

## ΝΕΕΣ ΕΞΕΛΙΞΕΙΣ ΣΤΗ ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι μια συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο για να μειώσουμε την οξύτητα των ερυθρών οίνων και να τους κάνουμε βιολογικά σταθερούς. Η μηλογαλακτική ζύμωση δεν είναι τίποτα άλλο από την μετατροπή του L-μηλικού οξέος σε L-γαλακτικό και έχει εφαρμογή κυρίως σε ερυθρούς οίνους. Η ζύμωση αυτή όμως δεν περιορίζεται στην απλή μετατροπή του μηλικού σε γαλακτικό αλλά παράλληλα λαμβάνουν χώρα και μεταβολισμοί πλήθος άλλων υποστρωμάτων (π.χ μεταβολισμός του κιτρικού οξέος ή αμινοξέων όπως μεθειονίνης ή και σακχάρων) που επηρεάζουν τον οίνο οργανοληπτικά σε πολλά επίπεδα.

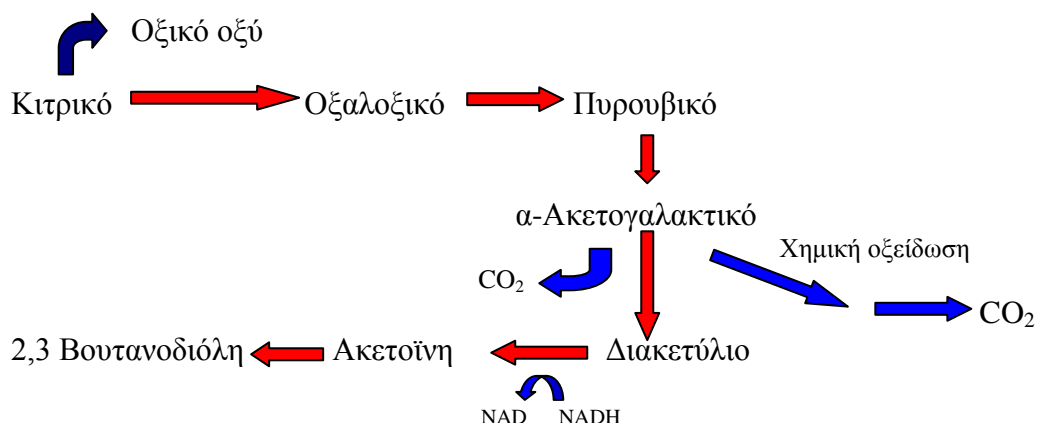
Σύγχρονη τάση στην παραγωγή ερυθρών οίνων είναι η ενίσχυση και η διατήρηση του ποικιλιακού χαρακτήρα καθώς και η διατήρηση του φρούτου του οίνου. Σαν αποτέλεσμα των παραπάνω θα θέλαμε να μπορούσε να πραγματοποιηθεί η μηλογαλακτική με όλα τα συνεπαγόμενα πλεονεκτήματα (βιολογική σταθερότητα, άνοδος pH, πιο «μαλακοί» και πλούσιοι οίνοι) αποφεύγοντας όμως ταυτόχρονα τις υπερβολικές νότες «βουτύρου» ή «γαλακτικές νότες» σε επίπεδο αρωμάτων και γεύσης.

Η παρουσίαση αυτού του άρθρου εστιάζεται στην παρουσίαση στελεχών μηλογαλακτικών βακτηρίων με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά όπως:

- Στελέχη **αρνητικά στο μεταβολισμό** του κιτρικού οξέος (Citric Negative) των οποίων η παραγωγή **οξικού οξέος** και **διακετυλίου** είναι **μηδενική**.
- Στελέχη που προωθούν το ποικιλιακό αρωματικό προφίλ αλλά ταυτόχρονα είναι ικανά να πραγματοποιούν μηλογαλακτική σε εξαιρετικά ακραίες συνθήκες όπως **αλκοόλη μέχρι και 16%**, **pH=3** και θερμοκρασίες από **13-26 °C**.
- Στελέχη που πραγματοποιούν μηλογαλακτική σε οίνους με **πολύ υψηλό φαινολικό δυναμικό και αλκοόλη έως και 17%**, ενώ ταυτόχρονα προσφέρουν φρουτώδες αρωματικό προφίλ.

## ΑΡΩΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΤΗΣ ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗΣ ΚΑΙ Ο ΣΩΣΤΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ.

