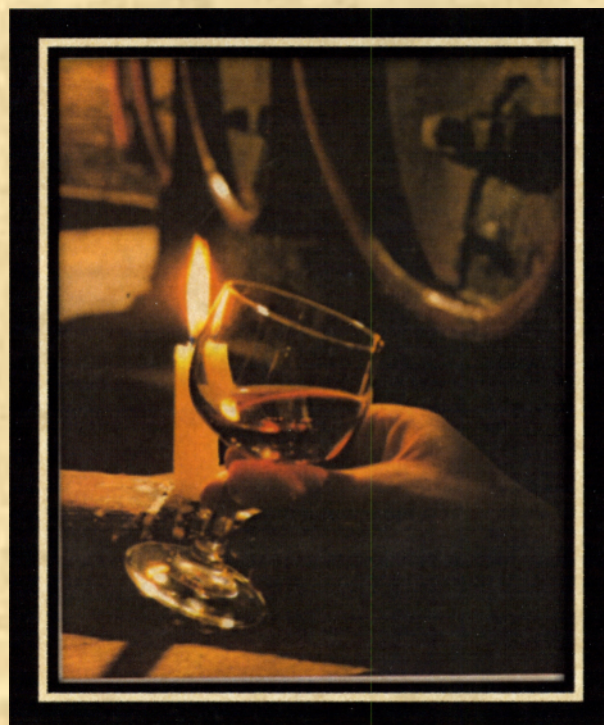


**ΤΕΙ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ**

**Η ΣΥΝΕΙΣΦΟΡΑ ΤΗΣ ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗΣ  
ΖΥΜΩΣΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟ  
ΧΑΡΑΚΤΗΡΑ ΤΩΝ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΟΙΝΩΝ**



**ΚΟΥΤΕΛΙΑΝΗ ΧΡΙΣΤΙΝΑ**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2009**

Στην οικογένεια μου και τους δικούς μου ανθρώπους, που με  
στήριξαν και ήταν πάντα δίπλα μου.

Ευχαριστώ την κ. Κάτσου Πελαγία, για τις εύστοχες  
επισημάνσεις της, καθώς και το τμήμα Φυτοπροστασίας,  
Ποιοτικού και Φυτοϋγειονομικού έλεγχου, της Δ/σης Γεωργίας  
Ξάνθης, για την καθοδήγηση τους και εξαιρετικά, την κ. Στοΐλα  
Ελένη για το χρόνο και την πολύτιμη βοήθεια της.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

## Εισαγωγή

### 1. Το μηλικό οξύ στην οινολογία

|                                                                     |   |
|---------------------------------------------------------------------|---|
| 1.1 Γενικά.....                                                     | 6 |
| 1.2 Γενικές θεωρήσεις της ζύμωσης του μηλικού οξέος στα κρασιά..... | 6 |
| 1.3 Μεταβολισμός του μηλικού οξέος από τις ζύμες.....               | 7 |

### 2. Τα γαλακτικά βακτήρια στην οινολογία

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1 Γενικά.....                                                                       | 9  |
| 2.2 Η μορφολογία των γαλακτικών βακτηρίων.....                                        | 9  |
| 2.3 Η καλλιέργεια των γαλακτικών βακτηρίων.....                                       | 12 |
| 2.4 Ο ομοζυμωτικός και ετεροζυμωτικός χαρακτήρας των γαλακτικών βακτηρίων.....        | 13 |
| 2.5 Η ζύμωση των διαφόρων σακχάρων από τα γαλακτικά βακτήρια.....                     | 16 |
| 2.6 Ο μεταβολισμός των οργανικών οξέων.....                                           | 17 |
| 2.7 Η ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων σε σχέση με το pH.....                        | 17 |
| 2.8 Συμπεριφορά των γαλακτικών βακτηρίων με βάση τη θερμοκρασία.....                  | 18 |
| 2.9 Συμπεριφορά των γαλακτικών βακτηρίων παρουσία ή απουσία οξυγόνου.....             | 18 |
| 2.10 Παραγωγή D(-) ή L(+) γαλακτικού οξέος από τη δράση των γαλακτικών βακτηρίων..... | 18 |
| 2.11 Η οικολογία των γαλακτικών βακτηρίων.....                                        | 19 |
| 2.12 Ταυτοποίηση των βακτηρίων.....                                                   | 21 |
| 2.13 Μηλογαλακτική αποικοδόμηση με προσθήκη βακτηρίων.....                            | 21 |
| 2.14 Μηχανισμός της δράσης των γαλακτικών βακτηρίων.....                              | 22 |
| 2.15 Ο ρόλος των γαλακτικών βακτηρίων στη μηλογαλακτική ζύμωση.....                   | 22 |
| 2.16 Επιλογή ειδών γαλακτοβακτηρίων και στελεχών.....                                 | 23 |
| 2.17 Είδη βακτηρίων υπεύθυνα για τη μηλογαλακτική ζύμωση.....                         | 23 |

### 3. Ερυθρά οινοποίηση

|                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1 Γενικά.....                                                                                            | 25 |
| 3.2 Χαρακτηριστικά της ερυθρής οινοποίησης.....                                                            | 25 |
| 3.3 Σημασία της μεταφοράς, της τοποθέτησης των κρασοστάφυλων και της επεξεργασίας τους στο οινοποιείο..... | 26 |
| 3.3.1 Απορραγισμός.....                                                                                    | 26 |
| 3.3.2 Έκθλιψη.....                                                                                         | 26 |
| 3.3.3 Μεταφορά του σταφυλοπολτού.....                                                                      | 27 |
| 3.3.4 Αλκοολική ζύμωση.....                                                                                | 27 |

### 4. Μηλογαλακτική ζύμωση (MLF)

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1 Γενικά.....                                                                       | 30 |
| 4.2 Η σπουδαιότητα της μηλογαλακτικής ζύμωσης.....                                    | 31 |
| 4.3 Η πορεία της μηλογαλακτικής ζύμωσης.....                                          | 33 |
| 4.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων της MLF στο κρασί.....       | 36 |
| 4.5 Η εφαρμογή της μηλογαλακτικής ζύμωσης.....                                        | 37 |
| 4.6 Η επίδραση της MLF στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τη σύσταση του οίνου..... | 38 |
| 4.7 Χημικές αντιδράσεις της MLF.....                                                  | 39 |
| 4.8 Βιοχημεία της μηλογαλακτικής ζύμωσης.....                                         | 43 |
| 4.9 Δευτερεύοντα προϊόντα της μηλογαλακτικής ζύμωσης.....                             | 44 |

|           |                                                                                   |           |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.10      | Ο ρόλος των βακτηριοφάγων στην ομαλή πορεία της MLF του κρασιού.....              | 44        |
| 4.11      | Βιολογική αποξέωση των κρασιών.....                                               | 45        |
| 4.12      | Παράγοντες που επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά τη μηλογαλακτική ζύμωση.....          | 46        |
| 4.13      | Προϊόντα της ζυμωτικής δραστηριότητας των ζυμών στη διαδικασία της παραγωγής..... | 47        |
| 4.13.1    | Μέσα που ευνοούν τη μηλογαλακτική ζύμωση.....                                     | 48        |
| 4.13.2    | Μέσα που παρεμποδίζουν τη μηλογαλακτική ζύμωση.....                               | 49        |
| 4.14      | Διέγερση της αυτόματης μηλογαλακτικής ζύμωσης.....                                | 50        |
| <b>5.</b> | <b>Η συνεισφορά της μηλογαλακτικής ζύμωσης στον οίνο</b>                          |           |
| 5.1       | Σταθερότητα του κρασιού.....                                                      | 51        |
| 5.2       | Γευστική βελτίωση ως αποτέλεσμα της μηλογαλακτικής ζύμωσης.....                   | 51        |
| 5.3       | Αισθητήρια ποιότητα του κρασιού.....                                              | 53        |
| 5.4       | Η επιρροή της μηλογαλακτικής ζύμωσης στη ποιότητα.....                            | 53        |
| 5.5       | Η επιρροή της μηλογαλακτικής ζύμωσης στους λευκούς και ροζέ οίνους.....           | 54        |
| 5.6       | Οι επιπτώσεις στη ποιότητα του κρασιού από τη μηλογαλακτική ζύμωση.....           | 55        |
| 5.7       | Σχολιασμός της αποξέωσης το κρασιού με γαλακτικά βακτήρια.....                    | 56        |
| <b>6.</b> | <b>Βιβλιογραφία.....</b>                                                          | <b>58</b> |

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα γεωργικό προϊόν, το οποίο στο μέλλον φαίνεται ότι θα αυξήσει το εισόδημα των Ελλήνων παραγωγών είναι το σταφύλι της οινοποιίας.

Η Ελλάδα είναι μια χώρα που το κλίμα της είναι κατάλληλο για παραγωγή κρασιών ποιότητας. Ο Ελληνικός αμπελώνας διαθέτει πλήθος από σπάνιες οινοποιήσιμες ποικιλίες με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά. Ειδικά οι λευκές ποικιλίες που η φύση χάρισε απλόχερα στην Ελληνική γη, είναι πλέον σπάνιες και οι καλύτερες στον κόσμο.

Η χώρα μας έχει τον μεγαλύτερο αριθμό εκλεκτών λευκών ποικιλιών οινοποιίας. Είναι γνωστές περίπου διακόσιες ξεχωριστές ποικιλίες και συχνά αποκαλύπτονται γηγενείς ποικιλίες ανώτερες σε αμπελοοινικά χαρακτηριστικά από τις ήδη γνωστές. Ανάμεσα στις αναγνωρισμένες λευκές ποικιλίες είναι το Ασύρτικο της Σαντορίνης, η Ρομπόλα της Κεφαλονιάς, το Μοσχοφίλερο της Μαντινείας, το Ζουμιάτικο της Θράκης, ο Ροδίτης, το Αθήρι, κλπ. Ο πλούτος των Ελληνικών ποικιλιών συμπληρώνεται με τις ερυθρές ποικιλίες, όπως το Αγιωργίτικο, και το Ξυνόμαυρο, που είναι από τις καλύτερες στον κόσμο, το Λημνιό, τη Μαυροδάφνη και άλλες.

Ο ρόλος που παίζει το κρασί στη ζωή μας είναι πολυσύνθετος. Συμμετέχει στο διαιτολόγιο των ανθρώπων, επιδρά υγιεινά στην ανάπτυξή τους, όταν δε γίνεται κατάχρηση, και την ίδια στιγμή είναι στοιχείο ψυχαγωγίας τόσο με την αρχαία της έννοια – αγωγή της ψυχής – όσο και με την έννοια του κεφιού και της χαράς.

Το κάθε κρασί ξεχωρίζει από τρία βασικά στοιχεία: την εμφάνισή του, δηλ. το χρώμα, το άρωμά του και τη γεύση του. Το πρώτο πράγμα που κάνουμε όταν δοκιμάζουμε είναι να παρατηρήσουμε το χρώμα του κρασιού που έχουμε στο ποτήρι μας. Ένα λευκό κρασί με πράσινες ανταύγειες είναι ένα φρέσκο κρασί. Ένα λευκό κρασί με ζεστό χρυσοκίτρινο χρώμα είναι ένα ώριμο και ίσως ελαφρά παλαιωμένο κρασί. Ένα κόκκινο κρασί με έντονο βυσσινί χρώμα είναι ένα φρέσκο κρασί της χρονιάς. Αντίθετα αν το κόκκινο χρώμα σπάει από κεραμιδιές ή καφετιές ανταύγειες στο ποτήρι μας, έχουμε ένα παλαιωμένο κρασί.

Τα αρώματα του κρασιού μας μιλάνε με γλαφυρότητα για την προέλευση του. Η κάθε ποικιλία αμπελιού δίνει κρασί με συγκεκριμένα αρώματα που συχνά διαφέρουν ανάλογα με τον τόπο όπου καλλιεργήθηκε το αμπέλι. Ένα φρέσκο κρασί διακρίνεται για τα αρώματα των φρέσκων φρούτων που το χαρακτηρίζουν,

ενώ ένα παλαιωμένο κρασί διακρίνεται για αρώματα που θυμίζουν ώριμα φρούτα, φρούτα σε κομπόστα, μπαχαρικά και βανίλια, αν το κρασί έχει περάσει μέσα από βαρέλι. Τέλος, ένα κρασί κρίνεται από τη γεύση του. Και σε αυτήν τη περίπτωση, η ποικιλία του σταφυλιού που χρησιμοποιήθηκε για να παραχθεί το κρασί, ο τρόπος που καλλιεργήθηκε, και η διαδικασία που ακολούθησε, προβάλλουν ανάγλυφα. Οι δυνατότητες, οι συνδυασμοί και το λεξιλόγιο που χρησιμοποιούνται στη διάρκεια μιας γευστικής δοκιμής είναι πλούσια και ανεξάντλητα.

Μητέρα του κρασιού είναι η άμπελος και για την ακρίβεια ο χυμός του καρπού της, ο μούστος. Από αυτόν το γλυκό χυμό, που περιέχει νερό, ζάχαρη αλλά και τουλάχιστον 200 ακόμα πολύτιμα συστατικά, παράγεται με τη βοήθεια της αλκοολικής ζύμωσης το κρασί που φτάνει στο τραπέζι μας.

Εκτός από την αλκοολική ζύμωση, συχνά στο μούστο λαμβάνει παράλληλα χώρα και ένας άλλος τύπος ζύμωσης, η μηλογαλακτική ζύμωση. Κατά την αντίδραση αυτή, ένα από τα οργανικά οξέα του σταφυλιού, το μηλικό οξύ, μετατρέπεται σε γαλακτικό. Αυτό έχει σημασία, γιατί το γαλακτικό οξύ είναι λιγότερο όξινο του μηλικού, έτσι η μηλογαλακτική ζύμωση μειώνει την οξύτητα του κρασιού. Αυτό το επιδιώκουμε κυρίως στα ερυθρά κρασιά, ενώ στα λευκά, η οξύτητα είναι συνήθως επιθυμητή σε μεγαλύτερο βαθμό.

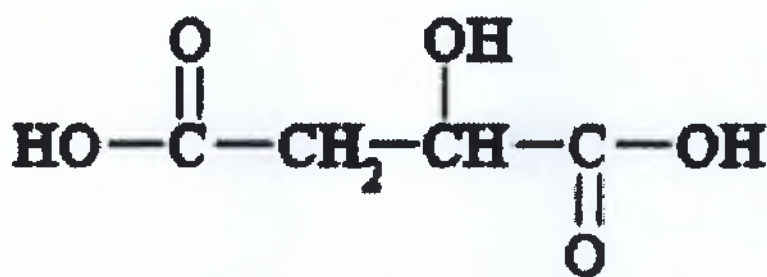
Έτσι, η μηλογαλακτική ζύμωση, συμβαίνει συνήθως ακριβώς μετά το τέλος της αρχικής ζύμωσης. Πραγματοποιείται με τη βοήθεια των γαλακτικών βακτηρίων και διάφορα είδη των γενών *Lactobacillus* και *Pediococcus*. Η κύρια δράση των γαλακτικών βακτηρίων, είναι η μετατροπή του ενός από τα δυο κυρίαρχα οξέα του σταφυλιού, το L-μηλικό οξύ σε ένα άλλο τύπο το L-λακτικό οξύ. Αυτή η μετατροπή συνοδεύεται από τη παραγωγή CO<sub>2</sub>.

Συμπερασματικά, ανάλογα σε ποιο βαθμό αναπτύσσονται τα γαλακτικά βακτήρια και μεταβάλλεται η γεύση και το άρωμα του κρασιού, έχει σαν αποτέλεσμα μια φυσική από-οξείδωση του κρασιού και δημιουργείται μια απαλή, λιγότερο μεταλλική, αίσθηση στον ουρανίσκο.

# 1. ΤΟ ΜΗΛΙΚΟ ΟΞΥ ΣΤΗΝ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

## 1.1 Γενικά

Το μηλικό οξύ, είναι ένα φυσικό οξύ που απαντάται σε ορισμένα φρούτα και λαχανικά και χρησιμοποιείται κυρίως ως πρόσθετο τροφίμων, μέσο οξίνισης και αρωματισμού με τον κωδικό E296. Το μηλικό οξύ είναι ένα από τα οργανικά οξέα του σταφυλιού, το οποίο αυξάνει την οξύτητα του κρασιού. Με την μηλογαλακτική ζύμωση ( MLF), μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ, το οποίο όντας λιγότερο όξινο από το μηλικό, μειώνει την οξύτητα του κρασιού, πράγμα που είναι απαραίτητο για τα ερυθρά κρασιά και όχι τόσο στα λευκά στα οποία επιθυμούμε μεγαλύτερη οξύτητα (εικ. 1).(από <http://www.el.wikipedia.org>)



Εικ. 1 Ο χημικός τύπος του μηλικού οξέος

## 1.2 Γενικές θεωρήσεις της ζύμωσης του μηλικού οξέος στα κρασιά

Η αποικοδόμηση του μηλικού οξέος εξυπηρετεί διαφορετικούς στόχους ανάλογα με τους τύπους των κρασιών που θα παραχθούν. Ειδικότερα:

- Σε κρασιά που πρέπει να παλιώσουν γρήγορα και να αποκτήσουν απαλή γεύση, η μηλογαλακτική ζύμωση είναι απαραίτητη και λαμβάνει χώρα αυτόματα. Στην περίπτωση αυτή, η παραπάνω διεργασία εξασφαλίζεται εφόσον το κρασί εμβολιαστεί με μικροβιακό φορτίο του *Leuconostoc oenos*.

- Σε κρασιά πολύ όξινα, η περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ είναι μειωμένη, και η επιθυμητή διόρθωση πραγματοποιείται με την προσθήκη ειδών του γένους *Schizosaccharomyces* μέχρι την επιθυμητή τιμή pH, ώστε να επιτρέπεται η ανάπτυξη των κατάλληλων γαλακτοβακτηρίων. Η διαδοχική προσθήκη ειδών των γενών *Schizosaccharomyces* – *Leuconostoc oenos*, δίνει καλύτερα αποτελέσματα.

Γενικά επισημαίνεται ότι, η υποβάθμιση του μηλικού οξέος μπορεί να επιτευχθεί με το πέρασμα του κρασιού από κύτταρα γαλακτοβακτηρίων ακινητοποιημένα σε κατάλληλο φορέα. Η τεχνική αυτή δεν έχει εφαρμοσθεί σε βιομηχανική κλίμακα.

Η μηλική οξύτητα, πρέπει να διατηρηθεί στο ακέραιο, σε κρασιά με μειωμένη ολική οξύτητα, τα οποία θα πρέπει να διατηρήσουν επί μακρόν τη φρεσκάδα τους. Στην περίπτωση αυτή η ζύμωση, πρέπει να γίνει με επιλεγμένα στελέχη του *Saccharomyces cerevisiae*, που αφήναν άθικτο το μηλικό οξύ και η θείωση να είναι τέτοια ώστε να παρεμποδίζονται οι εγγενείς (άγριες) ζύμες, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται και σχιζοσακχαρομύκητες και μάλιστα σε ποσοστό υψηλότερο από ότι μέχρι σήμερα πιστεύαμε.

### 1.3 Μεταβολισμός του μηλικού οξέος από τις ζύμες

Ζύμες του γένους *Schizosaccharomyces* ζυμώνουν το μηλικό οξύ αλλά δεν είναι οι μοναδικές. Υπάρχουν και είδη των γενών *Kloeckera*, *Pichia*, *Candida*, *Saccharomyces* (κατά κύριο λόγο) και *Zygosaccharomyces* που ζυμώνουν το μηλικό οξύ. Γενικά η αποικοδόμηση του μηλικού οξέος από τις ζύμες, είναι χαρακτήρας συνδεδεμένος με το στέλεχος και όχι τόσο με το είδος και μπορεί να φθάσει σε ποσοστό κυμαινόμενο μεταξύ 5% και 50% της συνολικής ποσότητας, που περιέχεται στο οиноγλεύκος ή στο κρασί. Στελέχη του *Saccharomyces Cerevisiae* συνθέτουν και μηλικό οξύ, με ενσωμάτωση του CO<sub>2</sub> στο πυροσταφυλικό και με αναγωγή του καρβινυλίου εν συνέχεια (Faticenti et al., 1981, 1984).

