



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Χρήση του Φουμαρικού Οξέος για τον έλεγχο της
Μηλογαλακτικής Ζύμωσης και μελέτη της επίδρασής του στα
βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά σε οίνο της ποικιλίας Κοτσιφάλι**

**Φραντζεσκάκη Ζαχαρούλα
ΑΜ:18685075**

Επιβλέπων: Αραπίτσας Παναγιώτης

ΑΘΗΝΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ - 2023



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA
SCHOOL OF FOOD SCIENCE
DEPARTMENT OF WINE, VINE AND BEVERAGE SCIENCES**

BACHELOR THESIS

**Use of Fumaric acid to control the malolactic fermentation
and study its effect on the basic oenological parameters
of kotsifali**

Frantzeskaki Zacharoula

Registration number: 18685075

Supervisor: Arapitsas Panagiotis

ATHENS, SEPTEMBER 2023

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ

ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο:

«Χρήση του Φουμαρικού Οξέος για τον έλεγχο της Μηλογαλακτικής Ζύμωσης και μελέτη της επίδρασής του στα βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά σε οίνο της ποικιλίας Κοτσιφάλι»

και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (Παναγιώτης Αραπίτσας)	
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (Αλεξάνδρα Ευαγγέλου)	
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (Παναγιώτης Ταταρίδης)	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογράφουσα Φραντζεσκάκη Ζαχαρούλα του Αλκιβιάδη, με αριθμό μητρώου 18685075 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών τροφίμων του Τμήματος επιστημών οίνου, αμπέλου και ποτών, δηλώνω υπεύθυνα ότι: «Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Επιθυμώ την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μου μέχρι 12 μήνες από την ημερομηνία κατάθεσης στην Πολυλόγη και έπειτα από αίτηση μου στη Βιβλιοθήκη και έγκριση του επιβλέποντα καθηγητή*

Η Δηλούσα

Φραντζεσκάκη Ζαχαρούλα

*Αραπίτσας Παναγιώτης

Ψηφιακή Υπογραφή

** Σε εξαιρετικές περιπτώσεις και μετά από αιτιολόγηση και έγκριση του επιβλέποντα, προβλέπεται χρονικός περιορισμός πρόσβασης (embargo) 6-12 μήνες. Στην περίπτωση αυτή θα πρέπει να υπογράψει ψηφιακά ο/η επιβλέπων/ουσα καθηγητής/τρια, για να γνωστοποιεί ότι είναι ενημερωμένος/η και συναινεί. Οι λόγοι χρονικού αποκλεισμού πρόσβασης περιγράφονται αναλυτικά στις πολιτικές του Ι.Α. (σελ. 6):*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην εν λόγω πτυχιακή εργασία μελετήθηκε η επίδραση του φουμαρικού οξέος στα ποιοτικά χαρακτηριστικά της ελληνικής ερυθρής ποικιλίας Κοτσιφάλι. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η αύξηση της ολικής οξύτητας με τη προσθήκη του φουμαρικού οξέος, καθώς και η επίδρασή του στην εκδήλωση της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Από τον εξεταζόμενο οίνο δημιουργήθηκαν δείγματα στα οποία έγινε προσθήκη μηλικού και φουμαρικού οξέος και στα μισά δείγματα έγιναν διαφορετικές προσθήκες γαλακτικών βακτηρίων *Oenococcus oeni*. Τα δείγματα αυτά διαχωρίστηκαν σε δύο μέρη και το πρώτο μελετήθηκε με την πάροδο 3 μηνών από την δημιουργία τους, ενώ το δεύτερο με την πάροδο 6 μηνών. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, έδειξαν ότι το φουμαρικό οξύ σε ποσότητα 600 mg/L είναι ικανό να εμποδίσει τη μηλογαλακτική ζύμωση ακόμα και με την προσθήκη γαλακτικών βακτηρίων. Επιπλέον, ανάλογα με την προσθήκη των οξέων αυξήθηκε και η ογκομετρούμενη οξύτητα έως και 1,3 g/L με την μέγιστη προσθήκη φουμαρικού οξέος και 3 g/L με την μέγιστη προσθήκη μηλικού. Συνεπώς είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την διόρθωση της οξύτητας στους οίνους, διότι σε ίση ποσότητα με το μηλικό οξύ την αυξάνει σχεδόν στο διπλάσιο το φουμαρικό. Πιο συγκεκριμένα, με την προσθήκη 3 g/L μηλικού οξέος η μεταβολή της οξύτητας είναι της τάξεως 41 meq/L, ενώ μόνο με την προσθήκη 300 mg/L, που είναι το 1/10 από την προσθήκη του μηλικού, η διαφορά είναι περίπου 10 meq/L. Όσον αφορά το pH, η προσθήκη των οξέων οδήγησε στη μείωση του ισόβαθμα με μέγιστη μείωση το 0,16. Αναφορικά με το χρώμα των οίνων, οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με την εξέταση των παραμέτρων CIELab και φανέρωσαν ότι υπήρχαν αισθητές διαφορές οπτικά ανάμεσα στα δείγματα, καθώς το ΔE* έφτανε ακόμα και το 6, το οποίο σημαίνει ότι η χρωματική διαφορά είναι ορατή με γυμνό μάτι. Τέλος, τα δείγματα με την μεγαλύτερη ποσότητα φουμαρικού οξέος, ακόμα και με την πάροδο 6 μηνών, φάνηκε να διατηρούν περισσότερο το κόκκινο χρώμα τους, λόγω του ότι εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές a* από τα υπόλοιπα.

Λέξεις κλειδιά: Κοτσιφάλι, φουμαρικό οξύ, μηλικό οξύ, μηλογαλακτική ζύμωση, γαλακτικά βακτήρια, ογκομετρούμενη οξύτητα, pH, CIELab.

ABSTRACT

The aim of this thesis was to study the effect of fumaric acid on the main quality characteristics of the Greek red variety Kotsifali. Specifically, the increase in total acidity with the addition of fumaric acid was studied, as well as its effect on the occurrence of malolactic fermentation. From the examined wine, samples were created with the different additions of malic and fumaric acid and *Oenococcus oeni* lactic bacteria was added to half of the samples. These samples were divided into two parts: the first was studied after 3 months from their creation, while the second after 6 months. The results of this study showed that fumaric acid at a quantity of 600 mg/L is capable of inhibiting malolactic fermentation, even with the addition of lactic bacteria. Also, depending on the addition of the acids, the titrated acidity increased up to 1.3 g/L with the maximum addition of fumaric acid and 3 g/L with the maximum addition of malate. It is therefore a useful tool for correcting the acidity in wines, because fumarate increases it almost twice as much as malic acid. More specifically, with the addition of 3 g/L of malic acid, the increase in acidity is of the order of 41 meq/L, while only with the addition of 300 mg/L, which is 1/10 of the addition of malic acid, the difference is approximately 10 meq/L. Regarding the pH, the addition of the acids led to a decrease equally with a maximum decrease of 0.16. Concerning the color of the wines, the analyzes were carried out using CIELab and revealed that there were noticeable differences visually between the samples, as the ΔE^* even reached 6, which means that the color difference is visible to the naked eye. Finally, the samples with the highest amount of fumaric acid, even after 6 months, seemed to retain their red color more than the others, due to the fact that they showed the highest a^* values.

Keywords: Kotsifali, fumaric acid, malic acid, malolactic fermentation, lactic acid bacteria, titrated acidity, pH, CIELab.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT.....	6
1. Εισαγωγή	8
1.1 Ποικιλία.....	8
1.2 Μηλογαλακτική ζύμωση.....	8
1.3 Τανίνες.....	10
1.4 Το χρώμα των οίνων	11
1.5 Ογκομετρούμενη οξύτητα.....	12
1.6 Τρυγικό οξύ.....	13
1.7 Μηλικό οξύ.....	13
1.8 Φουμαρικό οξύ.....	14
1.9 Γαλακτικό οξύ.....	14
1.10 Η ανάγκη μεταβολής της οξύτητας.....	15
Σκοπός	16
2. Υλικά και μέθοδοι	17
2.2 Οίνος προς μελέτη.....	17
2.3 Είδος βακτηρίων.....	17
2.4 Προετοιμασία δειγμάτων.....	17
2.5 Μέτρηση pH.....	20
2.6 Μέτρηση ολικής / ογκομετρούμενης οξύτητας.....	21
2.7 Προσδιορισμός ολικών τανινών.....	22
2.8 Ενζυμικός αναλυτής.....	23
2.9 CIELab.....	24
3. Αποτελέσματα	26
3.1 Αποτελέσματα Ενζυμικού Αναλυτή.....	26
3.2 Αποτελέσματα ογκομετρούμενης οξύτητας.....	31
3.3 Αποτελέσματα θεωρητικής τιμής και σφάλματος οξύτητας.....	34
3.4 Αποτελέσματα pH.....	37
3.5 Αποτελέσματα Τανινών.....	40
3.6 Αποτελέσματα CIELab.....	41
4. Συμπεράσματα	46
Βιβλιογραφία	47
5. Πίνακες Μετρήσεων	49

1. Εισαγωγή

1.1 Ποικιλία

Το Κοτσιφάλι είναι η γηγενής ερυθρή ποικιλία - ορόσημο του ονομαστού αμπελώνα της Κρήτης και συμμετέχει στα χαρμάνια των ΠΟΠ ΠΕΖΑ και ΠΟΠ ΑΡΧΑΝΕΣ. Η καλλιέργειά της γίνεται κυρίως στο νομό Ηρακλείου και στις Κυκλάδες. Σύμφωνα με τη νομοθεσία, η καλλιέργειά της συνιστάται στο αμπελουργικό διαμέρισμα της Κρήτης και επιτρέπεται στα αμπελουργικά διαμερίσματα των Κυκλάδων και του Βορείου Αιγαίου. Καλλιεργείται σε ολόκληρη την Κρήτη, αλλά οι καλύτεροι οίνοι προέρχονται από την περιοχή του Ηρακλείου. Από εκεί προέρχονται και τα δείγματα της εν λόγω εργασίας.^[1]

➤ Αμπελογραφικά Χαρακτηριστικά

Η κορυφή του νεαρού βλαστού είναι ανοιχτή, βαμβακώδης και λευκοπράσινη. Τα φύλλα της είναι μεγάλου μεγέθους, κυκλικά, πεντάλοβα, με μισχικό κόλπο λύρα ή U και βαθείς πλάγιους κόλπους επικαλυπτόμενους (ανώτεροι). Επιπλέον, το έλασμα είναι παχύ σχεδόν επίπεδο, βαθύ πράσινο και λείο στην ανώτερη επιφάνεια και ανοιχτό πράσινο και έντονα χνουδωτό στην κάτω. Τα άνθη είναι μορφολογικά και φυσιολογικά ερμαφρόδιτα. Τέλος, η σταφυλή είναι μεσαίου μεγέθους, κυλινδροκωνική και πυκνή, ο μίσχος είναι μέσου μήκους και πάχους, συνήθως ξυλοποιημένος μέχρι τον κόμφο και η ράγα είναι μέσου μεγέθους, ελλειψοειδής και κυανομέλανου χρώματος, με αρκετή ανθρότητα, σάρκα μαλακή και χυμώδης και ο ποδίσκος μέσου μήκους και λεπτός.

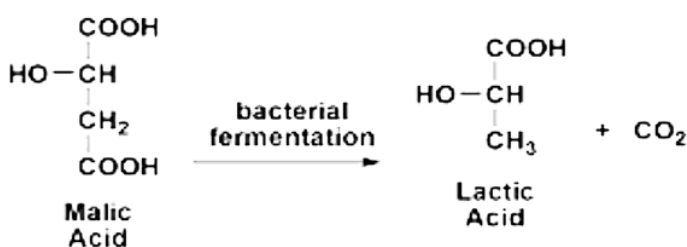
Το πρέμνο είναι ζωηρό και η ποικιλία χαρακτηρίζεται ως εξαιρετικά παραγωγική (2 σταφύλια ανά καρποφόρο βλαστό). Διαμορφώνεται σε κυπελλοειδή σχήματα, αλλά και σε γραμμοειδή σχήματα διαμόρφωσης Royal (ιδιαίτερα μετά από αναμπελώσεις). Είναι ορθόκλαδη ποικιλία που αξιοποιεί τα φτωχά βαθιά αργιλλασβεστώδη και χαλικώδη εδάφη. Η εκβλάστηση συμβαίνει το τρίτο 10ήμερο του Μαρτίου, η άνθηση το τρίτο 10ήμερο του Μάη, ο περκασμός 20-25 Ιουλίου, ενώ ωριμάζει το 1ο 10ήμερο του Σεπτεμβρίου. Έχει μέτρια αντοχή στην ξηρασία και τις ασθένειες. Συγκεκριμένα, είναι μέτρια ευαίσθητη στον περονόσπορο και το ωίδιο και πολύ ευαίσθητη στον μολυσματικό εκφυλισμό.

Ως αποτέλεσμα έχει ένα «τυπικό μεσογειακό» ερυθρό οίνο, με απαλό και σχετικά ασταθές χρώμα, ένταση αρωμάτων, σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλη (13,5%), ήπιες τανίνες και οξύτητα. Το αρωματικό του προφίλ απαρτίζεται από γλυκά λουλούδια, αποξηραμένα μαύρα και κόκκινα φρούτα όπως δαμάσκηνο, βύσσινο, κεράσι και συνθέσεις μπαχαρικών. Μετά από παλαίωση, αποκτούν ευχάριστο αρωματικό χαρακτήρα.^[1]

1.2 Μηλογαλακτική ζύμωση

Η μηλογαλακτική ζύμωση με τις κατάλληλες συνθήκες είναι ένα σύνθετο στάδιο της οινοποίησης, όμως σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να θεωρηθεί και αλλοίωση.^[2]

Κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση τα γαλακτικά βακτήρια μετατρέπουν το L(-) μηλικό οξύ αποκλειστικά σε L(+) γαλακτικό οξύ. Η μετατροπή αυτή απεικονίζεται σχηματικά παρακάτω:



Κατά τη μετατροπή αυτή πραγματοποιείται μια στοιχειομετρική αποκαρβοξυλίωση, κατά την οποία χάνεται ένα καρβοξύλιο. Η αποκαρβοξυλίωση πραγματοποιείται παρουσία των συμπαραγόντων NAD και Mn^{2+} .^[3] Τα γαλακτικά βακτήρια μεταφέρονται από την φλούδα του σταφυλιού στο γλεύκος και εκεί αναπτύσσονται γρήγορα τις πρώτες ώρες. Με την εμφάνιση, όμως, της αιθανόλης κατά την αλκοολική ζύμωση ο πληθυσμός τους μειώνεται για να μηδενιστεί και έτσι μόνο τα πιο ανθεκτικά είδη γαλακτικών βακτηρίων καταφέρνουν να επιζήσουν στις αντίξοες συνθήκες που δημιουργούνται. Η ανάπτυξη αυτών των βακτηρίων, που είναι υπεύθυνα για την μηλογαλακτική ζύμωση, που πραγματοποιείται κατά το τέλος ή αμέσως μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης (πληθυσμός τάξεως $10^6/\text{mL}$)^[4] και εφόσον επικρατούν οι κατάλληλες συνθήκες, ξεκινάει λίγες μέρες μετά. Όσο μεγαλύτερο είναι το pH, τόσο πιο εύκολα πραγματοποιείται η μηλογαλακτική ζύμωση. Το κατεξοχήν είδος που κυριαρχεί και είναι υπεύθυνο για την διεξαγωγή της μηλογαλακτικής ζύμωσης είναι το *Oenococcus oeni*.

Η μηλογαλακτική ζύμωση εκλύει ενέργεια με μορφή ATP, η οποία παράγεται στα κυτταρικά τοιχώματα των βακτηρίων που εδράζεται το μηλογαλακτικό ένζυμο. Σε κάθε μετατροπή ενός μορίου μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ παράγεται ένα μόριο ATP.^[3]

Κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση παρατηρούνται στους οίνους οι εξής μεταβολές:

1. Μείωση της ολικής οξύτητας: Το μηλικό οξύ έχει δύο ομάδες καρβοξυλίου, ενώ το γαλακτικό μία. Η μείωση της ολικής οξύτητας υπολογίζεται περίπου στο μισό που αντιστοιχεί στο μηλικό οξύ που αποικοδομείται, γιατί γαλακτικό μπορεί να σχηματιστεί από τα εναπομείναντα σάκχαρα από τις ζύμες κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση, από αποικοδόμηση του μηλικού από τις ζύμες και από την κατακρήμνιση του όξινου τρυγικού καλίου, αν το pH πριν την αποικοδόμηση του μηλικού είναι κάτω από 3,56. Επίσης η οξύτητα μειώνεται σε μικρό βαθμό με το CO_2 , που εκλύεται. Η μείωση της ολικής οξύτητας είναι συναρτησεί του αρχικά περιεχομένου μηλικού οξέος και μπορεί να φτάσει μέχρι 3 g/L.^[4]
2. Αύξηση του pH: Η αύξηση του pH εξαρτάται από την ρυθμιστική ικανότητα του οίνου και επομένως από τις συγκεντρώσεις των διαφόρων ασθενών οξέων πριν και μετά την αποκαρβοξυλίωση, καθώς και από το αρχικό pH, συνεπώς καθιστάται δύσκολα υπολογίσιμη. Επιπλέον, το γαλακτικό οξύ είναι ασθενέστερο οξύ από το μηλικό και το pK_a του γαλακτικού οξέος είναι μεγαλύτερο από το pK_a του μηλικού οξέος.^[2] Η αύξηση κυμαίνεται στις 0,1-0,3 μονάδες.^[4]
3. Αύξηση της πτητικής οξύτητας: ο σχηματισμός του οξικού οξέος οφείλεται στην αποικοδόμηση του κιτρικού οξέος αλλά και των πεντοζών. Η αύξηση είναι της τάξης των 0,1-0,2 g/L.

