



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 επίδρασης του στα βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά στο Αγιωργίτικο.»

ΤΣΑΤΣΑΡΩΝΗ ΛΑΜΠΡΙΝΗ

ΑΜ: 19685116

Επιβλέπων καθηγητής: Παναγιώτης Αραπίτσας

Αθήνα, Σεπτέμβριος-2023



UNIVERSITY OF WEST ATTICA
SCHOOL OF FOOD SCIENCE
DEPARTEMENT OF WINE, VINE, AND BEVERAGE SCIENCES
BACHELOR THESIS

«Use of fumaric acid in order to control malolactic fermentation and study of its effect on the main quality characteristics in Agiorgitiko.»

TSATSARONI LAMPRINI

RN:19685116

Supervisor professor: Panagiotis Arapitsas

Athens, September-2023



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

ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

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

«Χρήση του Φουμαρικού οξέος για τον έλεγχο της μηλογαλακτικής ζύμωσης και μελέτη της επίδρασης του στα βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά στο Αγιωργίτικο.»

και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (1^ο Μέλους Επιτροπής)	
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (2^ο Μέλους Επιτροπής)	
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (3^ο Μέλους Επιτροπής)	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογράφουσα Λαμπρινή Τσατσαρώνη του Δημητρίου, με αριθμό μητρώου 19685116 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής 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».

Για την παρούσα πτυχιακή εργασία σημειώνεται εμπάργκο για 12 μήνες.

Η Δηλούσα



Λαμπρινή Τσατσαρώνη

***Επιβλέπωντας Καθηγητής**

Ψηφιακή Υπογραφή

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η κλιματική αλλαγή και η υπερθέρμανση του πλανήτη αποτελούν σημαντικό πλήγμα στην καλλιέργεια της αμπέλου και κατ' επέκταση για την παραγωγή οίνων σε παγκόσμιο επίπεδο. Οι χαμηλές συγκεντρώσεις οργανικών οξέων στις ράγες της αμπέλου και άρα οι υψηλές τιμές pH καθιστούν επιτακτική την ανάγκη για άμεση επέμβαση των οινοπαραγωγών, προκειμένου να διασφαλίσουν την μικροβιολογική σταθεροποίηση και την φυσικοχημική ισορροπία των προϊόντων τους. Η τεχνική της οξίνισης του γλεύκους ή του οίνου αποτελεί μία από τις σημαντικότερες επεμβάσεις και πραγματοποιείται συχνά ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα. Πρόσφατα εγκρίθηκε από τον Διεθνή Οργανισμό Αμπέλου και Ποτών (OIV) η προσθήκη του φουμαρικού οξέος όχι μόνο για την αύξηση της οξύτητας των οίνων, αλλά και λόγω της ιδιότητας του να αποτρέπει την μηλογαλακτική ζύμωση.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ιδιότητα του φουμαρικού οξέος στην αναστολή της μηλογαλακτικής ζύμωσης και η επιρροή του στα ποιοτικά χαρακτηριστικά ερυθρού οίνου ποικιλίας «Αγιωργίτικο». Για τον λόγο αυτό προστέθηκαν διαφορετικές ποσότητες φουμαρικού και μηλικού οξέος, καθώς επίσης και δύο διαφορετικά στελέχη βακτηρίων. Οι οινολογικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε δύο χρόνους έπειτα από τις προσθήκες των οργανικών οξέων και των βακτηρίων, στους 3 και στους 6 μήνες. Τέλος, πραγματοποιήθηκε οργανοληπτική αξιολόγηση των οίνων στους 6 μήνες με σκοπό την διερεύνηση της επίδρασης του φουμαρικού οξέος στα αρωματικά και γευστικά χαρακτηριστικά του οίνου.

Συνοπτικά, παρατηρήθηκε πως η προσθήκη φουμαρικού οξέος κατάφερε να εμποδίσει την εκκίνηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Επηρέασε την ογκομετρούμενη οξύτητα μειώνοντάς με το πέρασμα του χρόνου και το pH αυξάνοντάς το στους 3 μήνες και μειώνοντάς το στους 6 μήνες. Το χρώμα επηρεάστηκε επίσης, αυξάνοντας το κίτρινο και το κόκκινο στα δείγματα με αυξανόμενη την ποσότητα των προστιθέμενων οργανικών οξέων (μηλικού και φουμαρικού οξέος), ενώ αυξήθηκε και το ποσοστό των πολυμερισμένων ανθοκυανών, αυξάνοντας παράλληλα την χρωματική ένταση με μείωση της χρωματικής απόχρωσης.

ABSTRACT

Climate change and global warming have been a major blow to the growth of vines and to wine production worldwide. The low concentrations of organic acids in the grape vines and thus the high pH values, make it imperative for wine producers to take immediate action, to ensure the microbiological stabilization and the physicochemical balance of their products. The technique of acidifying must, or wine is one of the most important interventions, and is often carried out to achieve the desired effect. The addition of fumaric acid has recently been approved by the International Organization of Vine and Beverage (OIV) not only to increase the acidity of wines, but also because of its property to prevent malolactic fermentation.

In this work, the property of fumaric acid in the inhibition of malolactic fermentation and its influence on the quality characteristics of red wine variety "Agiorgitiko" were studied. For this reason, different amounts of fumaric and malic acids were added, as well as two different strains of bacteria. The oenological analyzes were carried out at two times after the additions of organic acids and bacteria, at 3 and 6 months. Finally, an organoleptic evaluation of the wines was carried out at 6 months to investigate the effect of fumaric acid on the aromatic and taste characteristics of the wine.

Briefly, it was observed that the addition of fumaric acid managed to prevent the initiation of malolactic fermentation. Fumaric acid affected titrable acidity by decreasing it over time and pH by increasing it at 3 months and decreasing it at 6 months. The color was also affected, increasing yellow and red in the samples with increasing amount of added organic acids (malic and fumaric acid), while the percentage of polymerized anthocyanins also increased, while increasing the color intensity with a decrease in color shade.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	5
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1. Η ποικιλία Αγιωργίτικο	8
1.2. Μηλογαλακτική Ζύμωση	9
1.2.1. Μεταβολική οδός μηλογαλακτικής ζύμωσης.....	10
1.2.2. Παράγοντες που επηρεάζουν την μηλογαλακτική ζύμωση.....	10
1.3. Χαρακτηριστικά γαλακτικών βακτηρίων	11
1.4. Μηλικό Οξύ.....	12
1.5. Φουμαρικό Οξύ	12
1.5.1. Αντιβακτηριακή δράση του φουμαρικού οξέος	13
1.5.2. Νομοθεσία για την χρήση του φουμαρικού οξέος.	14
1.6. Μείωση οξύτητας ερυθρών οίνων.....	14
2. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	15
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	16
3.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ.....	16
3.2. ΣΤΕΛΕΧΗ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ	17
3.3. ΟΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ	17
3.3.1. Προσδιορισμός ολικής οξύτητας με ογκομέτρηση	17
3.3.2. Προσδιορισμός pH	19
3.3.3. Προσδιορισμός χρωματικών χαρακτηριστικών κατά CieLab.....	19
3.3.4. Προσδιορισμός ανθοκυανών	21
3.3.6. Προσδιορισμός τανινών	22
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ.....	23
4.1. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στη μεταβολή της συγκέντρωσης του μηλικού οξέος	23
4.2. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην τελική συγκέντρωση του οξικού οξέος.....	26
4.3. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην εξέλιξη της ογκομετρούμενης οξύτητας	27
4.4. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην εξέλιξη του pH	30
4.5. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην εξέλιξη του χρώματος του οίνου.....	32
4.6. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στο ποσοστό των πολυμερισμένων ανθοκυανών	37
4.7. Επίδραση των διαφορετικών παραμέτρων στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου.	38
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	39
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	42

ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Επίδραση του φουμαρικού οξέος και της προσθήκης ή μη βακτηρίων στην τελική συγκέντρωση του μηλικού οξέος στους 6 μήνες

Διάγραμμα 2: Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην παραγόμενη ποσότητα οξικού οξέος

Διάγραμμα 3: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη της ογκομετρούμενης οξύτητας

Διάγραμμα 4: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη της ογκομετρούμενης οξύτητας μεταξύ των δειγμάτων χωρίς καμία προσθήκη και όλων των υπολοίπων δειγμάτων, στους 0, στους 3 και στους 6 μήνες.

Διάγραμμα 5: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη του pH

Διάγραμμα 6: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη του pH μεταξύ των δειγμάτων χωρίς καμία προσθήκη και όλων των υπολοίπων δειγμάτων, στους 0, στους 3 και στους 6 μήνες

Διάγραμμα 7: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη των χρωματικών χαρακτηριστικών a^* και b^* στους 3 και στους 6 μήνες

Διάγραμμα 8: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην συνολική χρωματομετρική διαφορά μεταξύ δύο σημείων στον τρισδιάστατο χώρο του CieLab

Διάγραμμα 9: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην πορεία της χρωματικής έντασης του οίνου

Διάγραμμα 10: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη της φωτεινότητας του οίνου

Διάγραμμα 11: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στο ποσοστό των πολυμερισμένων ανθοκυανών στους 3 και στους 6 μήνες

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μία από τις βασικότερες προκλήσεις των τελευταίων ετών στην παραγωγή οίνου σχετίζεται με την περιορισμένη συσσώρευση οργανικών οξέων στη ράγα των σταφυλιών, λόγω των αυξημένων θερμοκρασιών στον πλανήτη παγκοσμίως. Λόγω των συνεχώς αυξανόμενων θερμοκρασιών, οι ράγες αναπτύσσονται ταχύτερα με υψηλότερα επίπεδα σακχάρων και μικρότερες συγκεντρώσεις οργανικών οξέων. Η συγκομιδή των αμπελιών πραγματοποιείται όλο και περισσότερο πιο πρώιμα τις τελευταίες δεκαετίες. Έτσι, οι υψηλότερες τιμές pH σε γλεύκη και οίνους, οδηγούν σε μικροβιακές διαταραχές και οργανοληπτικές αλλοιώσεις, όπως μεταβολές στο χρώμα και μειωμένη ικανότητα παλαίωσης (Gancel et al., 2022). Κατά συνέπεια, οι παραγωγοί προκειμένου να διατηρήσουν τη μικροβιολογική σταθερότητα και την οργανοληπτική ισορροπία των οίνων, καταφεύγουν σε τεχνικές όξυνσης του γλεύκους ή οίνου. Πράγματι ο OIV συνιστά την προσθήκη γαλακτικού, μηλικού ή τρυγικού οξέος στα γλεύκη και στα κρασιά, με σκοπό την αύξηση της οξύτητας. Το φουμαρικό οξύ φαίνεται να αποτελεί ενδιαφέρουσα εναλλακτική λύση για την αύξηση της οξύτητας των οίνων, λόγω της υψηλής διαθεσιμότητάς του στην αγορά, αλλά και το χαμηλό κόστος του (Gancel et al., 2022).

Πρόσφατα, μόλις ξεκίνησε να αξιολογείται ξανά η αποτελεσματικότητα του φουμαρικού οξέος στην αναστολή της μηλογαλακτικής ζύμωσης ή τη διακοπή της (Morata et al., 2019).

1.1. Η ποικιλία Αγιωργίτικο

Το Αγιωργίτικο είναι μία πολυδυναμική ερυθρή ποικιλία και μια από τις σημαντικότερες ελληνικές ποικιλίες, η οποία αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό ποσοστό της παραγωγής οίνου στην Ελλάδα. Η συγκεκριμένη ποικιλία προέρχεται από την περιοχή της Νεμέας, στην Πελοπόννησο, περιοχή τεράστιου οινολογικού ενδιαφέροντος, καθώς αποτελεί την μεγαλύτερη από τις ζώνες Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης της χώρας. Η οινική έκταση της Νεμέας αποτελείται από αμπελώνες με υψόμετρα τα οποία ποικίλλουν από 200-850 m (Tzachristas et al., 2021).

Σήμα κατατεθέν είναι το κλίμα μεσογειακού τύπου, το οποίο χαρακτηρίζεται από υψηλές μέσες θερμοκρασίες ενώ παρατηρείται έλλειψη νερού κατά τη θερινή περίοδο. Για την παραγωγή οίνου «Νεμέας» ΠΟΠ (Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης) χρησιμοποιείται αποκλειστικά η ποικιλία Αγιωργίτικο. Οι παραγόμενοι οίνοι διακρίνονται από την υψηλή περιεκτικότητα ανθοκυανών, απαλή αίσθηση στο στόμα και χαμηλή στυπτικότητα λόγω μειωμένης συγκέντρωσης τανινών (Petrooulos et al., 2017).

Όσον αφορά την πορεία της οινοποίησης, η ένταση του χρώματος του Αγιωργίτικου τείνει να μειώνεται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, πιθανώς λόγω των χαμηλών επιπέδων τανινών, οι οποίες είναι δυνατόν

να δημιουργήσουν σύμπλοκα με τις υπάρχουσες ανθοκυάνες, στα πρώιμα στάδια της ζύμωσης (Theodorou et al., 2019).



Πηγή: wineplus.gr Αγιωργίτικο

1.2.Μηλογαλακτική Ζύμωση

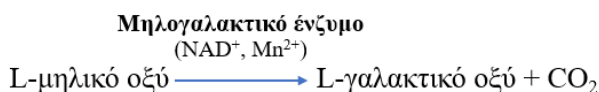
Η μηλογαλακτική ζύμωση πραγματοποιείται από βακτήρια γαλακτικού οξέος και αναφέρεται στην βιομετατροπή του L-μηλικού οξέος σε L-γαλακτικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα, προκαλώντας σημαντικές φυσικοχημικές και οργανοληπτικές τροποποιήσεις (Roger B Boulton et al., 1999). Πραγματοποιείται με το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης είτε αυθόρμητα είτε ύστερα από εμβολιασμό του οίνου με επιλεγμένες καλλιέργειες εκκίνησης γαλακτικών βακτηρίων. Η αυθόρμητη ζύμωση εκδηλώνεται με την ανάπτυξη και τον μεταβολισμό των αυτόχθονων γαλακτικών βακτηρίων με κυρίαρχα τα είδη *Oenococcus oeni* τα οποία προσαρμόζονται άριστα στις συνθήκες του μέσου. Ωστόσο, η διαδικασία αυτή μπορεί να είναι αργή ή και ατελής, ενώ ακόμα μπορεί να παραχθούν και ανεπιθύμητες ενώσεις όπως πτητικές φαινόλες ή υπέρμετρη ποσότητα διακετυλίου (Racine, 2015). Προκειμένου να αποφευχθούν τα παραπάνω προβλήματα, προτιμάται η χρήση επιλεγμένων εκκινητών γαλακτικών βακτηρίων όπως *Oenococcus oeni*, αλλά και πολλά ακόμα βακτήρια που ανήκουν στο είδος *Lp. plantarum* και *Pediococcus spp.*

Υπάρχουν τρεις βασικοί λόγοι για τους οποίους κρίνεται σημαντική η διεξαγωγή της μηλογαλακτικής ζύμωσης στον οίνο; αρχικά, προκειμένου να επέλθει μείωση της οξύτητας του οίνου με ταυτόχρονη αύξηση του pH, δευτερευόντως να συμβάλλει στην μικροβιολογική σταθερότητα αφαιρώντας το μηλικό οξύ, σαν μια πιθανή πηγή άνθρακα και τέλος να τροποποιήσει το αρωματικό προφίλ του οίνου (E. Lerm, 2010). Ιδιαίτερη συμβολή παρουσιάζει η μηλογαλακτική ζύμωση και στον καθορισμό της τελικής ποιότητας όχι μόνο στους ερυθρούς οίνους αλλά και σε μερικούς λευκούς οίνους όπως και σε κλασσικούς αφρώδεις οίνους.

Σημειώνεται πως, η αντικατάσταση του δικαρβοξυλικού L-μηλικού οξέος, που χαρακτηρίζεται από τραχιά γεύση, με το πιο ήπιο μονοκαρβοξυλικό L-γαλακτικό οξύ, έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της οξύτητας του οίνου, με ταυτόχρονη τροποποίηση της γευστικής και οσφρητικής του αντίληψης (Paramithiotis et al., 2022).

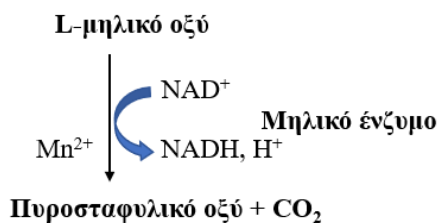
1.2.1. Μεταβολική οδός μηλογαλακτικής ζύμωσης

Τα γαλακτικά βακτήρια διαθέτουν τρεις πιθανές ενζυμικές οδούς για την μετατροπή του L-μηλικού οξέος σε L-γαλακτικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα. Η πρώτη περίπτωση αναφέρεται στην άμεση μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ μέσω ενζύμου μηλική αποκαρβοξυλάση. Όπως φαίνεται στην **Εικόνα 1** η αντίδραση απαιτεί το NAD^+ και Mn^{2+} ως συμπαραγόντες χωρίς να παράγονται ελεύθερα ενδιάμεσα προϊόντα κατά τη διάρκεια αυτής της αντίδρασης αποκαρβοξυλίωσης (E. Lerm, 2010).



Εικόνα 1: Μετατροπή του L-μηλικού οξέος από μηλογαλακτικό ένζυμο

Το δεύτερο μεταβολικό μονοπάτι χρησιμοποιεί το μηλικό ένζυμο ώστε να μετατραπεί το L-μηλικό σε πυροσταφυλικό οξύ, το οποίο στην συνέχεια ανάγεται από την L-γαλακτική αφυδρογονάση σε γαλακτικό οξύ (E. Lerm, 2010).



Εικόνα 2: Μετατροπή του L-μηλικού οξέος από μηλικό ένζυμο

Τέλος, η τρίτη πιθανή μεταβολική οδός είναι η αναγωγή του μηλικού οξέος από την μηλική αφυδρογονάση σε οξαλικό οξύ, ακολουθούμενη από αποκαρβοξυλίωση σε πυροσταφυλικό οξύ και αναγωγή αυτού σε γαλακτικό οξύ (E. Lerm, 2010).

1.2.2. Παράγοντες που επηρεάζουν την μηλογαλακτική ζύμωση

Μια σειρά βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων είναι δυνατόν να επηρεάσουν την μηλογαλακτική ζύμωση, όπως το pH, η θερμοκρασία, η ποικιλία της αμπέλου, το SO_2 , τα οργανικά οξέα και η αλληλεπίδραση με τους ζυμομύκητες.

Οι τιμές του pH για τους περισσότερους οίνους κυμαίνεται από 3,0-3,8. Εκτός από την αρχική τιμή του pH, η εξέλιξη της τιμής του κατά την διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης είναι εξίσου σημαντική και θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν για την πιο αποτελεσματική πορεία της.

Η θερμοκρασία αποτελεί ακόμη έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες καθώς ελέγχει την μικροβιακή ανάπτυξη. Η μείωση της επιφέρει παράταση της φάσης υστέρησης και άρα μείωση του ρυθμού ανάπτυξης και της παραγωγής βιομάζας. Σε αντίθεση η αύξηση της θερμοκρασίας ενισχύει την τοξικότητα της αιθανόλης. Ως βέλτιστες θερμοκρασίες για την μηλογαλακτική ζύμωση αναφέρονται μεταξύ 15-18°C, ωστόσο μπορεί να πραγματοποιηθεί και σε υψηλότερες θερμοκρασίες (Vailiant et al., 1995).

