

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το πολύπλοκο μικροβιακό οικοσύστημα των σταφυλιών, του γλεύκους και του τελικού οίνου περικλείει ζυμομύκητες, υφομύκητες και βακτήρια με διαφορετικά φυσιολογικά χαρακτηριστικά και επιδράσεις στην παραγωγή του οίνου. Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή έγινε ποσοτικός και μοριακός χαρακτηρισμός της μικροχλωρίδας που σχετίζεται με την ζύμωση της Κουμανδαρίας. Η Κουμανδαρία είναι το φημισμένο γλυκό κρασί της Κύπρου το οποίο είναι Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) και παράγεται μόνο σε ορισμένα χωρία της επαρχίας Λεμεσού. Η παραγωγή της Κουμανδαρίας γίνεται με αυθόρμητη ζύμωση του γλεύκους που προκαλείται από την γηγενή μικροχλωρίδα που δρα ως φυσικός εμβολιασμός. Είναι αρκετά καλά τεκμηριωμένο μέσα από έρευνες που έγιναν, ότι οι ζυμώσεις που γίνονται με την φυσική μικροχλωρίδα χωρίς εμβολιασμό μπορούν να παράξουν οίνους με μοναδικά χαρακτηριστικά λόγω της συνεργιστικής δράσης των διαφόρων ειδών. Ο μικροβιακός χαρακτηρισμός της Κουμανδαρίας μελετήθηκε σε τρεις άξονες που σχετίζονται άμεσα με την παραγωγή της. Αρχικά μελετήθηκε το οινοποιείο (Μουσείο Κουμανδαρίας) όπου γίνεται η ζύμωση, τα σταφύλια των ποικιλιών Μαύρο και Ξυνιστέρι πριν και μετά το λιάσιμο και το γλεύκος κατά την διαδικασία οινοποίησης σε τέσσερις φάσεις. Η μικροβιολογική μελέτη ξεκίνησε με καταμέτρηση των μικροοργανισμών σε πέντε θρεπτικά υποστρώματα. Ακολούθησε μοριακή ταυτοποίηση τόσο των μυκήτων (ζυμομυκήτων και υφομυκήτων) όσο και των βακτηρίων μέσω ενίσχυσης της ITS και της 16S περιοχής αντίστοιχα σε συνδυασμό με αυτοματοποιημένη αλληλούχηση. Στην παρούσα εργασία για τους τρεις άξονες που εξεταστήκαν ταυτοποιήθηκαν είδη των γενών *Hanseniaspora*, *Aureobasidium*, *Pichia*, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Rhodospiridium*, *Cryptococcus* και *Torulaspora* και εξετάστηκαν οι οινολογικές ιδιότητες των απομονωμένων ζυμομυκήτων από το γλεύκος όπως προκύπτουν μέσα από επιστημονικές μελέτες. Οξικά βακτήρια του γένους *Acetobacter* επίσης ταυτοποιήθηκαν στο οινοποιείο όπου γίνεται η ζύμωση ενώ οξυγαλακτικά βακτήρια τα οποία προκαλούν την μηλογαλακτική ζύμωση και συγκεκριμένα το είδος *Oenococcus oeni* δεν ταυτοποιήθηκαν σε κανέναν από τους τρεις άξονες της μελέτης. Περιβαλλοντικά βακτήρια των γενών *Enterococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Kocuria*, και άλλα ταυτοποιήθηκαν τόσο στον χώρο του οινοποιείου όσο και στα σταφύλια, αλλά δεν έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται στους οίνους. Είδη του γένους *Aspergillus* ταυτοποιήθηκαν τόσο στα δείγματα των σταφυλιών (φρέσκα και

λιασμένα) όσο και στις δύο πρώτες φάσεις της ζύμωσης. Λόγω της ικανότητας των ειδών του γένους (*Aspergillus*) για ενδεχόμενη παραγωγή ωχρατοξίνης Α απαιτείται περαιτέρω έρευνα για το αν οι μεταβολίτες αυτοί μπορούν να περάσουν στο τελικό προϊόν.

ABSTRACT

The complex microbial ecosystem of grapes, must and wine include yeast, fungi and bacteria with different physiological characteristics and effects upon wine production. Commandaria is the famous sweet wine of Cyprus made in the Commandaria area of the Limassol district and holds a protected designation of origin (PDO). Traditionally Commandaria produced by spontaneous fermentation using yeast strains found on the surface of grapes and in the winery environment. It is well established through research that non-*Saccharomyces* yeasts can make a positive contribution to the winemaking process. These yeast species could be used as part of a strategy to obtain different types of wines, especially in terms of aromatic profile. Quantitative and molecular characterization of the microflora associated with the fermentation of Commandaria has been scheduled in three axes that are directly related to its production. The three axes are the winery environment of Commandaria Museum where the fermentation takes place, the two types of indigenous Cyprus grapes Xynisteri and Mavro (fresh and dried) and the must during winemaking process in four phases. The microbiological investigation started with the plate count into five culture media. Fungi (yeast and hyphomycetes) and bacteria species identified by analysis of nucleotide sequences from rDNA and 16S regions respectively.

The yeast communities present on the samples belong to the genus *Hanseniaspora*, *Aureobasidium*, *Pichia*, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Rhodosporidium*, *Cryptococcus* and *Torulaspota*. In this study we report the oenological properties of non-*Saccharomyces* yeasts through literature review. Acetic bacteria of the genus *Acetobacter* were identified in the winery environment. Lactic acid bacteria especially *Oenococcus oeni* species, which are the main agent of malolactic fermentation were not isolated. Environmental ubiquitous bacteria of the genus *Enterococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* and *Kocuria* were identified both in the winery and the grapes, but do not have the ability to grow in wines. Species of the genus *Aspergillus* were identified on the grape microflora samples of grapes (fresh and dried) as well as at the first two phases of the fermentation. These fungi possibly producing ochratoxin A, are only active in the vineyard and sun drying process, although their metabolites may affect wine quality during grape processing but this requires further investigation..