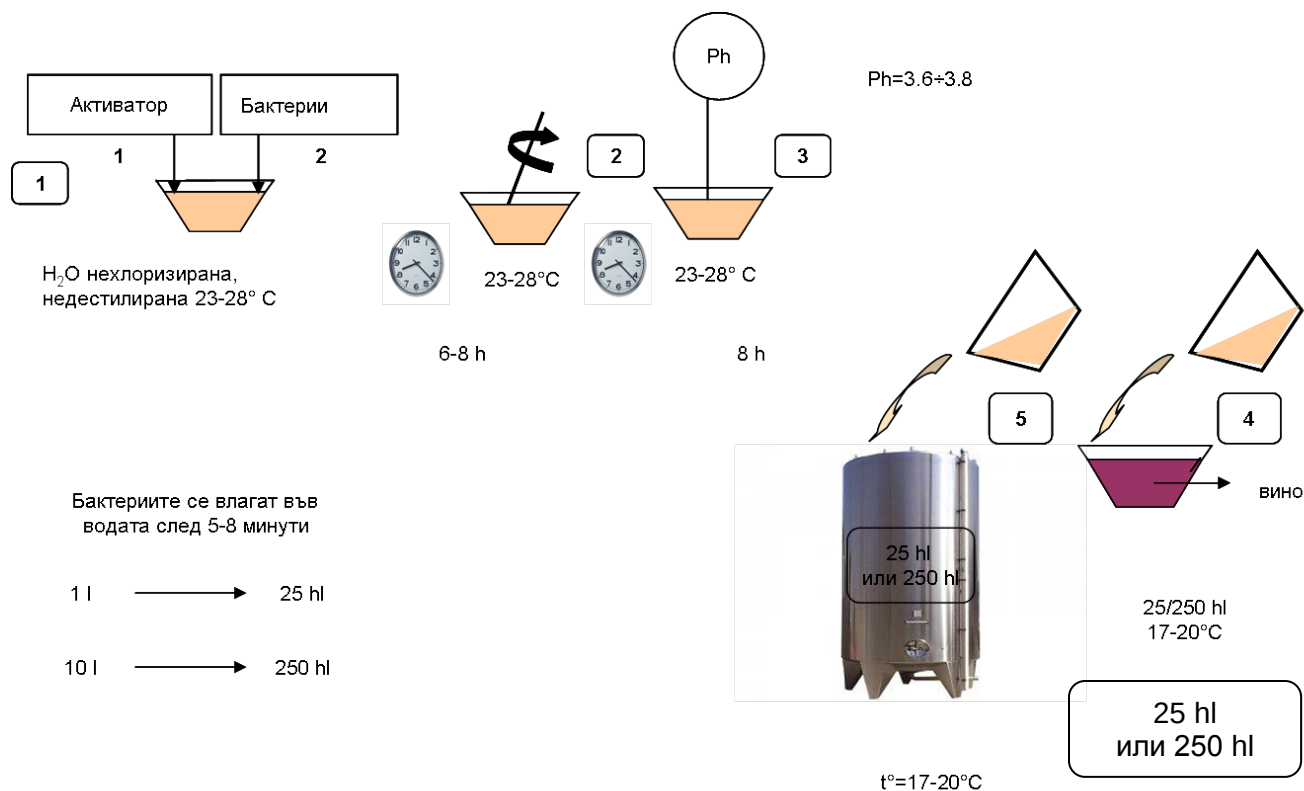
Фигура No: 7 Време на засяване на бактериите

Основната причина за създаване на нов щам селектирани дрожди е да се лимитира влиянието на ЯМФ върху ароматния профил. В частност се цели да се редуцира влиянието на «млечни нотки» в ароматно-вкусовия профил на виното. **2B FermControl** под ръководството на **Dipl. Ing. Carsten Heinemeyer (от Германия)**, създаде ябълчно млечната бактерия, която няма метаболизъм по отношение на лимонената киселина: **MaloBacti™ CN1** Този щам бактерии не произвежда оцетна киселина от лимонената киселина. **MaloBacti™ CN1** имат следните предимства:

- Запазва сортовия характер;
- Не повишава летливата киселинност във виното;
- Не придава «маслени тонове» на виното;

MaloBacti™ CN1 се предлага в две опаковки за 25 hl и 250 hl, като опаковката е с две камери: в **камера 1** се намира активатор **A³**, който повишава броя на активните

клетки и подпомага адаптацията на бактериите при разтваряне във вода; в **камера 2** се намира **MaloBacti™ CN1**. Бактериалният starter се подготвя по следния начин:



Фигура No: 8 Протокол за подготовка на бактериален starter

MaloBacti™ CN1 имат следните енологични свойства:

- Не произвежда диацетил;
- Толерантност към SO₂ = 20 ppm (при pH=3,3)
- pH=3,2-3,4
- Толерантност към етанол = ≤14% v/v
- Температура t°=17-26°C
- Може да се използва при ЯМФ на червени сортове грозде и грозде **Chardonney**

1. В съд с вода (недестилирана, нехлорирана) с t°=23-28°C се разтваря в обем 1/10 l (за 25/250 hl) активатора и след 5-8 минути се разтварят и бактериите.

2. В продължение на 6-8 часа при $t^{\circ}=23-28^{\circ}\text{C}$ се извършва активация на бактериите. През това време суспенцията се разбърква, за да се хомогенизира.
3. След 8 часа се измерва pH с pH-метър и ако $\text{pH}=3,6-3,8$ то бактериите са 100% активни.
4. Суспензията се влага във вино с обем 25/250 hl и се разбърква при $t^{\circ}=17-20^{\circ}\text{C}$.
5. Готовия бактериален щам се влага във виното за ЯМФ, която ще протича при $17-20^{\circ}\text{C}$

Фирма **2B FermControl** предложи на пазара и бактериите **MaloBacti™ HF2**. Тази бактерия се явява нов стандарт за ЯМФ на червени вина с нисък pH и високо съдържание на алкохол ($>14 \text{ v/v}$). Това е щам на **Oenococcus oeni** изолиран от **Pinot Noir**. Вината произведени с бактерии **MaloBacti HF2** имат по-ниска стойност на ябълчна киселина след втория ден на ЯМФ. Тези бактерии са:

- Много толерантни към алкохола – до $16 \text{ \% v/v}$.
- Много толерантни към ниски стойности на pH, например $\text{pH}=3,0$ при $t^{\circ}=14^{\circ}\text{C}$.
- Допринасят за подчертаване на плодовия видофил.
- Успешно могат да се използват за производство както на червени така и на бели вина с плодов характер.

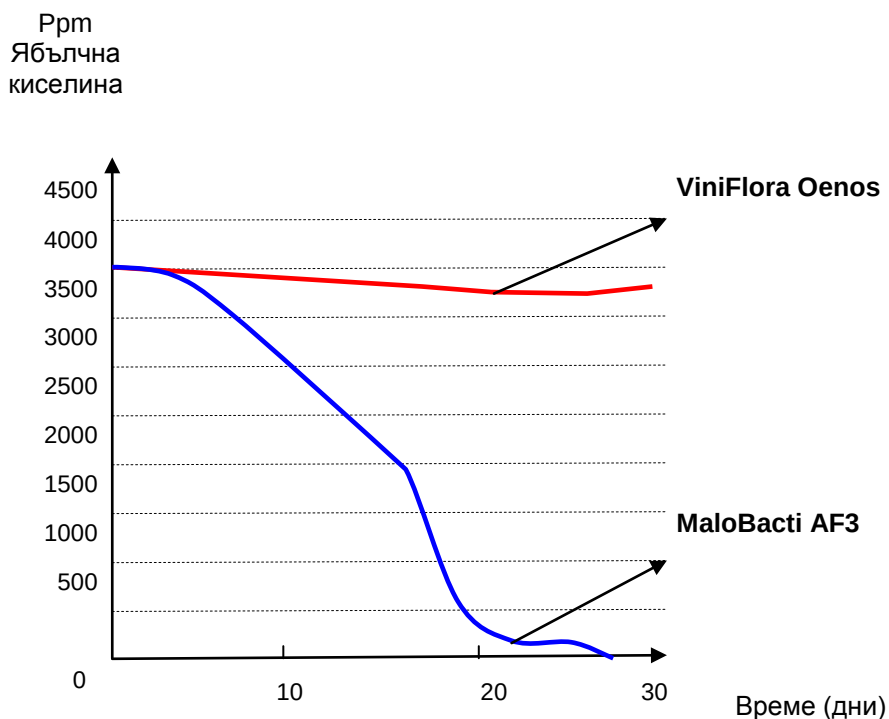
MaloBacti™ HF2 като бактериален starter се формира по начин аналогичен на **MaloBacti™ CN1**, но активацията е за 5 дни при $t^{\circ}=4-6^{\circ}$. Бактериалният starter не е толерантен към SO_2 затова се препоръчва:

Влагането на SO_2 да става веднага след приключване на ЯМФ

За да се редуцира количеството SO_2 , произведено от дрождите е уместно влагането на FermControl в края на стационарната фаза.