1.3. Χαρακτηριστικά γαλακτικών βακτηρίων

Μεταξύ των γαλακτικών βακτηρίων το στέλεχος *Oenococcus oeni*, θεωρείται το πιο ανθεκτικό βακτήριο στις συνθήκες του οίνου, δηλαδή παρουσία χαμηλού pH και υψηλής ποσότητας αιθανόλης και για τον λόγο αυτό αποτελεί το κύριο βακτήριο που διενεργεί την μηλογαλακτική ζύμωση.

Πρόσφατες μελέτες απέδειξαν πως στελέχη του βακτηρίου *Lactobacillus plantarum*, διαθέτουν μηχανισμούς αντίστασης που τους επιτρέπουν να επιβιώσουν και να πολλαπλασιαστούν στον οίνο. Επομένως, είναι δυνατή η χρήση τους ως εκκινήτες για την πρόκληση της μηλογαλακτικής ζύμωσης (Poza-Bayón et al., 2005). Κάτω από υψηλές τιμές pH, τα συγκεκριμένα στελέχη έχουν δείξει ενδιαφέροντα αποτελέσματα, όχι μόνο για την πρόκληση της μηλογαλακτικής ζύμωσης αλλά και για την ικανότητά τους στον ομοζυμωτικό καταβολισμό εξοζών, ο οποίος ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο παραγωγής οξικού οξέος. Εκτός από το διαφορετικό εύρος pH, τα δύο βακτήρια διαφέρουν και ως προς την αντοχή τους στα επίπεδα της παραγόμενης αλκοόλης, με τον *O. oeni* να αναστέλλεται εν μέρει, σε τιμές πάνω από 5% έως και 14%, ενώ ο *L. plantarum* αδρανοποιείται σε συγκεντρώσεις 5-6% (v/v) (Krieger-Weber et al., 2020).

Η ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων ενθαρρύνεται όπου η μηλογαλακτική ζύμωση απαιτείται για την μείωση της οξύτητας των οίνων. Η μείωση αυτή είναι ευνοϊκή για την ποιότητα του οίνου ιδιαίτερα στις ψυχρές οινοπαραγωγικές περιοχές, όπου οι ράγες των σταφυλιών περιέχουν από τη φύση τους υψηλά επίπεδα οργανικών οξέων (Bauer & Dicks, 2017).

Γενικότερα, σε τιμές pH < 3,5 η μηλογαλακτική ζύμωση πραγματοποιείται από τον *O. oeni* ενώ σε τιμές άνω του 3,5 δρουν λακτοβάκιλοι όπως ο *L. plantarum* (Paramithiotis et al., 2022).

1.4. Μηλικό Οξύ

Το μηλικό οξύ βρίσκεται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς, έχοντας άφθονη ποσότητα στα πράσινα μήλα από όπου προέρχεται και το όνομά του. Ο χυμός των πράσινων σταφυλιών, λίγο πριν την αλλαγή του χρώματος, μπορεί να περιέχει έως και 25 gr/L μηλικού οξέος με αποτέλεσμα η τιμή του pH να φτάνει 2,5. Σε διάστημα δύο εβδομάδων και ύστερα από τα πρώτα σημάδια αλλαγής του χρώματος, η συγκέντρωσή του μειώνεται στο μισό, εν μέρει λόγω της αραίωσης που υφίστανται οι ράγες των σταφυλιών κατά την διόγκωσή τους και λόγω φαινομένων αναπνοής των κυττάρων της ράγας. Κατά την ωρίμανση των σταφυλιών, τα επίπεδα του μηλικού οξέος κυμαίνονται μεταξύ 4,0-6,5 g/L, ενώ μπορεί να φτάσει και 1-2 gr/L προκαλώντας αύξηση στο pH 3,5 (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Στο κρασί η μορφή που επικρατεί είναι το L(-) μηλικό οξύ και βρίσκεται σε συγκεντρώσεις 0-4 gr/L (Τσακίρης, 2017). Το D-μηλικό οξύ δεν βρίσκεται στην φύση, αλλά συντίθενται χημικά (Vargas et al., 2016).

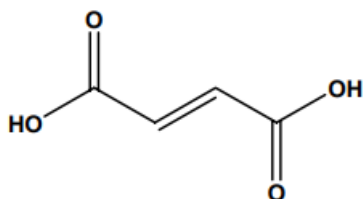
Το L-μηλικό οξύ σχηματίζεται μέσω της γλυκόλυσης. Υπέρμετρες ποσότητες μηλικού οξέος μπορεί να παρατηρηθούν κατά την συγκομιδή σταφυλιών σε συνθήκες ψυχρού καλοκαιριού σε αμπελουργικές περιοχές με δροσερό κλίμα. Η διακύμανση στις συγκεντρώσεις του, μπορεί να προκαλέσει πρόβλημα στους οινοπαραγωγούς, όπως επίσης και μια όξινη γεύση σαν αυτή του άγουρου μήλου.

Η αφαίρεση του οξέος μέσω μηλογαλακτικής ζύμωσης συνήθως συνοδεύεται από μια μέση αύξηση του pH της τάξεως του 0,1-0,3. Η προσθήκη του συγκεκριμένου οξέος σε έτοιμο οίνο, θα μπορούσε να ευνοήσει εκείνους που παράγονται σε θερμότερες περιοχές, όπου οι ζεστές θερμοκρασίες οδηγούν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις μηλικού οξέος (Volschenk et al., 2017).

1.5. Φουμαρικό Οξύ

Το φουμαρικό οξύ, (E)-Βουτενοδιοϊκό οξύ, απομονώθηκε αρχικά από το φυτό *Fumaria officinalis* από το οποίο πήρε και το όνομά του. Στις ράγες των σταφυλιών, έχουν εντοπιστεί μικρές συγκεντρώσεις φουμαρικού οξέος, μεταξύ 0,07-10,69 mg/L. Περιέχει δύο καρβοξυλομάδες και είναι το μοναδικό ανάμεσα στα υπόλοιπα οξέα τα οποία χρησιμοποιούνται για την διόρθωση της οξύτητας, που έχει έναν διπλό δεσμό. Λόγω του μικρού του μοριακού βάρους και της τιμής pK_a 3.03, το φουμαρικό οξύ έχει μεγαλύτερη ρυθμιστική ικανότητα, και άρα μπορεί να περιορίσει τις αλλαγές του pH. Από τα ελάχιστα αρνητικά του χαρακτηριστικά, είναι η μειωμένη διαλυτότητά του στο νερό σε σύγκριση με τα υπόλοιπα οξέα. Σε θερμοκρασία 25°C στο νερό, η διαλυτότητα του φουμαρικού οξέος 6,6-8,1 επισημάνθηκε (Das et al., 2016, Dang et al., 2009) σε σύγκριση με άλλα οξέα κάτω από ίδιες συνθήκες: 1447 gr/L για το κιτρικό οξύ, 1395 gr/L για το μηλικό οξύ και 1395,8 gr/L για το τρυγικό οξύ. Στην ίδια θερμοκρασία

αναφέρθηκε διαλυτότητα των 5,8 gr/L για το φουμαρικό οξύ σε 12,9% αιθανόλης. Ακόμα δεν έχει διερευνηθεί η διαλυτότητα του φουμαρικού οξέος στο γλεύκος και στον οίνο (Gancel et al., 2022).



Εικόνα 3: Συντακτικός τύπος φουμαρικού οξέος

Σύμφωνα με τους Gancel et al., 2022 το φουμαρικό οξύ εμφάνισε 150-230 φορές χαμηλότερη διαλυτότητα από τα υπόλοιπα οξέα σε υδατικά μέσα, και λίγη χαμηλότερη σε γλεύκος από τι σε νερό. Μικρότερη ποσότητα για την μείωση του pH χρειάστηκαν το φουμαρικό και το τρυγικό οξύ από τα άλλα. Για την μείωση του pH κατά 0,1 μονάδα απαιτείται περίπου 30% λιγότερο φουμαρικό απ' ότι τρυγικό οξύ.

Συγκρίνοντας τις pKa των σημαντικότερων οξέων που υπάρχουν στον οίνο όπως του τρυγικού οξέος (3,01), του μηλικού οξέος (3,46) του γαλακτικού οξέος (3,81) και του ηλεκτρικού οξέος (4,18) με του φουμαρικού οξέος (3,03), παρατηρείται πως είναι το δεύτερο ισχυρότερο οξύ μετά το τρυγικό (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Το φουμαρικό οξύ παράγεται φυσικά στην αλκοολική ζύμωση, όπως υπονοείται ως ενδιάμεσο στον κύκλο του Krebs (Morata et al., 2020).

Σε οργανοληπτική αξιολόγηση των οξέων έπειτα από προσθήκη σε οίνο, αποδείχθηκε πως το φουμαρικό οξύ είναι πιο όξινο από το μηλικό και το κιτρικό οξύ (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

1.5.1. Αντιβακτηριακή δράση του φουμαρικού οξέος

Η έντονη δραστηριότητα του φουμαρικού οξέος, συνδέεται επίσης πιθανώς με την παρουσία διπλής καρβοξυλικής ομάδας παράλληλα με έναν διπλό δεσμό, μια δομή παρόμοια με τα υδροξυκιναμικά οξέα, τα οποία παρουσιάζουν επιβεβαιωμένη αντιβακτηριακή δράση στον οίνο (García-Ruiz et al., 2011).

Ευρέως γνωστό ως το λιγότερο ακριβό οξύ που στον τομέα των τροφίμων, χωρίς να είναι τοξικό, χρησιμοποιείται στην βιομηχανία τροφίμων ως αντιβακτηριακός παράγοντας και μέσο όξυνσης, λόγω της πολύ υψηλής οξυντικής του ισχύος. Για αυτό θεωρείται πως πιθανόν επιδρά στην μείωση του pH, περιορίζοντας έτσι και την ανάπτυξη των βακτηρίων (Gancel et al., 2022).

Το φουμαρικό οξύ υπάρχει στο αίμα, τον εγκέφαλο, το ήπαρ, τους μύες και τα νεφρά των αρουραίων όπως επίσης και στα ούρα των ανθρώπων. Ύστερα από διαφορετικές χορηγούμενες δόσεις σε

πειραματόζωα αρουραίους δεν παρατηρήθηκε καμία ανησυχία για την χρήση του στην βιομηχανία των τροφίμων (EFSA Journal, 2005).

Ευρέως χρησιμοποιούμενα πρόσθετα όπως το SO₂ και η λυσοζύμη εξυπηρετούν τον παραπάνω σκοπό, όμως δημιουργούν μακροπρόθεσμα επιπλοκές. Στην προσπάθεια να παρακάμψουν τους περιορισμούς ως αναστολείς της μηλογαλακτικής, το φουμαρικό οξύ θεωρείται κατάλληλη εναλλακτική. Η χρησιμότητα του φουμαρικού οξέος, έγκειται στην ικανότητά του να οξύνει το μέσο στο οποίο προστίθενται όπως τρόφιμα ή ποτά. Είναι 1,5 φορές πιο όξινο από το κιτρικό οξύ (Morata et al., 2020).

Η επιλογή του φουμαρικού οξέος ως αναστολέα της μηλογαλακτικής ζύμωσης εμφανίζει πλεονεκτήματα έναντι του SO₂ και της λυσοζύμης. Από την μία η χρήση του ελαττώνει τις απαιτήσεις σε SO₂, συμβάλλοντας σημαντικά στην μείωση παραγωγήςθειώδους. Από την άλλη το φουμαρικό σε σχέση με τη λυσοζύμη, εμποδίζει την καθίζηση των φαινολών, τη διατήρηση του χρώματος και την πολυπλοκότητα των ερυθρών οίνων (Morata et al., 2020).

1.5.2. Νομοθεσία για την χρήση του φουμαρικού οξέος.

Οι χώρες μέλη της επιτροπής του Διεθνή Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου, μπορούν να ρυθμίσουν την οξύτητα γλευκών ή οίνων με τεχνικές όπως ανάμιξη γλευκών ή οίνους με αυξημένη οξύτητα ή ακόμα προσθέτοντας οργανικά οξέα, έτσι και χώρες εκτός του OIV μπορούν να χρησιμοποιήσουν το φουμαρικό οξύ για διόρθωση της οξύτητας (Gancel et al., 2022).

Έχει αποδειχθεί πως η προσθήκη 300-900 mg/L φουμαρικού οξέος μπορεί να εμποδιστεί τους ερυθρούς οίνους από την πρόκληση της μηλογαλακτικής ζύμωσης, μειώνοντας το pH κατά 0,2 μονάδες ή και περισσότερο (Morata et al., 2020).

Η χρήση του φουμαρικού ως πρόσθετου επιτρέπεται στην Ευρωπαϊκή Ένωση σε δόσεις 300 – 600 mg/L. Επιτρέπεται να προστεθεί μόνο μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης, δηλαδή σε οίνο. Οι στόχοι της προσθήκης του είναι ο έλεγχος της ανάπτυξης και της δραστηριότητας των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος που ευθύνονται για τη μηλογαλακτική ζύμωση στον οίνο, η μείωση των δόσεων διοξειδίου του θείου και η διατήρηση του μηλικού οξέος (OIV, 2021).

1.6.Μείωση οξύτητας ερυθρών οίνων

Τα οργανικά οξέα συμβάλλουν ιδιαίτερα στην σύνθεση, την σταθερότητα και τις οργανοληπτικές ιδιότητες των οίνων. Οι ερυθροί οίνοι είναι σταθεροί σε χαμηλότερη οξύτητα από τους λευκούς, λόγω της παρουσίας των φαινολών που ενισχύουν την οξύτητα και συμβάλλουν στη διατήρηση της σταθερότητας κατά τη διάρκεια της παλαίωσης (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Η οξύτητα των οίνων προέρχεται από δύο πηγές. Η πρώτη είναι τα οργανικά οξέα, L-τρυγικό, L-μηλικό και κιτρικά οξέα, τα οποία εκχυλίζονται από τα σταφύλια στο γλεύκος κατά την συγκομιδή τους και την έκθλιψή τους. Δευτερευόντως, η συνδυαστική δράση των ζυμομυκήτων και των βακτηρίων κατά τη διάρκεια των ακόλουθων σταδίων της αλκοολικής ζύμωσης συμβάλλουν στον σχηματισμό των οξέων του οίνου. Το γαλακτικό οξύ παράγεται κυρίως από τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση, όμως μικρές ποσότητες μπορεί να παραχθούν και από την δράση των ζυμών (Volschenk et al., 2017).

Σε ένα γενικότερο πλαίσιο, είναι προτιμότερη η προσαρμογή της οξύτητας στο χυμό ή γλεύκος σε αντίθεση με τον έτοιμο οίνο. Είναι σημαντική η πρόβλεψη του pH και της ρυθμιστικής ικανότητας του οίνου, ώστε να είναι δυνατή η μελέτη των διαφόρων επιδράσεων της οξύτητας. Η μείωση της οξύτητας μπορεί να επιτευχθεί με διάφορους τρόπους όπως η ανάμειξη η χημική εξουδετέρωση, η χρήση ανθρακικών αλάτων ή κατά την διενέργεια μηλογαλακτικής ζύμωσης (Boulton, 1999).

2. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μηλογαλακτική ζύμωση ενδείκνυται για τους ερυθρούς οίνους λόγω των ευάρεστων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών που δημιουργούνται με το πέρας της. Το Αγιωργίτικο όντας μια από τις πολυδύναμες ερυθρές ποικιλίες παράγει οίνους με μέτρια προς υψηλή οξύτητα για αυτό η μηλογαλακτική ζύμωση δεν είναι πάντα αυτοσκοπός. Ως εναλλακτική λύση η οποία είναι δυνατόν να αναστείλει την δράση των γαλακτικών βακτηρίων, και συνεπώς την έναρξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης, είναι το φουμαρικό οξύ.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της επίδρασης του φουμαρικού οξέος στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του Αγιωργίτικου και στην πορεία της μηλογαλακτικής ζύμωσης.

Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν οι εξής μετρήσεις σε σταθεροποιημένο οίνο:

- ολική οξύτητα με ποτενσιομετρική μέθοδο, λόγω αδυναμίας αναγνώρισης τελικού σημείου ογκομέτρησης με δείκτη φαινολοφθαλεΐνη σε ερυθρό οίνο
- pH
- μηλικό οξύ με ενζυμικό αναλυτή Hyperlab Smart
- οξικό οξύ με ενζυμικό αναλυτή Hyperlab Smart
- χρωματικά χαρακτηριστικά μέσω $CieL^*a^*b^*$ με την βοήθεια του χρωματομετρητή «Colorimeter MINOLTA, model CT-310» ώστε να μελετηθεί η μεταβολή του χρώματος, η απόσταση μεταξύ δύο σημείων, η χρωματική ένταση και απόχρωση
- πολυμερισμένες ανθοκυάνες κατά Glories

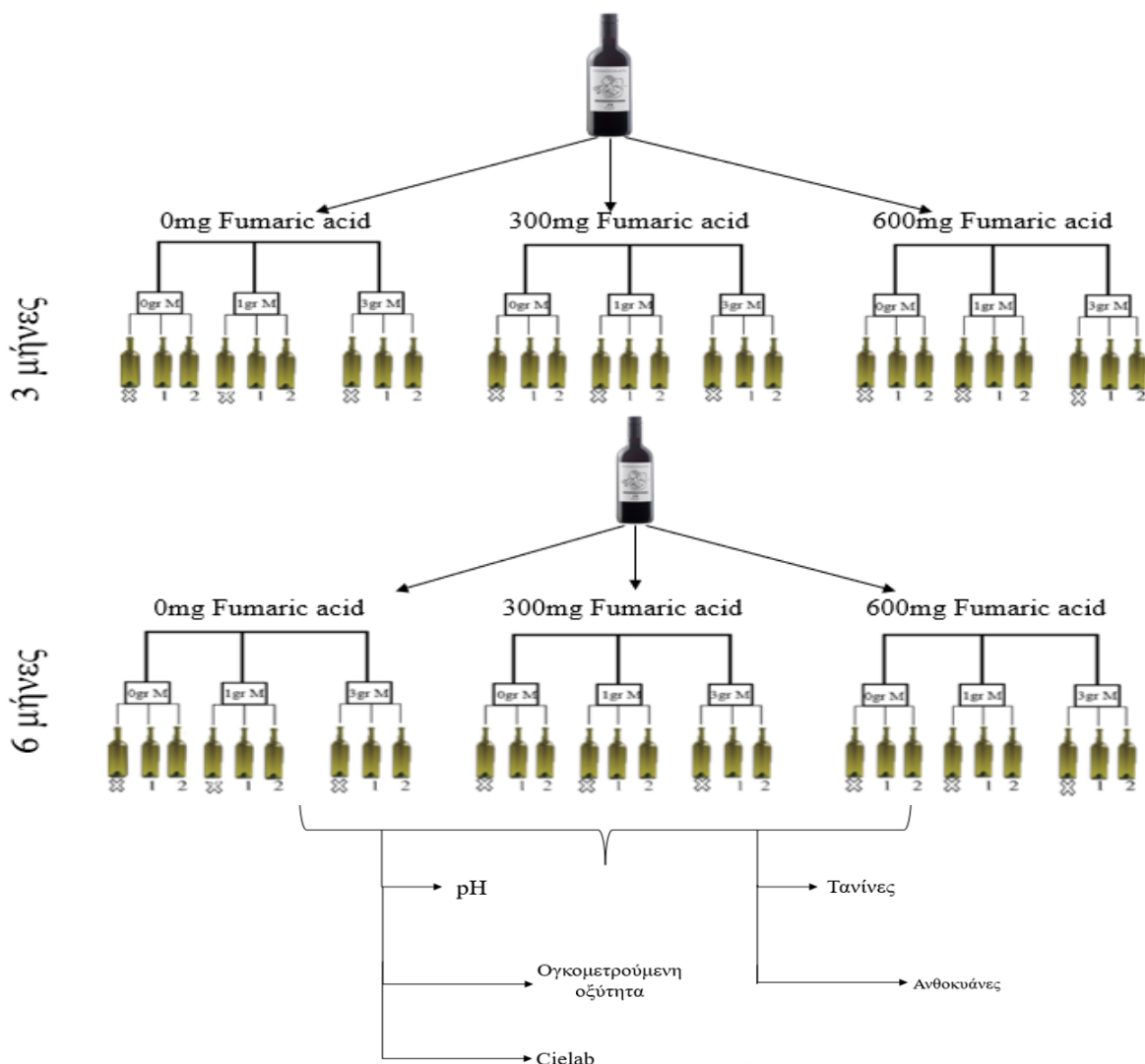
Οι μετρήσεις ξεκίνησαν τον χρόνο 0 και επαναλήφθηκαν στους 3 και στους 6 μήνες. Στον χρόνο 0 πραγματοποιήθηκαν οι προσθήκες του μηλικού (1 gr/L και 3 gr/L) και του φουμαρικού οξέος (300 mg/L και 600 mg/L) και των βακτηρίων *Oenococcus oeni* και *Lactobacillus plantarum*.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Για την εκπόνηση της πτυχιακής μελέτης χρησιμοποιήθηκαν 27 L σταθεροποιημένου οίνου από την ελληνική ποικιλία «Αγιωργίτικο» του 2022, προσφορά του κυρίου Ιωάννη Παρασκευόπουλου, του κτήματος «Gaia Wines», στον οποίο είχε ολοκληρωθεί η αλκοολική και η μηλογαλακτική ζύμωση.

