

## SACCHAROMYCES DIŞINDAKİ MAYALARIN ŞARAP AROMASINA ETKİLERİ

Simel Baęder, Filiz Özçelik\*

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendislięi Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / Received: 25.02.2008

Düzeltilerek geliş tarihi / Received in revised form: 05.07.2008

Kabul tarihi / Accepted: 12.07.2008

### Özet

*S. cerevisiae* şarap fermantasyonundan sorumlu asıl şarap mayası olmakla birlikte, non-*Saccharomyces* olarak adlandırılan, *Saccharomyces* cinsi dışındaki mayalar gliserin, yüksek alkoller, esterler gibi ikincil metabolitler üreterek şarap aromasına katkıda bulunmaktadır. *S. cerevisiae*'nin aksine, *Saccharomyces* dışındaki mayalar glikozidazlar, esterazlar, lipazlar,  $\beta$ -glukozidazlar, proteazlar gibi enzimler üretme yeteneğindedirler. Bu enzimler üzümdeki öncül aroma maddeleri ile interaksiyona girerek, şarap aromasında önemli rol oynayan aktif aroma bileşikleri oluştururlar.

Şarap fermantasyonu boyunca *Saccharomyces* dışındaki maya türlerinin gelişimi fermantasyonun ilk üç günü ile sınırlı olup, sonra sayıları hızla azalır. Asıl şarap mayası olan *S. cerevisiae* ortama hâkim olur ve fermantasyonu tamamlar. *Saccharomyces* dışındaki mayalar enolojik koşullarda rekabet edemediklerinden, şarap üretiminde yüksek fermantasyon gücüne sahip *S. cerevisiae* ile birlikte karışık starter kültür olarak kullanılabilirler. Bu yolla, şarapların aromatik yönden zenginleştirilmeleri sağlanmış olur.

**Anahtar kelimeler:** Non-*Saccharomyces* mayalar, şarap mayası, şarap aroması.

## EFFECTS OF NON-SACCHAROMYCES YEASTS ON WINE AROMA

### Abstract

Although *S. cerevisiae* is major wine yeast responsible for wine fermentation, the yeasts other than genus of *Saccharomyces*, which are called non-*Saccharomyces*, contribute to wine aroma producing secondary metabolites such as glycerol, higher alcohols and esters. Contrary to *S. cerevisiae*, the non-*Saccharomyces* yeasts are able to produce and release several enzymes such as esterases, glycosidases, lipases,  $\beta$ -glycosidases, proteases to the medium where they can interact with grape precursor compounds to produce aroma active compounds and thus play an important role in wine aroma.

During the wine fermentation, the growth of non-*Saccharomyces* yeast species is limited to the first 3 days of fermentation and then suddenly they die off. The major wine yeast, *S. cerevisiae* dominate and complete the fermentation. Since they are not competitive in oenological conditions, non-*Saccharomyces* wine yeasts can be used as starter cultures in wine production together with strongly fermentative *S. cerevisiae* strains to ensure the completion of fermentation. In this way, the enrichment of wine aroma is achieved by combined action of *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeasts.

**Keywords:** Non-*Saccharomyces* yeasts, wine yeast, wine aroma.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ozcelik@eng.ankara.edu.tr, ☎ (+90) 312 596 1704, 📠 (+90) 312 317 8711

## GİRİŞ

Şaraplarda en önemli kalite unsurlarından birisi aromadır. Çeşitli uçucu maddelerden oluşan aroma, şarabın duyuşal özelliklerini belirleyen önemli bir kalite ölçütüdür. Bu uçucu maddelerin en önemli özellikleri, çok düşük konsantrasyonlarda dahi algılanmaları ve kalite üzerinde belirleyici rol oynamalarıdır (1).

Üzüm şekerlerinin şarap mayaları tarafından fermentasyonu sonucu oluşan temel ürünler; etil alkol ve CO<sub>2</sub>'dir. Maya metabolizmasının temel uçucu ürünleri olan etil alkol ve CO<sub>2</sub>'in şarap aromasına katkısı oldukça düşüktür. Bu ürünlere ek olarak, mayalar alkol fermentasyonu boyunca ikincil ürün olarak çeşitli aroma bileşikleri üretirler. Fermentasyon aromasını oluşturan temel bileşikler; yüksek alkoller, esterler, organik asitler ve karbonil bileşikleridir. Bu uçucu bileşiklerin düşük miktarları, algılanma eşik değerlerine bağlı olarak şarap kalitesine pozitif yönde katkıda bulunurlar (2-4).

