

葡萄酒生境对乳酸菌代谢的影响

屈慧鸽^{1*} 程显好¹ 邓军哲² 冯志彬¹

(1. 鲁东大学生命科学学院 烟台 264025)

(2. 北京佐佳庄园葡萄酒公司 北京 100176)

摘要: 在葡萄酒酿造中, 为了提高其稳定性及质量, 经常利用乳酸菌进行苹果酸-乳酸发酵。苹果酸-乳酸发酵一般自发进行, 也可以接种乳酸菌。本文从酿酒酵母与乳酸菌的交互作用及酚类物质和酿酒工艺对乳酸菌的作用等方面进行了综述, 讨论了葡萄酒生态环境对乳酸菌代谢的影响, 为苹果酸-乳酸发酵的有效控制提供一些参考。

关键词: 乳酸菌, 苹果酸-乳酸发酵, 酿酒酵母, 酚类物质, 葡萄酒

Effect of Wine Environment on the Metabolism of *Oenococcus oeni*

QU Hui-Ge^{1*} CHENG Xian-Hao¹ DENG Jun-Zhe² FENG Zhi-Bin¹

(1. College of Life Science, Ludong University, Yantai 264025)

(2. Beijing Zuoja Chateau Winery Co. Ltd., Beijing 100176)

Abstract: Malolactic fermentation (MLF) is performed principally by *Oenococcus oeni* in order to improve the stability and quality for winemaking. MLF usually occurs either spontaneously or after inoculation with selected bacteria. The functions of *Saccharomyces cerevisiae*, phenolic compounds and winetechnics to *Oenococcus oeni* were summarized in this review. The effects of wine physic-chemically harsh conditions on the Metabolism of *Oenococcus oeni* were discussed. We look forward to the information being the references for MLF controlling.

Keywords: *Oenococcus oeni*, Malolactic fermentation (MLF), *Saccharomyces cerevisiae*, Phenolic compounds, Wine

为了提高葡萄酒的稳定性及质量, 在葡萄酒酿造中经常要进行苹果酸-乳酸发酵(MLF)。能引起MLF的乳酸菌(Malolactic Bacteria, MLB)分别属于明串珠菌属(*Leuconostoc*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、片球菌属(*Pediococcus*)和链球菌属(*Streptococcus*)。它们都能将葡萄汁中的L-苹果酸转变为L-乳酸。按照乳酸菌对糖代谢途径和产物种类差异, 可以把它们分为同型乳酸发酵细菌和异型乳酸发酵细菌。

同型乳酸发酵是指葡萄糖经乳酸菌代谢后产生乳酸和CO₂的发酵; 异型乳酸发酵是指葡萄糖经乳酸菌代谢后产生乳酸、乙醇(或乙酸)和CO₂等多种产物的发酵。由于葡萄酒中的乳酸菌多为异型乳酸发酵细菌, 因此经MLF后, 葡萄酒中的挥发酸含量都有不同程度的上升。

一般酸度低的葡萄酒没必要进行MLF, 否则对葡萄酒的微生物稳定性和感官质量都不利。大部分

* 通讯作者: ✉ qhge@163.com

收稿日期: 2008-04-16; 接受日期: 2008-06-23

红葡萄酒、部分白葡萄酒及起泡葡萄酒一般要进行MLF, 这样不仅可以降低酸度, 还能提高葡萄酒的微生物稳定性, 改善风味, 增加香气。

在葡萄酒酿造中, 酒类酒球菌(*Oenococcus oeni*, 以前叫酒明串珠菌*Leuconostoc oenos*)是MLF的主要菌群, 当其浓度在酒精发酵结束后为 10^6 个/mL以上时, 一般会自然触发MLF。但葡萄酒的生态环境并不利于乳酸菌的生长, 如低pH、高乙醇浓度、加入 SO_2 、酵母菌产生的其它代谢产物等均有一定的影响, 因此人们通过各种各样的方法来诱导MLF, 如加入碳酸盐提高pH、酒精发酵结束后不补充 SO_2 等, 有的接种筛选的MLB, 但经常失败, 不能正常启动MLF, 原因可能是有些菌种不能适应葡萄酒的生态环境^[1]。因此筛选优良乳酸菌及发酵剂诱发MLF, 研究酿酒酵母产生的代谢物对乳酸菌的作用及葡萄汁组分和酿酒技术等对乳酸菌的作用效果已成为热点问题。本文综述了葡萄酒生态环境对乳酸菌代谢的影响, 以为葡萄酒酿造及优良菌种的选育提供一些参考。