\*MLF=μηλογαλακτική ζύμωση

Στελέχη του είδους *Saccharomyces cerevisiae* κατά τους Vezinhel & Barre (1982) διασπούν εντονότερα το μηλικό οξύ, παρουσία αμμωνιακών αλάτων, και υπό έλλειψη βιοτίνης. Θετικά αντιδρά επίσης η θειαμίνη στη διάσπαση του μηλικού οξέος στο μούστο όταν ενσωματώνεται σε ποσοστό 500 μg ανά λίτρο (Carre et al., 1983). Η επιλογή στελεχών που να μπορούν να διασπάσουν το μηλικό οξύ ή να το συνθέσουν, θα έλυνε ένα πρόβλημα που είναι συνδεδεμένο με την υπερβολική ή την μειωμένη οξύτητα των κρασιών.

## 2. ΤΑ ΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΣΤΗΝ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

### 2.1 Γενικά

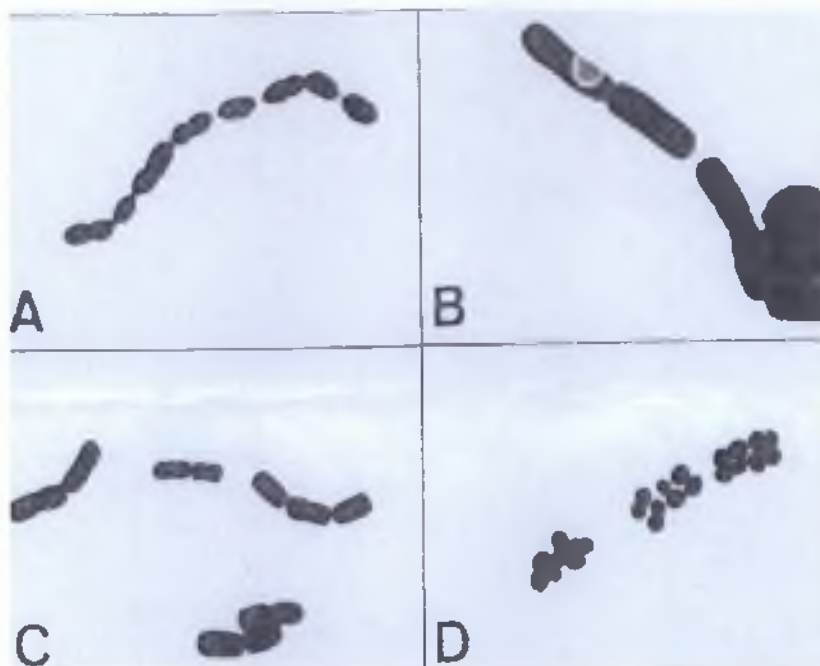
Τα βακτήρια ανήκουν στην υποομάδα των προκαρυωτικών πρωτίστων ή των κατώτερων πρωτίστων, σε αντίθεση με τις ζύμες που ανήκουν στα ανώτερα πρώτιστα. Είναι μονοκύτταροι μικροοργανισμοί στους οποίους ο πυρήνας τους διακρίνεται δύσκολα, γιατί δε διαχωρίζεται από το κυτταρόπλασμα με τη βοήθεια κάποιας μεμβράνης. Πολλαπλασιάζονται αγενώς με κυτταροδιαίρεση και με σπόρια, ενώ τελευταία οι γενετιστές επισημαίνουν την ύπαρξη βακτηρίων που πολλαπλασιάζονται εγγενώς. Όσον αφορά στα βακτήρια του οίνου είναι γνωστό ότι δε σχηματίζουν σπόρια και πολλαπλασιάζονται με κυτταροδιαίρεση.

Το βακτηριακό κύτταρο αποτελείται από: την κυτταρική μεμβράνη, την κυτοπλασματική μεμβράνη, το κυτόπλασμα, τον πυρήνα και τα άλλα στοιχεία όπως οι κάψες, οι βλεφαρίδες, τα σπόρια κλπ. Τα βακτήρια διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα Gram-θετικά και τα Gram-αρνητικά.

Τα γαλακτικά βακτήρια χαρακτηρίζονται από ένα σύνολο κοινών ιδιοτήτων στη φυσιολογία και στη δομή τους. Είναι βακτήρια θετικά κατά Gram, ακίνητα και μη σπορογενή και μετατρέπουν τα ζάχαρα σε γαλακτικό οξύ. Στους οίνους συναντιούνται τα γένη *Leuconostoc*, *Pediococcus* και *Lactobacillus*. (Σουφλερός,)

### 2.2 Η μορφολογία των γαλακτικών βακτηρίων

Τα γαλακτικά βακτήρια στο μικροσκόπιο παρουσιάζουν διάφορα σχήματα και διαστάσεις, που αποτελούν χαρακτηριστικό γνώρισμα για το καθένα. Σύμφωνα με τα στοιχεία αυτά, τα γαλακτικά βακτήρια διακρίνονται σε κόκκους και βακίλους. Οι κόκκοι έχουν σχήμα σφαιρικό και διάμετρο από 0,4-1,0  $\mu\text{m}$ , ενώ οι βάκιλοι είναι ραβδόμορφοι μικροοργανισμοί με πάχος 0,5  $\mu\text{m}$  και μήκος 2-5  $\mu\text{m}$  (εικ. 1).



Radler et Yannisis, 1972

Εικ. 1 Μορφολογία των γαλακτικών βακτηρίων.

A. *Leuconostoc oenos* B. *Lactobacillus casei* C. *Lactobacillus brevis* D. *Pediococcus cerevisiae*

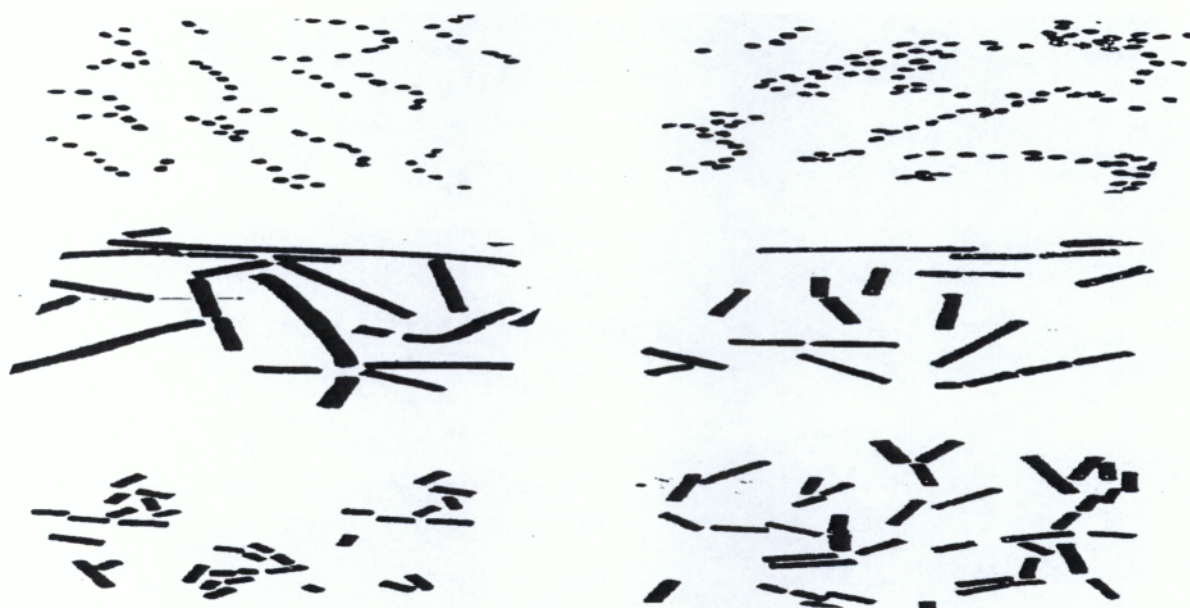
Οι κόκκοι εμφανίζονται ως μεμονωμένα κύτταρα ή ως ομάδες, όπως είναι:

- ☐ Οι διπλόκοκκοι (κύτταρα ενωμένα δύο-δύο)
- ☐ Οι στρεπτόκοκκοι (κύτταρα ενωμένα αλυσιδωτά)
- ☐ Οι σαρκίνες (κύτταρα ενωμένα σε μορφή κύβου) και
- ☐ Οι σταφυλόκοκκοι (κύτταρα ενωμένα σε μορφή σταφυλίου)

Οι βάκιλλοι εμφανίζονται και αυτοί ως μεμονωμένα κύτταρα ή ως ομάδες, όπως είναι:

- ☐ Οι διπλοβάκιλλοι (κύτταρα ενωμένα δύο-δύο)
- ☐ Οι στρεπτοβάκιλλοι (κύτταρα ενωμένα αλυσιδωτά)

Οι ομάδες των βακίλλων σχηματίζουν επιμήκεις νηματώδεις υφές, το μήκος των οποίων εξαρτάται από διάφορες συνθήκες της καλλιέργειας, όπως είναι η θερμοκρασία, η οξύτητα, η παρουσία αλκοόλης κλπ. (εικ. 2)



Εικ. 2 Κόκκοι και βάκιλλοι της μηλογαλακτικής ζύμωσης

## 2.3 Η καλλιέργεια των γαλακτικών βακτηρίων

Ένα φυσικό υπόστρωμα (γλεύκος ή οίνος), μπορεί να περικλείει ένα μεγάλο αριθμό διαφόρων ειδών γαλακτικών βακτηρίων, αναμεμιγμένων με ζύμες ή με οξικά βακτήρια. Για το λόγο αυτό, προκειμένου να μελετηθούν ή να χρησιμοποιηθούν τα γαλακτικά βακτήρια, είναι απαραίτητο να αποχωριστούν από τους άλλους μικροοργανισμούς, ώστε να αποκτηθούν καθαρές καλλιέργειες που να προέρχονται από ένα κύτταρο.

Η διαδικασία αυτή επιτυγχάνεται με την καλλιέργεια των γαλακτικών βακτηρίων σε θρεπτικό υπόστρωμα, που στερεοποιήθηκε με ζελατίνη ή με άγαρ. Σημειώνεται ότι πριν από τη καλλιέργεια γίνονται οι κατάλληλες αραιώσεις του βακτηριακού πληθυσμού. Οι αναπτυσσόμενες αποικίες, η καθεμιά από τις οποίες προέρχεται και από ένα ξεχωριστό κύτταρο, μεταφέρονται με τη βοήθεια του μικροβιολογικού κρίκου σε ξεχωριστό υγρό υπόστρωμα, έτσι ώστε με τον τρόπο αυτό να αποκτούνται καθαρές καλλιέργειες. Για να αποκλειστεί από τις καλλιέργειες αυτές η εμφάνιση άλλων ανεπιθύμητων μικροοργανισμών (οξικά βακτήρια, ζύμες), η καλλιέργεια των γαλακτικών βακτηρίων γίνεται σε αναερόβιο περιβάλλον. Σε τέτοιο περιβάλλον, τα γαλακτικά βακτήρια αναπτύσσονται καλύτερα, ενώ παρεμποδίζεται η ανάπτυξη των οξικών βακτηρίων. Το αναερόβιο περιβάλλον επιτυγχάνεται σε αεροστεγώς κλειστά γυάλινα δοχεία με την προσθήκη πυρογαλλόλης. Για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης των ζυμών χρησιμοποιείται το σορβικό οξύ, το οποίο ενσωματώνεται στο στερεό θρεπτικό υπόστρωμα.

Οι απαιτήσεις των βακτηρίων του οίνου είναι πολύ μεγάλες και για το λόγο αυτό η καλλιέργεια τους ήταν πολύ δύσκολη. Σήμερα είναι δυνατή η καλλιέργεια των γαλακτικών βακτηρίων, κυρίως όμως των βακίλων, γιατί οι κόκκοι παρουσιάζουν ακόμη μεγάλες δυσκολίες.

Τα θρεπτικά υποστρώματα για την ανάπτυξη των βακτηρίων οφείλουν να είναι πλούσια σε αζωτούχες ενώσεις, ενώ ορισμένα αμινοξέα είναι εντελώς απαραίτητα. Ένα τέτοιο υπόστρωμα αποτελεί ο σταφυλοχυμός, αφού εμπλουτισθεί με εκχύλισμα ζυμών ή με ουσίες πλούσιες σε άζωτο και σε ανόργανα συστατικά.

## 2.4 Ο ομοζυμωτικός και ετεροζυμωτικός χαρακτήρας των γαλακτικών βακτηρίων

Ο χαρακτήρας αυτός αποτελεί, ένα από τα βασικά κριτήρια για την ταξινόμηση των γαλακτικών βακτηρίων και ορίζεται από τα προϊόντα στα οποία μεταβολίζουν τις εξόζες, την γλυκόζη και την φρουκτόζη.

Τα ομοζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια μετατρέπουν το 95% της γλυκόζης ή της φρουκτόζης σε γαλακτικό οξύ, δια της οδού Embden-Mayerhof-Parnas (γλυκόλυση), χωρίς να γίνεται καμιά διαφοροποίηση στις δύο αυτές εξόζες.



Τα ετεροζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια ζυμώνουν επίσης τις εξόζες, αλλά με ένα μηχανισμό ολότελα διαφορετικό. Η γλυκόζη εκτός από το γαλακτικό οξύ, το οποίο άλλωστε δεν είναι το κύριο προϊόν του μεταβολισμού αυτού, δίνει ακόμη διάφορα προϊόντα, όπως: αιθανόλη, οξικό οξύ, CO<sub>2</sub>, ηλεκτρικό οξύ, γλυκερόλη κλπ. Αντίθετα προς τη γλυκόζη, η φρουκτόζη, δίνει μόνο μαννιτόλη.

Λαμβάνοντας υπόψη το είδος των σχηματιζόμενων προϊόντων από τα ομο- και ετεροζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια, ορισμένοι συγγραφείς δέχτηκαν ότι τα ετεροζυμωτικά βακτήρια, επειδή σχηματίζουν οξικό οξύ, είναι περισσότερο επικίνδυνα από τα ομοζυμωτικά, τα οποία δε σχηματίζουν το προϊόν αυτό.

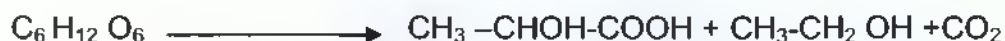
Η άποψη αυτή όμως δε φαίνεται να είναι σωστή, γιατί στους αλλοιωμένους οίνους, συνήθως βρίσκονται περισσότερα ομοζυμωτικά βακτήρια παρά ετεροζυμωτικά. Στην πραγματικότητα, τα επιθυμητά βακτήρια για τη μηλογαλακτική ζύμωση είναι οι ετεροζυμωτικοί κόκκοι. Αλλά, ακόμη και αυτά τα βακτήρια, για να δώσουν ένα αρεστό αποτέλεσμα, πρέπει να ενεργούν κάτω από τέτοιες συνθήκες οι οποίες δεν επιτρέπουν παρά μόνο το μεταβολισμό του μηλικού οξέος. Παράδειγμα "προς αποφυγή", αποτελεί η ανεπιθύμητη διακοπή της αλκοολικής ζύμωσης ενώ υπάρχουν ακόμη αζύμωτα ζάχαρα. Στην περίπτωση αυτή, τα γαλακτικά βακτήρια θα προσβάλλουν, εκτός από το μηλικό οξύ, και τα ζάχαρα με δυσάρεστες συνέπειες για

την ποιότητα του οίνου.(Σουφλερός,1997) Εκείνο το οποίο έχει ιδιαίτερη σημασία είναι ότι τα γαλακτοβακτήρια διαιρούνται σε δυο ομάδες, αναλόγως του τρόπου διασπάσεως των εξόζων, ήτοι τα ομοζυμωτικά και ετεροζυμωτικά. Τα πρώτα διασπούν τις εξόζες κατά το ακόλουθο σχήμα:



και σχηματίζουν κατ' αποκλειστικότητα γαλακτικό οξύ.

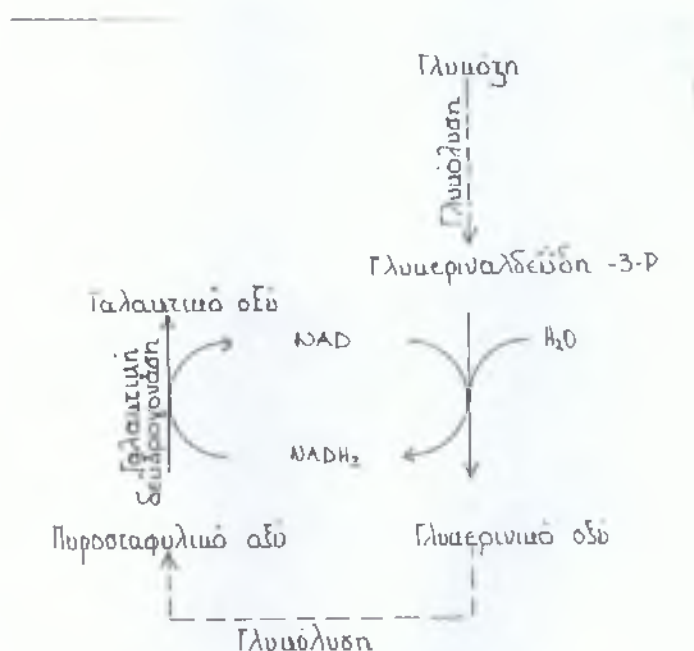
Αντίθετα, τα δεύτερα διασπούν τις εξόζες κατά το ακόλουθο σχήμα:



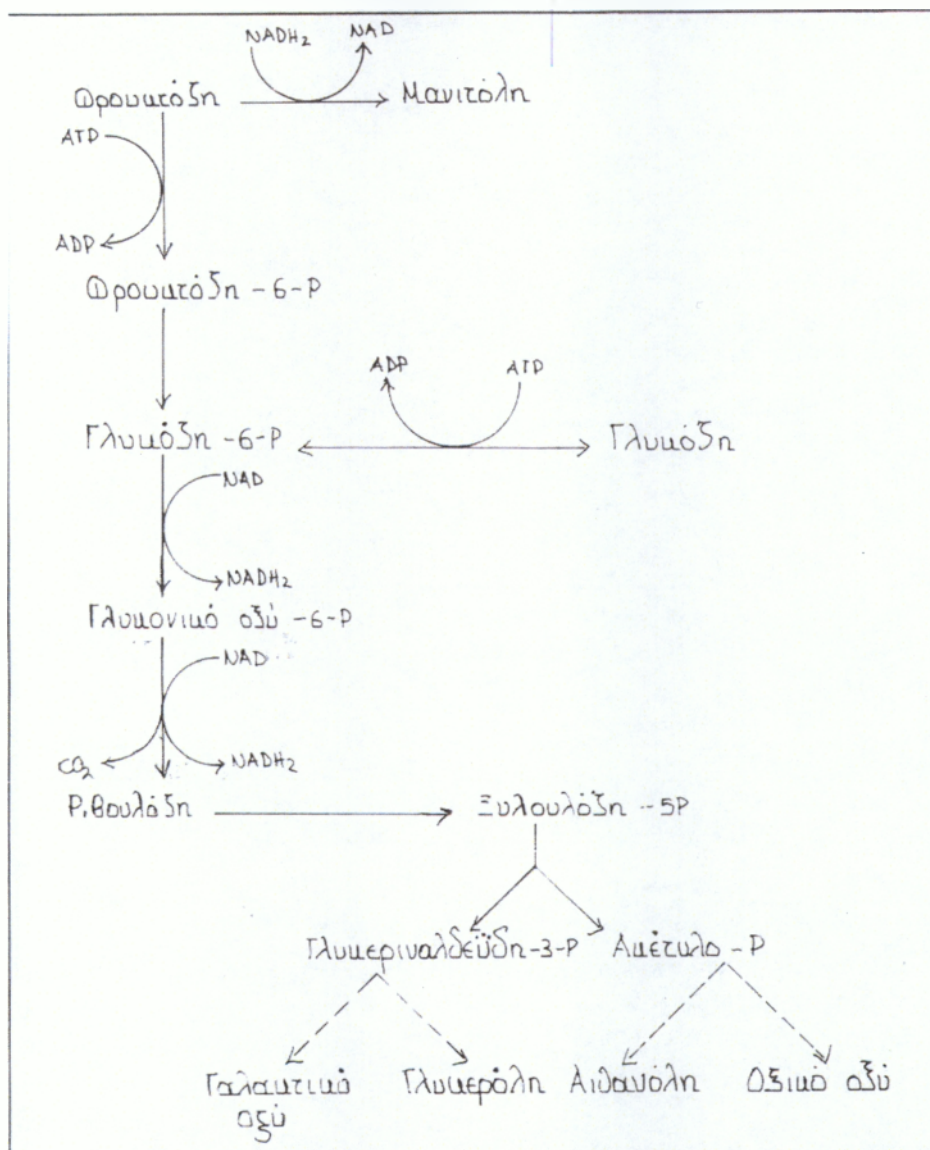
και σχηματίζουν γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ ή αλκοόλη και διοξείδιο του άνθρακος.