*Saccharomyces cerevisiae* alkol fermentasyonundan sorumlu asıl maya türü olmasına karşın, şarap fermentasyonunda *Saccharomyces* dışındaki maya türlerinin de yer alması, şarap aromasına katkıda bulunan ikincil metabolitlerin oluşumu açısından önem taşımaktadır (5).

*S. cerevisiae* şarap mayaları uzun yıllardan beri incelenmekte, ancak *S. cerevisiae* dışındaki endojen mayaların gelişmeleri, biyokimyasal özellikleri ve şarap aroması üzerindeki önemleri çok fazla bilinmemektedir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar, *Saccharomyces* dışındaki şarap mayalarının şarap kalitesine etkisi üzerinde yoğunlaşmıştır. Örneğin; *Saccharomyces* dışındaki mayaların esterler ve şarapta istenen diğer uçucu bileşiklerin oluşumuna katkıda buldukları kanıtlanmıştır (6).

## MAYA ÇEŞİTLİLİĞİNİN ŞARAP AROMASINA KATKISI

Fermentasyon prosesi boyunca gelişen çeşitli maya türleri, başta şekerler olmak üzere üzüm şırası bileşenlerini metabolize ederek, uçucu ve uçucu olmayan son ürünleri oluşturmakta ve bu maya türleri şarabın aroma karakteristiğine pozitif katkı sağlamaktadırlar. Mayaların şarap aromasına katkısı; üzüm suyu bileşenlerini kullanarak, üzümde bulunan aroma bileşiklerinin ekstrakte edilmesine katkıda bulunan etanol ve diğer çözücülerini üreterek, nötral üzüm bileşenlerini aktif aroma bileşiklerine dö-

nüştüren enzimleri üreterek, aroma yönünden aktif ikincil metabolitler (asitler, alkoller, esterler, polioller, aldehitler, ketonlar, uçucu sülfür bileşikleri) üreterek, ölü maya hücrelerinin otolitik parçalanması gibi çeşitli yollarla gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonlar, özellikle ikincil metabolitlerin üretimi, türlere hatta suşlara göre farklılık gösterdiği için, mayaların şarap aromasının özgünlüğüne ve özelliğine katkısı maya türüne bağlı olarak değişmektedir (7).

Farklı maya türleri kullanılarak üretilen şarapların kompozisyonları arasındaki farklılık, nitel değil niceldir. Fermentasyon ürünlerinin genellikle benzer olmasına karşın, bileşiklerin miktarları maya türleri arasında farklılık göstermektedir. Maya popülasyonunun çeşitliliği ve çeşitler arasındaki sayısal oran, şarabın duyuşal karakterini büyük oranda değiştirmektedir. Her bir şarap mayası türünün gelişimi, spesifik metabolik aktivitesi ile karakterize edilmekte ve bu da şarabın son ürün aroma bileşiklerinin konsantrasyonunu belirlemektedir (4).

Şaraptaki uçucu bileşiklerin konsantrasyonu, çeşitli temel ve öncül bileşikler sağlayan üzüm şırası ve son uçucu bileşiklerin oluşumuna katkıda bulunan mayalar tarafından belirlenmektedir (8). Şarapta binden fazla uçucu bileşik tanımlanmış olup, bunların dörtyüzden fazlası fermentasyon süresince mayalar tarafından üretilmektedir (4).

Şarap aroması, oluşumuna katkıda bulunan çeşitli bileşiklerin kaynağına göre, 4 gruba ayrılmaktadır;

- Üzümde gelen aroma maddeleri (birincil aroma, çeşit aroması),
- Üzümün şıraya işlenmesi sırasında uygulanan teknolojik işlemlerden (ezme, sıkma, maserasyon) kaynaklanan aroma maddeleri (fermentasyon öncesi aroma),
- Etil alkol ve malolaktik fermentasyon sırasında oluşan aroma maddeleri (fermentasyon aroması),
- Şarabın olgunlaşması sırasında oluşan aroma maddeleri (olgunluk aroması veya buke) (4, 9, 10).