1 酿酒酵母与乳酸菌的交互作用

酿酒酵母和乳酸菌都是葡萄酒酿造中的重要微生物, 酿酒酵母主要进行酒精发酵, 乳酸菌进行MLF。

1.1 酿酒酵母对乳酸菌代谢的抑制作用

酿酒酵母对乳酸菌的影响主要表现为抑制乳酸菌的生长及MLF, 已明确酒精发酵过程中产生的乙醇是这种抑制现象的主要因素。一般4%的乙醇含量就可抑制乳酸菌的生长速率, 但最终对MLF影响不大, 葡萄酒的苹果酸含量能降低95%^[2]。

酿酒酵母的代谢产物, 如中链脂肪酸和一些蛋白质也可能抑制MLF。中链脂肪酸如奎酸能同时抑制酵母菌和乳酸菌的生长, 使它们产生拮抗作用, 中链脂肪酸还能降低苹果酸转化为乳酸的代谢能力, 降低程度取决于脂肪酸的种类和浓度。往葡萄汁中添加5 mg/L~10 mg/L的奎酸就能抑制乳酸菌的生长和MLF, 添加30 mg/L能使乳酸菌致死, MLF完全被抑制; 但同时添加奎酸和十二碳脂肪酸, 浓度分别低于12.5 mg/L和2.5 mg/L时, 可以提高MLF能力, 随着浓度的增加, MLF受到抑制; 分别添加奎酸(23 mg/L), 十二碳酸(2.5 mg/L)或棕榈酸(2.3 mg/L)均对MLF有抑制作用, 同时添加己酸、辛

酸、奎酸对乳酸菌的生长和MLF比单独添加抑制作用更强^[2-7], 关于其机理未见报道。

中链脂肪酸影响细菌的生长速率和MLF能力, 除了与其浓度有关外, 还与基质的pH有关, 例如在pH 3.0时, 奎酸对乳酸菌的毒性比pH 6.0时大^[2]。中链脂肪酸, 如奎酸和十二碳脂肪酸与乙醇对MLF的抑制具有协同增效作用, 而且发现脂肪酸与低pH或乙醇主要协同抑制乳酸菌的ATPase酶活性, 进而导致乳酸菌的发酵性能下降^[8]。

总之, 乙醇和脂肪酸是研究最普遍的乳酸菌和MLF抑制物, 不同株系其抑制特性差别很大。有些酿酒酵母如*Saccharomyces cerevisiae* R107, 具有抗菌活性, 能抑制乳酸菌和MLF, 目前已从中分离出两个不同的抗菌因子, 经鉴定为酸性蛋白质^[9]。还有报道, 用耐低温酵母发酵的葡萄酒对MLF的抗性要比嗜热酵母强, 这可能与低温酵母生成高浓度的琥珀酸和 β -苯基乙酸有关^[10]。

营养缺乏也可能是乳酸菌和MLF受到抑制的一个重要因素。一般认为酒精发酵结束后, 有些营养物质如维生素、氨基酸可能缺乏, 导致乳酸菌生长受到抑制。不同酵母抑制程度不同, 如用贝酵母(*S. bayanus*)发酵的葡萄酒比用酿酒酵母(*S. cerevisiae*)更容易抑制MLF, 原因可能是贝酵母在酒精发酵结束后大部分还存活, 耗竭大量营养物质, 造成乳酸菌营养缺乏, 但发现酵母死亡动力学与乳酸菌生长动力学之间没有显著的相关性^[11]。

1.2 酿酒酵母对乳酸菌代谢的促进作用

关于酿酒酵母对乳酸菌的促进作用报道很少。一般认为酵母自溶后释放的物质, 尤其是含氮化合物对乳酸菌生长起一定的促进作用, 因此在葡萄酒酿造时不分离酵母泥, 通过酵母的自溶或被动裂解以补充氨基酸和其它营养, 促进乳酸菌的生长和MLF^[12]。