4. Μικροβιολογική σταθεροποίηση: παρόλο που το pH αυξάνεται, επέρχεται μικροβιολογική σταθεροποίηση γιατί μειώνονται οι πηγές ενέργειας των βακτηρίων.^[3]
5. Χρώμα ερυθρών οίνων: Παρατηρείται μια αλλαγή του χρώματος στον κόκκινο οίνο μετά από την δραστηριότητα των γαλακτικών βακτηρίων. Μια σημαντική απώλεια στο κόκκινο χρώμα προέρχεται από τις μετατοπίσεις της ισορροπίας που προκύπτουν από την αύξηση του pH. Αν η μετατροπή επιφέρει ένα ασυνήθιστα υψηλό pH, η ποιότητα του χρώματος μπορεί επίσης να αλλάξει, από κόκκινο έως την κυανό^[2] (ελαττώνεται η ένταση και η απόχρωση εξασθενεί).
6. Σχηματισμός γαλακτικού αιθυλεστέρα και διακετυλίου: ο σχηματισμός του γαλακτικού αιθυλεστέρα συνεισφέρει στον γευστικό πλούτο του οίνου, ενώ το διακετύλιο δίνει την οσμή βουτύρου. Εάν η συγκέντρωση του διακετυλίου είναι >5 mg/L, τότε η οσμή βουτύρου γίνεται κυρίαρχη και η παρουσία του στον οίνο θεωρείται μειονέκτημα.^[3]
7. Βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτήρων: το άρωμα μεταβάλλεται βαθιά, εμπλουτίζεται και γίνεται πιο σύνθετο και ευχάριστο. Οι νέοι οίνοι γίνονται απαλοί, σαρκώδεις και εμφανίζονται παχείς στο στόμα. Μαλακώνει τη γεύση λόγω της μείωσης του μηλικού οξέος, ενός δηκτικού οξέος με χαρακτηριστική οσμή άγουρου μήλου, στυφού και επιθετικού και της μετατροπής του σε γαλακτικό οξύ. Όσον αφορά τη γεύση, οι ερυθροί οίνοι χάνουν τον όξινο και άγριο χαρακτήρα τους και γίνονται λιγότερο ταννικοί, πιο απαλοί και πιο λιπαροί.^[3]
8. Αποκαρβοξυλίωση της ιστιδίνης σε ισταμίνη: η ισταμίνη, που είναι μια βιογενής αμίνη, σε συγκεντρώσεις >10 mg/L θεωρείται τοξική. Η μηλογαλακτική ζύμωση συνοδεύεται από αύξηση των βιογενών αμινών. Η αύξηση είναι ιδιαίτερα σημαντική σε γλεύκη πλούσια σε αζωτούχες ενώσεις.^[3]

1.3 Τανίνες

Οι τανίνες είναι ουσίες φυτικής προέλευσης που, ενώ έχουν διαφορετική χημική δομή μεταξύ τους, έχουν ως κοινό την ένωση τους με πρωτεΐνες ή άλλα πολυμερή όπως οι πολυσακχαρίτες.^[5] Οι τανίνες του οίνου προέρχονται κυρίως από τη φλούδα και τα γίγαρτα των σταφυλιών, όμως μπορούν να προέρχονται και από μικροβιακές πηγές και πηγές βελανιδιάς.^[21]

Οι τανίνες που περιέχονται στα σταφύλια περιλαμβάνουν την προδελφινιδίνη, που υπάρχει μόνο στο φλοιό. Αυτές στον φλοιό ξεχωρίζουν από αυτές στα γίγαρτα λόγω της παρουσίας προδελφινιδίνης και το μεγαλύτερο μέσο βαθμό πολυμερισμού. Στα γίγαρτα, οι τανίνες απαντώνται στο χιτώνα που προστατεύει το έμβρυο και ελευθερώνονται στο εξωτερικό περιβάλλον με την διαλυτοποίησή του. Στην επιδερμίδα υπάρχουν τρεις τύποι τανινών, ανάλογα με το σημείο όπου εντοπίζονται. Ακόμα, τανίνες εντοπίζονται στα χυμοτόπια των κυττάρων κοντά στην επιδερμίδα οι οποίες σχηματίζουν πυκνή συστάδα και, τέλος, τανίνες βρίσκονται προσδεσμένες πολύ στερεά στην πρωτεΐνη φωσφολιπιδική μεμβράνη, ενώ άλλες είναι ενσωματωμένες στα τοιχώματα της κυτταρίνης. Η κατανομή τους σχετίζεται με τον αντιμυκητιακό τους ρόλο αφού παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των μικκυλίων που προσβάλλουν τη ράγα. Η ευκολία εξαγωγής των τανινών από τα γίγαρτα οφείλεται στην παρουσία τους στα επιφανειακά στρώματα και οι δομικές μονάδες του πολυμερούς είναι κατά μέσο όρο 10 στα γίγαρτα και 30 στο φλοιό. Η συγκέντρωση των τανινών στο σταφύλι,

συνεχίζει να αυξάνεται, ακόμη και όταν οι ανθοκυάνες, έχουν φτάσει στο μέγιστό τους και αρχίζουν να μειώνονται, ενώ στα γίγαρτα μειώνεται με την αλλαγή του χρώματος της ράγας. Οι τανίνες χωρίζονται στις υδρολυόμενες και τις συμπικνωμένες. Οι πρώτες αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου εστεροποιημένο με διάφορα φαινολικά οξέα. Είναι αποκλειστικά συστατικά του ξύλου και δεν υπάρχουν στα σταφύλια, συνεπώς συναντώνται μόνο σε οίνους που έχουν υποστεί οξειδωτική παλαίωση ή έχει γίνει προσθήκη οινολογικής τανίνης. Οι συμπικνωμένες τανίνες, στις οποίες αποδίδεται και το σώμα των ερυθρών οίνων σχηματίζονται από αντιδράσεις πολυμερισμού 10 έως 12 μορίων μονομερών φλαβανολών-3 (κατεχινών) και κυρίως των φλαβανοδιολών-3, 4 (προανθοκυανιδινών). Αποτελούν το 30-60% των ολικών φαινολικών παραγώγων του οίνου. Οι διαφορετικές οργανοληπτικές ιδιότητές τους εξαρτώνται πέρα από την περιεκτικότητά τους (στους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται μεταξύ 1-4 g/L και στους λευκούς οίνους μεταξύ 100-300 mg/L) και από την διαφοροποίηση στη δομή τους.^[5]

Η συγκέντρωση των τανινών στο σταφύλι, αν και είναι υψηλή κατά την αλλαγή του χρώματός του, συνεχίζει να αυξάνεται, ακόμη και όταν οι ανθοκυάνες έχουν φτάσει στο μέγιστό τους και αρχίζουν να μειώνονται. Η συγκέντρωση των τανινών στα γίγαρτα μειώνεται με την αλλαγή του χρώματος της ράγας. Η παράλληλη μείωση των τανινών στα γίγαρτα με την αύξηση της περιεκτικότητας των τανινών στην επιδερμίδα έχει παρατηρηθεί και στα λευκά σταφύλια.^[5]

Η ιδιότητα των τανινών να προκαλούν στυφή γεύση, οφείλεται στην ικανότητα που έχουν να ενώνονται με τις πρωτεΐνες. Συνεπώς, η ιδιότητά τους αυτή επηρεάζεται από τον βαθμό πολυμερισμού. Η ανομοιογένεια της υφής των τανινών εξαρτάται από την ποικιλία των σταφυλιών, τις κλιματολογικές συνθήκες και το είδος της οινοποίησης. Οι ερυθροί οίνοι που προορίζονται για γρήγορη κατανάλωση περιέχουν μόνο μικρά μόρια τανινών, που δεν αντέχουν στην παλαίωση, το οποίο επιτυγχάνεται με σύντομο χρόνο εκχύλισης που στοχεύει περισσότερο στην παραλαβή ανθοκυανών. Αντιθέτως, στους νέους οίνους που προορίζονται για παλαίωση, έχοντας υποστεί μακρόχρονη εκχύλιση, οι τανίνες προέρχονται κυρίως από τα γίγαρτα και είναι κατά μεγάλο ποσοστό μεγάλα μόρια. Η ικανότητα παλαίωσης των οίνων εκτός από την ποικιλία του σταφυλιού εξαρτάται και από την ωρίμανσή του καθώς αυτή επηρεάζει τον βαθμό πολυμερισμού των τανινών. Κατά την παλαίωση με την επίδραση του οξυγόνου σχηματίζονται μεγάλα πολυμερή που είναι απαραίτητα για την πραγματοποίησή της. Συνεπώς, το οξυγόνο είναι σημαντικό στο σχηματισμό μεγάλων μορίων τανινών κατά τη διάρκεια της παραμονής του οίνου σε ξύλινο βαρέλι. Τα μεγάλα μόρια τανινών μπορούν να διατηρηθούν κατά τη γήρανση και έχουν την ιδιότητα να μην προκαλούν στυφή αίσθηση.^[4]

1.4 Το χρώμα των οίνων

Ο σημαντικός οργανοληπτικός ρόλος των φαινολικών συστατικών^[5] (τανίνες, ανθοκυάνες, και άλλα)^[4] είναι που τα κάνει να έχουν μεγάλη σπουδαιότητα για την Οινολογία, καθώς καθορίζουν το χρώμα των οίνων, αλλά και την στυφή αίσθηση. Συνεπώς, είναι τα κύρια υπεύθυνα για τις διαφορές χρώματος και γεύσης μεταξύ των οίνων. Σχηματίζονται από τη γλυκόζη ή με τη συμπύκνωση τριών μορίων οξικού οξέος. Κυρίως η ποικιλία, αλλά και το αμπέλι, οι κλιματολογικές συνθήκες, η παραγωγικότητα, η οινοποιητική τεχνική και η συντήρηση επηρεάζουν το είδος των φαινολικών ενώσεων.

Τα φαινολικά συστατικά διαχωρίζονται στις φλαβονοειδείς και τις μη φλαβονοειδείς φαινόλες.

Στις φλαβονοειδείς φαινόλες υπάγονται οι φλαβανόνες, οι φλαβονόλες, οι φλαβαν-3-όλες, οι προανθοκυανιδίνες και οι ανθοκυάνες. Οι φλαβονόλες είναι συστατικά του φλοιού των σταφυλιών και είναι κίτρινες. Βρίσκονται τόσο σε ερυθρούς όσο και σε λευκούς οίνους με μόνη διαφορά τη σύστασή τους και όχι την περιεκτικότητά τους.^[5] Οι ερυθροί οίνοι περιέχουν πολύ περισσότερα ολικά φαινολικά από τους λευκούς, διότι οι φαινολικές ενώσεις προέρχονται από κυρίως από τα στερεά μέρη του σταφυλιού. Έτσι στους ερυθρούς οίνους περιέχονται όλες τις φαινολικές ενώσεις που αναφέρονται, ενώ οι λευκοί οίνοι περιέχουν κυρίως φαινολικά οξέα.^[24] Στους οίνους απαντώνται ως ετεροζίτες ή ελεύθερες φαινόλες, ενώ στο σταφύλι ως μονομερή κυρίως σαν κατεχίνη και επικατεχίνη, όπως επίσης και σαν προανθοκυανιδίνες που έχουν δομή αντίστοιχη με τις κατεχίνες με ένα υδροξύλιο επιπλέον. Η οξειδωσή τους οδηγεί στο καφέτιασμα των οίνων. Οι κατεχίνες και οι προανθοκυανιδίνες βρίσκονται κυρίως στα γίγαρτα και λιγότερο στο φλοιό. Το γλεύκος δεν περιέχει τέτοιες ουσίες, αν και έχουν βρεθεί ίχνη στη σάρκα. Αυτό εξηγεί γιατί οι πρόδρομοι των συμπυκνωμένων τανινών σχηματίζουν τη δομή και το σώμα των ερυθρών οίνων, ενώ η αντοχή στο χρόνο οφείλεται στις ουσίες που προέρχονται από τα γίγαρτα. Οι τανίνες σχηματίζονται κατά την ωρίμανση από πολυμερή των κατεχινών και των προανθοκυανιδινών.^[5]

Οι ανθοκυάνες του σταφυλιού όσο αυτό ωριμάζει, καταλαμβάνουν διαρκώς περισσότερο χώρο κυρίως σε κύτταρα κοντά στη σάρκα. Δημιουργούνται στα φύλλα και τα χρωματίζουν μετά τον τρύγο. Η σύστασή τους διαφοροποιείται ανάλογα με την ποικιλία, ενώ διαφορές υπάρχουν και ανάλογα με τη χρονιά και το αμπέλι. Κυρίως το pH και η σύσταση του οίνου καθορίζουν το χρώμα τους.^[5] Κατά τη γήρανση του οίνου παρατηρείται μείωση του κόκκινου χρώματος λόγω της μείωσης των ανθοκυανών εξαιτίας της φυσιολογικής κατακρήμνισης τους και της ένωσής τους με τις τανίνες. Στους παλαιωμένους οίνους που τελικά παύουν να περιέχουν ανθοκυάνες, το κόκκινο χρώμα οφείλεται σ' αυτές τις ενώσεις ανθοκυανών τανινών.^[4]

Στις μη φλαβονοειδείς φαινόλες υπάγονται ενώσεις όπως τα στυλβένια και μονομοριακά φαινολικά παράγωγα του βενζοϊκού ή του κινναμωμικού οξέος. Βρίσκονται στο σταφύλι στα χυμοτόπια των κυττάρων, του φλοιού και της σάρκας υπό μορφή ετεροζιτών ή εστέρων και το είδος *Vitis* επηρεάζει την περιεκτικότητά τους. Συντελούν, επίσης, ανασταλτικό παράγοντα για την ανάπτυξη των βακτηρίων, διότι τα βακτήρια είναι πιο ευαίσθητα από τις ζύμες.^[5]

1.5 Ογκομετρούμενη οξύτητα

Η ολική οξύτητα του οίνου ορίζεται από το σύνολο των οξέων που περιέχει. Ενώ, ως ογκομετρούμενη οξύτητα ορίζεται η ποσότητα του αλκάλεως, εκφρασμένη συνήθως σε τρυγικό οξύ, που χρειάζεται να προστεθεί, ώστε το pH από όξινο να γίνει ουδέτερο.^[5] Η χρήση του όρου ογκομετρούμενη οξύτητα είναι πιο ορθή, καθώς από τον ορισμό υπολογίζεται μόνο ένα μέρος των οξέων και όχι όλα.^[4] Αποτελεί ένα συμβατικό μέγεθος για την εκτίμηση της συγκέντρωσης των ελευθέρων καρβοξυλομάδων, που αν και για τους οινολόγους θεωρείται ως κάτι το αυτονόητο συνεχίζει να απασχολεί τους ερευνητές.^[5]

Τόσο σε πολλά στάδια της οινοποίησης όσο και για την σταθερότητα του έτοιμου, πια, οίνου η οξύτητα έχει πολύ σημαντικό ρόλο. Επιπροσθέτως, η ογκομετρούμενη οξύτητα είναι μια

σημαντική παράμετρος στην οργανοληπτική αξιολόγηση των εμφιαλωμένων οίνων. Οι συνθήκες ανάπτυξης και ωρίμανσης των σταφυλιών ή οι μικροβιακές και φυσικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της οινοποίησης, μπορούν να προκαλέσουν μεταβολές στην οξύτητα των οίνων και να καθιστούν αναγκαίο να γίνει διόρθωση αυτής με οινολογικές τεχνικές για να επιτευχθούν οι επιθυμητές τιμές. Τέλος, η οξύτητα μαζί με το pH συντελούν καθοριστικό παράγοντα για τις αντιδράσεις παλαίωσης.^[2]

Το L-τρυγικό και το L-μηλικό οξύ είναι τα κύρια οργανικά οξέα στα σταφύλια και αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 90%. Αν και το L-μηλικό και το L-τρυγικό οξύ έχουν παρόμοιες χημικές δομές, συντίθενται από τη γλυκόζη μέσω διαφορετικών μεταβολικών οδών στο σταφύλι. Το L-τρυγικό οξύ συνήθως απαντάται στα σταφύλια σε συγκεντρώσεις από 5 έως 10 g/L, ενώ τα ώριμα σταφύλια περιέχουν 2,0 έως 6,5 g/L L-μηλικό οξύ.^[2]

1.6 Τρυγικό οξύ

Τα σταφύλια περιέχουν μεγάλες ποσότητες τρυγικού οξέος σε σχέση με οποιοδήποτε άλλο φρούτο.^[6] Βρίσκεται σε συγκεντρώσεις 1,5 - 4,5 g/L ως D(-) ισομερές^[4] και η συγκέντρωσή του εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ποικιλία σταφυλιών, τη σύσταση του εδάφους του αμπελώνα, τη φωτοσύνθεση, τον τελικό όγκο της ράγας κατά τη συγκομιδή και τις καλλιεργητικές τεχνικές^[6]. Αποτελεί το υπεύθυνο οξύ για τη διαμόρφωση του pH του οίνου, καθώς είναι και το πιο ισχυρό^[4], δίνοντας οίνο με pH της τάξεως του 3,0 – 3,5.^[24] Η συγκέντρωση του κυμαίνεται συνήθως από 4,5 έως 10 g/L στο τέλος της βλαστικής ανάπτυξης. Σε κρύα κλίματα, παρατηρούνται συγκεντρώσεις άνω των 6 g/L, ενώ χαμηλά επίπεδα της τάξεως 2 έως 4 g/L είναι πιο συχνά σε θερμά κλίματα.^[6] Είναι ένα βιολογικά σταθερό οξύ εκτός από την περίπτωση της ασθένειας της εκτροπής όπου αποικοδομείται από βακτήρια. Η σταδιακή μείωση της περιεκτικότητας του σταφυλιού σε τρυγικό οξύ κατά την ωρίμανση οφείλεται σε αραίωση λόγω αύξησης του μεγέθους της ράγας. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης μειώνεται επίσης, εξαιτίας της μερικής αδιαλυτοποίησης των τρυγικών αλάτων λόγω σχηματισμού αιθανόλης. Στον έτοιμο πια οίνο, τον πρώτο χειμώνα, η μείωση της περιεκτικότητας του τρυγικού οξέος οφείλεται σε αδιαλυτοποίηση των τρυγικών αλάτων λόγω μείωσης της θερμοκρασίας.^[4] Προσδίδει, επίσης, μία ξινή γεύση στον οίνο. Εξαιτίας της σταθερότητάς του, και το γεγονός ότι οι ζύμες και άλλοι μικροοργανισμοί δεν είναι σε θέση να μεταβολίσουν το τρυγικό οξύ, είναι το οξύ που χρησιμοποιείται συνήθως για τη ρύθμιση του pH του οίνου στη βιομηχανία.^[6]

1.7 Μηλικό οξύ

Το μηλικό οξύ είναι το πιο γνωστό οξύ των φρούτων. Στα σταφύλια η συγκέντρωσή του κυμαίνεται συνήθως από 2 έως 4 g/L, βέβαια μπορεί να φτάσει και τα 6 g/L σε σταφύλια που αναπτύσσονται σε χαμηλές θερμοκρασίες και έχουν μικρό μέγεθος ράγας, ενώ αντιθέτως μπορεί να είναι μηδενική σε υπερώριμα σταφύλια που ωριμάζουν σε θερμές περιοχές.^[2] Επίσης, υπερβολικές ποσότητες μηλικού οξέος (15 έως 16 g/L) μπορεί να παρατηρηθούν στα σταφύλια που τρυγούνται κατά τη διάρκεια εξαιρετικά κρύων καλοκαιριών σε αμπελοργικές περιοχές με δροσερό κλίμα.^[7] Συνεπώς, τα επίπεδα της συγκέντρωσής του

ποικίλλουν σημαντικά ανάλογα με την ποικιλία, τον μεταβολισμό και τις συνθήκες θερμοκρασίας κατά την ωρίμανση και τον όγκο των ραγών.^[2] Στα σταφύλια το μηλικό οξύ απαντάται με τη μορφή L(+) ισομερές και συντίθεται από γλυκόζη μέσω του πυροσταφυλικού οξέος. Σε περίπτωση διενέργειας της μηλογαλακτικής ζύμωσης μετατρέπεται σχεδόν εξ ολοκλήρου σε γαλακτικό οξύ. Έχει περιορισμένη διαλυτότητα ως άλας ασβεστίου και μπορεί να απομακρυνθεί, εν μέρη, με προσθήκη ανθρακικού ασβεστίου και κατά την διάρκεια της ζύμωσης.^[2] Τέλος, παρ'όλο που το τρυγικό οξύ είναι πιο ισχυρό από το μηλικό, βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση και είναι σταθερό, η μεταβολή της συγκέντρωσης του μηλικού οξέος δημιουργεί προβλήματα στη διαδικασία της οινοποίησης.^[7]