Από το σύνολο των γαλακτοβακτηρίων, ομοζυμωτικά είναι τα γένη *Streptococcus* και *Pedioroccus*, όπως και τα δυο από τα τρία υπογένη του *Lactobacillus*, τα *Streptococcus* και *Pedioroccus*.(Μπαλατσούρας, 2006)

Ακολουθούν σχήματα της ομογαλακτικής και ετερογαλακτικής ζύμωσης:



Ομογαλακτική ζύμωση  
(Τσακίρης, 1998)



Ετερογαλακτική ζύμωση  
(Τσακίρης, 1998)

## 2.5 Η ζύμωση των διαφόρων σακχάρων από τα γαλακτικά βακτήρια

Τα ζάχαρα που χρησιμοποιούνται για τη δοκιμή αυτή, ενσωματώνονται σε ένα θρεπτικό υλικό με pH 4,8. Το υλικό αυτό μπορεί να είναι είτε πεπτονούχο νερό εμπλουτισμένο σε μικροποσότητες με ανόργανα άλατα, είτε υδρολυμένη καζεΐνη που περιέχει εκχύλισμα ζυμών και ανόργανα άλατα.

Τα ζάχαρα που μπορούν να δοκιμαστούν είναι πολυάριθμα (γλυκόζη, φρουκτόζη, γαλακτόζη, αραβινόζη, ραμνόζη, μαλτόζη, λακτόζη, ζαχαρόζη, ραφινόζη, τριαλόζη, μελιβιόζη κλπ. ), αλλά οινολογικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν κυρίως οι εξόζες (γλυκόζη και φρουκτόζη) και οι πεντόζες (αραβινόζη και ξυλόζη).

Τα ζάχαρα αυτά - ανά ένα ή περισσότερα μαζί – ενσωματώνονται στο θρεπτικό υλικό, το οποίο εμβολιάζεται από μια καθαρή καλλιέργεια βακτηρίων. Στην περίπτωση που δοκιμάζονται ταυτόχρονα περισσότερα ζάχαρα, η χρωματογραφία σε χαρτί αποτελεί μια γρήγορη μέθοδο για τον έλεγχο της ζύμωσης αυτών.

Η γλυκόζη και η φρουκτόζη ζυμώνονται από όλα τα βακτήρια, ενώ δε συμβαίνει το ίδιο με τις πεντόζες, η ζύμωση των οποίων αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την ταξινόμηση τους.

Η ζύμωση των πεντοζών παρουσιάζει επίσης και σπουδαίο τεχνολογικό ενδιαφέρον, γιατί το φαινόμενο αυτό συνοδεύεται από ανάλογη αύξηση της πτητικής οξύτητας του οίνου. Ένα βακτήριο που προσβάλλει την αραβινόζη, προκαλεί αύξηση της πτητικής οξύτητας κατά 0,2-0,3 g/l, πέρα από εκείνη που σχηματίζεται κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση. Αντίθετα, ένα βακτήριο που προσβάλλει τη ξυλόζη (και δε προσβάλλει την αραβινόζη) είναι λιγότερο επικίνδυνο από το προηγούμενο. Αυτό συμβαίνει επειδή η σχηματιζόμενη πτητική οξύτητα θα είναι μικρότερη. (Σουφλερός, 1997)

## 2.6 Ο μεταβολισμός των οργανικών οξέων

Η δοκιμή αυτή αναφέρεται σε τρία οργανικά οξέα : το μηλικό, το κιτρικό και το τρυγικό.

Το μηλικό οξύ προσβάλλεται από τα περισσότερα γαλακτικά βακτήρια, τα οποία με τη βοήθεια του κατάλληλου ενζύμου το αποκαρβοξυλιώνουν προς γαλακτικό οξύ. Συχνά η σύνθεση ή μη του ενζύμου αυτού, από τα βακτήρια, εξαρτάται από το αν το θρεπτικό υπόστρωμα μέσα στο οποίο αναπτύσσονται περιέχει ή όχι μηλικό οξύ.

Το κιτρικό οξύ, περιέχεται, επίσης, στους οίνους και η αποσύνθεση του από τα γαλακτικά βακτήρια αποτελεί μια πολύ ενδιαφέρουσα δοκιμή διαφοροποίησης αυτών. Η ζύμωση του κιτρικού οξέος συνοδεύεται από αύξηση της πτητικής οξύτητας.

Το τρυγικό οξύ θεωρείται ως ένα οξύ σταθερό. Προσβάλλεται ωστόσο, από ελάχιστα είδη βακτηρίων και το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως “έκτροπή” ή “έκτροπίαση”. Η ασθένεια αυτή τείνει σήμερα να εκλείψει ολότελα από τα σύγχρονα οινοποιεία.

## 2.7 Η ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων σε σχέση με το pH

Η διάκριση ανάμεσα στα γαλακτικά βακτήρια γίνεται, ακόμη, και σε σχέση με την ικανότητα τους να αναπτύσσονται και να μεταβολίζουν ορισμένα συστατικά του οίνου σε οριακές τιμές pH.

Το άριστο pH, για την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων του οίνου, είναι γύρω στα 4,5 με 4,8. Τα βακτήρια, όμως, αυτά μπορούν να αναπτυχθούν και σε χαμηλότερα pH (μέχρι 3,0). Σύμφωνα με βιβλιογραφικές πηγές, οι κόκκοι παρουσιάζονται περισσότερο ανθεκτικοί σε χαμηλά pH, σε σχέση με τους βακίλλους, γεγονός που εξηγεί την εμφάνιση περισσότερων κόκκων σε βόρειους αμπελώνες.

Εκτός από την ανάπτυξη των βακτηρίων, και η δυνατότητα μεταβολισμού των διαφόρων συστατικών του οίνου επηρεάζεται από το pH. Έτσι, διακρίνουμε δύο οριακές τιμές pH, η μια που αναφέρεται στο μεταβολισμό των ζαχάρων και η άλλη στο μεταβολισμό του μηλικού οξέος. Όσο πιο μεγάλη είναι η διαφορά ανάμεσα στις δύο αυτές τιμές pH, τόσο πιο καλά προσαρμόζονται τα βακτήρια στη μηλογαλακτική ζύμωση του οίνου.

## **2.8 Συμπεριφορά των γαλακτικών βακτηρίων με βάση τη θερμοκρασία**

Τα βακτήρια του οίνου δεν είναι θερμοφιλά. Η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξής τους κυμαίνεται μεταξύ 20 και 25 °C. Η ικανότητα, όμως, να αναπτυχθούν παραμένει πάντοτε δυνατή ακόμη και ανάμεσα στους 15 και 35 °C. Για μια ομαλή μηλογαλακτική ζύμωση η ενδεικνυόμενη θερμοκρασία είναι 18-25 °C. Η θερμοκρασία επιδρά περισσότερο στη ταχύτητα των ζυμώσεων (γαλακτική και μηλογαλακτική) παρά στη ποσότητα των ζυμούμενων ζαχάρων.

## **2.9 Συμπεριφορά των γαλακτικών βακτηρίων παρουσία ή απουσία οξυγόνου**

Η ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων ευνοείται, άλλοτε παρουσία και άλλοτε απουσία οξυγόνου. Αυτό συμβαίνει, διότι τα γαλακτικά βακτήρια είναι είτε προαιρετικά αναερόβια είτε μικροαερόφιλα απέναντι στο O<sub>2</sub>, και αυτό εξαρτάται από την ομάδα ή το είδος του βακτηρίου στο οποίο ανήκουν.

## **2.10 Παραγωγή D(-) ή L(+) γαλακτικού οξέος από τη δράση των γαλακτικών βακτηρίων**

Ανάλογα με τη φύση του παραγόμενου γαλακτικού οξέος, τα γαλακτικά βακτήρια διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες:

- i. Σε εκείνα που παράγουν D(-) γαλακτικό οξύ και στα οποία ανήκουν κυρίως (με ελάχιστες εξαιρέσεις) οι ετεροζυμωτικοί κόκκοι,
- ii. Σε εκείνα που παράγουν L(+) γαλακτικό οξύ και στα οποία ανήκουν μόνο οι ομοζυμωτικοί βάκιλλοι,
- iii. Σε εκείνα που παράγουν ένα μίγμα D(-) και L(+) γαλακτικού οξέος και στα οποία ανήκουν (με ελάχιστες εξαιρέσεις) όλοι οι ετεροζυμωτικοί βάκιλλοι.

## **2.11 Η οικολογία των γαλακτικών βακτηρίων**

Τα γαλακτικά βακτήρια όπως και οι ζύμες βρίσκονται λίγο – πολύ παντού. Συναντιούνται πάνω στα σταφύλια, μέσα στο γλεύκος και στον οίνο και συνεπώς και στο οινοποιείο (μηχανήματα, δεξαμενές, δάπεδα, τοιχώματα κλπ.)

## Ταξινόμηση των γαλακτικών βακτηρίων του οίνου

(12 είδη)

Σύμφωνα με τους RIBEREAU-GANON et al.,1975

### ΚΟΚΚΟΙ

#### Ομοζυμωτικοί:

*Pediococcus cerevisiae* (ή *Vini*)

#### Ετεροζυμωτικοί:

|                           |                            |    |
|---------------------------|----------------------------|----|
| Δε ζυμώνουν τις πεντόζες  | <i>Leuconostoc gracile</i> | P- |
| Ζυμώνουν την αραβινόζη    | <i>Leuconostoc oenos</i>   | A+ |
| Ζυμώνουν τη ξυλόζη        | <i>Leuconostoc oenos</i>   | X+ |
| Ζυμώνουν τις δύο πεντόζες | <i>Leuconostoc oenos</i>   | P+ |

### ΒΑΚΙΛΛΟΙ

#### Ομοζυμωτικοί:

Κατά SHARPE

Παράγουν D(-) και L(+) γαλακτικό οξύ

|                             |                                |
|-----------------------------|--------------------------------|
| Ζυμώνουν τη μελιβιόζη       | <i>Lactobacillus plantarum</i> |
| Δε ζυμώνουν τη μελιβιόζη    | <i>Streptobacterium</i> sp     |
| Παράγουν L(+) γαλακτικό οξύ | <i>Lactobacillus casei</i>     |

Οινολογική ταξινόμηση:

|                                   |                                |      |
|-----------------------------------|--------------------------------|------|
| Ζυμώνουν πεντόζες και κιτρικό οξύ | <i>Lactobacillus plantarum</i> | P+C+ |
| Δε ζυμώνουν τις πεντόζες:         |                                |      |
| - Ζυμώνουν το κιτρικό οξύ         | <i>Streptobacterium</i> sp     | P-C+ |
| - Δε ζυμώνουν το κιτρικό οξύ      | <i>Lactobacillus casei</i>     | P-C- |

#### Ετεροζυμωτικοί:

|                           |                                   |    |
|---------------------------|-----------------------------------|----|
| Δε ζυμώνουν τις πεντόζες  | <i>Lactobacillus fructivorans</i> | P- |
| Ζυμώνουν την αραβινόζη    | <i>Lactobacillus desidiosus</i>   | A+ |
| Ζυμώνουν τη ξυλόζη        | <i>Lactobacillus hilgardii</i>    | X+ |
| Ζυμώνουν τις δύο πεντόζες | <i>Lactobacillus brevis</i>       | P+ |

## 2.12 Ταυτοποίηση των βακτηρίων

Η ταυτοποίηση των βακτηρίων γίνεται:

1. Με την εξέταση της ομοζυμωτικής και ετεροζυμωτικής ιδιότητας. Σε περιβάλλον με βάση τη γλυκόζη τα ομογαλακτικά βακτήρια δίνουν γαλακτικό οξύ κατά 95%, ενώ τα ετεροζυμωτικά βακτήρια δίνουν γαλακτικό οξύ, αιθανόλη, οξικό οξύ και CO<sub>2</sub>.
2. Με την ιδιότητα να ζυμώνουν την αραβινόζη και την ξυλόζη.
3. Με την ιδιότητα να παράγουν D(-) ή L(+) γαλακτικό οξύ από τη ζύμωση του μηλικού οξέος.

Στο οπτικό μικροσκόπιο δε μπορούμε να ταυτοποιήσουμε τα βακτήρια ούτε να τα διακρίνουμε από τα οξικά βακτήρια. Τέλος, τα γαλακτικά βακτήρια είναι Gram(+) ενώ τα οξικά βακτήρια Gram.([www.paseges.gr](http://www.paseges.gr))

## 2.13 Μηλογαλακτική αποικοδόμηση με προσθήκη βακτηρίων

Όταν ο πληθυσμός των γαλακτικών βακτηρίων φτάσει τα 10<sup>6</sup>/ml, η αποικοδόμηση του μηλικού οξέος γίνεται χωρίς αύξηση των βακτηρίων. Στη πράξη η προσθήκη μιας βιομάζας βακτηρίων μπορεί να προκαλέσει μηλογαλακτική ζύμωση στις κατάλληλες συνθήκες pH, θειώδους ανυδρίτη και αιθυλικής αλκοόλης. Για να αποκτήσουμε μια τέτοια “μαγιά” βακτηρίων αρκεί να καλλιεργήσουμε βακτήρια σε περιβάλλον ιδανικό για την αύξηση τους και κατόπιν εφαρμόζοντας την τεχνική του εμβολιασμού σε μικρό όγκο κρασιού να περάσουμε σε μεγαλύτερο, με την έναρξη της μηλογαλακτικής μετατροπής. Ήδη έχει αρχίσει η βιομηχανική παραγωγή γαλακτικών βακτηρίων για οινολογική χρήση και η ανάπτυξη τεχνικών που χρησιμοποιούν βακτήρια πάνω σε πλέγμα μέσα από το οποίο περνάει το κρασί.

Η αποικοδόμηση του μηλικού οξέος δε προσφέρει ενέργεια στα βακτήρια της μηλογαλακτικής ζύμωσης, τα οποία όμως αυξάνονται παίρνοντας ενέργεια από την αποικοδόμηση άλλων συστατικών του κρασιού και κυρίως των σακχάρων. Τα βλαβερά βακτήρια είναι πάντοτε επικίνδυνα γιατί προσβάλλουν κατά προτίμηση τα άλλα συστατικά και όχι το μηλικό οξύ. Τα χρήσιμα βακτήρια είναι αυτά που προκαλούν τη μηλογαλακτική ζύμωση και γίνονται βλαβερά μόνο κάτω από ορισμένες συνθήκες.(Τσακίρης,1998)

## 2.14 Μηχανισμός της δράσης των γαλακτικών βακτηρίων

- Αποικοδόμηση των σακχάρων από τα γαλακτικά βακτήρια

Όπως προαναφέρθηκε, ο ομογαλακτικός ή ομοζυμωτικός χαρακτήρας των γαλακτικών βακτηρίων ορίζεται από τη μετατροπή της γλυκόζης και σπανιότερα της φρουκτόζης σε δυο μόρια γαλακτικού οξέος. Η παραγωγή δευτερευόντων προϊόντων είναι σχεδόν ανύπαρκτη. Η ύπαρξη δυο γαλακτικούδρογονασών επιτρέπει τη σύνθεση του D(-) και L(+) γαλακτικού οξέος.

- Ετερογαλακτική ζύμωση

Είναι η αποικοδόμηση των σακχάρων από τα γαλακτικά βακτήρια κατά τη γαλακτική ασθένεια. Τα προϊόντα τα οποία παράγονται από τη ζύμωση αυτή μεταβάλλονται πολύ, ανάλογα με το είδος των γαλακτικών βακτηρίων και των συνθηκών της ανάπτυξης. (Τσακίρης, 1998)

## 2.15 Ο ρόλος των γαλακτικών βακτηρίων στη μηλογαλακτική ζύμωση

Η μηλογαλακτική ζύμωση στο κρασί είναι μια δευτερεύουσα ζύμωση, που συνήθως υφίσταται στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, αν και μερικές φορές συμβαίνει νωρίτερα. Είναι πρακτικά μια βιολογική διεργασία της από-οξείδωσης του οίνου, κατά την οποία το δι-καρβοξυλικό L-μηλικό μετατρέπεται στο μονοκαρβοξυλικό L-γαλακτικό και σε CO<sub>2</sub>. (Davis et al. 1985). Αυτή η διεργασία διεξάγεται από τα γαλακτικά βακτήρια (LAB), τα οποία είναι κυρίως γένη των ειδών *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus* spp και *Pediococcus* spp. (Wibowo et al. 1985).

Η ποικιλία της μεταβολικής δραστηριότητας των γαλακτικών βακτηρίων, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η μηλογαλακτική ζύμωση, μπορεί να επηρεάσει είτε θετικά είτε αρνητικά τη ποιότητα του κρασιού. Η γνώση του μεταβολισμού των γαλακτικών βακτηρίων, η οποία θα αναπτυχθεί σε επόμενο κεφάλαιο είναι απαραίτητη για να προσεγγίσουμε τη ποιότητα του οίνου.

## 2.16 Επιλογή ειδών γαλακτοβακτηρίων και στελεχών

Το σπουδαιότερο είδος για την μηλικογαλακτική ζύμωση, λόγω κυρίως της αντοχής του σε χαμηλή τιμή του pH, είναι το *Leuconostoc oenos*. Είναι το αντίστοιχο σε σπουδαιότητα με το *Saccharomyces cerevisiae* για την αλκοολική ζύμωση.

Τα χαρακτηριστικά του στελέχους του *Leuconostoc oenos* που το καθιστούν ικανό για επιτυχή γαλακτική ζύμωση του κρασιού είναι τα ακόλουθα:

- ο Αντοχή στην αιθανόλη μέχρι 15°Baume .
- ο Αντοχή στο SO<sub>2</sub> μέχρι συγκεντρώσεως 5 γραμ. κατά εκατόλιτρο.
- ο Ικανότητα για ανάπτυξη σε θ° 10-15° C.
- ο Ικανότητα για ανάπτυξη σε τιμές pH ακόμα και κατώτερες του 3,0.
- ο Εξασφάλιση στο ζυμωμένο κρασί καλών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών.
- ο Αντοχή στους βακτηριοφάγους.
- ο Ανικανότητα να παράγει εξωκυτταρικά κόμμεα ή βλεννώδεις ουσίες.

Η βελτίωση δεν είναι δυνατή μέσω της γενετικής διαδικασίας για τα διάφορα στελέχη των γαλακτοβακτηρίων.

Πολλές φορές τα καλά χαρακτηριστικά των γαλακτοβακτηρίων σε ένα θρεπτικό υπόστρωμα δεν εξελίσσονται ως έχουν και όταν το ίδιο βακτήριο αναπτυχθεί και στο κρασί.

Το καλύτερο είναι το στέλεχος *Leuconostoc oenos* MA34 σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα (Bousbouras and Kunkee, 1971).