葡萄酒在酵母泥上成熟期间, 酵母的自溶能力明显影响含氮化合物的浓度, 包括氨基酸、缩氨酸、蛋白质以及其它大分子物质如葡聚糖、吡喃甘露糖等, 其释放浓度与酵母菌种类及酿酒工艺有关^[13,14]。将乳酸菌在合成培养基上培养, 发现缩氨酸的分子量<1000 D时对乳酸菌的增殖有一定的促进作用; 当蛋白质分子量>5000 D时对乳酸菌生长的影响没有缩氨酸明显。酵母泥中的大分子物质通过乙醇提取后, 添加在合成培养基上, 可以缩短乳酸菌的迟滞期, 增加乳酸菌的数量, 原因可能是: 酵

母大分子物质能诱导乳酸菌中氨基肽酶的合成,使氨基酸及小分子缩氨酸含量增加,从而促进乳酸菌的生长;另外酒精发酵或酵母自溶产生的吡喃甘露糖可以吸收中链脂肪酸,解除其对乳酸菌的毒害作用,还可能增加乳酸菌的 α -葡萄糖苷酶、 β -葡萄糖苷酶、*N*-乙酰基 β -葡萄糖脱水酶及肽酶的活性,使培养基的营养丰富,间接地促进乳酸菌的生长^[15]。

酿酒酵母的生理特性如蛋白酶活性、大分子物质生成及自溶量等,都可能对乳酸菌的生长及 MLF 起促进作用,因此添加酵母提取物对乳酸菌的生长和代谢活性有一定的促进作用,但关于这方面研究的资料很少。

1.3 乳酸菌对酿酒酵母代谢的抑制作用

在葡萄酒酿造中,乳酸菌对酿酒酵母的抑制作用主要发生在酒精发酵结束之前,表现为抑制酒精发酵速率,导致乙酸生成,使葡萄酒质量下降。通过纯培养和混合培养酿酒酵母和乳酸菌发现,乳酸菌对酵母生长没有影响,但使酵母死亡速率增加,原因可能是乳酸菌代谢产物抑制所致,或者是酵母生长必须的某种营养耗竭或生长因子缺乏等所致^[16-18]。酒精发酵受到乳酸菌的抑制,一般认为乙酸形成是主要的影响因素,但并不是唯一的因素,因为生成的乙酸只是部分地抑制酵母生长,可能还存在其它抑制剂。将啤酒片球菌(*Pediococcus cerevisiae*)和酿酒酵母(*S. cerevisiae*)混合培养发现,细菌的代谢产物丙酸盐和乙酸盐能减缓酵母菌的生长和酒精生成,使酵母细胞壁的 β -1,3-葡聚糖酶活性增加,能有效地溶解酵母菌,另外乳酸菌产生的细菌素也可能对酿酒酵母产生抑制作用^[19],但也有人发现,在酒精发酵结束前接种乳酸菌并不影响酒精发酵^[20],其实这些研究结果的差异主要与酵母菌-细菌的兼容性有关^[21],因此筛选优良的酿酒酵母和乳酸菌非常重要。

2 酚类物质与乳酸菌的代谢关系

酚类物质是葡萄和葡萄酒中的天然成分,一般白葡萄酒的总酚含量大约为 150 mg/L~400 mg/L,新的红葡萄酒含量为 900 mg/L~1400 mg/L。

2.1 葡萄及葡萄酒中的酚类物质

葡萄汁中的酚类成分很多,如羟基苯甲酸、羟基苯乙酸、二苯乙烯、黄烷醇、黄酮醇、花青素及单宁等,这些化合物结构不同,直接影响葡萄酒的

感官特性,尤其是颜色和口感,同时也是保健成分,具有治疗及预防心脑血管疾病的作用。

葡萄酒中酚类化合物的含量主要取决于葡萄品种、采收质量、土壤、气候及其生态环境等因素。在葡萄酒酿造中,酿酒酵母的接种时间和温度、浸渍发酵控制、酶的添加、SO₂含量及压榨等均影响酚类化合物的浸出,MLF也影响酚类化合物的组成及含量。

