

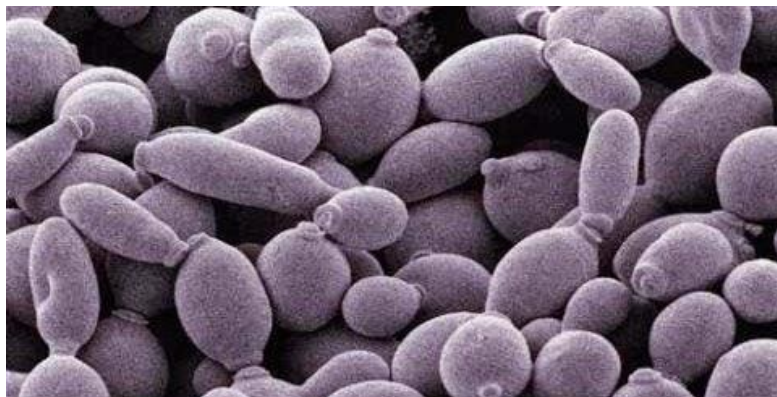


**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ**

**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΖΥΜΩΝ  
ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΟΙΝΟΥ»**



Εκπόνηση εργασίας: Χουχούμη Αναστασία – Μαρία

Επιβλέπων καθηγητής: Καπόλος Ιωάννης

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2018**



**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ**

**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΖΥΜΩΝ  
ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΟΙΝΟΥ»**

Εκπόνηση εργασίας: Χουχούμη Αναστασία – Μαρία

Επιβλέπων καθηγητής: Καπόλος Ιωάννης

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2018**

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας η οποία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Χημεία και Βιοχημείας Τροφίμων του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του Α.Τ.Ε.Ι. Πελοποννήσου θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Ιωάννη Καπόλο για την βοήθεια του και την καθοδήγησή του στην εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής εργασίας.

Ακόμη ευχαριστώ την οικογένεια μου για την εμπύχωση και την συμπαράσταση, που είχα σε οποιαδήποτε προσπάθεια μου ως τώρα. Ιδιαίτερα τους ευχαριστώ για την πολύτιμη στήριξη τους κατά την διάρκεια των σπουδών μου, που χωρίς αυτή θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθούν.

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Ο οίνος είναι το προϊόν που παράγεται αποκλειστικά με αλκοολική ζύμωση ολική ή μερική νωπών σταφυλιών που έχουν σπασθεί ή όχι ή γλεύκους σταφυλιών. Σημαντικό κομμάτι για την παραγωγή ενός οίνου καλής ποιότητας αποτελεί και η χημική σύσταση του οίνου αλλά και το μέσο της ζύμωσης που δεν είναι άλλο από τις ζύμες που χρησιμοποιούνται. Στη συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα αλκοολικής ζύμωσης με την βοήθεια μιας γενετικά τυποποιημένης ζύμης σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Πιο συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκαν ζυμώσεις σε δείγματα ανασυσταμένου γλεύκους σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες στους 30° C, στους 15° C και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι ζυμώσεις έγιναν με άγρια ζύμη w303-1a και με γενετικά τροποποιημένη ζύμη στην οποία έχει γίνει μετάλλαξη στην πρωτεΐνη *msn2* και στο αμινοξύ 582 έχοντας αντικαταστήσει το αμινοξύ σερίνη με αλανίνη. Τέλος, μετρήθηκαν ο βαθμός Baume, η οξύτητα, ο χρόνος ζύμωσης τα οποία έχουν δοθεί σε πίνακες στα αποτελέσματα της εργασίας.

## **ABSTRACT**

The wine is the product which is produced particularly with alcoholic fermentation total or partial, from fresh grapes which have been smashed or not smashed or must coming from grapes. Important part for the wine production, in order to achieve high quality wine is the chemical composition of the wine but also the way (the means) of fermentation which is not anything else from the yeasts which are used. In this particular thesis we studied the capability of alcoholic fermentation with the assistance of a genetically modified yeast under different temperatures. Specifically fermentation were accomplished on samples of reconstituted must under three different temperatures at 30°C, 15°C and at ambient temperature. The fermentations were carried out with fierce yeast w303-1a and with genetically modified yeast, in which yeast has become modification or change in the protein msn2 and also has become modification in the amino acid 582 which has substituted the amino acid serine with alanine. Finally the rate Baume the acidity and the time of fermentation were measured. The results of this measurement are shown on the result tables.

## Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	i
ABSTRACT.....	ii
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 <sup>ο</sup> : ΚΡΑΣΙ.....	1
1.1. Σύσταση του σταφυλιού.....	1
1.2. Χημική σύσταση του σταφυλιού.....	1
1.2.1. Χημική σύσταση του φλοιού.....	1
1.2.2. Χημική σύσταση της σάρκας.....	2
1.2.3. Χημική σύσταση των γιγάρτων.....	3
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 <sup>ο</sup> : ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ.....	5
2.1. Μηχανήματα κατεργασίας σταφυλιού.....	5
2.1.1. Εκθλιπτήρια.....	5
2.1.2. Εκραγιστήρια - Απορραγιστήρια.....	6
2.1.3. Στραγγιστήρια.....	6
2.1.4. Πιεστήρια.....	6
2.1.5. Αντλίες- ελαστικοί σωλήνες- φίλτρα διήθησης.....	7
2.1.6. Παστεριωτήρες ή θερμαντήρες.....	8
2.1.7. Δεξαμενές οινοποίησης.....	8
2.2. Λευκή και ερυθρή οινοποίηση.....	8
2.2.1. Λευκή οινοποίηση.....	8
2.2.2. Ερυθρή οινοποίηση.....	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 <sup>ο</sup> : ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ.....	12
3.1 Οργανικά οξέα.....	12
3.1.1 Τρυγικό οξύ.....	12
3.1.2 Μηλικό οξύ.....	13
3.1.3 Κιτρικό οξύ.....	14
3.1.4 Γαλακτουρονικό οξύ.....	15
3.1.5 Γλυκουρονικό οξύ.....	15
3.1.6 Γλυκονικό οξύ.....	16
3.1.7 Οξαλικό οξύ.....	16
3.1.8 Ασκορβικό οξύ.....	17
3.2 Πτητικά οξέα.....	17

3.2.1	Οξικό οξύ.....	18
3.2.2	Μυρμηκικό οξύ.....	18
3.3	Αλκοόλες.....	19
3.4	Αρωματικές ενώσεις.....	20
3.4.1	Αλκοόλες.....	21
3.4.2	Εστέρες.....	21
3.4.3	Καρβονυλικές ενώσεις.....	23
3.5	Σάκχαρα ή γλυκίδια.....	24
3.6	Πολυσακχαρίτες ή πηκτινικές ουσίες.....	25
3.7	Αζωτούχες ενώσεις.....	25
3.7.1	Πρωτεΐνες.....	25
3.7.2	Πολυπεπίδια.....	25
3.7.3	Αμινοξέα.....	26
3.7.4	Αμίδια.....	26
3.8	Ανόργανα συστατικά.....	26
3.8.1	Ανιόντα.....	26
3.8.2	Κατιόντα.....	26
3.9	Ένζυμα.....	27
3.10	Βιταμίνες.....	27
3.11	Φαινολικές ενώσεις.....	28
3.11.1	Χημεία των φαινολικών ενώσεων.....	28
3.11.2	Τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγά τους.....	29
3.11.3	Φλαβανοειδή.....	30
3.11.4	Ανθοκυάνες.....	31
3.11.5	Τανίνες.....	32
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4° : ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ.....</b>		<b>34</b>
4.1	Βιοχημεία της αλκοολικής ζύμωσης.....	34
4.2	Στάδια αλκοολικής ζύμωσης.....	34
4.3	Δευτερεύοντα προϊόντα.....	37
4.4	Γλυκεροπυροσταφυλική ζύμωση.....	38
4.5	Αιτίες διακοπής της αλκοολικής ζύμωσης.....	39
4.6	Επεμβάσεις μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης.....	40
4.7	Παράγοντες που επηρεάζουν την αλκοολική ζύμωση.....	40
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5° : ΖΥΜΕΣ.....</b>		<b>44</b>
<b>5.1</b>	<b>Ταξινόμηση των ζυμών.....</b>	<b>44</b>
5.1.1	Μορφολογικά χαρακτηριστικά.....	45

5.1.2	Φυσιολογικά Χαρακτηριστικά.....	46
5.2	Ζύμες Οινοποίησης .....	47
5.3	Η ζωή των ζυμών .....	49
5.4	Η διατροφή των ζυμών.....	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 <sup>ο</sup> : ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΥΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ .....		54
6.1	Ποιοτικά χαρακτηριστικά.....	54
6.2	Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.....	56
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 <sup>ο</sup> : ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ - ΦΑΣΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΜΑΖΩΝ ....		58
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....		61
ΣΚΟΠΟΣ .....		61
1.	ΥΛΙΚΑ – ΟΡΓΑΝΑ .....	61
2.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ .....	61
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	63
4.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	66



# ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---

## **ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup>: ΚΡΑΣΙ**

#### **1.1. Σύσταση του σταφυλιού**

Το σταφύλι αποτελείται από το βόστρυχο και τις ρόγες. Ο βόστρυχος του σταφυλιού δηλαδή το κοτσάνι αποτελεί το σκελετό του. Η χημική σύσταση του βόστρυχου είναι φτωχή σε σάκχαρα αλλά περιέχει μεγάλη ποσότητα σε ανόργανα ιόντα και λόγω αυτών έχει μεγάλη ποσότητα σε εξουδετερωμένα οξέα. Επίσης τα τσάμπουρα είναι πλούσια σε πολυφαινόλες (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Οι ρόγες του σταφυλιού αποτελούνται από την φλούδα, τη σάρκα και τα κουκούτσια ή γίγαρτα. Μετά τη διαδικασία της οινοποίησης ο βόστρυχος και τα κουκούτσια αποκαλούνται στέμφυλα αφού έχει γίνει η εξαγωγή των υγρών. Η ρόγα εξωτερικά έχει έναν λεπτό φλοιό, τη φλούδα η οποία καταλαμβάνει το 6 – 20% του βάρους του σταφυλιού και το πάχος εξαρτάται από την ποικιλία της αμπέλου (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Κατά την διαδικασία της οινοποίησης χρησιμοποιούνται οι νωπές σταφύλες, ώριμες ή έστω ελαφρώς ηλιασμένες που στη συνέχεια σπάζονται ή πιέζονται μέσω των μηχανημάτων που διαθέτει ένα οινοποιείο, με αποτέλεσμα να πραγματοποιηθεί αλκοολική ζύμωση. Στη συνέχεια από τις νωπές σταφύλες λαμβάνεται φυσικώς ή με φυσικές επεξεργασίες το γλεύκος σταφύλης με την προϋπόθεση ότι ο αλκοολικός τίτλος του γλεύκους δεν θα υπερβαίνει το 1% vol (“Οινολογία, αναλύσεις οινών και ποτών”, Δαμηλάκος, 1990)

Επίσης με τη διαδικασία της οινοποίησης προκύπτει το συμπυκνωμένο γλεύκος σταφύλης το οποίο είναι το μη καραμελοποιημένο γλεύκος, το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί και στο συγκεκριμένο πείραμα. Το συμπυκνωμένο γλεύκος έχει παραχθεί με μερική αφυδάτωση γλεύκους με οποιαδήποτε επιτρεπόμενη μέθοδο εκτός της απευθείας θέρμανσης (“Οινολογία, αναλύσεις οινών και ποτών”, Δαμηλάκος, 1990). Επιπλέον έχει υποστεί επιτρεπόμενη κατεργασία μείωσης της οξύτητας και απομάκρυνση συστατικών εκτός από τα σάκχαρα. Συνεπώς, "οίνος είναι το προϊόν που παράγεται αποκλειστικά με αλκοολική ζύμωση ολική ή μερική νωπών σταφυλιών που έχουν σπασθεί ή όχι ή γλεύκους σταφυλιών" (“Οινολογία, αναλύσεις οινών και ποτών”, Δαμηλάκος, 1990)

#### **1.2. Χημική σύσταση του σταφυλιού**

##### **1.2.1. Χημική σύσταση του φλοιού**

Ο φλοιός ή αλλιώς φλούδα της ρόγας από την επιφάνεια προς το εσωτερικό αποτελείται από τα εξής μέρη: την εφυμενίδα, η οποία είναι πιο επιφανειακά, την επιδερμίδα και την υποδερμίδα που βρίσκεται εσωτερικά. Αυτά τα τρία μέρη απαρτίζουν το μεμβρανώδες και ελαστικό περικάρπιο της ρόγας (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014). Ο φλοιός αποτελείται από ολεανικό οξύ το οποίο κατέχει περίπου το 75% και από διάφορες άλλες ενώσεις όπως αλκοόλες,

εστέρες, άλλα λιπαρά οξέα και αλδεΐδες, οι οποίες καταλαμβάνουν περίπου το υπόλοιπο 25% του φλοιού.

Κατά την ωρίμανση του φλοιού περιέχεται σε αυτόν πολύ μικρή ποσότητα σακχάρων, είναι όμως πλούσιος σε κυτταρίνη, πηκτίνες και πρωτεΐνες. Είναι πλούσιος σε κιτρικό οξύ και λιγότερο σε τρυγικό. Επιπλέον, "τα οξέα της φλούδας είναι εξουδετερωμένα σε μεγαλύτερο ποσοστό από τα οξέα της σάρκας" ("Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί", Τσακίρης, 2014, σελ 39). Στη συνέχεια, σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι ο φλοιός περιέχει τον ίδιο αριθμό σε πολυφαινόλες με το βόστρυχο στις περισσότερες ποικιλίες σταφυλιών. Υπάρχουν όμως μερικές ποικιλίες ερυθρών σταφυλιών οι οποίες είναι πιο πλούσιες σε σύγκριση με τις λευκές ποικιλίες, για την ακρίβεια ο φλοιός των ερυθρών ποικιλιών είναι δύο φορές πιο πλούσιος σε πολυφαινόλες σε σύγκριση με τον φλοιό των λευκών σταφυλιών ("Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί", Τσακίρης, 2014).

Άλλος ένας παράγοντας είναι και οι χρωστικές ουσίες που υπάρχουν στο φλοιό, οι οποίες είναι σε αξιολογήσιμη ποσότητα όταν τα σταφύλια είναι πράσινα, ενώ όταν η ρόγα ωριμάζει και γίνεται κίτρινη υπάρχουν σε πολύ μικρές ποσότητες. Οι τανίνες που βρίσκονται επίσης στο φλοιό είναι σε μηδενική περιεκτικότητα ("Οινολογία, αναλύσεις οινών και ποτών", Δαμηλάκος, 1990). Τέλος, τα αρωματικά συστατικά που προέρχονται από το σταφύλι πριν γίνει ζύμωση βρίσκονται στο φλοιό, στη φλούδα και στη σάρκα. Αυτά είναι τα τερπένια, οι πυραζίνες, οι πτητικές φαινολικές ενώσεις, οι αλκοόλες όπως η μεθανόλη και η εξανόλη και οι υδρογονάνθρακες, οι οποίοι βρίσκονται σε εξαιρετικά μικρές ποσότητες και χωρίς καμία οργανοληπτική σημασία ("Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί", Τσακίρης, 2014).

### **1.2.2. Χημική σύσταση της σάρκας**

Η σάρκα κατά την ωρίμανση της κατέχει το 75 – 80% της ρόγας του σταφυλιού. Η σάρκα αποτελείται από δύο στερεά μέρη τα κυτταρικά τοιχώματα και τις αγγειώδεις δέσμες που κατέχουν το 0,5% της σάρκας. Επιπλέον, τα κυτταρικά τοιχώματα και οι αγγειώδεις δέσμες συμμετέχουν στη δημιουργία της λάσπης του γλεύκους. Επίσης η περιεκτικότητα της σάρκας σε πηκτινικές ενώσεις κυμαίνονται από 0,23 – 6,91 g/L. Οι πηκτινικές ενώσεις είναι στην ουσία οι πηκτίνες δηλαδή είναι πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος με δομική χρησιμότητα για τα φυτά ("Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί", Τσακίρης, 2014).

Εκτός από τις πηκτινικές ενώσεις η σάρκα περιέχει σάκχαρα η ποσότητα των οποίων ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία και τον βαθμό ωρίμανσης ("Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί", Τσακίρης, 2014). Επιπλέον, περιέχει νερό 75 – 80 %, ζυμώσιμα σάκχαρα 17 – 25 %, αζωτούχες ενώσεις, ανόργανα άλατα, οργανικά οξέα, τανίνες, ανθοκυάνες. Η σάρκα περιέχει και αρωματικές ουσίες οι οποίες είναι πολύ λιγότερες από τις αρωματικές ουσίες του φλοιού και πολύ λιγότερες από τις αρωματικές ουσίες που έχουν τα γίγαρτα. Η σάρκα είναι φτωχή σε φαινολικά συστατικά και σε ανθοκυάνες ("Θέματα Οινολογίας", Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Πολύ σημαντικό ρόλο για την χημική σύσταση της σάρκας κατέχουν και τα οξέα τα οποία συμμετέχουν στην γενετική ισορροπία του κρασιού. Τα σημαντικότερα οργανικά οξέα είναι το τρυγικό, το μηλικό και σε μικρότερο βαθμό το κιτρικό. Το τρυγικό και το μηλικό οξύ έχουν την ίδια κατανομή στην ρόγα του σταφυλιού και κατέχουν τον ίδιο ρόλο για την δημιουργία του κρασιού ("Οινολογία, από το σταφύλι

στο κρασί”,Τσακίρης,2014). Το κιτρικό οξύ υπάρχει σε μεγαλύτερη ποσότητα στα τοιχώματα της ρόγας και παραλαμβάνεται και πιο δύσκολα από τα υπόλοιπα. Επίσης είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι ποικιλίες της αμπέλου που έχουν υψηλά επίπεδα οξέων είναι πλούσιες και σε αμινοξέα. Τα κυριότερα αμινοξέα είναι η προλίνη, το γλουταμινικό οξύ, η αργινίνη και η θρεονίνη (Διπλωματική εργασία Ωραιοπούλου Β., 2011).