Бактериалният starter **MaloBacti HF2** трябва да има минимум $> 2 \times 10^{11} \text{ CFO /g}$. Бактериите могат да се съхраняват две години при $t^{\circ}=-18^{\circ}\text{C}$.

Като нов стандарт за ЯМФ се приемат и бактериите **MaloBacti™ AF3**, които са пригодени за вина с високи стойности на алкохол и високи нива на феноли. Тези бактерии могат да бъдат успешни и при проблемни ЯМФ (Фиг. 9).



Фигура No: 9 Сравнение на бактериите MaloBacti AF3 и Viniflora Oenos (Hensen).

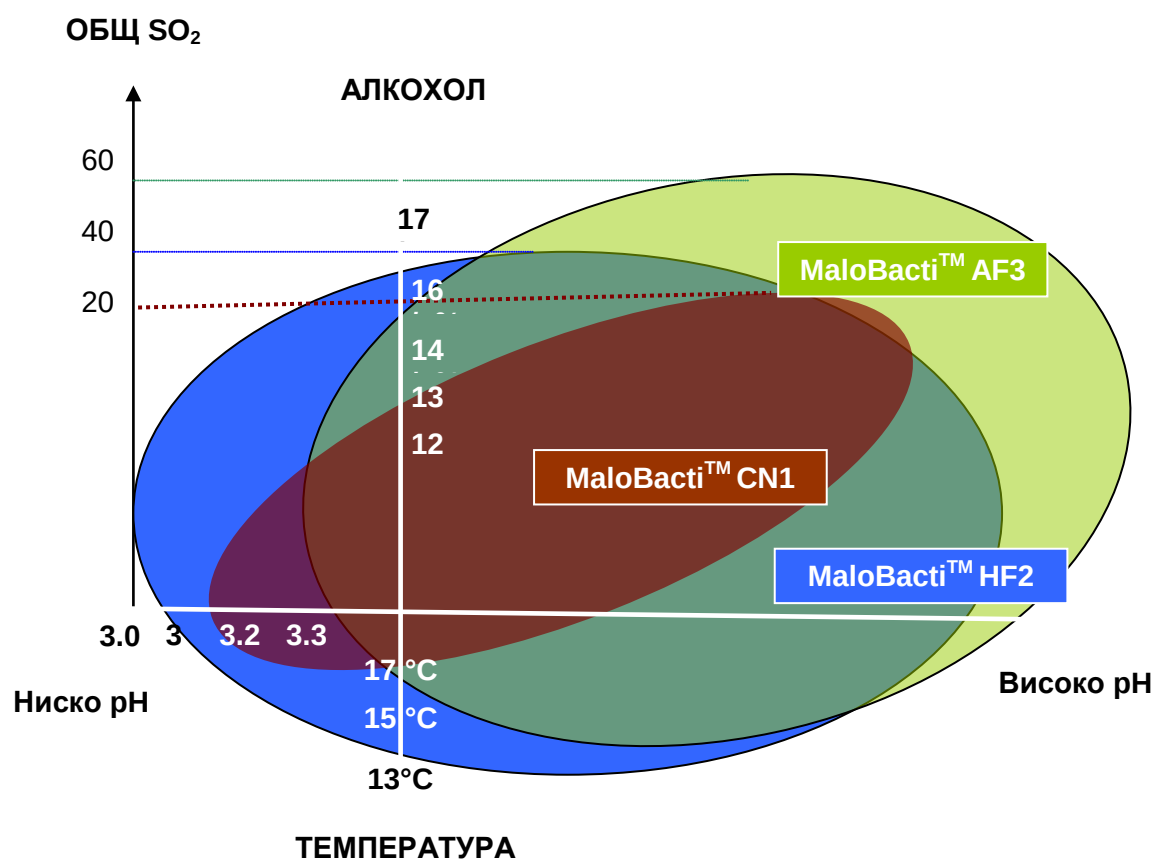
Относно бактериалния стартер и неговите свойства може да се каже, че те са аналогични на тези на **MaloBacti HF2**.

(Фиг.10) ни дава представа за поведението на отделните нови щамове към лимитиращите фактори на ЯМФ: алкохол, pH, SO₂ и температура.

Отчитайки това поведение и вземайки под внимание препоръките на фирма **Lallemend** за успешно провеждане на ЯМФ предлагаме следната съвременна концепция за контрол и управление на ЯМФ.