2.2 酚类化合物对乳酸菌代谢的影响

大量研究表明,在葡萄酒中接种不同的乳酸菌,羟基苯乙烯酸会导致挥发性苯(4-乙基愈创木酚和4-乙基苯酚)的形成^[22-26]。在含有与葡萄酒相似浓度的五倍子酸和儿茶酸培养基上培养希氏乳杆菌(*Lact. hilgardii*),能促进其生长,菌群数量增加,原因是这种乳酸菌具有代谢该化合物的能力^[27];但随着这些化合物浓度的提高,对细菌生长又产生毒害作用,酒类酒球菌(*Oenococcus oeni*)比希氏乳杆菌(*Lact. hilgardii*)更敏感,容易失活^[28]。

游离花色苷也影响细菌的生长,阿魏酸比香豆素效果更明显,但这些酸的酯及非酚酸、奎宁酸不影响植物乳杆菌(*Lact. plantarum*)的生长;当这些化合物的浓度为 100 mg/L~250 mg/L时,对细菌的生长有利;当浓度超过 500 mg/L时,对细菌就有毒害作用^[29]。关于其作用机制还不清楚,有的人认为,这些化合物可以嵌入细菌细胞膜的蛋白质中,使K⁺、谷氨酸及细胞内的RNA等生成能力下降,改变脂肪酸的组成^[30];也有人认为,酚类物质吸附在细胞壁上,改变了细胞的外部环境,而且改变了细胞内部有关酶的代谢机制,推测单宁就是改变了细胞代谢酶及功能性蛋白质,从而影响乳酸菌的生长^[28]。

正因为高浓度的酚类物质对细菌有毒害作用,因此最近几年人们研究从葡萄种子及葡萄酒中提取酚类化合物作为天然抗菌剂应用于食品中,其主要成分是酚酸,对细菌的抗性比酵母菌要强^[31]。

3 酿酒工艺对乳酸菌代谢的影响

不同的酿酒工艺对葡萄汁组分及酵母代谢产物的影响很大,进而影响酵母菌-乳酸菌的交互作用,影响乳酸菌的生长与 MLF。

3.1 澄清度对乳酸菌代谢的影响

高澄清度的葡萄汁,酒精发酵迟缓,但乳酸菌生长和MLF比较快速。往澄清葡萄汁中添加葡萄固

形物,能使酒精发酵加快,而乳酸菌的生长和MLF减缓。在合成培养基上,往葡萄汁中分别添加固形物和酵母大分子物质,都能使乳酸菌迟滞期缩短,而且会使乳酸菌增殖速度加快,原因可能是大分子物质能吸收脂肪酸,进而解除对乳酸菌的毒害作用^[7]。

3.2 SO₂对乳酸菌代谢的影响

SO₂是一种选择性抗菌剂,对细菌的抗性最明显,也是抗氧化剂,因此在葡萄酒酿造中必不可少。添加SO₂对乳酸菌的抑制作用加剧,甚至在酒精发酵结束后抑制MLF,高剂量的SO₂会使葡萄酒产生不良气味,导致硫化氢及硫醇的生成,尤其对人类健康有一定的危害。因此根据葡萄酒种类的不同,OIV规定了红葡萄酒的总SO₂添加量不能超过160 mg/L,白葡萄酒不能超过210 mg/L,而且我国《食品标签法》规定SO₂必须明确标注。在葡萄酒酿造中目前还没有很好的SO₂替代品,因此寻找对健康无害的抗菌剂替代或辅助SO₂的使用,降低葡萄酒中SO₂的含量已成为目前的研究热点。

据报道^[32],二甲基碳酸氢钠(DMDC)能够抑制酒精发酵及酵母菌的繁殖,对乳酸菌也表现类似的结果,另外还有一些天然抗菌素,如溶解酵素、缩氨酸及细菌素等也抑制乳酸菌的生长。溶解酵素已被批准可以作为食品添加剂,优点是用量少,但价格昂贵,而且还可能引起IgE-免疫反应,因此在葡萄酒中使用还需慎重;尼生素已商业化生产,尽管已被证实可以有效地抑制葡萄酒中有害微生物的生长,但仍然没有得到权威认证可以在葡萄酒中添加;还有许多细菌素也被证实可以控制葡萄酒中乳酸菌的生长,但其功效、作用机制、尤其是在葡萄酒中的稳定性仍然在研究中。