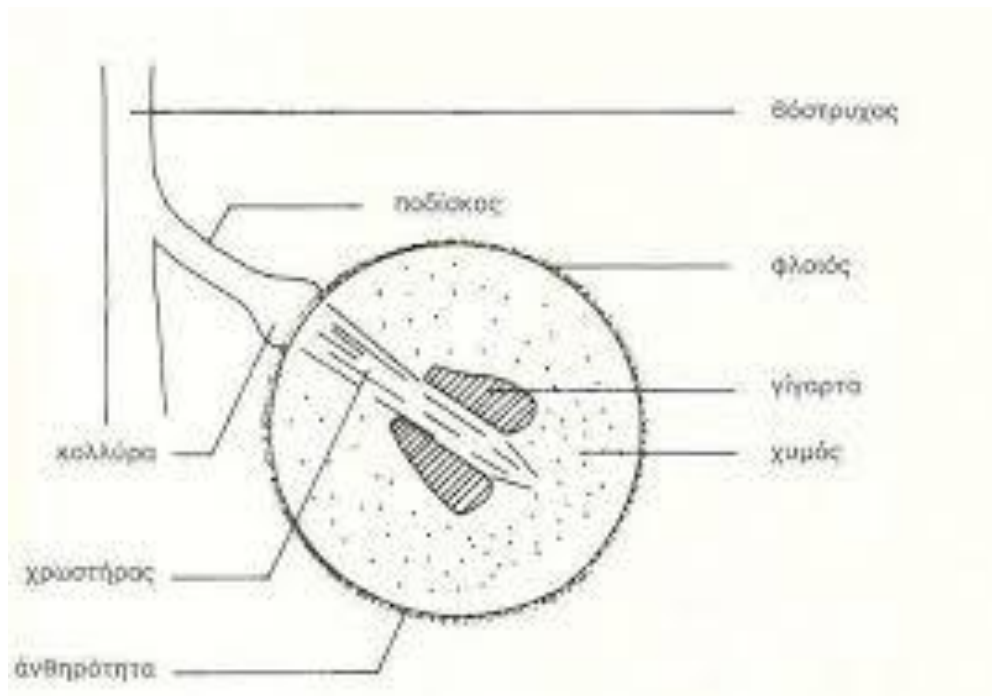
Εκτός από τα προαναφερθέντες χημικές ενώσεις η ρόγα περιέχει και ανόργανα συστατικά. Ένα από τα σημαντικότερα είναι το κάλιο το οποίο αποτελεί το 50% του συνόλου των ανόργανων ιόντων. Βρίσκεται σε ολόκληρη τη μάζα της ρόγα αλλά υψηλότερη κατανομή κατέχει στην περιφέρεια αυτής. Είναι αναγκαίο να αναφερθεί ότι τα αζωτούχα συστατικά της σάρκας βρίσκονται σε οργανική ή ανόργανη μορφή κυρίως ως αμινοξέα, πολυπεπτίδια και πρωτεΐνες και είναι το 1/4 με 1/5 των αζωτούχων συστατικών της ρόγας. Τέλος, άλλο ένα ανόργανο συστατικό είναι το αμμωνιακό άζωτο το οποίο βρίσκεται σε ικανοποιητική ποσότητα για την καλή εξέλιξη της ζύμωσης (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”,Τσακίρης,2014).

### **1.2.3. Χημική σύσταση των γιγάρτων**

Τα γίγαρτα αποτελούν το 3 – 6 % του συνολικού βάρους του σταφυλιού (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”,Τσακίρης,2014). Η εκατοστιαία κατά βάρος (% w/w) χημική σύσταση των κουκουτσιών είναι :

- Νερό 25% – 45%
- Σάκχαρα – πολυσακχαρίτες 34% – 36%
- Αζωτούχα συστατικά 4% – 6,5%
- Τανίνες 4% – 6%
- Ανόργανα συστατικά 2% – 4%
- Λιπαρά οξέα 1%

Κατά την διάρκεια της εκχύλισης τα αζωτούχα, τα φαινολικά και τα φωσφορούχα συστατικά τα οποία βρίσκονται στο εσωτερικό των γιγάρτων είναι ιδιαίτερα διαλυτά και θέλουν μεγάλη προσοχή διότι μπορεί να επηρεαστεί η ποιότητα του κρασιού και γενικά η ποιότητα των αμπελοοινικών προϊόντων. Τέλος, μεγάλη προσοχή πρέπει να δοθεί και στα έλαια γιατί με το σπάσιμο των γιγάρτων διαλύονται στο γλεύκος με αποτέλεσμα να υποβαθμίζεται η ποιότητα του κρασιού (Διπλωματική εργασία Ωραιοπούλου Β., 2011).



Εικόνα 1: Σχηματική παρουσίαση της ρόγας του σταφυλιού

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup>: ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Η οινοποίηση μπορεί να είναι είτε λευκή είτε ερυθρή. Στη λευκή οινοποίηση η αλκοολική ζύμωση λαμβάνει χώρα απουσία των στέμφυλων, αυτό πραγματοποιείται λόγω της γρήγορης εξαγωγής του γλεύκους από τα σταφύλια με τη χρήση πιεστηρίων (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014, σελ 47). Αντιθέτως, στην ερυθρή οινοποίηση η αλκοολική ζύμωση γίνεται με την παρουσία των στέμφυλων. Αυτό συμβαίνει διότι στην ερυθρή οινοποίηση είναι επιθυμητέ η παραλαβή των χρωστικών, γευστικών και αρωματικών συστατικών που περιέχονται στα στέμφυλα (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014, σελ 47).

Σημαντικό ρόλο τόσο στη λευκή όσο και στην ερυθρή οινοποίηση κατέχει η συγκομιδή των σταφυλιών. Ορισμένες ποικιλίες σταφυλιού συνιστάται να συλλέγονται πριν την ωρίμανση τους γιατί μια πρόωμη ωρίμανση μπορεί να δώσει κρασιά καλόπιota και πιο διαυγή από μία αργοπορημένη συγκομιδή (“Οινολογία, αναλύσεις οινών και ποτών”, Δαμηλάκος, 1990, σελ 453). Επίσης τα σταφύλια ενδείκνυται να τρυγιούνται τις πρωινές ώρες έτσι η ζέστη και ο ήλιος να μην οδηγήσουν σε μια ανεπιθύμητη θέρμανση της ρόγας με συνέπεια να προέλθει η σήψη έστω και σε μικρή αναλογία. Στη συνέχεια τα κρασιά αυτά είναι κατώτερης ποιότητας και έχουν μία στυφή γεύση, σάπια, πωόδη σε μικρή ή μεγάλη έκταση (“Οινολογία, αναλύσεις οινών και ποτών”, Δαμηλάκος, 1990, σελ 453).

### 2.1. Μηχανήματα κατεργασίας σταφυλιού

Η παρασκευή του κρασιού γίνεται από τη μετατροπή του χυμού των σταφυλιών. Το σταφύλι για να γίνει γλεύκος και στην συνέχεια κρασί είναι απαραίτητο να ακολουθήσει μία πορεία μέσα από μηχανήματα έτσι ώστε να μετατραπεί από καρπός που είναι σε χυμό. Παρακάτω παρουσιάζεται η πορεία που ακολουθείται στο οινοποιό.

#### 2.1.1. Εκθλιπτήρια

Είναι μηχανήματα που χρησιμοποιούνται για την θραύση των ρογών του σταφυλιού και την εκροή του γλεύκους. Ο σχεδιασμός των μηχανημάτων ποικίλοι ανάλογα με το μέγεθος της ρόγας αλλά και με την ποσότητα των σταφυλιών που δέχεται το οινοποιείο. Ανεξαρτήτως του τύπου του μηχανήματος που θα έχει επιλεγεί είναι αναγκαίο το κάθε εκθλιπτήριο να τηρεί τις παρακάτω προδιαγραφές έτσι ώστε να μπορέσει να δώσει ένα καλής ποιότητας κρασί (<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1068>).

- i. Η μηχανική κατεργασία η οποία θα γίνει δεν πρέπει να είναι βίαιη για να αποφευχθεί το σπάσιμο των φλοιών, των βοστρύχων και των γιγάρτων διότι έτσι θα αυξηθεί η ποσότητα της οινολάσπης με συνέπεια το γλεύκος να εμπλουτιστεί με επιβλαβείς ουσίες οι οποίες θα επηρεάσουν με τη σειρά τους την ποιότητα του κρασιού.
- ii. Καλής ποιότητας υλικά κατασκευής του μηχανήματος έτσι ώστε να μην γίνει εμπλουτισμός του γλεύκους με διάφορα μέταλλα.
- iii. Να υπάρχει ρύθμιση των αποστάσεων και σύστημα ασφαλείας στην περίπτωση εισόδου ξένων σωμάτων για παράδειγμα πέτρες, ξύλα.
- iv. Αθόρυβη λειτουργία του μηχανήματος

### **2.1.2. Εκραγιστήρια - Απορραγιστήρια**

Μετά το εκθλιπτήριο συνδέεται το απορραγιστήριο το οποίο χρησιμοποιείται για τον αποχωρισμό των βοστρύχων. Ο αποχωρισμός είναι αναγκαίο να γίνεται πάντα είτε πρόκειται για λευκή είτε πρόκειται για ερυθρή οινοποίηση, αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι αν παραμείνουν στο γλεύκος οι βόστρυχοι κατά τη ζύμωση το κρασί θα έχει στυφή και χορτώδη γεύση (<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1068>).

Πολλοί αμφισβητούν την λειτουργία και την αποτελεσματικότητα του αποραγιστήρα. Το κύριο πλεονέκτημα του μηχανήματος αυτού είναι ότι μειώνεται κατά 30% ο όγκος του υπό κατεργασία σταφυλοπολτού. Επίσης άλλο ένα πλεονέκτημα του απορραγιστήρα είναι η παρουσία του αέρα, ο οποίος ευνοεί την εξέλιξη της αλκοολικής ζύμωσης με αποτέλεσμα να ευνοείται η ανάπτυξη των ζυμομυκήτων. Τέλος, θετικά αποτελέσματα υπάρχουν και στην ζύμωση διότι απορροφάται μέρος της εκλυόμενης θερμότητας (<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1068>).

Τα εκραγιστήρια συνήθως συνδέονται με τα εκθλιπτήρια με στόχο να αποτελέσουν ένα ενιαίο μηχάνημα.

### **2.1.3. Στραγγιστήρια**

Το στραγγιστήριο είναι ένα μηχάνημα που χρησιμοποιείται για την διεργασία κυρίως των λευκών σταφυλιών και σε λίγες περιπτώσεις των μαύρων. Στις μαύρες ποικιλίες χρησιμοποιείται μόνο για την αποφυγή της λήψης χρώματος και τανίνης. Στην περίπτωση που είναι επιθυμητή η ύπαρξη του χρώματος και της τανίνης το γλεύκος μεταφέρεται αμέσως μαζί με τα στέμφυλα σε δεξαμενές για να λάβει χώρα η ζύμωση (<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1068>). Είναι όμως μία τεχνική που σπάνια εφαρμόζεται και είχε σαν στόχο τον ταχύτερο διαχωρισμό και την παραλαβή του γλεύκους. Έχει το πλεονέκτημα ότι είναι μία γρήγορη τεχνική αλλά συγχρόνως έχει και το μειονέκτημα ότι δίνει ένα γλεύκος που είναι πλούσιο σε λάσπη. Τα μηχανήματα χαρακτηρίζονται ως προπιαστήρι (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014, σελ 55).

### **2.1.4. Πιεστήρια**

Τα πιεστήρια διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

- i. Διακεκομμένης λειτουργίας ή ασυνεχή
- ii. Συνεχή

Στα ασυνεχή πιεστήρια περιλαμβάνονται τα υδραυλικά πιεστήρια τα οποία επιτυγχάνουν μία πάρα πολύ καλή πίεση. Τα υδραυλικά ασυνεχή πιεστήρια ανάλογα με το είδος της κατασκευής τους χωρίζονται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες οι οποίες είναι τα κάθετα πιεστήρια, τα οριζόντια πιεστήρια και τα πνευματικά πιεστήρια. Στα πνευματικά πιεστήρια ανήκουν τα πιεστήρια μεμβράνης τα οποία είναι τα πιο πρόσφατα πιεστήρια από τεχνολογικής άποψης. Διαθέτουν σύστημα για την κατακράτηση των στερεών με σκοπό το γλεύκος να εξέρχεται όσο το δυνατόν πιο διαυγές. Τα πιεστήρια μεμβράνης έχουν την δυνατότητα να λειτουργήσουν αυτόματα και κατά την λειτουργία τους να ασκούνται χαμηλές πιέσεις. Επιπλέον, έχουν το πλεονέκτημα μιας ήπιας μεταχείρισης του σταφυλιού. Τα πιεστήρια αυτά έχουν δύο βασικά μειονεκτήματα, το πρώτο είναι ότι ο χρόνος πίεσης του καρπού της σταφύλης

είναι μεγάλος με συνέπεια η εκχύμωση να είναι δύσκολη και το δεύτερο είναι ότι με τα μηχανήματα αυτά προκαλείται ισχυρός αερισμός του γλεύκους με αποτέλεσμα να δίνουν περισσότερες οινολάσπες από τα συνεχή (<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1068>).

Τα πιεστήρια συνεχούς λειτουργίας είναι πολλών τύπων, η λειτουργία τους στηρίζεται στον ατέρμονα κοχλία ο οποίος σπρώχνει τα σταφύλια προς την έξοδο (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014). Ακόμη μία παράμετρος που τα χαρακτηρίζει είναι ο αριθμός των οπών σε διάφορες αποστάσεις για την εκροή του γλεύκους. Από την 1<sup>η</sup> οπή εξέρχεται γλεύκος καλύτερης ποιότητας διότι δέχεται τη μικρότερη πίεση, η ποσότητά του αντιστοιχεί στο 60 – 70% της συνολικής ποσότητας. Από την 2<sup>η</sup> οπή λαμβάνεται γλεύκος δεύτερης ποιότητας το οποίο αντιστοιχεί στο 20 – 30% της συνολικής ποσότητας και στην 3<sup>η</sup> οπή εξέρχεται γλεύκος το οποίο είναι κατώτερης ποιότητας και αναλογεί στο 8 – 10% της συνολικής ποσότητας. Γενικά αυτού του είδους τα πιεστήρια χρησιμοποιούνται όταν υπάρχουν μεγάλες ποσότητες σταφυλιών. Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι για να παραληφθεί καλής ποιότητας γλεύκος πρέπει να διαχωριστεί της γλεύκος της 1<sup>ης</sup> οπής από τα άλλα δύο. Τέλος, είναι επιτακτική η ανάγκη να τονιστεί ότι το γλεύκος το οποίο παραλαμβάνεται είναι κατώτερης ποιότητας σε σύγκριση με το γλεύκος που παραλαμβάνεται από τα ασυνεχή πιεστήρια. Αυτό συμβαίνει γιατί τα στέμφυλα πολτοποιούνται και μεταδίδουν πηκτινικές, δεψικές, χρωστικές και λιπαρές ύλες από τα σπασμένα γίγαρτα (<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1068>).

#### **2.1.5. Αντλίες- ελαστικοί σωλήνες- φίλτρα διήθησης**

Αντλίες: χρησιμοποιούνται πολλών τύπων. Η κατασκευή των αντλιών είναι αναγκαίο να είναι από ανοξείδωτο χάλυβα. Υπάρχουν πολλών τύπων αντλίες όπως οι εμβολοφόροι αντλίες (παραδοσιακός τύπος αντλίας), οι φυγοκεντρικές αντλίες (ευρύτατα διαδεδομένες, ιδιαίτερα επιτυχή χρήση λόγω υψηλής απόδοσης και συνεχούς λειτουργίας) και οι μηχανικές – περιστροφικές αντλίες οι οποίες μοιάζουν με τις φυγόκεντρες (χρησιμοποιούνται στα σύγχρονα οινοποιεία) (<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1068>).

Ελαστικοί Σωλήνες: χρησιμοποιούνται για την σύνδεση των αντλιών, για τη μεταφορά του γλεύκους και προσαρμόζονται με τις διαμέτρους των αντλιών. Υπάρχουν δύο είδη σωλήνων οι σωλήνες απορρόφησης και οι σωλήνες απόδοσης. Επιπλέον είναι απαραίτητο να αναφερθεί ότι οι ελαστικοί σωλήνες πρέπει να υπάρχουν σε μεγάλη επάρκεια για πιο εύκολη μετάγγιση του γλεύκους και του κρασιού (<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1068>).

Φίλτρα Διήθησης: χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό μιας στερεάς και μιας υγρής φάσης. Γενικά το φίλτρο συγκρατεί την στερεή επιφάνεια ενώ το υγρό που εξέρχεται είναι διαυγές. Το πιο διαδεδομένο φίλτρο διήθησης είναι το φίλτρο με οριζόντιο κύλινδρο και κάθετες σίτες. Στο φίλτρο αυτό χρησιμοποιούνται και οι δύο πλευρές της σίτας και αποσυναρμολογείται εύκολα για καλύτερη πλύση. Άλλα φίλτρα που χρησιμοποιούνται είναι το φίλτρο με κάθετο κύλινδρο και οριζόντιες σίτες, το φίλτρο με κάθετο κύλινδρο και κάθετες σίτες, το φίλτρο με σωληνώσεις, διήθηση με φίλτρο πλακών και διήθηση με φίλτρα μεμβράνης (<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1068>).



### **2.1.6. Παστεριωτήρες ή θερμοαντήρες**

Οι παστεριωτήρες τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται όλο και λιγότερο. Η παστερίωση και η εμφιάλωση εν θερμό των οίνων όλο και εξαλείφεται με το πέρασμα του χρόνου και οι οινοποιοί εφαρμόζουν πλέον σύγχρονες τεχνικές διήθησης και διαύγασης.