Birçok modern şaraphane, şarap üretiminde seçilmiş *S. cerevisiae* suşlarını kullanmakta ve diğer yabancı mayaların gelişimini ise SO<sub>2</sub> kullanarak baskılamaktadır. Diğer yandan, bazı şarap üreticileri maya çeşitliliğinin kompleks aroma gelişimi için gerekli olduğunu göz önünde bulundurarak, üretimlerini spontan olarak sürdürmektedirler.

Şarabın kimyasal bileşimi ve dolaylı olarak aroması, fermantasyonun starter kullanılarak ya da spontan olarak gerçekleşip gerçekleşmemesine bağlıdır (8).

Starter kullanılmadan gerçekleştirilen spontan fermantasyonda, hem *Saccharomyces* hem de *Saccharomyces* dışındaki maya türleri gelişmektedir. Bu tip şaraplarda; maya çeşitliliğine bağlı olarak ve *Saccharomyces* dışındaki mayaların olumlu katkısı nedeniyle, kompleks ve karakteristik bir aroma elde edilir. Ancak; kontrolsüz fermantasyon koşullarına bağlı olarak, istenmeyen, bozulmaya sebep olan mayaların gelişimleri de söz konusu olabilmekte ve şarap kalitesi olumsuz etkilenebilmektedir. Spontan fermantasyonun aromaya ilişkin bir diğer avantajı da, düşük fermantasyon hızıdır. Böylece, fermantasyon ortamında sıcaklık hızla yükselmekte, uçucu aroma bileşiklerinin kaybı azalmakta ve aroma bileşenlerinin yoğunluğu artmaktadır. Starter kullanılan fermantasyonda ise, üzümün doğal florası olarak şırada bulunan mayaların gelişimi, şıraya SO<sub>2</sub> ilavesi ile baskılanmaktadır. Bu nedenle; fermantasyon süresince sadece *Saccharomyces* cinsi mayaların (starter kültür) gelişip ortama hâkim olmaları ile fermantasyon yönünden güvenli; ancak, zengin olmayan standart bir aromaya sahip şaraplar elde edilebilir (5, 12, 13).

## SACCHAROMYCES DIŞINDAKİ MAYALAR

Son yıllarda, şarap fermantasyonunda *S. cerevisiae* dışındaki mayalar, şarabın duyu kalitesini belirleyen gliserin, esterler, yüksek alkoller gibi ikincil fermantasyon bileşiklerini üretmeleri nedeniyle dikkat çekmeye başlamışlardır (2, 5, 14, 15).

Şarap fermantasyonlarında gelişebilen *Saccharomyces* dışındaki mayalar; *Hanseniaspora*, *Candida*, *Torulaspota*, *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Kloeckera*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces* cinsine ait maya türleridir. Alkol fermantasyonunun başlangıç evrelerinde, *Saccharomyces* dışındaki mayaların gelişimi baskındır. Ancak; etil alkol konsantrasyonunun yükselmesiyle birlikte, bu mayaların düşük etil alkol toleransları nedeniyle gelişmeleri yavaşlar. *Saccharomyces* dışındaki mayaların gelişmeleri, fermantasyonun ilk üç günü ile sınırlı olup, daha sonra sayıları hızla azalmaktadır. Yüksek fermantasyon gücüne sahip ve etil alkole dayanıklılığı en yüksek maya türü olan *S. cerevisiae*,

daha sonra ortama hakim olmakta ve fermantasyonu tamamlamaktadır. Düşük fermantasyon gücüne sahip olan *Saccharomyces* dışındaki mayalar, fermantasyonun başlangıç aşamalarında ikincil metabolitler üreterek, şarap aromasını geliştirmektedirler (5, 16).