Като реален факт може към така наречената «голяма четворка» да се вложи и **наличието на достатъчно хранителни вещества**.

Отчитайки влиянието на тези пет основни фактора върху еволюцията на ЯМФ съгласно методиката на **Lallemand** можем да определим априори каква ЯМФ можем да очакваме (Таблица:3).



Фигура No: 10 Свойства на новите бактериални щамове.

Таблица No: 3 Оценка на условията за протичане на успешна ЯМФ.

Параметри:	Моето вино:	Еволюция:				Резултати:
		1 точка	2 точки	8 точки	10 точки	
Алкохол (% vol.)		<13	От 13-15	От 15-17	>17	
pH		>3,4	От 3,1-3,4	От 2,9-3,1	<2,9	
Свободен SO ₂ (mg/l)		<8	От 8-12	От 12-15	>15	
Общ SO ₂ (mg/l)		<30	От 30-40	От 40-60	>60	
Температура (°C)		От 18 à 22	От 14-18 & от 22-24	От 10-14 & от 24-29	<10 & >29	
Хранителна среда необходима на дрождите		Ниска	Медиум	Висока	Много висока	
Първоначално съдържание на ябълчна киселина;		Гладко	Лек стрес (дрожди)	Бавен	Дълъг контакт с дрождите	
Първоначално съдържание на ябълчна киселина (g/L)		От 2 à 4	От 4-5 & от 1-2	От 5-7 et de 0,5-1	>7 & < 0,5	
Максималната скорост на АФ (максимална загуба на плътност точки на ден)		<8	От 8-16	От 16-24	>24	
Други фактори, които трябва да се имат предвид при тази оценка : Те са неизвестни или са предмет на изучаване /разредено кислородно съдържание, полифенолно съдържание, посока на вятъра, остатъци от пестициди и др.)						
						ОБЩО

<13	13-22	23-41	
↓	↓	↓	↓
Успешна ЯМФ	Умерено проблемна	Проблемна	Екстремно проблемна

Успешна ЯМФ можем да постигнем, ако сумирайки резултатите от тази таблица получим общ сбор точки > 13, като в този сбор се отчитат максималната скорост на алкохолна ферментация, първоначалното съдържание на ябълчна киселина, развитие на алкохолната ферментация. ЯМФ е една комплексна и твърде деликатна стъпка в процеса на винифициране на гроздето, защото нейната основна задача е да приключи успешно, гарантирайки получаването на микробиологично стабилен продукт с балансирани сензорни качества.

Този факт налага специален мониторинг и управление на процеса ЯМФ. За да можем да гарантираме успешното протичане на процеса преди всичко следва да се определи **стила на виното, което целим да произведем**, след което определяме алгоритъма на самия процес (Фиг.11). Алгоритъмът за успешна ЯМФ две основни фази:

- Предферментационна фаза на винифициране;

- Мониторинг и управление на АФ и ЯМФ

Предферментационната фаза включва предварителна обработка на гроздето и мъстта. По отношение на качеството на гроздето за винифициране с цел получаване на вино: Reserva; Grand Reserva се поставят следните изисквания:

- Гроздето да бъде в добро санитарно състояние, с оптимална фенолна зрелост;
- Рандеман – 3,5 t° (акра /ръчно бране в касети, t=18°C/)
- Захарност 24,5-26,0°BRIX; pH=3,6-3,8; TA=0,6÷065 g/100ml

След пристигане на гроздето във винарската изба, същото се сортира т.е. преди да се осъществи ронкането се отстраняват ръчно гроздовите чепки, и всички негроздови компоненти (НГК)(плесени, части от стъбла, стафидирали гроздови зърна и др). Червеното грозде се обработва по две схеми – а) сортиране, ронкане и б) сортиране, ронкане, смачкване.

При първата схема след ронкане се добавят 30 mg/l калиев метабисулфат, регулира се pH=3,4-3,5 и се добавя ензим: **Vinozym Vintage FCE** 2 g/100kg, като се контролира цвета и вкуса на виното и ако се констатира проблеми с цвета на виното в края на АФ се доставят още 2g/100kg. В схемата когато гроздето се смачква се влага същия ензим с количество 3g/100kg. Влагането на този ензим има двойна роля:

1. Ензимите вложени в гроздовата каша увеличават рандемана на самотока и общия рандеман на виното произведено от първото грозде.
2. Мацерационния ензим скъсява времето за контакт с твърдите части като спомагат за екстрахиране на фенолните компоненти от гроздето провокирайки екстракция и на цвета, намиращ се в гроздето. Необходимо е да се търси баланс между извличането на цвят и формирането на структура на виното. Влагането на по-високи дози от гореспоменатия ензим е твърде рисковано, защото той екстрахира по-големи количества танини.

