
ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ ΚΡΑΣΙΟΥ ΜΕ ΑΥΤΟΧΘΟΝΕΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΙΣ.

Μεταπτυχιακή εργασία, Κρασσοά Ειρήνη- Χρυσοβαλάντου
Υπ.καθηγητής: Δημήτρης Τσάλτας



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	3
1. ΟΙΝΟΣ.....	4
1.1 Παραγωγή.....	5
1.1.1 Εδαφοκλιματικές συνθήκες της Κύπρου	5
1.1.2 Στάδια Παραγωγής.....	5
1.1.3 Κυπριακές ποικιλίες	7
1.1.4 Κουμανδαρία.....	8
1.2 Ζύμωση	9
1.2.1 Αλκοολική Ζύμωση.....	10
1.2.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
1.2.3 Αβιοτικοί παράγοντες.....	11
1.2.4 Μηλογαλακτική ζύμωση	16
1.2.5 Μικροοργανισμοί της μηλογαλακτικής ζύμωσης	17
1.2.6 Γενετική και transcriptomic οργάνωση της ΜΓΖ.....	19
1.2.7 Αβιοτικοί παράγοντες στην ΜΓΖ.....	20
1.3 Προκλήσεις στη Κυπριακή οινοποιία	23
1.3.1 Πλεονεκτήματα ΜΓΖ στη Κυπριακή οινοποιία.	23
1.3.2 Στόχος εργασίας	24
2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ	24
2.1 Υλικά	25
2.1.1 Μικροοργανισμοί	25
2.2 Προετοιμασία & Αποθήκευση	25
2.2 Βιοδοκιμές.....	27
2.2.1 Βιογενείς Αμίνες (BA).	27
2.2.2 Έλεγχος pH	30
2.2.3 Έλεγχος θερμοκρασίας.....	31
2.2.4 Έλεγχος αιθανόλης.....	32
2.2.5 Έλεγχος τανινών.....	32
2.2.6 Έλεγχος ζυμωτικής ικανότητας μηλικού οξέος.....	33
2.2.7 Ταυτοποίηση	36
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ	41
3.1 Ποιοτικοί έλεγχοι.....	41
3.2 Μηλικό & Γαλακτικό οξύ.....	50
3.3 Ταυτοποίηση στελεχών	52
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	53
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	54
6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	59
Παράρτημα Α.....	59
Παράρτημα Β- Βιογενείς Αμίνες	61
Παράρτημα Γ- pH	61
Παράρτημα Δ- Αντοχή σε αιθανόλη	64
Παράρτημα Ε- Θερμοκρασία	65
Παράρτημα Ζ- HPLC αποτελέσματα.....	66
Παράρτημα ΣΤ- PCR	67

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία επικεντρώθηκε στη μελέτη αυτοχθόνων βακτηρίων προερχόμενων από τη μηλογαλακτική ζύμωση οίνου με σκοπό τη διερεύνηση της δυνατότητας αξιοποίησής τους ως καλλιέργειες εκκίνησης για την ενίσχυση ή την ακριβή καθοδήγηση της διαδικασίας. Συνολικά απομονώθηκαν και εξετάστηκαν 67 άγνωστα βακτηριακά στελέχη μέσω μιας σειράς φαινοτυπικών και μοριακών αναλύσεων.

Τα στελέχη αξιολογήθηκαν ως προς σημαντικές τεχνολογικές παραμέτρους όπως η παραγωγή βιογενών αμινών, η χρώση Gram, η αντοχή στις διαφορετικές συγκεντρώσεις αιθανόλης, pH, θερμοκρασίας και παρουσίας τανινών. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις για την παρακολούθηση της μετατροπής μηλικού σε γαλακτικό οξύ, προκειμένου να διερευνηθεί η πιθανή συμμετοχή των στελεχών στην μηλογαλακτική μετατροπή. Τέλος, πραγματοποιήθηκε μοριακή ταυτοποίηση επιλεγμένων απομονώσεων μέσω αλληλούχισης του ριβοσωμικού DNA (16S rDNA).

Η εργασία ανέδειξε τη βιοποικιλότητα των μικροοργανισμών που εμπλέκονται στη φυσική μηλογαλακτική ζύμωση και κατέδειξε την ανάγκη περαιτέρω γενετικής διερεύνησης των στελεχών, μελλοντικά, μέσω τεχνικών όπως η nested PCR. Η μελέτη αυτή συμβάλλει στην κατανόηση του οινολογικού μικροβιώματος και θέτει τις βάσεις για την πιθανή ανάπτυξη νέων, αυτοχθόνων οινολογικών καλλιεργειών εκκίνησης με τεχνολογική καινοτομία.

ABSTRACT

This postgraduate thesis focused on the study of indigenous bacteria derived from the malolactic fermentation of wine (ML), aiming to investigate their potential use as starter cultures for accurately driving or enhancing the process. A total of 67 unknown bacteria were examined through a combination of phenotypic and molecular analysis.

The isolates were evaluated based on key technological parameters including biogenic amine production, gram staining, and tolerance to various concentrations of ethanol, pH, temperature and the presence of the tannins. High- Performance Liquid Chromatography (HPLC) analyses were conducted to monitor the transformation of malic acid to lactic acid, providing insight into the possible involvement of the bacteria in malolactic conversion. Additionally molecular identification of selected isolates was performed through ribosomal DNA sequencing.

The study highlighted the microbial diversity associated with spontaneous ML and emphasized the need for further genetic characterization of the isolates, potentially through advanced techniques such as nested PCR. This work contributes to the understanding of the oenological microbiota, and it sets the foundation for the development of novel, indigenous starter cultures with technological potential in winemaking.

Λέξεις κλειδιά: Μηλογαλακτική ζύμωση, Καλλιέργειες εκκίνησης, ΟΓΒ, οξυγαλακτικά, κρασί

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θερμές ευχαριστίες αποδίδονται στον υπεύθυνο καθηγητή της μεταπτυχιακής εργασίας, κ. Δημήτρη Τσάλτα, για την επιστημονική καθοδήγηση, την υποστήριξη και τις εύστοχες παρατηρήσεις καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Επίσης, ιδιαίτερη αναγνώριση αξίζει στην υποψήφια διδάκτορα Ελένη Ξενοφώντος για τη συνεχή τεχνική συμβολή και τη βοήθεια της στα πειραματικά στάδια και στην επίλυση πρακτικών δυσκολιών.

Η συμβολή όλων όσων στήριξαν την εργασία, είτε σε επιστημονικό είτε σε πρακτικό επίπεδο, υπήρξε καθοριστική για την ολοκλήρωση της.

Παρά τις προκλήσεις και τα εμπόδια που προέκυψαν κατά τη διάρκεια της ερευνητικής διαδικασίας, η ενασχόληση με το συγκεκριμένο θέμα αποτέλεσε μία ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα και ουσιαστική εμπειρία. Η εργασία αυτή παρείχε την ευκαιρία να διερευνηθεί ένα αντικείμενο καινούργιο, να αποκτηθούν νέες γνώσεις και δεξιότητες και να αναδειχθεί η αξία της συστηματικής πειραματικής εργασίας στο πεδίο της βιοτεχνολογίας των τροφίμων.