Üzüm şirasının spontan fermantasyonunun düşük alkol toleranslı *Saccharomyces* dışındaki mayalar ile başlamasının nedeni, bu mayaların üzümün yüzeyinde baskın olmalarından kaynaklanmaktadır (17). Bu mayalar, fermantasyonun başlangıç evrelerinde toplam maya popülasyonunun %50-75'ini oluşturmaktadırlar. Üzümdeki *Saccharomyces* dışındaki mayaların konsantrasyonu, 10<sup>3</sup>-9.1x10<sup>5</sup> kob/mL iken, *Saccharomyces* cinsi mayaların konsantrasyonu 50-2.5x10<sup>5</sup> kob/mL'den azdır (12, 18).

Üzüm tanelerinin yüzeyinde *Saccharomyces* dışındaki mayaların baskın olmasına karşın, *Saccharomyces* cinsi mayaların konsantrasyonunun düşük olmasının, maya türlerinin pek çok özelliğine bağlı olabileceği ifade edilmektedir. Bunlar;

- Maya türlerinin, üzümün yüzey kimyası ile fizyolojik ve biyokimyasal yönden uyumluluğu (üzüm yüzeyine tutunma yeteneği, mevcut besinleri daha kolay metabolize edebilme vb.),
- Sıcaklık, güneş ışığı, radyasyon ve kuruluk gibi doğal stres faktörlerine dayanıklılık,
- Üzümde gelen ya da tarım ilaçları gibi bazı kimyasal inhibitörlere karşı dayanıklılık,
- Diğer maya türleri ile interaksiyondur. Örneğin; üzümde bulunan *M. pulcherrima*, diğer maya türlerini (*S. cerevisiae*) baskılamaktadır (7).

*Saccharomyces* cinsi mayaların aksine, *Saccharomyces* dışındaki mayalar esterazlar, glikozidazlar, lipazlar, β-glukozidazlar, proteazlar, selülozlar gibi çeşitli enzimler üretmektedirler. Bu enzimler, üzüm öncül bileşikleri ile reaksiyona girerek aktif aroma bileşikleri üretmekte ve bu nedenle, *Saccharomyces* dışındaki mayalar şarabın üzümde kaynaklanan çeşit aromasının zenginleşmesinde önemli rol oynamaktadırlar (4, 19).

Özetle; *Saccharomyces* dışındaki mayalar şarap aromasını geliştirmekte, ancak etil alkole dayanımının sınırlı olması nedeniyle, fermantasyonu tamamlama yetenekleri bulunmamaktadır (20). Son yıllarda bu mayalar, ABD ve Avustralya'da, ticari şarap üretiminde kullanılmaya başlanmışlardır.

Ancak, enolojik koşullarda rekabet edemediklerinden, fermantasyonu tamamlayabilmek için fermantasyon yeteneği güçlü *S. cerevisiae* suşları ile birlikte kombine karışık kültür ya da sıralı starter kültür olarak kullanılmaktadırlar (21).

### **Saccharomyces Dışındaki Mayaların Enzimatik Aktiviteleri**

Şarap yapımı sırasında terpen glikozitler üzüm, maya ya da bakteri kökenli glikozidaz enzimlerinin aktivitesi ile hidrolize olabilmektedirler. Bu nedenle, şaraplarda terpenoid aromasını arttırmak amacıyla, glikozidaz enzim aktivitesini arttırma yoluna başvurulabilir (22).

Glikozidazlar, üzümdeki uçucu olmayan glikozidik yapıdaki öncül bileşenleri hidrolize ederek, şarabın aroma ve flavor özelliklerini geliştirirler. Aroma bileşenlerinin açığa çıkmasında  $\beta$ -glikozidaz,  $\beta$ -ksilozidaz,  $\beta$ -apiozidaz,  $\alpha$ -ramnozidaz ve  $\alpha$ -arabinozidaz gibi glikozidazların etkin görevlerinin bulunduğu belirtilmektedir. Bu enzimler içerisinde  $\beta$ -glikozidazlar bitkilerde, küf ve mayalarda yaygın olarak bulduklarından, daha fazla ilgi çekmektedirler (5).