3.3 其它工艺对乳酸菌代谢的影响

乳酸菌的接种时间对乳酸菌生长及MLF也有影响。在酒精发酵之前接种乳酸菌一般不会启动MLF,相反在酒精发酵期间或结束后接种,使MLF进行加快。一般认为当葡萄汁的糖度降到5° Brix时接种效果较好,因为这时SO₂和乙醇含量都较低^[21];同时接种酵母菌和乳酸菌目前还存在一定的危险,如容易感染杂菌,使酒精发酵迟缓,产生异味等^[33]。

在酒泥上陈酿葡萄酒,可以抗氧化,增加香气,使口感更加丰富。然而,根据酵母株系的不同,在酒泥上陈酿也可能延缓乳酸菌的生长,其原因是酵母菌产生了抑制物质^[34]。酒精发酵后期添加酵母提取

物,可以解除奎酸对MLF的抑制,对MLF有促进作用;但在葡萄汁中添加酵母提取物,可以促进酒精发酵,MLF延迟^[6,7]。因此,关于酵母提取物的影响效果及添加时间还有待于更深入的研究。

4 展望

乳酸菌及MLF在葡萄酒酿造中非常重要,因此我们必须考虑葡萄酒的pH、SO₂含量、温度、乙醇及酚类物质含量等葡萄酒生态环境的综合影响。酒类酒球菌(*Oenococcus oeni*)是酒精发酵结束后葡萄酒中的主要细菌种类,该菌较能适应葡萄酒的低pH和高乙醇浓度,因此是MLF的主要菌种。酚类化合物对乳酸菌的抗菌效果,涉及到葡萄酒的其它成分,如蛋白质、糖及氧化剂等,因此酵母菌-乳酸菌-葡萄汁组分三者之间的交互作用是下一步研究的热点,另外优良乳酸菌及酵母菌的选育研究更是重中之重。

参考文献

- [1] Alexandre H, Costello PJ, Remize F, et al. *Saccharomyces cerevisiae*-*Oenococcus oeni* interactions in wine: current knowledge and perspectives. *International Journal of Food Microbiol*, 2004, **93**(2): 141-154.
- [2] Capucho I, San Romao MV. Effect of ethanol and fatty acids on malolactic activity of *Leuconostoc oenos*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1994, **42**: 391-395.
- [3] Davis CR, Wibowo D, Fleet GH, et al. Properties of wine lactic acid bacteria: their potential enological significance. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1988, **39**: 137-142.
- [4] Delmas F, Pierre F, Coucheny F, et al. Biochemical and physiological studies of the small heat shock protein Lo18 from the lactic acid bacterium *Oenococcus oeni*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2001, **3**: 601-610.
- [5] Dick KJ, Molan PC, Eschenbruch R. The isolation from *Saccharomyces cerevisiae* of two antibacterial cationic proteins that inhibit malolactic bacteria. *Vitis*, 1992, **31**: 105-116.
- [6] Edwards CG, Beelman RB. Inhibition of the malolactic bacterium *Leuconostoc oenos* (PSU-1) by decanoic acid and subsequent removal of the inhibition by yeast ghosts. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1987, **38**: 239-242.
- [7] Edwards CG, Beelman RB, Bartley CE, et al. Production of decanoic acid and other volatile compounds and the growth of yeast and malolactic bacteria during vinification. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1990, **41**: 48-56.
- [8] Carreté R, Teresa Vidal M, Bordons A, et al. Inhibitory

