РЕЗОЛЮЦИИ OIV-OENO 739-2025

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОЦЕНКЕ СВОЙСТВ ФЕРМЕНТАЦИИ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ *Saccharomyces cerevisiae*

ВНИМАНИЕ. Настоящая резолюция будет добавлена в качестве приложения к следующей резолюции:
• OIV-OENO 370-2012 «РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ХАРАКТЕРИСТИК ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ РОДА SACCHAROMYCES, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ВИНОГРАДАРСКО-ВИНОДЕЛЬЧЕСКИХ СРЕД»

ГЕНЕРАЛЬНАЯ АССАМБЛЕЯ,

НА ОСНОВАНИИ статьи 2, пункта iv Соглашения от 3 апреля 2001 года о создании Международной организации по виноградарству и виноделию,

ПРИНИМАЯ ВО ВНИМАНИЕ результаты работы Экспертной группы «Микробиология»,

ПРИНИМАЕТ РЕШЕНИЕ по предложению Комиссии «Энология» о добавлении в преамбулу Резолюции OIV-OENO 370-2012 следующего пункта:

Оценка свойств ферментации штаммов дрожжей *S. cerevisiae* необходима для обеспечения качества спиртового брожения и производства вин с требуемыми органолептическими свойствами (См. Приложение 2). Ненадлежащие экспериментальные условия могут стать причиной получения противоречивых результатов, которые не отражают фактических свойств ферментации.

ПРИНИМАЕТ РЕШЕНИЕ о добавлении раздела «Стандартизованный протокол для оценки свойств ферментации штаммов дрожжей *S. cerevisiae*» к Резолюции OIV-OENO 370-2012 в качестве приложения.

Приложение 2

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОЦЕНКЕ СВОЙСТВ ФЕРМЕНТАЦИИ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ *Saccharomyces cerevisiae*

Сертификат соответствия Кишинёв, 20 июня 2025
Генеральный директор OIV
Секретарь Генеральной Ассамблеи
Джон БАРКЕР

© OIV 2025

ВВЕДЕНИЕ

Использование штаммов *Saccharomyces cerevisiae* с выбранными свойствами играет ключевую роль в получении вина с требуемыми конечными характеристиками. Первым шагом на пути к получению дрожжевых разводок *S. cerevisiae* является клональная селекция на основе определения энологических характеристик винных штаммов *S. cerevisiae*, осуществляемого посредством оценки нескольких фенотипических характеристик путем сбраживания искусственных сред или виноградных сусел в лабораторных условиях. Полученные естественным путем виноградные сусла считаются более пригодными для определения достоверных характеристик винных дрожжей, однако непостоянство их химического состава влияет на результат такого определения, затрудняя сравнение различных штаммов *S. cerevisiae*, анализируемых в различных лабораториях или в одной лаборатории в разное время. Помимо этого, результаты могут в значительной степени зависеть от условий, в которых проводились эксперименты со сбраживанием.

СФЕРА ПРИМЕНЕНИЯ

В этом приложении в таблице 1 представлен прошедший валидацию стандартизованный протокол оценки свойств ферментации и метаболических свойств винных штаммов *S. cerevisiae* в искусственной среде, позволяющий проводить прямое объективное сравнение экспериментальных данных, полученных при оценке характеристик винных дрожжей в разных лабораториях.

Таблица 1. Протокол стандартизации экспериментов со сбраживанием искусственного сусла

Этап	Методика
Источник штамма дрожжей	При необходимости, используют активные сухие дрожжи из одной партии после регидратации. При доступности других источников, жидкий инокулят готовят следующим образом: 100 мкл материнской культуры высевают в 5 мл свежей среды и инкубируют в течение 12 часов, повторяя три раза (т.е. для стандартизации инокулята эту операцию повторяют трижды).