1.8 Φουμαρικό οξύ

Το φουμαρικό οξύ είναι μια σημαντική ειδική χημική ουσία με ευρείες βιομηχανικές εφαρμογές που κυμαίνονται από τη χρήση του ως πρώτη ύλη για τη σύνθεση πολυμερικών ρητινών έως οξινιστικό σε τρόφιμα και φαρμακευτικά προϊόντα. Παράγεται κυρίως με χημική σύνθεση με βάση το πετρέλαιο.^[8] Είναι ένα πρόσθετο που επιτρέπεται από τον Codex Alimentarius και υπό αξιολόγηση από τον Διεθνή Οργανισμό Αμπέλου και Οίνου (OIV) που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την οξίνιση του οίνου αλλά και για την αναστολή της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Η χρήση 300–900 mg/L φουμαρικού οξέος φαίνεται ότι μπορεί να αναστείλει την μηλογαλακτική ζύμωση σε ερυθρούς οίνους, μειώνοντας το pH κατά 0,1–0,2 μονάδες λόγω της διατήρησης του μηλικού οξέος και προσδίδει επιπλέον μείωση κατά 0,05–0,1. Σε δοκιμές προτίμησης, μετά από τέτοια προσθήκη φουμαρικού, ορισμένοι γευσιγνώστες αντιλήφθηκαν περισσότερη οξύτητα και σώμα. Το φουμαρικό οξύ είναι ένα χρήσιμο τεχνολογικό πρόσθετο για τη βελτίωση της μικροβιολογικής σταθερότητας, καθώς δρα ως αποτελεσματικό αντιβακτηριακό κατά των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος, σε χαμηλές δόσεις χωρίς αισθητικές επιπτώσεις,^[9] και της φρεσκάδας του οίνου, επιτρέποντας επίσης τη μείωση των επιπέδων SO₂.^[10] Μπορεί, επίσης, να θεωρηθεί ως ένας ισχυρός ανασταλτικός παράγοντας της μηλογαλακτικής ζύμωσης^[11] αλλά και να χρησιμοποιηθεί για τον επιτυχή έλεγχο αυτής.^[12]

Λαμβάνοντας υπόψη ότι σε ένα πλαίσιο υπερθέρμανσης του πλανήτη, η διατήρηση του μηλικού οξέος μπορεί να είναι χρήσιμη σε διάφορους τύπους οίνων. Το φουμαρικό οξύ, με την υψηλή ισχύ οξίνισης και τη διαθεσιμότητά του στην αγορά, θα μπορούσε να είναι μια ενδιαφέρον εναλλακτική λύση με χαμηλότερο κόστος από άλλα οξέα, εξαιρώντας τη χαμηλή διαλυτότητά του. Έχει την υψηλότερη οξινιστική δύναμη και επηρεάζει ελαφρώς τη χημεία του οίνου και τις οργανοληπτικές ιδιότητες. Απαιτούνται, βέβαια, περαιτέρω μελέτες για να καθοριστεί το κατάλληλο στάδιο κατά το οποίο θα πρέπει να προστεθεί αυτό το οξύ κατά την οινοποίηση, όμως λίγες μελέτες έχουν δημοσιευτεί που περιγράφουν τις επιπτώσεις της προσθήκης αυτού του οξέος στη χημική και οργανοληπτική ποιότητα των γλευκών και των οίνων.^[13]

1.9 Γαλακτικό οξύ

Το γαλακτικό οξύ δεν υπάρχει στο σταφύλι. Σχηματίζεται από τις ζύμες κατά την αλκοολική και την μηλογαλακτική ζύμωση, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.^[4] Η συγκεντρώσή του στους

οίνους έχει μέγιστο τα 2,5 g/L και το ισομερές L(+) είναι η μορφή που παράγεται από το μηλικό οξύ. Τα άλατα του γαλακτικού οξέος είναι αρκετά διαλυτά στον οίνο και κατά το σχηματισμό του οξέος υφίστανται μικρή αλλαγή στη συγκέντρωση.^[2]

Τα υψηλά επίπεδα γαλακτικού οξέος δεν παρουσιάζουν σημαντικά προβλήματα στους οίνους, όμως τα γαλακτικά βακτήρια είναι ικανά να αλλοιώσουν τα χαρακτηριστικά ορισμένων μέσω της αποικοδόμησης των τερπενίων και άλλων αρωματικών μορίων, που παράγονται κατά την αλκοολική ζύμωση, όπως επίσης παράγουν διακετύλιο και άλλες ανεπιθύμητες αρωματικές ενώσεις.^[23]

1.10 Η ανάγκη μεταβολής της οξύτητας

Στόχος των κατεργασιών είναι η μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του οίνου που οφείλονται στην οξύτητα. Σκοπός της αύξησης ή μείωσης της οξύτητας στον οίνο είναι η μεταβολή του pH και δευτερευόντως της ολικής οξύτητας. Όμως, η μεταβολή του pH, με την προσθήκη των επιτρεπόμενων από τη νομοθεσία για το σκοπό αυτό ουσιών, είναι περίπλοκη και τα ακριβή αποτελέσματά της είναι δύσκολο να προβλεφθούν. Αυτό συμβαίνει γιατί η μεταβολή εξαρτάται και από τη ρυθμιστική ικανότητα και το pH του οίνου.^[4] Το pH λοιπόν καθορίζει την έκταση της διάστασης του προστιθέμενου οξέος και μόνο τα διιστάμενα ιόντα του υδρογόνου συμβάλλουν στη μείωση του pH, ενώ η ρυθμιστική ικανότητα καθορίζει την επίδραση που έχουν αυτά τα ιόντα στο pH.^[2]

Η αύξηση της οξύτητας γίνεται με προσθήκη οξέων, τα οποία φυσιολογικά περιέχει το γλεύκος, και έχει σκοπό να βελτιώσει τη γευστική ισορροπία. Ο τρόπος αύξησης της οξύτητας, δηλαδή ο χρόνος, η επιτρεπόμενη ποσότητα και τα επιτρεπόμενα οξέα, καθορίζονται από κανονισμούς της Ευρωπαϊκής Ένωσης ανάλογα με τη γεωγραφική ζώνη. Η πιο σύνηθες προσθήκη είναι αυτή του τρυγικού οξέος. Στον οίνο, λόγω της αύξησης της ρυθμιστικής ικανότητάς του, προκαλεί μικρότερη από την αναμενόμενη μείωση της ενεργού οξύτητας. Πρακτικά χρειάζονται 1 g/L τρυγικό οξύ για αύξηση της οξύτητας κατά 0,75 g/L (εκφρασμένης σε τρυγικό οξύ). Αυξημένη προσθήκη, όμως, μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της γευστικής σκληρότητας του οίνου.^[4]

Σκοπός

Ο σκοπός της εν λόγω έρευνας είναι η μελέτη της επίδρασης του φουμαρικού οξέος στα βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά ενός ερυθρού οίνου της ποικιλίας Κοτσιφάλι, όπως επίσης και στην αναστολή και τον έλεγχο της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Κατά την έρευνα, ο οίνος που χρησιμοποιήθηκε είχε πιο χαμηλή οξύτητα από την επιθυμητή και έχρηζε η διόρθωσή της. Από τον εξεταζόμενο οίνο δημιουργήθηκαν δείγματα, στα οποία είχε γίνει προσθήκη φουμαρικού και μηλικού οξέος, σε διάφορες ποσότητες και έπειτα στα μισά δείγματα έγινε προσθήκη βακτηρίων. Εν συνεχεία, τα δείγματα αυτά χωρίστηκαν σε δύο όμοια μέρη ώστε οι προβλεπόμενες αναλύσεις να γίνουν στο ένα με την πάροδο 3 μηνών και στο άλλο με την πάροδο 6 μηνών. Στόχος ήταν στα δείγματα να πραγματοποιηθεί η μελέτη της ογκομετρούμενης οξύτητας, της περιεκτικότητας των τανινών και των παραμέτρων που χαρακτηρίζουν το χρώμα, αλλά και το αν η προσθήκη φουμαρικού οξέος είναι σε θέση να αναστείλει τη μηλογαλακτική ζύμωση.

2. Υλικά και μέθοδοι

2.2 Οίνος προς μελέτη

Ο οίνος που χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη, είναι της ποικιλίας κοτσιφάλι του γένους *Vitis vinifera*, παράχθηκε το έτος 2022 στο Ηράκλειο Κρήτης και έχει υποστεί φιλτράρισμα και θείωση σε ποσότητα μικρότερη των 20 mg/L ελεύθερου θειώδους.

2.3 Είδος βακτηρίων

Το είδος βακτηρίων που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη είναι το *Oenococcus oeni* του γένους *Oenococcus*.

Από τα παραπάνω βακτήρια λήφθηκε 1,5 g, το οποίο ενυδατώθηκε σε 10 mL νερό (χωρίς χλώριο), παρέμεινε σε αναμονή 20-30 λεπτά και έπειτα μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL και συμπληρώθηκε μέχρι τη χαραγή με τον οίνο προς μελέτη.

2.4 Προετοιμασία δειγμάτων

- Σε 2,5 L του αρχικού οίνου (οίνος 1) γίνεται προσθήκη 5,4 g φουμαρικού οξέος σε σκόνη, που έχει προηγηθεί η ζύγισή του σε ζυγό ακριβείας. Στη συνέχεια προστίθενται άλλα 0,5 L οίνου 1 για να δημιουργηθεί ο οίνος 2 με τελικό όγκο 3 L.
- Ο οίνος 2 διαχωρίζεται σε δύο μέρη, ένα του 1 L (οίνος 3) και ένα των 2 L (οίνος 4)
- Στον οίνο 4 προστίθενται 4 L οίνου 1 με αποτέλεσμα την παρασκευή 6 L οίνου με συγκέντρωση 600 mg/L φουμαρικού οξέος (οίνος 5).
- Στον οίνο 3 προστίθενται 5 L οίνου 1, με αποτέλεσμα την παρασκευή 6 L οίνου με συγκέντρωση 300 mg/L φουμαρικού οξέος (οίνος 6).
- Ο οίνος 5 διαχωρίζεται σε 3 μέρη των 2 L το καθένα, τους οίνους 5.1, 5.2, 5.3 αντίστοιχα.
 - ❖ Ο οίνος 5.1 χωρίζεται σε 4 μπουκάλια των 0,5 L στα δύο εκ των οποίων προστίθενται 0,5 mL βακτηρίων **(2.3)** με σιφώνι και δημιουργούνται τα παρακάτω δείγματα:
 - KTS1_600_0_C_3 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_600_0_C_6 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 6 μήνες)
 - KTS1_600_0_O_3 (με προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_600_0_O_6 (με προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 6 μήνες)
 - ❖ Στον οίνο 5.2 προστίθενται 2 g μηλικού οξέος και έπειτα χωρίζεται σε 4 μπουκάλια των 0,5 L στα δύο εκ των οποίων προστίθενται 0,5 mL βακτηρίων **(2.3)** με σιφώνι και δημιουργούνται τα παρακάτω δείγματα:
 - KTS1_600_1_C_3 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 3 μήνες)

- KTS1_600_1_C_6 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
- KTS1_600_1_O_3 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
- KTS1_600_1_O_6 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
- ❖ Στον οίνο 5.3 προστίθενται 6 g μηλικού οξέος και έπειτα χωρίζεται σε 4 μπουκάλια των 0,5 L στα δύο εκ των οποίων προστίθενται 0,5 mL βακτηρίων **(2.3)** με σιφώνι και δημιουργούνται τα παρακάτω δείγματα:
 - KTS1_600_3_C_3 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_600_3_C_6 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
 - KTS1_600_3_O_3 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_600_3_O_6 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
- Ο οίνος 6 χωρίζεται σε 3 μέρη των 2 L το καθένα, τους οίνους 6.1, 6.2, 6.3 αντίστοιχα.
 - ❖ Ο οίνος 6.1 χωρίζεται σε 4 μπουκάλια των 0,5 L στα δύο εκ των οποίων προστίθενται 0,5 mL βακτηρίων **(2.3)** με σιφώνι και δημιουργούνται τα παρακάτω δείγματα:
 - KTS1_300_0_C_3 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_300_0_C_6 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 6 μήνες)
 - KTS1_300_0_O_3 (με προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_300_0_O_6 (με προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 6 μήνες)
 - ❖ Στον οίνο 6.2 προστίθενται 2 g μηλικού οξέος και έπειτα χωρίζεται σε 4 μπουκάλια των 0,5 L στα δύο εκ των οποίων προστίθενται 0,5 mL βακτηρίων **(2.3)** με σιφώνι και δημιουργούνται τα παρακάτω δείγματα:
 - KTS1_300_1_C_3 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_300_1_C_6 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
 - KTS1_300_1_O_3 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_300_1_O_6 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
 - ❖ Στον οίνο 6.3 προστίθενται 6 g μηλικού οξέος και έπειτα χωρίζεται σε 4 μπουκάλια των 0,5 L στα δύο εκ των οποίων προστίθενται 0,5 mL βακτηρίων **(2.3)** με σιφώνι και δημιουργούνται τα παρακάτω δείγματα:
 - KTS1_300_3_C_3 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_300_3_C_6 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 6 μήνες)

- KTS1_300_3_O_3 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
- KTS1_300_3_O_6 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
- 6 L του οίνου 1 χωρίζονται σε 3 μέρη των 2 L το καθένα, τους οίνους 1.1, 1.2, 1.3 αντίστοιχα.
 - ❖ Ο οίνος 1.1 χωρίζεται σε 4 μπουκάλια των 0,5 L στα δύο εκ των οποίων προστίθενται 0,5 mL βακτηρίων **(2.3)** με σιφώνι και δημιουργούνται τα παρακάτω δείγματα:
 - KTS1_000_0_C_3 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_000_0_C_6 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 6 μήνες)
 - KTS1_000_0_O_3 (με προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_000_0_O_6 (με προσθήκη βακτηρίων για μελέτη στους 6 μήνες)
 - ❖ Στον οίνο 1.2 προστίθενται 2 g μηλικού οξέος και έπειτα χωρίζεται σε 4 μπουκάλια των 0,5 L στα δύο εκ των οποίων προστίθενται 0,5 mL βακτηρίων **(2.3)** με σιφώνι και δημιουργούνται τα παρακάτω δείγματα:
 - KTS1_000_1_C_3 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_000_1_C_6 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
 - KTS1_000_1_O_3 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_000_1_O_6 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 1g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
 - ❖ Στον οίνο 1.3 προστίθενται 6 g μηλικού οξέος και έπειτα χωρίζεται σε 4 μπουκάλια των 0,5 L στα δύο εκ των οποίων προστίθενται 0,5 mL βακτηρίων **(2.3)** με σιφώνι και δημιουργούνται τα παρακάτω δείγματα:
 - KTS1_000_3_C_3 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_000_3_C_6 (χωρίς προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 6 μήνες)
 - KTS1_000_3_O_3 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 3 μήνες)
 - KTS1_000_3_O_6 (με προσθήκη βακτηρίων και συγκέντρωση μηλικού οξέος 3g/L για μελέτη στους 6 μήνες).

Τα παραπάνω δείγματα θα παραμείνουν σε θερμοκρασία δωματίου.

2.5 Μέτρηση pH

Η ενεργός οξύτητα ή pH είναι ένας εύχρηστος τρόπος έκφρασης της συγκέντρωσης των ιόντων υδρογόνου ή πρωτονίων. Ως "pH" συμβολίζεται ο αρνητικός δεκαδικός λογάριθμος της συγκέντρωσης των κατιόντων υδρογόνου στο διάλυμα.

Μετράται η διαφορά δυναμικού μεταξύ δύο ηλεκτροδίων βυθισμένων στο υπό δοκιμή υγρό. Το ένα από αυτά τα δύο ηλεκτρόδια έχει δυναμικό που είναι συνάρτηση του pH του υγρού, ενώ το άλλο έχει σταθερό και γνωστό δυναμικό και αποτελεί το ηλεκτρόδιο αναφοράς.^[15]

2.5.1 Διαδικασία προσδιορισμού.

Σε ένα δείγμα από κάθε τετράδα που δημιουργήθηκε από τους οίνους 5.1, 5.2, 5.3, 6.1, 6.2, 6.3, 1.1, 1.2, 1.3 μεταφέρονται περίπου 30 mL δείγματος σε ένα ποτήρι ζέσεως και πραγματοποιείται η μέτρηση με το pHμετρο που απεικονίζεται παρακάτω (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: pH-μετρο

2.6 Μέτρηση ολικής / ογκομετρούμενης οξύτητας

Η ολική οξύτητα του οίνου (ή ογκομετρούμενη οξύτητα) είναι το άθροισμα των ελεύθερων καρβοξυλομάδων των οξέων είτε βρίσκονται σε διάσταση είτε όχι. Γενικά αντιστοιχεί στην ποσότητα καυστικού νατρίου (NaOH 0.1 N) που απαιτείται για την εξουδετέρωση των όξινων ομάδων ώστε το pH του οίνου να γίνει 7. Το διοξείδιο του άνθρακα δεν περιλαμβάνεται στη συνολική οξύτητα. Ογκομετρούνται ελεύθερα οργανικά οξέα, ανιόντα οργανικών οξέων και ανιόντα ανόργανων οξέων (θειικά, φωσφορικά, χλωριούχα, κτλ).^[14]

2.6.1 Μέθοδος τιτλοδότησης με NaOH 0,1N

- Σε ένα δείγμα από κάθε τετράδα που δημιουργήθηκε από τους οίνους 5.1, 5.2, 5.3, 6.1, 6.2, 6.3, 1.1, 1.2, 1.3 έγινε αποβολή του διοξειδίου του άνθρακα με μηχανήμα καθαρισμού υπερήχων.
- Σε μία κωνική φιάλη των 250 mL μεταφέρονται με σιφώνι πληρώσεως 10 mL δείγματος.
- Προστίθενται 10 mL απιονισμένου νερού.
- Τοποθέτηση της φιάλης πάνω σε ηλεκτρικό αναδευτήρα και προσαρμογή pHμετρου.
- Τιτλοδότηση με NaOH 0,1 N έως ότου pH= 7.
- Σημειώνεται η συνολική κατανάλωση NaOH.

Η Ογκομετρούμενη οξύτητα υπολογίστηκε από τον εξής τύπο:

$$\text{O.O (g/L)} = (\text{καταναλωθέντα mL 0.1N NaOH}) \times 0,75$$

2.7 Προσδιορισμός ολικών τανινών

Ο προσδιορισμός των ολικών τανινών στηρίζεται στην ιδιότητά τους να μετατρέπονται σε ερυθρές ανθοκυάνες με θέρμανση σε ισχυρά όξινο περιβάλλον. Ορισμένη ποσότητα αραιωμένου οίνου οξινίζεται με πυκνό HCl και θερμαίνεται για ορισμένη ώρα. Παράλληλα ένα όμοια προετοιμασμένο δείγμα αφήνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το δείγμα που θα θερμανθεί θα περιέχει τις αρχικές του ανθοκυάνες και τις ανθοκυάνες που θα σχηματιστούν από την υδρόλυση των τανινών. Αντίθετα, το δείγμα που παρέμεινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος θα περιέχει μόνο τις πρώτες. Έτσι η διαφορά χρώματος ανάμεσα στα δύο δείγματα θα είναι τελικά ανάλογη της συγκέντρωσης των ολικών τανινών. Προστίθεται και αλκοόλη για την αντιοξειδωτική σταθεροποίηση του χρώματος. ^[16]

2.7.1 Διαδικασία προσδιορισμού.