Χρησιμοποιήθηκε καθαρό φουμαρικό οξύ (99,9%) σε σκόνη. Στα δείγματα προστέθηκαν διαφορετικές ποσότητες φουμαρικού οξέος (0, 300 και 600 mg/L) προκειμένου να διαπιστωθεί η ανασταλτική δράση έναντι της μηλογαλακτικής ζύμωσης, παρουσία αρχικής προσθήκης μηλικού οξέος (0, 1 και 3 gr/L), και δύο διαφορετικών βακτηρίων, *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus plantarum* (Εικόνα 4). Μετά τις μετρήσεις στους 3 μήνες πραγματοποιήθηκε επαναληπτικός εμβολιασμός με *Oenococcus oeni*.



Εικόνα 4: Σχεδιάγραμμα πειραματικής διαδικασίας

x: καμία προσθήκη βακτηρίου

1: προσθήκη *Oenococcus oeni*

2: προσθήκη *Lactobacillus plantarum*

3.2. ΣΤΕΛΕΧΗ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Για την μελέτη χρησιμοποιήθηκε εμπορικό στέλεχος *Oenococcus oeni* το οποίο ενυδατώθηκε σε νερό στους 37°C για 30 λεπτά. Από το διάλυμα 100 μl επωάζονται σε θρεπτικό υπόστρωμα mrs broth για 2 μέρες στους 28 °C.

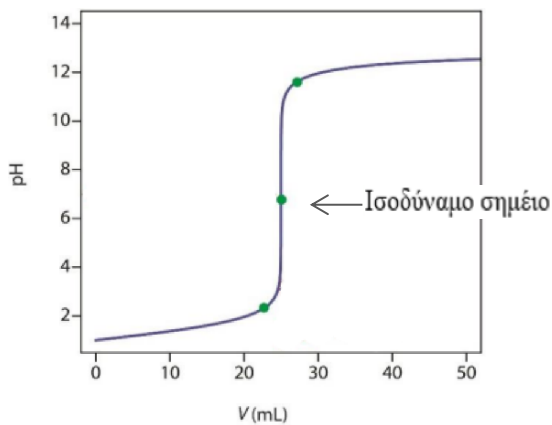
Εμπορικό στέλεχος *Lactobacillus plantarum* LALVIN VP41 το οποίο ενυδατώθηκε σε νερό στους 37 °C για 30 λεπτά. Από το διάλυμα 100 μl επωάζονται σε θρεπτικό υπόστρωμα mrs broth για 2 μέρες στους 28 °C.

3.3. ΟΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Οι οινολογικές αναλύσεις οι οποίες πρόκειται να αναφερθούν παρακάτω πραγματοποιήθηκαν στα δείγματα των 3 μηνών ομοίως και στα δείγματα των 6 μηνών εκτός του προσδιορισμού των τανινών, ο οποίος πραγματοποιήθηκε μόνο στα δείγματα των 6 μηνών. Στον χρόνο 0 λήφθηκαν μετρήσεις του pH και της ολικής οξύτητας.

3.3.1. Προσδιορισμός ολικής οξύτητας με ογκομέτρηση

Στο ισοδύναμο σημείο σε μια τιτλοδότηση, παρατηρείται πλήρης στοιχειομετρική αντίδραση του ογκομετρούμενου δείγματος με ορισμένη ποσότητα πρότυπου διαλύματος και επιτυγχάνεται ολική εξουδετέρωση του οξέος. Καθώς προσεγγίζεται το ισοδύναμο σημείο, ο παρονομαστής στην εξίσωση Henderson-Hasselbalch γίνεται ασήμαντα μικρός και το πηλίκο $[A^-]/[HA]$ αυξάνεται εκθετικά, με αποτέλεσμα το pH του διαλύματος να αυξάνεται γρήγορα και να πλησιάζει αυτό του τιτλοδοτεί. Το ακριβές ισοδύναμο σημείο βρίσκεται στο μέσο στην κλίση της απότομης αύξησης του pH, όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα. Η χρήση ενός μετρητή pH για την εύρεση του τελικού σημείου τιτλοδότησης ονομάζεται ποτενσιομετρική μέθοδος για τον προσδιορισμό της τιτλοδοτήσιμης οξύτητας. (Nielsen, 2017). Η ολική οξύτητα συνήθως εκφράζεται σε γραμμάρια ανά λίτρο τρυγικού οξέος (Darias-Martín et al., 2003).

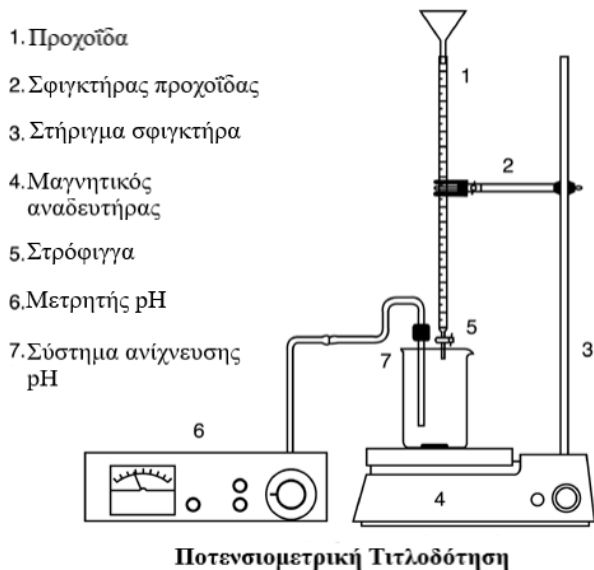


Εικόνα 5: Καμπύλη ογκομέτρησης

Διαδικασία προσδιορισμού ολικής οξύτητας με ποτενσιομετρική μέθοδο:

1. Σε ένα ποτήρι ζέσεως προστίθενται ποσότητα 10 ml οίνου από την οποία αφαιρείται το CO₂ για να μην επηρεάσει την τελική τιμή όντας όξινο οξείδιο.
2. Στο δείγμα προστίθενται επίσης 5 ml NaOH 0,1 N για επιτάχυνση της διαδικασίας.
3. Στην προχοΐδα συμπληρώνεται το πρότυπο διάλυμα NaOH 0,1 N
4. Στο ποτήρι ζέσεως τοποθετείται μαγνήτης και το δείγμα αναδεύεται καθ' όλη τη διάρκεια της τιτλοδότησης.
5. Παράλληλα στο ποτήρι ζέσεως τοποθετούνται το θερμομέτρο και το ηλεκτρόδιο του μετρητή pH.
6. Σταδιακά ογκομετρείται η ποσότητα οίνου με το πρότυπο διάλυμα έως ότου φτάσει η ογκομέτρηση στο τελικό σημείο, σε pH 7.
7. Καταγράφεται η κατανάλωση του NaOH και υπολογίζεται η οξύτητα σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{Ολική οξύτητα} = \frac{V_{\text{NaOH}}}{V_{\text{οίνου}}} \times C_{\text{NaOH}} \times \frac{Mr_{\text{τρυγικού οξέος}}}{2} = V_{\text{NaOH}} \times 0.75$$



Εικόνα 6: Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου για τον προσδιορισμό της ολικής οξύτητας

3.3.2. Προσδιορισμός pH

Η σημασία του pH ή αλλιώς ενεργώς οξύτητα, συχνά εμφανίζεται σαν μια αφηρημένη έννοια η οποία ορίζεται από τον δεκαδικό λογάριθμο την συγκέντρωσης των οξονίων σε ένα ηλεκτρικά αγώγιμο διάλυμα όπως το γλεύκος ή ο οίνος:

$$\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}^+]$$

Το pH δεν λαμβάνει μονάδες μέτρησης. Μετρείται με την χρήση pH μετρητή, εξοπλισμένου με γυάλινο ηλεκτρόδιο μετά από βαθμονόμηση με δύο ρυθμιστικά διαλύματα. Είναι ζωτικής σημασίας να ελέγχετε τη θερμοκρασία. Οι τιμές του pH του οίνου κυμαίνονται από 2,80 έως 4,00 (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Διαδικασία προσδιορισμού pH

1. Σε ποτήρι ζέσεως τοποθετήθηκε ποσότητα οίνου από τον οποίο αφαιρέθηκε CO₂ προκειμένου να μην επηρεάσει τις τιμές του pH ως όξινο οξείδιο.
2. Με τη βοήθεια μετρητή pH λήφθηκε η τιμή του pH ύστερα από την σταθεροποίησή του.

3.3.3. Προσδιορισμός χρωματικών χαρακτηριστικών κατά CieLab

Το χρώμα του οίνου είναι μία σημαντική ποιοτική παράμετρος, η οποία συμβάλλει στην πρώτη εντύπωση του καταναλωτή. Ο Διεθνής Οργανισμός Αμπέλου και Οίνου (OIV) συνιστά δύο μεθόδους

για την περιγραφή του χρώματος ένας εκ των οποίων είναι και ο προσδιορισμός των συντεταγμένων στο χρωματικό χώρο Ciel L*a*b*. Ο χρωματικός χώρος Ciel L*a*b* στοχεύει στην επίτευξη οπτικής ισαπόστασης. (Hensel et al., 2022). Σκοπός αυτής της φασματοφωτομετρικής μεθόδου είναι να αναπαριστά το χρώμα όπως το αντιλαμβάνεται ο άνθρωπος και να διαχωρίζει αντιληπτές διαφορές. Οι τιμές του CieLab, περιγράφουν τις συντεταγμένες ενός συγκεκριμένου χρώματος σε έναν τρισδιάστατο χώρο.

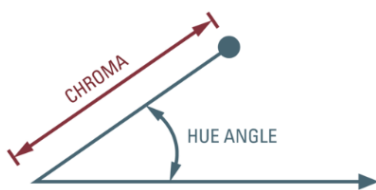
Υπάρχουν τρεις άξονες:

L*: φωτεινότητα (100=ανοιχτό προς 0=σκούρο)

a*: συνιστώσα κόκκινου χρώματος (για $a^* > 0$) /πράσινου χρώματος (για $a^* < 0$)

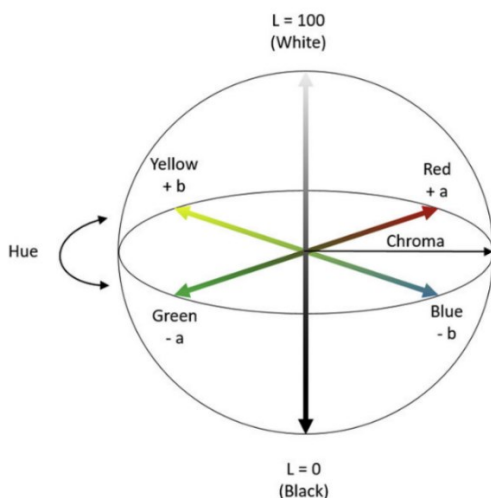
b*: συνιστώσα κίτρινου χρώματος (για $b^* > 0$) /μπλε χρώματος (για $b^* < 0$)

Οποιοδήποτε σημείο στο τρισδιάστατο χώρο μπορεί να περιγραφεί από τις συντεταγμένες L*, a* και b*. Το ίδιο σημείο μπορεί να περιγραφεί επίσης από την συντεταγμένη L*, την γωνία απόχρωσης (h) και την ένταση (C).



Εικόνα 7: σχηματική αναπαράσταση γωνία απόχρωσης και χρώματος

Η απόχρωση σχετίζεται με τα αντιληπτά χρώματα, κόκκινο, κίτρινο, πράσινο ή μπλε ή συνδυασμό δυο από αυτά. Το χρώμα είναι η χρωματική ένταση μιας επιφάνειας σε σύγκριση με το απόλυτο λευκό. (Measuring Wine Color)



Εικόνα 8: Απεικόνιση τρισδιάστατου χρωματικού χώρου

Συνολική χρωματομετρική διαφορά μεταξύ δύο οίνων

Ορίζεται ως η χρωματική διαφορά μεταξύ δύο σημείων και περιγράφεται από την μεταξύ τους απόσταση στον τρισδιάστατο χώρο. Συμβολίζεται ως ΔE^* και ορίζεται σύμφωνα με την ακόλουθη μαθηματική εξίσωση.

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

Διαδικασία προσδιορισμού χρωματικών χαρακτηριστικών κατά CIELab

1. Για τον προσδιορισμό των χρωματικών χαρακτηριστικών, χρησιμοποιήθηκε το Colorimeter MINOLTA, model CT-310.
2. Μικρή ποσότητα δείγματος οίνου από κάθε μπουκάλι μεταφέρεται με πιπέτα σε κυψελίδα χαλαζία 2 mm η οποία τοποθετείται στο χρωμόμετρο.
3. Πριν από κάθε δείγμα ξεπλένεται η κυψελίδα με απιονισμένο νερό, και έπειτα με το προς εξέταση δείγμα πριν την τελική μέτρηση.

3.3.4. Προσδιορισμός ανθοκυανών

Το φάσμα του νεαρού οίνου παρουσιάζει μια μέγιστη απορρόφηση στα 520 nm, η οποία οφείλεται στις ανθοκυάνες που βρίσκονται σε μορφή φλαβυλίου, και μια ελάχιστη απορρόφηση στα 420 nm. Η μέθοδος προσδιορισμού ανθοκυανών, βασίζεται στην ικανότητα των πολυφαινολών να απορροφούν σε διάφορα μήκη κύματος (Glories, 1984). Η μέθοδος η οποία εφαρμόστηκε στηρίχθηκε στην διαδικασία προσδιορισμού ανθοκυανών όπως περιγράφεται από τον Mercurio et al., 2007, με την μόνη διαφορά πως διατηρείται το εκάστοτε pH και ποσοστό αλκοόλης, του κάθε δείγματος. Τα δείγματα υποβάλλονται σε επεξεργασία με περίσσεια SO₂, περίσσεια ακεταλδεϋδης και υδροχλωρικό οξύ. Η απορρόφηση των οίνων μετριέται τέσσερα βήματα: αρχικά μετριέται ο οίνος στην αρχική του κατάσταση (420 nm και 520 nm), έπειτα μετριέται το δείγμα με προσθήκη SO₂, ώστε να προσδιοριστεί το χρώμα που προκύπτει από τις χρωστικές που δεν δεσμεύονται με το SO₂. Ακολουθεί η μέτρηση των δειγμάτων με την προσθήκη ακεταλδεϋδης, προκειμένου να αποδεσμευτούν οι ανθοκυάνες που είναι ενωμένες με το SO₂ και να εκτιμηθεί ο χρωματισμός τους στο pH του οίνου. Τέλος, προσδιορίζεται η απορρόφηση του δείγματος, αραιωμένου με HCl, με σκοπό να μετατραπεί το σύνολο των ανθοκυανών στην έγχρωμη μορφή τους.

Διαδικασία προσδιορισμού ανθοκυανών

1. Για κάθε δείγμα οίνου ετοιμάστηκαν 6 δοκιμαστικοί σωλήνες, εκ των οποίων 1 δοκιμαστικός σωλήνας οίνος μάρτυρας, 2 δείγματα στα οποία προστέθηκαν 10 ml οίνου και 150 μl διάλυμα SO₂, 2 δείγματα στα οποία προστέθηκαν επίσης 10 ml οίνου και 100 μl ακεταλδεϋδη και 1 δείγμα το οποίο περιείχε 0,1 ml οίνου και 10 ml HCl.

2. Τα δείγματα στα οποία είχε προστεθεί διάλυμα SO₂ και διάλυμα ακεταλδεΐδης παρέμειναν για 45' ενώ τα δείγματα με την προσθήκη HCl παρέμειναν για 3h πριν την μετρηθούν στο φασματοφωτόμετρο.
3. Μέτρηση των δειγμάτων στο φασματοφωτόμετρο.
4. Αρχικά μηδενίστηκε το όργανο με απιονισμένο νερό, χρησιμοποιώντας κυψελίδα χαλαζία 1 mm.
5. Έπειτα μετρήθηκαν τα δείγματα με την ίδια κυψελίδα, στο φάσμα του 520 nm.
6. Στο ίδιο φάσμα και μόνον μετρήθηκαν και τα δείγματα με προσθήκη HCl, χρησιμοποιώντας κυψελίδα πλαστική των 10 mm.
7. Τέλος, μετρήθηκαν τα δείγματα και στο φάσμα του 420nm ακολουθώντας το ίδιο πρωτόκολλο με την μέτρηση στο φάσμα του 520 nm.

3.3.6. Προσδιορισμός τανινών

Η ανάλυση Adams Harbertson ή BSA (Harbertson et al., 2003) είναι μια τροποποίηση της μεθόδου κατακρήμνισης που δημοσιεύτηκε από τους Hagerman και Butler το 1978. Η μέθοδος εφαρμόστηκε για πρώτη φορά με σκοπό την ανάλυση κρασιού από τους Adams & Harbertson (1999) και στη συνέχεια τροποποιήθηκε από τους Harbertson et al. (2002) και Harbertson et al. (2003). Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται εκφράζονται σε gr/L (+) ισοδυνάμων κατεχίνης (Wilhelmy et al., 2021).