Ензимът **Vinozym Vintage FCE** се влага след като мъстта е сулфитирана (след 5-6 часа).

Обикновено, когато гроздето се ронка и смачква се провежда преферментационна студена мацерация (ПФСМ) т.е. прилага се способ на ускоряване на екстракцията на компонентите от ципите и пулпата на гроздовите зърна след смачкването им.

Към тези компоненти се причисляват антицианините, танините и различни ароматни прекурсори. Използването на този способ цели получаване на по-плодови вина. Тъй като микроорганизмите, постъпващи с естествената микрофлора се развиват при t°>10°C, то ПФСМ се провежда при t°=8-10°C Провежда се анализ на мъстта, като се анализират °BRIX ; Обикновено, когато гроздето се ронка и смачква се

провежда преферментационна студена мацерация (ПФСМ) т.е. прилага се способ на ускоряване на екстракцията на компонентите от ципите и пулпата на гроздовите зърна след смачкването им. Към тези компоненти се причисляват антоцианините, танините и различни ароматни прекурсори. Използването на този способ цели получаването на по-плодови вина. Тъй като микроорганизмите, постъпващи с естествената микрофлора се развиват при $t^{\circ} > 10^{\circ}\text{C}$ Поради тази причина гроздовата каша се охлажда до $t^{\circ} = 8-10^{\circ}\text{C}$. Провежда се анализ на мъстта, като се анализират $^{\circ}\text{BRIX}$; pH, TA; t° . За да имаме успешна ЯМФ то $\text{pH} = 3,2$ $t^{\circ} \approx 10-28^{\circ}\text{C}$. Ако $\text{pH} < 3$, 0 то тогава се налага да откислим мъстта.

По принцип обаче откисляването е процес, който се провежда след ЯМФ или след АФ (ако не се предвижда ЯМФ). Преди АФ е много трудно да се проведе окисляване защото нивата на TA по време на АФ се променят от метаболизма на дрождите. В тази връзка се **препоръчва на този етап да се определи титруемата киселинност и да се извърши мониторинг на нивото на ябълчната киселина**. Освен това да се направи правилен избор на ADY т.е. да се изберат дрожди, които имат слаба потребност от хранителни вещества, слаб потенциал на производство на H_2S , толерантност към алкохол ($> 14\% \text{ v/v}$) и към $t^{\circ} = 10-30^{\circ}\text{C}$.

В (Таблица No 4) са дадени дрожди, които са известни като „Ябълчно-алкохолни” и гарантират успешна ЯМФ.