- Αραιώνεται ο οίνος 1:50 με απιονισμένο νερό χρησιμοποιώντας μία ογκομετρική φιάλη των 50 ml και ένα σιφώνι πληρώσεως 1 mL.
- Μεταφέρονται από 4 mL αραιωμένου οίνου σε δύο δοκιμαστικούς σωλήνες που είναι εφοδιασμένοι με βιδωτό πώμα & παρέμβυσμα στεγανοποίησης.
- Σε κάθε έναν σωλήνα προστίθενται από 2 ml απιονισμένου νερού και 6mL πυκνού HCl 37% με σιφώνι.
- Πωματίζονται οι δοκιμαστικοί σωλήνες ελέγχοντας το παρέμβυσμα και την στεγανότητα του πωματισμού, καθώς πρέπει να είναι απολύτως ερμητική.
- Φέρεται σε βρασμό, σε ένα ποτήρι ζέσεως, μία ικανή ποσότητα νερού και τοποθετείται μέσα ο ένας από τους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες. Αφήνεται ο δοκιμαστικός σωλήνας μέσα στο νερό που βράζει για 45 λεπτά ακριβώς.
- Μετά από την πάροδο των 45 λεπτών ψύχεται το δείγμα κάτω από τρεχούμενο νερό και προστίθεται και στα δύο δείγματα με σιφώνι πληρώσεως 1 ml από 1 ml αιθανόλης 95%.
- Μετριοούνται οι οπτικές πυκνότητες (απορροφήσεις) των δύο δειγμάτων στα 550 nm σε φασματοφωτόμετρο μονής δέσμης ορατού (VIS) φάσματος, χρησιμοποιώντας κυψελίδα οπτικής διαδρομής 10 mm, αφού πρώτα έχουμε μηδενίσει το φασματοφωτόμετρο με απιονισμένο νερό.

2.7.2 Ερμηνεία Αποτελεσμάτων

Έστω d_1 η απορρόφηση του δείγματος που παρέμεινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Έστω d_2 η απορρόφηση του δείγματος που θερμάνθηκε.

Οι ολικές τανίνες υπολογίστηκαν από τον εξής τύπο:

$$\text{Ολ. Τανίνες (g/l)} = (d_2 - d_1) \times k,$$

$k = 19,35$ (όταν η διαφορά $d_2 - d_1$ είναι $>$ από 0,07)

$k = 20,83$ (όταν η διαφορά $d_2 - d_1$ είναι $<$ ή $=$ με 0,07)

2.8 Ενζυμικός αναλυτής

Το HYPERLAB SMART (Εικόνα 2) είναι ένας συμπαγής και ευέλικτος πολυπαραμετρικός αναλυτής και έχει κατασκευαστεί με τρόπο ώστε να εκτελεί αυτόματα τις ενζυμικές και χρωματομετρικές αναλύσεις που είναι απαραίτητες για τον έλεγχο των διαδικασιών οινοποίησης και της ποιότητας του οίνου. Οι μηχανικές κινήσεις του οδηγούνται από βηματικούς κινητήρες τελευταίας τεχνολογίας. Από το λογισμικό που διαθέτει τρεις περισταλτικές αντλίες τίθενται σε λειτουργία και ελέγχουν τη ροή του υγρού και λειτουργεί όλος ο ρομποτικός χειρισμός του συστήματος.

Μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα, γίνεται η τοποθέτηση των δειγμάτων στους σωλήνες (δεν απαιτείται προετοιμασία δείγματος) και ξεκινούν οι επιθυμητές αναλύσεις (μέτρηση μηλικού οξέος, γαλακτικού οξέος και οξικού οξέος) από το λογισμικό και μόλις ξεκινήσει το όργανο λειτουργεί εντελώς αυτόνομα.^[17]



Εικόνα 2: Hyperlab Smart

2.9 CIELab

Το χρώμα ενός οίνου είναι ένα από τα πιο σημαντικά οπτικά χαρακτηριστικά που υπάρχουν, δεδομένου ότι παρέχει ένα σημαντικό όγκο πληροφοριών.

Ο οίνος απορροφά ένα μέρος της ακτινοβολίας φωτός που πέφτει και αντανακλά ένα άλλο, που φτάνει στα μάτια του παρατηρητή, κάνοντάς τον να βιώσει την αίσθηση του χρώματος.

Ο σκοπός αυτής της φασματοφωτομετρικής μεθόδου είναι να ορίσει τη διαδικασία της μέτρησης και του υπολογισμού των χρωματικών χαρακτηριστικών των οίνων που προέρχονται από τριχρωματικά συστατικά: X, Y και Z, σύμφωνα με την Commission Internationale de l'Éclairage (CIE, 1976), επιχειρώντας να μιμηθεί τους πραγματικούς παρατηρητές όσον αφορά την αίσθηση του χρώματος.

Το χρώμα ενός οίνου μπορεί να περιγραφεί χρησιμοποιώντας 3 χαρακτηριστικά ή συγκεκριμένες ιδιότητες της οπτικής αίσθησης: τονικότητα, φωτεινότητα και χρωματισμό.

Αρχικά, η τονικότητα (το ίδιο το χρώμα) είναι η πιο χαρακτηριστική: κόκκινο, κίτρινο, πράσινο ή μπλε. Η φωτεινότητα είναι η ιδιότητα της οπτικής αίσθησης σύμφωνα με την οποία ο οίνος φαίνεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο φωτεινό. Ωστόσο, ο χρωματισμός, ή το επίπεδο χρωματισμού, σχετίζεται με την υψηλότερη ή χαμηλότερη ένταση χρώματος.

Ο συνδυασμός αυτών των τριών εννοιών μας δίνει τη δυνατότητα να ορίσουμε το πολλαπλές αποχρώσεις χρώματος που παρουσιάζουν οι οίνοι.

(L*): Διαύγεια [L*=0 μαύρο, L*=100 άχρωμο]

(a*): κόκκινο/πράσινο χρώμα [a* >0 κόκκινο, a* <0 πράσινο]

(b*): μπλε/κίτρινο χρώμα [b* >0 κίτρινο, b* <0 μπλε]

(C*): χρωματική ένταση

(h*): απόχρωση^[18]



Εικόνα 3: CIELab

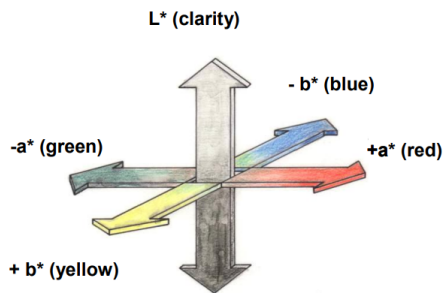
2.9.1 Διαδικασία προσδιορισμού

- Επιλέγεται κυψελίδα οπτικής διαδρομής 2 mm, καθώς ο οίνος είναι ερυθρός.
- Η κυψελίδα πληρείται με απιονισμένο νερό και τοποθετείται στην υποδοχή με σκοπό τη βαθμονόμηση του οργάνου (πάτημα “Calibrate” → “Target color” → “Measure”).
- Αφαιρείται το νερό από την κυψελίδα και πραγματοποιείται μια πλύση με τον οίνο προς μέτρηση.
- Η κυψελίδα πληρείται εκ νέου με τον οίνο και τοποθετείται στην υποδοχή προς μέτρηση (Πάτημα “Measure”).
- Σημειώνονται τα αποτελέσματα της μέτρησης.

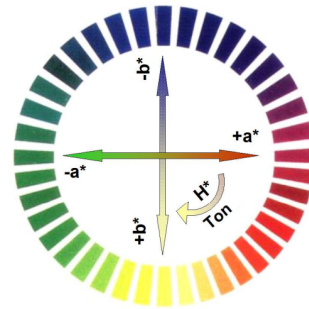
2.9.2 Ερμηνεία Αποτελεσμάτων

Το CIELab (Εικόνα 3) χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση των ακόλουθων παραμέτρων (Εικόνα 4, 5) a^* , b^* , C^* , h^* , L^* και υπολογίστηκε το ΔE^* (διαφορά από το δείγμα χωρίς προσθήκες), μέσω του τύπου:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$



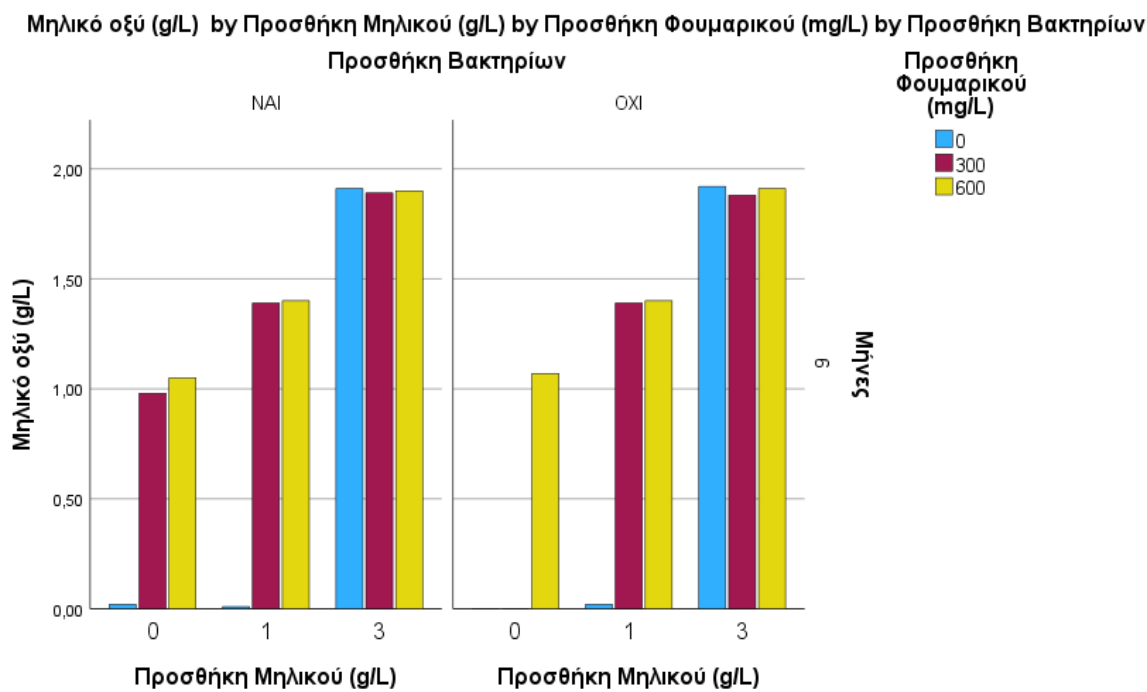
Εικόνα 4: Έκφραση παραμέτρων CIELab



Εικόνα 5: Έκφραση παραμέτρων CIELab

3. Αποτελέσματα

3.1 Αποτελέσματα Ενζυμικού Αναλυτή



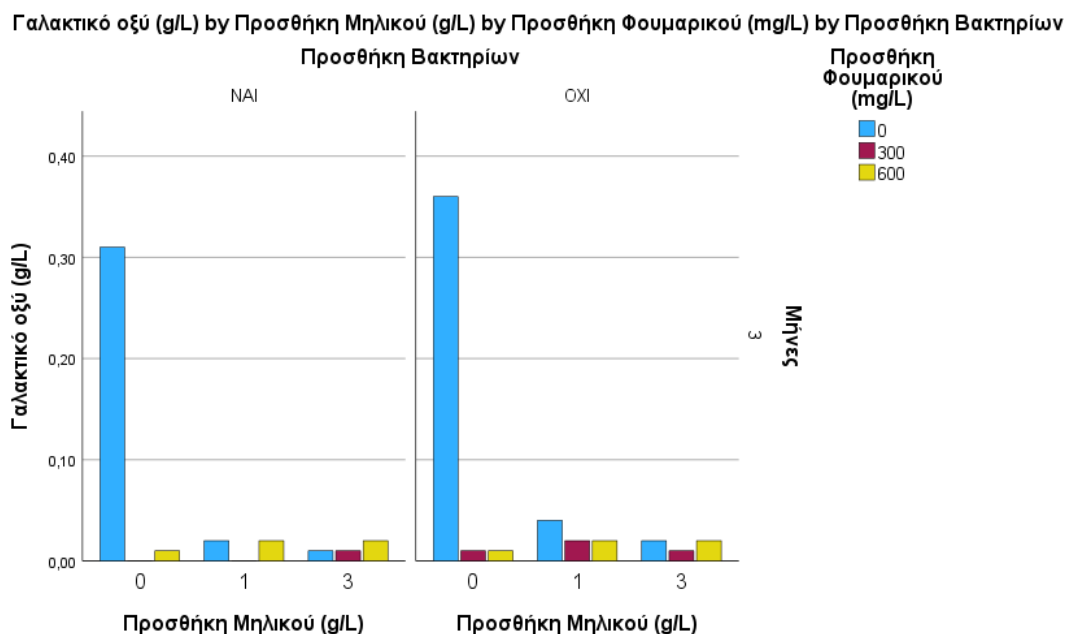
Εικόνα 6: Αναπαράσταση της μέτρησης του μηλικού οξέος με τη χρήση ενζυμικού αναλυτή (2.8) σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 6) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα της μέτρησης του μηλικού οξέος των δειγμάτων μετά την πάροδο 6 μηνών και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε δύο μέρη. Στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων και δεξιά όσων δεν είχαν. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά. Οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

- Παρατηρείται ότι η μηλογαλακτική ζύμωση εξελίχθηκε τόσο σε δείγματα που είχε πραγματοποιηθεί προσθήκη βακτηρίων, όσο και σε άλλα που δεν είχε γίνει.
- Το φουμαρικό οξύ μόνο στην συγκέντρωση 600 mg/L κατάφερε να εμποδίσει την εξέλιξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης σε όλα τα δείγματα ανεξαρτήτως προσθήκης βακτηρίων. Αυτό φανερώνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 6) καθώς οι τιμές του μηλικού οξέος στα δείγματα αυτά κυμαίνονται από 1,0 g/L έως 1,9 g/L και δεν έχει καταναλωθεί όπως στα δείγματα χωρίς προσθήκη φουμαρικού οξέος ή με την προσθήκη 300 mg/L όπου η τιμή του μηλικού οξέος είναι μηδενική, συμπεριλαμβανομένου και του σφάλματος της μεθόδου, που στου ερυθρούς οίνους είναι 0,09 g/L. Όμοια αποτελέσματα φάνηκαν και στην παρακάτω αναφερόμενη έρευνα όπου έγινε σε οίνους που παράχθηκαν από σοδειές 2018, 2020 και 2021 με

τη χρήση φουμαρικού στα 600 mg/L. Οι οίνοι αυτοί ήταν πιο σταθεροί στη διάρκεια του πειράματος και διατηρήθηκε το μηλικό οξύ λόγω τόσο της απουσίας της μηλογαλακτικής ζύμωσης όσο και της επίδρασης της οξίνισης. Παρατηρήθηκε επίσης ότι το φουμαρικό οξύ σε χαμηλές συγκεντρώσεις, είναι σε θέση να αναστέλλει πλήρως τη μηλογαλακτική ζύμωση, ακόμη και με υψηλό πληθυσμό βακτηρίων.^[10]

- Με την προσθήκη μηλικού οξέος σε ποσότητα 1 g/L ήταν επαρκείς και τα 300 mg/L φουμαρικού οξέος για την αναστολή της μηλογαλακτικής ζύμωσης ανεξαρτήτως προσθήκης βακτηρίων. Αυτό συνέβει διότι με την αύξηση της οξύτητας και συνεπώς τη μείωση του pH μειώθηκε ο ρυθμός ανάπτυξης των βακτηρίων, έτσι χρειάστηκε μικρότερη ποσότητα φουμαρικού οξέος για την παρεμπόδιση της δράσης τους. Ενώ χωρίς την προσθήκη του φουμαρικού η μηλογαλακτική εξελίχθηκε παρά την αύξηση της οξύτητας και μείωση του pH.
- Με την προσθήκη 3 g/L μηλικού οξέος δεν ήταν δυνατή η μηλογαλακτική ζύμωση ανεξαρτήτως βακτηρίων και προσθήκης φουμαρικού οξέος.
Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι άμεσα συνδεδεμένη με το pH του οίνου, το οποίο με τη σειρά του εξαρτάται από τα επίπεδα ολικής οξύτητας, γι' αυτό και σε ορισμένες περιπτώσεις τροποποιείται εκείνη για να διεγερθεί ο ρυθμός ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων.^[2] Κατά κανόνα, όσο μικρότερη είναι η ολική οξύτητα, τόσο πιο εύκολα πραγματοποιείται η μηλογαλακτική ζύμωση.^[4] Αυτό σημαίνει ότι δεν θα πρέπει να προστεθεί οποιοδήποτε οξύ πριν από την μηλογαλακτική μετατροπή, καθώς εάν το pH είναι πολύ χαμηλό αποτρέπεται η εμφάνιση της βακτηριακής ανάπτυξης.^[2]



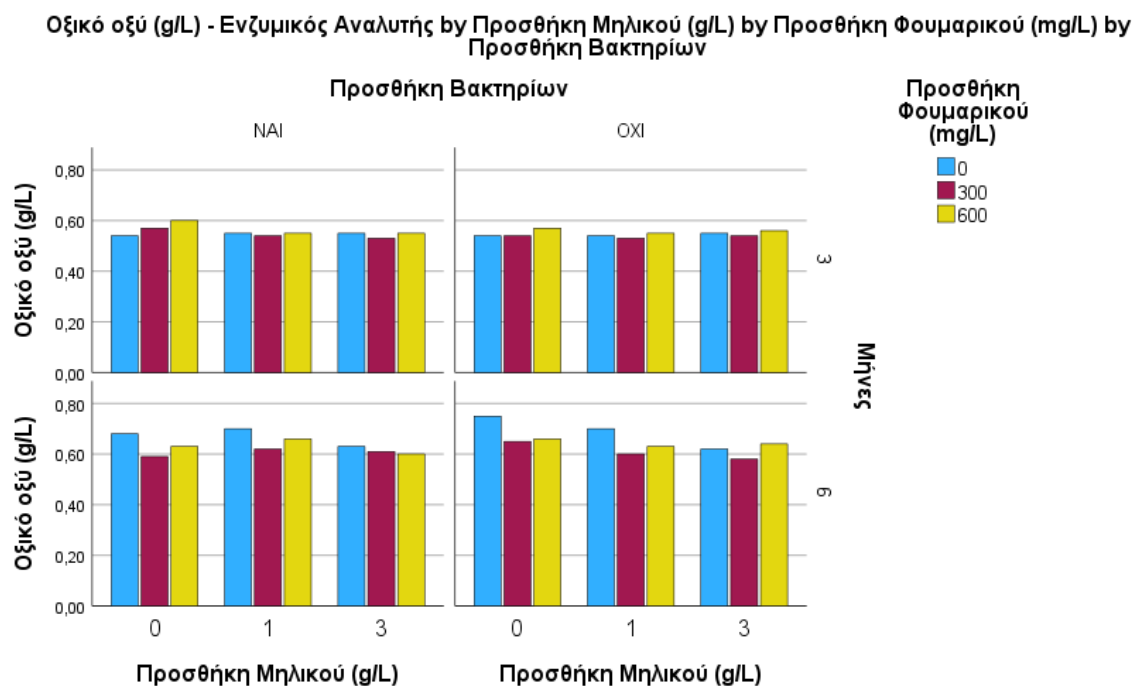
Εικόνα 7: Αναπαράσταση της μέτρησης του γαλακτικού οξέος με τη χρήση ενζυμικού αναλυτή (2.8) σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 7) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα της μέτρησης του γαλακτικού οξέος των δειγμάτων μετά την πάροδο 3 μηνών και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε δύο μέρη. Στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά. Οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