Διαδικασία προσδιορισμού τανινών

1. Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται διαυγής οίνο ο οποίος αραιώνεται με νερό. Για 1 ml οίνου προσθέτουμε 50 ml νερό, αραιώση 1:50.
2. Σε κάθε δείγμα οίνου αντιστοιχούν δύο δοκιμαστικοί σωλήνες, στους οποίους προστίθενται από 4 ml αραιωμένου οίνου.
3. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται επίσης από 2 ml νερού και 6 ml πυκνού HCl 37%.
4. Ο ένας από τους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες εμβαπτίζεται σε υδατόλουτρο που βράζει για 45 λεπτά, ενώ ο άλλος παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου για τον ίδιο χρόνο.
5. Μετά το πέρας των 45 λεπτών, τα δείγματα ψύχονται και σε αυτά προτίθενται επιπλέον 95% αιθανόλη.
6. Ακολουθεί μέτρηση των απορροφήσεων των δειγμάτων στα 550 nm με κυψελίδα οπτικής διαδρομής 10 mm.
7. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σύμφωνα με τον τύπο:

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

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

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

όπου d_1 η απορρόφηση του δείγματος που παρέμεινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και d_2 η απορρόφηση του δείγματος που θερμάνθηκε.

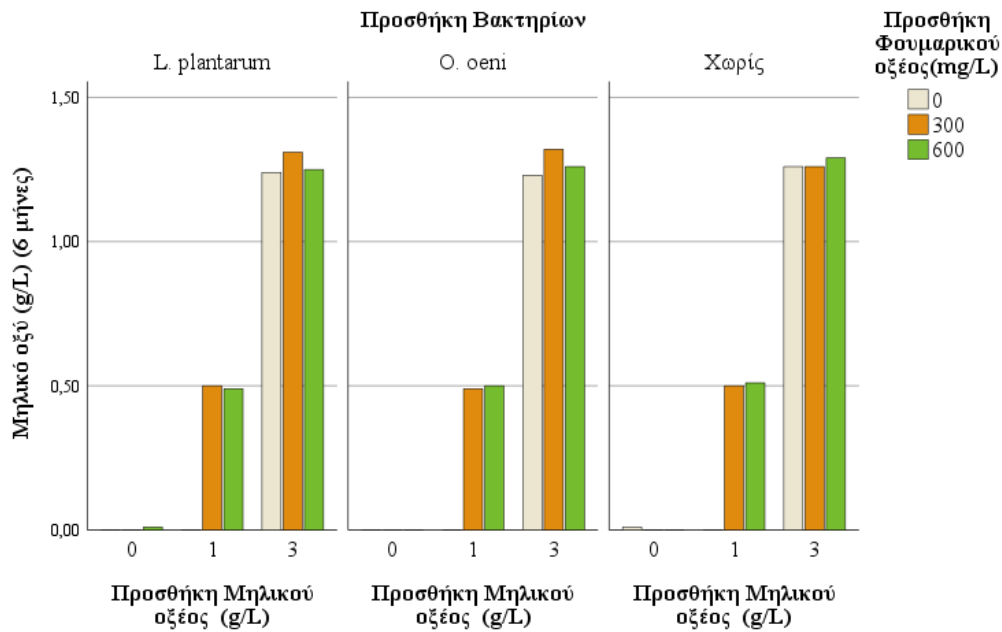
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα στατιστικών αναλύσεων SPSS v29 (29.0.1.0). Τα αποτελέσματα αναφέρονται στις μετρήσεις των δειγμάτων με διαφορετική προσθήκη φουμαρικού (0, 300 mg/L και 600 mg/L) και μηλικού οξέος (0, 1 gr/L και 3 gr/L). Τα δείγματα χωρίζονται επίσης και ως προς την παρουσία βακτηρίων ή όχι, καθώς πραγματοποιήθηκε προσθήκη *Oenococcus oeni* και *Lactobacillus plantarum*.

Πιο συγκεκριμένα, οι τιμές οι οποίες παρουσίασαν ενδιαφέρον ως προς την επίδραση του φουμαρικού οξέος, εμφανίζονται στα παρακάτω διαγράμματα. Αρχικά, αναλύεται η μεταβολή του μηλικού οξέος, ο προσδιορισμός του οποίου πραγματοποιήθηκε με τον ενζυμικό αναλυτή Hyperlab Smart, όπως και το οξικό οξύ που προσδιορίστηκε με την ίδια μέθοδο. Στη συνέχεια γίνεται αναφορά στην ογκομετρούμενη οξύτητα και στο pH και στην διαφορά που εμφανίζουν τα δείγματα σε σχέση με το δείγμα αναφοράς για κάθε μήνα μετρήσεων. Επιπλέον, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν την χρωματική εξέλιξη του οίνου, όπως τα χρωματικά χαρακτηριστικά a^* , b^* και L^* τα οποία προσδιορίστηκαν με την χρήση ενός μετρητή χρώματός, και η διαφορά ΔE μεταξύ δύο σημείων που εξαρτάται από τις τιμές των χρωματικών χαρακτηριστικών. Τέλος, αναλύεται η μεταβολή των πολυμερών ανθοκυανών η συγκέντρωση των οποίων μετρήθηκε με την χρήση φασματοφωτομέτρου.

4.1. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στη μεταβολή της συγκέντρωσης του μηλικού οξέος

Σε όλα τα διαγράμματα, εκτός από το **Διάγραμμα 1** τοποθετήθηκε τυπική απόκλιση. Όπως προαναφέρθηκε στα δείγματα προστέθηκαν δύο διαφορετικά στελέχη βακτηρίων (*Oenococcus oeni*, *Lactobacillus plantarum*), στα οποία δεν παρατηρήθηκαν ουσιαστικές διαφορές κατά την διάρκεια των μετρήσεων στους 3 και στους 6 μήνες. Ως εκ τούτου, ορίζεται η τυπική απόκλιση με σκοπό την επισήμανση του μέσου όρου για διαφορετικές τιμές του ίδιου δείγματος.



Διάγραμμα 1: Επίδραση του φουμαρικού οξέος και της προσθήκης ή μη βακτηρίων στην τελική συγκέντρωση του μηλικού οξέος στους 6 μήνες

Ο προσδιορισμός του μηλικού οξέος πραγματοποιήθηκε με ενζυμικό αναλυτή Hyperlab Smart, η οποία μέθοδος είναι γραμμική μέχρι 1,25 gr/L. Το σφάλμα της μεθόδου για τους ερυθρούς οίνους ανέρχεται 0,004 gr/L.

Οι συνολικές μεταβολές του μηλικού οξέος στους 6 μήνες, είναι λογικές. Τα γαλακτικά βακτήρια καταναλώνουν μόνο το L-μηλικό οξύ και όχι το D-μηλικό οξύ. Στο πείραμα, προστέθηκαν διαφορετικές ποσότητες μηλικού οξέος (0, 1 και 3 gr/L) διαλύματος το οποίο περιείχε σε ίσες ποσότητες L-μηλικού οξέος και D-μηλικού οξέος. Η μέτρηση του μηλικού οξέος πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια ενζυμικού αναλυτή Hyperlab Smart, μέσω του οποίου προσδιορίζεται μόνο το L-μηλικό οξύ. Επομένως κατά την μέτρηση του, σε περίπτωση που δεν έχει καταναλωθεί καθόλου το μηλικό οξύ, αναμένεται να παρατηρηθεί η μισή ποσότητα από την αρχική προστιθέμενη δόση. Στους 6 μήνες παρατηρήθηκε μείωση του μηλικού οξέος 0,5 gr/L για προσθήκη 1 gr/L μηλικού οξέος και 1,8 gr/L για προσθήκη μηλικού οξέος 3 gr/L.

Στα δείγματα όπου είχε προστεθεί 1 gr/L μηλικού οξέος και δεν είχε πραγματοποιηθεί καμία προσθήκη φουμαρικού οξέος, η τελική συγκέντρωση του μηλικού οξέος φαίνεται να είναι κάτω από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου.

Αυτή η μεταβολή κρίνεται αναμενόμενη, καθώς η απουσία φουμαρικού οξέος, το οποίο σύμφωνα με την βιβλιογραφία φαίνεται να αναστέλλει την δράση των γαλακτικών βακτηρίων (Morata et al., 2020), δεν τα απέτρεψε από το να καταναλώσουν το υπάρχον μηλικό οξύ και να πραγματοποιήσουν την μηλογαλακτική ζύμωση. Επομένως, ανεξάρτητα από την προσθήκη βακτηρίων, παρατηρήθηκε πως έδρασαν παράλληλα και τα βακτήρια του οίνου, στην περίπτωση που δεν υπήρξε προσθήκη τους.

Άρα στην περίπτωση που προστέθηκαν βακτήρια κατάφεραν να μετατρέψουν το μηλικό οξύ σε γαλακτικό οξύ, ενώ στην περίπτωση την οποία δεν προστέθηκαν βακτηρία πιθανόν να έδρασαν τα γαλακτικά βακτήρια που υπήρχαν ήδη στον οίνο.

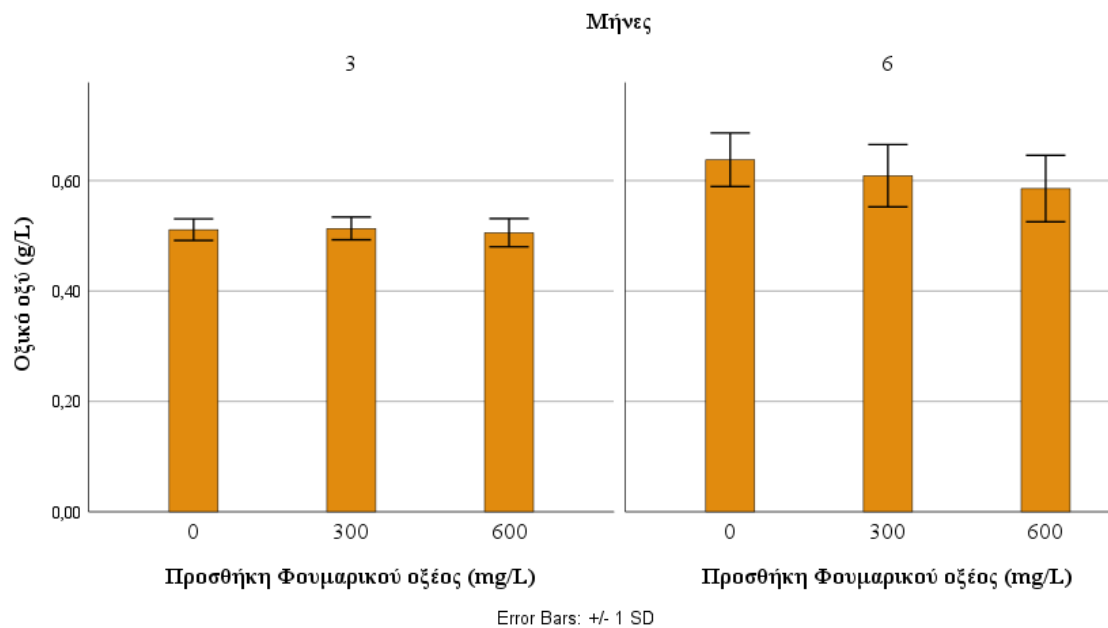
Το pH, το θειώδες και η αλκοόλη επηρεάζουν την πορεία της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Επομένως η μηλογαλακτική ζύμωση ήταν δύσκολο να πραγματοποιηθεί καθώς το χαμηλό pH, ύστερα από την προσθήκη των οξέων, η αρχική ποσότητα θειώδους και το ποσοστό αλκοόλης, δημιούργησαν ακατάλληλο περιβάλλον για την ανάπτυξη και δράση των γαλακτικών βακτηρίων, παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη τους.

Παρ' όλα αυτά λαμβάνεται υπ' όψιν και η περίπτωση αναλυτικού λάθους, καθώς σε συνάρτηση με τις επόμενες μετρήσεις δεν παρατηρούνται δεδομένα τα οποία να υποδεικνύουν την μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό.

Θεωρείται λοιπόν ότι δεν πραγματοποιήθηκε μηλογαλακτική ζύμωση σε κανένα δείγμα ίσως μόνο σ αυτές περιπτώσεις:

- στα δείγματα που πραγματοποιήθηκε προσθήκη *Lactobacillus plantarum* χωρίς προσθήκη μηλικού και φουμαρικού οξέος, χωρίς προσθήκη μηλικού και 300 mg/L φουμαρικού οξέος, χωρίς προσθήκη μηλικού και 600 mg/L φουμαρικού οξέος, 1 gr/L μηλικού οξέος και χωρίς προσθήκη φουμαρικού οξέος
- στα δείγματα με προσθήκη *Oenococcus oeni* χωρίς προσθήκη μηλικού και φουμαρικού οξέος, χωρίς προσθήκη μηλικού και 300 mg/L φουμαρικού οξέος, χωρίς προσθήκη μηλικού και 600 mg/L φουμαρικού οξέος, 1 gr/L μηλικού και χωρίς προσθήκη φουμαρικού οξέος
- στα δείγματα που δεν πραγματοποιήθηκε προσθήκη βακτηρίου χωρίς προσθήκη μηλικού οξέος και φουμαρικού οξέος, χωρίς προσθήκη μηλικού και 300 mg/L φουμαρικού οξέος, χωρίς προσθήκη μηλικού και 600 mg/L φουμαρικού οξέος, 1 gr/L μηλικού και χωρίς προσθήκη φουμαρικού οξέος

4.2. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην τελική συγκέντρωση του οξικού οξέος



Διάγραμμα 2: Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην παραγόμενη ποσότητα οξικού οξέος

Ο προσδιορισμός του οξικού οξέος πραγματοποιήθηκε με ενζυμικό αναλυτή Hyperlab Smart, η οποία μέθοδος είναι γραμμική μέχρι 2 gr/L. Το σφάλμα της μεθόδου για τους ερυθρούς οίνους ανέρχεται στα 0,004 gr/L.

Η σπουδαιότητα του οξικού οξέος έγκειται στο γεγονός πως αποτελεί ένα από τα σπουδαιότερα πτητικά οξέα που παράγεται τόσο κατά την αλκοολική όσο και κατά την μηλογαλακτική ζύμωση. Συνήθως παρατηρείται αύξηση του οξικού οξέος της τάξεως του 0,1-0,2 gr/L, η οποία σχετίζεται με την μηλογαλακτική ζύμωση, και για τον λόγο αυτό είναι σημαντικός ο προσδιορισμός του ώστε να διαπιστωθεί εάν τα γαλακτικά βακτήρια κατάφεραν να μεταβολίσουν το μηλικό οξύ και να παράξουν γαλακτικό οξύ και CO₂ (E. Lerm, 2010).

Συνολικά η συγκέντρωση του οξικού οξέος αυξήθηκε με την αύξηση του χρόνου. Οι τιμές του οξικού οξέος στους 3 μήνες δεν παρουσίασαν ιδιαίτερη μεταβολή, εκτός από τα δείγματα με προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού στα οποία εμφανίζεται μέση μείωση 0,02 gr/L.

Στους 6 μήνες παρατηρούμε αύξηση της συγκέντρωσης του οξικού οξέος σε σχέση με τους 3 μήνες, όμως παρατηρούμε μείωση των τιμών καθώς αυξάνει η προστιθέμενη ποσότητα του φουμαρικού οξέος. Πιο συγκεκριμένα, σημειώθηκε αύξηση κατά μέσο όρο 0,15 gr/L στα δείγματα χωρίς προσθήκη φουμαρικού οξέος, 0,11 gr/L στα δείγματα με προσθήκη 300 mg/L φουμαρικού οξέος και 0,09 gr/L στα δείγματα με προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

Συνολικά για την παραπάνω χρονική στιγμή παρατηρήθηκε πως η πτητική οξύτητα αυξήθηκε καθώς μειωνόταν η αρχική προσθήκη φουμαρικού οξέος.

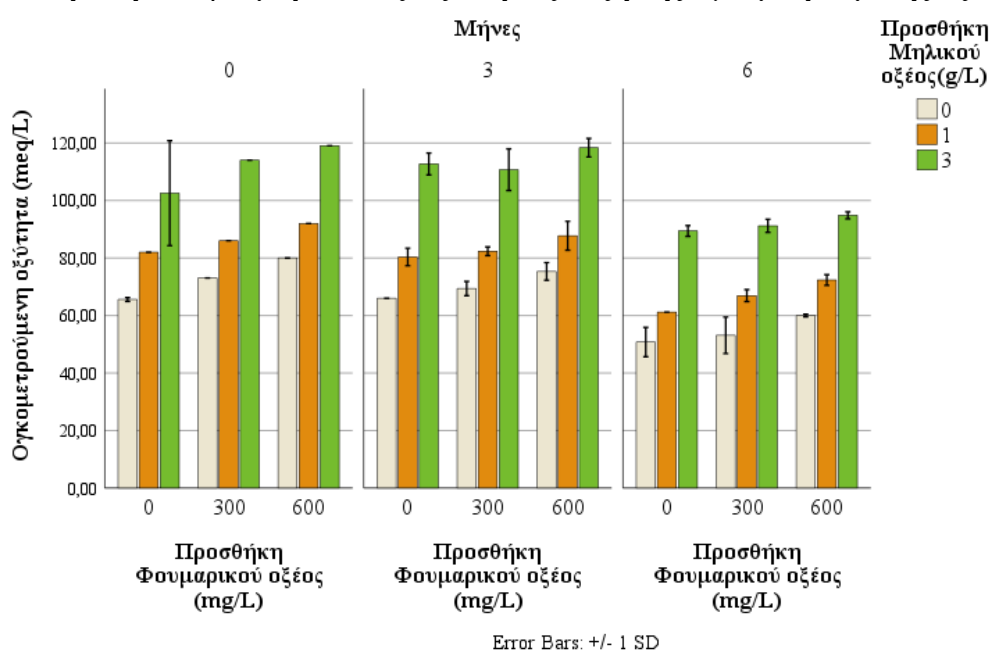
Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της μέτρησης του μηλικού οξέος στον οίνο, με αυτά του οξικού οξέος, επισημαίνεται, πως στα δείγματα που φαίνεται να πραγματοποιήθηκε μηλογαλακτική ζύμωση, δεν παράχθηκε οξικό οξύ ενώ δεν υπήρχε καμία διαφοροποίηση όσον αφορά στις προσθήκες βακτηρίων.

Στους 6 μήνες, αυξάνοντας την προσθήκη φουμαρικού οξέος, οι τιμές του οξικού οξέος είναι μειωμένες, πιθανόν λόγω της αντιβακτηριακής δράσης του πρώτου με αποτέλεσμα τα γαλακτικά βακτήρια να μην έχουν την δυνατότητα να δράσουν, ώστε να μετατρέψουν το μηλικό οξύ σε γαλακτικό.

Λαμβάνοντας υπ' όψιν το **Διάγραμμα 1** και τις μετρήσεις του μηλικού οξέος όπου δεν έχει πραγματοποιηθεί μηλογαλακτική ζύμωση στα δείγματα, η αύξηση του οξικού οξέος πιθανόν να οφείλεται σε αναλυτικό σφάλμα.

Επομένως και από τις τιμές του οξικού οξέος επιβεβαιώνεται η μη πραγματοποίηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης, και η επιτυχία του φουμαρικού οξέος να εμποδίσει την δράση των βακτηρίων.