Η *Εικόνα 1* δείχνει το μεταβολισμό του κιτρικού οξέος από το *Oenococcus oeni*. Είναι προφανές ότι κατά τη διάρκεια της αποικοδόμησης του **κιτρικού οξέος** από το *O.oeni* ένα ισοδύναμο ποσό οξικού οξέος παράγεται. Άλλοι μεταβολίτες όπως **ακετοΐνη** και **διακετύλιο** είναι υπεύθυνα για τον τυπικό χαρακτήρα «βουτύρου» της μηλογαλακτικής. Επιπλέον, το διακετύλιο δεν είναι το μοναδικό παραπροϊόν το οποίο επηρεάζει την οργανοληπτική ποιότητα. Επιπρόσθετα και άλλα συστατικά συνεισφέρουν στον τυπικό χαρακτήρα της μηλογαλακτικής.



**Εικόνα 1.** Μεταβολισμός του κιτρικού με αντίστοιχη παραγωγή «ανεπιθύμητων» προϊόντων όπως, οξικό οξύ, διακετύλιο και ακετοΐνη.

Η ευρέως εξεταζόμενη τεχνική για να μειώσουμε την ένταση του μηλογαλακτικού χαρακτήρα είναι η διαχείριση του διακετυλίου. Το μειονέκτημα της διαχείρισης του διακετυλίου είναι η εξάρτηση του από α) Την παρουσία ενεργών βακτηρίων ή ζυμών και β) την ύπαρξη του χαμηλού οξειδοαναγωγικού δυναμικού το οποίο υπάρχει κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Η καλύτερη μέθοδος για να διασφαλίσουμε την αποικοδόμηση του διακετυλίου είναι ο ταυτόχρονος εμβολιασμός ζυμών και βακτηρίων. Οίνοι που παράγονται με αυτή τη μέθοδο εμφανίζουν μειωμένους γαλακτικούς χαρακτήρες σε σύγκριση με μεταζυμωτικούς εμβολιασμούς. Ωστόσο δεν διασφαλίζεται ότι θα ολοκληρωθεί η αποικοδόμηση σε όλες τις ζυμώσεις. Επιπρόσθετα, οξικό οξύ αλλά και μεταβολικά ενδιάμεσα παραπροϊόντα θα παραχθούν στο κρασί.

Έχουν γίνει πολλές μελέτες για τη δημιουργία στελεχών ώστε να αποφύγουμε τις «γαλακτικές νότες» (διακετύλιο, μεθυλοβουτανόλες, οξικό οξύ κλπ). Παραγωγοί εμπορικών στελεχών προσπάθησαν να δημιουργήσουν τέτοια στελέχη μέσω επιλογής. Η εικόνα 2 δείχνει το αρωματικό προφίλ ενός τέτοιου στελέχους (HF2) σε σύγκριση με ένα «κλασσικό» εμπορικό στέλεχος σε σχέση με την παραγωγή αρωματικών ενώσεων ( με αρνητική οργανοληπτική επίδραση) στον ίδιο οίνο βάσης. Είναι προφανές ότι το στέλεχος MaloBacti HF2 παράγει πολύ λιγότερα ποσοτικά παραπροϊόντα σε σχέση με το εμπορικό στέλεχος. Σαν παράδειγμα η παραγωγή EAC (Ethyl Acetate) οξικού αιθυλεστέρα είναι 1,75 ppm ενώ η παραγωγή του εμπορικού στελέχους αναφοράς είναι 7,9 ppm. Η χαμηλή παραγωγή αυτών των συστατικών οδηγεί σε μια πιο καθαρή έκφραση του ποικιλιακού χαρακτήρα.