«Η παστερίωση χρησιμοποιείται με σκοπό να καταστρέψει:

- Τα ενδογενή ένζυμα
- Τις βλαστικές μορφές όλων των παθογόνων μικροοργανισμών
- Τις βλαστικές μορφές των βακτηρίων, τις ζύμες και τους μύκητες που θα μπορούσαν να αλλοιώσουν το κρασί » (“Έπεξεργασία και συντήρηση τροφίμων”, Μπλούκας, 2004).

Τέλος, οι παστεριωτές οι οποίοι χρησιμοποιούνται είναι οι εναλλάκτες θερμότητας συνεχούς λειτουργίας και οι πλακοειδής εναλλάκτες θερμότητας (“Έπεξεργασία και συντήρηση τροφίμων”, Μπλούκας, 2004).

### **2.1.7. Δεξαμενές οινοποίησης**

Οι δεξαμενές οινοποίησης για την ζύμωση των λευκών κρασιών γίνεται σε «κλειστές» δεξαμενές, δηλαδή δεξαμενές που καταλήγουν σε ένα κυλινδρικό στόμιο με περιορισμένη διάμετρο. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης το καπάκι μένει ελάχιστα ανοιχτό με σκοπό την έκλυση του διοξειδίου του άνθρακα. Όταν τελειώσει η αλκοολική ζύμωση τότε το καπάκι κλείνει τελείως με στόχο να εμποδίσει την είσοδο του ατμοσφαιρικού αέρα στη δεξαμενή. Ορισμένες δεξαμενές διαθέτουν βαλβίδες για την εκτόνωση του διοξειδίου του άνθρακα. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι στις κλειστές δεξαμενές πρέπει να υπάρχει σύστημα ψύξης τύπου μανδύα, ώστε να διατηρηθεί η επιθυμητή θερμοκρασία στο εσωτερικό της δεξαμενής (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014, σελ 57).

Οι δεξαμενές ερυθρής οινοποίησης είναι παρόμοιες με αυτές της λευκής οινοποίησης. Υπάρχει το ενδεχόμενο να υπάρχουν μικρές διαφορές μεταξύ τους, γιατί στην ερυθρή οινοποίηση τα στέμφυλα παραμένουν για ορισμένο διάστημα μέσα στη δεξαμενή και μετά απομακρύνονται. Το καπάκι της μηχανής έχει τη δυνατότητα να βυθιστεί μέσα στη δεξαμενή. Αυτή η ενέργεια συμβαίνει κατά την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, τα στέμφυλα βυθίζονται ελάχιστα χλιοστά κάτω από την επιφάνεια του γλεύκους. Τα στέμφυλα παραμένουν βυθισμένα καθ' όλη την διάρκεια της ζύμωσης έτσι ώστε η επιφάνεια επαφής με τον αέρα να είναι περιορισμένη. Με τον παραπάνω τρόπο επιτυγχάνεται η διαρκής ανανέωση του αέρα με αποτέλεσμα να αποτρέπεται η ανάπτυξη αερόβιων βακτηρίων (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

## **2.2. Λευκή και ερυθρή οινοποίηση**

### **2.2.1. Λευκή οινοποίηση**

Στη λευκή οινοποίηση η αλκοολική ζύμωση λαμβάνει χώρα απουσία των στεμφύλων. Αυτό επιτυγχάνεται λόγω της γρήγορης εξαγωγής του γλεύκους από τα στέμφυλα με την βοήθεια των πιεστηρίων (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014, σελ 47).

Τα σταφύλια είναι απαραίτητο να πάνε στο οινοποιείο απευθείας μετά τον τρύγο και να έχουν ληφθεί τα κατάλληλα μέτρα ώστε να μην επέλθει σπάσιμο των ρογών τόσο στο αμπέλι όσο και στο εργοστάσιο (“Οινολογία, αναλύσεις οινών και ποτών”, Δαμηλάκος, 1990). Αφού φτάσουν τα σταφύλια στο οινοποιείο τοποθετούνται στο εκθλιπτήριο – εκραγιστήριο όπου γίνεται η θραύση των ρογών του σταφυλιού και η εκροή του γλεύκους, ενώ οι βόστρυχοι απομακρύνονται από το αντίθετο άκρο. Πρέπει να γίνει σπάσιμο των φλοιών και να αποφευχθεί το σπάσιμο των γιγάρτων τα οποία θα απέδιδαν μία στυφή γεύση στο κρασί. Σε αυτό το σημείο γίνεται και η θείωση του γλεύκους αμέσως μετά το σπάσιμο των ρογών και την εκροή του χυμού και πριν την μεταφορά του στο πιεστήριο (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014, σελ 61).

Μετά το εκθλιπτήριο και το εκραγιστήριο και πριν οι βόστρυχοι προωθηθούν προς την έξοδο πιέζονται και στραγγίζονται στα πιεστήρια με σκοπό να μην παραμείνει καμία ρόγα πάνω στο βόστρυχο για να πάρουμε όλο το γλεύκος χωρίς όμως να περάσουν ρόγες και κοτσάνια τα οποία θα τεμαχιστούν και θα διέλθουν μαζί με το χυμό στα επόμενα στάδια της οινοποίησης γιατί έτσι δημιουργείται ένα κακής ποιότητας γλεύκος με αποτέλεσμα να υποβαθμίσει την ποιότητα του οίνου (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Στη συνέχεια και αφού απομακρυνθούν τα στέμφυλα το γλεύκος μεταγγίζεται σε δεξαμενή όπου ψύχεται και παραμένει περίπου μία νύχτα. Η διαδικασία αυτή κατά την οποία το ψυγμένο γλεύκος διαυγάζεται ονομάζεται απολάσπωση. Η απολάσπωση λαμβάνει χώρα πριν την αλκοολική ζύμωση και έχει σκοπό την απομάκρυνση των στερεών σωματιδίων που αιωρούνται στο γλεύκος και είναι ικανά να δώσουν στο κρασί μία χορτώδη γεύση. Η διαδικασία αυτή διαρκεί περίπου 12 – 14 ώρες (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014, σελ 39).

Το γλεύκος έπειτα μεταφέρεται σε άλλη δεξαμενή στην οποία γίνεται η οινοποίηση δηλαδή η μετατροπή του γλεύκους σε κρασί. Αυτή η διαδικασία λαμβάνει χώρα χάρη στην βοήθεια των ζυμών – μονοκύτταροι οργανισμοί που βρίσκονται στον φλοιό του σταφυλιού και κατά την έκθλιψη πέρασαν στον σταφυλοπολτό αυτή η διαδικασία ονομάζεται φυσική αλκοολική ζύμωση. Αντίθετα εάν τα στέμφυλα που είχαν έρθει στο οινοποιείο είχαν λάσπη τότε αυτή η λάσπη πέρασε και στο γλεύκος κατά την έκθλιψη. Με την διαδικασία της απολάσπωσης έχει απομακρυνθεί αρκετή λάσπη από το γλεύκος και κατ' επέκταση και μεγάλο μέρος των ζυμών αλλά και άλλων συστατικών του γλεύκους όπως οι στερόλες που ενεργοποιούν την αύξηση των ζυμών. Για αυτό το λόγο η αλκοολική ζύμωση δεν έχει την δυνατότητα να αρχίσει μόνη της αλλά πρέπει να γίνει προσθήκη ζυμομυκήτων από τον οινοποιό για την ενεργοποίησή της. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται ελεγχόμενη αλκοολική ζύμωση. Είναι απαραίτητο να αναφερθεί ότι κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης στην λευκή οινοποίηση δεν γίνεται εκχύλιση (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που είναι απαραίτητο να ληφθεί υπ' όψιν κατά την διαδικασία της λευκής οινοποίησης είναι η θερμοκρασία του γλεύκους κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Βασική προϋπόθεση για την ζύμωση των λευκών κρασιών είναι η ζύμωση να κυμαίνεται σε θερμοκρασίες ανάμεσα στους 16 – 20° C. Για να είναι ελεγχόμενη η θερμοκρασία στις δεξαμενές όπου γίνεται η αλκοολική ζύμωση υπάρχουν ψυκτικά μηχανήματα τα οποία ρυθμίζουν την θερμοκρασία από

τους 45°C όπου αναπτύσσονται αυτού του είδους οι ζύμες στην επιθυμητή θερμοκρασία (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014, σελ 85).

Μετά το τέλος της παραπάνω διαδικασίας η οποία διαρκεί περίπου ένα μήνα το καθαρό πλέον κρασί ωριμάζει σε άλλη δεξαμενή ή ακόμη καλύτερα σε δρύινα βαρέλια. Έπειτα γίνονται οι κατάλληλοι έλεγχοι για την οινολογική κατάσταση του κρασιού έτσι ώστε να προληφθούν τυχόν ασθένειες που μπορεί να έχουν παρουσιαστεί. Τέλος το κρασί εμφιαλώνεται σε γυάλινες κατά προτίμηση φιάλες και είναι έτοιμο για κατανάλωση.

### **2.2.2 Ερυθρή οينوποίηση**

Στην ερυθρή οينوποίηση η αλκοολική ζύμωση λαμβάνει χώρα παρουσία των στεμφύλων με σκοπό να παραλάβει από αυτά τα επιθυμητά χρωστικά, γευστικά και αρωματικά συστατικά (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014, σελ 95).

Όπως και στην λευκή έτσι και στην ερυθρή οينوποίηση το πρώτο στάδιο είναι η έκθλιψη και ο απορραγισμός των στεμφύλων. Με το σπάσιμο των φλοιών είναι αναγκαίο να αποφευχθεί και το σπάσιμο των γιγάρτων τα οποία θα αποδώσουν μία στυφή γεύση στο κρασί. Έτσι στην συνέχεια γίνεται η μεταφορά του γλεύκους σε δεξαμενές όπου θα γίνει η ζύμωση (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014). Μαζί με το γλεύκος μεταφέρεται και ο σταφυλοπολτός ο οποίος θα δώσει στο γλεύκος εκτός από τα χρωστικά τα φαινολικά και τα αρωματικά συστατικά (“Θέματα Οινολογίας”, Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Πριν τη μεταφορά του γλεύκους και του σταφυλοπολτού στις δεξαμενές γίνεται και η προσθήκη του θειώδους ανυδρίτη για την αποφυγή οξειδώσεων αλλά και την αποφυγή από τα βακτήρια. Στη συνέχεια ακολουθεί η οينوποίηση δηλαδή η διαδικασία της μετατροπής του γλεύκους σε κρασί. Αυτή η διαδικασία οφείλεται στις ζύμες οι οποίες υπάρχουν στον φλοιό του σταφυλιού και έχουν περάσει στον σταφυλοπολτό (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Εάν οι ζύμες που υπάρχουν στον σταφυλοπολτό δεν είναι ικανές να ενεργοποιήσουν την αλκοολική ζύμωση (λίγο δύσκολο για την ερυθρή οينوποίηση) χρησιμοποιούνται επιλεγμένες ζύμες με τις οποίες εμβολιάζεται το γλεύκος προκειμένου να υπάρχει καλύτερος έλεγχος της ζύμωσης και κατ' επέκταση των επιθυμητών χαρακτηριστικών του κρασιού. Κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης το διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) που εκλύεται δημιουργεί ισχυρή πίεση με αποτέλεσμα τα στερεά που περιέχει ο σταφυλοπολτός να ενώνονται σε μία συνεκτική μάζα που ονομάζεται «καπέλο» και καταλαμβάνει το επάνω μέρος της δεξαμενής (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Ο ερυθρός οίνος οφείλει το χρώμα του στις ερυθρές χρωστικές ουσίες οι οποίες βρίσκονται στο εσωτερικό των φλοιών του σταφυλιού. Το επιθυμητό αποτέλεσμα δίνεται από την επαφή του γλεύκους με την σταφυλομάζα στην σωστή θερμοκρασία και για καθορισμένο χρονικό διάστημα. Αυτό επιτυγχάνεται με την διαδικασία της ανακύκλωσης η οποία μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους όπως με την βοήθεια μιας αντλίας και ενός σωλήνα που παίρνουν το γλεύκος από τον πυθμένα της δεξαμενής και το ρίχνουν στην επιφάνεια της. Η διαδικασία αυτή γίνεται γιατί στην επιφάνεια της δεξαμενής υπάρχει σταφυλοπολτός με σκοπό να εκχυλιστούν από

αυτόν οι χρωστικές και οι αρωματικές ουσίες που υπάρχουν στους φλοιούς των σταφυλιών (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Ένας άλλος τρόπος είναι να χρησιμοποιηθούν κυλινδρικές οριζόντιες περιστροφικές δεξαμενές τύπου μπετονιέρα που με την βοήθεια μοτέρ και τεσσάρων μικρών τροχών διευκολύνεται η ανάμειξη των στεμφύλων με το γλεύκος. Τέλος ένας άλλος τρόπος που χρησιμοποιείται είναι μία κατακόρυφη δεξαμενή η οποία στο επάνω μέρος διαθέτει ένα έμβολο το οποίο βυθίζει την σταφυλομάζα που είναι στην επιφάνεια ελάχιστα εκατοστά κάτω από το γλεύκος. Με τις παραπάνω διαδικασίες διαβρέχονται τα στέμφυλα ρυθμίζοντας κατάλληλα το χρόνο της εκχύλισης που δημιουργεί το επιθυμητό χρώμα. Ο χρόνος της εκχύλισης μπορεί να διαρκέσει από ελάχιστες μέρες έως αρκετές εβδομάδες (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας για την ερυθρή οινοποίηση είναι η θερμοκρασία στην οποία γίνεται η αλκοολική ζύμωση. Οι ιδανικές θερμοκρασίες κυμαίνονται ανάμεσα στους 25 – 30° C. Οι θερμοκρασίες όμως που δημιουργούνται είναι πολύ μεγαλύτερες από αυτές για το λόγο αυτό οι δεξαμενές πρέπει να ψυχθούν είτε με βρέξιμο με κρύο νερό είτε με το να τοποθετηθούν ψυκτικά μέσα (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Μόλις το γλεύκος αποκτήσει τα επιθυμητά χαρακτηριστικά διαχωρίζεται από τα στέμφυλα συνήθως με την βοήθεια της βαρύτητας. Μεταφέρεται σε άλλη δεξαμενή στην οποία θα ολοκληρωθεί η αλκοολική ζύμωση (εάν δεν έχει ήδη ολοκληρωθεί) και θα λάβει χώρα η μηλογαλακτική ζύμωση. Γενικά ο διαχωρισμός του γλεύκους από τα στέμφυλα πρέπει να γίνεται όσο διαρκεί η έντονη έκλυση του διοξειδίου του άνθρακα η οποία εμποδίζει την εισαγωγή του ατμοσφαιρικού αέρα (“Θέματα Οινολογίας”, Κουράκου-Δραγώνα, 1998)

"Μηλογαλακτική ζύμωση είναι η μετατροπή του μηλικού οξέος από τα γαλακτικά βακτήρια σε γαλακτικό οξύ" (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014). Μια αλλαγή που «μαλακώνει» το κρασί, μειώνει τον άγουρο χαρακτήρα του και βοηθά στην ωρίμανσή του. Κατά τη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης μπορεί να γίνει και προσθήκη θειώδους ανυδρίτη για να μην επέλθει οξειδωση στο κρασί. Το κρασί που θα πάρουμε λέγεται κρασί εκροής (“Θέματα Οινολογίας”, Κουράκου-Δραγώνα, 1998)

Στη συνέχεια τα στέμφυλα μεταφέρονται έξω από τη δεξαμενή και πιέζονται στα πιεστήρια. Το κρασί που θα μας δοθεί ονομάζεται κρασί πίεσης και συνήθως οδηγείται σε απόσταξη. Στην συνέχεια γίνονται οι κατάλληλοι έλεγχοι στο κρασί για παράδειγμα έλεγχος και συμπλήρωση της περιεκτικότητας του θειώδη ανυδρίτη, μικροοξυγόνωση (σε κρασιά με υψηλό φαινολικό δυναμικό) και αφαίρεση του πλεονάζοντος διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) με την βοήθεια αζώτου. Τέλος το κρασί μεταγγίζεται σε δρύινα βαρέλια στα οποία ωριμάζει ή σε γυάλινα μπουκάλια μέχρι την κατανάλωσή του (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup>: ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ

Ο οίνος χαρακτηρίζεται ως ένα πολυσύνθετο υδρο-αλκοολικό διάλυμα το οποίο περιέχει ένα μεγάλο σύνολο χημικών ενώσεων. Το κυριότερο συστατικό του οίνου είναι το νερό το οποίο κατέχει ποσοστό 80 – 85%. Το υπόλοιπο 15 – 20% συμπληρώνεται από οργανικά και ανόργανα συστατικά. Επιπλέον είναι αναγκαίο να αναφερθεί ότι τα βασικά αρωματικά και γευστικά χαρακτηριστικά ενός κρασιού εξαρτώνται από ένα πλήθος 20 ενώσεων.

Παρακάτω θα αναφερθούν ορισμένες από τις βασικότερες ενώσεις που εμφανίζονται στο κρασί και διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην δημιουργία του.