4.3. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην εξέλιξη της ογκομετρούμενης οξύτητας



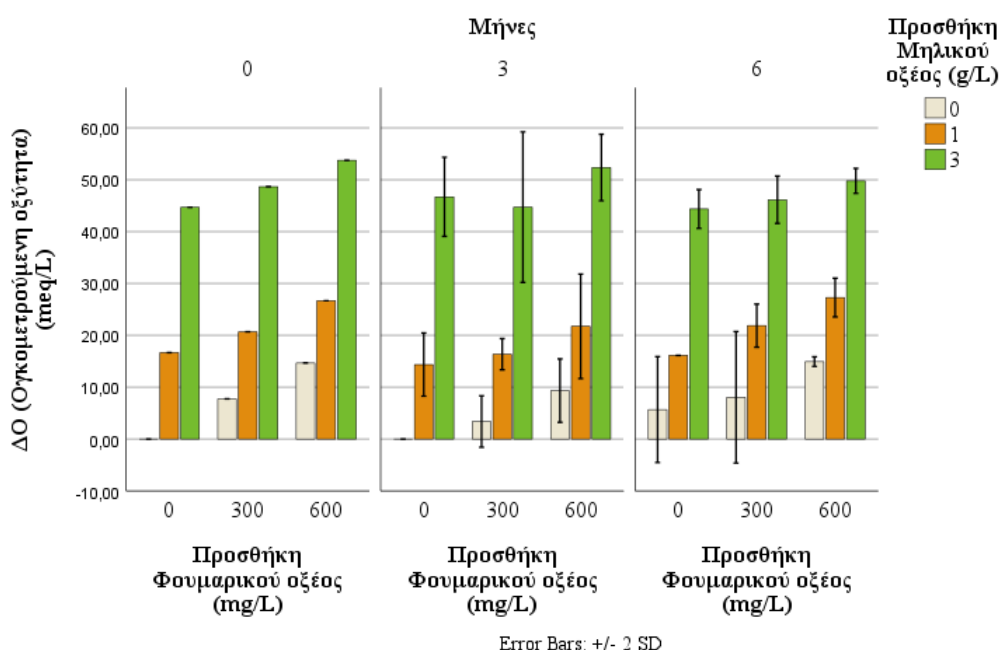
Διάγραμμα 3: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη της ογκομετρούμενης οξύτητας

Οι τιμές στην ογκομετρούμενη οξύτητα εμφάνισαν ελάχιστη μείωση από τον χρόνο 0 στους 3 μήνες, παρ' όλο που αναμένεται η μείωση της 1-2 gr/L, με το πέρασμα του χρόνου (Racine, 2015). Το pH παράλληλα παρουσιάστηκε μικρή αύξηση, όπως θα αναλυθεί παρακάτω, επομένως ίσως να μην υπήρχε το κατάλληλο περιβάλλον για να δράσουν τα βακτήρια ή να απαιτούνταν μεγαλύτερος μικροβιακός πληθυσμός ώστε να είναι δυνατή η μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ για περαιτέρω μείωση της ολικής οξύτητας.

Για κάθε mole L-μηλικού οξέος που μετατρέπεται στο αντίστοιχο L-γαλακτικό οξύ μέσω της μηλογαλακτικής προκαλείται στοιχειομετρική απώλεια μιας καρβοξυλικής ομάδας και αντίστοιχη μείωση του της οξύτητας, γεγονός που επηρεάζεται από την αρχική συγκέντρωση του μηλικού οξέος και την πραγματική αλλαγή της οξύτητας και του pH. Γενικά, η συνολική μείωση της οξύτητας μετά τη λήξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης ποικίλει από 1 μέχρι 3 gr/L ή 13,33 μέχρι 40 meq/L (Claude Racine, 2015).

Οι Gancel et al., 2022, σε αντίστοιχο πείραμα παρατήρησαν ότι και το φουμαρικό και το μηλικό οξύ προκάλεσαν αύξηση της ογκομετρούμενης οξύτητας με το μηλικό οξύ να προκαλεί την μεγαλύτερη αύξηση, από μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν ύστερα από 70 ημέρες. Μετά το πέρας των 70 ημερών η οξύτητα σε σχέση με τα αρχικά δείγματα, μειώθηκε σημαντικά στα δείγματα με προσθήκη μηλικού οξέος, ενώ η προσθήκη φουμαρικού οξέος δεν φάνηκε να επιδράει σημαντικά στην ογκομετρούμενη οξύτητας. Οι ίδιες μεταβολές παρατηρήθηκαν και στο συγκεκριμένο πείραμα σύμφωνα με το **Διάγραμμα 3**, οι οποίες θα σχολιαστούν αναλυτικά αμέσως παρακάτω.

Στους 3 μήνες η ποσότητα του φουμαρικού οξέος ήταν επαρκής ώστε να εμποδίσει την μηλογαλακτική ζύμωση. Παρ' όλα αυτά, ίσως η εναπομένουσα ποσότητα μηλικού οξέος καταναλώθηκε σε ελάχιστο βαθμό, τέτοιο ώστε να επέλθει μείωση της ολικής οξύτητας. Η επιπλέον προσθήκη *Oenococcus oeni* σε δεύτερο χρόνο, ίσως είναι ένας πιθανός λόγος για την μείωση της οξύτητας, 10 meq/L κατά μέσο όρο, από τους 3 στους 6 μήνες, αφού μεγαλύτερος μικροβιακός πληθυσμός για την ίδια αρχική ποσότητα δείγματος ήταν διαθέσιμος ώστε να μετατρέψει μικρή ποσότητα μηλικού οξέος, παρά την ταυτόχρονη παρουσία φουμαρικού οξέος.



Διάγραμμα 4: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη της ογκομετρούμενης οξύτητας μεταξύ των δειγμάτων χωρίς καμία προσθήκη και όλων των υπολοίπων δειγμάτων, στους 0, στους 3 και στους 6 μήνες

Στο **Διάγραμμα 4**, παρουσιάζεται η διαφορά της ογκομετρούμενης οξύτητας του δείγματος αναφοράς, δηλαδή του δείγματος στο οποίο δεν έχει προηγηθεί καμία προσθήκη και των δειγμάτων τα οποία περιέχουν διαφορετικές ποσότητες φουμαρικού και μηλικού οξέος και βακτηρίων ή μη, στον χρόνο 0 στους 3 και στους 6 μήνες. Για κάθε χρονική στιγμή, παρατηρείται πως όσο περισσότερο αυξάνει η ποσότητα των οξέων αυξάνεται και η ολική οξύτητα, γεγονός το οποίο αναμένεται αφού για αύξηση της οξύτητας προκαλείται μείωση του pH όπως και παρατηρείται.

Στο συγκεκριμένο διάγραμμα είναι πιο ευδιάκριτη η μείωση της οξύτητας σε σχέση με τον χρόνο και τις αυξανόμενες προσθήκες των οξέων.

Για τον χρόνο 0 προσθέτοντας 1gr/L μηλικού οξέος η ολική οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 21 meq/L ενώ για προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος η οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 49,3 meq/L. Από την άλλη, η προσθήκη 300 mg/L και 600 mg/L φουμαρικού οξέος αυξήθηκε κατά 7 meq/L και 15 meq/L αντίστοιχα.

Στους 3 μήνες προσθέτοντας 1 gr/L μηλικού οξέος η ολική οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 18,3 meq/L ενώ για προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος η οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 47,6 meq/L. Με την προσθήκη φουμαρικού οξέος 300 mg/L και 600 mg/L, η ογκομετρούμενη οξύτητα αυξήθηκε κατά 5 meq/L και 9 meq/L αντίστοιχα.

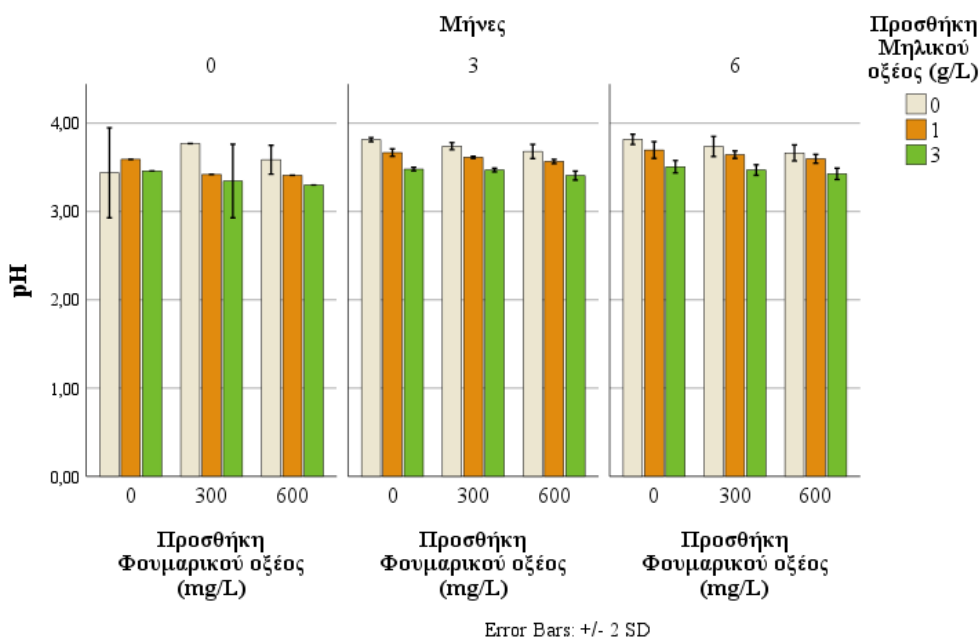
Στους 6 μήνες προσθέτοντας 1 gr/L μηλικού οξέος η ολική οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 21,6 meq/L ενώ για προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος η οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 47 meq/L. Με την προσθήκη φουμαρικού οξέος 300 mg/L και 600 mg/L, η ογκομετρούμενη οξύτητα αυξήθηκε κατά 7,5 meq/L και 14 meq/L αντίστοιχα.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα, επισημαίνεται πως το φουμαρικό οξύ δεν επιδράει ιδιαίτερα στην μεταβολή της οξύτητας, καθώς με την προσθήκη 0,3 gr/L φουμαρικού οξέος η ογκομετρούμενη οξύτητα αυξάνεται 7 meq/L, 5 meq/L και 7,5 meq/L για τον χρόνο 0, τους 3 και 6 μήνες αντίστοιχα, ενώ για προσθήκη φουμαρικού οξέος 0,6 gr/L η οξύτητα αυξήθηκε 15 meq/L, 9 meq/L και 14 meq/L. Από την άλλη το μηλικό οξύ για προσθήκη 1 gr/L αυξάνει, για τις ίδιες χρονικές στιγμές την οξύτητα κατά μέσο όρο 21 meq/L, 18,3 meq/L και 21,6 meq/L και για προσθήκη 3 gr/L αυξήθηκε η οξύτητα κατά μέσο όρο 49,3 meq/L, 47,6 meq/L και 47 meq/L.

Επομένως, για τις προσθήκες 0,3 gr/L και 0,6 gr/L φουμαρικού οξέος και 1 gr/L και 3 gr/L μηλικού οξέος, το μηλικό οξύ επιδράει περισσότερο στην μεταβολή της οξύτητας καθώς προστέθηκε σε μεγαλύτερη ποσότητα.

Όσον αφορά τα δείγματα στα οποία φάνηκε μέσα από τις μετρήσεις του μηλικού οξέος να πραγματοποιήθηκε μηλογαλακτική ζύμωση, δεν παρατηρήθηκε η αναμενόμενη μείωση της ογκομετρούμενης οξύτητας, επομένως επιβεβαιώνεται πως δεν πραγματοποιήθηκε μηλογαλακτική ζύμωση.

4.4. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην εξέλιξη του pH



Διάγραμμα 5: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη του pH

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, αποτέλεσμα της μηλογαλακτικής ζύμωσης και άρα της μείωσης της οξύτητας είναι η αύξηση του pH από 0,1 μέχρι 0,3 μονάδες (Racine, 2015). Στην παρούσα εργασία δεν εντοπίστηκε η ανάλογη αύξηση του pH.

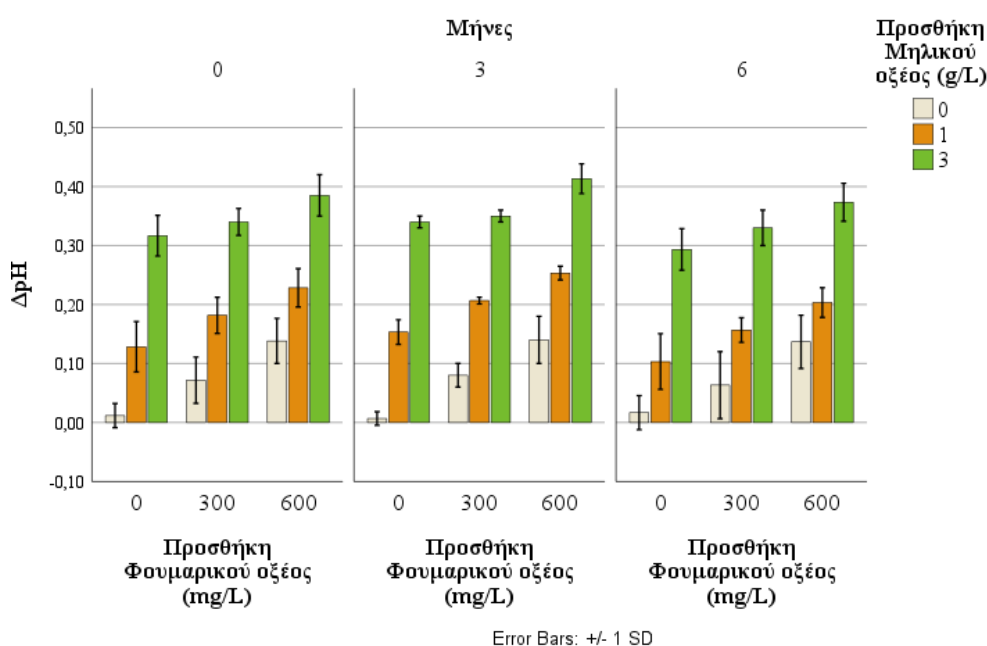
Στους 0, 3 και 6 μήνες αντίστοιχα παρουσία μηλικού οξέος παρατηρήθηκε πως μειώνεται περισσότερο το pH, από ότι μειώνεται παρουσία φουμαρικού οξέος.

Η προσθήκη φουμαρικού οξέος 300 mg/L, προκάλεσε ελαφρά αύξηση των τιμών του pH από τον χρόνο 0 στους 3 μήνες κατά 0,1 μονάδες, ενώ για προσθήκη 600 mg/L προκλήθηκε αύξηση κατά 0,2 μονάδες. Αντίθετα, από τους 3 στους 6 μήνες η τιμή του pH μειώθηκε κατά 0,1 μονάδες τόσο για προσθήκη 300 mg/L όσο και για 600 mg/L.

Η προσθήκη 1 gr/L μηλικού οξέος προκάλεσε μείωση του pH κατά 0,16 μονάδες από τον χρόνο 0 στους 3 μήνες, ενώ από τους 3 μήνες στους 6 παρατηρήθηκε μέση μείωση 0,04 μονάδες.

Η προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος προκάλεσε μέση μείωση 0,10 μονάδες από τον χρόνο 0 στους 3 μήνες, ενώ από τους 3 στους 6 μήνες προκλήθηκε μέση αύξηση 0,01 μονάδες.

Η μεταβολή του pH, λαμβάνοντας υπ' όψιν και τις τιμές της ογκομετρούμενης οξύτητας θεωρούνται λογικές για τον χρόνο 0 και τους 3 μήνες καθώς τα δύο μεγέθη είναι αντιστρόφως ανάλογα. Για τον ίδιο λόγο, όμως οι τιμές του pH στους 6 μήνες αναμένεται να αυξηθούν και όχι να μειωθούν ή να μείνουν στάσιμες, συνεπώς επιβεβαιώνεται η ύπαρξη αναλυτικού λάθους κατά την διαδικασία της ογκομέτρησης.



Διάγραμμα 6: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη του pH μεταξύ των δειγμάτων χωρίς καμία προσθήκη και όλων των υπολοίπων δειγμάτων, στους 0, στους 3 και στους 6 μήνες

Η διαφορά αυξάνεται στα δείγματα που έχει προηγηθεί προσθήκη οξέων σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, δηλαδή τα δείγματα στα οποία δεν έχει προηγηθεί καμία προσθήκη.

Με την προσθήκη 1 gr/L μηλικού οξέος το pH αυξήθηκε κατά 0,02 μονάδες από τον χρόνο 0 στους 3 μήνες, ενώ από τους 3 μήνες στους 6, η τιμή του μειώθηκε κατά 0,05 μονάδες.

Η προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος αυξήθηκε την τιμή του pH κατά 0,04 μονάδες από τον χρόνο 0 στους 3 μήνες, ενώ από τους 3 μήνες στους 6 το pH μειώθηκε κατά 0,06 μονάδες.

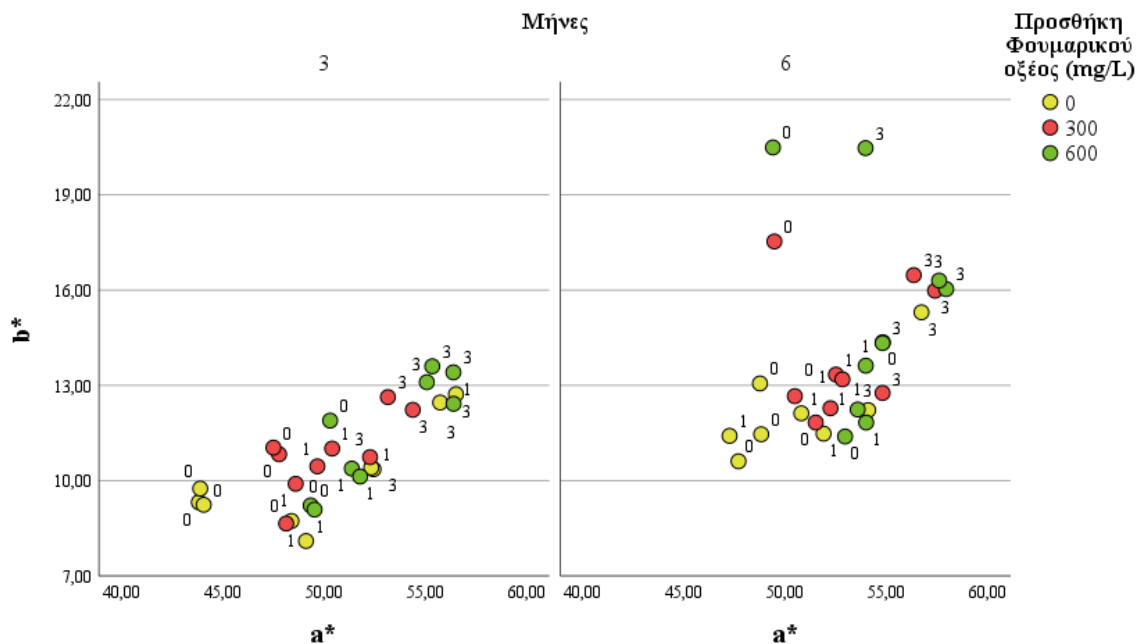
Όσον αφορά την προσθήκη φουμαρικού οξέος, παρατηρείται πως για 300 mg/L το pH από τον χρόνο 0 αυξάνεται 0,01 μονάδες, ενώ από τους 3 στους 6 μήνες το pH μειώνεται κατά 0,01 μονάδες.