Таблица No:4

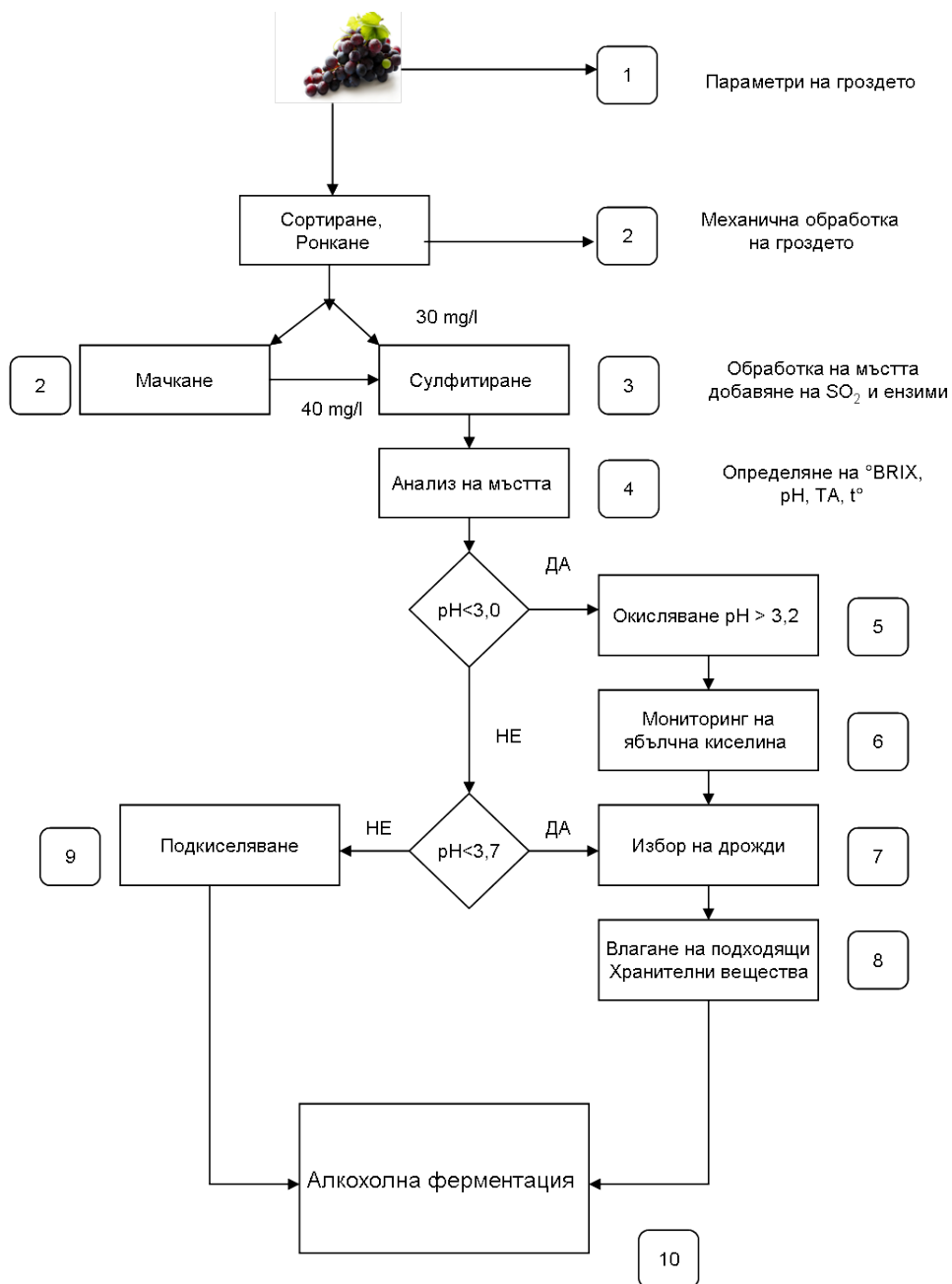
Щам дрожди Saccharomyces	Потребност от азотни вещества	Толерантност		Потенциал на Производство на H_2S	Тип на виното	
		t°	Ет % v/v		Бяло	Червено
Lalvin 71B	Слаба	15-30	14	Слаб		+
Lalvin EC1118	Слаба	10-30	18	Слаб	+	

При изборът на щам дрожди много важен момент е производството на диацетил (Фиг.1). Тъй като диацетилът се дължи на метаболизма на *Saccharomyces cerevisiae* и *Oenococcus oeni* **е необходимо да се избере щам дрожди, които имат слаб потенциал на метаболизъм на лимонена киселина**. Изборът и момента на влагането на хранителната среда за ЯМБ са показани на (Фиг.4), като за случая важи постулата: **качествената храна за дрождите е подходяща и за развитието на *Oenococcus oeni***.