### 3.1 Οργανικά οξέα

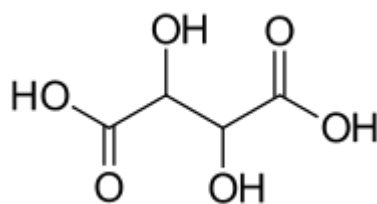
Τα οργανικά οξέα αποτελούν μια σπουδαία ομάδα συστατικών των οινών και συνισφέρουν στην σταθερότητα, στην σύσταση και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οινών. Επίσης τα οργανικά οξέα βελτιώνουν την μικροβιολογική και φυσικοχημική σταθερότητα του κρασιού. Γενικά παρατηρούμε ότι το γλεύκος και κατ'έπείταση ο οίνος αποτελούνται από ανόργανα και οργανικά οξέα (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι τα οργανικά οξέα ρυθμίζουν την ολική ή την ογκομετρούμενη οξύτητα και το pH του γλεύκους και του οίνου. Άλλος ένας παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψιν είναι η υψηλή οξύτητα ή το χαμηλό pH τα οποία συνισφέρουν στην αρνητική ανάπτυξη των διαφόρων μικροοργανισμών και των βακτηρίων τα οποία αλλοιώνουν και υποβαθμίζουν την ποιότητα του οίνου. Άρα από την περιεκτικότητα του οίνου σε οργανικά οξέα θα καθοριστεί και η προστασία του κρασιού από τις μικροβιολογικές αλλαγές. Επίσης είναι αναγκαίο να αναφερθεί ότι το χαμηλό pH ασκεί ευνοϊκή επίδραση στην ζωηρότητα του χρώματος σε κάθε οίνο (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 121). Επιπλέον είναι επιτακτική ανάγκη να αναφερθεί ότι τα οργανικά οξέα που περιέχονται στον οίνο έχουν διπλή προέλευση. Ένα μέρος από αυτά προέρχεται από το σταφύλι ενώ τα υπόλοιπα σχηματίζονται κατά την διάρκεια των ζυμώσεων του γλεύκους και τοιχόν μικροβιολογικών προσβολών γλεύκους και οίνου (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 122).

Τα τρία κυριότερα οργανικά οξέα του σταφυλιού είναι το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό οξύ.

#### 3.1.1 Τρυγικό οξύ

Το τρυγικό οξύ είναι ένα φυσικό οργανικό καρβοξυλικό οξύ με χημικό τύπο  $C_4H_6O_6$  είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα οξέα φρούτων το οποίο συναντάται κυρίως στα σταφύλια και είναι ένα από τα βασικά οξέα του κρασιού. Διαθέτει δύο άτομα άνθρακα τα οποία είναι ασύμμετρα μεταξύ τους. Το φυσικό τρυγικό οξύ του γλεύκους, του οίνου και της σταφύδας είναι το D - τρυγικό οξύ και θεωρείται ως το ειδικό οξύ του σταφυλιού (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 123).



Εικόνα 2: Τρυγικό οξύ

Το τρυγικό οξύ θεωρείται το σπουδαιότερο και το πιο ισχυρό από τα σταθερά οξέα του οίνου και επηρεάζει σημαντικά την ενεργό οξύτητα δηλαδή το pH του οίνου. Επίσης το τρυγικό οξύ είναι το πιο ανθεκτικό σε σύγκριση με τα υπόλοιπα στις βακτηριακές προσβολές. Γενικότερα η αποτελεσματικότητα του τρυγικού οξέος στην αύξηση της οξύτητας και η ανθεκτικότητα του στους μικροοργανισμούς συντελούν ώστε το οξύ αυτό να είναι εκείνο που ενδύκνυτε περισσότερο όταν κρίνεται αναγκαία η αύξηση της οξύτητας της σταφυλομάζας (“Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 123-124).

Τέλος, η περιεκτικότητα του σταφυλιού σε τρυγικό οξύ κυμαίνεται περίπου σε 15 g/L. Με το πέρασμα όμως των ημερών επέρχεται ωρίμανση στο σταφύλι με αποτέλεσμα ένα μέρος του τρυγικού οξέος να καταστρεί και αυτό που απομένει να διαλύεται σε ποσότητα νερού. Στην συνέχεια οι ρόγες διογκώνονται χάρη στο νερό και η περιεκτικότητα του τρυγικού οξέος στο ώριμο πια σταφύλι κυμαίνεται στο 7,5 g/L (“Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία”, Σουφλερός, 2000).

### 3.1.2 Μηλικό οξύ

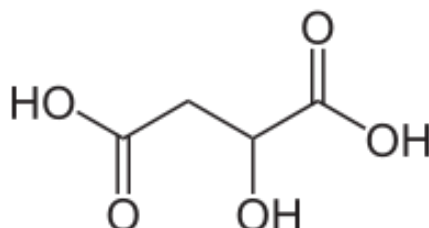
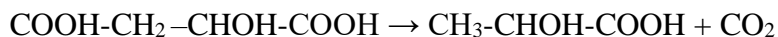
Το μηλικό οξύ είναι πολύ διαδεδομένο στη φύση, υπάρχει στα φύλλα και στους καρπούς των φυτών. Το μηλικό οξύ που χρησιμοποιείται στο κρασί είναι L-ισομερές (Σουφλερός 128). Η περιεκτικότητα στα άγουρα σταφύλια κυμαίνεται στο 15 – 25 g/L σε αντίθεση με τα ώριμα σταφύλια που κυμαίνεται στα 2 – 4 g/L.

Το οξύ αυτό χαρακτηρίζεται ως ευπαθές και είναι πιο επηρεπείς στην προσβολή από ζύμες και βακτήρια. Επιπλέον η περιεκτικότητά του του οξέος μεταβάλλεται σημαντικά ανάλογα με την ποικιλία της αμπέλου αλλά και με τις καιρικές συνθήκες (“Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία”, Σουφλερός, 2000). Για το λόγο που αναφέρθηκε το μηλικό οξύ κατέχει σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση του σταφυλιού και κατ'επέκταση στην επεξεργασία του οίνου (“Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 128). Επίσης τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός οίνου αλλάζουν με την επίδραση του μηλικού οξέος υιοθετώντας μια χωρτόδη οσμή και γεύση και μια στυφάδα στο κρασί.

Όταν λάβει χώρα η αλκοολική ζύμωση και εφόσον γίνει από τις συνηθισμένες ζύμες η μεταβολή της περιεκτικότητας του μηλικού οξέος θα είναι σχεδόν μηδενική. Μερικές ζύμες όμως όπως για παράδειγμα ο *Schizosaccharomyces pombe* μετατρέπουν το μηλικό οξύ σε αλκοόλη:



Η παραπάνω αντίδραση ονομάζεται μηλοαλκοολική ζύμωση. Εκτός όμως από την μηλοαλκοολική ζύμωση υπάρχει και η μηλογαλακτική ζύμωση κατά την οποία όταν λάβει χώρα η αλκοολική ζύμωση και η θείωση του γλεύκους είναι μικρότερη από την συνηθισμένη. Ορισμένα γαλακτικά βακτήρια μετατρέπουν το μηλικό σε γαλακτικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα.

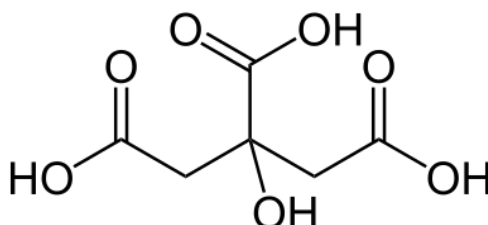


Εικόνα 3: Μηλικό οξύ

### 3.1.3 Κιτρικό οξύ

Το κιτρικό οξύ όπως είναι γνωστό είναι το οξύ του λεμονιού και των εσπεριδοειδών, υπάρχει σε μικρές ποσότητες στο σταφύλι της τάξεως των 0,5 g/L. Είναι γνωστό ότι διαθέτει σε μεγάλο βαθμό την ιδιότητα των υδροξυοξέων. Υδροξυοξέα ονομάζονται ενώσεις που περιέχουν στο μόριό τους ένα ή περισσότερα καρβοξύλια (-COOH) και ένα ή περισσότερα υδροξύλια(-OH) (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 130).

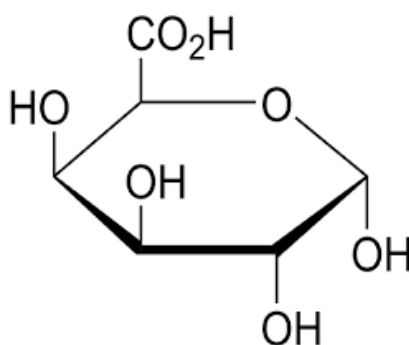
Επίσης το κιτρικό οξύ χρησιμοποιείται για την άνοδο της ολικής οξύτητας, για την βελτίωση της γεύσης των οίνων, για την διόρθωση της οξύτητας. Η χρήση του κιτρικού οξέος ενδிகνύεται μόνο για το γλεύκος και αποφεύγεται η προσθήκη στους ερυθρούς οίνους. Αν επιτραπεί η χρήση του κιτρικού οξέος για τους ερυθρούς οίνους γίνεται με πάρα πολλές επιφυλάξεις. Αυτό συμβαίνει γιατί το κιτρικό οξύ είναι ένα οξύ με πολύ μικρή σταθερότητα σε σχέση με τα γαλακτικά βακτήρια με τον φόβο να αποσυντεθεί από αυτά και κατ'επέκταση να αυξηθεί η πτητική οξύτητα. σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι η ποσότητα που επιτρέπεται να προστεθεί σ'έναν οίνο είναι περίπου 50 g/hl. Τέλος προσοχή πρέπει να δοθεί εάν γίνει προσθήκη νερού γιατί είναι αναγκαίο να ληφθεί υπόψιν ότι το κιτρικό οξύ κρυσταλλοποιείται με ένα μόριο νερού (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 130).



Εικόνα 4: Κιτρικό οξύ

### 3.1.4 Γαλακτουρονικό οξύ

Το γαλακτουρονικό οξύ προέρχεται από το σταφύλι και περιέχεται στα γλεύκη και στους οίνους. Προκύπτει από την υδρόλυση των πηκτινικών υλών οι οποίες βρίσκονται στον παρεγχυμοτικό ιστό των ρογών του σταφυλιού. Η υδρόλυση η οποία συμβαίνει γίνεται με την βοήθεια των πηκτινολατικών ενζύμων και δίνει ως αποτέλεσμα γαλακτουρονικό οξύ. Είναι όμως αναγκαίο να ληφθεί υπ' όψιν και άλλη μία παράμετρος ορισμένες από τις καρβοξυλομάδες των πηκτινών είναι εστεροποιημένες με συνέπεια η υδρόλυση η οποία συμβαίνει με τα πηκτινολυτικά ένζυμα δίνει ως αποτέλεσμα γαλακτικό οξύ και μεθανόλη. Τέλος πρέπει να αναφερθεί ότι ο σχηματισμός το γαλακτορονικού οξέος και της μεθανόλης αρχίζει με το σπάσιμο των ρογών κατά τα οποία τα πηκτινολυτικά ένζυμα έρχονται σε επαφή με τις πηκτίνες (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 132).

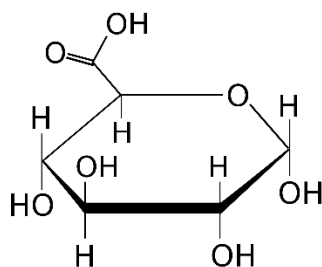


Εικόνα 5: D - γαλακτουρονικό οξύ

### 3.1.5 Γλυκουρονικό οξύ

Προκύπτει από την ενζυμική οξείδωση της γλυκόζης και περιέχεται στα γλεύκη και στους οίνους σε μικρές ποσότητες. Οι απόψεις για την περιεκτικότητα του γλυκουρονικού οξέος στα γλεύκη και στους οίνους συγκρούονται μεταξύ τους. Ορισμένοι ισχυρίζονται ότι βρίσκονται σε ποσότητα μέχρι 1,3 g/L ενώ άλλοι υποστηρίζουν ότι κατέχουν μόνο το 5% του συνόλου των ουρονικών οξέων (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 132). Επίσης είναι σημαντικό να τονιστεί ότι με τις συνηθισμένες μεθόδους ρποσδιορισμού των σακχάρων υπολογίζεται το σύνολο των ελεύθερων αλδεϋδων -CHO και κετονομάδων -CO χωρίς όμως να διακρίνεται καθαρά εάν αυτές ανήκουν στα ζυμώσιμα σάκχαρα των οινών όπως η γλυκόζη και η φρουκτόζη ή στα σάκχαρα τα οποία δεν ζυμώνονται που είναι οι πεντόζες και η αραβινόζη. Επίσης είναι πιθανόν να ανήκουν στα γαλακτουρονικό οξύ ή και σε άλλες καρβονυλικές ενώσεις. Τέλος είναι απαραίτητο να τονιστεί ότι σε έναν οίνο ο οποίος έχει φτάσει στο στάδιο της εμφιάλωσης (χωρίς τον φόβο της αναζύμωσης) δεν πρέπει να περιέχει περισσότερα από 0,5 - 1 g/L πραγματικά αναγωγικά ζυμώσιμα σάκχαρα (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 132).

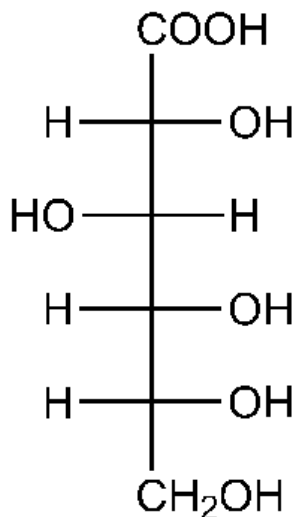




Εικόνα 6 : Γλυκουρονικό οξύ

### 3.1.6 Γλυκονικό οξύ

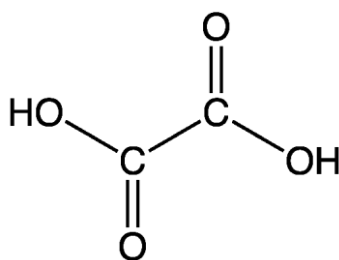
Προέρχεται από την οξείδωση της αλδεϋδικής ομάδας της γλυκόζης με την βοήθεια του ενζύμου της γλυκοζο – οξειδάσης. Η γλυκοζο – οξειδάση εμφανίζεται κυρίως στις μούχλες. Προέρχεται κυρίως από τα σταφύλια που είναι προσβεβλημένα από τον μύκητα *Botrytis cinerea* και στην συνέχεια περνάει στα γλεύκη με την εξαγωγή του χυμού κατά την έκθλιψη του σταφυλιού. Η περιεκτικότητά τους ανέρχεται σε ποσοστό 0,12 g/L από γλεύκη που πέρχονται από υγιή σταφύλια. Εάν το γλεύκος προέρχεται από σταφύλια τα οποία είναι έστω και ελαφρά προσβεβλημένα από μύκητες με αποτέλεσμα να προέλθει η σήψη τότε η περιεκτικότητά τους ανέρχεται σε ποσοστό από 0,3- 0,8 g/L και από 0,5- 2,5 g/L. Τέλος, άλλα οξέα που προέρχονται από σταφύλια προσβεβλημένα από οξικά βακτήρια και ψευδομονάδες είναι το βλεννικό οξύ, το κετο 2 – γλυκονικό οξύ, το δικετο – 2,5 γλυκονικό οξύ (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).



Εικόνα 7 : Γλυκονικό οξύ

### 3.1.7 Οξαλικό οξύ

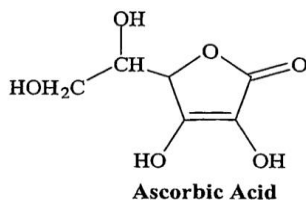
Συναντάται στο γλεύκος των σταφυλιών αλλά σχηματίζεται και με την οξείδωση του τρυγικού οξέος. Είναι αναγκαίο να τονιστεί ότι υπάρχει στο κρασί σε μικρές δόσεις σε ποσοτό περίπου 0 – 0,6 g/L.



Εικόνα 8 : Οξαλικό οξύ

### 3.1.8 Ασκορβικό οξύ

Το ασκορβικό οξύ δεν βρίσκεται στον οίνο αλλά υπάρχει στο γλεύκος σε ποσοστό 50 – 100 mg/L. Αυτό συμβαίνει γιατί το ασκορβικό οξύ ή αλλιώς η βιταμίνη C καταναλίσκεται από τις ζύμες κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Επιτρέπει να προστεθεί στους οίνους σε δόσεις και σε ποσοστό όχι μεγαλύτερο από 100 mg/L. Το ασκορβικό οξύ προστατεύει τον οίνο κατά την οξείδωση λόγω της μεγάλης ταχύτητας με την οποία οξειδώνεται, επιπλέον εμποδίζει την οξείδωση του δισθενή σιδήρου σε τρισθενή εμποδίζοντας έτσι τον σχηματισμό θολωμάτων σιδήρου στους οίνους. Τέλος άλλο ένα πλεονέκτημα του ασκορβικού οξέος είναι ότι προστατεύει από την οξείδωση τα αρωματικά στοιχεία του οίνου με αποτέλεσμα να διατηρείται η φρεσκάδα και το άρωμα του σταφυλιού (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).



Εικόνα 9 : Ασκορβικό οξύ

### 3.2 Πτητικά οξέα

Τα πτητικά οξέα τα οποία αποτελούν την πτητική οξύτητα τα βρίσκονται κυρίως στους οίνους, υπάρχουν σε μικρές ποσότητες και στα γλεύκη. Από τα πτητικά οξέα εξαιρούνται το ηλεκτρικό, το γαλακτικό και το σορβικό τα οποία ανήκουν στα σταθερά οξέα αν και παρουσιάζουν μία μικρή πτητικότητα. Πρόκειται για κορεσμένα μονοακόρεστα οξέα από 2 έως 12 άτομα άνθρακα, τα μονοακόρεστα οξέα(λιπαρά οξέα) που περιέχουν από 2 έως 5 άτομα άνθρακα είναι ουδέτερα στην όσφρηση αλλά δίνουν εξαιρετικούς αρωματικούς εστέρες (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Γενικά καλό είναι να τονιστεί ότι οι πτητικές ενώσεις που υπάρχουν στα σταφύλια συνεισφέρουν στην φρέσκια και φρουτώδη γεύση του οίνου. Κατά την διάρκεια της ωρίμανσης η πτητική σύνθεση των σταφυλιών ποικίλοι και παρουσιάζεται μία

βέλτιστη αναλογία μεταξύ σακχάρων και οξέων (Eva Sanched-Palomo, M. Consuelo Diaz-Maroto et al, 2005)

Τα κυριότερα πηκτικά οργανικά οξέα είναι το οξικό οξύ σε ποσοστό 90 – 95%, το μυρμηκικό οξύ, το προπιονικό οξύ και το ισοβουτυρικό οξύ.