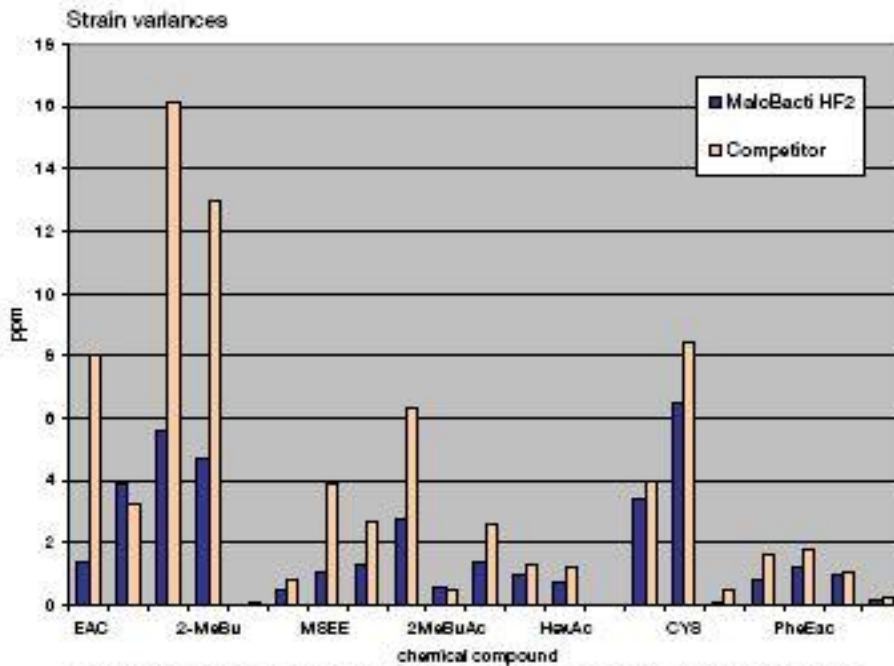


Fig. 2, Comparison 2 MLF strain on yield of metabolic by-products  
Source C. Heinemeyer 2007

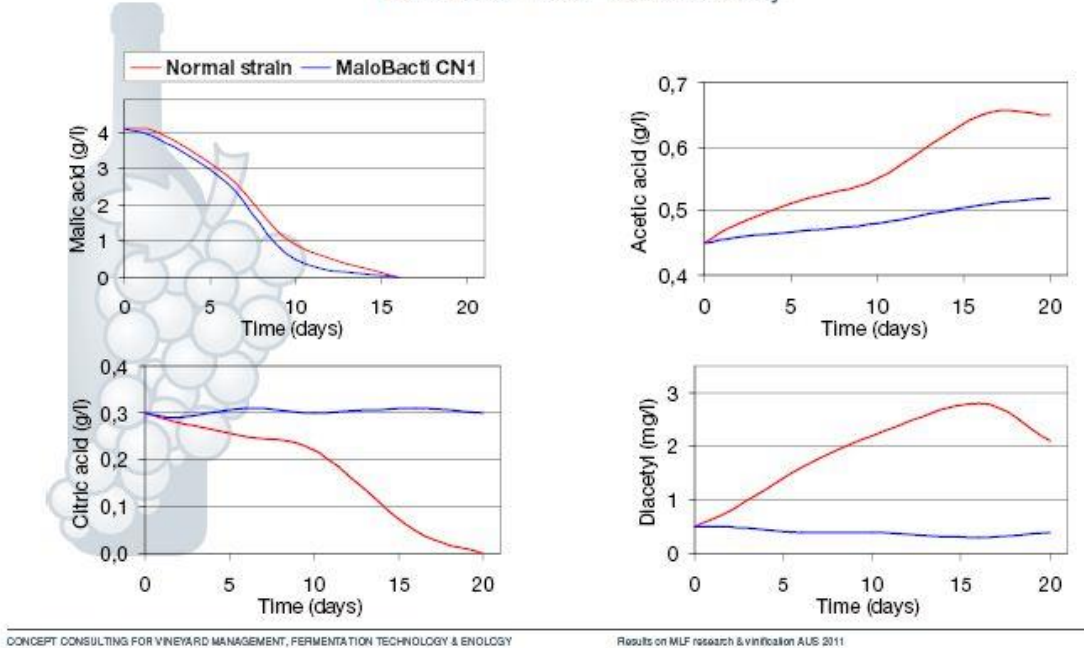
**Εικόνα 2.** Σύγκριση 2 στελεχών μηλογαλακτικών (του MaloBacti HF2 και ενός κοινού στελέχους ) στην παραγωγή ανεπιθύμητων μεταβολικών παραπροϊόντων.

## ΠΛΗΡΗΣ ΑΠΟΦΥΓΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΤΗΤΙΚΗΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΚΕΤΥΛΙΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗ ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗ.