## 2.17 Είδη βακτηρίων υπεύθυνα για την μηλογαλακτική ζύμωση

Σύμφωνα με ερευνητικά δεδομένα των Peynaud και Domercq (1961 – 1968) υπεύθυνα για τη μηλογαλακτική ζύμωση των κρασιών ήταν τα κάτωθι είδη βακτηρίων (Barre, 1970):

- 1) *Pediococcus cerevisiae*,
- 2) *Leuconostoc oenos* (τύποι A, X και P),
- 3) *Leuconostoc gracile*,
- 4) *Lactobacillus plantarum*,
- 5) *Lactobacillus casei*,

- 6) *Lactobacillus fructivorans*,
- 7) *Lactobacillus desidiosus*,
- 8) *Lactobacillus hilgardii* και
- 9) *Lactobacillus brevis*

### **Τα πιο σημαντικά είδη : *Leuconostoc oenos*, *Pediococcus cerevisiae***

Τα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των δύο γαλακτοβακτηρίων *Leuconostoc oenos* και *Pediococcus cerevisiae* που έχουν ιδιαίτερη σημασία, θετική ή αρνητική, για την μηλικογαλακτική ζύμωση των κρασιών έχουν ως ακολούθως:

#### ☐ *Leuconostoc oenos*

Τα κύτταρά του είναι σφαιρικά ή σχήματος φακής, απαντούν σε ζεύγη ή σε αλυσίδες και έχουν διαστάσεις 0,5 – 1,0 x 0,7- 1,5 μm. Αναπτύσσεται ελάχιστα στην επιφάνεια των θρεπτικών υλικών ακόμη και υπό αναερόβιες συνθήκες. Αναπτύσσεται καλύτερα σε pH 4,2 – 4,8 και σε θρεπτικά υλικά που περιέχουν τοματοχυμό. Η ανάπτυξη είναι πάντοτε βραδεία.

Όλα τα στελέχη ζυμώνουν την γλυκόζη, την φρουκτόζη και την τρεαλόζη.

Η ικανότητα να ζυμώνει την αραβινόζη, την ξυλόζη και άλλους μονοσακχαρίτες ή δισακχαρίτες, ποικίλλει από στέλεχος σε στέλεχος. Δεν ζυμώνει την ζαχαρόζη, ενώ ζυμώνει το μηλικό οξύ. Έχει πολύπλοκες ανάγκες σε αμινοξέα και σε αυξητικούς παράγοντες. Αναπτύσσεται σε εύρος θερμοκρασίας 10° C ως 30° C με optimum σε εύρος 18° C ως 24° C. Είναι ετεροζυμωτικό είδος και παράγει από την γλυκόζη D(-), γαλακτικό οξύ.

#### ☐ *Pediococcus cerevisiae*

Στο κρασί απαντά το είδος *Pediococcus cerevisiae* που τελευταία ονομάζεται *Pediococcus damnosus*. Τα κύτταρα είναι σφαιρικά ενωμένα σε ζεύγη ή τετράδες και έχουν διάμετρο 0,6 – 1 μm.

Υπό αναερόβιες συνθήκες σχηματίζει αποικίες επιφανειακά, διαμέτρου 2 – 3mm, χρώματος λευκού με τάση προς το κίτρινο. Ζυμώνει την γλυκόζη και την φρουκτόζη, ενώ δεν ζυμώνει την σακχαρόζη και τις πεντόζες. Είναι είδος ομοζυμωτικό και παράγει DL- γαλακτικό οξύ. Αναπτύσσεται σε εύρος pH μεταξύ 3,5 και 6,2 με optimum θερμοκρασίας στους 25°C. Είναι πολύ διαδεδομένο στη φύση και ιδιαίτερα στα τρόφιμα. (Μπαλατσούρας, 2006)

### **3. ΕΡΥΘΡΑ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ**

#### **3.1 Γενικά**

Τα ερυθρά κρασιά για να πάρουν αυτό το βαθύ χρώμα που έχουν, πρέπει να παρασκευαστούν έτσι ώστε, να παραμείνει το γλεύκος μαζί με τα στέμφυλα πολλές ημέρες. Αυτό το κρασί παρασκευάζεται από το φλοιό, τη σάρκα και τα γίγαρτα και δεν είναι προϊόν μόνον του χυμού της σάρκας της σταφυλής.

Παλαιότερα, τα σταφύλια μεταφέρονταν στα πατητήρια και το γλεύκος το έπαιρνε ο παραγωγός, χωρίς να ζυμωθεί μαζί με τα στέμφυλα. Δε γινόταν η εκχύλιση, δηλαδή η παραμονή του γλεύκους με τα στερεά συστατικά του σταφυλιού και το κρασί είχε ανοιχτό κόκκινο χρώμα, το κρασί δηλαδή ήταν κοκκινέλι. Αργότερα οι Γάλλοι ακολούθησαν τη μόδα της εποχής των ερυθρών κρασιών. Έτσι θα πρέπει να γνωρίζουμε ότι τα βαθύχρωμα ερυθρά κρασιά έχουν ιστορία μικρότερη από τρεις αιώνες. (Τσέτουρας, 2005)

#### **3.2 Χαρακτηριστικά της ερυθρής οινοποίησης**

##### **Εκχύλιση**

Η εκχύλιση είναι το κυριότερο χαρακτηριστικό της ερυθράς οινοποίησης. Αυτό σημαίνει ότι τη μεγαλύτερη σπουδαιότητα σε αυτό το είδος οινοποίησης, έχει η ποιότητα του σταφυλιού. Αντίθετα, μπορούμε να πούμε ότι για τη λευκή οινοποίηση μεγάλη σπουδαιότητα έχει η τεχνολογία (πιεστήριο, απολάσπωση) που μας επιτρέπει τη παραλαβή των επιθυμητών μόνο τμημάτων του χυμού του σταφυλιού και η ζύμωση σε χαμηλή θερμοκρασία (ψύξη). Στην περίπτωση της ερυθράς οινοποίησης, σημαντικό ρόλο παίζει ο φλοιός της ρόγας από την οποία γίνεται και η εκχύλιση των συστατικών, και της οποίας η ποιότητα εξαρτάται περισσότερο από τις κλιματολογικές συνθήκες απ' ό,τι η ποιότητα της σάρκας. Ο σχηματισμός των χρωστικών στο φλοιό προϋποθέτει ηλιοφάνεια και θερμοκρασία μεγαλύτερη από αυτή που είναι αναγκαία για την ωρίμανση του εσωτερικού της ράγας. Η ποιότητα των σταφυλιών που προορίζονται για ερυθρά οινοποίηση δεν είναι μόνο συνάρτηση της ποσότητας των ερυθρών χρωστικών αλλά και της σύνθεσής τους.

### **3.3 Σημασία της μεταφοράς, της τοποθέτησης των κρασοστάφυλων και της επεξεργασίας τους στο οινοποιείο**

Οι συνθήκες μεταφοράς των σταφυλιών και υποδοχής τους στη σταφυλοδόχο έχουν πολύ μεγάλη σημασία. Είναι απαραίτητο να αποφεύγουμε κάθε πρόωμη ανάπτυξη μικροοργανισμών και για το λόγο αυτό η μεταφορά πρέπει να αφήνει ανέπαφα τα σταφύλια και να είναι γρήγορη. Τα μεταφορικά μέσα που χρησιμοποιούνται δεν πρέπει να προκαλούν μεγάλες πιέσεις στο σταφύλι και όλα τα δοχεία μεταφοράς πρέπει να απολυμαίνονται καθημερινά.

#### **3.3.1. Απορραγισμός (αποβοστρύχωση)**

Πρόκειται για μια μηχανική κατεργασία του σταφυλιού της οποίας η χρησιμότητα αμφισβητείται σε ορισμένες περιπτώσεις ιδίως στη περίπτωση των καλά ώριμων σταφυλιών των οποίων τα τσάμπουρα περιέχουν ταννίνες καλής ποιότητας. Έχει το πλεονέκτημα να μειώνει κατά 30% περίπου τον όγκο του υπό κατεργασία σταφυλοπολτού, με αποτέλεσμα τη μείωση του αναγκαίου όγκου δεξαμενών και τη μείωση των στέμφυλων που πρέπει να πιέσουμε. Υπάρχουν διάφοροι τρόποι μηχανικού απορραγισμού. Ένα τέτοιο σύστημα δε πρέπει να αφήνει ρόγες πάνω στα τσάμπουρα, το οποίο βέβαια δε θα πρέπει να διαβρέχει με γλεύκος τα τσάμπουρα καθώς τα απομακρύνει, ούτε να επιτρέπει να περνούν τσάμπουρα στο σταφυλοπολτό. Το απορραγιστήριο, όπως και ο σπαστήρας, πρέπει να σέβεται τη ρόγα και να μη την πολτοποιεί με βίαιο τρόπο, γιατί είναι δυνατόν να παραλάβουμε το χυμό που περιέχουν τα κύτταρα τους και ο οποίος είναι εξαιρετικά πλούσιος σε συστατικά πικρά και στυφά.

#### **3.3.2. Έκθλιψη**

Η έκθλιψη της ρόγας του σταφυλιού έχει σκοπό να ελευθερώσει το χυμό, ο οποίος ταυτόχρονα αερίζεται ελαφρά και αναμιγνύεται με τις ζύμες που βρίσκονται στην επιφάνεια του σταφυλιού. Ο σταφυλοπολτός μεταφέρεται στη δεξαμενή ζυμώσεως με τη βοήθεια αντλίας και ταυτόχρονα μπορεί να γίνει προσθήκη θειώδους ανυδρίτη κατά ομοιογενή τρόπο. Η έκθλιψη πρέπει να γίνεται χωρίς βιαιότητα, διότι η σάρκα ανάλογα με τη βιαιότητα της έκθλιψης μπορεί να μείνει σχεδόν ανέπαφη, ή να ελευθερώσει το μεγαλύτερο μέρος του χυμού που περικλείει. Μια βίαιη έκθλιψη

μπορεί να προκαλέσει την απότομη έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, αποτέλεσμα της πλήρους ανάμειξης των ζυμών με ταυτόχρονο αερισμό τους.

### **3.3.3. Μεταφορά του σταφυλοπολτού**

Η εισαγωγή των σταφυλιών μπορεί να γίνει απ' ευθείας μέσα στη δεξαμενή ζύμωσης με απλή πτώση. Από τη σταφυλοδόχο, ο σταφυλοπολτός (στέμφυλα και γλεύκος) με μια αντλία και με σύστημα σωληνώσεων οδηγείται στις δεξαμενές ζύμωσης. Οι αντλίες αυτές θα πρέπει να είναι ικανές για τη μεταφορά του σταφυλοπολτού χωρίς να προκαλούν μεγάλη καταπόνηση των ήδη σπασμένων ρωγών. Πριν από την εισαγωγή στη δεξαμενή, ο σταφυλοπολτός πρέπει να θειώνεται με αυτόματο ή όχι τρόπο σε όλη τη διάρκεια της πλήρωσης της δεξαμενής, ώστε να επιτυγχάνεται αύξηση της ομογενοποίησης της θείωσης. Η ανακύκλωση του γλεύκους στη δεξαμενή βελτιώνει την ομογενοποίηση.

### **3.3.4. Αλκοολική ζύμωση**

Η αλκοολική ζύμωση πραγματοποιείται από τις ζύμες, οι οποίες είναι μονοκύτταροι οργανισμοί που βρίσκονται στη φλούδα των σταφυλιών και έχουν πλέον περάσει στο σταφυλοπολτό. Είναι η μετατροπή των σακχάρων σε αλκοόλη με ταυτόχρονη απελευθέρωση CO<sub>2</sub> το οποίο δημιουργεί φουσαλίδες. Αυτές με τη σειρά τους ανεβάζουν τις φλούδες στην επιφάνεια των δεξαμενών, σχηματίζοντας μια κρούστα που ονομάζεται "καπέλο". Ο κυριότερος ζυμομύκτας είναι ο *Saccharomyces cereviceae*.(από <http://www.charismatikiwines.com/red>)

Οι ερυθρές χρωστικές ουσίες στις οποίες οφείλεται το κόκκινο χρώμα του κρασιού, βρίσκονται στο εσωτερικό των φλοιών του σταφυλιού. Μόνο η επαφή του χυμού με το φλοιό, στη σωστή θερμοκρασία και για συγκεκριμένο χρόνο, δίνει το επιθυμητό αποτέλεσμα του χρωματισμού του. Γι' αυτό "τραβούμε" το χυμό από το πυθμένα της δεξαμενής και τον ανακυκλώνουμε από τη κορυφή της έτσι ώστε με αυτό τον τρόπο να διαβρέχουμε τα στέμφυλα.

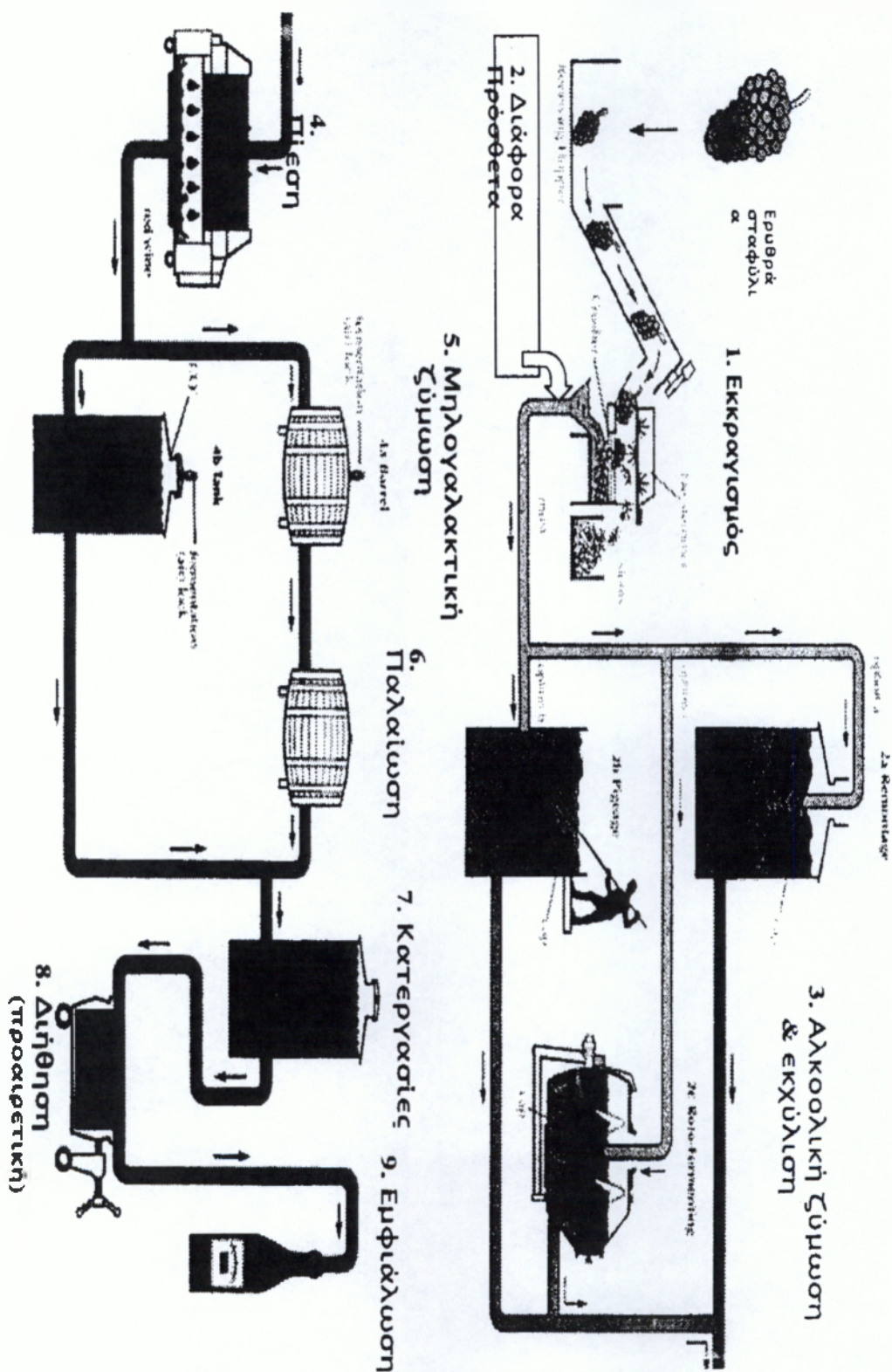
Στα κόκκινα κρασιά, συχνά η ζύμωση γίνεται σε δυο φάσεις, η πρώτη είναι γρήγορη, στη διάρκεια της οποίας μέσα στο μούστο βρίσκονται τα στέμφυλα και η δεύτερη, πιο αργή, μετά την αφαίρεση των στέμφυλων. Κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, αυξάνεται η θερμοκρασία του χυμού και αυτό συμβαίνει γιατί κατά τη ζύμωση εκλύεται θερμότητα. Σκοπός είναι να διατηρηθεί η θερμοκρασία

στους 28 °C, όπου είναι η ιδανική για παραγωγή ερυθρών κρασιών. Μόλις ο χυμός αποκτήσει το επιθυμητό χρώμα, απομακρύνεται από τους φλοιούς και μεταφέρεται σε άλλη δεξαμενή. Η θερμοκρασία της αλκοολικής ζύμωσης κυμαίνεται στους 20 – 28 °C και ο χρόνος διάρκειας της από 8 – 9 μέχρι 25 μέρες, όσο πιο πολύ διαρκεί τόσο πιο πολλά "αρώματα ζύμωσης " θα πάρει το κρασί.(από <http://www.infowine.gr>)

Η ζύμωση μπορεί να διακοπεί πριν την ολοκλήρωσή της με θέρμανση (38 – 40 °C), με ψύξη (6 -7 °C) ή με προσθήκη καθαρού οينوπνεύματος. Αν η ζύμωση διακοπεί, ένα ποσοστό των σακχάρων μένει αδιάσπαστο και έτσι η μέθοδος βρίσκει εφαρμογή στην παρασκευή γλυκών κρασιών.

Το γλεύκος σε ζύμωση διαχωρίζεται απλά με βαρύτητα αλλά πάντοτε με δυσκολία που οφείλεται στο φράξιμο του κρουνού από τον οποίο γίνεται η μετάγγιση. Με τη βοήθεια αντλίας μεταφέρεται σε μια άλλη δεξαμενή, όπου θα τελειώσει η αλκοολική ζύμωση και θα πραγματοποιηθεί η μηλογαλακτική ζύμωση. Το κρασί που προκύπτει αποτελεί το "κρασί χωρίς πίεση". Τα στέμφυλα απαλλαγμένα από το υγρό, μεταφέρονται έξω από τη δεξαμενή υποδοχής του γλεύκους και πιέζονται για να δώσουν το "κρασί πίεσης ". Η πορεία της αλκοολικής ζύμωσης παρακολουθείται καθημερινά με μέτρηση του ειδικού βάρους. Όταν αυτό μειωθεί στην τιμή 1,00 η μέτρηση του ειδικού βάρους δεν είναι αρκετή για το προσδιορισμό του τέλους της αλκοολικής ζύμωσης, δηλαδή της εξαφάνισης όλων των σακχάρων που μπορούν να ζυμωθούν, έτσι γίνεται ακριβή μέτρηση των σακχάρων και θεωρούμε ότι η αλκοολική ζύμωση έχει τελειώσει όταν η περιεκτικότητα σε σάκχαρα μετρημένη με το φελίγγειο υγρό, είναι μικρότερη από 2 g/l.(από <http://www.comoutos.gr>)

# Ερυθρή Οινοποίηση



Διαδικασία παραγωγής ερυθρών οίνων  
(από <http://www.kynigos.net>)

## 4. ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

Τα γαλακτικά βακτήρια προκαλούν διάφορες μεταβολές στα συστατικά του οίνου, από τις οποίες άλλες είναι επιθυμητές και άλλες ανεπιθύμητες. Οι κυριότερες από αυτές η μηλογαλακτική ζύμωση, η γαλακτική ζύμωση των ζαχάρων (εξόζες, πεντόζες), η γαλακτική ζύμωση των διαφόρων οξέων (κιτρικό και τρυγικό) και η γαλακτική ζύμωση της γλυκερόλης.

Από όλες αυτές τις βακτηριακές μετατροπές, που συμβαίνουν στους οίνους, μόνο η μηλογαλακτική ζύμωση είναι χρήσιμη και επιζητείται για ορισμένους τύπους οίνου. Οποιαδήποτε άλλη βακτηριακή δράση πάνω στα συστατικά του οίνου είναι επικίνδυνη και πρέπει να αποφεύγεται.