- Το γαλακτικό οξύ δεν υπάρχει στο σταφύλι. Σχηματίζεται από τις ζύμες κατά την αλκοολική και την μηλογαλακτική ζύμωση, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Η αύξηση του με το πέρασμα της αλκοολικής ζύμωσης δηλώνει την διεξαγωγή της μηλογαλακτικής ζύμωσης.^[4] Συνεπώς, μόνο στα δείγματα χωρίς προσθήκη μηλικού και φουμαρικού οξέος φαίνεται να κατάφερε να γίνει η μηλογαλακτική ζύμωση με την πάροδο 3 μηνών, καθώς σε αυτά τα δείγματα η τιμή του έχει αυξηθεί περίπου στα 0,3 g/L, ενώ στα άλλα είναι σχεδόν μηδενική. Αυτό οφείλεται στην αναστολή της δράσης των βακτηρίων με την προσθήκη οξέων λόγω της μείωσης του pH.
- Στα δείγματα που δεν έχει γίνει προσθήκη βακτηρίων φαίνεται να εξελίσσεται η μηλογαλακτική ζύμωση πιο εύκολα αν και προχωράει πολύ αργά. Αυτό παρατηρείται στα δείγματα χωρίς καμία προσθήκη οξέων, όπου σε αυτά με την προσθήκη βακτηρίων έχουν παραχθεί 0,05 g/L περισσότερο γαλακτικό οξύ. Επιπλέον, στο δεξιό μέρος, όπου είναι τα δείγματα με προσθήκη βακτηρίων παρατηρούνται περισσότερες τιμές κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου. Η αιθανόλη είναι ο κυριότερος παράγοντας παρεμπόδισης της αύξησης των βακτηρίων. Σε περιβάλλον 11-12% νοι υπάρχει αναστολή της δράσης πολλών βακτηρίων. Στον οίνο υπάρχουν βακτήρια που μπορούν να αυξηθούν και μέχρι τους 20% νοι. Η δράση της αιθανόλης μεγαλώνει με τη μείωση του pH.^[4] Ο *Oenococcus oeni* μπορεί να αναπτυχθεί σε

περιβάλλον αιθανόλης 5-6% vol, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις παρεμποδίζεται και σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από 13-14% vol, η ανάπτυξή του είναι σχεδόν απίθανη. ^[3]

- Φαίνεται ότι χρειάζεται μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για να πραγματοποιηθεί η μηλογαλακτική ζύμωση και ίσως σε ένα χρόνο τα δείγματα να είχαν μεγαλύτερο ενδιαφέρον.



Εικόνα 8: Αναπαράσταση της μέτρησης του οξικού οξέος με τη χρήση ενζυμικού αναλυτή (2.8) σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 8) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα της μέτρησης του οξικού οξέος των δειγμάτων και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 4 μέρη. Αρχικά στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν. Στο επάνω μέρος φαίνονται οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά. Πρώτον οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και τέλος οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

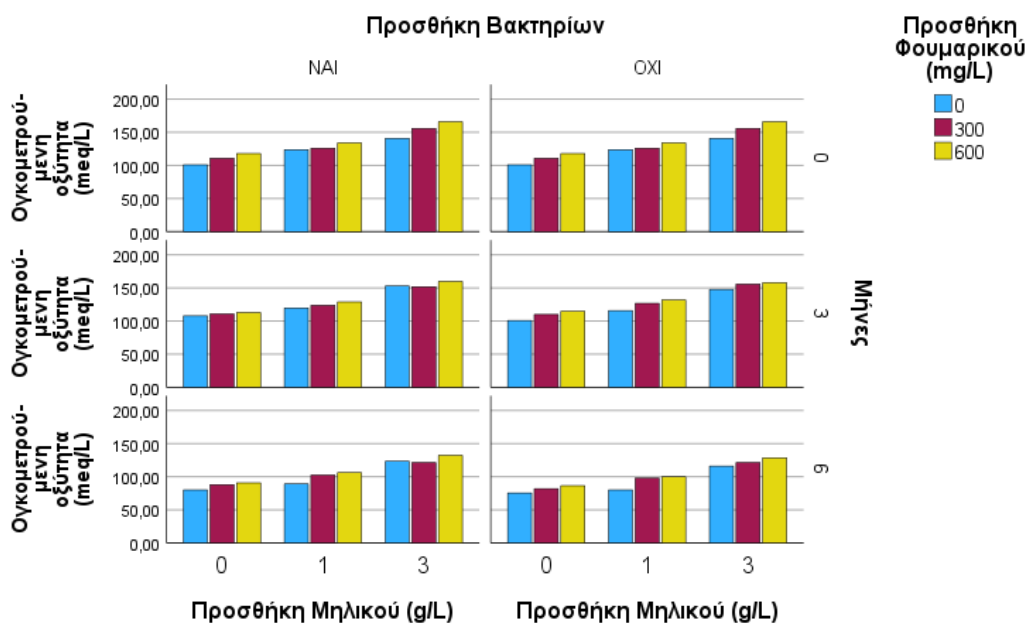
- Γενικά με την πάροδο του χρόνου το οξικό οξύ αυξάνεται το οποίο φαίνεται στην διαφορά της συγκέντρωσής του από τους 3 μήνες στους 6. Το οξικό οξύ είναι ένα πτητικό οξύ και μαζί με μερικά ακόμα πτητικά οξέα που βρίσκονται σε μικρές ποσότητες, απαρτίζουν την πτητική οξύτητα του οίνου. Ένα μέρος του οξικού οξέος, 0,2-0,3 g/L, προέρχεται από την αλκοολική ζύμωση και 0,1-0,2 g/L είναι αποτέλεσμα της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Στην περίπτωση που στον οίνο γίνει δραστηριοποίηση των βακτηρίων της οξικής ζύμωσης, έχουμε άφθονη παραγωγή οξικού οξέος, που

στην περίπτωση του ξιδιού μπορεί να οδηγήσει στη μετατροπή της αιθανόλης σε οξικό οξύ.^[4]

- Το οξικό οξύ δεν δρα μόνο όπως τα άλλα οξέα αυξάνοντας την ξινή γεύση, αλλά προκαλεί στέγνωμα της γλώσσας και κάψιμο στον ουρανίσκο σε ένταση ανάλογη με την περιεκτικότητα, υποβαθμίζοντας την ποιότητα του οίνου. Όταν η πτητική οξύτητα ξεπεράσει τα 0,6 g/l (εκφρασμένη σε οξικό οξύ) παρουσιάζεται η υποβάθμιση της ποιότητας. Αυτό έγινε αντιληπτό και κατά την οργανοληπτική αξιολόγηση των οίνων στους 6 μήνες, όπου αρκετά από τα δείγματα είχαν οσμή οξικού οξέος. Κάτι αντίστοιχο δεν συμβαίνει στους 3 μήνες, όταν η συγκέντρωση του εν λόγω οξέος κυμαίνεται από 0,53-0,57 g/L.^[4]
- Η μηλογαλακτική ζύμωση συνοδεύεται από μικρή αύξηση της πτητικής οξύτητας λόγω του σχηματισμού του οξικού οξέος από την αποικοδόμηση του κιτρικού οξέος αλλά και των πεντοζών, το οποίο φανερώνεται στα δείγματα που δεν έχει γίνει καμία προσθήκη και στην προσθήκη μόνο 1 g/L μηλικού οξέος όπου φάνηκε και παραπάνω ότι υπήρξε διεξαγωγή της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Στα δείγματα αυτά η αύξηση του οξικού οξέος 0,2 g/L ενώ στα υπόλοιπα είναι μικρότερη από 0,1 g/L.^[3]

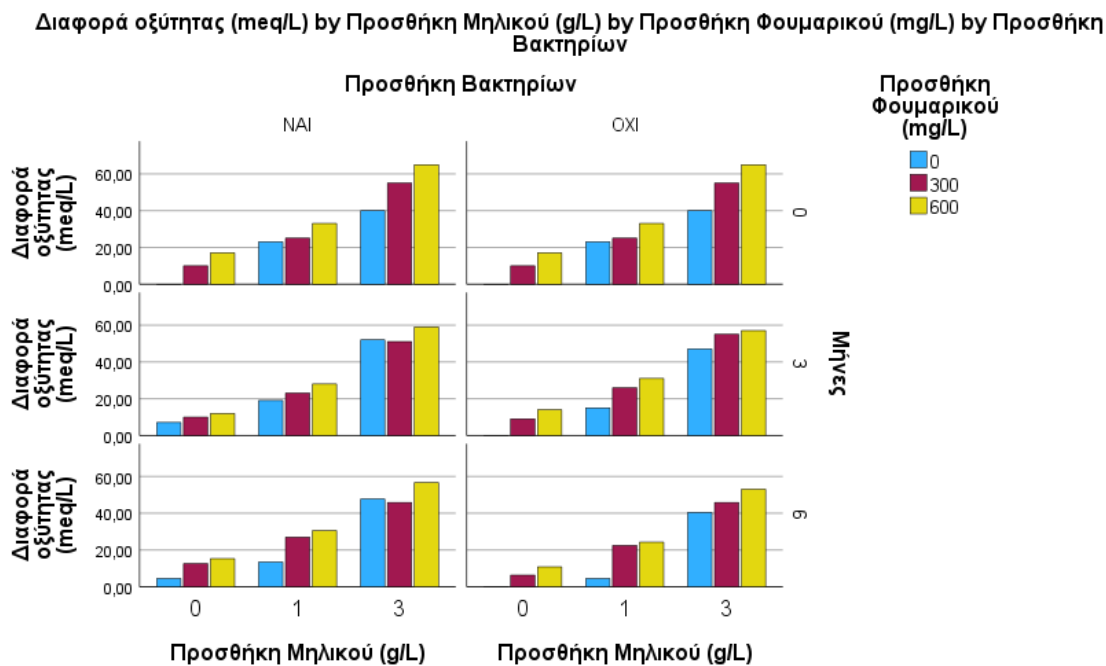
3.2 Αποτελέσματα ογκομετρούμενης οξύτητας

Ογκομετρούμενη οξύτητα (meq/L) by Προσθήκη Μηλικού (g/L) by Προσθήκη Φουμαρικού (mg/L) by Προσθήκη Βακτηρίων



Εικόνα 9: Αναπαράσταση της μέτρησης της ογκομετρούμενης οξύτητας (2.6) σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 9) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα της μέτρησης της ογκομετρούμενης οξύτητας των δειγμάτων και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 6 μέρη. Στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν. Στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν στον χρόνο 0, στη μέση οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω μέρος με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά και οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.



Εικόνα 10: Αναπαράσταση του υπολογισμού της διαφοράς της ογκομετρούμενης οξύτητας από το εκάστοτε δείγμα 0 (χωρίς προσθήκες) σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

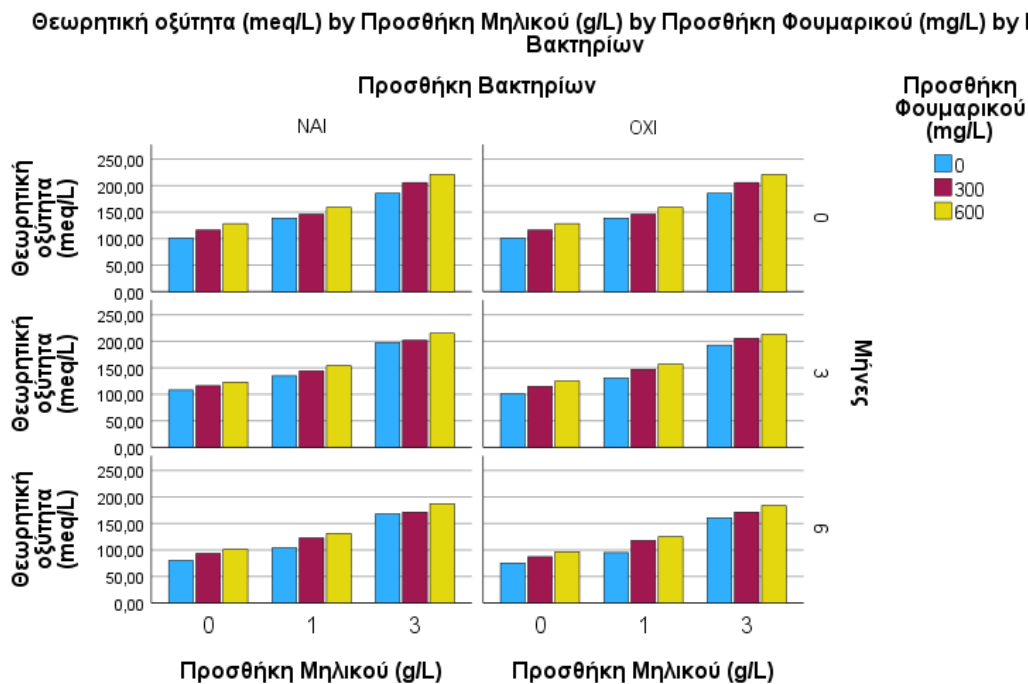
Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 10) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα του υπολογισμού της διαφοράς της ογκομετρούμενης οξύτητας των δειγμάτων από το εκάστοτε δείγμα 0 (χωρίς προσθήκες) και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 6 μέρη. Πρώτα στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν και στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν στον χρόνο 0. Στη μέση οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω μέρος με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά. Οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

- Η προσθήκη οξέων (μηλικό, φουμαρικό) οδηγεί στην αύξηση της ογκομετρούμενης οξύτητας. Στα διαγράμματα (Εικόνα 9, 10) επιβεβαιώνεται ότι όσο προστίθενται οξέα, τα οποία βρίσκονται ήδη στους οίνους, η οξύτητα αυξάνεται. Παρατηρείται, επίσης, ότι στα δείγματα όπου υπάρχει προσθήκη και φουμαρικού και μηλικού οξέος όσο αυξάνονται οι συγκεντρώσεις αυτών αυξάνεται και η διαφορά της οξύτητάς τους από τον αρχικό χρόνο. Με την προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος η οξύτητα αυξήθηκε περίπου κατά 1,3 g/L (18 meq/L), ενώ με την προσθήκη 3 g/L μηλικού οξέος 3,0 g/L (40 meq/L). Συνεπώς, το δείγμα με την προσθήκη 3 g/L μηλικού οξέος και 600 mg/L φουμαρικού οξέος μεταβάλλεται περισσότερο, περίπου 4,9 g/L (55 - 60 meq/L), από τον αρχικό χρόνο.
- Από το διάγραμμα (Εικόνα 9) φαίνεται ακόμη ότι η προσθήκη φουμαρικού οξέος μεταβάλλει περισσότερο την οξύτητα του οίνου σε σχέση με το μηλικό. Παρατηρείται ότι με την προσθήκη μόνο 3 g/L μηλικού οξέος η μεταβολή της οξύτητας είναι της

τάξεως 41 meq/L, ενώ μόνο με την προσθήκη 300 mg/L που είναι το 1/10 από την προσθήκη του μηλικού η διαφορά είναι περίπου 10 meq/L, σχεδόν διπλάσια.

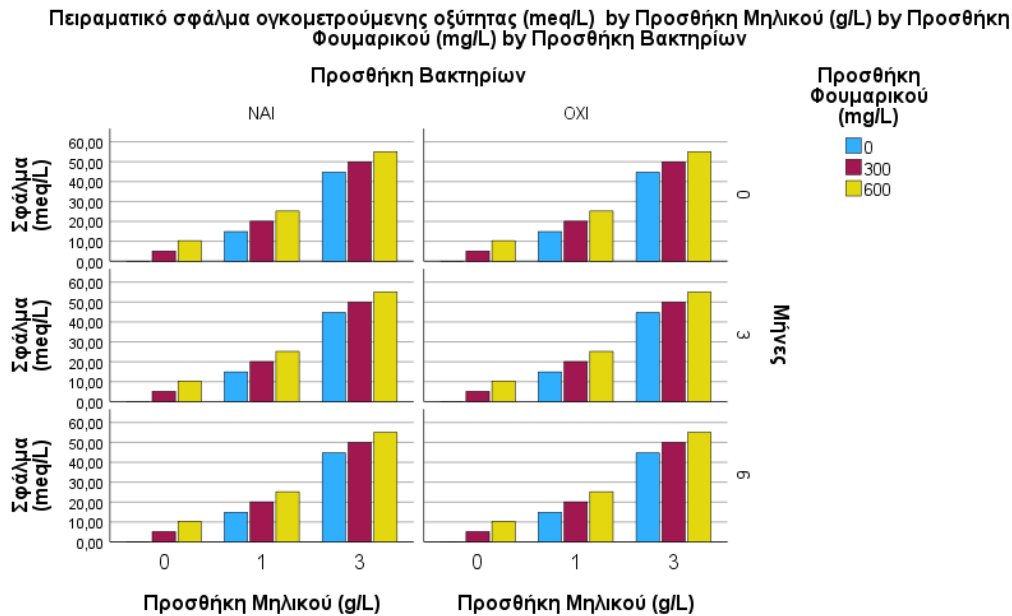
- Στους 3 μήνες όπου δεν έχει προλάβει να γίνει εκδήλωση της μηλογαλακτικής ζύμωσης, η οξύτητα παραμένει σχεδόν σταθερή, με μία μικρή αύξηση η οποία πιθανότατα οφείλεται στην οξειδωση των οίνων το οποίο παρατηρήθηκε και οργανοληπτικά.
- Στους 6 μήνες στα δείγματα όπου υπήρξε εξέλιξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης, δηλαδή σε αυτά που δεν υπήρξε καμία προσθήκη (από τα 100 meq/L μειώθηκε στα 75 meq/L) και σε αυτά που υπήρξε μόνο προσθήκη 1 g/L μηλικού οξέος (123 meq/L στα 80 meq/L) η μείωση της οξύτητας είναι πιο έντονη καθώς το μηλικό οξύ έχει δύο ομάδες καρβοξυλίου, ενώ το γαλακτικό μία. Επίσης η οξύτητα μειώνεται σε μικρό βαθμό με το CO₂, που εκλύεται από την μηλογαλακτική ζύμωση.^[3]
- Στα δείγματα που δεν διενεργήθηκε η μηλογαλακτική ζύμωση παρατηρείται επίσης μείωση της οξύτητας, αυτό σε ένα μικρό ποσοστό ίσως να οφείλεται στο ότι με την πάροδο του χρόνου στον οίνο ένα ποσοστό εστεροποιείται με αιθανόλη προς όξινο τρυγικό αιθυλεστέρα.^[2], όμως η μεταβολή φαίνεται να είναι μεγαλύτερη και αυτό πιθανότατα οφείλεται σε λάθος κατά την μέθοδο τιτλοδότησης.