Τέλος, η προσθήκη 600 mg/L δεν προκαλεί οποιαδήποτε μεταβολή του pH σε καμία χρονική στιγμή.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της ογκομετρούμενη οξύτητας και του pH, φαίνεται πως το μηλικό οξύ επηρεάζει περισσότερο την αύξηση ή μείωση της ογκομετρούμενη οξύτητας και του pH για κάθε χρονική στιγμή. Όσο αυξάνεται η διαφορά του κάθε δείγματος σε σχέση με το δείγμα αναφοράς τόσο μειώνεται το pH του.

Σημειώνεται επιπλέον, η περίπτωση εργαστηριακού λάθους καθώς, στους 6 μήνες παρατηρήθηκε μείωση της ογκομετρούμενης οξύτητα με ταυτόχρονη μείωση του pH. Δεδομένου πως τα δύο αυτά μεγέθη είναι αντιστρόφως ανάλογα, αναμένεται αύξηση του pH στους 6 μήνες. Κατά την μέτρηση της ογκομετρούμενης οξύτητας μέσω της ποτενσιομετρικής μεθόδου, ίσως να προέκυψε σφάλμα κατά την τιτλοδότηση του πρότυπου διαλύματος NaOH.

4.5. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στην εξέλιξη του χρώματος του οίνου



Διάγραμμα 7: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη των χρωματικών χαρακτηριστικών a^* και b^* στους 3 και στους 6 μήνες

Για την μεταβολή του χρώματος τα δείγματα μετρήθηκαν με την βοήθεια του μετρητή χρώματος «Colorimeter MINOLTA, model CT-310». Τα κύρια χρωματικά χαρακτηριστικά τα οποία είναι δυνατόν να αποδώσουν ενδιαφέροντα αποτελέσματα, είναι οι χρωματικές μεταβλητές a^* b^* . Για θετικές τιμές του a^* το χρώμα του δείγματος εμφανίζεται κόκκινο ενώ οι θετικές του b^* προσδιορίζουν το κίτρινο χρώμα.

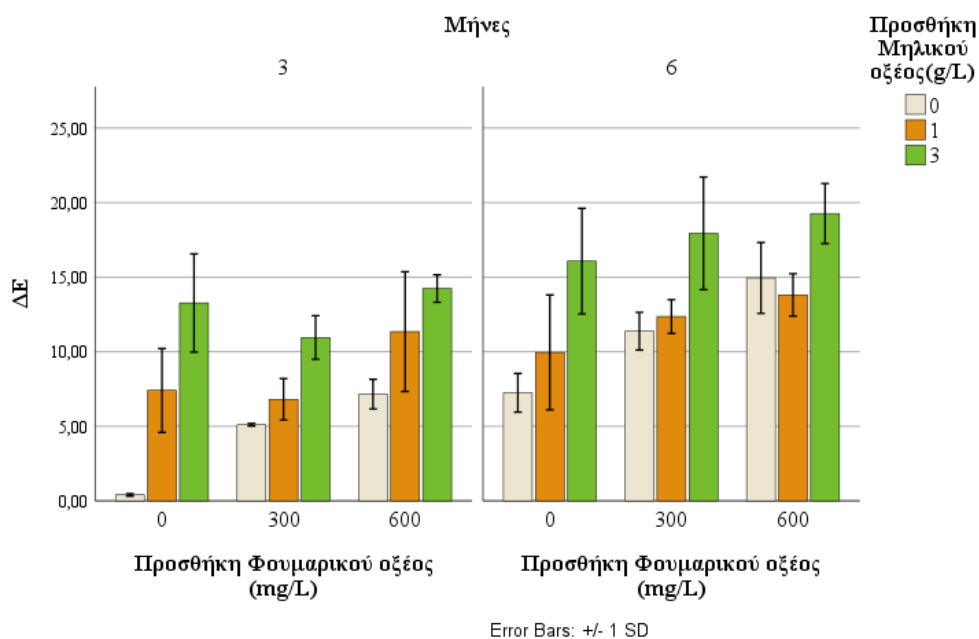
Στο **Διάγραμμα 7** εμφανίζονται τα δείγματα τα οποία μετρήθηκαν στους 3 και στους 6 μήνες. Η προσθήκη φουμαρικού οξέος διαχωρίζεται με βάση το χρώμα, ενώ η προσθήκη μηλικού οξέος υποδεικνύεται σε κάθε σημείο με τους αριθμούς 0, 1 και 3 για προσθήκη 0 gr/L, 1 gr/L και 3 gr/L αντίστοιχα.

Τα δείγματα στους 6 μήνες εμφανίζονται πιο κόκκινα, ιδιαίτερα αυτά στα οποία έχει προηγηθεί προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος. Στους 6 μήνες αυξήθηκε επίσης το κίτρινο χρώμα, όσο αυξάνεται η προσθήκη φουμαρικού και μηλικού οξέος. Η συγκεκριμένη μεταβολή είναι αναμενόμενη σύμφωνα με τις παραπάνω τιμές του pH, καθώς με την μείωσή εμφανίζονται οι ανθοκυάνες σε μορφή κατιόντος φλαβυλίου, και είναι εκείνες που οφείλονται για το κόκκινο χρώμα του οίνου.

Σύμφωνα με τον Τσακίρης, 2017 το χρώμα των ερυθρών οίνων μειώνεται μετά την μηλογαλακτική ζύμωση λόγω αύξησης του pH κατά 0,2-0,3 μονάδες, σε αντίθεση με την ένταση η οποία μειώνεται. Στα δείγματα δεν πραγματοποιήθηκε μηλογαλακτική ζύμωση, επομένως ως απόρροια της μείωσης του pH στους 6 μήνες, αυξήθηκε και το χρώμα του οίνου.

Οι (Morata et al., 2020) απέδειξαν πως το φουμαρικό οξύ δεν επηρεάζει το χρώμα του οίνου.

Στην παρούσα εργασία παρατηρείται πως τόσο το φουμαρικό όσο και το μηλικό οξύ επηρεάζουν εξίσου το χρώμα του οίνου. Από τους 3 στους 6 μήνες τα δείγματα που περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες 3 gr/L ή/και 600 mg/L, εμφανίζονται ευδιάκριτα μετατοπισμένα προς το κόκκινο και το κίτρινο χρώμα.



Διάγραμμα 8: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην συνολική χρωματομετρική διαφορά μεταξύ δύο σημείων στον τρισδιάστατο χώρο του CieLab

Το **Διάγραμμα 8** αναφέρεται στην διαφορά του χρώματος μεταξύ δύο σημείων, εκ των οποίων το ένα είναι σταθερά ο μάρτυρας στον οποίο δεν έχει προηγηθεί καμία επιπλέον προσθήκη, με σκοπό να διακριθούν οι μεταβολές του χρώματος των υπόλοιπων δειγμάτων σε σχέση με τον αρχικό οίνο. Η χρωματική διαφορά, φαίνεται να επηρεάζεται από την μεταβολή της ολικής οξύτητας και του χρόνου. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση την απόστασης με αυξανόμενη ποσότητα τόσο του φουμαρικού όσο και του μηλικού οξέος και στους 3 και στους 6 μήνες. Επίσης, φαίνεται πως το μηλικό οξύ αυξάνει εντονότερα την απόσταση σε σχέση με το φουμαρικό οξύ. Το γεγονός αυτό είναι λογικό

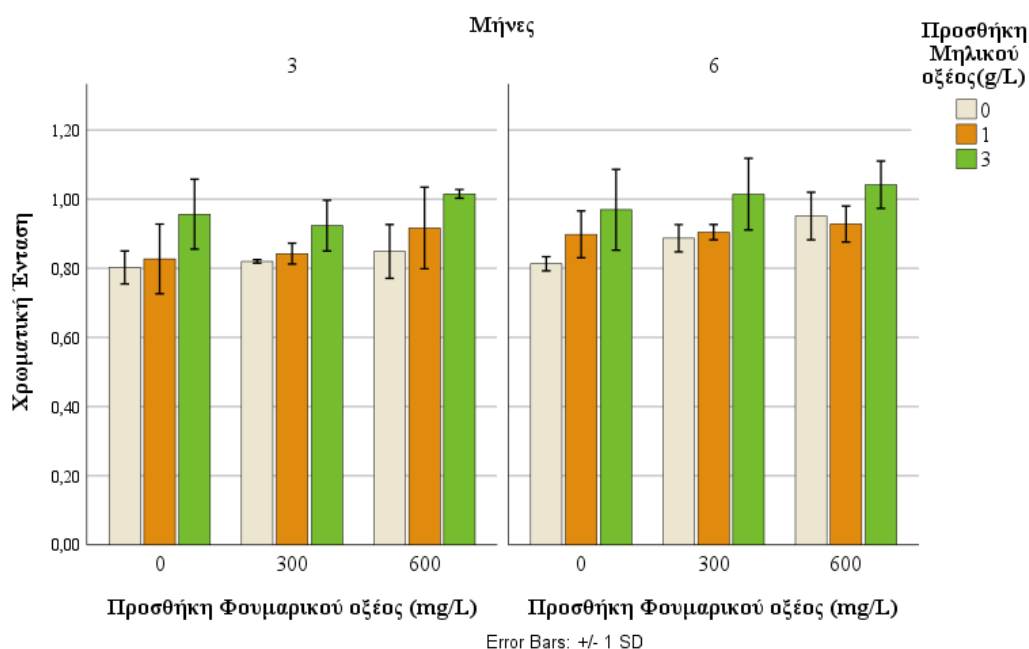
αφού το μηλικό οξύ επιδράει περισσότερο στην μεταβολή του pH και της ογκομετρούμενης οξύτητας, με αποτέλεσμα να αυξάνεται περισσότερο το χρώμα και άρα να αυξάνεται η απόσταξη μεταξύ των σημείων.

Στους 3 μήνες η προσθήκη 1 gr/L μηλικού οξέος αύξησε το ΔΕ κατά μέσο όρο 8,3 μονάδες και για προσθήκη 3 gr/L κατά μέσο όρο 12,6 μονάδες. Η προσθήκη φουμαρικού οξέος αντίστοιχα, προκάλεσε μέση αύξηση 5 μονάδες για προσθήκη 300 mg/L και 7 μονάδες για 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

Στους 6 μήνες η προσθήκη 1 gr/L μηλικού οξέος αύξησε το ΔΕ κατά μέσο όρο 12,2 μονάδες και για προσθήκη 3 gr/L κατά μέσο όρο 17,2 μονάδες. Η προσθήκη φουμαρικού οξέος αντίστοιχα, προκάλεσε μέση αύξηση 11 μονάδες για προσθήκη 300 mg/L και 15 μονάδες για 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

Παρατηρείται πως και στην διαφορά μεταξύ δύο σημείων μεγαλύτερη μεταβολή προκαλεί η προσθήκη μηλικού οξέος, αυτή τη φορά με μικρή απόκλιση από την προσθήκη φουμαρικού οξέος.

Με την μείωση του pH παρατηρούμε αύξηση του χρώματος, όπως αναλύθηκε παραπάνω. Επομένως η χρωματική διαφορά του δείγματος στο οποίο δεν είχε τροποποιηθεί οποιαδήποτε συνθήκη σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα, ήταν εμφανής. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται και από την οπτική χρωματική διαφορά, η οποία ήταν ορατή με γυμνό οφθαλμό, κατά την τοποθέτηση του δείγματος σε κυψελίδα χαλαζία 2 mm.



Διάγραμμα 9: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην πορεία της χρωματικής έντασης του οίνου

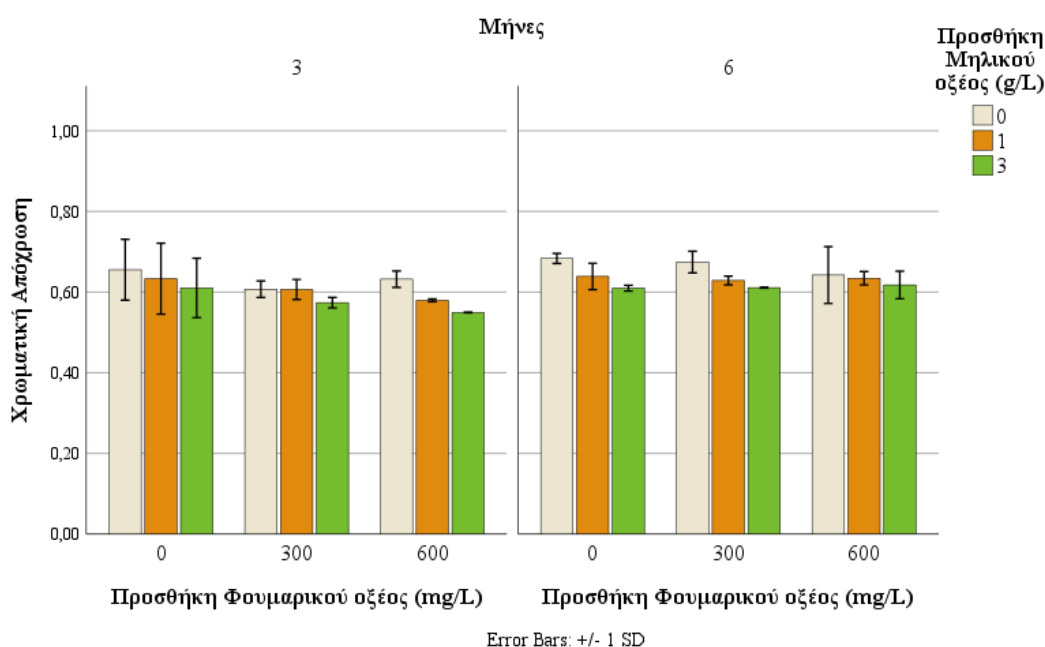
Η χρωματική ένταση σύμφωνα με τον ΟΙV, ορίζεται από το άθροισμα των απορροφήσεων των ανθοκυανών στα τρία διαφορετικά φάσματα 420 nm, 520 nm και 620 nm:

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Εκφράζει το σύνολο του χρώματος, και διαφέρει ανάλογα τον οίνο και την ποικιλία, ενώ οι τιμές κυμαίνονται από 0,3-1,8 (Τσακίρης, 2017).

Ως συνέπεια της αύξησης τόσο του κίτρινου όσο και του κόκκινου χρώματος, η χρωματική ένταση επίσης αυξάνεται. Φαίνεται να μην επηρεάζεται ιδιαίτερα από την μεταβολή του χρόνου, αλλά από τις προσθήκες των οργανικών οξέων, καθώς σημειώνεται αύξησή της με αυξανόμενη την ποσότητά τους. Ιδιαίτερη μεταβολή παρουσιάζει η ένταση με την προσθήκη 1 gr/L μηλικού οξέος, αφού η τιμή αυξάνεται κατά 0,09 μονάδες από τους 3 στους 6 μήνες, ενώ 0,01 για προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος. Για τους ίδιους χρόνους και προσθήκη φουμαρικού οξέος 300 mg/L και 600 mg/L η χρωματική ένταση αυξάνεται 0,04 και 0,09 μονάδες αντίστοιχα.

Σύμφωνα και με την βιβλιογραφία, παρατηρήθηκε πως προκλήθηκε αύξηση της χρωματικής έντασης πιο εμφανή στα δείγματα στα οποία πραγματοποιήθηκε προσθήκη φουμαρικού οξέος (Morata et al., 2020). Παρατηρείται επομένως πως για την μέγιστη δόση των δύο οργανικών οξέων που πραγματοποιήθηκε στο πείραμα, δηλαδή 3 gr/L μηλικού και 0,6 gr/L φουμαρικού οξέος, μεγαλύτερη επίδραση στην αύξηση της χρωματικής έντασης είχε η προσθήκη 0,6 gr/L φουμαρικού οξέος με αύξηση 0,09 μονάδες.



Διάγραμμα 9: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην πορεία της χρωματικής απόχρωσης του οίνου

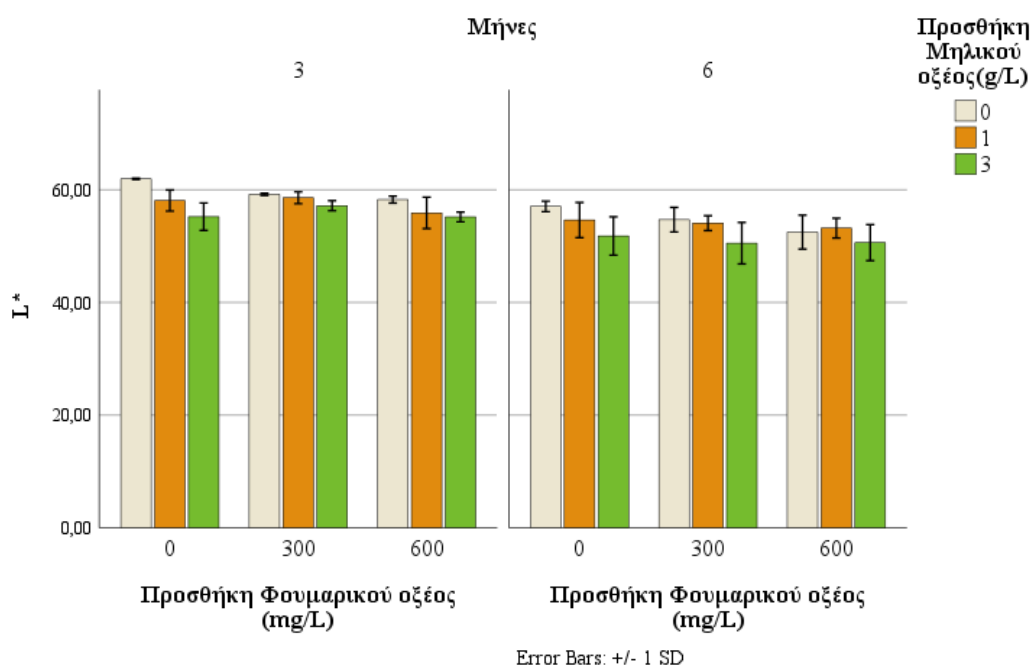
Η χρωματική απόχρωση ορίζεται από τον λόγο της απορρόφησης του κίτρινου χρώματος προς την απορρόφηση του κόκκινου χρώματος:

$$N = \frac{A_{420 \text{ nm}}}{A_{520 \text{ nm}}}$$

Η απόχρωση εκφράζει την εξέλιξη του χρώματος σε σχέση με το κίτρινο χρώμα. Οι τιμές στους νεαρούς οίνους κυμαίνονται από 0,5-0,7. Κατά την διάρκεια της παλαίωσης, η απόχρωση αυξάνεται μέχρι το ανώτερο όριο 1,2-1,3 (Τσακίρης, 2017). Παρ' όλα αυτά, στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε αύξηση της χρωματικής απόχρωσης από τους 3 στους 6 μήνες, καθώς αυξήθηκε και το κίτρινο χρώμα ταυτόχρονα με το κόκκινο.