Παρακάτω θα εξεταστούν αναλυτικά οι μεταβολές ή οι αλλοιώσεις των συστατικών του οίνου, από τα γαλακτικά βακτήρια. (Σουφλερός, 1997)

### 4.1 Γενικά

Σημαντική μείωση της ολικής οξύτητας στους οίνους σε σχέση με τα αρχικά γλέυκη και μάλιστα πολύ μεγαλύτερη από εκείνη που οφείλεται συνήθως στην πτώση του όξινου τρυγικού καλίου, παρατηρήθηκε για πρώτη φορά το 1864 από τους BERTHELOT και DE FLEURIEU. Στη συνέχεια πολλοί άλλοι ερευνητές, διαπίστωσαν το ίδιο φαινόμενο τόσο στον οίνο όσο και σε άλλα προϊόντα ζύμωσης, όπως π.χ. ο μηλίτης οίνος, και απομόνωσαν βακτήρια ικανά να αποσυνθέσουν το μηλικό οξύ. Από άλλους πάλι ερευνητές, μια τέτοια πτώση οξύτητας αποδόθηκε σε δράση των ζυμών.

Το φαινόμενο αυτό, που προκαλεί τη φυσική πτώση της οξύτητας, ονομάστηκε μηλογαλακτική ζύμωση και πραγματοποιείται σύμφωνα με τη γενική εξίσωση:



Το φαινόμενο αυτό για πολλά χρόνια δε θεωρήθηκε ως ζύμωση αλλά ως μια μετατροπή ενός προϊόντος σε άλλο. Η έκλυση ενέργειας, η οποία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη των βακτηρίων και η οποία αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα των ζυμώσεων, δεν ήταν εμφανής.

Είναι γνωστό ότι η μηλογαλακτική ζύμωση, λαμβάνει χώρα μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης και αφορά την αποικοδόμηση του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα, με βάση τη δραστηριότητα, πλέον, του μηλο-γαλακτικού ενζύμου που καθοδηγεί το μεταβολισμό των γαλακτικών βακτηρίων, ιδιαίτερα του είδους *Oenococcus oeni*.

Σύμφωνα με την Guilloux-Benatier M., 1997, αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα γαλακτικά βακτήρια αναπτύσσουν ένα σύστημα αυτοάμυνας έναντι χαμηλών pH των οίνων, εξασκώντας μια πρωτοκίνητική δύναμη στην κυτταρική τους μεμβράνη, με εναλλαγή πρώτης ύλης (μηλικό οξύ) και μεταβολιτών (γαλακτικό οξύ, διοξείδιο του άνθρακα, διακετύλιο κτλ.).

## 4.2 Η σπουδαιότητα της μηλογαλακτικής ζύμωσης

Η σπουδαιότητα της μηλογαλακτικής ζύμωσης θεωρήθηκε τόσο μεγάλη, που ορισμένοι σύγχρονοι Γάλλοι ερευνητές και συγγραφείς, όπως οι J. RIBEREAU-GAYON και E. PEYNAUD, διατύπωσαν την άποψη ότι:

“είναι απόλυτα ανακριβές να θεωρούμε ότι ένας οίνος υψηλής ποιότητας είναι αποτέλεσμα μιας καθαρής αλκοολικής ζύμωσης. Δεν είναι καθόλου υπερβολή, να πούμε ότι δε θα υπήρχαν υψηλής ποιότητας οίνοι (grands vins), ακόμη και στο Bordeaux, χωρίς τη μηλογαλακτική ζύμωση. Όλοι οι “μεγάλοι οίνοι” δεν περιέχουν καθόλου ή περιέχουν πολύ λίγο μηλικό οξύ, ενώ αντίθετα είναι πλούσιοι σε γαλακτικό οξύ”.

Η παρουσία του μηλικού οξέος στους οίνους, τους προσδίδει γεύση και οσμή πράσινων μη ώριμων φρούτων, ένα είδος σταφίδας και μια τραχύτητα ανεπιθύμητη. Τα χαρακτηριστικά αυτά αποτελούν ένα σοβαρό μειονέκτημα στην ποιότητα των λεπτών ερυθρών οίνων, καθώς επίσης και των λευκών γλυκών. Ο καταναλωτής

ακόμη και για τους οίνους κοινής κατανάλωσης, προτιμά εκείνους που είναι απαλοί και με χαμηλή οξύτητα.

Το CO<sub>2</sub> που σχηματίζεται κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση και ελευθερώνεται, γίνεται η αιτία για τη μείωση της οξύτητας. Το μηλικό οξύ έχει δύο ομάδες καρβοξυλίου, ενώ το γαλακτικό οξύ έχει μόνο μία. Αποτέλεσμα αυτής της μετατροπής είναι, επομένως, η μείωση της σταθερής οξύτητας που υπολογίζεται ίση με το ποσό που αντιστοιχεί στο μισό μηλικό οξύ που χάθηκε.

Η μηλογαλακτική ζύμωση με τη μετατροπή του μηλικού οξέος, που έχει έντονη γεύση, σε ένα άλλο οξύ, το γαλακτικό, που είναι λιγότερο "επιθετικό" πάνω στους γευστικούς κάλυκες της γλώσσας για ίσιες οξύτητες, εξαλείφει τα μειονεκτήματα αυτά από τους οίνους και καθιστά τη κατανάλωσή τους πιο ευχάριστη. Το άρωμα του μεταβάλλεται βαθιά, εμπλουτίζεται σε αποχρώσεις και γίνεται ευχάριστο. Οι νέοι ερυθροί οίνοι γίνονται απαλοί, μυελώδεις, σαρκώδεις και δημιουργούν άρωμα και γεύση με «σώμα», χαρακτηριστικά που συνθέτουν την ποιότητα ενός καλού οίνου.

Η σημερινή αντίληψη πάνω στη μηλογαλακτική ζύμωση είναι ότι οι ερυθροί οίνοι, στους οποίους το μηλικό οξύ δεν αποσυντέθηκε από τα βακτήρια, είναι προϊόντα που οινοποιήθηκαν ακατάλληλα. Η αντίληψη αυτή είναι γενική τόσο για οίνους κοινής κατανάλωσης, όσο και για οίνους υψηλής ποιότητας, άσχετα με τις κλιματολογικές συνθήκες που επικρατούν στις διάφορες περιοχές. Κατά συνέπεια, δεν είναι πλέον αλήθεια να λέμε ότι : "οι ζύμες κάνουν τον οίνο, τα βακτήρια τον καταστρέφουν", αλλά πρέπει να ξέρουμε να ευνοούμε τα επιθυμητά βακτήρια και να παρεμποδίζουμε την ανάπτυξη των επιβλαβών.

Στη χώρα μας η μηλογαλακτική ζύμωση, εκτός από ορισμένες μεμονωμένες περιπτώσεις, δεν επιδιώκεται συστηματικά παρόλα τα πλεονεκτήματα που έχει να προσφέρει.

Έρευνες, που βρίσκονται σε εξέλιξη (SOUFLEROS et al., 1997) δείχνουν ότι η πραγματοποίηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης συνοδεύεται με αύξηση των βιογενών αμινών. Η αύξηση θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική στις περιπτώσεις εκείνες, όπου τα γλεύκη είναι πλούσια σε αζωτούχες ουσίες (αμινοξέα). Τα αποτελέσματα αυτά μας ωθούν στη λήψη μέτρων, που περιορίζουν την ύπαρξη υψηλών περιεκτικότητας αζωτούχων ενώσεων στα σταφύλια ή και στην επιλογή καταλλήλων στελεχών γαλακτικών βακτηρίων, που θα συνθέτουν μικρές ποσότητες βιοαμινών. Από όλα αυτά τα μέτρα, φαίνεται ότι η έγκαιρη επέμβαση του οινολόγου για το σταμάτημα της βακτηριακής δραστηριότητας, αμέσως μετά την αποικοδόμηση του

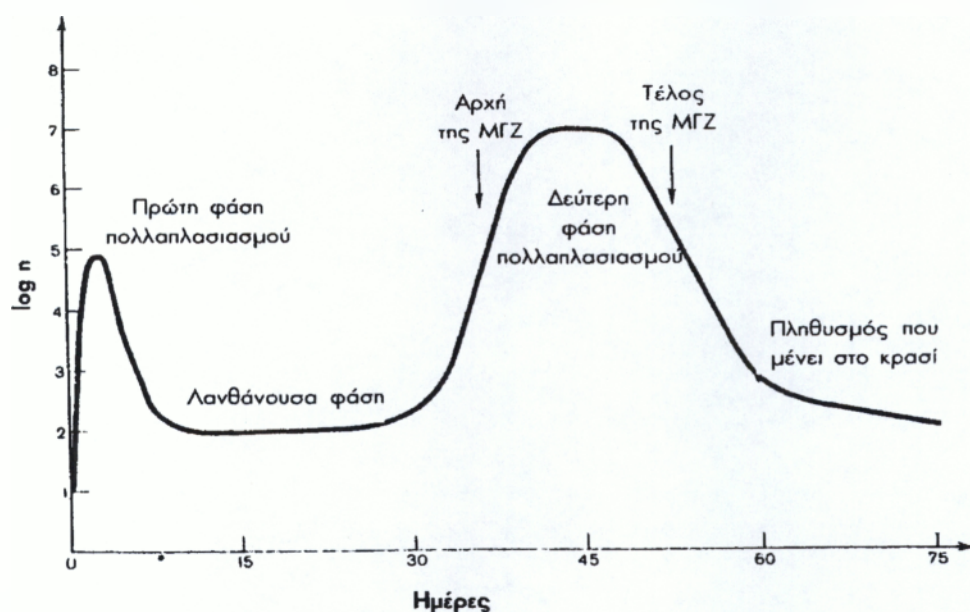
μηλικού οξέος, αποτελεί έναν από τους πρωτεύοντες στόχους (SOUFLEROS et al., 1997).

### 4.3 Η πορεία της μηλογαλακτικής ζύμωσης

Η εξέλιξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης εξαρτάται σημαντικά από τον πολλαπλασιασμό των γαλακτικών βακτηρίων. Σύμφωνα με διάφορους ερευνητές, η ανάπτυξη του βακτηριακού πληθυσμού παρουσιάζει δύο διαδοχικούς κύκλους. Ο πρώτος αρχίζει από τις πρώτες στιγμές της οينوποίησης και συμβαδίζει με την ανάπτυξη των ζυμών. Ο σχηματισμός όμως της αλκοόλης, συντελεί στη παρεμπόδιση του πολλαπλασιασμού των βακτηρίων για χρονικό διάστημα που κυμαίνεται από μερικές ημέρες μέχρι μερικές εβδομάδες. Η περίοδος αυτή αποτελεί τη “λανθάνουσα φάση”, στη διάρκεια της οποίας επιχειρείται η προσαρμογή του βακτηριακού πληθυσμού στις νέες συνθήκες.

Μετά τη περίοδο της λανθάνουσας φάσης, ξαναρχίζει ο πολλαπλασιασμός των βακτηρίων και μαζί του ο δεύτερος κύκλος της ανάπτυξης τους. Όταν ο αριθμός τους φτάσει σε ένα ορισμένο μέγεθος ( $10^6/\text{cm}^3$ ), τότε αρχίζει η πραγματοποίηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης.

Η εξέλιξη του βακτηριακού πληθυσμού και της μηλογαλακτικής ζύμωσης, κατά τη διάρκεια μιας ερυθρής οينوποίησης, φαίνεται παραστατικά στην εικόνα 1 (RIBEREAU-GAYON et al., 1975)



Εικ. 1 Εξέλιξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης

Η όλη πορεία του πολλαπλασιασμού των βακτηρίων και η εξέλιξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες. Τέτοιοι παράγοντες είναι αυτοί που αναφέρθηκαν στην ταξινόμηση των γαλακτικών βακτηρίων (pH, θερμοκρασία οξυγόνου, φυσιολογικά χαρακτηριστικά) καθώς και άλλοι που θα εκτεθούν στη συνέχεια .

- Η διάρκεια παραμονής του οίνου με τα στέμφυλα : Πρώιμος αποχωρισμός του οίνου από τα στέμφυλα απομακρύνει το μεγαλύτερο μέρος των γαλακτικών βακτηρίων, με αποτέλεσμα την καθυστέρηση της εκδήλωσης της μηλογαλακτικής ζύμωσης.

- Το  $N_2$  ως θρεπτικό στοιχείο : Ορισμένα αμινοξέα όπως τα : αλανίνη, αργινίνη, ιστιδίνη, λευκίνη, φαινυλαλανίνη, σερίνη, γλουταμινικό οξύ, κλπ. θεωρούνται απαραίτητα για την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων, παρά το ότι οι ανάγκες αυτές, εξαρτώνται πολύ από το είδος και το στέλεχος του καθενός. Σε γενικές γραμμές οι κόκκοι έχουν μεγαλύτερες ανάγκες σε αμινοξέα, επειδή παρουσιάζουν το φαινόμενο της ετεροτροφίας πιο έντονο από τους βακίλλους.

- Οι βιταμίνες : οι ανάγκες σε βιταμίνες, όπως είναι : η θειαμίνη, το παντοθενικό οξύ, το νικοτινικό οξύ, η πυριδοξίνη, η βιοτίνη και η μεσοϊνσιτόλη ποικίλουν ανάλογα με τα βακτήρια. Αντίθετα από ότι συμβαίνει με τα αμινοξέα, οι βάκιλλοι είναι πιο πολύ απαιτητικοί σε βιταμίνες σε σχέση με τους κόκκους.

- Τα ανόργανα στοιχεία : τα στοιχεία Mn, Mg, K, Fe, SO<sub>4</sub>, κλπ., είναι επίσης απαραίτητα στην ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων.

- Η αλκοόλη : γενικά, τα γαλακτικά βακτήρια που βρίσκονται στον οίνο είναι ανθεκτικά στην αλκοόλη, όχι όμως και εκείνα που συναντιούνται στα σταφύλια. Παρόλη την αυξημένη ανθεκτικότητά τους, η αλκοόλη ασκεί δυσμενή επίδραση στην ανάπτυξη τους η οποία και πάλι βέβαια εξαρτάται από το είδος και το στέλεχος του καθενός. Κατά κανόνα οι βάκιλλοι φαίνονται πιο ανθεκτικοί στην αλκοόλη σε σχέση με τους κόκκους. Το γεγονός αυτό εξηγεί τη πραγματοποίηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης, στα θερμά μέρη, από τους γαλακτοβάκιλλους.

- Το SO<sub>2</sub> : τα γαλακτικά βακτήρια είναι περισσότερο ευαίσθητα στον ανυδρίτη του θειώδους οξέος από ότι οι ζύμες. Για το λόγο αυτό στις περιπτώσεις που επιθυμούμε την εκδήλωση της μηλογαλακτικής ζύμωσης, οφείλουμε να είμαστε πολύ προσεκτικοί στις ποσότητες του προστιθέμενου SO<sub>2</sub>. Η τοξικότητα του εξαρτάται από το pH του υποστρώματος και βρέθηκε πιο ισχυρή σε υψηλότερες οξύτητες. Οι κόκκοι είναι λιγότερο ανθεκτικοί από τους βακίλλους. Ποσότητα 20 mg/l ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη επιβραδύνει την εκδήλωση της μηλογαλακτικής ζύμωσης, ενώ 100 mg/l καταστρέφουν ολότελα τα γαλακτικά βακτήρια.

Άλλοι ανασταλτικοί παράγοντες στην ανάπτυξη των βακτηρίων είναι τα διάφορα αντιβιοτικά και άλλα αντισηπτικά. Η χρήση, όμως, αυτών των ουσιών είναι απαγορευμένη στον οίνο και επομένως περιττό να τα αναφέρουμε.

Τέλος, υπάρχει ο ανταγωνισμός ανάμεσα στις ζύμες και τα βακτήρια, που επηρεάζει άμεσα ή έμμεσα την εξέλιξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Έχει αποδειχτεί ότι ο χρόνος εκδήλωσης της μηλογαλακτικής ζύμωσης επηρεάζεται από το είδος των ζυμών, που προκάλεσαν την αλκοολική ζύμωση. Υπάρχουν στελέχη ζυμομυκήτων που παρεμποδίζουν τη γρήγορη ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων, με αποτέλεσμα η μηλογαλακτική ζύμωση να διαρκεί από 3 μέχρι 6 μήνες. Οι ζύμες αυτές εξαντλούν ορισμένα θρεπτικά για τα βακτήρια συστατικά ή παράγουν ουσίες ανασταλτικές για την ανάπτυξη τους.

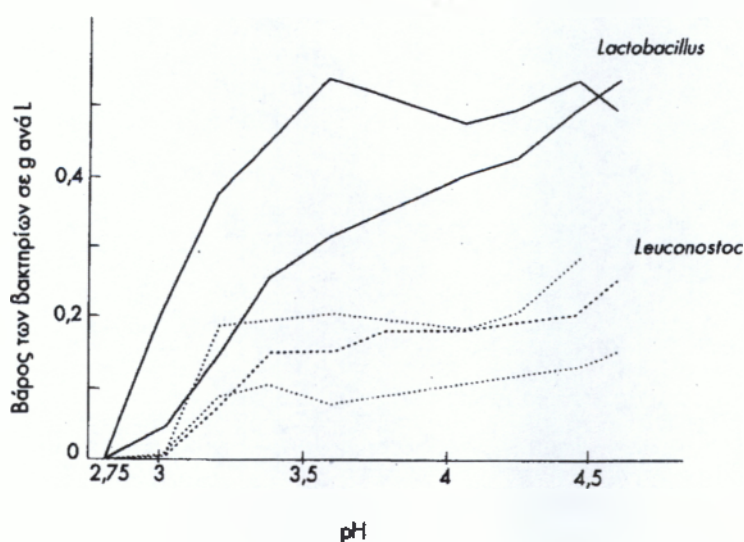
Η ρύθμιση των παραγόντων αυτών και η εξασφάλιση στους μικροοργανισμούς τέτοιων συνθηκών, ώστε η δραστηριότητά τους να αποβεί ωφέλιμη στην ποιότητα του οίνου, παρουσιάζει μεγάλο τεχνολογικό ενδιαφέρον. Για το λόγο αυτό, πρόσφατα επιχειρήθηκε η πραγματοποίηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης πριν από την αλκοολική ζύμωση.

#### 4.4. Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων της MLF στο κρασί

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων της MLF στα κρασιά, είναι:

- a) Το pH του κρασιού,
- b) Το ποσοστό του θειώδους οξέος,
- c) Η θερμοκρασία,
- d) Ο αερισμός του γλεύκους,
- e) Η περιεκτικότητα του σε αμινοξέα, βιταμίνες του συμπλόκου Β, τα ανόργανα άλατα κλπ.