3.3 Αποτελέσματα θεωρητικής τιμής και σφάλματος οξύτητας



Εικόνα 11: Αναπαράσταση του υπολογισμού της θεωρητικής οξύτητας που θα έπρεπε να έχουν τα δείγματα αναλογικά με τις προσθήκες των οξέων σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 11) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα του υπολογισμού της θεωρητικής ογκομετρούμενης οξύτητας των δειγμάτων που θα έπρεπε να έχουν ανάλογα με τις προσθήκες των οξέων και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 6 μέρη. Στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν και στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν στον χρόνο 0. Στη μέση φαίνονται οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω μέρος με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά. Οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.



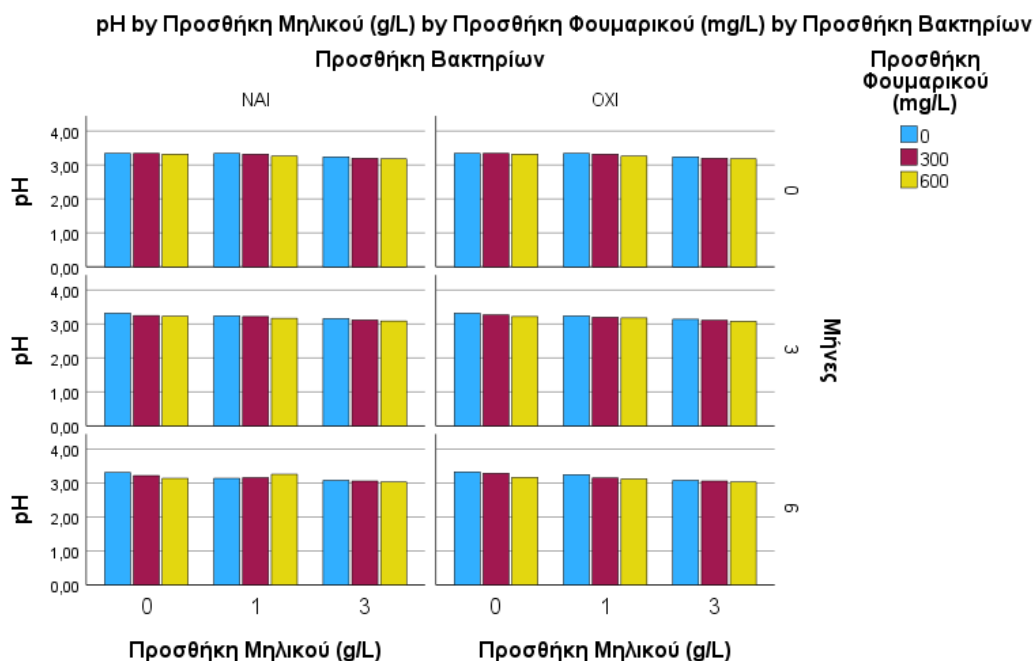
Εικόνα 12: Αναπαράσταση του υπολογισμού του πειραματικού σφάλματος που προκύπτει από την αφαίρεση της ογκομετρούμενης οξύτητας από την θεωρητική τιμή της σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 12) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα του υπολογισμού του πειραματικού σφάλματος που προκύπτει από την αφαίρεση της ογκομετρούμενης οξύτητας από την θεωρητική τιμή της στα δείγματα και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 6 μέρη. Αρχικά στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν και στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν στον χρόνο 0. Στη μέση είναι οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω μέρος με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά, όπου οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

- Η μεγαλύτερη απόκλιση της οξύτητας παρατηρείται στα δείγματα που έχει γίνει η μεγαλύτερη προσθήκη οξέων. Πιο συγκεκριμένα, τα σφάλματα είναι της τάξεως 55 meq/L περίπου με την προσθήκη 3 g/L μηλικού οξέος και 600 mg/L φουμαρικού οξέος, πολύ μεγαλύτερο από εκείνο στα δείγματα με την προσθήκη μόνο 300 mg/L φουμαρικού οξέος το σφάλμα είναι της τάξεως 5 meq/L και με την προσθήκη μόνο 1 g/L μηλικού οξέος το σφάλμα είναι της τάξεως 15 meq/L. Επιπλέον, δεν υπάρχει καμία αλλαγή στις αποκλίσεις με την πάροδο του χρόνου (σε χρόνο μηδέν, στους 3 μήνες και στους 6 μήνες) καθώς και δεν υπάρχει διαφοροποίηση ανάμεσα στα δείγματα που έχουν προστεθεί βακτήρια και σε αυτά που δεν έχει γίνει προσθήκη.
- Αυτό οφείλεται στο ότι η ογκομετρούμενη οξύτητα του γλεύκους, όπως και των περισσότερων χυμών φρούτων, είναι πάντοτε μικρότερη από την αναμενόμενη με βάση τις συγκεντρώσεις των οργανικών οξέων. Ο αριθμός των ιόντων υδρογόνου που ανακτώνται από χυμό είναι τυπικά μόνο 70% έως 80% αυτών που αναμένονται

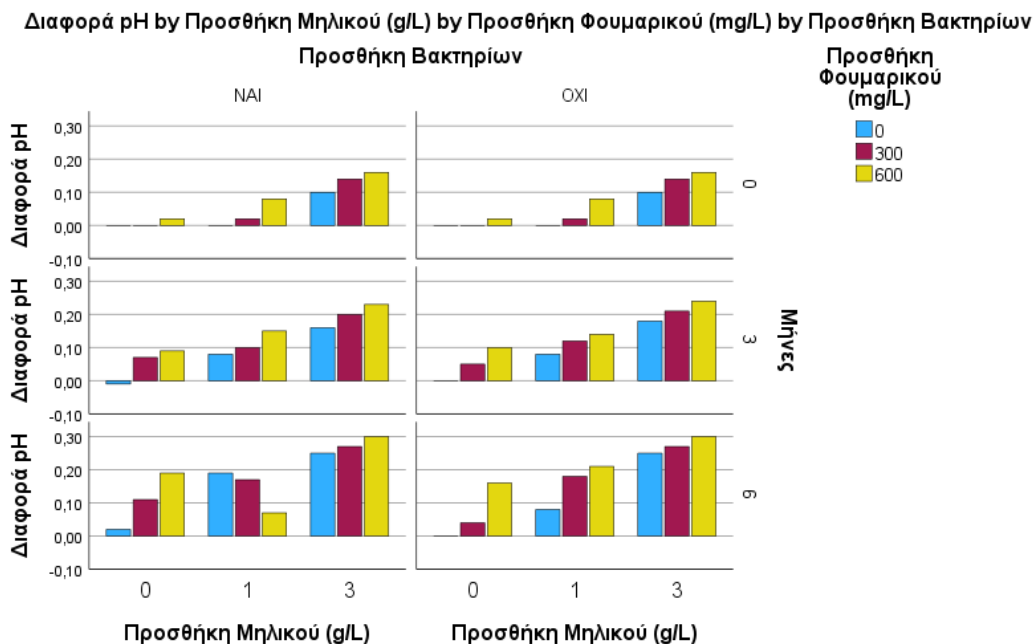
από τις πραγματικές συγκεντρώσεις του τρυγικού και μηλικού οξέος. Αυτό συμβαίνει λόγω ενός συγκεκριμένου μηχανισμού ανταλλαγής πρωτονίων των οξέων των σταφυλιών και των ιόντων καλίου (και σε μικρότερο βαθμό των ιόντων νατρίου). Ενώ από καιρό έχει αποδειχθεί ότι η τιμή της ογκομετρούμενης οξύτητας είναι μικρότερη από την αναμενόμενη, εξαιτίας του ισοζυγίου μεταξύ των κατιόντων και ανιόντων, η ειδική σχέση που αφορά μόνο τα μονοσθενή κατιόντα έχει πρόσφατα αποδειχθεί.^[19]

3.4 Αποτελέσματα pH



Εικόνα 13: Αναπαράσταση της μέτρησης του pH με τη χρήση pHμετρου (2.5) σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 13) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα της μέτρησης του pH των δειγμάτων και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 6 μέρη. Στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν και στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν στον χρόνο 0. Στη μέση είναι οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω μέρος με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά, όπου οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.



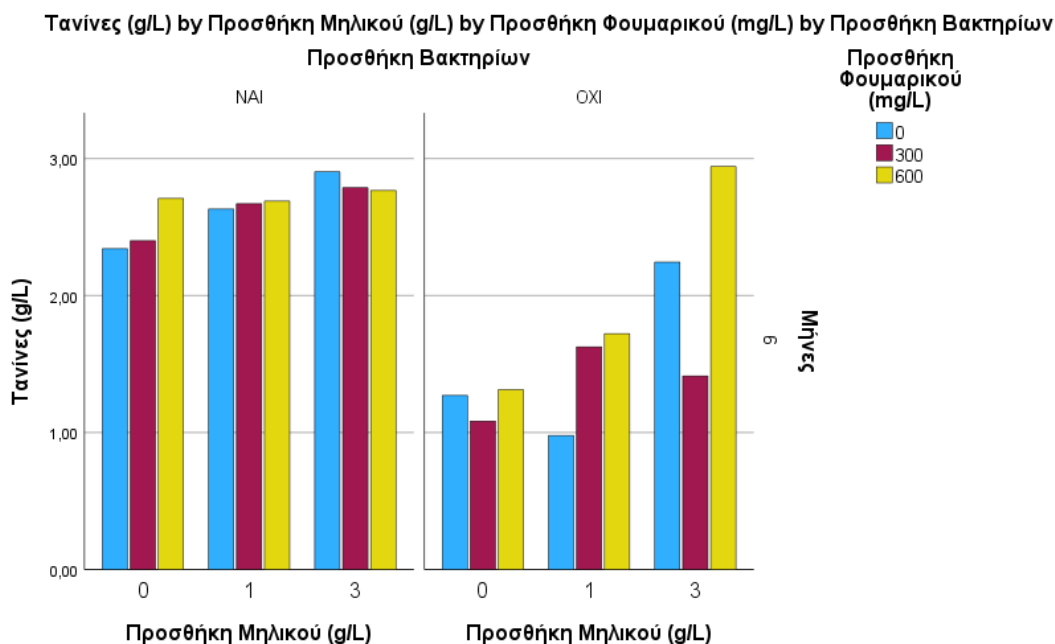
Εικόνα 14: Αναπαράσταση του υπολογισμού της διαφοράς του pH από το εκάστοτε δείγμα 0 (χωρίς προσθήκες) σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 14) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα του υπολογισμού της διαφοράς του pH από το εκάστοτε δείγμα 0 (χωρίς προσθήκες) των δειγμάτων και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 6 μέρη. Πρώτα στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν και στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν στον χρόνο 0. Στη μέση παρουσιάζονται οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω μέρος με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά, όπου οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

- Στα δείγματα που έχει εξελιχθεί η μηλογαλακτική ζύμωση το pH δείχνει να έχει μία μικρή αύξηση (0,1 - 0,2) καθώς το pK_a του γαλακτικού οξέος είναι μεγαλύτερο από το pK_{a1} του μηλικού οξέος.^[3] Σε μία παρόμοια έρευνα για τον έλεγχο της επίδρασης του φουμαρικού οξέος παρατηρείται χαμηλότερο pH τόσο λόγω της οξίνισης με φουμαρικό όσο και της διατήρησης της μηλικής οξύτητας.^[10]
- Η προσθήκη των δύο οξέων οδηγεί στην μείωση του pH. Από τα διαγράμματα φαίνεται πως το pH μειώνεται αναλογικά με την ποσότητα οξέων που έχουν προστεθεί στα δείγματα. Αναλυτικότερα, στα δείγματα που υπάρχει προσθήκη και φουμαρικού και μηλικού οξέος, και όσο αυξάνονται οι συγκεντρώσεις αυτών, αυξάνεται και η διαφορά pH από τον αρχικό χρόνο. Το δείγμα με την προσθήκη 3 g/L μηλικού οξέος και 600 mg/L φουμαρικού οξέος έχει την μεγαλύτερη μεταβολή της τάξεως 0,16, από τον αρχικό χρόνο, σε σχέση με τα δείγματα που έχουν την μικρότερη προσθήκη οξέων (1 g/L μηλικού οξέος και 300 mg/L φουμαρικού οξέος) που είναι της τάξεως 0,02.

- Το pH των δειγμάτων με εξαίρεση τα δείγματα στα οποία έχει πραγματοποιηθεί η μηλογαλακτική ζύμωση μειώνεται με την πάροδο του χρόνου. Η μείωση αυτή είναι της τάξεως 0,02 - 0,1. Αναφορικά στο δείγμα χωρίς προσθήκες με την πάροδο 3 μηνών το pH μειώθηκε κατά 0,02 ενώ με την πάροδο 6 μηνών μειώθηκε 0,03, παρόμοιες και λίγο μεγαλύτερες μειώσεις είχαν και τα υπόλοιπα δείγματα. Αυτό οφείλεται στο ότι το pH των οίνων μπορεί να υποστεί μεταβολές κατά τη διάρκεια της παλαίωσης. Εκτός από τη μηλογαλακτική ζύμωση άλλοι λόγοι είναι η καθίζηση όξινου τρυγικού καλίου και η μερική εστεροποίηση του τρυγικού οξέος.^[2]
- Επιπροσθέτως, σε μία άλλη παρόμοια έρευνα οι οίνοι που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με 600 mg/L φουμαρικού οξέος παρουσίασαν χαμηλότερο pH λόγω της διατήρησης του μηλικού οξέος τόσο λόγω της απουσίας της μηλογαλακτικής ζύμωσης(που μείωσε το pH σε 0,1 - 0,2 μονάδες σε σύγκριση με τα δείγματα χωρίς προσθήκες όσο και της επίδρασης της οξίνισης με φουμαρικό οξύ (που παρήγαγε και πρόσθετη μείωση 0,05 - 0 μονάδες pH).^[12]
- Τέλος, συγκριτικά με τις προσθήκες των δύο οξέων το pH μειώνεται με τον ίδιο τρόπο είτε έχει γίνει αύξηση της οξύτητας με μηλικό οξύ είτε με φουμαρικό οξύ. Παρατηρείται ότι με την προσθήκη μόνο 3 g/L μηλικού οξέος το pH μειώνεται κατά 0,1 και με την προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος που είναι το 1/5 από την προσθήκη του μηλικού η διαφορά είναι περίπου 0,02.

3.5 Αποτελέσματα Τανινών

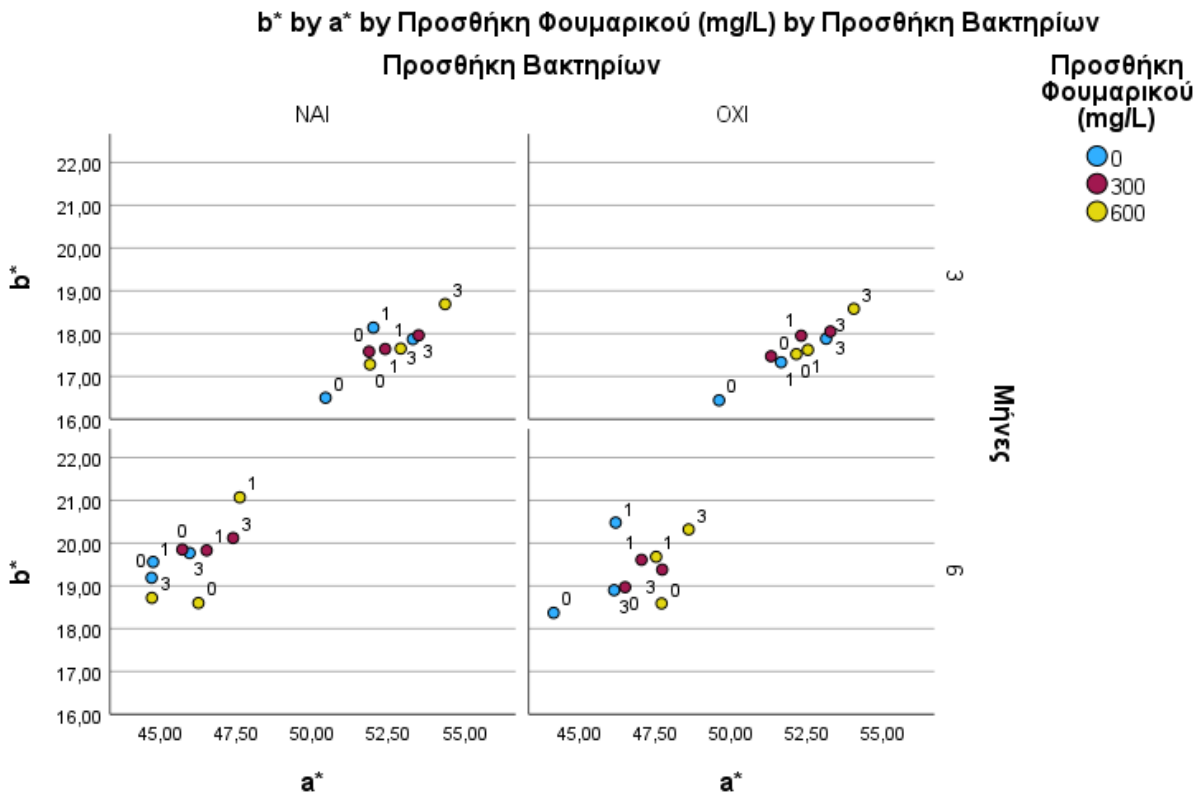


Εικόνα 15: Αναπαράσταση της μέτρησης των ολικών τανινών (2.7) σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος, φουμαρικού οξέος και βακτηρίων στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 15) παρουσιάζονται στον άξονα y τα αποτελέσματα της μέτρησης των τανινών των δειγμάτων και στον άξονα x η αρχική προσθήκη του μηλικού οξέος. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 6 μέρη. Στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν και στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν στον χρόνο 0. Επίσης, στη μέση είναι οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω μέρος με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά, όπου οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

- Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 15) φαίνεται ότι η συγκέντρωση των τανινών είναι υψηλότερη στα δείγματα που έχουν προστεθεί τα γαλακτικά βακτήρια, με εξαίρεση την τιμή στα δείγματα που είχαν προσθήκη 3 g/L και 600 mg/L φουμαρικού οξέος, το οποίο πιθανότατα οφείλεται σε σφάλμα κατά τη μέτρηση.
- Στα δείγματα που έχει διεξαχθεί η μηλογαλακτική ζύμωση η συγκέντρωση των τανινών είναι χαμηλότερη, καθώς οδηγεί σε οίνους με μικρότερη συγκέντρωση τανινών.^[3]
- Παρατηρείται επίσης ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση των οξέων αυξάνεται και η συγκέντρωση των τανινών.
- Τα παραπάνω αποτελέσματα δεν μπορούν να επαληθευτούν σε κάποια αντίστοιχη έρευνα ή βιβλιογραφία, καθώς δεν έχει διεξαχθεί καμία που να πραγματεύεται το πώς επηρεάζει η συγκέντρωση βακτηρίων *Oenococcus oeni* και η συγκέντρωση οργανικών οξέων τα επίπεδα ολικών τανινών σε ερυθρούς οίνους.