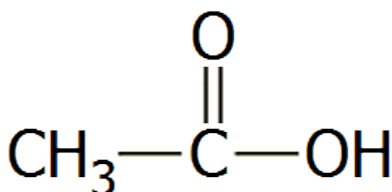
### 3.2.1 Οξικό οξύ

Η παραγωγή του οξικού οξέος γίνεται με τις βακτηριακές προσβολές των οινών και το ποσοστό της περιεκτικότητας της αποτελεί κριτήριο για την υγιεινή κατάσταση, για τις συνθήκες οινοποίησης και για τις συνθήκες διατήρησης. Το οξικό οξύ μπορεί να δώσει πολλές πληροφορίες για το παρελθόν ενός οίνου, για παράδειγμα τα ίχνη που άφησε μία ασθένεια ή μία αποτυχημένη οινοποίηση και συντήρηση του. Επίσης, έχει την δυνατότητα να υποβαθμίσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου και να προσδώσει μία δυσάρεστη οσμή στο κρασί (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 143).

Είναι αναγκαίο να τονιστεί ότι τα χαρακτηριστικά του ξυδιού οφείλονται στον οξικό αιθυλεστέρα και όχι στο οξικό οξύ. Ο σχηματισμός του οξικού αιθυλεστέρα εξαρτάται:

- Από την ικανότητα των διάφορων ζυμών να εστεροποιούν το οξικό οξύ
- Από το μέγεθος προσβολής από τα οξικά βακτήρια
- Από τις συνθήκες παλαίωσης

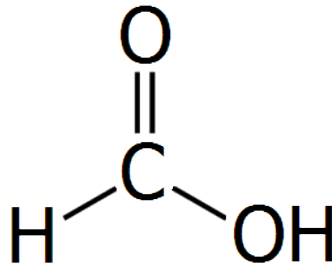
Τέλος είναι επιτακτική ανάγκη να αναφερθεί ότι δύο οίνοι που έχουν την ίδια πηκτική οξύτητα μπορεί να έχουν διαφορετική περιεκτικότητα σε οξικό αιθυλεστέρα άρα και διαφορετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).



Εικόνα 10 : Οξικό οξύ

### 3.2.2 Μυρμηκικό οξύ

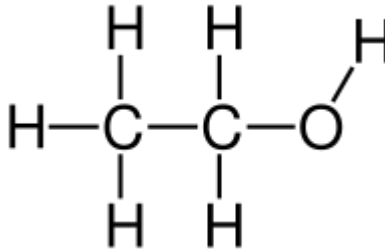
Το μυρμηκικό οξύ προέρχεται από το γλεύκος των σταφυλιών και η περιεκτικότητά του κυμαίνεται από κλάσματα mg μέχρι μερικές δεκάδες mg/L.



Εικόνα 11 : Μυρμηκικό οξύ

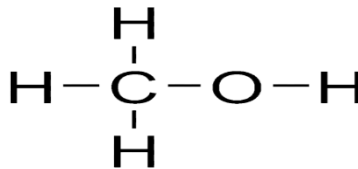
### 3.3 Αλκοόλες

Η αιθανόλη μετά το νερό αποτελεί το κύριο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης και είναι η πιο σημαντική αλκοόλη του οίνου. καταλαμβάνει το 10 – 16% του όγκου του. Το ποσοστό αυτό μπορεί να αυξηθεί σε ορισμένους οίνους με ειδικά χαρακτηριστικά ή να υπάρξουν υψηλότερες συγκεντρώσεις που μπορούν να επιτευχθούν με την προσθήκη σακχάρων ή συμπυκνωμένου γλεύκους.



Εικόνα 12 : Αιθανόλη

Η αιθυλική αλκοόλη αποτελεί κύριο προϊόν του μεταβολισμού των σακχάρων από τις ζύμες. Η παραγωγή της ελέγχεται από τα σάκχαρα, τη θερμοκρασία που έχει γίνει οινοποίηση και το γένος των ζυμών που χρησιμοποιούνται. Συνήθως χρησιμοποιείται ο *Saccharomyces cerevisiae* λόγω της μεγάλης αντοχής του. Γενικά μέσω της επίδρασης που χαρακτηρίζει την αιθυλική αλκοόλη στην μεταβολική δραστηριότητα των ζυμών καθορίζει το είδος και την ποσότητα των αρωματικών ενώσεων που παράγονται. Επιπλέον αποτελεί αντιδρών για τον σχηματισμό σημαντικών πτητικών ουσιών (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).



\*\*IMAGENES DE REFERENCIAS

Εικόνα 13 : Αιθυλική αλκοόλη ή Μεθανόλη

Η αιθανόλη κατέχει πρωτεύουσα σημασία για την σταθεροποίηση του οίνου, την παλαίωση του καθώς και για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Επίσης μαζί με τα ανάγοντα σάκχαρα και την γλυκερόλη αποτελούν τα γλυκά συστατικά του

κρασιού. Όλα αυτά μαζί μετριάζουν την όξινη γεύση από τα οξέα και την πικράδα από τις φαινολικές ενώσεις δίνοντας την χαρακτηριστική γεύση του κάθε οίνου.

Είναι αναγκαίο να αναφερθεί ότι η παρουσία της αιθανόλης δημιουργεί ένα αφυδατωμένο περιβάλλον που με την σειρά του δεν επιτρέπει την κροκίδωση των υδρόφιλων κολλοειδών, των πρωτεϊνών και των πολυσακχαριτών. Ταυτόχρονα προσδίδει και ένα απολυμαντικό χαρακτήρα ο οποίος σε συνδυασμό με την οξύτητα δίνει την δυνατότητα στο κρασί να διατηρηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Η μεθυλική αλκοόλη δεν είναι προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης και βρίσκεται στο κρασί σε πολύ μικρές ποσότητες. Μεταβολίζεται σε φορμαλδεΰδη και φορμικό οξύ τα οποία έχουν μία τοξική δράση και για αυτό το λόγο η συγκέντρωσή της στο κρασί είναι πολύ μικρότερη από το επιτρεπτό όριο. Η μεθυλική αλκοόλη ή μεθανόλη παράγεται κυρίως από την διάσπαση των πτητικών. Κατά το σπάσιμο των ρογών οι πτητικές ουσίες έρχονται σε επαφή με το ένζυμο πηκτινο-μεθυλο-εστεράση το οποίο κόβει την αλυσίδα του γαλακτουρονικού οξέος και ελευθερώνει μεθανόλη (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

Σημαντικό είναι να τονιστεί ότι οι πηκτίνες προέρχονται από τα στερεά συστατικά του σταφυλιού. Ανάλογα με τον χρόνο παραμονής των στεμφύλων στο γλεύκος δημιουργείται η τελική ποσότητα της μεθανόλης που θα υπάρχει στο κρασί. Για αυτό το λόγο κιάλας οι ερυθροί οίνοι είναι πλουσιότεροι σε μεθανόλη σε σύγκριση με τους ροζέ και τους λευκούς.

Εκτός από την αιθανόλη και την μεθανόλη σε ένα οίνο υπάρχουν και οι ανώτερες αλκοόλες που είναι δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης με εξαίρεση την εξανόλη-1 η οποία προέρχεται από το σταφύλι και όχι από την ζύμωση. Οι ανώτερες αλκοόλες καθορίζουν τα αρωματικά συστατικά του κρασιού (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

Επιπλέον, στον οίνο υπάρχουν οι πολυαλκοόλες με την σημαντικότερη από αυτές να είναι η γλυκερόλη, η οποία μετά το νερό και την αιθανόλη καταλαμβάνει την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Επιδρά στο ιξώδες του οίνου και δίνει στα ξηρά κρασιά μια γλυκιά γεύση. Η βουτανεδιόλη-2,3 η οποία παράγεται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης χαρακτηρίζεται ως μία σταθερή ουσία και δεν προσβάλλεται από τα βακτήρια . με την βουτανεδιόλη-2,3 διαπιστώνεται εάν έχει γίνει ενδυνάμωση του οίνου (προσθήκη αλκοόλης). Άλλη μία πολυαλκοόλη είναι η μανιτόλη η οποία προκύπτει από την αναγωγή της φρουκτόζης από μερικά γαλακτικά βακτήρια και περιέχεται ανεξαιρέτα σ' όλους τους οίνους (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

Τέλος, άλλη μία πολυαλκοόλη είναι η σορβιτόλη η οποία αν και η περιεκτικότητά της σε έναν οίνο είναι μεγαλύτερη από 100 – 200 mg/L σημαίνει ότι ο οίνος αυτός έχει προκύψει από ανάμειξη σταφυλιών και χυμών φρούτων.

### **3.4 Αρωματικές ενώσεις**

Το άρωμα ενός οίνου το χαρακτηρίζουν δύο κατηγορίες αρωματικών ενώσεων. Την πρώτη κατηγορία συνθέτουν ενώσεις για το άρωμα στους οίνους και την δεύτερη

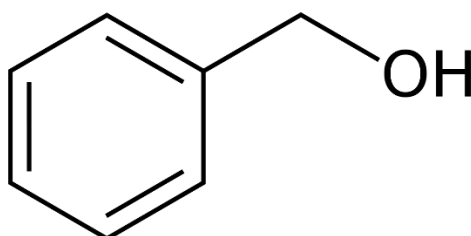
κατηγορία συνθέτουν ενώσεις για το λεγόμενο “μπουκέτο” στους παλαιωμένους οίνους. Πιο αναλυτικά το άρωμα ενός νέου οίνου προέρχεται από το άρωμα του σταφυλιού που είναι μοναδικό χαρακτηριστικό για την κάθε ποικιλία και από το άρωμα της ζύμωσης που είναι χαρακτηριστικό των ζυμών αλλά και των συνθηκών της ζύμωσης (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000, σελ. 161).

Γενικότερα το άρωμα ενός οίνου είναι μία από τις σημαντικότερες αισθητηριακές παραμέτρους η οποία δημιουργείται από μία πολύπλοκη ισοροπία αρκετών πτητικών ενώσεων. Περισσότερες από 800 πτητικές ενώσεις όπως η αλκοόλη, εστέρες, φαινόλες, μονοτερπένια, λακτόνες, αλδεΐδες και κετόνες έχουν αναγνωριστεί στους οίνους. Το άρωμα του οίνου είναι σύνθετο εξαιτίας του μεγάλου αριθμού ενώσεων που αναφέρθηκαν παραπάνω αλλά και λόγω της διαφορετικής χημικής φύσης σε συνδιασμό με μια μεγάλη ποικιλία πόλωσης, μεταβλητότητας, διαλυτότητας και τιμές pH.

Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι ο προσδιορισμός των ενώσεων αυτών είναι δυνατόν να γίνει μετά την εκχύλιση με κάποιο διαλύτη (αιθέρας, εξάνιο, πεντάνιο) με την χρήση της αέριας χρωματογραφίας. Για πιο αποτελεσματικό προσδιορισμό των αρωματικών ενώσεων του οίνου χρησιμοποιείται η αέρια χρωματογραφία με την χρησιμοποίηση τριχοειδών στηλών (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

### 3.4.1 Αλκοόλες

Οι αλκοόλες οι οποίες παράγουν αρώματα στο κρασί είναι η φαινυλο-2 αιθανόλη και η τυροσίνη οι οποίες περιέχουν και οι δύο στο μόριο τους τον βενζολικό δακτύλιο. Η φαινυλο-2 αιθανόλη προσδίδει στον οίνο μια ευχάριστη οσμή τριαντάφυλλου από την οποία χαρακτηρίζεται. Περιέχεται σε μικρή ποσότητα σ’ ένα οίνο αλλά η παρουσία της γίνεται αισθητή. Η φαινυλο-2 αιθανόλη παράγεται από πολύ μεγάλο αριθμό ζυμών, η σύνθεσή της ευνοείται από την παρουσία του οξυγόνου, την θερμοκρασία ζύμωσης και από ορισμένες ειδικές τεχνικές ερυθρής οινοποίησης όπως είναι για παράδειγμα η θερμοοινοποίηση. Τέλος η τυροσίνη συμμετέχει και αυτή στην διαμόρφωση του αρώματος του κρασιού και του προσδίδει ένα άρωμα μελιού που είναι το χαρακτηριστικό της (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).



Εικόνα 14 : Γενικός μοριακός τύπος αρωματικών αλκοολών

### 3.4.2 Εστέρες

Άλλη μία μεγάλη κατηγορία που συμβάλει και αυτή για να δημιουργηθεί το άρωμα του οίνου είναι οι εστέρες. Οι εστέρες σχηματίζονται κατά την παλαίωση των οινών (χημική οδός) ή κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης (ενζυμική οδός). Οι

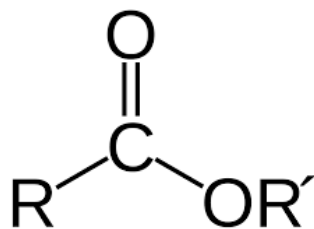
περισσότεροι από τους εστέρες προσδίδουν στο κρασί ένα άρωμα λουλουδιών ή φρούτων και συμμετέχουν στη διαμόρφωση των οραγνοληπτικών χαρακτηριστικών. Εξαιρέση αποτελεί ο οξικός αιθυλεστέρας ο οποίος δίνει στο κρασί μια δυσάρεστη οσμή και αντιπροσωπεύει το 80% του συνόλου των πτητικών εστέρων. Επίσης παράγεται κατά το 90% της περιεκτικότητας του στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης.

Εκτός από τον οξικό αιθυλεστέρα χαρακτηριστικός για το άρωμα των οινών είναι και ο οξικό 3- μέθυλο βουτυλεστέρας ο οποίος σχηματίζεται από την αρχή της ζύμωσης περνάει από ένα μέγιστο και προς το τέλος αυτής μειώνεται και πάλι. Ανάλογα με τον οξικό 3-μέθυλο βουτυλεστέρα δρα και ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας. Επιπλέον υπάρχουν εστέρες που ελευθερώνονται σχεδόν στο σύνολό τους από τα κύτταρα των ζυμών κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και αυτοί είναι οι οξικοί εστέρες του 3-μέθυλο βουτυλίου, του 2-φαινυλο αιθυλίου και ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

Σημαντικό κομμάτι για την ανάπτυξη των εστέρων είναι η θερμοκρασία στην οποία αναπτύσσονται. Από έρευνες έχει παρατηρηθεί ότι σε χαμηλότερες θερμοκρασίες σχηματίζεται μεγαλύτερος αριθμός εστέρων. Επιπλέον σημαντικό είναι να τονιστεί ότι σε υψηλές θερμοκρασίες ζύμωσης η επίδραση των υψηλότερων pH είναι πιο μεγάλη. Στην διαδικασία της οινοποίησης και ειδικότερα στην λευκή οινοποίηση ο οίνος εκροής περιέχει μεγαλύτερο ποσοστό εστέρων σε σύγκριση με τον οίνο πίεσης. Επιπλέον μεγαλύτερο ποσοστό εστέρων περιέχουν οι οίνοι οι οποίοι έχουν προέλθει από γλεύκη που έχουν υποστεί απολάσπωση.

Από τους σημαντικότερους εστέρες αν όχι ο σημαντικότερος είναι ο οξικός αιθυλεστέρας ο οποίος είναι εστέρας του οξικού οξέος και της αιθυλικής αλκοόλης. Είναι ένα ανεπιθύμητο προϊόν γιατί έχει δυσάρεστη οσμή και η παρουσία του δηλώνει αλλοίωση των οινών. Παράγεται από ζύμες ή από οξικά βακτήρια και είναι ευαίσθητος στον θειώδη ανυδρίτη. Έγκυρη προσθήκη θειώδη ανυδρίτη αδρανοποιεί και περιορίζει σημαντικά την παραγωγή του οξικού αιθυλεστέρα σε υψηλές ποσότητες οι οποίες κάνουν την παρουσία του ανεπιθύμητη. Η προσθήκη του θειώδη ανυδρίτη πρέπει να γίνεται στο γλεύκος πριν αρχίσει η αλκοολική ζύμωση και σχηματιστεί οξικός αιθυλεστέρας (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000). Τέλος η παρουσία του οξικού αιθυλεστέρα στους οίνους εξαρτάται απο:

- Τις συνθήκες ζύμωσης (pH, θερμοκρασία)
- Τις συνθήκες παλαίωσης
- Την τυχόν προσβολή από οξικά βακτήρια
- Την τεχνική της οινοποίησης



Εικόνα 15 : Γενικός μοριακό τύπος εστέρων

### 3.4.3 Καρβονυλικές ενώσεις

Μία από τις πιο χαρακτηριστικές καρβονυλικές ενώσεις είναι η ακεταλδεΐδη η οποία είναι δευτερεύον προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης. Αποτελεί ένα ενδιάμεσο και απαραίτητο προϊόν για τον σχηματισμό της αιθυλικής αλκοόλης κατά την αλκοολική ζύμωση των σακχάρων. Σημαντικό ρόλο για την χρονική στιγμή όπου θα προστεθεί ο θειώδης ανυδρίτης κατέχει η ιδιότητα της ομάδας της αλδεΐδης (-CHO) αλλά και η παραγωγή της ακεταλδεΐδης κατά την αλκοολική ζύμωση (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

Επιπλέον, η προσθήκη του θειώδη ανυδρίτη πρέπει να γίνεται πριν αρχίσει η αλκοολική ζύμωση με στόχο να δεσμευτεί από τα σάκχαρα τα οποία θα απελευθερωθούν προοδευτικά. Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα ο θειώδης ανυδρίτης να προσφέρει τις προστατευτικές του ιδιότητες καθ' όλη την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Εάν προστεθεί ο θειώδης ανυδρίτης μετά την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης θα έχει το αρνητικό αποτέλεσμα να μην προσφέρει τις ιδιότητές του στο γλεύκος και τελικά να μην προστατεύσει τον οίνο αφού η παραγόμενη ακεταλδεΐδη θα δεσμεύσει όλη την ποσότητα του θειώδη ανυδρίτη με αποτέλεσμα να χάσει τις ιδιότητές του (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

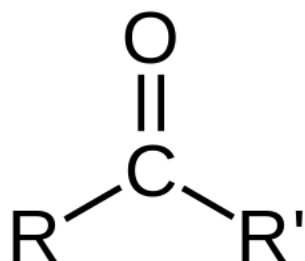
Επίσης, ο θειώδης ανυδρίτης μπορεί να προστεθεί για την αποφυγή των δυσάρεστων γεύσεων αλλά και οσμών. Σημαντικό είναι να τονιστούν οι παράγοντες που καθορίζουν την περιεκτικότητα της ακεταλδεΐδης, η οποία κυμαίνεται ανάλογα με:

- Την εφαρμοζόμενη θείωση των οίνων
- Τον αερισμό στην διάρκεια των διαδικασιών της οινοποίησης και της παλαίωσης
- Την τεχνική της οινοποίησης
- Την περιεκτικότητα των οίνων σε σίδηρο
- Τις συνθήκες φωτισμού στο χώρο αποθήκευσης του οίνου

Άλλες καρβονυλικές ενώσεις είναι η ακετάλη η περιεκτικότητας της οποίας στους οίνους είναι πολύ μικρή ενώ στα αποστάγματα θεωρείται ποιοτικό κριτήριο. Η υδροξυ-μεθυλο-φουρφουράλη η παρουσία της οποίας δείχνει ότι οίνοι που την περιέχουν προέρχονται από σταφυλομάζα ή γλεύκος που έχει υποστεί θερμική επεξεργασία. Η ακετοΐνη ή ακετυλο-μεθυλο-καρβινόλη η συγκέντρωση της οποίας είναι πολύ μεγάλη στους επιδόρπιους οίνους. Άλλη μία καρβονυλική ένωση είναι το διακετύλιο ή βουτανεδιόνη-2,3 η οποία μαζί με την ακεταλδεΐδη είναι δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης. Τέλος άλλη μια κατηγορία ενώσεων είναι οι τερπενικές ενώσεις οι οποίες προσδίδουν το χαρακτηριστικό άρωμα τους σε



ορισμένες ποικιλίες οίνων με έντονο άρωμα. Είναι ενώσεις με 10 άτομα άνθρακα και τις συναντάμε κυρίως στα αιθέρια έλαια (“Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία”, Σουφλερός, 2000).