- a) Η τιμή του pH διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην εγκατάσταση των βακτηρίων της μηλογαλακτικής ζύμωσης στο κρασί, αλλά και στον παραγκωνισμό από αυτά των επιβλαβών μελών της ίδιας ομάδας ή των υπευθύνων για τις σοβαρές ασθένειες των κρασιών. Αποδείχθηκε ότι, το optimum pH, για την ανάπτυξη των βακτηρίων της MLF κυμαίνεται μεταξύ 3,5 – 4,0 για τους γαλακτοβάκιλλους και 3,0 – 3,5 για το γένος *Leuconostoc* (εικ. 1)



Εικ. 1 Η επίδραση του pH στην ανάπτυξη των βακτηρίων της MLF

- b) Το θειώδες οξύ κατά σειρά, ενοχλεί περισσότερο τα βακτήρια του κρασιού γενικά, από ότι οι ευγενείς ζύμες. Ιδιαίτερως ευαίσθητα είναι τα βακτήρια της μηλογαλακτικής ζύμωσης στο θειώδες οξύ, παρουσία του οποίου επιβραδύνονται στο έργο τους ή παρεμποδίζονται πλήρως. Η δράση του θειώδους οξέος, είναι συνάρτηση της τιμής του pH, του κρασιού αλλά και της θερμοκρασίας.
- c) Η θερμοκρασία έχει μεγάλη επιρροή στην MLF και κυμαίνεται μεταξύ των 15 - 30°C. Πάνω από 30°C παρεμποδίζεται πλήρως, αντίθετα κάτω από τους 15°C, είναι δυνατόν να συνεχισθεί με βραδύ όμως ρυθμό και μόνο εφ' όσον έχει ήδη αρχίσει, ακόμη και σε θερμοκρασία ελαφρώς κατώτερη των 10°C.
- d) Ο μέτριος αερισμός ευνοεί την μηλογαλακτική ζύμωση, ενώ ο κορεσμός με οξυγόνο, την παρεμποδίζει. Ειδικότερα, τα είδη του γένους *Leuconostoc*, είναι μικροαερόφιλα.
- e) Οι απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία, έχουν να κάνουν με τα περισσότερα από τα βακτήρια, τα οποία έχουν ανάγκη για την ανάπτυξη τους, από δέκα βιταμίνες του σύμπλοκου B και από δέκα οχτώ αμινοξέα, όπως επίσης και από μαγγάνιο, μαγνήσιο και κάλλιο. (Μπαλατσούρας, 2005)

#### 4.5 Η εφαρμογή της μηλογαλακτικής ζύμωσης

Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι προτιμότερο να γίνεται κατά ή κυρίως αμέσως μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης. Αν δε γίνει στο στάδιο αυτό δε πρέπει κανονικά να περιμένουμε καμία εξέλιξη στη διάρκεια του χειμώνα από ένα φθίνοντα φυσικό εμβολιασμό. Σε παρόμοιες περιπτώσεις επιβάλλεται η παρέμβαση του παράγοντα “άνθρωπος”.

Αν συμβαίνει να υπάρχει στο οινοποιείο μας στον οποίο πραγματοποιείται ή μόλις πραγματοποιήθηκε η μηλογαλακτική ζύμωση, ο οίνος αυτός μπορεί να πραγματοποιηθεί ως “μαγιά”, σε ποσοστό 25-50 % της ολικής ποσότητας. Η μη θείωση του γλέυκους και η διατήρηση θερμοκρασίας στους 20°C έδωσε καλά αποτελέσματα. Η διατήρηση επίσης του οίνου σε μεγάλες δεξαμενές, όπου η θερμοκρασία που αποκτήθηκε από την αλκοολική ζύμωση διατηρείται για περισσότερο χρόνο, ευνοεί τη μηλογαλακτική ζύμωση. Ο εμβολιασμός εξάλλου με

καθαρές καλλιέργειες γαλακτικών βακτηρίων έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα. Η χρήση τους σήμερα, τείνει να γενικευτεί.

Αν με όλα τα μέτρα που αναφέραμε παραπάνω δε πετύχουμε καμία πρόοδο, τότε αφήνουμε τη φύση να δράσει μόνη της και παρακολουθούμε από πολύ κοντά τυχόν εξέλιξη. Ίσως η ερχόμενη άνοιξη ή το ερχόμενο καλοκαίρι ευνοήσουν το φαινόμενο αυτό. Σε περίπτωση που η μηλογαλακτική ζύμωση εκδηλωθεί και τελειώσει, σκόπιμο είναι να μεταγγίσουμε τον οίνο και να το θειώσουμε για να αποτρέψουμε τις παραπέρα δυσμενείς βακτηριακές επιδράσεις.

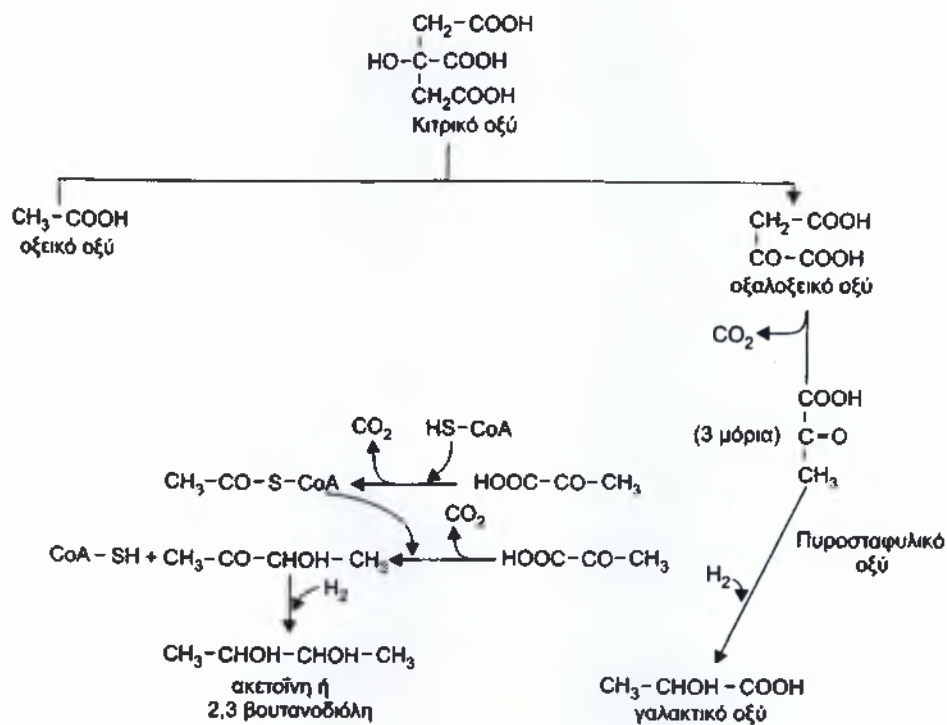
#### **4.6 Η επίδραση της μηλογαλακτικής ζύμωσης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τη σύσταση του οίνου**

Είναι γνωστό ότι το φαινόμενο της μηλογαλακτικής ζύμωσης συνοδεύεται, στη καλύτερη περίπτωση από μια ελαφριά αύξηση της πτητικής οξύτητας της τάξης του 0,1-0,2 g/l.

- Το άρωμα του οίνου κατά την μηλογαλακτική ζύμωση μεταβάλλεται βαθιά. Η μεταβολή αυτή είναι τόσο μεγαλύτερη, όσο περισσότερο χρόνο ο οίνος παραμένει με τα ζωντανά βακτήρια
- Το άρωμα που χαρακτηρίζει την ποικιλία των σταφυλιών εξασθενίζει και μπορεί να εξαφανισθεί τελείως. Για αυτό το λόγο σε μερικούς αρωματικούς λευκούς οίνους δεν ενδείκνυται η πραγματοποίηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης.
- Η οσμή του διακετυλίου (άρωμα του βουτύρου), που παράγεται στη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης, ανάλογα με την περιεκτικότητα του στον οίνο μπορεί να θεωρηθεί πλεονέκτημα ή μειονέκτημα.
- Τα ομοζυμωτικά βακτήρια σχηματίζουν ακεταλδεύδη, ακετοίνη, 2,3 μεθυλο-1-βουτανόλη και ισοβουτανόλη.
- Τα ετεροζυμωτικά σχηματίζουν ακόμη αιθανόλη, προπανόλη, ισοπροπανόλη, οξικό αιθυλεστέρα, εξανόλη και οκτανόλη.

Ο απόλυτος έλεγχος και η πλήρη διευθέτηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή των ουσιών που έχουν θετική επίδραση στη ποιότητα του οίνου και να αποτρέψουν τις δυσμενείς επιδράσεις.

## 4.7 Χημικές αντιδράσεις της μηλογαλακτικής ζύμωσης



Σχήμα 1. Διάσπαση του κιτρικού οξέος κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση

Με την ανωτέρω ζύμωση έχουμε μείωση της σταθερής οξύτητας του κρασιού, λόγω μετατροπής ενός δικαρβονικού οξέος προς μονοκαρβονικό. Από τα ίδια βακτήρια, αν και σπανιότερα, ζυμώνεται και το κιτρικό οξύ, το οποίο περιέχεται φυσικώς στο κρασί ή προστίθεται για τη διόρθωση της οξύτητάς του. Η διάσπαση του φαίνεται στο σχήμα 1.

Έτσι, κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση σχηματίζεται ένα μόριο μηλικού οξέος, ένα μόριο γαλακτικού οξέος και ένα μόριο διοξειδίου του άνθρακος. Επίσης, από ένα μόριο κιτρικού οξέος σχηματίζεται, ένα μόριο οξικού οξέος και δυο μόρια διοξειδίου του άνθρακος. Επίσης, κατά μια τρίτη εκδοχή, δυο μόρια κιτρικού οξέος ενδέχεται να μας δώσουν δυο μόρια οξικού οξέος, τέσσερα μόρια διοξειδίου του άνθρακος και ένα μόριο ακετοΐνης (ακετυλο- μεθυλο-καρβινόλης) ή ένα μόριο 2,3-βουτυλένιο-διόλης. Σχηματικά, η διάσπαση του κιτρικού οξέος κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση μπορεί να παρασταθεί ως ακολούθως :

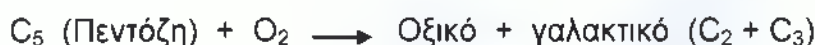
- $C_6 \longrightarrow C_3 + C_2 + C$
- $C_6 \longrightarrow 2C_2 + 2C$
- $2C_6 \longrightarrow C_4 + 2C_2 + 4C$

Κατά συνέπεια, σχηματίζεται πάντοτε από το κιτρικό οξύ, οξικό οξύ (ένα ή δυο μόρια κατά μόριο κιτρικού οξέος), με αποτέλεσμα να αυξάνεται η πτητική οξύτητα. Σχηματίζεται επίσης και διοξείδιο του άνθρακος, τόσο κατά τη διάσπαση του κιτρικού οξέος, όσο και κατά τη διάσπαση του μηλικού, ένα μέρος από το οποίο διαλύεται στο κρασί και το καθιστά αεριούχο, ενώ το υπόλοιπο διαφεύγει προς την ατμόσφαιρα.

Το συμπέρασμα είναι ότι, ουδέποτε θα πρέπει να γίνεται διόρθωση της οξύτητας των κρασιών με κιτρικό οξύ, ιδιαίτερα προ της αποζυμώσεως των σακχάρων, διότι το κιτρικό διασπάται από τα βακτήρια, αλλά και από πολλές ζύμες, με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση, όχι της σταθερής, αλλά και της πτητικής οξύτητας. Κατ' εξαίρεση, αυτό θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στο τέλος της ζυμώσεως, υπό τον όρο ότι θα γίνει ταυτόχρονη θείωση του ώριμου κρασιού ώστε να αποκλεισθεί κάθε αναζύμωση από βακτήρια ή ζύμες.

Γεγονός είναι πάντως ότι κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση και υπό ιδεώδες ακόμη συνθήκες, αυξάνεται η πτητική οξύτητα κατά 0,1 – 0,2 % (και όταν δεν έχει προστεθεί κιτρικό οξύ).

Επίσης, οι πεντόζες που περιέχονται στο κρασί σε ποσοστό ενός γραμμαρίου ανά λίτρο διασπώνται από τα βακτήρια της μηλογαλακτικής ζυμώσεως και από τα άλλα γαλακτοβακτήρια και δίνουν οξικό και γαλακτικό κατά το σχήμα:



Η μηλογαλακτική ζύμωση λαμβάνει χώρα μετά την αλκοολική ζύμωση των ερυθρών οίνων και θεωρείται ως η τελική φάση της όλης βιολογικής διεργασίας κατά την οينوποίηση. Αναφέρεται στη βιβλιογραφία (Ribereau – Ganyon et al., 1988) ότι τα βακτήρια της μηλογαλακτικής ζυμώσεως παρουσιάζουν δυο φάσεις πολλαπλασιασμού, μια κατά το στάδιο της θορυβώδους αλκοολικής ζυμώσεως και μια μετά την αποζύμωση. Κατά την πρώτη φάση σχηματίζεται ελάχιστο γαλακτικό οξύ, η ποσότητα του οποίου αυξάνεται κατά τη δεύτερη φάση πολλαπλασιασμού των μικροβίων, όταν η αλκοολική ζύμωση έχει ολοκληρωθεί. Στις περιπτώσεις που οι δυο ζυμώσεις, αλκοολική και μηλογαλακτική συμπορεύονται, η ποιότητα του τελικού προϊόντος υποβαθμίζεται. Η μηλογαλακτική ζύμωση απαλύνει τη γεύση του κρασιού, βελτιώνει το άρωμα (bouquet) και ζωηρεύει το χρώμα.

Για το λόγο αυτό, θεωρείται ως το πρώτο και ουσιώδες στάδιο της παλαιώσεως, προκειμένου περί κρασιών εκλεκτών και ως εγγύηση σταθερότητας για τα κρασιά σειράς.

Πάντως, για τις βόρειες αμπελουργικές χώρες ποτέ ένα κόκκινο κρασί καλής ποιότητας δεν είναι αποτέλεσμα μόνο της αλκοολικής ζυμώσεως, αλλά του συνδυασμού της αλκοολικής και της μηλογαλακτικής, που όμως δε πρέπει να συμπέσουν στην ίδια περίοδο, αλλά να συμπληρώσουν η μια ζύμωση την άλλη. Επίσης, ποτέ ένα κόκκινο κρασί από καλή οينوποίηση δε περιέχει μηλικό οξύ.

Η μηλογαλακτική ζύμωση γίνεται μέσα στους κάδους της ερυθράς ζυμώσεως και τα υπεύθυνα για αυτήν βακτήρια εμφανίζονται κατά την έκτη ή έβδομη ημέρα από την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης. Στη συνέχεια, υποχωρούν και επανεμφανίζονται μετά την αποζύμωση. Υπό ομαλές συνθήκες, συμπληρώνεται αυτή, προτού ενσκήψουν οι χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα και μόνο κατ' εξαίρεση είναι δυνατόν να καθυστερήσει ως την άνοιξη ή μέχρι τους πρώτους μήνες του καλοκαιριού.

Γενικά, είναι προς το συμφέρον της καλής οينوποίησης ν' αρχίσει η μηλογαλακτική ζύμωση τη στιγμή που η περιεκτικότητα του οίνου σε ζάχαρα κατεβαίνει στα δύο γραμμάρια κατά λίτρο και να συμπληρωθεί μέσα στο συντομότερο δυνατό χρονικό διάστημα. Τότε μόνο το κρασί θεωρείται ως βιολογικά σταθερό και είναι έτοιμο για κολλάρισμα, διήθηση, παλαίωση, ή εμφιάλωση ανάλογα με τις περιπτώσεις.

Αντίθετα, αν το μηλικό οξύ δεν έχει ζυμωθεί, τότε οι διαδικασίες για τη σταθεροποίηση της ποιότητας του κρασιού (διαύγαση, διήθηση, εμφιάλωση) σχεδόν

πάντοτε απογοητεύουν, ακριβώς επειδή η μηλογαλακτική ζύμωση ακολουθεί και θολώνει εκ νέου το προϊόν.

Τα βακτήρια της μηλογαλακτικής ζυμώσεως προέρχονται από τα σταφύλια, αφού τα υπεύθυνα γαλακτοβακτήρια είναι επίφυτα. Στο Bordeaux της Γαλλίας, για παράδειγμα, το 16 – 25% των δειγμάτων των σταφυλιών που είχαν παραληφθεί ασηπτικά, αποδείχτηκαν θετικά ως προς τα βακτήρια της μηλογαλακτικής ζυμώσεως. Θετικά ως προς τα ίδια βακτήρια αποδείχτηκαν επίσης 90% των δειγμάτων των κρασιών στο στάδιο της αποζυμώσεως. Τέλος, κατά τους ίδιους ερευνητές, το 20% των δειγμάτων του κρασιού στο στάδιο της αποζυμώσεως, ήταν μολυσμένα με βακτήρια της ίδιας ομάδας, που ήσαν όμως επιβλαβή επειδή μπορούσαν να προσβάλλουν τις πεντόζες, το τρυγικό οξύ και τη γλυκερίνη και να ανεβάσουν σε επικίνδυνα επίπεδα την πτητική οξύτητα του κρασιού.

Μορφολογικά τα βακτήρια της μηλογαλακτικής ζυμώσεως δεν διαφέρουν από τα βακτήρια των επιβλαβών ασθενειών του κρασιού και κατά συνέπεια η μικροσκόπηση βοηθάει μόνο στη διαπίστωση της παρουσίας ή μη βακτηρίων. Κρασί όμως με βακτήρια δεν είναι υποχρεωτικά άρρωστο, ιδιαίτερα αν η πτητική του οξύτητα είναι κατώτερη του 0,4‰. Γενικά όμως η μηλογαλακτική ζύμωση αποτελεί ενίοτε την απαρχή των επιβλαβών ασθενειών του κρασιού, ιδιαίτερα αν αυτή δεν συμπληρωθεί αμέσως μετά την αποζύμωσή του. Για να μη συμβεί τούτο θα πρέπει (Lonvaud, 1975):

α) Ν' αρχίσει η μηλογαλακτική ζύμωση αμέσως μετά την αποζύμωση του γλεύκους και ποτέ πριν από την πλήρη αποζύμωση, γιατί τότε θα σχηματίσουν τα ίδια τα βακτήρια μεγάλες ποσότητες γαλακτικού οξέος και θα ζημιώσουν ανεπανόρθωτα τις καλές οργανοληπτικές ιδιότητες του κρασιού (αποκτά το κρασί γεύση δηκτική οφειλόμενη στο γαλακτικό οξύ).

β) Να μη μεσολαβήσει μεγάλο χρονικό διάστημα μεταξύ του πέρατος της αλκοολικής ζυμώσεως και της ενάρξεως της μηλογαλακτικής.

γ) Να παρεμποδισθεί κάθε περαιτέρω βακτηριακή δράση μετά την αποζύμωση των ζαχάρων και του μηλικού οξέος με λογική θείωση (συνήθως τρία γραμμάρια κατά εκατόλιτρο κρασιού επαρκούν) με μετάγγιση, διήθηση, κολλάρισμα και ενδεχομένως θέρμανση. Η παρουσία βακτηρίων σε κρασί απαλλαγμένο από ζάχαρη και μηλικό οξύ είναι ένδειξη ανεξέλεγκτης καταστάσεως και θα πρέπει να επισύρει την προσοχή του οινοποιού.

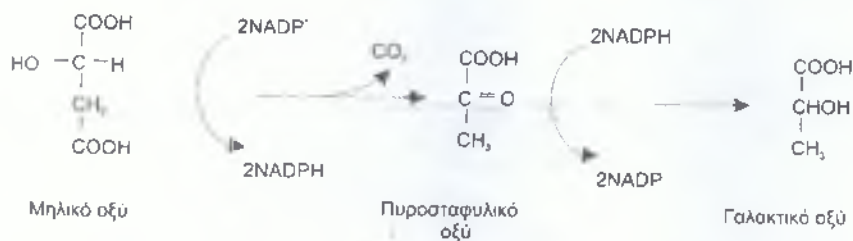
## 4.8 Βιοχημεία της μηλογαλακτικής ζυμώσεως

Ο χημισμός της μηλογαλακτικής ζυμώσεως είναι απλός και συνίσταται στη μετατροπή ενός μορίου μηλικού οξέος προς ένα μόριο γαλακτικού οξέος και ένα μόριο διοξειδίου του άνθρακα κατά το ακόλουθο πρότυπο:

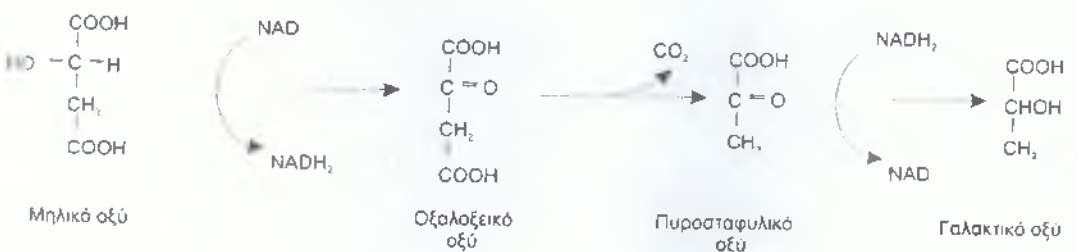


Σε λεπτομέρειες, που ενδιαφέρουν περισσότερο την επιστήμη και λιγότερο τη βιομηχανική πράξη, υπάρχουν δύο μέθοδοι μετατροπής του μηλικού σε γαλακτικό οξύ και υπάρχουν περισσότερα του ενός διακριτά ένζυμα υπεύθυνα για τους δύο χημισμούς που χωρούν κατά το ακόλουθο πρότυπο: οι δύο τρόποι μετατροπής του μηλικού οξέος σε γαλακτικό είναι οι ακόλουθοι:

α)



β)



Μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό  
(Μπαλατσούρας, 2006)

Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι ενδόθερμη αντίδραση και για να περατωθεί θα πρέπει τα βακτήρια να έχουν στη διάθεση τους μικροποσότητες ζυμώσιμων ζαχάρων. Είναι πιθανό να καταλύουν τα ένζυμα άλλες αντιδράσεις και η μηλογαλακτική ζύμωση να είναι μία μόνο όψη της δραστηριότητας τους.