3.6 Αποτελέσματα CIELab



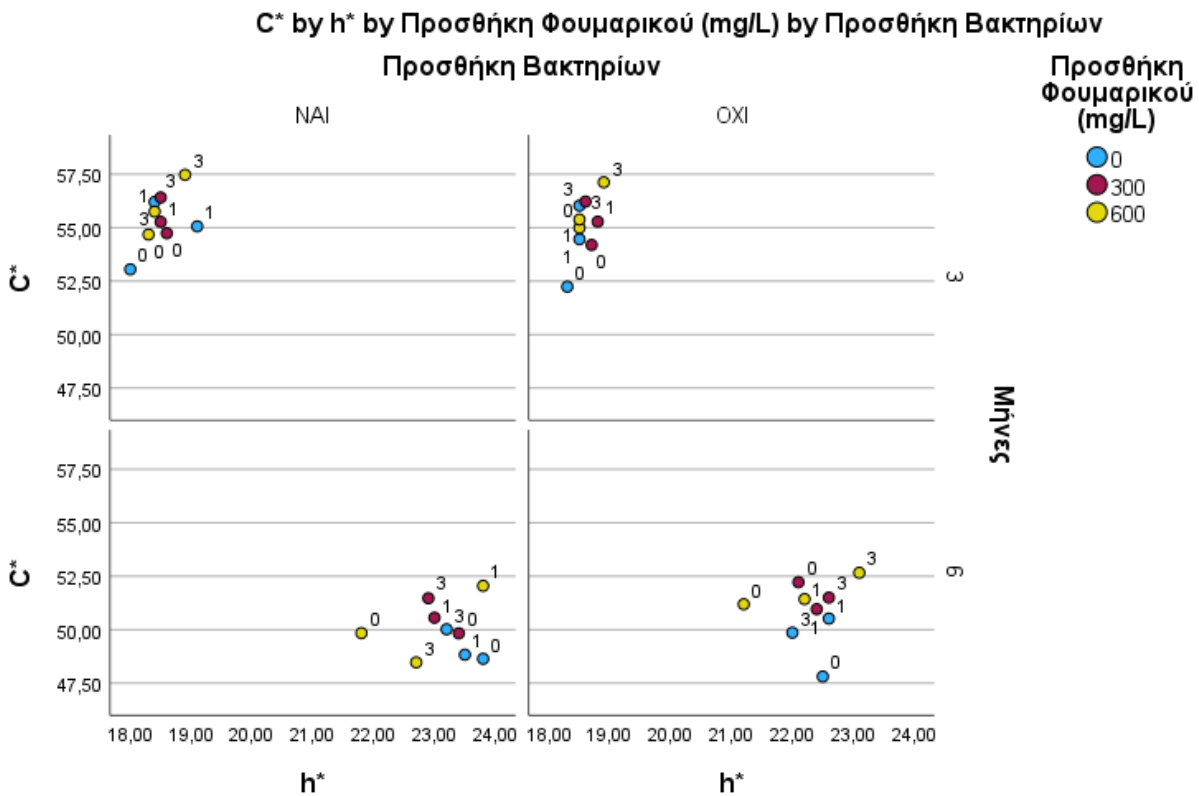
Εικόνα 16: Αναπαράσταση της μέτρησης του b^* σε συνάρτηση με τη μέτρηση του a^* με τη χρήση του CIELab (2.9) στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 16) παρουσιάζονται οι τιμές της μέτρησης του b^* στον άξονα y και οι τιμές της μέτρησης του a^* στον άξονα x. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 4 μέρη. Στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν και στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω με την πάροδο 6 μηνών. Κατηγοριοποιούνται επίσης χρωματικά, καθώς οι μπλε κουκίδες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος. Η τελευταία κατηγοριοποίηση είναι τα νούμερα πάνω από τις κουκίδες που δείχνουν την προσθήκη μηλικού οξέος σε g/L. Οι μετρήσεις έχουν γίνει με τη χρήση του μηχανήματος CIELab, το οποίο αναλύεται στην ενότητα 2.9.

- Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 16) φαίνεται ότι δεν υπάρχει εμφανής διαφορά ανάμεσα στα δείγματα που έχουν προστεθεί βακτήρια και σε αυτά που δεν έχει γίνει προσθήκη.
- Με την πάροδο του χρόνου μειώνονται οι τιμές του a^* , δηλαδή μειώνεται το κόκκινο χρώμα. Οι τιμές του b^* αυξάνονται, δηλαδή αυξάνεται το κίτρινο λόγω παλαίωσης και λόγω οξειδώσεων που είναι υπεύθυνες για το κίτρινο χρώμα του οίνου μιας που υπάρχει παραγωγή οξικού οξέος. Σε έναν ερυθρό οίνο το αυξανόμενο ποσοστό του κίτρινου χρώματος μέσα στο κόκκινο και η ακριβής απόχρωσή του, παρέχουν αρκετά

στοιχεία για την ηλικία του. Καφέ αποχρώσεις δείχνουν γήρανση που είναι πιο προχωρημένη όσο είναι πιο μεγάλο είναι το ποσοστό τους.^[4]

- Φαίνεται ότι ίσως τα δείγματα με την μεγαλύτερη ποσότητα φουμαρικού οξέος έχουν μεγαλύτερο a^* ακόμα και με την πάροδο 6 μηνών διατηρώντας περισσότερο το κόκκινο χρώμα.

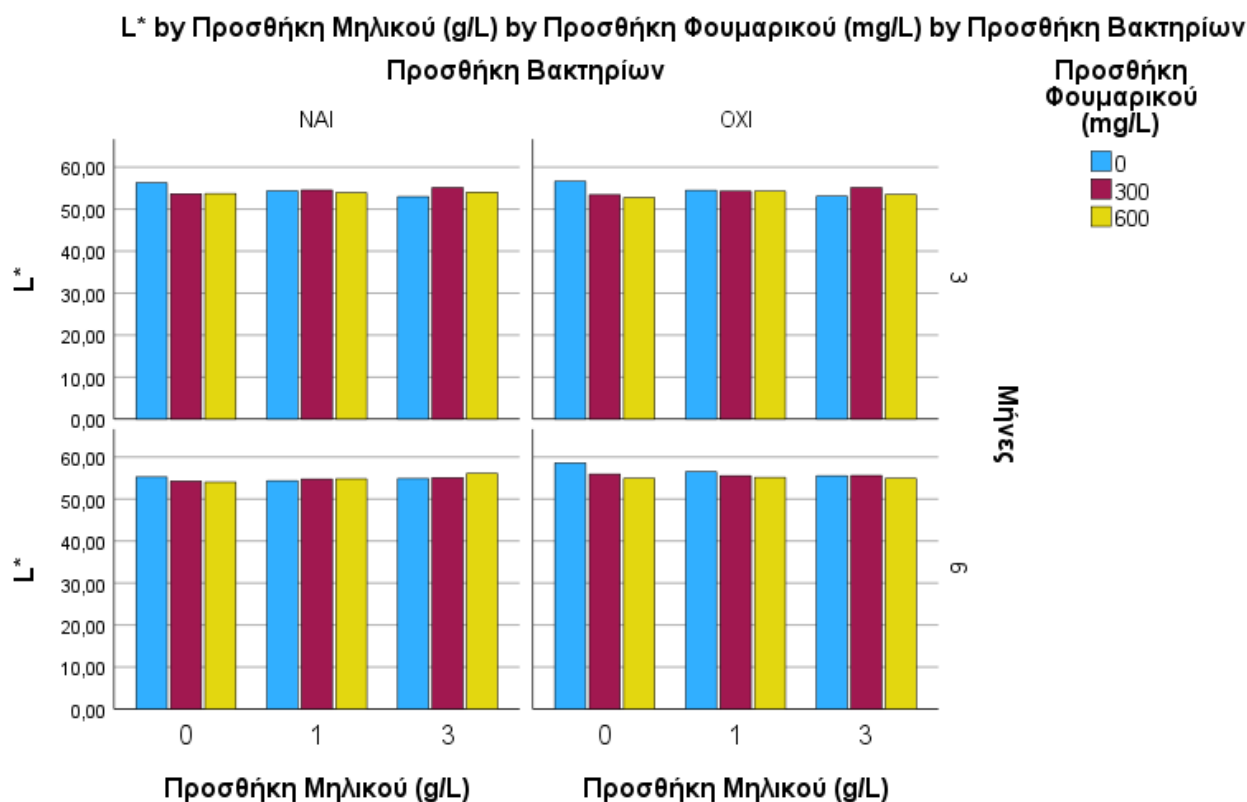


Εικόνα 17: Αναπαράσταση της μέτρησης του C^* σε συνάρτηση με τη μέτρηση του h^* με τη χρήση του CIELab (2.9) στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 17) παρουσιάζονται οι τιμές της μέτρησης της έντασης C^* στον άξονα y και οι τιμές της μέτρησης της απόχρωσης h^* στον άξονα x. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 4 μέρη. Ξεκινώντας στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν. Συνεχίζοντας στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω με την πάροδο 6 μηνών. Κατηγοριοποιούνται επίσης χρωματικά, όπου οι μπλε κουκίδες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος. Η τελευταία κατηγοριοποίηση είναι τα νούμερα πάνω από τις κουκίδες (0, 1, 3) που δείχνουν την προσθήκη μηλικού οξέος σε g/L. Οι μετρήσεις έχουν γίνει με τη χρήση του μηχανήματος CIELab, το οποίο αναλύεται στην ενότητα 2.9.

- Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 17) παρατηρείται ότι δεν υπάρχει εμφανής διαφορά ανάμεσα στα δείγματα που έχει πραγματοποιηθεί προσθήκη βακτηρίων και σε αυτά που δεν έχει.

- Παρατηρείται ότι με την πάροδο του χρόνου μειώνονται οι τιμές του C^* (χρώματος), δηλαδή μειώνεται η χρωματική ένταση και οι οίνοι φαίνεται να έχουν λιγότερο ζωνό κόκκινο χρώμα από αυτό που είχαν με την πάροδο μόνο 3 μηνών. Αυτό αποτυπώνεται και οργανοληπτικά καθώς το έντονο χρώμα των οίνων φανερώνει πιο ώριμα αρώματα, τα οποία παρατηρήθηκαν στους οίνους που εξετάστηκαν στους 3 μήνες.^[4]
- h^* ορίζεται η γωνία της απόχρωσης, μετριέται σε μοίρες και δείχνει την διαφορά στον χρωματικό τόνο ανάμεσα στα δείγματα. Εάν η τιμή είναι 0 μοίρες είναι το εντελώς κόκκινο χρώμα, ενώ αν είναι 90 μοίρες είναι το κίτρινο χρώμα.^[21] Παρατηρείται ότι με την πάροδο του χρόνου μειώνονται οι τιμές του h^* , δηλαδή της απόχρωσης.^[4]
- Οι ζωνές χροιές είναι σημάδι γευστικής φρεσκάδας και υψηλής οξύτητας,^[4] το οποίο παρατηρείται στα δείγματα με την μεγαλύτερη προσθήκη μηλικού και φουμαρικού οξέος που έχουν υψηλότερες τιμές.

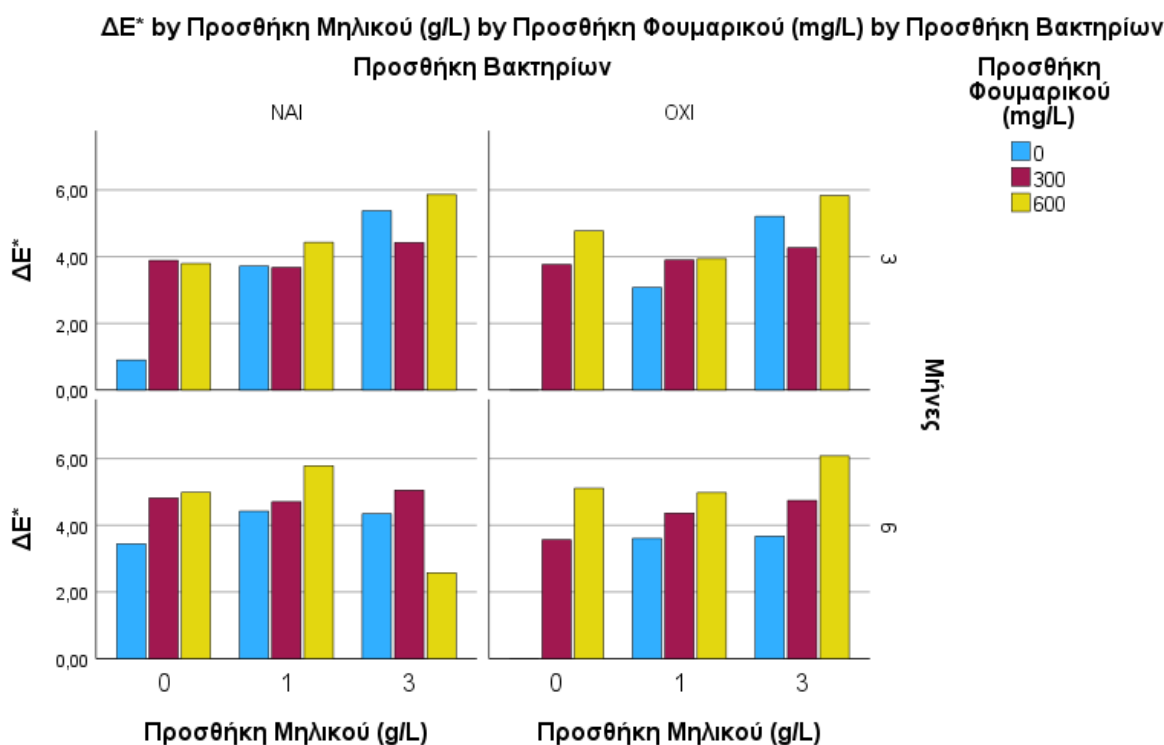


Εικόνα 18: Αναπαράσταση της μέτρησης του L^* σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος με τη χρήση του CIELab (2.9) στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 18) παρουσιάζονται οι τιμές της μέτρησης της διαύγειας L^* στον άξονα y και η αρχική προσθήκη μηλικού οξέος στον άξονα x. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 4 μέρη. Στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν. Στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά, όπου οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι

κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος. Οι μετρήσεις έχουν γίνει με τη χρήση του μηχανήματος CIELab, το οποίο αναλύεται στην ενότητα 2.9.

- Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 18) παρουσιάζονται οι τιμές της διαύγειας των εξεταζόμενων δειγμάτων. Εάν $L^* = 0$ τότε είναι μαύρο ενώ αν $L^* = 100$ τότε είναι άχρωμο.^[21] Δεν παρατηρείται κανένα μοτίβο σχετικά με τις προσθήκες που έχουν διεξαχθεί καθώς επίσης οι διακυμάνσεις των τιμών είναι πολύ μικρές της τάξεως 3 βαθμών. Οι τιμές της φωτεινότητας κυμαίνονται από 53 - 56 βαθμούς, το οποίο σημαίνει ότι οι οίνοι είναι σε ένα μεσαίο στάδιο φωτεινότητας προς το σκούρο με αμυδρή διαφορά στην πάροδο του χρόνου.



Εικόνα 19: Αναπαράσταση της μέτρησης του ΔE^* σε συνάρτηση με την προσθήκη μηλικού οξέος με τη χρήση του CIELab (2.9) στα δείγματα.

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 19) παρουσιάζονται οι τιμές της μέτρησης του ΔE^* στον άξονα y και η αρχική προσθήκη μηλικού οξέος στον άξονα x. Το διάγραμμα χωρίζεται σε 4 μέρη. Πρώτα στα αριστερά είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που είχαν προσθήκη βακτηρίων, ενώ δεξιά αυτών που δεν είχαν. Έπειτα στο επάνω μέρος οι μετρήσεις που έγιναν με την πάροδο 3 μηνών, ενώ στο κάτω με την πάροδο 6 μηνών. Τέλος, κατηγοριοποιούνται και χρωματικά, όπου οι μπλε μπάρες είναι οι μετρήσεις των δειγμάτων που δεν είχαν προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι κόκκινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και οι κίτρινες των δειγμάτων που είχαν προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος. Οι μετρήσεις έχουν γίνει με τη χρήση του μηχανήματος CIELab, το οποίο αναλύεται στην ενότητα 2.9.

- Το ΔΕ^{*} δείχνει την ολική χρωματική διαφορά ανάμεσα στα εξεταζόμενα δείγματα συμπεριλαμβάνοντας όλες τις παραπάνω χρωματικές παραμέτρους που αναλύθηκαν.^[21]
- Από το παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 19) φανερώεται ότι ανάμεσα σε κάποια δείγματα υπάρχει έντονη διαφορά, της τάξεως 4 βαθμών. Αυτό καθιστά τις εν λόγω χρωματικές διαφορές ευδιάκριτες με γυμνό μάτι.^[21] Παρ' όλα αυτά δεν υπάρχει κάποιο μοτίβο στις χρωματικές διαφορές των δειγμάτων, ανάλογα με τις προσθήκες που έχουν γίνει, αλλά ούτε με την πάροδο του χρόνου. Συνεπώς, δεν είναι δυνατόν να καθοριστούν τα ακριβή αίτια των συνολικών διαφορών ανάμεσα στα δείγματα με βάση την επεξεργασία τους, αλλά είναι σαφές ότι υπήρχαν αισθητές διαφορές οπτικά.

4. Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, το φουμαρικό οξύ σε συγκέντρωση 600 mg/L φάνηκε να είναι ένας ικανός παρεμποδιστής της μηλογαλακτικής ζύμωσης για τη διάρκεια και τις συνθήκες του πειράματος (6 μήνες). Από την άλλη, σε συνδυασμό με την προσθήκη μηλικού οξέος από 1 g/L και πάνω είναι ικανά και τα 300 mg/L φουμαρικού οξέος να εμποδίσουν την μηλογαλακτική ζύμωση, λόγω μείωσης του pH κατά 0,18. Ικανή παρεμπόδιση προσδίδει και η προσθήκη 3 g/L μηλικού οξέος, καθώς αυτή η προσθήκη παρέχει επαρκή μείωση του pH (0,25) ανεξαρτήτως της προσθήκης γαλακτικών βακτηρίων και της προσθήκης του φουμαρικού οξέος. Παρατηρήθηκε, επίσης, ότι στα δείγματα που δεν διενεργήθηκε η μηλογαλακτική ζύμωση μειώθηκε λίγο η οξύτητα με την πάροδο του χρόνου. Σχετικά με τις προσθήκες βακτηρίων, αυτές δεν ήταν επαρκείς για την έναρξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης, μιας που φάνηκε να εξελίσσεται πιο εύκολα χωρίς την προσθήκη τους, αν και προχωράει πολύ αργά, διότι δεν υπήρχε παραγωγή γαλακτικού οξέος στα δείγματα αυτά. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στην αιθανόλη που σε συνδυασμό με το pH είναι ο κυριότερος παράγοντας παρεμπόδισης της αύξησης των βακτηρίων. Τέλος, η συγκέντρωση των τανινών είναι υψηλότερη στα δείγματα που έχουν προστεθεί τα γαλακτικά βακτήρια έως και 1,7 g/L, ενώ η προσθήκη μηλικού οξέος αυξάνει τη συγκέντρωση των τανινών. Όσον αφορά τη μέτρηση του χρώματος με την χρήση των παραμέτρων CIELab, η χρωματική ένταση των δειγμάτων ανεξαρτήτως των προσθηκών με την πάροδο του χρόνου μειώνεται. Επιπλέον, οι τιμές του b^* αυξάνονται, διότι αυξάνεται το κίτρινο λόγω παλαίωσης και οξειδωσης. Φαίνεται επίσης ότι ίσως τα δείγματα με την μεγαλύτερη ποσότητα φουμαρικού οξέος έχουν μεγαλύτερο a^* ακόμα και με την πάροδο 6 μηνών, διατηρούν περισσότερο το κόκκινο χρώμα. Συνοψίζοντας, υπήρχαν αισθητές διαφορές οπτικά αφού οι τιμές του ΔE^* φτάνουν ακόμα και το 6.