Üzümde bulunan glikozidazların, hammaddeden gelen çeşit aromasının zenginleştirilmesi üzerine etkileri, glikoz inhibisyonu ve düşük pH'da stabil kalamamaları nedeniyle, yetersizdir. Glikozidaz enzim aktivitesine sahip pek çok maya türü tanımlanmış olup, bu mayaların, üzümdeki yetersiz glikozidazlara alternatif olabilecekleri belirtilmektedir (10).

Fungal  $\beta$ -D-glikozidazlar terpenil- $\beta$ -D-glikozitleri terpenollere hidrolize ederek, şarap aromasını geliştirmektedirler. Asıl şarap mayası olan *S. cerevisiae*'nin enzimlerinin, bağlı aroma bileşiklerinin uçucu aromatik bileşiklere dönüşümünü sağlayacak düzeyde olmadığı, ayrıca; bu mayaların iyi birer hücre dışı enzim üreticileri olmadıkları kabul edilmektedir. Glikozidazların potansiyel kaynaklarının *Saccharomyces* dışındaki mayalar olduğu, üzüm glikozidazlarının aksine, fungal  $\beta$ -D-glikozidazlarda glikoz inhibisyonunun görülmediği belirtilmektedir (5, 23).

$\beta$ -glikozidaz enzimlerinin etkisi ile serbest hale geçen başlıca aroma bileşenleri; linalol, jeraniol, nerol gibi monoterpenoller ve bunların oksitleri; 3,7-diol, 3,8-diol gibi poliyoller; 2-fenil etanol,

benzil alkol gibi aromatik alkoller; 3-okzo- $\alpha$ -ionol, 3-hidroksi- $\beta$ -damaskon gibi norizoprenoidler; vanilin, metil vanilat, zenjerol gibi uçucu fenollerdir (9).

Rodríguez ve ark. (10), glikozidaz üreticisi yöresel mayaları seçmek amacıyla yaptıkları çalışmada, hem *Saccharomyces* hem de *Saccharomyces* dışındaki mayaları denemişler ve *Candida guilliermondii*, *C. pulcherrima* ve *Kloeckera apiculata* maya türlerinin en yüksek  $\beta$ -glukozidaz aktivitesine sahip olduklarını belirlemişlerdir. Şarap aromasını geliştirmek amacıyla, *Saccharomyces* dışındaki endojen mayaların, fermantasyonun başında karışık starter kültürler içerisinde ya da fermantasyonun sonunda *Saccharomyces* mayaları ile sıralı bir şekilde saf kültür olarak kullanılabilceğini belirtmişlerdir.

### **Saccharomyces Dışındaki Mayaların Yüksek Alkoller Üzerine Etkileri**

Fermantasyon süresince *Saccharomyces* dışındaki mayaların gelişmelerinin, şaraptaki yüksek alkollerin dağılımlarını değiştirdiği ve konsantrasyonlarını arttırdığı ifade edilmektedir. Clemente-Jimenez ve ark. (20) tarafından yapılan bir çalışmada, *Pichia fermentas* ve *S. cerevisiae*'nin karışık kültürü ile gerçekleştirilen bir fermantasyonda, sadece *S. cerevisiae* ile gerçekleştirilen fermantasyona göre daha yüksek oranda yüksek alkol (1-propanol, n-bütanol, 1-hekzanol) oluşumu gözlemlendiği bildirilmiştir.

### **Saccharomyces Dışındaki Mayaların Esterler Üzerine Etkileri**

Fermantasyon boyunca mayalar tarafından üretilen esterlerin, şarabın kokusu ve meyvemsi tadı üzerine etkili oldukları, özellikle izoamil asetat ve etil kaproatın şaraba güzel meyvemsi bir koku verdikleri belirtilmektedir (11, 24).

*Saccharomyces* dışındaki pek çok şarap mayasının, şarabın ester aromasına katkıda buldukları ifade edilmektedir. Rojas ve ark. (25), *Hanseniaspora guilliermondii*, *Pichia anomola* ve *S. cerevisiae*'nin karışık kültürünü kullandıkları bir fermantasyonda, sadece *S. cerevisiae* ile yürütülen fermantasyona kıyasla daha yüksek asetat ester konsantrasyonuna ulaşıldığını belirlemişlerdir.