#### **4.9 Δευτερεύοντα προϊόντα της μηλογαλακτικής ζυμώσεως**

Με την μηλογαλακτική ζύμωση σημειώνεται πάντοτε αύξηση της περιεκτικότητας σε οξικό οξύ, ιδιαίτερα όταν ζυμωθούν και οι πεντόζες. Αύξηση στο διπλάσιο ή στο τριπλάσιο σημειώνεται στο διακετύλιο και στην ακετοίνη. Η κινητική συνθέσεως των τελευταίων ενώσεων δεν έχει ακόμα διευκρινισθεί λόγω της παρεμβολής και του εκάστοτε στελέχους της ζύμης. Γενικά όμως η σύνθεση ακετοίνης και διακετυλίου είναι συνδεδεμένα και με τον μεταβολισμό του κιτρικού οξέος του γλεύκους ή του κρασιού από βακτήρια της μηλογαλακτικής ζυμώσεως. Κατά κανόνα το κρασί περιέχει 0,5 γραμμάρια κιτρικού οξέος κατά λίτρο, ήτοι 0,5‰ (500 γραμμάρια κατά τόνο). Η ποσότητα αυτή είναι δυνατόν να μεταβληθεί στο σύνολο της ή κατά το ήμισυ ανάλογα με το στέλεχος του γαλακτοβακτηρίου. Γενικά, η ακετοίνη και το διακετύλιο σε αυξημένη συγκέντρωση στο κρασί προσδίδουν σε αυτό γεύση βουτύρου αρκετά δυσάρεστη και ανεπιθύμητη.

#### **4.10 Ο ρόλος των βακτηριοφάγων στην ομαλή πορεία της μηλογαλακτικής ζύμωσης του κρασιού**

Οι βακτηριοφάγοι ή φάγοι, που ανακαλύφθηκαν από τους Twort (1915) και τον d' Herelle (1917), θεωρήθηκαν αρχικά ως οντότητες που ήταν ικανές να τρώγουν τα βακτήρια. Αυτή άλλωστε ήταν και η ετυμολογία της λέξεως που χρησιμοποιήθηκε για τον ονοματισμό τους. Σήμερα είναι γνωστό ότι οι φάγοι είναι ιοί των οποίων τα σωματίδια (βίρια) χαρακτηρίζονται από ιδιάζουσα δομή και ιδιάζοντα μηχανισμό

δράσεως. Ο όρος όμως βακτηριοφάγος ή φάγος έγινε αποδεκτός από την διεθνή βιβλιογραφία και ισχύει ως σήμερα.

Στην ειδική περίπτωση της οινολογίας τα γαλακτοβακτήρια που είναι υπεύθυνα για την μηλογαλακτική ζύμωση μπορούν να προσβληθούν από έναν ή περισσότερους φάγους και τότε η πορεία της ζυμώσεως επιβραδύνεται ή διακόπτεται πλήρως (Sozzi et al., 1982, Sozzi and Gnaegi, 1983). Ειδικότερα, αποδείχτηκε ότι ορισμένα στελέχη του *Leuconostoc oenos* ήταν ευαίσθητα στην προσβολή από δύο διαφορετικούς τύπους φάγου και τότε οι συνέπειες ήταν δυσμενείς για την ομαλή πορεία της ζυμώσεως, επειδή:

- ο Έμεναν πάντοτε μικροποσότητες αζύμωτου μηλικού οξέος που όμως ζυμώνονταν μέσα στις φιάλες και έδιναν λεπτότατο ίζημα, CO<sub>2</sub> και ακαλαίσθητο θόλωμα. Διήθηση του κρασιού και χρησιμοποίηση αποστειρωμένων φιαλών για την συσκευασία έδινε λύση στο ανωτέρω πρόβλημα.
- ο Η μηλογαλακτική ζύμωση ολοκληρώνονταν μέσα σε μικρότερο χρονικό διάστημα συγκριτικά με το μάρτυρα, οπότε τα κρασιά έχαναν τη φρεσκάδα τους και οι οινοποιοί δεν μπορούσαν να χρησιμοποιήσουν το φυσικό ψύχος της χειμερινής περιόδου για την ανέξοδη σταθεροποίηση των προϊόντων τους.
- ο Ο κίνδυνος εμφάνισης και επικρατήσεως του ανεπιθύμητου γαλακτοβακτηρίου *Pediococcus cerevisiae* ήταν μεγάλος, αφού το pH του κρασιού με την ήπια δράση του *Leuconostoc oenos* αύξανε και ο ανταγωνισμός μεταξύ επιθυμητών και ανεπιθύμητων βακτηρίων του κρασιού ήταν υποτονική.
- ο Η αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησης καθαρής καλλιέργειας από ένα μόνο στέλεχος του *Leuconostoc oenos*, ήταν αμφίβολη, αν το στέλεχος ήταν ευαίσθητο στην προσβολή από φάγους.

#### 4.11 Βιολογική αποξέωση των κρασιών

Όταν η οξύτητα είναι πάνω από μία ορισμένη σταθερά θα πρέπει να μειωθεί και να κατέβει σε επίπεδα αποδεκτά. Οι μέθοδοι μείωσης της οξύτητας είναι:

α) Προσθήκη CaCO<sub>3</sub> ή KHCO<sub>3</sub>. Η τεχνική αυτή δεν επιτρέπεται από το νόμο. Εξάλλου, με τα ανθρακικά άλατα καθιζάνει το τρυγικό οξύ και όχι το μηλικό, που θα πρέπει να εξουδετερωθεί μερικώς ή πλήρως.

β) Η πολτοποίηση των σταφυλιών παρουσία  $\text{CO}_2$ , γιατί το σταφύλι περιέχει το ένζυμο και το συνένζυμο για την μετατροπή του μηλικού οξέος. Τότε μετατρέπεται το μηλικό σε γαλακτικό όπως απέδειξε ο Chauvet και άλλοι (1963). Με την μετατροπή επιτυγχάνεται η ωρίμανση (παλαίωση) του κρασιού, ενώ ταυτόχρονα μειώνεται και η ολική οξύτητα.

γ) με την ζύμωση του μηλικού οξέος και την μετατροπή του προς γαλακτικό οξύ με τα γαλακτοβακτήρια και προς αλκοόλη με είδη του γένους *Schizosaccharomyces*.

#### 4.12 Παράγοντες που επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά τη μηλογαλακτική ζύμωση

Το κρασί είναι υπόστρωμα που περιέχει μεταξύ άλλων μείγμα αμινοξέων και επιπλέον βιταμίνες απαραίτητες για την ανάπτυξη των γαλακτοβακτηρίων.

Παράγοντες παρεμποδιστικοί της αναπτύξεως τους είναι: η τιμή του pH, η περιεκτικότητα σε αλκοόλη, το  $\text{SO}_2$  που προστίθεται στο οινογλεύκος και η θερμοκρασία σε ορισμένα όρια. Όταν επιζητείται η μηλογαλακτική ζύμωση, για τον ένα ή τον άλλο λόγο, τότε οι ανωτέρω παράγοντες πρέπει να ελέγχονται ώστε να δράσουν ευνοϊκά.

- Το pH του κρασιού\_δρα επιλεκτικά. Σε τιμές 3,5 ή κατώτερες ευνοείται το *Leuconostoc oenos*, ενώ σε τιμές ανώτερες του 3,5 μπορούν να αναπτυχθούν γαλακτοβάκιλοι και παιδιόκοκκοι. Δύσκολα αναπτύσσεται το *Leuconostoc oenos* σε τιμές γύρω στο 3,0 και καθόλου σε τιμές κάτω του 3,0.

Αναφέρεται στη βιβλιογραφία (Edwards and Peterson, 1994) ότι από κρασί με pH μεγαλύτερο του 3,5 εκτός από το *Leuconostoc oenos* και άλλα γαλακτοβακτήρια όπως τα *Lactobacillus brevis*, *L. Fructivorans*, *L. Hilgardii*, *L. Plantarum*, και *Pediococcus parvulus* παρήγαν ισοαμυλική αλκοόλη, 1-εξανόλη και 3-μέθυλο-θείο-1 προπανόλη. Τα παραπροϊόντα αυτά επηρέασαν δυσμενώς την ποιότητα του κρασιού.

Κατά τους Μπουσμπούρα και Kunkee (1971) στέλεχος του *Leuconostoc oenos* συμπληρώνει την μηλικογαλακτική ζύμωση μέσα σε 14 ημέρες σε pH 3,83 και σε 164 ημέρες σε pH 3,25 υπό θερμοκρασία 12° C.

Γενικά, τα γαλακτοβακτήρια μπορούν να αναπτυχθούν σε εύρος pH μεταξύ 3 και 4,0. Σε pH 4,0 τα γαλακτοβακτήρια ζυμώνουν όχι το μηλικό οξύ, αλλά τα ζάχαρα και παράγουν πολλή πτητική οξύτητα. Είναι τότε συμφέρον να αρχίζει η ζύμωση σε χαμηλή τιμή pH.

Εξάλλου, το pH ρυθμίζει και την αντισηπτική ενεργότητα του SO<sub>2</sub>, γιατί σε χαμηλό pH το αδιάστατο τμήμα του SO<sub>2</sub> αυξάνεται, και επομένως και η ενεργότητα έναντι των γαλακτοβακτηρίων.

- Ο ανυδρίτης του θειώδους οξέος. Από την συνολική ποσότητα που προστίθεται στο οиноγλεύκος, μόνο το 10% του συνόλου παραμένει ελεύθερο και το υπόλοιπο δεσμεύεται. Το τελευταίο έχει μικρή αντισηπτική δράση. Ειδικά για τα γαλακτοβακτήρια παρεμποδιστική είναι και η δράση του SO<sub>2</sub> του δεσμευμένου σε καρβονυλικές ενώσεις και ιδιαίτερα στην ακεταλδεύδη. Έχει διαπιστωθεί ότι ολικό θειώδες οξύ από 100 – 150 mg κατά λίτρο και ελεύθερο μέχρι 10 mg κατά λίτρο (1 γραμμάριο κατά εκατόλιτρο), παρεμποδίζουν βαρύτατα την μηλογαλακτική ζύμωση.

#### **4.13 Προϊόντα της ζυμωτικής δραστηριότητας των ζυμών στη διαδικασία της παραγωγής**

Σε ό,τι αφορά την αιθανόλη, το κύριο προϊόν της αλκοολικής ζυμώσεως, είναι γενικά αποδεκτό ότι συγκέντρωση άνω των 10 βαθμών δρα παρεμποδιστικά στην δραστηριότητα των γαλακτοβακτηρίων με ανώτατο όριο τους 13° και σε ακραίες περιπτώσεις 15°.

Άλλα παράγωγα της αλκοολικής ζυμώσεως όπως τα λιπαρά οξέα (οκτανοϊκό οξύ, δεκανοϊκό και δωδεκανοϊκό) παρεμποδίζουν την ενεργότητα των ιδίων ζυμών, αλλά και των γαλακτοβακτηρίων, σε μικρότερη όμως έκταση.

Το βιολογικό SO<sub>2</sub>, που παράγεται από ορισμένα γένη, είδη στελέχη ή φυσιολογικές φυλές, δρα παρεμποδιστικά έναντι και των άγριων ζυμών και των γαλακτοβακτηρίων, όπως το προστιθέμενο στο γλεύκος χημικής προελεύσεως.

Αντίθετα, παρατεταμένη επαφή ζυμών και γαλακτοβακτηρίων ευνοεί την μηλογαλακτική ζύμωση την οποία φέρουν σε πέρας τα τελευταία. Τούτο έχει αποδοθεί σε αυτόλυση των κυττάρων της ζύμης μέσω της οποίας αποδεσμεύονται αμινοξέα, βιταμίνες και άλλοι παράγοντες αναπτύξεως των γαλακτοβακτηρίων. Ενίοτε, αμινοξέα και βιταμίνες αποδεσμεύονται και από τα ακέραια κύτταρα των ζυμών, ιδιαίτερα μετά την αποζύμωση του οиноγλεύκους.

Το διαλυμένο και εγκλωβισμένο στη μάζα του κρασιού O<sub>2</sub> όχι μόνο δεν παρεμποδίζει αλλά διεγείρει την ανάπτυξη των γαλακτοβακτηρίων επειδή τα τελευταία είναι προαιρετικά αναερόβια ή μικροαερόφιλα.

Το CO<sub>2</sub> δρα διεγερτικά στην ανάπτυξη και στην δράση των γαλακτοβακτηρίων και για το λόγο αυτό και αναπτύσσονται στις φιάλες της τελικής συσκευασίας του κρασιού το οποίο αλλοιώνουν.

Σε ότι αφορά την θερμοκρασία έχει διαπιστωθεί ότι η ελάχιστη για τη δράση του *Leuconostoc oenos* είναι εκείνη των 10° C και άριστη η θερμοκρασία των 18 – 24° C. Στην περίπτωση που επιζητείται επιτάχυνση της μηλογαλακτικής ζύμωσης θα πρέπει να εξασφαλίζεται στο κρασί θερμοκρασία γύρω από την άριστη για την ανάπτυξη και την δράση των γαλακτοβακτηρίων.

#### **4.13.1 Μέσα που ευνοούν την μηλογαλακτική ζύμωση**

- Τιμή του pH

Για το ξεκίνημα της μηλογαλακτικής ζύμωσης ευνοϊκότερο είναι το pH 3,3 – 3,4 του οίνου. Όμως το pH ελέγχεται και διορθώνεται δύσκολα, διότι εξαρτάται από την πορεία των μετεωρολογικών συνθηκών και την ποιότητα του σταφυλιού την ώρα του τρυγητού. Ζύμωση παρουσία των στέμφυλων αυξάνει την τιμή του pH και εμπλουτίζει το κρασί με θρεπτικά συστατικά και για τους λόγους αυτούς ευνοεί την μηλογαλακτικής ζύμωση.

- Η ελλειμματική απολάσπωση

Η ελλειμματική απολάσπωση σε σύντομο χρόνο και η διήθηση του κρασιού παρεμποδίζει την ομαλή πορεία της μηλογαλακτικής ζύμωσης.

- Η ορθολογική θείωση

Το θειώδες οξύ θα πρέπει να προστίθεται στο οينوγλεύκος σε ποσότητα όχι περισσότερη από 5 γραμμάρια στο εκατόλιτρο. Γενικά όμως η αναγκαίους ποσότητα του  $\text{SO}_2$  προσδιορίζεται και από την τιμή του pH. Ακόμη και το στέλεχος της μαγιάς δεν πρέπει το ίδιο να παράγει  $\text{SO}_2$ .

Η θερμοκρασία του κρασιού θα πρέπει κατά την διάρκεια της μηλογαλακτικής ζυμώσεως να είναι μεγαλύτερη από  $12^\circ \text{C}$  και εγγύς της θερμοκρασίας των  $24^\circ \text{C}$ .

#### 4.13.2 Μέσα που παρεμποδίζουν την μηλογαλακτική ζύμωση

Η μηλογαλακτική ζύμωση παρεμποδίζεται στους αφρώδεις και στους τσουχτερούς στη γεύση οίνους, γιατί είναι καταστροφικοί για την ποιότητα τους. Γι' αυτό εξασφαλίζεται χαμηλό pH, τρυγητός στην κατάλληλη εποχή, οινοποίηση απουσία στέμφυλων (λευκή), γρήγορη απολάσπωση με φιλτράρισμα.

Το θειώδες προστίθεται κατά το ήμισυ προ της ενάρξεως της αλκοολικής ζυμώσεως και κατά το υπόλοιπο στο αποζυμωμένο κρασί για να μείνει σε μεγάλο ποσοστό ελεύθερο.

Το σορβικό οξύ θεωρείται κατάλληλο για κρασιά τελειωμένα, όχι όμως για όσα πρόκειται να αναζυμωθούν, γιατί παρεμποδίζει την ανάπτυξη των ζυμών και το ίδιο μετατρέπεται με γερανιόλη (Rankie, 1977). Άλλα αντισηπτικά ή αποστειρωτικά δεν συνιστώνται και πρέπει να αποφεύγονται. Επιτρέπεται μόνο η προσθήκη φουμαρικού οξέος που έχει αντισηπτική δύναμη και επιτρέπεται στις Η.Π.Α.

Διήθηση του κρασιού μέσω μεμβρανών με άνοιγμα πόρων  $0,22 - 0,45 \mu\text{m}$  κατακρατεί τα κύτταρα των γαλακτοβακτηρίων και προσφέρει προστασία από την μηλογαλακτική ζύμωση, υπό τον όρο ότι δεν θα γίνει επαναμόλυνση από τον μηχανολογικό εξοπλισμό και την ατμόσφαιρα του οινοποιείου.

Εξόχου αποτελεσματικότητας τεχνική είναι η παστερίωση των εμφιαλωμένων κρασιών στην θερμοκρασία των 55° C για 30'. Μια τέτοια θερμική επεξεργασία εξοντώνει όλα τα κύτταρα των γαλακτοβακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων του περισσότερο θερμοανθεκτικού είδους *Leuconostoc oenos*.

#### **4.14 Διέγερση της αυτόματης μηλογαλακτικής ζύμωσης**

Η μηλογαλακτική ζύμωση ξεκινάει αυτόματα αν δεν τεθούν εμπόδια κατά την μεταχείριση του κρασιού. Το μόνο προαπαιτούμενο είναι αύξηση της θερμοκρασίας του κρασιού μέχρι τους 18° C. Κάτω από αυτές τις συνθήκες η μηλογαλακτικής ζύμωση αρχίζει 1-4 εβδομάδες μετά το πέρας της αλκοολικής.

Αν η ζύμωση σε ορισμένες δεξαμενές ή κάδους δεν αρχίζει από μόνη της, τότε εμβολιάζεται με κρασί δεξαμενής στην οποία η ζύμωση είναι έντονη με ποσοστό ενοφθαλμίσματος μέχρι 5%.

Σε πολλές περιπτώσεις το ενοφθαλμισμό είναι 20% και σε ακραίες περιπτώσεις 50% επί του βάρους του εμβολιαζόμενου κρασιού.

Αντί εμβολιασμού με κρασί στο στάδιο της έντονης μηλογαλακτικής ζυμώσεως, μπορεί να γίνει εμβολιασμός με οινολάσπη ή με κύτταρα που έχουν αποχωρισθεί με φυγοκέντρηση ή με διήθηση. Κύτταρα της ανωτέρω μορφής μπορούν να καταψυχθούν, να συντηρηθούν υπό κατάψυξη και να χρησιμοποιηθούν στην κατάλληλη στιγμή, αφού πρώτα αναζωογονηθούν.

## **5. Η ΣΥΝΕΙΣΦΟΡΑ ΤΗΣ ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ**

### **5.1 Σταθερότητα του κρασιού**

Η “μικροβιακή σταθερότητα” είναι ένας λόγος να διενεργηθεί η μηλογαλακτική ζύμωση. Χωρίς αυτή τη σταθερότητα, το αφιλτράριστο κρασί θα προσπαθήσει να περάσει από την ίδια διαδικασία, αφότου εμφιαλωθεί. Όταν αυτό συμβαίνει, τα στελέχη των βακτηριδίων μπορούν να μετασχηματίσουν τις υπόλοιπες ζάχαρες του κρασιού σε γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ και άλλα υποπροϊόντα. Αυτό θα αναγκάσει το κρασί να είναι “μαλακότερο” και ελαφρώς αφρώδες, με ουδέτερη γεύση και αρώματα.