Сертификат соответствия Кишинёв, 20 июня 2025
Генеральный директор OIV
Секретарь Генеральной Ассамблеи
Джон БАРКЕР

© OIV 2025

Приготовление искусственного сусла	Состав искусственного сусла указан в таблице 1 Резолюции OIV-OENO 370-2012.
Розлив искусственного сусла	В конические колбы объемом 500 мл с клапанами Muller наливают 350 мл искусственного сусла. Для испытаний используются три указанные колбы (три независимых эксперимента).
Регидратация дрожжей	Регидратация активных сухих дрожжей проводится согласно методике, описанной в Резолюции OIV/OENO 329/2009: • в стерильных условиях взвешивают 1 г активных сухих дрожжей; • регидратируют в 100 мл воды при температуре 36–40 °C в стерильных условиях; • в течение пяти минут медленно перемешивают раствор палочкой или магнитной мешалкой; • в течение 20 минут выдерживают раствор при температуре 36–40 °C; • в течение пяти минут повторно перемешивают раствор при комнатной температуре; • в стерильных условиях отбирают 10 мл раствора и производят подсчет жизнеспособных дрожжевых клеток в счетной камере Тома с использованием 0,1%-ного (масс./об.) раствора метиленового синего
Инокуляция штамма дрожжей	Регидратированные дрожжи или жидкую культуру после предварительного культивирования инокулируют в искусственное сусло в количестве, необходимом для получения суспензии жизнеспособных клеток с плотностью $2 \cdot 10^6$ клеток/мл
Условия брожения	Конические колбы, закрытые клапанами Muller (заполненными серной кислотой) инкубируют без перемешивания в течение 15 суток при 25 °C или 17 °C для красного, белого и розового вина, соответственно
Контроль брожения	Раз в сутки взвешивают каждую колбу для определения потери массы. Перед взвешиванием встряхивают колбу в руках в течение одной минуты
Подготовка образцов для анализов	После завершения брожения выполняют центрифугирование содержимого колб при 3000 × g в течение пяти минут при комнатной температуре и отделяют клетки от надосадочной жидкости

Сертификат соответствия Кишинёв, 20 июня 2025
Генеральный директор OIV
Секретарь Генеральной Ассамблеи
Джон БАРКЕР

© OIV 2025

Химические анализы	1. Химические анализы полученного вина проводят после завершения спиртового брожения (остаточное содержание сахара < 2 г/л). 2. В ходе анализов определяют следующие показатели: содержание этанола, глюкозы, фруктозы, глицерина и уксусной кислоты, а также концентрацию ацетальдегида, 1-пропанола, 2-метил-1-бутанола, этилацетата, 2-метил-1-пропанола, 3-метил-1-бутанола. 3. Количество образовавшихся продуктов брожения (этанол, глицерин, уксусная кислота) стандартизуют путем расчета количества продуктов брожения на единицу потребленного сахара. 4. 4Анализ выполняется официально принятыми OIV методами исследований в сертифицированной лаборатории.

ПРИНЦИП ПРОТОКОЛА

Протокол включает несколько этапов, и для каждого этапа должны быть выполнены подробные процедуры с целью определения стандартных условий, в которых следует определять энологические характеристики штаммов *S. cerevisiae*. Валидация данного протокола осуществлялась посредством межлабораторных сравнительных экспериментов по сбраживанию искусственной среды и виноградных сусел, а также путем проверки полученных результатов на повторяемость, воспроизводимость и статистическую достоверность. Для проверки повторяемости проводились эксперименты в стандартных условиях (с расчетом количества ферментационных продуктов на единицу потребленного сахара) и тщательно обрабатывались данные, в том числе с использованием сочетания непараметрических критериев и кластерных подходов.

Список литературы

1. Romano P. *et al.*, (2022) Validation of a standard protocol to assess the fermentative and chemical properties of *Saccharomyces cerevisiae* wine strains. *Frontiers in Microbiology,* 13: 830277. doi: 10.3389/fmicb.2022.830277

Сертификат соответствия Кишинёв, 20 июня 2025
Генеральный директор OIV
Секретарь Генеральной Ассамблеи
Джон БАРКЕР

© OIV 2025