- effect of sulfur dioxide and other stress compounds in wine on the ATPase activity of *Oenococcus oeni*. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, **21**: 155–159.
- [9] Dick KJ, Molan PC, Eschenbruch R. The isolation from *Saccharomyces cerevisiae* of two antibacterial cationic proteins that inhibit malolactic bacteria. *Vitis*, 1992, **31**: 105–116.
- [10] Caridi A, Corte V. Inhibition of malolactic fermentation by cryotolerant yeasts. *Biotechnology Letters*, 1997, **19**: 723–726.
- [11] Nygaard M, Prahil C. Compatibility between strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Leuconostoc oenos* as an important factor for successful malolactic fermentation. In: Proceedings of the fourth international symposium on cool-climate viticulture and oenology, 16–20 July. NY: Rochester, 1996, pp.103–106.
- [12] Martínez-Rodríguez AJ, Carrascosa AV, Martín-Alvarez PJ, et al. Influence of the yeast strain on the changes of the amino acids, peptides and proteins during sparkling wine production by the traditional method. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2002, **29**: 314–322.
- [13] Martínez-Rodríguez AJ, Carrascosa AV, Polo MC. Release of nitrogen compounds to the extracellular medium by three strains of *Saccharomyces cerevisiae* during induced autolysis in a model wine system. *International Journal of Food Microbiology*, 2001, **68**: 155–160.
- [14] Capucho I, San Romao MV. Effect of ethanol and fatty acids on malolactic activity of *Leuconostoc oenos*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1994, **42**: 391–395.
- [15] Guilloux-Benatier M, Chassagne D. Comparison of components released by fermented or active dried yeasts after aging on lees in a model wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, **51**(3): 746–751.
- [16] King SW, Beelman RB. Metabolic interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and *Leuconostoc oenos* in a model grape juice/wine system. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1986, **37**: 53–60.
- [17] Huang YC, Edwards CG, Peterson JC, et al. Relationship between sluggish fermentations and the antagonism of yeast by lactic acid bacteria. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1996, **47**: 1–10.
- [18] Edwards CG, Haag KM, Collins MD. A spoilage organism associated with grape juice fermentations. *Journal of Applied Bacteriology*, 1998, **84**: 698–702.
- [19] Yurdugul S, Bozoglu F. Studies on an inhibitor produced by lactic acid bacteria of wines on the control of malolactic fermentation. *European Food Research and Technology*, 2002, **215**(1): 38–41.
- [20] Fleet GH, Lafon-Lafourcade S, Ribereau-Gayon P. Evolution of yeasts and lactic acid bacteria during fermentation and storage of Bordeaux wines. *Applied and Environmental Microbiology*, 1984, **48**: 1034–1038.
- [21] Krieger S. Starter cultures for the malolactic fermentation-time of inoculation. In: Proceedings of the 13th international oenology symposium, 9–12 June 2002. Montpellier, France, International Association of Oenology, Management and Wine Marketing, 2002, pp.77–91.
- [22] Cavin JF, Andioc V, Etievant PX, et al. Ability of wine lactic acid bacteria to metabolize phenol carboxylic acids. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1993, **44**: 76–80.
- [23] Barthelmebs L, Diviès C, Cavin JF. Molecular characterization of the phenolic acid metabolism in the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **66**: 3368–3375.
- [24] Gury J, Barthelmebs L, Tran NP, et al. Cloning, deletion, and characterization of PadR, the transcriptional repressor of the phenolic acid decarboxylase-encoding padA gene of *Lactobacillus plantarum*. *Applied Environmental Microbiology*, 2004, **70**: 2146–2153.
- [25] Hernández T, Estrella I, Carlavilla D, et al. Phenolic compounds in red wine subjected to industrial malolactic fermentation and ageing on lees. *Analitica Chimica Acta*, 2006, **56**(3): 116–125.
- [26] Hernández T, Estrella I, Pérez-Gordo M, et al. Contribution of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* to the non anthocyanin phenolic composition of red wine during malolactic fermentation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2007, **55**: 5260–5266.
- [27] Alberto MR, Farias ME, Manca MC. Effect of gallic acid and catechin on *Lactobacillus hilgardii* 5w growth and metabolism of organic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2001, **49**: 4359–4363.
- [28] Campos FM, Couto JA, Hogg TA. Influence of phenolic acids on growth and inactivation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*. *Journal of Applied Microbiology*, 2003, **94**: 167–174.
- [29] Stead D. The effect of hydroxycinnamic acids on the growth of wine-spoilage lactic acid bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 1993, **75**: 135–141.
- [30] Rozès N, Perez C. Effects of phenolic compounds on the growth and the fatty acid composition of *Lactobacillus plantarum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998, **49**: 108–111.
- [31] Rodríguez-Vaquero MJ, Alberto MR, MancadeNadra MC. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 2007, **18**: 93–101.
- [32] Henick-Kling T, Park YH. Consideration for the use of yeast and bacterial starter cultures: SO₂ and timing of inoculation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1994, **45**: 464–469.
- [33] Guilloux-Benatier M, Pageault O, Man A, et al. Lysis of yeast cells by *Oenococcus oeni*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2000, **25**: 193–197.
- [34] Patynowski RJ, Jiranek V, Markides AJ. Yeast viability during fermentation and sur lie ageing of a defined medium and subsequent growth of *Oenococcus oeni*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2002, **8**: 62–69.