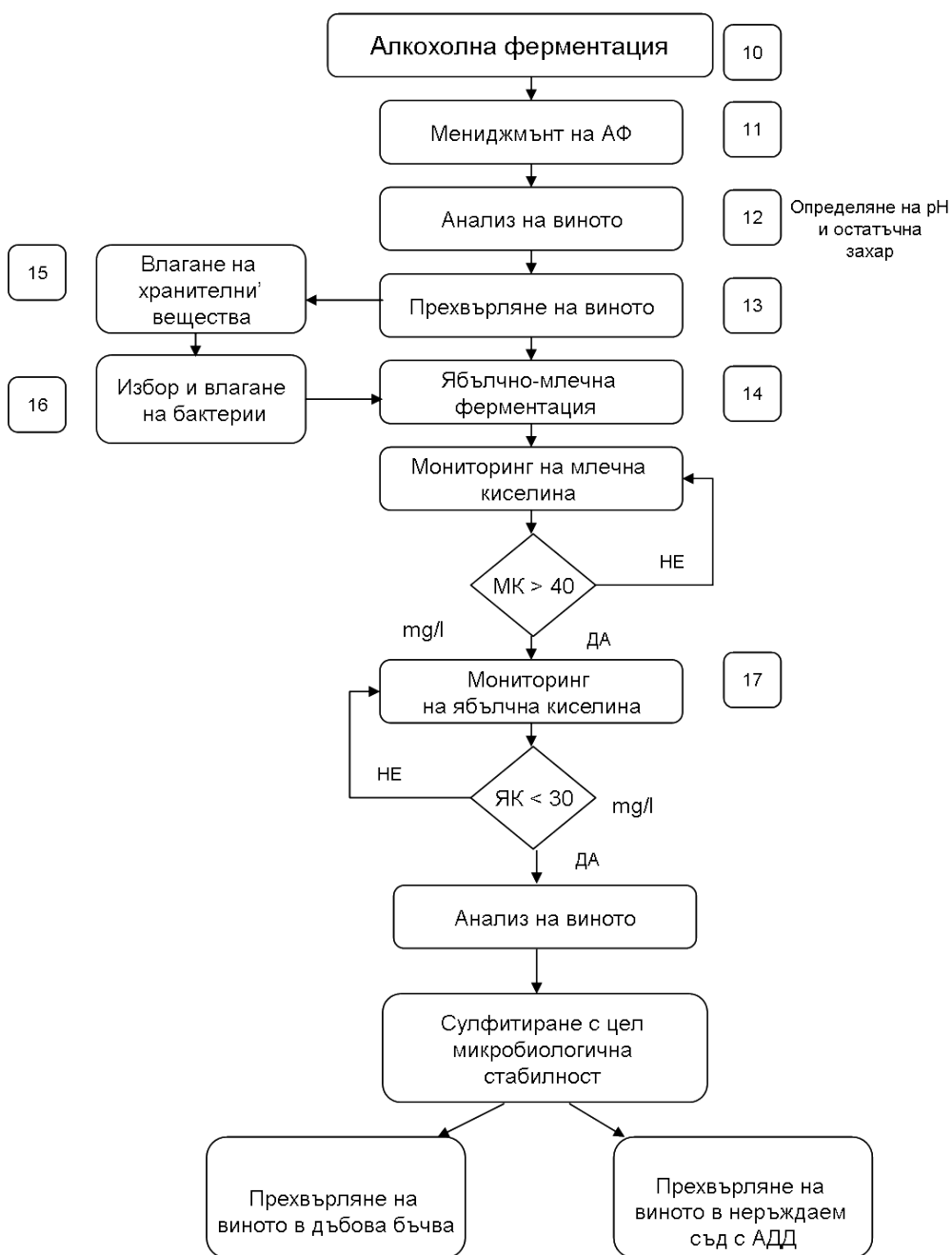
Ако гроздето се бере при високи температури, то и мъстта има висока температура и се характеризира с високо pH и ниска титруема киселинност. **Този факт задължително налага корекция на pH** от $> 3,7$ на $3,2 \div 3,6$ и увеличаваме не титруемата киселинност. Трябва да се знае, че високото съдържание на калий е показател за високо ниво на pH.

След като се установи pH в рамките на 3,2-3,5 се извършва избор и влагане на

дрожди и хранителна среда.



Фигура No: 11А Предферментационна фаза на винифициране



Фигура No: 11B Фаза на АФ и ЯМФ

Хранителната среда се влага 2 часа преди да се засеят дрождите. ADY преди да се засеят в гроздовата каша се рехидратират по начина подробно описан в (Бонев и Матеев 2011).