Με την αύξηση της οξύτητας μειώνεται η χρωματική απόχρωση ενώ παράλληλα αυξάνεται η χρωματική ένταση. Επομένως ομοίως τα δύο μεγέθη φαίνεται να επηρεάζονται από την μεταβολή της οξύτητας και όχι του χρόνου. Συγκεκριμένα, καθώς αυξάνει η αρχική προσθήκη του μηλικού και του φουμαρικού οξέος παρατηρείται πως μειώνεται η χρωματική ένταση στους 3 και στους 6 μήνες ξεχωριστά. Η μεταβολή αυτή είναι λογική καθώς μειώνοντας το pH αυξάνεται περισσότερο το κόκκινο χρώμα και μειώνεται το κίτρινο, άρα ο λόγος κίτρινου/κόκκινου χρώματος μειώνεται.

Η χρωματική ένταση μειώνεται ως αποτέλεσμα οξειδωσης αλλά και λόγω τροποποιήσεων στα σύμπλοκα ανθοκυανών-τανινών (Basalekou et al., 2017).

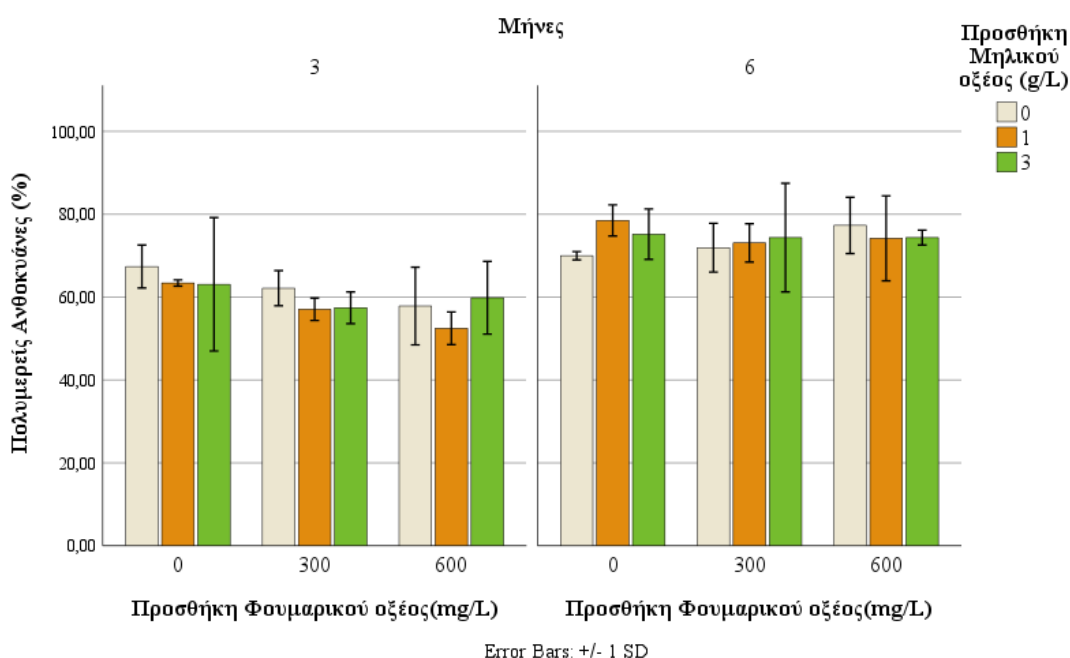


Διάγραμμα 10: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στην εξέλιξη της φωτεινότητας του οίνου

Η φωτεινότητα (L^*) μειώθηκε σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από την συνολική χρωματική αύξηση του χρώματος.

Η φωτεινότητα στην συγκεκριμένη περίπτωση, επηρεάστηκε από την μεταβολή του χρόνου αλλά και από την παρουσία οξέων, αφού αυξανόμενης ποσότητας φουμαρικού και μηλικού οξέος, η τιμή της μειώθηκε. Όσο η τιμή της φωτεινότητας πλησιάζει το μηδέν τόσο πιο σκουρόχρωμος εμφανίζεται ο οίνος. Επομένως τα δείγματα εμφανίζονται πιο σκουρόχρωμα, λόγω αύξησης του χρώματος. Επιπλέον, η απώλεια της φωτεινότητας έρχεται σε αναλογία με την μεταβολή των χρωματικών χαρακτηριστικών a^* και b^* τα οποία αυξάνονται με την αύξηση του χρόνου.

4.6. Επίδραση του φουμαρικού οξέος στο ποσοστό των πολυμερισμένων ανθοκυανών



Διάγραμμα 11: Επίδραση του φουμαρικού και μηλικού οξέος στο ποσοστό των πολυμερισμένων ανθοκυανών στους 3 και στους 6 μήνες

Παρατηρήθηκε πως με την αύξηση του χρόνου αυξάνεται ο αριθμός των πολυμερισμένων ανθοκυανών. Το pH δεν επηρεάζει την μεταβολή τους καθώς δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαφοροποιήσεις με τις αλλαγές στις ποσότητες των οξέων, επηρεάζονται παρ' όλα αυτά από την μετάβαση στους 3 προς τους 6 μήνες.

Καθώς ένας ερυθρός οίνος παλαιώνει το ποσοστό των μονομερών ανθοκυανών μειώνεται καθώς σχηματίζονται οι έγχρωμες πολυμερείς ανθοκυανίνες. Ο σχηματισμός τους προέρχεται με άμεσο πολυμερισμό ανθοκυανών και φλαβονών ή προανθοκυανιδινών καθώς και με το σχηματισμό πολυμερών χρωστικών που προκαλούνται από τη «γέφυρα» από τις ίδιες τις ανθοκυανίνες ή με φλαβαν-3-όλες ή

προανθοκυανιδίνες. Οι πολυμερείς αυτές χρωστικές είναι πιο σταθερές από τις μονομερείς ανθοκυάνες και συμβάλλουν στην σταθεροποίηση του χρώματος του οίνου. (He et al., 2012).

Σε πολύ χαμηλό pH < 3, η κύρια μορφή ανθοκυανών που εμφανίζεται στο διάλυμα του οίνου, είναι το κατιόν φλαβυλίου το οποίο διαθέτει κόκκινο χρώμα. Με την αύξηση του pH, μειώνεται η συμβολή των ανθοκυανών στο χρώμα του ερυθρού οίνου (Fariña et al., 2020).

Στην παρούσα εργασία σημειώθηκε μείωση του pH, άρα και αύξηση των πολυμερισμένων ανθοκυανών, σε σχέση με τον χρόνο.

4.7. Επίδραση των διαφορετικών παραμέτρων στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου

Ο οργανοληπτικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε στον χρόνο 0 την ημέρα της προετοιμασίας των δειγμάτων και μετά από δύο εβδομάδες όπως επίσης και στους 6 μήνες.

Στον χρόνο 0 την ημέρα της προετοιμασίας αξιολογήθηκαν τρία δείγματα με μοναδική προσθήκη 0, 300 mg/L και 600 mg/L φουμαρικού οξέος. Παρατηρήθηκε πως όσο μεγαλύτερη ήταν η προστιθέμενη ποσότητα του φουμαρικού οξέος τόσο αυξανόταν η οξύτητα και ακόμη περισσότερο ο στυφός χαρακτήρας.

Έπειτα από δύο εβδομάδες, πραγματοποιήθηκε περιγραφική οργανοληπτική δοκιμή από 7 δοκιμαστές με σκοπό την οργανοληπτική αξιολόγηση της επίδρασης του φουμαρικού οξέος στον οίνο. Ο κάθε συμμετέχοντας είχε στην διάθεσή του από τρία ποτήρια. Το πρώτο ποτήρι περιείχε το δείγμα χωρίς καμία προσθήκη, το δεύτερο περιείχε 300 mg/L φουμαρικό οξύ και το τρίτο περιείχε 600 mg/L φουμαρικού οξέος.

Η βαθμολογία των δειγμάτων από τους 7 δοκιμαστές κατά μέσο όρο είχε ως εξής: 6,5 μονάδες για το πρώτο ποτήρι, 5,9 μονάδες για το δεύτερο ποτήρι και 5,2 μονάδες για το τρίτο ποτήρι. Επισημάνθηκε πως την μεγαλύτερη οξύτητα εμφάνιζε το δείγμα με τον οίνο χωρίς καμία προσθήκη ενώ καθώς αυξανόταν η προσθήκη του οξέος μειωνόταν η αίσθηση της οξύτητας στο στόμα. Όσον αφορά τα υπόλοιπα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, ήταν αντιπροσωπευτικά της ποικιλίας, όπως ώριμα μαύρα φρούτα και νότες δρυός. Στη μύτη, μέτριας έντασης αρώματα τα οποία ελαττώνονταν καθώς μεγιστοποιόταν η ποσότητα του φουμαρικού οξέος.

Στους 6 μήνες, η οργανοληπτική δοκιμή πραγματοποιήθηκε στα δείγματα που αντιστοιχούσαν στην συγκεκριμένη χρονική στιγμή.

Τα δείγματα στην πλειοψηφία τους ήταν φρουτώδη και αρωματικά, μερικά περισσότερο κάποια λιγότερο. Κάποια εμφάνιζαν ουσιαστικές διαφορές όπως τα δείγματα με προσθήκη 300 mg/L

φουμαρικού οξέος παρουσία *Oenococcus oeni* και 300 mg/L φουμαρικού οξέος παρουσία *Lactobacillus plantarum*, τα οποία εμφάνιζαν διαπεραστικά αρώματα οξείδωσης. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στο δείγμα με προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος παρουσία *Oenococcus oeni* με την διαφορά πως τα αρώματα οξείδωσης ήταν πιο ήπια.

Από την άλλη, υπήρξαν δείγματα στα οποία αναδείχθηκε το αρωματικό τους προφίλ, όπως το δείγμα στο οποίο δεν είχε προηγηθεί καμία προσθήκη, το δείγμα το οποίο είχε 600 mg/L φουμαρικό και 1 gr/L μηλικό οξύ χωρίς προσθήκη βακτηρίων και το δείγμα με 600 mg/L φουμαρικό οξύ παρουσία *Lactobacillus plantarum*. Τα παραπάνω δείγματα εμφάνιζαν ευδιάκριτα αρώματα κόκκινων φρούτων.

Τέλος, στο δείγμα χωρίς προσθήκη φουμαρικού οξέος με 3 gr/L μηλικό οξύ παρουσία *Lactobacillus plantarum*, ήταν αντιληπτά αρώματα της μηλογαλακτικής ζύμωσης όπως ήπια αρώματα καραμέλας βουτύρου.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η υπερθέρμανση του πλανήτη και η στροφή των οινοπαραγωγών στην συγκομιδή των σταφυλιών που εμφανίζουν υψηλότερη ωριμότητα έχουν καταστήσει την επεξεργασία των γλευκών και των οίνων αναγκαία. (Krieger-Weber et al., 2020). Στην προσπάθεια τους να εξασφαλίσουν ένα ευχάριστο καταναλωτικό προϊόν, καταφεύγουν σε τεχνικές επεξεργασίας των γλευκών ή των οίνων.

Το Αγιωργίτικο είναι μια πολυδύναμη ελληνική ποικιλία καθώς με τις κατάλληλες οινοποιητικές τεχνικές μπορεί να παράξει διαφορετικά είδη οίνων από ροζέ ξηρούς έως γλυκούς.

Στην συγκεκριμένη εργασία χρησιμοποιήθηκαν δύο στελέχη βακτηρίων *Oenococcus oeni* και *Lactobacillus plantarum*, τα οποία εμφανίζουν διαφορές στον τρόπο δράσης τους, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν με την προσθήκη φουμαρικού οξέος παρουσία γαλακτικών βακτηρίων και μηλικού οξέος, είναι δυνατή η υλοποίηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης.

Όσον αφορά την αποτελεσματικότητα του φουμαρικού οξέος στην αναστολή της μηλογαλακτικής ζύμωσης, πράγματι, ύστερα από μετρήσεις διαπιστώθηκε πως το φουμαρικό οξύ διαθέτει την ικανότητα να αναστέλλει την δράση των γαλακτικών βακτηρίων παρουσία ή μη μηλικού οξέος. Το γεγονός αυτό εξηγεί τις τιμές του μηλικού οξέος, από τις οποίες παρατηρείται να μην καταναλώθηκε από τα βακτήρια, εκτός από τις περιπτώσεις όπου η τιμή του ήταν μηδενική στα δείγματα χωρίς προσθήκη φουμαρικού οξέος.

Η προσθήκη φουμαρικού οξέος προκάλεσε αύξηση του pH του οίνου στους 3 μήνες και μείωση στους 6 μήνες, ενώ οι τιμές της ολικής οξύτητας μειώθηκαν και για τους 3 και για τους 6 μήνες.

Με την προσθήκη 1 gr/L μηλικού οξέος το pH αυξήθηκε κατά 0,02 μονάδες από τον χρόνο 0 στους 3 μήνες, ενώ από τους 3 μήνες στους 6, η τιμή του μειώθηκε κατά 0,05 μονάδες.

Η προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος αύξησε την τιμή του pH κατά 0,04 μονάδες από τον χρόνο 0 στους 3 μήνες, ενώ από τους 3 μήνες στους 6 το pH μείωσε κατά 0,06 μονάδες.

Όσον αφορά την προσθήκη φουμαρικού οξέος, παρατηρείται πως για 300 mg/L το pH από τον χρόνο 0 αυξήθηκε 0,01 μονάδες, ενώ από τους 3 στους 6 μήνες το pH μειώθηκε κατά 0,01 μονάδες.

Η προσθήκη 600 mg/L φουμαρικού οξέος ωστόσο δεν προκάλεσε κάποια μεταβολή σε καμία χρονική στιγμή.

Στους 3 μήνες οι αρχικές προσθήκες ήταν ικανές ώστε να παρεμποδίσουν την έναρξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Στους 6 μήνες, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ολικής οξύτητας του pH και του οξικού οξέος, δεν πραγματοποιήθηκε μηλογαλακτική ζύμωση καθώς δεν σημειώθηκε η απαιτούμενη αύξηση του pH και του οξικού οξέος και η μείωση της ολικής οξύτητας. Πιθανόν υπήρξε ελάχιστη κατανάλωση του μηλικού οξέος, λόγω της δευτερεύουσας προσθήκης *O. oeni* που πραγματοποιήθηκε, με το πέρας των 3 μηνών, χωρίς όμως την πρόκληση της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Στην παρούσα μελέτη, το φουμαρικό οξύ στους 3 μήνες και στις προστιθέμενες δόσεις φάνηκε επίσης να ανταπεξέρχεται στις αντιβακτηριακές του ικανότητες και στην αύξηση του pH, όμως η προσθήκη γαλακτικών βακτηρίων έπειτα από την συγκεκριμένη χρονική στιγμή, ίσως να ανέτρεψε την πορεία της μηλογαλακτικής ζύμωσης.

Συνοπτικά, φάνηκε πως το μηλικό οξύ είναι πιο ισχυρό από το φουμαρικό, αφού με προσθήκη 0,3 gr/L φουμαρικού οξέος η ολική οξύτητα αυξήθηκε κατά 7 meq/L, 5 meq/L και 7,5 meq/L για τον χρόνο 0, τους 3 και 6 μήνες αντίστοιχα, ενώ για προσθήκη φουμαρικού οξέος 0,6 gr/L η οξύτητα αυξήθηκε 15 meq/L, 9 meq/L και 14 meq/L.

Για τον χρόνο 0 προσθέτοντας 1gr/L μηλικού οξέος η ολική οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 21 meq/L ενώ για προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος η οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 49,3 meq/L. Στους 3 μήνες προσθέτοντας 1 gr/L μηλικού οξέος η ολική οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 18,3 meq/L ενώ για προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος η οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 47,6 meq/L. Στους 6 μήνες προσθέτοντας 1 gr/L μηλικού οξέος η ολική οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 21,6 meq/L ενώ για προσθήκη 3 gr/L μηλικού οξέος η οξύτητα αυξήθηκε κατά μέσο όρο 47 meq/L.

Τροποποιήσεις εντοπίστηκαν και στις χρωματικές μεταβλητές, καθώς το pH του ερυθρού οίνου επηρεάζει το χρώμα των ανθοκυανών, το οποίο με τη σειρά του καθορίζει την πυκνότητα του κόκκινου χρώματος. Συνοπτικά, το χρώμα των δειγμάτων αυξήθηκε όπως και η χρωματική ένταση και το ποσοστό των πολυμερισμένων ανθοκυανών, με παράλληλη μείωση της χρωματικής απόχρωσης.

Το χρώμα των δειγμάτων με την αύξηση της ποσότητας των οξέων και του χρόνου, μετατοπίστηκαν προς το κίτρινο χρώμα (για $b > 0$) και προς το κόκκινο χρώμα ($a > 0$), όπως επίσης και το ΔΕ αυξήθηκε με αυξανόμενη την ποσότητα των οργανικών οξέων. Στους 3 μήνες το ΔΕ αυξάνεται 8,3 και 12,6 μονάδες για προσθήκη μηλικού οξέος 1 gr/L και 3 gr/L αντίστοιχα, ενώ για προσθήκη 300 mg/L και 600 mg/L φουμαρικού οξέος, αυξάνεται 5 και 7 μονάδες. Στους 6 μήνες αυξάνεται 12,2 και 17,2 μονάδες για προσθήκη μηλικού οξέος 1 gr/L και 3 gr/L αντίστοιχα, ενώ για προσθήκη 300 mg/L και 600 mg/L φουμαρικού οξέος, αυξάνεται 11 και 15 μονάδες.