*Hanseniaspora* ve *Pichia* cinsi mayaların etil alkol, jeraniol, izoamilalkol ve 2-fenil etanol gibi alkollelerin esterifikasyonunu teşvik etme yeteneğinde oldukları ve meyvemsi aromaya sahip ester konsantrasyonunu arttırdıkları belirtilmektedir (26).

Zohre ve Erten (27), karışık kültürler ile (*Kloeckera apiculata*, *Candida pulcherrima*, *S. cerevisiae*) üretilen şaraplarda etil asetat konsantrasyonunun, *S. cerevisiae*'nin saf kültürü ile üretilene göre daha yüksek olduğunu; ayrıca, karışık kültürler ile üretilen şaraplarda uçucu bileşiklerin konsantrasyonunun istenmeyen düzeye ulaşmadığını belirtmişlerdir.

*Saccharomyces* dışındaki mayaların iyi birer ester üreticisi oldukları çok iyi bilinmekte, şarabın duyuşsal özelliklerini geliştirmek amacıyla, bu mayaların *S. cerevisiae* ile karışık kültür olarak kullanılmaları önerilmektedir (2).

## SONUÇ

*Saccharomyces* dışındaki mayalar, aroma oluşumunda önemli rolü olan  $\beta$ -glikozidaz enzimlerini üretmeleri nedeniyle, şarap üretiminde büyük önem taşımaktadırlar. Ayrıca; bu şarap mayaları, şarabın karakteristik meyvemsi aromasını oluşturan esterlerin iyi birer üreticisi olarak kabul edilmektedirler.

Şarap fermantasyonu starter kullanılmadan, doğal fermantasyon ile gerçekleştirildiğinde, *S. cerevisiae* dışındaki mayalar da gelişmekte ve pek çok maya türünün birlikte aktivitesi sonucu, yüksek duyuşsal kaliteye sahip şaraplar üretilebilmektedir. Ancak, spontan fermantasyonda istenmeyen mayaların gelişimi de söz konusu olabilmekte ve bu durum şarap kalitesini olumsuz etkileyebilmektedir. Bu nedenle, hem fermantasyonun güvenliğinden hem de şarabın özgün aromasından vazgeçmeden, *S. cerevisiae* ve *Saccharomyces* dışındaki mayaları içeren karışık starter kültürlerin kullanılması, alternatif bir fermantasyon yöntemi olarak tavsiye edilebilir. Bununla birlikte; karışık kültürlerin kullanılacağı fermantasyonlar, kontrollü ve iyi tanımlanmış koşullarda gerçekleştirilmeli ve maya türlerinin gelişme kinetikleri ve fermantasyon süresince davranışları çok iyi belirlenmiş olmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Canbaş A, Cabaroğlu T. 2000. Kabuk maserasyonunun beyaz emir üzümünden elde edilen şıranın aroma maddeleri bileşimine etkisi. *Turk J Agric For*, 24: 191-198.
2. Rojas V, Gil JV, Piñaga F, Manzanares P. 2001. Studies on acetate ester production by non-*Saccharomyces* wine yeasts. *Int J Food Microbiol*, 70: 283-289.
3. Fugelsang KC, Edwards CG. 2007. *Wine Microbiology Practical Applications and Procedures*. Springer, New York, USA, pp. 82-101.
4. Romano P, Fiore C, Paraggio M, Caruso M, Capece A. 2003. Function of yeast species and strains in wine flavour. *Int J Food Microbiol*, 86: 169-180.
5. Esteve-Zarzoso B, Manzanares P, Ramón D, Querol A. 1998. The role of non-*Saccharomyces* yeasts in industrial winemaking. *Int Microbiol*, 1: 143-148.
6. Moreno-Arribas MV, Polo MC. 2005. Winemaking biochemistry and microbiology: current knowledge and future trends. *Critic Rev Food Sci Nutr*, 45: 265-286.
7. Fleet GH. 2003. Yeast interactions and wine flavour. *Int J Food Microbiol*, 86: 11-22.
8. Lema C, Garcia-Jares C, Orriols I, Angulo L. 1996. Contribution of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* populations to the production of some components of Albariño wine aroma. *Am J Enol Vitic*, 47 (2) 206-216.
9. Cabaroğlu T. 2003. Üzümlerde aroma maddeleri ve şarapçılık açısından önemi. *GIDA*, 28 (6) 599-605.
10. Rodríguez ME, Lopes CA, van Broock M, Valles S, Ramón D, Caballero AC. 2004. Screening and typing of Patagonian wine yeasts for glycosidase activities. *J Appl Microbiol*, 96: 84-95.
11. Gil JV, Mateo JJ, Jiménez M, Pastor A, Huerta T. 1996. Aroma compounds in wine as influenced by apiculate yeasts. *J Food Sci*, 61 (6) 1247-1249.
12. Nissen P. 2003. Characterization of early growth arrest and death of non-*Saccharomyces* yeasts in model wine fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. Ph. D. Thesis, The Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark.
13. Hansen EH, Nissen P, Sommer P, Nielsen JC, Arneborg N. 2001. The effect of oxygen on the survival of non-*Saccharomyces* yeasts during mixed culture fermentations of grape juice with *Saccharomyces cerevisiae*. *J Appl Microbiol*, 91: 541-547.
14. Pérez-Nevado F, Albergaria H, Hogg T, Girio F. 2006. Cellular death of two non-*Saccharomyces* wine-related yeasts during mixed fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Food Microbiol*, 108: 336-345.