Υπήρχε έως τώρα η δυνατότητα για πλήρη αποφυγή παραγωγής πτητικής οξύτητας ή διακετυλίου κατά τη μηλογαλακτική; Η απάντηση είναι **όχι**. Η μοναδική δυνατότητα που είχαμε έως τώρα είναι η διαχείριση του διακετυλίου (και αυτή σε σχετικά περιορισμένο βαθμό) μέσω του συνεμβολιασμού ζυμών/βακτηρίων συνήθως προς το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης. Όμως η παραγωγή οξικού οξέος, οξικού αιθυλεστέρα ή άλλων προϊόντων ήταν ούτως ή άλλως αναπόφευκτη εξαιτίας του μεταβολισμού του κιτρικού οξέος από τα μηλογαλακτικά βακτήρια. Σήμερα με νέες γενιές στελεχών όπως του **MaloBacti CN1** (αρνητική στο μεταβολισμό του κιτρικού) είναι εφικτή η πραγματοποίηση μηλογαλακτικής με **μηδενική παραγωγή πτητικής οξύτητας και διακετυλίου**.

Στην εικόνα 4 εμφανίζεται η μηλογαλακτική ζύμωση ενός Chardonnay με τον κλώνο (MaloBacti CN1-αρνητικό στο μεταβολισμό του κιτρικού) σε σύγκριση με ένα κλασσικό στέλεχος.

## MaloBacti™ CN1 in Chardonnay



**Εικόνα 4.** Παρατηρούμε τη διαφορά στα επίπεδα του κιτρικού οξέος, του οξικού και του διακετυλίου στον ίδιο οίνο που έχει εμβολιαστεί με ένα κλώνο θετικό (Normal strain) και έναν αρνητικό στο μεταβολισμό του κιτρικού (MaloBacti CN1). Με κόκκινο ένα κλασσικό στέλεχος και με μπλέ το CN1 στέλεχος.

## ΝΕΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΩΝ

Η ανάπτυξη ενός στελέχους αρνητικού στο μεταβολισμό του κιτρικού προσφέρει μια νέα δυνατότητα για να αποφύγουμε την παραγωγή διακετυλίου και οξικού οξέος που οφείλεται στο μεταβολισμό του κιτρικού. Η ζύμωση με ένα στέλεχος αρνητικό στο μεταβολισμό του κιτρικού προστατεύει τον ποικιλιακό χαρακτήρα του οίνου.

Σε μια μελέτη τεσσάρων ετών στο ινστιτούτο οίνου DLR-RNH Bad Kreuznach in Rhineland-Palatinate-Germany, διαφορετικά στελέχη μηλογαλακτικών δοκιμάστηκαν κάτω από οινοποιητικές συνθήκες στην πράξη. Η Εικόνα 5 εμφανίζει τις καμπύλες ζύμωσης του μηλικού από διαφορετικά στελέχη μηλογαλακτικών με ταυτόχρονο εμβολιασμό στο ίδιο κρασί βάσης. Ένα κλασσικό στέλεχος μηλογαλακτικών συγκρίθηκε με 2 στελέχη μηλογαλακτικών MaloBacti CN1 αρνητικού μεταβολισμού στο κιτρικό οξύ. Αυτή η νέα γενιά των βελτιωμένων στελεχών (αρνητικών στο μεταβολισμό του κιτρικού) αναπτύχθηκαν σε συνεργασία με τον Dr Jurgen Frohlich, University of Mainz. Οι καμπύλες ζύμωσης δεν εμφανίζουν κάποια σημαντική διαφορά στην κινητική της ζύμωσης. Τα αναλυτικά δεδομένα στον Πίνακα 1 εμφανίζουν τις διαφορές στα επίπεδα του κιτρικού και του οξικού οξέος. Τα στελέχη που είναι αρνητικά στο μεταβολισμό του κιτρικού δεν εμφανίζουν κάποια ουσιαστική αύξηση της πτητικής οξύτητας (VA) και διατηρούν τις αρχικές ποσότητες κιτρικού. Το κλασσικό στέλεχος εμφανίζει υψηλότερες πτητικές οξύτητες και μια ολοκληρωτική αποικοδόμηση του κιτρικού οξέος.