Εικόνα 16 : Γενικός μοριακός τύπος καρβονυλικών ενώσεων

### 3.5 Σάκχαρα ή γλυκίδια

Περιέχονται σε άφθονες ποσότητες στο γλεύκος. Αυτά τα σάκχαρα χαρακτηρίζονται από υψηλές συγκεντρώσεις και μετατρέπονται σε αλκοόλη με την βοήθεια της αλκοολικής ζύμωσης.

Διακρίνονται σε:

- i. Αναγωγικά (ανάγουν το φελίγγειο υγρό)
  - Ζυμώσιμα σάκχαρα (εξόζες)
  - Ζυμώσιμα σάκχαρα (πεντόζες)
- ii. Μη αναγωγικά (δεν ανάγουν το φελίγγειο υγρό)
  - Σακχαρόζη

Τα ζυμώσιμα σάκχαρα του γλεύκους και του οίνου είναι η D(+) γλυκόζη, D(-) φρουκτόζη και η D(-) γαλακτόζη.

Η D(+) γλυκόζη ονομάζεται και δεξτρόζη. Η D(-) φρουκτόζη η οποία ονομάζεται και λεβουλόζη είναι το μόνο ζυμώσιμο σάκχαρο από τις κετονικές εξόζες και χαρακτηρίζεται από την γλυκύτητα της σε σχέση με τα υπόλοιπα σάκχαρα. Τελευταία από τα ζυμώσιμα σάκχαρα είναι D(-) γαλακτόζη η οποία ζυμώνεται από πολύ μικρό αριθμό ζυμομυκήτων και στη συνέχεια χρησιμοποιείται για την ταυτοποίησή τους. Σ' ένα γλεύκος ή οίνο συναντάμε και μη ζυμώσιμα αναγωγικά σάκχαρα τα οποία είναι οι πεντόζες και αποτελούνται από την 1-αραβινόζη, την D-ξυλόζη, την D-ριβόζη και την 1-ραμνόζη (“Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία”, Σουφλερός, 2000).

Οι ερυθροί οίνοι σε αντίθεση με τους λευκούς είναι πλούσιοι σε πεντόζες διότι τα σάκχαρα αυτά περιέχονται κυρίως στους στρυχους και στους φλοιούς των σταφυλιών παρά στην σάρκα τους. Έτσι κατά την ερυθρή οινοποίηση που τα στέμφυλα μένουν για αρκετό χρονικό διάστημα μέσα στο γλεύκος αυτά περνάνε από στο γλεύκος και κατ' επέκταση και στο κρασί. Επιπλέον, είναι αναγκαίο να αναφερθεί ότι οι πεντόζες δεν ζυμώνονται από ζύμες αλλά προσβάλλονται από γαλακτικά βακτήρια με αποτέλεσμα την αύξηση της πτητικής οξύτητας. Τέλος, τα μη ανάγοντα σάκχαρα είναι σακχαρόζη, η σταχυόζη και η ραφινόζη (“Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία”, Σουφλερός, 2000).

### 3.6 Πολυσακχαρίτες ή πηκτινικές ουσίες

Χαρακτηρίζονται από ένα σύνολο κολλοειδών ουσιών που συνθέτονται από πηκτίνες και οζάνες οι οποίες προέρχονται από την σταφυλομάζα. Οι οζάνες είναι πολυμερισμένοι ανυδρίτες μονοσκαχάρων και σ' αυτούς ανήκουν τα κόμμεα και ουσίες με βλεννώδη υφή. Οι πηκτίνες προέρχονται από τον πολυμερισμό του γαλακτουρονικού οξέος. Με το σπάσιμο των ρογών τόσο στην λευκή όσο και στην ερυθρή οينوποίηση τα εστεροποιημένα τμήματα της αλυσίδας της πηκτίνης υδρολύονται και ελευθερώνουν μεθανόλη και γαλακτορουνικό το οποία στην συνέχεια καθιζάνει.

Τα κόμμεα ή οζάνες όπως αναφέρθηκαν παραπάνω καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο μέρος από τις πηκτικές ουσίες των σταφυλιών που έχουν προσβληθεί από τον μύκητα *Botrytis cinerea* και έχει επέλθει σήψη. Γενικά τα κόμμεα δρουν προστατευτικά στην διαύγαση των οίνων αλλά και στην διαύγεια μετά την εμφιάλωση. Τέλος, η δεξτράνη η οποία είναι μία βλεννώδη ουσία του γλεύκους προέρχεται από τα σταφύλια που έχουν προσβληθεί από τον μύκητα *Botrytis cinerea* όπως και τα κόμμεα. Χρησιμοποιείται για την διαύγαση του οίνου και για την διαύγαση με κολλάρισμα (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

### 3.7 Αζωτούχες ενώσεις

Οι αζωτούχες ενώσεις καταλαμβάνουν το 20% του ξηρού υπολείμματος του οίνου και διακρίνονται σε οργανικές και ανόργανες. Οι οργανικές ενώσεις καταλαμβάνουν το 95% του συνολικού αζώτου και οι σπουδαιότερες είναι οι πρωτεΐνες, τα πολυπεπίδια, τα αμινοξέα και τα αμίδια. Το υπόλοιπο 5% το καταλαμβάνουν τα αμμωνιακά άλατα. Τις αζωτούχες ενώσεις τις συναντάμε στα στερεά μέρη του σταφυλιού και αποτελούν θρεπτικά συστατικά των ζυμών και των βακτηρίων. Για αυτό το λόγο καθοριστικό ρόλο καταλαμβάνει ο χρόνος παραμονής των στεμφύλων στο γλεύκος. Έτσι οι ερυθροί είναι πλούσιοι σε αζωτούχες ενώσεις με σύγκριση με τους λευκούς γιατί τα στέμφυλα παραμένουν μέσα στο γλεύκος για αρκετό χρονικό διάστημα. Στα λευκά κρασιά απομακρύνονται άμεσα.

#### 3.7.1 Πρωτεΐνες

Σε ένα κρασί συναντάμε τις ετεροπρωτεΐνες οι οποίες ανήκουν στην κατηγορία των γλυκοπρωτεϊνών (περιέχουν στο μόριό τους σάκχαρα). Το πρωτεϊνικό άζωτο είναι υπεύθυνο για τον σχηματισμό θολωμάτων ή ιζημάτων κυρίως στους λευκούς οίνους. Αντιμετωπίζεται με την προσθήκη μετενίτη ο οποίος προκαλεί την καθίζηση των πρωτεϊνών. Στους ερυθρούς οίνους δεν παρουσιάζεται το πρόβλημα του θολώματος γιατί περιέχει τανίνες στην επιθυμητή ποσότητα.

#### 3.7.2 Πολυπεπίδια

Δημιουργούν και αυτά με την σειρά τους θολώματα στους οίνους. Καθιζάνουν συναρτήσει με το μοριακό τους βάρος με την προσθήκη θειικού αμμωνίου, τανίνης ή φωσφοροβολφραμικού οξέος.

### 3.7.3 Αμινοξέα

Τα αμινοξέα αποτελούν το 30 – 40 % του συνολικού αζώτου ενός κρασιού. Τα συναντάμε τόσο στα γλεύκη όσο και στους οίνους. Η περιεκτικότητά τους εξαρτάται από τον χρόνο συνύπαρξης του γλεύκους με τα στέμφυλα καθώς και από την θερμοκρασία της ζύμωσης, την οξύτητα του γλεύκους και την ποιότητα της αμπέλου. Τα κυριότερα αμινοξέα είναι η αλανίνη, το ασπαραγικό οξύ, το γλουταμινικό οξύ και η προλίνη.

### 3.7.4 Αμίδια

Τα αμίδια κατέχουν ένα πολύ μικρό ποσοστό στους οίνους. Αντιπροσωπευτικοί τύποι αμιδίων είναι η ασπαραγίνη και η γλουταμίνη.

## 3.8 Ανόργανα συστατικά

Τα ανόργανα συστατικά σχηματίζονται στους βλαστούς της αμπέλου και μετακινούνται στην συνέχεια στο σταφύλι από όπου θα περάσουν στην συνέχεια στο γλεύκος και κατ' επέκταση και στον οίνο. Τα ανόργανα συστατικά διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες στα ανιόντα και στα κατιόντα.

### 3.8.1 Ανιόντα

#### Χλώριο (Cl<sup>-</sup>)

Βρίσκεται σε περιορισμένη ποσότητα στους οίνους (50mg/L). Η ποσότητα των ιόντων χλωρίου μπορεί να αυξηθεί από:

- Αμπελώνες που βρίσκονται κοντά στην θάλασσα
- Διάφορα οινολογικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται για κολλάρισμα οίνων

#### Θειικά Άλατα (SO<sub>4</sub><sup>-</sup>)

Η ποσότητα των θεικών αλάτων που περνάει από το σταφύλι στο γλεύκος και μετέπειτα στον οίνο είναι πολύ μικρή (0,1 – 0,4 g/L K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Η περιεκτικότητα μπορεί να αυξηθεί με την προσθήκη θειώδους ανυδρίτη.

#### Φώσφορος (PO<sub>4</sub><sup>-</sup>)

Ο φώσφορος είναι το σπουδαιότερο από τα ανόργανα ανιόντα και η περιεκτικότητά του στο κρασί είναι από 0,05 – 1 g/L. Με την μορφή του φωσφορικού οξέος παίρνει μέρος στους ενδιάμεσους μεταβολισμούς και στις κυριότερες χημικές μεταβολές. Σημαντικό είναι να τονιστεί ότι στους ερυθρούς οίνους ο φώσφορος βρίσκεται σε διπλάσια ποσότητα σε σχέση με τους λευκούς.

### 3.8.2 Κατιόντα

#### Κάλιο (K<sup>+</sup>)

Το πιο σπουδαίο κατιόν σ' έναν οίνο με περιεκτικότητα 0,1 – 1,8 g/L. Το κάλιο επηρεάζει σημαντικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και την διαύγεια του οίνου.

#### Νάτριο (Na<sup>+</sup>)

Η περιεκτικότητα του νατρίου κυμαίνεται από 20 – 200 mg/L και μπορεί να αυξηθεί εάν οι αμπελώνες βρίσκονται σε μικρή απόσταση από την θάλασσα, με την προσθήκη θειώδους ανυδρίτη υπό μορφή αλάτων ή με την προσθήκη μετετονίτη κακής ποιότητας.

#### Ασβέστιο (Ca<sup>++</sup>)

Η περιεκτικότητα του ασβεστίου κυμαίνεται από 80 – 100 mg/L και είναι μικρότερη από εκείνη του γλεύκους. Η μείωση αυτή μπορεί να οφείλεται στην αδιαλυτοποίηση του ουδέτερου τρυγικού ασβεστίου σε αλκοολικό περιβάλλον και την απομάκρυνσή του ως ίζημα.

#### Μαγνήσιο (Mg<sup>++</sup>)

Η περιεκτικότητα του μαγνησίου κυμαίνεται από 80 – 120 mg/L. Περιέχεται περισσότερο μαγνήσιο απ' ό τι ασβέστιο σ' έναν οίνο.

#### Σίδηρος (Fe<sup>++</sup>/Fe<sup>+++</sup>)

Ο σίδηρος προέρχεται από το σταφύλι και η περιεκτικότητά του τριπλασιάζεται ή τετραπλασιάζεται κατά την οиноποίηση με σκοπό από 2 - 5 mg/L που βρίσκεται στο γλεύκος να γίνει 40 ή 50 mg/L που υπάρχει στον οίνο.

#### Χαλκός (Cu<sup>+</sup>/Cu<sup>++</sup>)

Η περιεκτικότητα του χαλκού αυξάνεται κατά την οиноποίηση και κατά την παλαίωση με τελικό στόχο να φτάσει στο 0,1 – 5 mg/L. Γενικά το γλεύκος περιέχει άφθονο χαλκό εξαιτίας των διάφορων ψεκασμών του αμπελιού και η αναλογία των ιόντων χαλκού μεταβάλλεται είτε με την παρουσία είτε με την απουσία αέρα.

### **3.9 Ένζυμα**

Το κρασί περιέχει πολυάριθμα ένζυμα τα οποία περιέχονται από το σταφύλι ή από διάφορους μικροοργανισμούς. τα ένζυμα που μπορούμε να συναντήσουμε είναι οι καταλάσες, οι οξειδάσες, οι ιμπερτάσες, οι πρωτεάσες, οι πηκτινάσες και οι εστεράσες. Οι οξειδάσες προέρχονται όπως είναι φυσικό από το σταφύλι και βρίσκονται στον φλοιό των ρογών. Επίσης, και η ιμπερτάση βρίσκεται ρόγα του σταφυλιού και με την διαδικασία της οиноποίησης περνάει στο γλεύκος. Επιπλέον, η ιμπερτάση υδρολύει την σακχαρόζη σε γλυκόζη και φρουτόζη.

Άλλη μία κατηγορία ενώσεων είναι τα πηκτινολυτικά ένζυμα τα οποία καταστρέφουν τις πηκτινικές ενώσεις που λαμβάνουν μέρος στην κολλοειδή κατάσταση του γλεύκους και γίνεται καλύτερη κατακάθιση της λάσπης. Επίσης, η δράση των πηκτινολυτικών ενζύμων μειώνεται με την προσθήκη του θειώδη ανυδρίτη. Τέλος, τα πηκτινολυτικά ένζυμα βελτιώνουν την απολάσπωση και δεν έχουν επίδραση στην ποιότητα του κρασιού.

### **3.10 Βιταμίνες**

Οι βιταμίνες οι οποίες προέρχονται από το σταφύλι και περνάνε μετά στο γλεύκος αποτελούν παράγοντες ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Επιπλέον, μερικές από τις βιταμίνες αυτές μπορούν να είναι χρήσιμες για την ανθρώπινη διατροφή και κατ'

επέκταση για την καλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Οι κυριότερες βιταμίνες είναι:

- Θειαμίνη (B<sub>1</sub>)
- Ριβοφλαβίνη (B<sub>2</sub>)
- Νικοτιναμίδη (B<sub>3</sub>)
- Αδενίνη (B<sub>4</sub>)
- Παντοθενικό οξύ (B<sub>5</sub>)
- Πυριδοξίνη (B<sub>6</sub>)
- Κοβαλαμίνη (B<sub>12</sub>)
- Μεσοϊνοσιτόλη (I)
- Βιοτίνη(H)
- Ασκορβικό οξύ (C)
- Βιταμίνη της διαπερατότητας(P)

### 3.11 Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις περιλαμβάνουν ένα μεγάλο πλήθος χημικών ενώσεων με διαφορετικές δομές και λειτουργίες. Αποτελούνται από δευτερογενείς μεταβολίτες που ο ρόλος τους είναι πολύ σημαντικός για αρκετές λειτουργίες των φυτών. Γενικά φαινόλες ονομάζονται οι χημικές ενώσεις οι οποίες στον αρωματικό τους δακτύλιο περιλαμβάνουν ένα ή περισσότερα υδροξύλια ως υποκαταστάτες. Πολυφαινόλες χαρακτηρίζονται οι ενώσεις οι οποίες έχουν στην δομή τους πολλαπλούς φαινολικούς δακτυλίους.