Εν κατακλείδι, η προσθήκη φουμαρικού οξέος, απέτρεψε την δράση των γαλακτικών βακτηρίων όπου είχε προστεθεί, ενώ δεν παρουσίασε ισχυρή επίδραση στο pH, την ογκομετρούμενη οξύτητα και στο χρώμα του οίνου, σε σχέση με την προσθήκη μηλικού οξέος. Παρ' όλα αυτά, οργανοληπτικά η προσθήκη του επηρέασε θετικά την μείωση της οξύτητας του οίνου χωρίς την ταυτόχρονη απώλεια των αρωματικών του χαρακτηριστικών. Παράλληλα, η προσθήκη των γαλακτικών βακτηρίων δεν επηρέασε τις μετρήσεις αφού δεν παρατηρήθηκαν ουσιαστικές μεταβολές παρουσία τους. Αντίθετα, η προσθήκη μηλικού οξέος συνέβαλε αρκετά στην μεταβολή των μετρήσεων, αφού παρατηρήθηκε μείωση του pH παρουσία του και αύξηση της ογκομετρούμενη οξύτητας. Ως απόρροια, της μείωσης του pH, αυξήθηκε το χρώμα, ενώ η χρονική μεταβολή επηρέασε θετικά στην αύξηση των πολυμερών ανθοκυανών. Τέλος, η προσθήκη φουμαρικού οξέος μετέβαλε την χρωματική ένταση και απόχρωση του οίνου, αυξάνοντας την χρωματική ένταση με παράλληλη μείωση της χρωματικής απόχρωσης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aliphatic primary and secondary saturated and unsaturated alcohols, aldehydes, acetals, carboxylic acids and esters containing an additional oxygenated functional group and lactones from chemical groups 9, 13 and 30 (Commission Regulation (EC) No 1565/2000 of 18 July 2000). (2055). *EFSA Journal*, 1–110.
- Basalekou, M., Pappas, C., Kotseridis, Y., Tarantilis, P. A., Kontaxakis, E., & Kallithraka, S. (2017). Red Wine Age Estimation by the Alteration of Its Color Parameters: Fourier Transform Infrared Spectroscopy as a Tool to Monitor Wine Maturation Time. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2017, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/5767613>
- Bauer, R., & Dicks, L. M. T. (2017). Control of Malolactic Fermentation in Wine. A Review. *South African Journal of Enology & Viticulture*, 25(2). <https://doi.org/10.21548/25-2-2141>
- Claude Racine. (2015). *Importance of Wine Lactic Acid Bacteria in Winemaking*.
- Dang, L., Du, W., Black, S., & Wei, H. (2009). Solubility of Fumaric Acid in Propan-2-ol, Ethanol, Acetone, Propan-1-ol, and Water. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 54(11), 3112–3113. <https://doi.org/10.1021/jc9001637>
- Darias-Martín, J., Socas-Hernández, A., Díaz-Romero, C., & Díaz-Díaz, E. (2003). Comparative study of methods for determination of titrable acidity in wine. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(5), 555–562. [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(03\)00032-2](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00032-2)
- Das, R. K., Brar, S. K., & Verma, M. (2016). Fumaric Acid. In *Platform Chemical Biorefinery* (pp. 133–157). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802980-0.00008-0>
- E. Lerm2, L. E. and M. du T. 2. (2010). Malolactic Fermentation: The ABC's of MLF. *South African Journal of Enology and Viticulture*.
- FAQ: Measuring Wine Color*. (n.d.). <https://www.etslabs.com/publications/publication/37>
- Forino, M., Picariello, L., Rinaldi, A., Moio, L., & Gambuti, A. (2020). How must pH affect the level of red wine phenols. *LWT*, 129, 109546. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109546>
- Gancel, A.-L., Payan, C., Koltunova, T., Jourdes, M., Christmann, M., & Teissedre, P.-L. (2022). 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. *OENO One*, 56(3), 137–154. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2022.56.3.5455>
- García-Ruiz, A., Moreno-Arribas, M. V., Martín-Álvarez, P. J., & Bartolomé, B. (2011). Comparative study of the inhibitory effects of wine polyphenols on the growth of enological lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 145(2–3), 426–431. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.016>

- Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. 2e partie : mesure, origine et interprétation. *OENO One*, 18(4), 253. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1984.18.4.1744>
- He, F., Liang, N.-N., Mu, L., Pan, Q.-H., Wang, J., Reeves, M. J., & Duan, C.-Q. (2012). Anthocyanins and Their Variation in Red Wines II. Anthocyanin Derived Pigments and Their Color Evolution. *Molecules*, 17(2), 1483–1519. <https://doi.org/10.3390/molecules17021483>
- Hensel, M., Di Nonno, S., Mayer, Y., Scheiermann, M., Fahrer, J., Durner, D., & Ulber, R. (2022). Specification and Simplification of Analytical Methods to Determine Wine Color. *Processes*, 10(12), 2707. <https://doi.org/10.3390/pr10122707>
- Krieger-Weber, S., Heras, J. M., & Suarez, C. (2020). Lactobacillus plantarum, a New Biological Tool to Control Malolactic Fermentation: A Review and an Outlook. *Beverages*, 6(2), 23. <https://doi.org/10.3390/beverages6020023>
- Mercurio, M. D., Damberg, R. G., Herderich, M. J., & Smith, P. A. (2007). High Throughput Analysis of Red Wine and Grape Phenolics Adaptation and Validation of Methyl Cellulose Precipitable Tannin Assay and Modified Somers Color Assay to a Rapid 96 Well Plate Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12), 4651–4657. <https://doi.org/10.1021/jf063674n>
- Morata, A., Bañuelos, M. A., López, C., Chenli, S., Vejarano, R., Loira, I., Palomero, F., & Lepe, J. A. S. (2019). The oenological interest of fumaric acid: Stop malolactic fermentation and preserve the freshness of wines. *BIO Web of Conferences*, 15, 02034. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191502034>
- Morata, A., Bañuelos, M. A., López, C., Song, C., Vejarano, R., Loira, I., Palomero, F., & Suarez Lepe, J. A. (2020). Use of fumaric acid to control pH and inhibit malolactic fermentation in wines. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37(2), 228–238. <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1684574>
- Nielsen, S. S. (Ed.). (2017). *Food Analysis*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5>
- OIV. (n.d.). COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS—OIV Chromatic Characteristics.
- OIV. (2021). RESOLUTION OIV-OENO 581A-2021.
- Paramithiotis, S., Stasinou, V., Tzamourani, A., Kotseridis, Y., & Dimopoulou, M. (2022a). Malolactic Fermentation—Theoretical Advances and Practical Considerations. *Fermentation*, 8(10), 521. <https://doi.org/10.3390/fermentation8100521>
- Paramithiotis, S., Stasinou, V., Tzamourani, A., Kotseridis, Y., & Dimopoulou, M. (2022b). Malolactic Fermentation—Theoretical Advances and Practical Considerations. *Fermentation*, 8(10), 521. <https://doi.org/10.3390/fermentation8100521>
- Petropoulos, S., Kanellopoulou, A., Paraskevopoulos, I., Kotseridis, Y., & Kallithraka, S. (2017). Characterization of grape and wine proanthocyanidins of Agiorgitiko (Vitis vinifera L. cv.) cultivar grown in different regions of Nemea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 63, 98–110. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.07.038>
- Pozo-Bayón, M. A., G-Alegria, E., Polo, M. C., Tenorio, C., Martín-Álvarez, P. J., Calvo de la Banda, M. T., Ruiz-Larrea, F., & Moreno-Arribas, M. V. (2005). Wine Volatile and Amino Acid Composition after Malolactic Fermentation: Effect of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* Starter Cultures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8729–8735. <https://doi.org/10.1021/jf050739y>
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of Enology*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/0470010398>
- Roger B Boulton, V. L. S. L. F. B. R. E. K. (1999). *Principles and Practises of Winemaking*.

- Theodorou, N., Nikolaou, N., Zioziou, E., Kyraleou, M., Kallithraka, S., Kotseridis, Y., & Koundouras, S. (2019). Anthocyanin content and composition in four red winegrape cultivars (*Vitis vinifera* L.) under variable irrigation. *OENO One*, 53(1). <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2019.53.1.2366>
- Tzachristas, A., Dasenaki, M. E., Aalizadeh, R., Thomaidis, N. S., & Proestos, C. (2021). Development of a Wine Metabolomics Approach for the Authenticity Assessment of Selected Greek Red Wines. *Molecules*, 26(10), 2837. <https://doi.org/10.3390/molecules26102837>
- Vailiant, H., Formisyn, P., & Gerbaux, V. (1995). Malolactic fermentation of wine: study of the influence of some physico-chemical factors by experimental design assays. *Journal of Applied Bacteriology*, 79(6), 640–650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb00949.x>
- Vargas, E., Ruiz, M. A., Ferrero, F. J., Campuzano, S., Ruiz-Valdepeñas Montiel, V., Reviejo, A. J., & Pingarrón, J. M. (2016). Automatic bionalyzer using an integrated amperometric biosensor for the determination of L-malic acid in wines. *Talanta*, 158, 6–13. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.05.050>
- Volschenk, H., van Vuuren, H. J. J., & Viljoen-Bloom, M. (2017). Malic Acid in Wine: Origin, Function and Metabolism during Vinification. *South African Journal of Enology & Viticulture*, 27(2). <https://doi.org/10.21548/27-2-1613>
- Wilhelmy, C., Pavez, C., Bordeu, E., & Brossard, N. (2021). A Review of Tannin Determination Methods Using Spectrophotometric Detection in Red Wines and Their Ability to Predict Astringency. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 42(1). <https://doi.org/10.21548/42-1-3852>
- Τσακίρης, Α. (2017). *ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ από το σταφύλι στο κρασί* (4η έκδοση).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

	Ογκομετρούμενη Οξύτητα (Meq/L) χρόνος 0	Δ.Ο. (Ογκομετρούμενη Οξύτητα (Meq/L)) χρόνος 0	Δ.Ο. (Ογκομετρούμενη Οξύτητα (Meq/L))	Ογκομετρούμενη Οξύτητα (Meq/L)	pH χρόνος 0	pH	ΔpH	L*	A*	B*	C*	h	ΔE	Πολυμερείς Ανθοκυάνες	Χρωματική Ένταση	Χρωματική Απόχρωση	Μηλικό Οξύ (gr/L) (6 Μήνας)	Οξικό Οξύ (gr/L) - Ενζυμικός Αναλυτής
AGR1_000_0_0_C_3	65,33	0	0,00	66	3,77	3,82	0	62,05	43,82	9,32	44,8	12		70,18	0,798	0,742		0,51
AGR1_300_0_0_C_3	73,07	7,74	1,07	67,07	3,62	3,76	0,06	59,23	48,13	8,65	48,9	10,1	76,81	66,76	0,82	0,617		0,53
AGR1_600_0_0_C_3	80	14,67	6,00	72	3,59	3,68	0,14	58,63	49,34	9,22	50,1 9	10,5	77,18	49,36	0,782	0,643		0,55
AGR1_000_1_0_C_3	82	16,67	14,93	80,93	3,42	3,66	0,16	55,93	52,44	10,3 6	53,4 5	11,1	77,37	120,95	0,937	0,58		0,49
AGR1_300_1_0_C_3	86	20,67	16,00	82	3,41	3,61	0,21	58,62	49,67	10,4 5	50,7 5	11,8	77,54	60,1	0,85	0,598		0,51
AGR1_600_1_0_C_3	92	26,67	21,07	87,07	3,46	3,56	0,26	52,69	56,39	12,4 2	57,7 4	12,3	78,17	56,81	1,052	0,582		0,48
AGR1_000_3_0_C_3	110	44,67	45,07	111,07	3,26	3,49	0,33	58,03	52,33	10,4 1	53,3 5	11,2	78,83	50,22	0,88	0,555		0,53
AGR1_300_3_0_C_3	114	48,67	40,00	106	3,30	3,48	0,34	56,24	54,38	12,2 3	55,7 3	12,6	79,18	53,25	0,993	0,559		0,5
AGR1_600_3_0_C_3	119,07	53,74	50,00	116	3,29	3,43	0,39	54,8	56,38	13,4 1	57,9 5	13,3	79,76	54,91	1,017	0,55		0,49
AGR1_000_0_0_O_3	65,33	0	0,00	66	3,77	3,8	0,02	61,91	43,89	9,75	44,9 5	12,4	76,51	70,55	0,852	0,617		0,5
AGR1_300_0_0_O_3	73,07	7,74	6,00	72	3,62	3,74	0,08	59,35	47,78	10,8 3	48,9 9	12,7	76,96	58,42	0,815	0,62		0,48
AGR1_600_0_0_O_3	80	14,67	12,00	78	3,59	3,72	0,1	58,6	49,53	9,09	50,3 5	10,4	77,26	56,29	0,83	0,609		0,51
AGR1_000_1_0_O_3	82	16,67	11,07	77,07	3,42	3,69	0,13	59,18	49,11	8,10	49,7 7	9,3	77,33	62,88	0,805	0,585		0,54
AGR1_300_1_0_O_3	86	20,67	18,00	84	3,41	3,61	0,21	59,61	48,6	9,90	49,5 9	11,5	77,55	56,15	0,809	0,634		0,54
AGR1_600_1_0_O_3	92	26,67	17,07	83,07	3,46	3,58	0,24	57,71	51,37	10,3 8	52,4	11,4	77,96	49,12	0,835	0,575		0,53
AGR1_000_3_0_O_3	110	44,67	44,00	110	3,26	3,48	0,34	53,94	56,51	12,7 2	57,9 2	12,6	79,15	81,15	0,918	0,694		0,49

AGR1_300_3_O_3	114	48,67	41,07	107,07	3,30	3,47	0,35	58,01	52,27	10,74	53,36	11,5	78,82	60,77	0,847	0,583		0,53
AGR1_600_3_O_3	119,07	53,74	51,07	117,07	3,29	3,41	0,41	56,16	55,07	13,1	56,6	13,3	79,74	69,98	1,002	0,549		0,49
AGR1_000_0_C_6	65,33	0	0,00	45,07	3,77	3,8	0	57,99	47,68	10,61	48,84	12,5	5,75	71,14	0,792	0,671	0,01	0,63
AGR1_300_0_C_6	73,07	7,74	0,80	45,87	3,62	3,69	0,11	55,18	50,46	12,66	52,02	14	10,12	78,72	0,851	0,675	0	0,64
AGR1_600_0_C_6	80	14,67	14,40	59,47	3,59	3,62	0,18	53,03	52,94	11,39	54,15	12,1	12,99	75,75	0,899	0,635	0	0,69
AGR1_000_1_C_6	82	16,67	16,13	61,2	3,42	3,66	0,14	53,26	50,78	12,12	52,2	13,4	11,56	75,92	0,92	0,64	0	0,66
AGR1_300_1_C_6	86	20,67	20,66	65,73	3,41	3,65	0,15	54,89	52,49	13,34	54,15	14,2	11,94	70,29	0,881	0,641	0,5	0,62
AGR1_600_1_C_6	92	26,67	25,20	70,27	3,46	3,6	0,2	54,6	53,98	11,83	55,26	12,3	12,85	68,1	0,888	0,623	0,51	0,63
AGR1_000_3_C_6	65,33	44,67	44,93	90	3,77	3,54	0,26	55,04	54,08	12,22	55,44	12,7	12,76	69,53	0,861	0,609	1,26	0,64
AGR1_300_3_C_6	114	48,67	45,86	90,93	3,30	3,5	0,3	54,77	54,79	12,76	56,25	13	13,61	59,25	0,895	0,61	1,26	0,64
AGR1_600_3_C_6	119,07	53,74	50,93	96	3,29	3,45	0,35	49,03	57,93	16,03	60,1	15,4	20,34	72,89	1,068	0,592	1,29	0,54
AGR1_000_0_O_6	65,33	0	7,20	52,27	3,77	3,85	0,05	56,13	48,8	11,46	50,12	13,1	8,03	69,42	0,833	0,683	0	0,63
AGR1_300_0_O_6	73,07	7,74	10,80	55,87	3,62	3,8	0	52,31	51,49	11,83	52,83	12,9	12,65	68,52	0,929	0,647	0	0,63
AGR1_600_0_O_6	80	14,67	15,20	60,27	3,59	3,71	0,09	55,17	49,38	20,49	53,46	22,5	14,25	71,43	0,925	0,716	0	0,53
AGR1_000_1_O_6	82	16,67	16,13	61,2	3,42	3,75	0,05	58,2	47,24	11,41	48,59	13,5	5,56	76,78	0,822	0,671	0	0,71
AGR1_300_1_O_6	86	20,67	20,66	65,73	3,41	3,66	0,14	52,55	52,81	13,19	54,43	13,9	13,64	78,42	0,925	0,626	0,49	0,7
AGR1_600_1_O_6	92	26,67	28,80	73,87	3,46	3,62	0,18	51,23	53,96	13,62	55,65	14,1	15,44	86,02	0,987	0,653	0,5	0,61

AGR1_000_3_O_6	110	44,67	42,26	87,33	3,26	3,51	0,29	52,09	54,8	14,36	56,65	14,6	15,66	74,43	0,954	0,617	1,23	0,62
AGR1_300_3_O_6	114	48,67	44,00	89,07	3,30	3,47	0,33	48,62	56,33	16,47	58,68	16,2	19,7	82,49	1,081	0,611	1,32	0,54
AGR1_600_3_O_6	119,07	53,74	48,53	93,6	3,29	3,44	0,36	54,29	53,95	20,47	57,7	20,7	16,95	73,83	0,964	0,656	1,26	0,54
AGR1_000_0_L_3	65,33	0	0,00	66	3,77	3,82	0	61,82	44,06	9,24	45,01	11,8	76,47	61,41	0,757	0,607		0,53
AGR1_300_0_L_3	73,07	7,74	3,07	69,07	3,42	3,72	0,1	58,99	47,5	11,04	48,76	13	76,54	61,29	0,825	0,583		0,51
AGR1_600_0_L_3	80	14,67	10,00	76	3,59	3,64	0,18	57,55	50,3	11,89	51,68	13,2	77,35	67,89	0,934	0,644		0,48
AGR1_000_1_L_3	82	16,67	17,07	83,07	3,42	3,65	0,17	59,15	48,39	8,73	49,17	10,1	76,92	63,93	0,739	0,735		0,52
AGR1_300_1_L_3	86	20,67	15,07	81,07	3,41	3,62	0,2	57,52	50,4	11,01	51,58	12,2	77,27	54,93	0,868	0,587		0,53
AGR1_600_1_L_3	92	26,67	27,07	93,07	3,46	3,56	0,26	57,31	51,78	10,13	52,76	11	77,9	51,52	0,863	0,581		0,53
AGR1_000_3_L_3	110	44,67	51,07	117,07	3,26	3,47	0,35	53,69	55,73	12,46	57,1	12,5	78,38	57,92	1,071	0,582		0,49
AGR1_300_3_L_3	114	48,67	53,07	119,07	3,30	3,46	0,36	57,26	53,15	12,63	54,63	13,3	79,14	58,27	0,93	0,579		0,49
AGR1_600_3_L_3	119,07	53,74	56,00	122	3,29	3,38	0,44	54,57	55,34	13,6	56,98	13,7	78,9	54,66	1,027	0,549		0,49
AGR1_000_0_L_6	65,33	0	20,66	54,93	3,77	3,8	0	57,04	48,74	13,06	50,45	14,9	7,96	69,38	0,814	0,696	0	0,62
AGR1_300_0_L_6	73,07	7,74	28,80	57,6	3,62	3,72	0,08	56,59	49,45	17,53	52,46	19,4	11,35	68,55	0,881	0,701	0	0,54
AGR1_600_0_L_6	80	14,67	42,26	60,27	3,59	3,66	0,14	49,24	54,79	14,33	56,63	14,6	17,59	84,72	1,029	0,576	0,01	0,54
AGR1_000_1_L_6	82	16,67	44,00	61,2	3,42	3,68	0,12	52,42	51,88	11,48	53,13	12,4	12,74	82,8	0,952	0,605	0	0,69
AGR1_300_1_L_6	86	20,67	48,53	69,33	3,41	3,62	0,18	54,79	52,22	12,28	53,64	13,1	11,49	70,54	0,907	0,62	0,5	0,63

AGRI_600_1_L_6	92	26,67	20,66	72,93	3,46	3,57	0,23	53,73	53,56	12,24	54,94	12,8	13,14	68,42	0,909	0,626	0,49	0,65
AGRI_000_3_L_6	110	44,67	28,80	90,93	3,26	3,47	0,33	48,26	56,71	15,3	58,73	15	19,8	81,61	1,093	0,603	1,24	0,54
AGRI_300_3_L_6	114	48,67	42,26	93,6	3,30	3,44	0,36	48,18	57,38	15,98	59,56	15,5	20,51	81,36	1,067	0,612	1,31	0,54
AGRI_600_3_L_6	119,07	53,74	44,00	94,93	3,29	3,39	0,41	48,53	57,58	16,3	59,84	15,7	20,51	76,37	1,093	0,605	1,25	0,54

Πίνακας 1: Αποτελέσματα μετρήσεων