	Οίνος Βάσης	MaloBacti CNx	MaloBacti CN1	Συμβατικό στέλεχος
Alc. g/l		105,1	105,0	105,1
pH	3,4	3,6	3,6	3,6
TA g/l	7,4	4,0	4,9	4,3
Malic acid g/l	3,4	<0,1	<0,1	<0,1
Lactic acid g/l	-	2,2	2,0	2,0
VA g/l	0,19	0,28	0,27	0,40
Citric acid g/l	0,24	0,22	0,23	0,00
Time of MLF	-	17 ημέρες	15 ημέρες	13 ημέρες

### Πίνακας 1.

Σύγκριση 3 διαφορετικών στελεχών μηλογαλακτικών βακτηρίων (CNx και CN1 αρνητικά στο μεταβολισμό του κιτρικού) και ενός συμβατικού στην παραγωγή πτητικής, αποικοδόμησης του κιτρικού και χρόνου ολοκλήρωσης της μηλογαλακτικής.

### ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΚΑΙ ΧΡΩΜΑ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ.

Όλοι σχεδόν οι οινοποιοί έχουν παρατηρήσει ότι μετά το τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης υπάρχει μια πτώση της έντασης του ερυθρού χρώματος. Η αιτία του φαινομένου συνίσταται α) στην άνοδο του pH β) Στη γλυκοσιδική δράση που διαθέτουν τα μηλογαλακτικά βακτήρια.

Έτσι είναι λογικό ένας οινοποιός που θέλει να έχει τις μικρότερες δυνατές απώλειες σε χρώμα να επιλέξει ένα στέλεχος με χαμηλή γλυκοσιδική δράση. Στους πίνακες 2 και 3 εμφανίζονται τα αποτελέσματα της γλυκοσιδικής δράσης 5 διαφορετικών στελεχών παρουσία υποστρώματος 4MU β-G και των ολικών ανθοκυανών καθώς και της σχετικής απώλειας των ανθοκυανών σε σχέση με το μάρτυρα.

Στελέχη Βακτηρίων	Δραστηριότητα β-γλυκοσιδάσης (nmole 4 MU measured/min/g of dry biomass)	Δραστηριότητα β-γλυκοσιδάσης (nmole 4 MU measured/min/g of protein)
MaloBacti HF2	15,3	60
Εμπορικό Στέλεχος Α	16,3	66,6
Εμπορικό Στέλεχος Β	22,3	81
Εμπορικό Στέλεχος Γ	25,2	94,1

Πίνακας 2. Σύγκριση της δραστηριότητας της β-γλυκοσιδάσης σε 4 διαφορετικά στελέχη *Oenococcus Oeni* παρουσία 4 MU β-G.

Στελέχη Βακτηρίων	Συγκέντρωση ανθοκυανών (mg/l)	Σχετική μείωση ανθοκυανών σε σύγκριση με το μάρτυρα
Μάρτυρας	450	-----
MaloBacti HF2	400	-11%
Εμπορικό Στέλεχος Α	340	-24%
Εμπορικό Στέλεχος Β	340	-24%
Εμπορικό Στέλεχος Γ	290	-35%

**Πίνακας 3.** Μέτρηση των ολικών ανθοκυανών μετά από επώαση 6 ωρών στους 25 °C παρουσία 5 διαφορετικών κλώνων μηλογαλακτικών.

## ΣΥΝΟΨΗ

Τελικά τι είναι αυτό που μας ενδιαφέρει σε μια μηλογαλακτική; Μας ενδιαφέρει μόνο η γρήγορη έναρξη ή η ταχεία ολοκλήρωση της ή οι δυνατότητες συνεμβολιασμού με στελέχη ζυμών; Θα έπρεπε να μας ενδιαφέρει μόνο αυτό;

Γιατί ενώ δίνεται μεγάλη σημασία στο στέλεχος της ζύμης που θα επιλεγθεί (ειδικά σε οργανοληπτικό επίπεδο) δεν δίνεται το ανάλογο ενδιαφέρον για τον κλώνο των μηλογαλακτικών που θα εμβολιασθεί ο οίνος;

Το πως επηρεάζεται ο οίνος οργανοληπτικά μετά από μια μηλογαλακτική είναι εξίσου σημαντικό, αν όχι σημαντικότερο, αφού ο καταναλωτής τελικά θα κρίνει τον οίνο από το σύνολο της γεύσης και των αρωμάτων του (flavour) χωρίς να τον ενδιαφέρουν τεχνικά θέματα όπως π.χ η ταχύτητα που αυτή επιτελέστηκε ή η γρήγορη έναρξη της.

Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι μια από τις σημαντικότερες παραμέτρους που επηρεάζουν οργανοληπτικά τον οίνο. Η διαχείριση του αρωματικού προφίλ μιας μηλογαλακτικής ζύμωσης σε ένα μεγάλο βαθμό μπορεί να είναι εφικτή ειδικά αν χρησιμοποιηθούν οι κατάλληλοι κλώνοι.