Βιβλιογραφία

1. Σταύρακας Δ. (2015), Αμπελογραφία, εκδόσεις ΖΗΤΗ
2. Reger B, Boulton, Vernon L, Singleton, Linda F, Bisson, Ralph E, Kunkel, Οινολογία βασικές αρχές & μέθοδοι οινοποίησης (1999), Επιμέλεια έκδοσης Βασίλης Ντουρτόγλου, εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Broken hill
3. Νεραντζής Η., Ταταρίδης Π., Λιούνη Μ., Βαρελάς Β., Μικροβιολογία οίνου (2015), εκδόσεις Έμβρυο
4. Τσακίρης Α., Οινολογία από το σταφύλι στο κρασί (2017), εκδόσεις Ψύχαλου
5. Τσακίρης Α., Οινολογία έρευνα και εφαρμογές (2005), εκδόσεις Ψύχαλου
6. Chidi, B. S., Bauer, F. F., & Rossouw, D. (2018). Organic acid metabolism and the impact of fermentation practices on wine acidity - A review. South African Journal of Enology and Viticulture, 39(2). <https://doi.org/10.21548/39-2-3172>
7. Malic Acid in Wine: Origin, Function and Metabolism during Vinification, H. Volschenk H, van Vuuren H, Viljoen-Bloom M, South African Journal of Enology & Viticulture (2017), 27(2)
8. Fumaric Acid Yang, Shang Tian, Zhang, Kun, Zhang, Baohua, Huang, He, Comprehensive Biotechnology, (2019), 188-207
9. <https://www.oiv.int/standards/international-code-of-oenological-practices/part-ii-oenological-treatments-and-practices/wines/treatment-with-fumaric-acid-to-inhibit-malolactic-fermentation>
10. Use of fumaric acid to control pH and inhibit malolactic fermentation in wines, Morata A, Bañuelos M, López C, Song C, Vejarano R, Loira I, Palomero F, Suarez Lepe J, Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, (2020), 37(2)
11. The oenological interest of fumaric acid: Stop malolactic fermentation and preserve the freshness of wines, Morata A, Bañuelos M, López C, Chenli S, Vejarano R, Loira I, Palomero F, Lepe J, BIO Web of Conferences, (2019), 15
12. Use of Fumaric Acid to Inhibit Malolactic Fermentation in Bottled Rioja Wines: Effect in pH and Volatile Acidity Control, Morata A, Adell E, López C, Palomero F, Suárez E, Pedrero S, Bañuelos M, González C, Beverages, (2023), 9(1)
13. Solubility, acidifying power and sensory properties of fumaric acid in water, hydro-alcoholic solutions, musts and wines compared to tartaric, malic, lactic and citric acids, Anne Laure Gancel, Claire Payan, Tatiana Koltunova, Michaël Jourdes, Monika Christmann, Pierre Louis Teissedre, Oeno One (2022)
14. <https://www.oiv.int/standards/annex-a-methods-of-analysis-of-wines-and-musts/section-3-chemical-analysis/section-3-1-organic-compounds/section-3-1-3-acids/total-acidity-%28type-i%29>

15. <https://www.oiv.int/standards/annex-a-methods-of-analysis-of-wines-and-musts/section-3-chemical-analysis/section-3-1-organic-compounds/section-3-1-3-acids/ph-%28type-i%29>
16. <https://www.oiv.int/standards/international-oenological-codex/part-i-monographs/monographs/oenological-tannins>
17. <https://www.steroglass.it/en/multiparametric-analyzer-hyperlab-smart>
18. <https://www.oiv.int/public/medias/2478/oiv-ma-as2-11.pdf>
19. A Hypothesis for the Presence, Activity, and Role of Potassium/Hydrogen, Adenosine Triphosphatases in Grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 31(3), 283–287. <https://doi.org/10.5344/ajev.1980.31.3.283> Ashmore, P. L., Valdez, F., Harbertson, J. F., Boulton, R. B., & Collins, T. S. (2023).
20. Wine tannins: Where are they coming from? A method to access the importance of berry part on wine tannins content, Rousserie P, Lacampagne S, Vanbrabant S, Rabot A, Geny-Denis L, *MethodsX*, (2020), 7
21. <https://www.oiv.int/standards/compendium-of-international-methods-of-wine-and-must-analysis/annex-a-methods-of-analysis-of-wines-and-musts/section-2-physical-analysis/chromatic-characteristics-%28type-i%29>
22. Chidi, B. S., Bauer, F. F., & Rossouw, D. (2018). Organic acid metabolism and the impact of fermentation practices on wine acidity - A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 39(2). <https://doi.org/10.21548/39-2-3172>
23. Pascal Ribéreau-Gayon, Yves Glories, Alain Maujean, Denis Dubourdieu, Philippe Darriet, John Tovey, *Handbook of Enology* (pp. 1–56) (2021), Wiley.
24. Σουφλερός Ε., *Οινολογία: Επιστήμη και τεχνολογία* (2015), Εκδόσεις ΣΟΥΦΛΕΡΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ.

5. Πίνακες Μετρήσεων

Πίνακας 1: Αποτελέσματα μετρήσεων ογκομετρούμενης οξύτητας

Δείγμα	Προσθήκη Φουμαρικού (mg/L)	Προσθήκη Μηλικού (g/L)	Προσθήκη Βακτηρίων	Μήνες	Ογκ. Οξύτητα (meq/L) αρχική	Διαφορά οξύτητας σε χρόνο 0 (meq/L)	Ογκ. Οξύτητα (meq/L)	Διαφορά από 3 και 6 μήνες	Θεωρητική Οξύτητα (meq/L)	Πειραματικό σφάλμα ογκ. οξύτητας (meq/L)
1	0	0	OXI	0						
2	0	0	OXI	3	100,87	0	100,87	0	100,87	0
3	300	0	OXI	3	110,87	10	109,93	9,06	115,1	5,17
4	600	0	OXI	3	117,93	17,06	114,86	13,99	125,2	10,34
5	0	1	OXI	3	123,93	23,06	115,93	15,06	130,85	14,92
6	300	1	OXI	3	125,92	25,05	126,86	25,99	146,94	20,08
7	600	1	OXI	3	133,92	33,05	131,92	31,05	157,17	25,25
8	0	3	OXI	3	140,85	39,98	147,91	47,04	192,66	44,75
9	300	3	OXI	3	155,91	55,04	155,91	55,04	205,82	49,92
10	600	3	OXI	3	165,9	65,03	157,91	57,04	212,99	55,08
11	0	0	NAI	3	100,87	0	107,94	7,07	107,94	0
12	300	0	NAI	3	110,87	10	110,87	10	116,04	5,17
13	600	0	NAI	3	117,93	17,06	112,87	12	123,2	10,34
14	0	1	NAI	3	123,93	23,06	119,93	19,06	134,84	14,92
15	300	1	NAI	3	125,92	25,05	123,93	23,06	144,01	20,08
16	600	1	NAI	3	133,92	33,05	128,86	27,99	154,11	25,25
17	0	3	NAI	3	140,85	39,98	152,84	51,97	197,59	44,75
18	300	3	NAI	3	155,91	55,04	151,91	51,04	201,82	49,92
19	600	3	NAI	3	165,9	65,03	159,9	59,03	214,99	55,08
20	0	0	OXI	6	100,87	0	75,55	0	75,55	0
21	300	0	OXI	6	110,87	10	81,95	6,4	87,12	5,17
22	600	0	OXI	6	117,93	17,06	86,35	10,8	96,69	10,34
23	0	1	OXI	6	123,93	23,06	80,05	4,5	94,97	14,92
24	300	1	OXI	6	125,92	25,05	98,04	22,49	118,13	20,08
25	600	1	OXI	6	133,92	33,05	99,84	24,29	125,09	25,25
26	0	3	OXI	6	140,85	39,98	116,03	40,48	160,78	44,75
27	300	3	OXI	6	155,91	55,04	121,43	45,88	171,34	49,92
28	600	3	OXI	6	165,9	65,03	128,62	53,07	183,71	55,08
29	0	0	NAI	6	100,87	0	80,05	4,5	80,05	0
30	300	0	NAI	6	110,87	10	88,15	12,6	93,32	5,17
31	600	0	NAI	6	117,93	17,06	90,85	15,3	101,18	10,34
32	0	1	NAI	6	123,93	23,06	89,05	13,5	103,96	14,92
33	300	1	NAI	6	125,92	25,05	102,54	26,99	122,62	20,08
34	600	1	NAI	6	133,92	33,05	106,14	30,59	131,39	25,25

35	0	3	NAI	6	140,85	39,98	123,23	47,68	167,97	44,75
36	300	3	NAI	6	155,91	55,04	121,43	45,88	171,34	49,92
37	60	3	NAI	6	165,9	65,03	132,22	56,67	187,31	55,08

Πίνακας 2: Αποτελέσματα μετρήσεων pH

Δείγμα	Προσθήκη Φουμαρικού (mg/L)	Προσθήκη Μηλικού (g/L)	Προσθήκη Βακτηρίων	Μήνες	pH αρχικό	Διαφορά pH από χρόνο 0	pH	Διαφορά pH από 3 και 6 μήνες
1	0	0	OXI	0				
2	0	0	OXI	3	3,34	0	3,32	0
3	300	0	OXI	3	3,34	0	3,27	0,05
4	600	0	OXI	3	3,32	0,02	3,22	0,1
5	0	1	OXI	3	3,34	0	3,24	0,08
6	300	1	OXI	3	3,32	0,02	3,2	0,12
7	600	1	OXI	3	3,26	0,08	3,18	0,14
8	0	3	OXI	3	3,24	0,1	3,14	0,18
9	300	3	OXI	3	3,2	0,14	3,11	0,21
10	600	3	OXI	3	3,18	0,16	3,08	0,24
11	0	0	NAI	3	3,34	0	3,33	-0,01
12	300	0	NAI	3	3,34	0	3,25	0,07
13	600	0	NAI	3	3,32	0,02	3,23	0,09
14	0	1	NAI	3	3,34	0	3,24	0,08
15	300	1	NAI	3	3,32	0,02	3,22	0,1
16	600	1	NAI	3	3,26	0,08	3,17	0,15
17	0	3	NAI	3	3,24	0,1	3,16	0,16
18	300	3	NAI	3	3,2	0,14	3,12	0,2
19	600	3	NAI	3	3,18	0,16	3,09	0,23
20	0	0	OXI	6	3,34	0	3,33	0
21	300	0	OXI	6	3,34	0	3,29	0,04
22	600	0	OXI	6	3,32	0,02	3,17	0,16
23	0	1	OXI	6	3,34	0	3,25	0,08
24	300	1	OXI	6	3,32	0,02	3,15	0,18
25	600	1	OXI	6	3,26	0,08	3,12	0,21
26	0	3	OXI	6	3,24	0,1	3,08	0,25
27	300	3	OXI	6	3,2	0,14	3,06	0,27
28	600	3	OXI	6	3,18	0,16	3,03	0,3
29	0	0	NAI	6	3,34	0	3,31	0,02
30	300	0	NAI	6	3,34	0	3,22	0,11
31	600	0	NAI	6	3,32	0,02	3,14	0,19
32	0	1	NAI	6	3,34	0	3,14	0,19

33	300	1	ΝΑΙ	6	3,32	0,02	3,16	0,17
34	600	1	ΝΑΙ	6	3,26	0,08	3,26	0,07
35	0	3	ΝΑΙ	6	3,24	0,1	3,08	0,25
36	300	3	ΝΑΙ	6	3,2	0,14	3,06	0,27
37	60	3	ΝΑΙ	6	3,18	0,16	3,03	0,3

Πίνακας 3: Αποτελέσματα μετρήσεων ενζυμικού αναλυτή

Δείγμα	Προσθήκη Φουμαρικού (mg/L)	Προσθήκη Μηλικού (g/L)	Προσθήκη Βακτηρίων	Μήνες	Οξικό οξύ Ενζυμικός αναλυτής	Γαλακτικό οξύ Ενζυμικός αναλυτής	Μηλικό οξύ Ενζυμικός αναλυτής
1	0	0	ΟΧΙ	0			
2	0	0	ΟΧΙ	3	0,54	0,36	
3	300	0	ΟΧΙ	3	0,54	0,01	
4	600	0	ΟΧΙ	3	0,57	0,01	
5	0	1	ΟΧΙ	3	0,54	0,04	
6	300	1	ΟΧΙ	3	0,53	0,02	
7	600	1	ΟΧΙ	3	0,55	0,02	
8	0	3	ΟΧΙ	3	0,55	0,02	
9	300	3	ΟΧΙ	3	0,54	0,01	
10	600	3	ΟΧΙ	3	0,56	0,02	
11	0	0	ΝΑΙ	3	0,54	0,31	
12	300	0	ΝΑΙ	3	0,57	0	
13	600	0	ΝΑΙ	3	0,6	0,01	
14	0	1	ΝΑΙ	3	0,55	0,02	
15	300	1	ΝΑΙ	3	0,54	0	
16	600	1	ΝΑΙ	3	0,55	0,02	
17	0	3	ΝΑΙ	3	0,55	0,01	
18	300	3	ΝΑΙ	3	0,53	0,01	
19	600	3	ΝΑΙ	3	0,55	0,02	
20	0	0	ΟΧΙ	6	0,75		0
21	300	0	ΟΧΙ	6	0,65		0
22	600	0	ΟΧΙ	6	0,66		1,07
23	0	1	ΟΧΙ	6	0,7		0,02
24	300	1	ΟΧΙ	6	0,6		1,39
25	600	1	ΟΧΙ	6	0,63		1,4
26	0	3	ΟΧΙ	6	0,62		1,92
27	300	3	ΟΧΙ	6	0,58		1,88
28	600	3	ΟΧΙ	6	0,64		1,91
29	0	0	ΝΑΙ	6	0,68		0,02
30	300	0	ΝΑΙ	6	0,59		0,98

31	600	0	NAI	6	0,63		1,05
32	0	1	NAI	6	0,7		0,01
33	300	1	NAI	6	0,62		1,39
34	600	1	NAI	6	0,66		1,4
35	0	3	NAI	6	0,63		1,91
36	300	3	NAI	6	0,61		1,89
37	60	3	NAI	6	0,6		1,9

Πίνακας 4: Αποτελέσματα μετρήσεων CIELab

Δείγμα	Προσθήκη Φουμαρικού (mg/L)	Προσθήκη Μηλικού (g/L)	Προσθήκη Βακτηρίων	Μήνες	a*	b*	L	C	h	ΔΕ
1	0	0	OXI	0						
2	0	0	OXI	3	49,59	16,44	56,61	52,24	18,3	0
3	300	0	OXI	3	51,3	17,47	53,42	54,19	18,7	3,76
4	600	0	OXI	3	52,13	17,52	52,72	54,99	18,5	4,77
5	0	1	OXI	3	51,63	17,33	54,49	54,46	18,5	3,07
6	300	1	OXI	3	52,29	17,95	54,24	55,28	18,8	3,9
7	600	1	OXI	3	52,51	17,62	54,24	55,38	18,5	3,94
8	0	3	OXI	3	53,11	17,88	53,05	56,03	18,5	5,21
9	300	3	OXI	3	53,25	18,05	55,13	56,22	18,6	4,26
10	600	3	OXI	3	54,02	18,58	53,48	57,12	18,9	5,83
11	0	0	NAI	3	50,42	16,5	56,26	53,05	18	0,9
12	300	0	NAI	3	51,85	17,58	53,66	54,74	18,6	3,89
13	600	0	NAI	3	51,88	17,28	53,7	54,68	18,3	3,8
14	0	1	NAI	3	51,99	18,14	54,34	55,06	19,1	3,72
15	300	1	NAI	3	52,38	17,64	54,54	55,27	18,5	3,68
16	600	1	NAI	3	52,89	17,65	53,91	55,75	18,4	4,43
17	0	3	NAI	3	53,29	17,87	52,98	56,2	18,4	5,38
18	300	3	NAI	3	53,48	17,96	55,14	56,41	18,5	4,43
19	600	3	NAI	3	54,35	18,69	54,03	57,47	18,9	5,86
20	0	0	OXI	6	44,15	18,37	58,57	47,81	22,5	0
21	300	0	OXI	6	46,5	18,97	55,96	52,22	22,1	3,56
22	600	0	OXI	6	47,7	18,59	54,9	51,19	21,2	5,11
23	0	1	OXI	6	46,19	20,48	56,48	50,52	22,6	3,6
24	300	1	OXI	6	47,04	19,61	55,54	50,96	22,4	4,37
25	600	1	OXI	6	47,52	19,68	55,15	51,43	22,2	4,98
26	0	3	OXI	6	46,14	18,9	55,53	49,86	22	3,67
27	300	3	OXI	6	47,72	19,38	55,61	51,5	22,6	4,75
28	600	3	OXI	6	48,59	20,32	54,9	52,66	23,1	6,08

29	0	0	NAI	6	44,7	19,19	55,27	48,64	23,8	3,44
30	300	0	NAI	6	45,71	19,85	54,26	49,83	23,4	4,82
31	600	0	NAI	6	46,24	18,6	54,05	49,84	21,8	4,99
32	0	1	NAI	6	44,75	19,56	54,35	48,83	23,5	4,43
33	300	1	NAI	6	46,51	19,83	54,77	50,56	23	4,71
34	600	1	NAI	6	47,6	21,07	54,79	52,05	23,8	5,79
35	0	3	NAI	6	45,95	19,77	54,87	50,02	23,2	4,35
36	300	3	NAI	6	47,38	20,12	55,1	51,47	22,9	5,05
37	60	3	NAI	6	44,71	18,72	56,08	48,47	22,7	2,58

Πίνακας 5: Αποτελέσματα μετρήσεων τανινών

Δείγμα	Προσθήκη Φουμαρικού (mg/L)	Προσθήκη Μηλικού (g/L)	Προσθήκη Βακτηρίων	Μήνες	Τανίνες
20	0	0	OXI	6	1,27
21	300	0	OXI	6	1,08
22	600	0	OXI	6	1,31
23	0	1	OXI	6	0,98
24	300	1	OXI	6	1,63
25	600	1	OXI	6	1,72
26	0	3	OXI	6	1,24
27	300	3	OXI	6	1,41
28	600	3	OXI	6	2,94
29	0	0	NAI	6	2,34
30	300	0	NAI	6	2,40
31	600	0	NAI	6	2,71
32	0	1	NAI	6	2,63
33	300	1	NAI	6	2,67
34	600	1	NAI	6	2,69
35	0	3	NAI	6	2,90
36	300	3	NAI	6	2,79
37	60	3	NAI	6	2,77