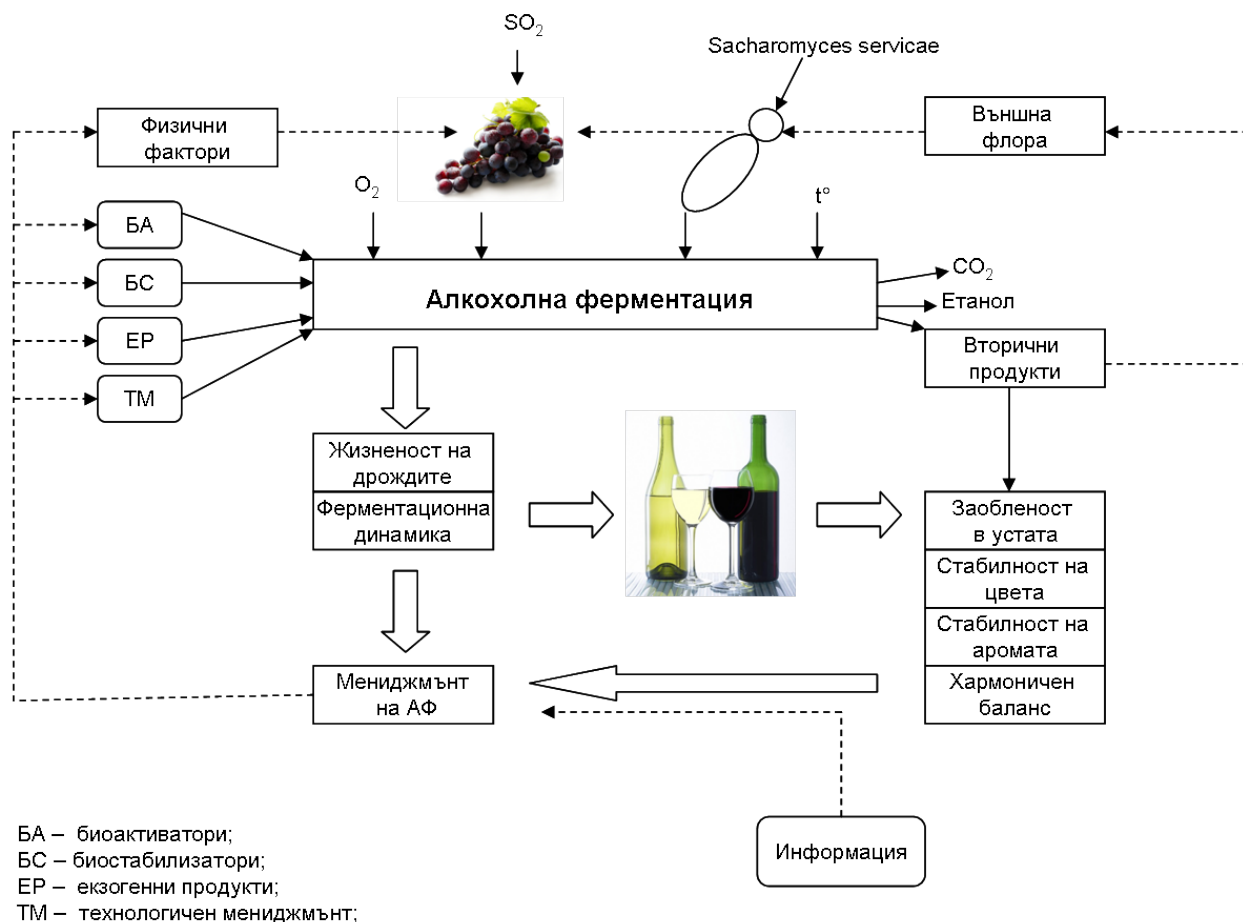
По време на АФ се провежда мениджмънт на процеса, който се състои в следното (Фиг.12):

1. Анализ на фактори, които оказват влияние върху АФ;
2. Контрол на жизнеността на дрождите и ферментационната динамика;
3. Контрол на количеството разтворим O_2 ;
4. Определяне на дозата на спомагателните материали в т.ч. БА, ВС, ЕР;
5. Произвеждане на технологичен мениджмънт;

Технологът, водещ АФ на дадено вино периодично осъществява анализ и дегустация на виното за да може да сравни изискванията на консуматора (в схема, като информация) с резултатите от протичащата АФ. На базата на това сравнение се провежда така наречения технологичен мениджмънт. Този важен маньовър във винарската практика представлява съвкупност от дейности, които се прилагат по време на винифициране на дадено грозде с оглед да се произведе вино, качеството на което отговаря на изискванията на консуматора и е съобразено с качеството на гроздето и възможностите на наличната техника за винифициране. В тази съвкупност влизат следните основни технологични прийоми:

1. Избор на стила на виното;
2. Подготовка и засяване на дрождения starter;
3. Избор на технология на винифициране;
4. Мениджмънт на t° на АФ;
5. Мениджмънт на ферментационната шапка;

В края на АФ се определят рН и останалата захар на виното се прехвърля в друг съд за провеждане на ЯМФ.



Фигура No: 12 Мениджмънт на АФ

Преди стартиране на ЯМФ се оценяват условията за протичане на успешна ЯМФ и се осъществява избор на щама бактерии и храната за тях.

По време на ЯМФ се осъществява мониторинг на млечната и ябълчна киселина и се провежда периодично анализ на дегустация на вино.

След успешно приключване на ЯМФ виното се прехвърля в друг съд, където с цел да се постигне микробиологична стабилност се сулфитира. След сулфитирането виното се прехвърля в дъбови бъчви или неръждаеми съдове с АДД за получаване на процеса на стареене.

Й. Бонев

(Консултант към BV Technologies)