Κλώνοι αρνητικοί στο μεταβολισμό του κιτρικού (CN<sup>-</sup>) θα ήταν μια ιδανική πρόταση για μηλογαλακτική ζύμωση φρέσκων ερυθρών οίνων όπου θέλουμε να διατηρήσουμε τον φρουτώδη αρωματικό χαρακτήρα αυτών των ποικιλιών (π.χ Αγιωργίτικο) ή όταν θέλουμε να φτιάξουμε ένα πολύπλοκο Chardonnay χωρίς τα μειονεκτήματα που θα κληρονομούσαμε κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση από ένα κλασσικό κλώνο.

Σε χρονιές με προσβολή από βοτρυτή η συγκέντρωση κιτρικού στα σταφύλια εμφανίζεται αρκετά αυξημένη, οπότε ενδεχόμενη μηλογαλακτική με στελέχη αρνητικά στο μεταβολισμό του κιτρικού είναι επιβεβλημένη, διότι διαφορετικά οι αυξήσεις στην πτητική οξύτητα κατά τη μηλογαλακτική θα ήταν πολύ μεγάλες. Στην περίπτωση οίνων βαθιάς παλαίωσης όπου η παραμονή στο βαρέλι ξεπερνά τους 18 μήνες η πτητική οξύτητα παίζει σημαντικό ρόλο καθώς άλλα περιθώρια παλαίωσης έχει ένας οινοποιός ο οποίος ξεκινά την παλαίωση του οίνου με μια πτητική της τάξης του 0,5-0,6 gr/l σε σύγκριση με μια πτητική των 0,4 gr/l εκφρασμένη σε οξικό οξύ.

Ένα ακόμα παράδειγμα χρήσης τέτοιων κλώνων είναι σε περιπτώσεις οίνων με πολύ υψηλή οξύτητα. Αντί να γίνει μείωση οξύτητας με χημικό τρόπο θα ήταν

προτιμότερο να σκεφτούμε και τη λύση της μηλογαλακτικής (ειδικά αν ο οίνος έχει μηλικό οξύ σε σημαντικό ποσοστό).

Ενδιαφέρουσα προσέγγιση θα ήταν και η αύξηση της οξύτητας (περίπτωση μεσογειακών οίνων) όχι μόνο με την προσθήκη τρυγικού αλλά και με χρήση μηλικού οξέος αφού η μετέπειτα μηλογαλακτική θα το μετατρέψει σε γαλακτικό το οποίο είναι βιολογικά σταθερό, οργανοληπτικά πιο «απαλό» και ταυτόχρονα δεν θα προκαλέσει επιπλέον μείωση οξύτητας κατά την τρυγική σταθεροποίηση. Εκτός αυτού η προσθήκη μόνο τρυγικού για τη διόρθωση της οξύτητας έχει το μειονέκτημα της μεγαλύτερης απώλειας του κατά την τρυγική σταθεροποίηση.

Η χρήση τέτοιων κλώνων απαιτεί μια διαφορετική έως τώρα προσέγγιση καθώς πρέπει ήδη να έχει αποφασισθεί εκ των προτέρων η χρήση τους. Είναι λοιπόν στο χέρι του οινοποιού να αποφασίσει τη χρήση τέτοιων κλώνων για την παραγωγή ερυθρών οίνων με πολύ περισσότερο φρούτο και σημαντικά μειωμένα επίπεδα πτητικής οξύτητας ώστε να μπορούν να ανταγωνιστούν στο παγκόσμιο οινικό περιβάλλον όχι μόνο στο επίπεδα των τιμών αλλά κυρίως στο επίπεδο της ποιότητας. Οι κλώνοι *Malobacti CNI*, *Malobacti HF2* και *Malobacti AF3* διανέμονται αποκλειστικά για την περιοχή της Ελλάδας και Κύπρου από την εταιρεία μας “*Αφροδίτη Ν. Κυριάκου – Οινοανάλυση*”

«ΟΙΝΟΑΝΑΛΥΣΗ»

ΦΛΟΙΟΥΝΤΟΣ 08, NEMEA

Αφροδίτη Κυριάκου- Γεωπόνος-Οινολόγος M.Sc

Παναγιώτης Θαμνίδης- Γεωπόνος -Βιοτεχνολόγος M.B.A