Τις φαινολικές ενώσεις τις συναντάμε στα στερεά μέρη του σταφυλιού και πιο συγκεκριμένα στον φλοιό και στα γίγαρτα. Η συγκέντρωσή τους στο σταφύλι εξαρτάται:

- Από την ποικιλία της αμπέλου
- Από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες
- Από τις καλλιεργητικές τεχνικές

Οι συγκεκριμένες ενώσει διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην διαμόρφωση της ποιότητας του οίνου, επηρεάζουν την οινική ποιότητας και θεωρούνται υπεύθυνες για τις διαφορές που υπάρχουν ανάμεσα σε ερυθρούς και λευκούς οίνους. Επιπλέον οι φαινολικές ενώσεις διαμορφώνουν τον αρωματικό χαρακτήρα ενός οίνου και είναι υπεύθυνες για την παραγωγή, τη συντήρηση αλλά και την παλαίωσή του.

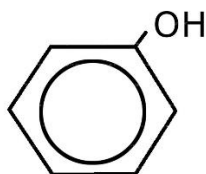
Σημαντικό επίσης είναι να αναφερθεί ότι οι φαινολικές ενώσεις ενός οίνου είναι υπεύθυνες για το χρώμα και την στυφότητα των ερυθρών οίνων αλλά και για την κίτρινη απόχρωση των λευκών οίνων. Επίσης, λειτουργούν ως φυσικά συντηρητικά του κρασιού λόγω της αντιοξειδωτικής και της αντιμικροβιακής δράσης. Ευθύνονται για τον σχηματισμό θολωμάτων και ιζημάτων στους οίνους αλλά και για άλλα τεχνικά προβλήματα. Τέλος, σημαντικό ρόλο κατέχουν και στην παλαίωση των οίνων.

#### 3.11.1 Χημεία των φαινολικών ενώσεων

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω φαινολικές ενώσεις ονομάζονται οι ενώσεις που περιέχουν στο μόριό τους την ομάδα της φαινόλης.

Οι ενώσεις αυτές ταξινομούνται στις ακόλουθες κατηγορίες:

- Τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγά τους ή μη φλαβονοειδή
- Τις φλαβόνες ή φλαβονοειδή
- Τις ανθοκυάνες
- Τις τανίνες



Fenol

Εικόνα 17 : Γενικός μοριακός τύπος φαινολών

### 3.11.2 Τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγά τους

Τα φαινολικά οξέα σχηματίζονται κατά την διάρκεια της ωρίμανσης του σταφυλιού με την βοήθεια των αντιδράσεων της οξειδωσης, της αναγωγής, της υδρόλυσης και της μεθυλίωσης. Βρίσκονται κατά κύριο λόγο στα χυμοτότυπια του κυττάρου του φλοιού και της σάρκας και εκχυλίζονται κατά την έκθλιψη των σταφυλιών. Αποτελούν μια C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> κεντρική αλυσίδα και το σύνολο των φαινολικών οξέων είτε ελεύθερων είτε σε μορφή ενώσεων ανέρχεται για τους ερυθρούς οίνους τα 100 – 150 mg/L ενώ για τους λευκούς μόλις τα 10 - 15 mg/L.

Εάν μελετηθούν από οργανοληπτικής πλευράς τα φαινολικά οξέα δεν έχουν συγκεκριμένα γευστικά ή αρωματικά χαρακτηριστικά. Όμως κατά τον μεταβολισμό των ζυμών ορισμένα από τα παράγωγά τους αποτελούν πτητικά φαινολικά συστατικά τα οποία επηρεάζουν τον αρωματικό χαρακτήρα του οίνου.

Τα φαινολικά οξέα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

- Τα βενζοϊκά οξέα: C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>: τα σταφύλια και ο οίνος περιέχουν 7 βενζοϊκά οξέα
- Τα κινναμωμικά οξέα: C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>: τα σταφύλια και ο οίνος περιέχουν 3 κινναμωμικά οξέα.

Τα βενζοϊκά οξέα και τα παράγωγα αυτών βρίσκονται στο σταφύλι ως σύνθετες χημικές ενώσεις με άγνωστη δομή. Στις ενώσεις αυτές λαμβάνουν συμμετοχή και οι ανθοκυάνες. Σε ελεύθερη κατάσταση εμφανίζονται κατά την χρονική διάρκεια της παλαίωσης των οίνων όπου αυξάνεται και η περιεκτικότητά τους. Επίσης τα βενζοϊκά οξέα όπως για παράδειγμα το γαλλικό οξύ λαμβάνουν χώρα στην δομή των τανινών και χαρακτηρίζονται ως ένα από τα κύρια συστατικά τους.

Τα κινναμωμικά οξέα δεν περιέχονται ελεύθερα στα σταφύλια και στους οίνους αλλά εμφανίζονται ως εστέρες αντιδρώντας με το τρυγικό οξύ. Επίσης, αντιδρούν με σάκχαρα, με διάφορες αλκοόλες αλλά και με άλλα οργανικά οξέα. Όταν τα κινναμωμικά οξέα αντιδράσουν με τις ανθοκυάνες και το τρυγικό οξύ δίνουν τα οξέα π-κουμαρυλοτρυγικό, καφεΐλοτρυγικό και φερουλυτρυγικό.

Τα βενζοϊκά και τα κινναμωμικά παράγωγα διαφοροποιούνται μεταξύ τους ως προς τους υποκαταστάτες του βενζοϊκού δακτυλίου. Οι υποκαταστάτες αυτοί μπορεί να

είναι μεθοξυ-ομάδες (-OCH<sub>3</sub>) και υδροξυ-ομάδες (-OH) στην θέση του υδρογόνου (-H).

Άλλη μία σημαντική πληροφορία είναι ότι κατά την παλαίωση των οίνων σε ξύλινα βαρέλια, οι οίνοι εμπλουτίζονται με φαινολικά οξέα σε ποσότητες που εξαρτώνται κάθε φορά από την προέλευση και τον βαθμό ξήρανσης του ξύλου. Παράγονται κυρίως ενώσεις βενζαλδεϋδης και κινναμωμικής αλδεϋδης. Επιπλέον, τα φαινολικά οξέα έχουν αντισηπτική, συντηρητική και αντιβακτηριδιακή δράση. Τέλος, τα φαινολικά οξέα χαρακτηρίζονται από τις ευχάριστες χαρακτηριστικές οσμές τους.

### 3.11.3 Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή αποτελούν μία μεγάλη κατηγορία φυσικών μεταβολικών προϊόντων πολύ διαδεδομένα στα ανώτερα φυτά. Δομικά αποτελούνται από έναν C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> σκελετό ο οποίος αποτελείται από δύο φαινολικούς δακτυλίους που ενώνονται με την βοήθεια ενός οξυγονωμένου ετερόκυκλού δακτυλίου. Επίσης, τα φλαβονοειδή μπορούν να εμφανιστούν ως μονομερή, διμερή, ολιγομερή και πολυμερή μόρια. Μεγάλη προσοχή πρέπει να δοθεί εάν ο ετερόκυκλος δακτύλιος είναι κορεσμένος ή ακόρεστος. Όταν είναι κορεσμένος τα φλαβονοειδή ταξινομούνται σε φλαβονόνες και σε φλαβάνες ενώ όταν είναι ακόρεστος ταξινομούνται σε φλαβόνες, φλαβονόλες και ανθοκυάνες.

#### Φλαβονόνες και Φλαβονόλες

Οι φλαβονόνες και οι φλαβονόλες έχουν την ίδια δομή με την μόνη διαφορά ότι στη θέση -3 του μορίου της φλαβονόλης υπάρχει ένα δραστικό -OH. Από την διαφορά αυτή τα δύο αυτά φλαβονοειδή παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές μεταξύ τους. Οι φλαβονόνες είναι ελάχιστα διαδεδομένες στη φύση και τα παράγωγά τους δεν είναι συστατικά των σταφυλιών. Τα συστατικά τους περιέχονται στα φαινολικά συστατικά του ξύλου της δρυός των ξύλινων βαρελιών που χρησιμοποιούνται για την παλαίωση των οίνων. Οι φλαβόνες είναι πιο διαδεδομένες στη φύση και η κερκετίνη που ανήκει σ' αυτές είναι το κύριο συστατικό των φυτών. Επίσης, οι φλαβονόλες έχουν κίτρινο χρώμα και βρίσκονται στους φλοιούς των σταφυλιών σε ερυθρές και σε λευκές ποικιλίες. Στους φλοιούς των σταφυλιών μπορούν να εντοπιστούν τόσο ως 3-γλυκοζίτες της κερκετίνης, της καιμπερόλης, της μυρισετίνης και της ισοραμετίνης όσο και ως τα αντίστοιχα αγλυκονικά παράγωγα που παράγονται ύστερα από την υδρόλυση κατά την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης. Στα ερυθρά κρασιά εντοπίζονται όλες οι φλαβονόλες που αναφέρθηκαν ενώ στα λευκά εντοπίζονται μόνο η κερκετίνη και η καιμπερόλη. Αυτό επαληθεύεται κιάλας από το χρώμα των λευκών και των ερυθρών κρασιών ("Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία", Σουφλερός, 2000)

Όπως αναφέρθηκε αυτές οι φαινολικές ενώσεις υπάρχουν μόνο στον φλοιό της ρόγας. Έτσι κατά την οινοποίηση στα ερυθρά κρασιά τα στέμφυλα παραμένουν βυθισμένα στο γλεύκος για μεγάλο χρονικό διάστημα με αποτέλεσμα οι φλαβονόλες να εκχυλιστούν όλες στο γλεύκος και στο τέλος να πάρει αυτό το ερυθρό χρώμα. Στα λευκά κρασιά οι ενώσεις εκχυλίζονται μόνο κατά την διάρκεια της έκθλιψης που βρίσκονται σε επαφή για πολύ λίγο χρόνο τα στέμφυλα με το γλεύκος. Γι' αυτό τον λόγο κιάλας οι συγκεντρώσεις στους ερυθρούς οίνους ανέρχονται στο ποσοστό των 100 mg/L, ενώ στους λευκούς σε ποσοστό 1 – 3 mg/L.

#### Φλαβαν-3-όλες (κατεχίνες) και Προκυανιδίνες

Οι φλαβαν-3-όλες προκύπτουν με υδρογόνωση του κεντρικού ετερόκυκλου δακτυλίου της φλαβονόλης. Στην φύση υπάρχουν διάφορα υδροξυλιωμένα παράγωγα της φλαβονόλης-3 τα οποία είναι γνωστά με το όνομα κατεχίνες. Η κατεχίνη έχει την μεγαλύτερη διάδοση και το όνομα της έχει υιοθετηθεί απ' όλες τις φλαβονοειδής φαινόλες. Χαρακτηρίζεται από δύο ασύμμετρα άτομα άνθρακα και δίνει τέσσερα ισομερή τα οποία είναι: η (+) και (-) κατεχίνη, η (+) και (-) επικατεχίνη και δύο ρακεμικά.

Στο σταφύλι εντοπίζονται στους φλοιούς και στα γίγαρτα ενώ πολύ μικρή ποσότητα περιέχεται και στην σάρκα. Οι μορφές που εμφανίζονται συχνότερα είναι η (+) κατεχίνη ή η (-) κατεχίνη. Το χαρακτηριστικό χρώμα της κατεχίνης είναι το κίτρινο το οποίο ανάλογα με το βαθμό του πολυμερισμού σιγά – σιγά σκουραίνει και γίνεται καστανόμαυρο. Επομένως, το “καφέτιασμα” των οίνων οφείλεται σ' αυτού του είδους τις οξειδώσεις, για αυτό το λόγο κιόλας η παρουσία των κατεχίνων είναι ανεπιθύμητη στους λευκούς οίνους.

#### 3.11.4 Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες αποτελούν μία από τις σημαντικότερες ομάδες των φλαβοειδών και είναι υπεύθυνες σε μεγάλο ποσοστό για το ερυθρό χρώμα των οίνων. Κατά κύριο λόγο τις συναντάμε στον φλοιό των σταφυλιών και σε ελάχιστες περιπτώσεις στην σάρκα κάποιων ερυθρών ποικιλιών. Οι ανθοκυάνες βρίσκονται στη φύση υπό την μορφή ετεροζιτών οι οποίες στην συνέχεια υδρολύονται σ' ένα άγλυκο μέρος και σ' ένα ή περισσότερα μόρια σακχάρων. Αυτό το άγλυκο μέρος που προκύπτει ονομάζεται ανθοκυανιδίνη με συντακτικό τύπο  $C_6 - C_3 - C_6$ . τις ανθοκυανίδες δεν τις συναντάμε ελεύθερες στην φύση αλλά ενωμένες με σάκχαρα τα οποία είναι οι αλδόζες και κατά κύριο λόγο γλυκόζη υπό την ετεροκυκλική μορφή του πυρανίου.

Η βασική μορφή των ανθοκυανιδίνων είναι αυτή του φλαβυλίου που είναι παράγωγο του φαινυλ-2 βενζοπυρυλίου. Στο μόριό τους περιλαμβάνονται δύο βενζολικοί δακτύλιοι (Α και Β) και ενδιάμεσά τους περιλαμβάνεται ένας πυριλικός δακτύλιος. Ο δακτύλιος Α φέρει δύο φαινολικά υδροξίλια στις θέσεις -5' και -7' και ο δακτύλιος Β ένα φαινολικό υδροξίλιο στη θέση-4'. Γενικά παρατηρείτε ότι τα μόρια είναι πιο σταθερά στην γλυκοζυλιωμένη μορφή των ανθοκυανών σε σύγκριση με την αγλυκονική μορφή των ανθοκυανιδίνων. Επιπλέον καλό είναι να τονιστεί ότι η κατάταξη τους γίνεται με βάση την υδροξυλίωση και των μεθυλιών στο Β δακτύλιο των ανθοκυανιδίων. Από τις εννέα ανθοκυανιδίνες που έχουν αναγνωριστεί οι πέντε αποτελούν δομικά συστατικά των ανθοκυανών που βρίσκονται στο σταφύλι και στο κρασί.

Σημαντικές αλλαγές παρατηρούνται και στο χρώμα των ερυθρών οίνων με χρήση διαλύματος αλκάλειος κατά την ογκομέτρηση για την τιμή της οξύτητας. Τα ερυθρά κρασιά σε όξινο περιβάλλον έχουν ερυθρό χρώμα έπειτα γίνονται μπλε σε ουδέτερο ή ελαφρά αλκαλικό περιβάλλον και στο τέλος επικρατούν κίτρινες αποχρώσεις. Η παραπάνω διαδικασία οφείλεται στην μεταβολή της δομής των ανθοκυανών.

#### Άλλες ιδιότητες

- a. Αναγωγή: οι ανθοκυάνες όταν βρεθούν σε αναγωγικό περιβάλλον αποχρωματίζονται. Ο αποχρωματισμός είναι μόνιμος απουσία αέρα, όμως επειδή η αντίδραση είναι αμφίδρομη, το χρώμα επανέρχεται με τις ανάλογες συνθήκες.



- b. Αποχρωματισμός με θείωση ανυδρίτη: η θείωση σε ερυθρούς οίνους προκαλεί μερικό αποχρωματισμό στους καινούριους οίνους. Ο αποχρωματισμός αυτός εξαρτάται από το pH, τον ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη και την συγκέντρωση των ελεύθερων ανθοκυανών.

Σύμπλοκα με μέταλλα: όσες ανθοκυάνες έχουν –OH σε ορθή θέση του πλευρικού δακτυλίου όταν βρεθούν σε όξινο περιβάλλον σχηματίζονται σύμπλοκα με μέταλλα και παίρνουν κυανό χρώμα.

### 3.11.5 Τανίνες

Οι τανίνες αποτελούν μία κατηγορία φαινολικών ενώσεων υψηλού μοριακού βάρους οι οποίες σχηματίζουν σταθερά σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες και με πολυμερή όπως είναι οι πολυσακχαρίτες. Αυτή η διαδικασία πραγματοποιείται είτε με την βοήθεια υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων είτε μέσω δεσμών υδρογόνου. Σε ορισμένες περιπτώσεις δημιουργούνται ιοντικοί ή ομοιοπολικοί δεσμοί.

Το μοριακό βάρος των δραστικών τανινών κυμαίνεται σε ποσοστό από 600-3.500 Da. Επιπλέον, η δομή και ο όγκος τους επηρεάζεται σε πολύ μεγάλο βαθμό από την δραστικότητα των πρωτεϊνών. Από την μία εάν οι τανίνες είναι υπερβολικά μεγάλες τότε παρεμποδίζεται ο σχηματισμός με τις πρωτεΐνες ενώ όταν τα μόρια των τανινών είναι πολύ μικρά τότε σχηματίζουν ασταθή σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες με αποτέλεσμα να μην δημιουργούνται όσες ενεργές θέσεις είναι επιθυμητές. Οι τανίνες μπορούν να διακριθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες τις:

- Υδρολύμενες τανίνες
- Συμπυκνωμένες τανίνες

#### Υδρολύμενες τανίνες

Αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου ή ένα μόριο πολυσακχαρίτη του οποίου πολλά από τα μόρια –OH είναι εστεροποιημένα με διάφορα φαινολικά οξέα. Τα σημαντικότερα φαινολικά οξέα είναι το γαλλικό και το ελλαγικό οξύ τα οποία απελευθερώνονται μετά από την οξίνιση των γαλλοταννινών και των ελλαγιταννινών. Οι υδρολύμενες τανίνες δεν περιέχονται στο σταφύλι αλλά υπάρχουν στους οίνους και έχουν υποστεί κάποια επεξεργασία γιατί είναι οι κύριες εμπορικές τανίνες που χρησιμοποιούνται.

Το γαλλικό οξύ χαρακτηρίζεται ως ένα φυσικό συστατικό του οίνου καθώς βρίσκεται στον φλοιό και τα γίγαρτα του σταφυλιού. Σε αντίθεση με το ελλαγικό οξύ το οποίο το συναντάμε είτε στα δρύινα βαρέλια είτε στην προσθήκη οινολογικών τανινών σ' έναν οίνο. Γενικά οι υδρολύμενες τανίνες αφθονούν στο ξύλο ορισμένων δένδρων, στα φύλλα και στους καρπούς.