15. Erten H, Tanguler H, Cabaroglu T, Canbas A. 2006. The influence of inoculum level on fermentation and flavour compounds of white wines made from cv. Emir. *J Inst Brewing*, 112 (3) 232-236.
16. Garde-Cerdán T, Ancín-Azpilicueta C. 2006. Contribution of wild yeasts to the formation of volatile compounds in inoculated wine fermentations. *Eur Food Res and Tech*, 222: 15-25.
17. Ciani M, Beco L, Comitini F. 2006. Fermentation behaviour and metabolic interactions of multistarter wine yeast fermentations. *Int J Food Microbiol*, 108: 239-245.
18. Fleet GH, Heard GM. 1993. Yeasts - Growth during fermentation. In *Wine Microbiology and Biotechnology*, Fleet GH (eds), Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland, pp. 27-54.
19. Strauss MKA, Jolly NP, Lambrechts MG, Rensburg P. 2001. Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-*Saccharomyces* wine yeasts. *J Appl Microbiol*, 91: 182-190.
20. Clemente-Jimenez JM, Mingorance-Cazorla L, Martínez-Rodríguez S, Las Heras-Vázquez FJ, Rodríguez-Vico F. 2005. Influence of sequential yeast mixtures on wine fermentation. *Int J Food Microbiol*, 98: 301-308.
21. Rodríguez ME, Barbagelata R, Crisóstomo B, Apablaza O, Giraudo MR, Caballero A. 2004. The use of non-*Saccharomyces* yeasts in winemaking. Simposio Internacional de Biotecnología.
22. Fang Y. 2006. Development of volatile compounds in Pinot noir grapes and their contributions to wine aroma. Dissertation (unpublished), Oregon State University, Oregon, 192 p.
23. Manzanares P, Rojas V, Genovés S, Vallés S. 2000. A preliminary search for anthocyanin- $\beta$ -D-glucosidase activity in non-*Saccharomyces* wine yeasts. *Int J Food Sci Tech*, 35: 95-103.
24. Swiegers JH, Bartowsky EJ, Henschke PA, Pretorius IS. 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Aust J Grape Wine Res*, 11 (2) 139-173.
25. Rojas V, Gil JV, Pinãga F, Manzanares P. 2003. Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. *Int J Food Microbiol*, 86: 181-188.
26. Mingorance-Cazorla L, Clemente-Jimenez JM, Martínez-Rodríguez S, Las Heras-Vázquez FJ, Rodríguez-Vico F. 2003. Contribution of different natural yeasts to the aroma of two alcoholic beverages. *World J Microbiol Biotechnol*, 19: 297-304.
27. Zohre DE, Erten H. 2002. The influence of *Kloeckera apiculata* and *Candida pulcherrima* yeasts on wine fermentation. *Process Biochem*, 38: 319-324.