Η παρουσία μηλικού οξέος σε οποιοδήποτε κρασί αντιπροσωπεύει ένα πιθανό πρόβλημα σταθερότητας. Όταν το κρασί περιέχει μηλικό οξύ, η μηλογαλακτική ζύμωση μπορεί να εμφανιστεί οπουδήποτε και όταν εμφανίζεται, αφότου έχει εμφιαλωθεί το κρασί, τα αποτελέσματα είναι συχνά καταστρεπτικά, για παράδειγμα, οδηγεί στις καταθέσεις μπουκαλιών, off-odors, τις κακές προτιμήσεις και το ζωηρό κρασί. Οποιοδήποτε κόκκινο κρασί που περιέχει μηλικό οξύ, δεν μπορεί να θεωρηθεί βιολογικά σταθερό, έτσι προτού να εμφιαλωθούν αυτά τα κρασιά, τα εμπορικά οινοποιία λαμβάνουν τα συγκεκριμένα μέτρα για να βελτιώσουν μακροπρόθεσμα τη σταθερότητα του κρασιού.(Eisenman L. The home winemakers manual)

### **5.2 Γευστική βελτίωση ως αποτέλεσμα της μηλογαλακτικής ζύμωσης**

Η μηλογαλακτική ζύμωση αποτελεί μια πραγματικά βιολογική μείωση της οξύτητας του κρασιού. Όσο πιο πλούσιο είναι το κρασί σε μηλικό οξύ, τόσο πιο ξινό φυσικά είναι, τόσο πιο έντονη η μείωση της οξύτητας και άρα πιο τονισμένη η βελτίωση του κρασιού. Έτσι προκύπτει από γευστικής πλευράς μια σημαντική καλυτέρευση. Το όφελος ως προς την ποιότητα οφείλεται σε δυο αιτίες: στην ελάττωση του ποσοστού των οξέων και την αντικατάσταση ενός οξέος με πολύ καλή γεύση, του μηλικού οξέος, από ένα οξύ που είναι λιγότερο επιθετικό στις θηλές της

γλώσσας, το γαλακτικό οξύ, γνωρίζοντας τις σχετικές γεύσεις του μηλικού και γαλακτικού οξέος για να κατανοήσουμε τη σημαντική αλλαγή στην όξινη γεύση των κρασιών. Επιπλέον, 1 g του μηλικού οξέος δίνει μόνο 0,67 g γαλακτικού οξέος, έτσι το καινούριο κρασί χάνει τη στυφή του γεύση, αντέχει και γίνεται "μαλακό". Η οξύτητα του μειώνεται, το χρώμα του τροποποιείται και γίνεται λιγότερο ζωντανό κόκκινο.

Επίσης, μετασχηματίζεται και το άρωμα του, απομακρύνεται απ' αυτό του σταφυλιού και εμπλουτίζεται σε αποχρώσεις και γίνεται περισσότερο οινώδες. Έτσι, τα κόκκινα κρασιά γίνονται ελαφρά και δροσερά, κάτι που αποτελεί βασικό στοιχείο για την ποιότητα τους.

Αντίθετα όσον αφορά τα λευκά κρασιά, δε μπορούμε να γενικεύσουμε με τον ίδιο τρόπο τη χρησιμότητα της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Στην πραγματικότητα, η χρησιμότητα της δεν έχει επαληθευτεί παρά μόνο σε ορισμένες οينوποιητικές περιοχές. Κατ' αρχήν στα λευκά ξηρά κρασιά, όπου είναι δυνατή και γίνεται εύκολα, δεν οδηγεί πάντα και σε όλες τις περιπτώσεις σε μια ποιοτική καλύτερευση. Η ποιότητα ενός ξηρού λευκού κρασιού εξαρτάται σε ένα μεγάλο βαθμό, εκτός από τη λεπτότητα του αρώματος του και από την ισορροπία του αλκοολικού βαθμού οξύτητας. Μια ορισμένη οξύτητα είναι απαραίτητη για ορισμένους τύπους αυτών των κρασιών. Πολλά ξηρά λευκά γαλλικά ή ελληνικά από 11-12 περιέχουν 4,50-4,80 g ολικής οξύτητας. Σε ορισμένες περιοχές και εποχές που τα κρασιά είναι πολύ όξινα, η μηλογαλακτική ζύμωση μπορεί να μας είναι χρήσιμη για να πετύχουμε ένα εξαιρετικά ξηρό κρασί. Έτσι, αυτή συναντάται στη BOURGOGNE, στην Ελβετία και στην Ελλάδα π.χ. στα κρασιά της Τρίπολης, αντιθέτως στη Γερμανία και την Αυστρία, προτιμούν γενικά την χημική μείωση της οξύτητας.

Στις περιοχές όπου η οξύτητα του σταφυλιού είναι χαμηλή, η μηλογαλακτική ζύμωση καταλήγει σε κρασιά πολύ αφρώδη, χωρίς δύναμη και ζωηρότητα. Απομακρύνει το άρωμα απ' αυτό του φρούτου και τα κρασιά παρουσιάζουν ένα γαλακτικό χαρακτήρα πολλές φορές όχι ευχάριστο. Αξίζει λοιπόν, καλύτερα να την εμποδίσουμε θειώνοντας το μούστο ή το κρασί.

Συνολικά υπάρχει για τα κρασιά η εξής γνώση, να αναζητάμε πάντα τη μηλογαλακτική ζύμωση. Αλλά αυτή η απλοποίηση δεν υφίσταται για τα λευκά κρασιά, ούτε όμως και για τα ροζέ. Αν περιμένουμε από τέτοια κρασιά να έχουν το άρωμα του σταφυλιού, τότε η μηλογαλακτική ζύμωση, θα είναι γενικά άχρηστη. Αντίθετα, αν αναζητάμε το "οινώδες", την "ολοκλήρωση", τον "όγκο" και το χαρακτήρα που δίνει μια ορισμένη παλαίωση, η μηλογαλακτική ζύμωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί.

Όσον αφορά τα γλυκά και τα ηδύποτα κρασιά, προηγείται θείωση πριν τη μηλογαλακτική ζύμωση. Τα ροζέ κρασιά ανήκουν σε δυο διαφορετικούς τύπους: ο ένας οξύς, “φρέσκος” και αρωματικός, που αποκτιέται αποφεύγοντας τη μηλογαλακτική ζύμωση, ενώ ο άλλος “σαρώδης” και με χαμηλή οξύτητα λόγω της μεσολάβησης των μηλογαλακτικών βακτηρίων.

### **5.3 Αισθητήρια ποιότητα του κρασιού**

Ο ενιαίος σημαντικότερος παράγοντας στην οινοποίηση είναι η οργανοληπτική ποιότητα (εμφάνιση, άρωμα και γεύση) του τελικού προϊόντος. Η ατέλειωτη ποικιλία των γεύσεων προέρχεται από ένα σύνθετο, απολύτως μη γραμμικό σύστημα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πολλών εκατοντάδων ενώσεων. Η ανθοδέσμη ενός κρασιού καθορίζεται από τη παρουσία μιας ισορροπημένης αναλογίας των επιθυμητών ενώσεων γεύσης και των μεταβολιτών και την απουσία ανεπιθύμητων. Με εξαίρεση τα τερπένια στις αρωματικές ποικιλίες σταφυλιών και τα alkoxyrygazines στις ποώδεις ποικιλίες, η αντιληπτή γεύση είναι το αποτέλεσμα των απόλυτων ποσοτήτων και των συγκεκριμένων αναλογιών, πολλών από αυτών των αλληλεπιδρώντων ενώσεων, παρά να αποδοθεί σε μια ενιαία μοναδική ένωση. Οι λεπτοί συνδυασμοί ιχνών τμημάτων συστατικών (συσσωρευμένοι δευτεροβάθμιοι μεταβολίτες) που προέρχονται από τα σταφύλια αποσπούν συνήθως τις χαρακτηριστικές σημειώσεις γεύσης και αρώματος του κρασιού, ενώ τα προϊόντα ζύμωσης της ζύμης (π.χ. εστέρες, οινοπνεύματα) συμβάλλουν γενικά στη δημιουργία ενός υποβάθρου γεύσης και αρώματος, καθώς επίσης και στην πολυπλοκότητα και την ένταση του αρώματος και της προτίμησης του τελικού προϊόντος. Η ζύμη μπορεί επίσης να είναι αρμόδια για την παραγωγή των ανεπιθύμητων υποπροϊόντων, όπως το σουλφίδιο υδρογόνου (hydrogen sulphide).

### **5.4 Η επιρροή της μηλογαλακτικής ζύμωσης στη ποιότητα**

Η μηλογαλακτική ζύμωση χρησιμοποιήθηκε για να βελτιώσει τη βιολογική σταθερότητα των κρασιών καθώς επίσης και για να αυξήσει τη πολυπλοκότητα του αρώματος και της γεύσης. Η επίδραση της σταθεροποίησης του κρασιού ενάντια στην περαιτέρω αύξηση από άλλα βακτηρίδια γαλακτικού οξέος, είναι η

σημαντικότερη συνέπεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Η αλλαγή στην οξύτητα προκαλείται από τη μόλυνση των κρασιών από τη δράση των μηλογαλακτικών βακτηριδίων. Η σημασία της επιλογής των βακτηριακών στελεχών για την μηλογαλακτική ζύμωση, όχι μόνο για τον αποξυνισμό, αλλά με σεβασμό στη γεύση, έρχεται σε αντίθεση με την κατάσταση για την επιλογή της ζύμης στο κρασί στο οποίο θα τελεσθεί η αλκοολική ζύμωση. Αναμένεται ότι, οι επιθυμητοί τελικοί μεταβολίτες, που συνδέονται, συγκεκριμένα με τα διάφορα μη-ικανά να προκαλέσουν αλλοίωση είδη των μηλογαλακτικών βακτηριδίων, επίσης παράγονται. Στο κόκκινο κρασί, που η γεύση αφορά τους περισσότερους από αυτούς τους μηλικούς ζυμωτικούς παράγοντες, είναι λεπτή και γενικά αντιληπτή, εκτός από τους υπό άκαμπτους όρους επιτροπής προτίμησης, οπότε σε αυτήν την περίπτωση, ένα είδος βακτηρίου μπορεί να κατασκευασθεί για να παραγάγει ένα κρασί με περισσότερη πολυπλοκότητα γεύσης από ένα άλλο. Με εξαίρεση είναι το διακετύλιο (diacetyl), ένα τελικό προϊόν με ένα χαμηλό αισθητήριο κατώτατο όριο.

## **5.5 Επιρροή της μηλογαλακτικής ζύμωσης στους λευκούς και ροζέ οίνους**

Τα άσπρα κρασιά και στις χώρες όπου η περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ είναι αυξημένη, δεν φαίνεται να βελτιώνονται με τη μηλογαλακτική ζύμωση. Η ποιότητα των λευκών κρασιών είναι θέμα ειδικών αρωματικών ουσιών, που προέρχονται κυρίως από την πρώτη ύλη, όπως και της σχέσεως μεταξύ της σταθερής οξύτητας και της αλκοόλης. Συνήθως, η οξύτητα των λευκών κρασιών είναι αυξημένη (4,5 – 4,8 γραμμάρια ολικής οξύτητας σε θειικό οξύ για κρασιά με 11 – 12 αλκοολικούς βαθμούς επί παραδείγματι), τυχόν δε μείωση αυτής, γίνεται με χημικά μέσα. Γενικά, η παρουσία του γαλακτικού οξέος στα άσπρα κρασιά, δεν βελτιώνει τους οργανοληπτικούς τους χαρακτήρες και για το λόγο αυτό η μηλογαλακτική ζύμωση προλαμβάνει με θείωση του γλεύκους, αλλά και του αποζυμωμένου κρασιού. Εντούτοις, στη βιβλιογραφία αναφέρονται περιπτώσεις βελτιώσεως των οργανοληπτικών χαρακτήρων και λευκών κρασιών αυξημένης οξύτητας με τη μηλογαλακτική ζύμωση (Valade, 1987).

Η μηλογαλακτική ζύμωση παρεμποδίζεται ομοίως με θείωση και στα γλυκά κρασιά, ενώ στα ελαφρά χρωματισμένα (ροζέ), άλλοτε ενθαρρύνεται και άλλοτε παρεμποδίζεται, ανάλογα με τις απαιτήσεις της αγοράς. Πάντως, τα λευκά κρασιά

καθώς και τα ροζέ, με παρεμπόδιση της μηλογαλακτικής ζυμώσεως, διατηρούν το φρουτώδες άρωμα της σταφυλής και τη δροσερότητα του νωπού προϊόντος στη γεύση. Αντίθετα, τα κρασιά που έχουν υποστεί μηλογαλακτική ζύμωση εισέρχονται στο πρώτο στάδιο της παλαιώσεως.

Τα βακτήρια της μηλογαλακτικής ζυμώσεως προσβάλλουν κατά προτίμηση το μηλικό οξύ και αφήνουν πρακτικά ανέπαφα τα ζάχαρα σε χαμηλή τιμή του pH. Σχηματίζουν όμως πάντοτε μικροποσότητες πτητικών οξέων.

Αντίθετα, τα βακτήρια των ασθενειών του κρασιού προσβάλλουν σε μεγαλύτερη τιμή του pH τα ζάχαρα και τα άλλα ουσιώδη συστατικά του κρασιού και αυξάνουν ουσιωδώς την πτητική του οξύτητα.

## **5.6 Οι επιπτώσεις στην ποιότητα του κρασιού από την μηλογαλακτική ζύμωση**

Οι επιπτώσεις είναι οι ακόλουθες:

- Σημαντική μείωση της ολικής οξύτητας,
- Επακόλουθη ανύψωση της τιμής του pH,
- Έκλυση διοξειδίου του άνθρακος σε ποσότητα αρκετή για τον σχηματισμό αφρού,
- Εμφάνιση θολώματος,
- Σχηματισμός γαλακτικού οξέος σε βάρος του απαλόγευστου μηλικού με παράλληλη σύνθεση οξικού οξέος, διακετυλίου, ακετοΐνης και διάφορων εστέρων.

Η γεύση και το άρωμα του κρασιού μετά την μηλογαλακτική ζύμωση αλλάζουν αισθητά με αποτέλεσμα να υπάρχει σαφώς βελτίωση και εκλέπτυνση της ποιότητας του κρασιού σε ορισμένες περιπτώσεις και σε άλλες σαφής υποβάθμιση.

Η ανωτέρω ζύμωση σε άλλες περιπτώσεις επηρεάζει την ποιότητα του κρασιού θετικά και σε άλλες αρνητικά. Οφείλεται σε γαλακτοβακτήρια τα οποία πρέπει να ευνοούνται στην ανάπτυξη τους στην πρώτη περίπτωση και να παρεμποδίζονται στη δεύτερη.

Η μηλογαλακτική ζύμωση δρα ευνοϊκά στα γλεύκη ορεινών περιοχών, που είναι πλούσια σε μηλικό οξύ. Η ίδια ζύμωση σε γλεύκη νοτίων περιοχών επηρεάζει

δυσμενώς την ποιότητα των κρασιών γιατί η οξύτητα τους είναι μικρή και πρέπει τα ίδια για μακρό χρόνο να διατηρήσουν τη φρεσκάδα τους. Ακόμα, η ίδια η ζύμωση είναι ανεπιθύμητη και θολώνει τα εμφιαλωμένα κρασιά και τους εξασφαλίζει τσουχτερή γεύση. Τα τελευταία χρόνια λόγω χρήσεως του θειώδους οξέος η μηλογαλακτική ζύμωση δεν εκδηλώνεται αμέσως μετά το πέρας της αλκοολικής, όπως συνέβαινε παλαιότερα. Έτσι αναζητούνται σε πολλές περιπτώσεις τεχνικές για τον έλεγχο της.

Παλαιότερα, ολική οξύτητα αυξημένη θεωρούταν παράγοντας βιολογικής δραστηριότητας. Σήμερα, είναι γνωστό ότι, ένα κρασί που έχει υποστεί μηλογαλακτική ζύμωση, αν και έχει σχετικά μικρότερη ολική οξύτητα από κάποιο που δεν έχει υποστεί, είναι βιολογικά σταθερότερο. Εξ άλλου, χαμηλή οξύτητα σε συνδυασμό με μικρή πτητική οξύτητα και μικρή περιεκτικότητα σε οξικό αιθυλεστέρα, ιδίως για κρασιά που είναι πλούσια σε ταννίνες έχει ως συνέπεια να κάνει τα κρασιά πιο μαλακά γευστικά.(Μπαλατσούρας,2005)

## **5.7 Σχολιασμός της αποξέωσης του κρασιού με γαλακτοβακτήρια**

Η αποξέωση του κρασιού με την μηλογαλακτική ζύμωση είναι περισσότερο εξασφαλισμένη με πληθυσμό κυττάρων του *Leuconostoc oenos*, προερχόμενο από εργαστηριακή καλλιέργεια σε σύγκριση με πληθυσμό από εμπορικά σκευάσματα.

Η μείωση της οξύτητας (αποξέωση) με τη μηλογαλακτική ζύμωση είναι αδύνατη, αν το κρασί περιέχει πολύ μηλικό οξύ (6-10 γραμ. κατά λίτρο) και  $pH$  κάτω του 3,0.

Στις περιπτώσεις αυτές, η μείωση της οξύτητας επιτυγχάνεται με την μηλογαλακτική ζύμωση την οποία φέρουν σε πέρας είδη του γένους *Schizosaccharomyces*. Ενδεχομένως, ακινητοποιημένα ένζυμα ή κύτταρα γαλακτοβακτηρίων συνιστούν προσφορότερες τεχνικές.

Έχοντας υπόψη όλα τα προηγούμενα, θέση μας είναι ότι, η ορθά ελεγχόμενη μηλογαλακτική ζύμωση αποτελεί άρτια επιλογή όταν:

- Επιζητούμε μείωση της οξύτητας με βιολογικό τρόπο στη ζώνη Γ IIIβ (κάτω από 600 μέτρα υψόμετρο), όπου η χημική επέμβαση δεν επιτρέπεται από την νομοθεσία,

- Επιζητούμε, μεγαλύτερη μικροβιολογική σταθερότητα των οίνων προς παλαίωση,

- Επιζητούμε, την ανάπτυξη πολύπλοκων αρωμάτων και ειδικού αρωματικού χαρακτήρα.

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βέκιος Γ., Κουκής Δ., Τσακίρης Α. Το βιβλίο του κρασιού, εκδόσεις Ψυχάλου, Αθήνα.
- Μπαλατσούρας, Γ. (2006). Μικροβιολογία Τροφίμων, εκδόσεις Εμβρυο, Αθήνα.
- Σουφλερός, Ε. (1997). Οινολογία, Επιστήμη και Τεχνολογία, Α' + Β' τόμος, Θεσσαλονίκη.
- Τσακίρη Ν. Αργύρη. (1998). Οινολογία, Από το σταφύλι στο κρασί, εκδόσεις Ψυχάλου, Αθήνα.
- Τσέτουρας Λ. Παναγιώτης. (2003). Οινοτεχνία, Η επιστήμη του κρασιού στην πράξη, εκδόσεις Σταμούλη.
- Ερυθρή οينوποίηση, <http://www.infowine.gr>
- Πασέγες :Συμβολή του ISO 22000, <http://www.paseges.gr>.
- Τα αμπέλια, το κρασί και το τσίπουρο – Η παραγωγή κρασιού, <http://kynigos.net.gr>
- Χαρισματικοί οίνοι-Οينوποίηση ερυθρών κρασιών, <http://www.charismatikiwines.com>
- Comoutos- Λεξικό κρασιού, Γλωσσάρι, [http://www.comoutos.gr/dictionary\\_wine.htm](http://www.comoutos.gr/dictionary_wine.htm)
- Malolactic fermentation- Wikipedia, the free encyclopedia, <http://www.el.wikipedia.org/wiki>
- The home winemakers manual- by Lum Eisenman, <http://home-winemaker.com>