#### Συμπυκνωμένες τανίνες

Οι συμπυκνωμένες τανίνες είναι πολύ πιο διαδεδομένες στη φύση απ' ότι οι υδρολύμενες τανίνες και αποτελούν τις φυσικές τανίνες των σταφυλιών. Προέρχονται από τον πολυμερισμό της φλαβανόλης-3 (κατεχίνης) και της φλαβανοδιόλης-3,4 (προκυανιδίνη). Τα μόρια τους μπορεί να είναι είτε ακυλιωμένα είτε γλυκοζυλιωμένα και τανίνες με μοριακό βάρος 3.000 που είναι λιγότερο ή περισσότερο διαδεδομένες έχουν προέλθει από τον πολυμερισμό δέκα μορίων μονομοριακών φλαβανοειδών φαινολών.

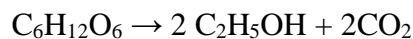
Με λίγα λόγια οι συμπυκνωμένες τανίνες αποτελούν το σώμα του οίνου και αντιπροσωπεύουν το 30-60% των φαινολικών παραγώγων του. Επιπλέον το ποσοστό αυξάνεται με την ηλικία του οίνου και οι αλυσίδες τους δημιουργούν ένα σκελετό στο οποίο προστίθενται και άλλα μόρια. Επίσης, οι συγκεκριμένες ενώσεις είναι υπεύθυνες για τις οργανοληπτικές ιδιότητες του κάθε οίνου και συμμετέχουν στην δημιουργία θολώματος στις αντιδράσεις οξειδωσης και συμπύκνωσης κατά την διάρκεια της παλαίωσης του οίνου. πολύ σημαντική είναι η ικανότητα που έχουν να δεσμεύουν και να καταβυθίζουν πρωτεΐνες μία ικανότητα αντιστρόφως ανάλογη με το μέγεθος του μορίου τους.

Τις συμπυκνωμένες τανίνες τις συναντάμε σ' όλα τα στερεά μέρη ενός σταφυλιού (φλοιό, γίγαρτα και βόστρυχο) και μεταφέρονται κατά την διάρκεια της οινοποίησης στους οίνους. Η περιεκτικότητά τους στους λευκούς οίνους καθορίζεται από την έκταση της διαύγασης ενώ η συγκέντρωσή τους σε μη απολασπώμενα γλεύκη βρίσκεται σε ποσοστό από 100 – 300 mg/L. Τέλος, στους ερυθρούς οίνους οι τανίνες καθορίζονται από την ποικιλία της αμπέλου και από την τεχνική της οινοποίησης ενώ η συγκέντρωσή κυμαίνεται σε ποσοστό 1-4g/L (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup> : ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

### 4.1 Βιοχημεία της αλκοολικής ζύμωσης

Το μόριο της εξόζης δεν διασπάται απλά αλλά μας δίνει 2 μόρια αιθυλικής αλκοόλης και 2 μόρια διοξειδίου του άνθρακα αλλά υφίσταται μία πολύπλοκη μετατροπή. Αυτή η πολύπλοκη μετατροπή έχει ως στόχο το σύνολο των αντιδράσεων της αλκοολικής ζύμωσης και περιλαμβάνει 30 περίπου ξεχωριστές αντιδράσεις οι οποίες συμβαίνουν λόγω της παρέμβασης κατάλληλων ενζύμων για κάθε μία από αυτές. Στο τέλος και αφού έχουν λάβει χώρα και οι 30 αντιδράσεις η εξίσωση της αλκοολικής ζύμωσης συνοψίζεται στην ακόλουθη:



Με πιο απλά λόγια κατά την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης τα σάκχαρα μετατρέπονται μέσω των ενζύμων των ζυμών σε οινόπνευμα κατά το οποίο παράγεται διοξείδιο του άνθρακα και θερμότητα (περίπου 25kcal/μόριο γλυκόζης)

Η αλκοολική ζύμωση είναι μία αναερόβια διαδικασία, είναι μία διαδικασία που πρέπει να γίνεται χωρίς την παρουσία του οξυγόνου γιατί λαμβάνει την απαιτούμενη ενέργεια κατά την διάσπαση της γλυκόζης η οποία είναι απαραίτητη για την αλκοολική ζύμωση. Επίσης, επέρχεται και η οξείδωση του γλεύκους. Τα κύτταρα των ζυμομυκήτων προσλαμβάνουν σάκχαρα τα οποία με την παρουσία των αναγωγικών ενζύμων μετατρέπονται και παράγουν αιθανόλη, διοξείδιο του άνθρακα και ορισμένα ποσά ενέργειας με την μορφή ATP. Εκτός από τα τελικά προϊόντα σχηματίζονται και άλλα προϊόντα σε πολύ μικρότερες ποσότητες τα οποία επηρεάζουν την ποιότητα της αλκοολικής ζύμωσης.

Τα κυριότερα ένζυμα που συμμετέχουν στην αλκοολική ζύμωση είναι:

- i. Η αποκαρβοξυλάση TPP (πυροφωσφορικός εστέρας θειαμίνης ή βιταμίνης B<sub>1</sub>) η οποία καταλύει τις αποκαρβοξυλιώσεις όπως για παράδειγμα του πυρουβικού οξέος σε ακεταλδεΐδη και διοξείδιο του άνθρακα.
- ii. Η νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (NAD) η οποία είναι μια αφυδρογονάση που καταλύει τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής
- iii. Η διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) και η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) οι οποίες είναι σώματα που παίζουν καθοριστικό ρόλο στους μηχανισμούς μεταφοράς ενέργειας ανάμεσα στις βιοχημικές αντιδράσεις.
- iv. Το συνένζυμο A (CoA-SH) όπου δίνει με τα οξέα τα άκυλο-συνένζυμο A (R-CO-S-CoA) που επιτρέπουν την πρόσφυση της ρίζας R-CO σ' ένα άλλο ένζυμο. Κατά κύριο λόγο συμμετέχουν στην σύνθεση των λιπαρών οξέων και των λιπιδίων.

### 4.2 Στάδια αλκοολικής ζύμωσης

Κατά την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης η πρώτη χημική πράξη που γίνεται είναι αυτή της γλυκόλυσης. Περιλαμβάνει ένα σύνολο από αντιδράσεις οι οποίες επιτρέπουν τα ζώντα κύτταρα να μετατρέψουν τις εξόζες (γλυκόζη και φρουκτόζη) σε πυρουβικό οξύ. Εάν στην συνέχεια στο πυρουβικό οξύ γίνει αποκαρβοξυλίωση σχηματίζεται ακεταλδεΐδη η οποία ανάγεται σε αιθυλική αλκοόλη.

Η αλκοολική ζύμωση περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια:

- i. Μετατροπή των εξοζών σε τριόζες
- ii. Μετατροπή της φωσφοτριόζης σε πυροσταφυλικό οξύ
- iii. Η αποκαρβοξιλίωση του πυροσταφυλικού οξέος σε ακεταλδεΐδη
- iv. Η αναγωγή της ακεταλδεΐδης σε αιθανόλη

Τα στάδια που αναφέρθηκαν θα αναλυθούν εκτενέστερα

Η γλυκόλυση είναι η μεταβολική οδός κατά την οποία η γλυκόζη και η φρουκτόζη μετατρέπονται σε πυροσταφυλικό οξύ με ταυτόχρονο σχηματισμό ATP. Ολη η διαδικασία θα λάβει χώρα στο κυτταροόπλοσμα του κυττάρου. Η μεταφορά των εξοζών στο εσωτερικό του κυττάρου γίνεται με την βοήθεια πρωτεϊνικών μεταφορέων και δεν απαιτείται ενέργεια. Η μεταφορά των σακχάρων ρυθμίζεται από την διαθεσιμότητα του γλεύκους σε αφομοιώσιμο άζωτο και από την ένταση της πρωτεϊνικής σύνθεσης των κυττάρων. Όταν όμως η ένταση που έχει η πρωτεϊνική σύνθεση για κάποιο λόγο μειωθεί ή σταματήσει τότε θα παρατηρηθεί και μείωση στην ένταση της μεταφοράς των εξοζών. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται καταβολική απενεργοποίηση.

Η καταβολική απενεργοποίηση λαμβάνει χώρα στην διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης και πιο συγκεκριμένα μετά το τέλος της αύξησης των ζυμών όπου υπάρχει έλλειψη αφομοιώσιμου αζώτου. Για να ενεργοποιηθούν τα συστήματα μεταφοράς των εξοζών και να αποκατασταθεί μερικώς η ένταση της ζύμωσης είναι επιτακτική ανάγκη να γίνει προσθήκη αμμωνιακών στην περίοδο της στασιμότητας των κυττάρων

Η γλυκόλυση σηματοδοτείται από τρία στάδια :

Πρώτο στάδιο: αρχίζει με την φωσφοριλίωση της γλυκόζης και καταλήγει στην παραγωγή της 1,6-δι-φωσφορικής φρουκτόζης

Δεύτερο στάδιο: δημιουργία της φωσφορικής γλυκεραλδεΐδης

Τρίτο στάδιο: παραγωγή πυροσταφυλικού οξέος, όπως αυτό προκύπτει από μια σειρά αντιδράσεων αρχίζοντας από το 1,3-δι-φωσφορογλυκερικό οξύ.

Όταν ένα μόριο γλυκόζης εισαχθεί στο κυτοσόλιο φωσφορυλιώνεται από την εξοκινάση και παράγεται 6-φωσφορική γλυκόζη με κατανάλωση ενός μορίου ATP. Στην συνέχεια η 6-φωσφορική γλυκόζη ισομεριώνεται από την ισομεράση της φωσφογλυκόζης σε 6-φωσφορική φρουκτόζη. Έπειτα το υπόστρωμα φωσφορυλιώνεται εκ νεου σε 1,6-δι-φωσφορική φρουκτόζη με ταυτόχρονη κατανάλωση ενός μορίου ATP, με την δράση του ενζύμου φωσφοφρουκτοκινάση. Κατά το πρώτο στάδιο της γλυκόλυσης χρησιμοποιήθηκαν 2 μορια ATP για κάθε μόριο γλυκόζης που εισήχθη. Το δεύτερο στάδιο της γλυκόλυσης συνεχίζεται με την διάσπαση της 1,6 διφωσφορικής φρουκτόζης σε 2 μόρια τριοζών τα οποία είναι η φωσφορική-δι-υδροξυ-ακετόνη και η 3-φωσφορική-γλυκεραλδεΐδη. Η συγκεκριμένη διάσπαση καταλύεται από την αλδολάση. Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι η ισομεράση των φωσφορικών τριοζών καταλύει την ισομέρια των δυο παραπάνω ενώσεων.

Το τρίτο στάδιο της γλυκολιτικής οδού αρχίζει με την μετατροπή της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεΐδης σε 1,3-δι-φωσφογλυκερικό οξύ μέσω της αφυδρογονάσης της 3-

φωσφορικής- γλυκεραλδεΐδης. Η αντίδραση αυτή είναι μια φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος. Στη συγκεκριμένη αντίδραση ένα μόριο  $\text{NAD}^+$  (νικοτιναμικο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο) ανάγεται σε  $\text{NADH}$  αφού έχει δεχθεί πρώτα 2 ηλεκτρόνια από την 3-φωσφορική-γλυκεραλδεΐδη. Από αυτή την οξείδωση δημιουργείται ένας πλούσιος σε ενέργεια δεσμός ανάμεσα στο οξειδωμένο υπόστρωμα και στον ανόργανο φώσφορο.

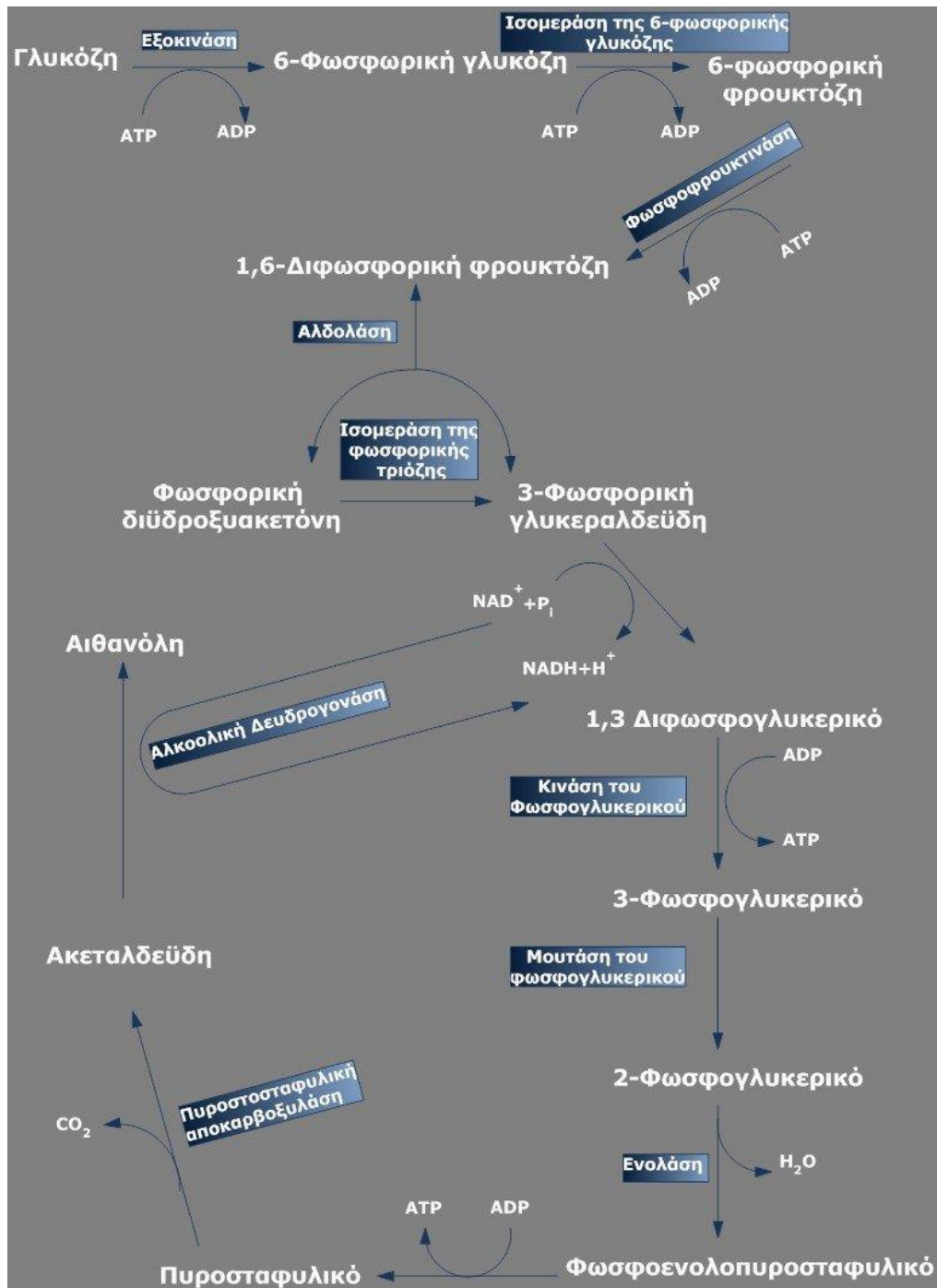
Το  $\text{NADH}$  το οποίο παράχθηκε μεταφέρεται είτε στην αναπνευστική αλυσίδα για παραγωγή μορίων  $\text{ATP}$  είτε ανάγεται μέσω οξείδωσης κατά τις αντιδράσεις της αλκοολικής ζύμωσης. Έπειτα η κινάση του φωσφογλυκερινικού οξέος καταλύει την αντίδραση μεταφοράς μια εκ των δυο φωσφορικών ομάδων του 1,3-διφωσφογλυκερινικού οξέος σε ένα μόριο  $\text{ADP}$  για την παραγωγή  $\text{ATP}$ . Με αυτή την διαδικασία παράγεται το 3-φωσφογλυκερικό οξύ.

Το 3-φωσφογλυκερικό οξύ μετατρέπεται σε 2-φωσφογλυκερικό οξύ το οποίο καταλύεται από την μούτάση του φωσφογλυκερινικού οξέος. Στην συνέχεια η ενολάση αφαιρεί ένα μόριο νερού από το 2-φωσφογλυκερικό οξύ και δημιουργείται το φωσφο-ενολο-πυροσταφυλικό οξύ. Όταν δράσει η ενολάση δημιουργείται ένα μόριο πυροσταφυλικού οξέος, ταυτόχρονα μεταφέρεται ο φώσφορος σε ένα μόριο  $\text{ADP}$  με αποτέλεσμα να δημιουργηθεί ένα μόριο  $\text{ATP}$ .

Από τις αντιδράσεις παρατηρούμε ότι ένα μόριο γλυκόζης παράγει 4 μόρια  $\text{ATP}$  κατά την διάσπαση της μέσω της γλυκολυτικής οδού. Τα 2 από τα 4 μόρια  $\text{ATP}$  χρησιμοποιούνται για να διασπάσουν ένα άλλο μόριο γλυκόζης με αποτέλεσμα το καθαρό ενεργειακό κέρδος να είναι 2 μόρια  $\text{ATP}$  για κάθε μόριο γλυκόζης. Στο τέλος το πυροσταφυλικό οξύ που έχει σχηματιστεί έχει την δυνατότητα να μεταβολιστεί από τρεις διαφορετικές οδούς ανάλογα με τις συνθήκες που θα επικρατούν. Έτσι ή θα προχωρήσει στις αντιδράσεις της αλκοολικής ζύμωσης ή θα πραγματοποιηθεί η γλυκεροπυροσταφυλική ζύμωση ή θα συνεχίσει κανονικά την πορεία του στην αναπνευστική αλυσίδα.

Σε μια δεξαμενή οινοποίησης επικρατεί αναερόβιο περιβάλλον με αποτέλεσμα οι ζυμομύκητες να ακολουθήσουν την μεταβολική οδό. Έτσι το πυροσταφυλικό οξύ συνεχίζει την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης κατά την οποία συμβαίνουν δύο ενζυμικές αντιδράσεις. Η πρώτη ενζυμική αντίδραση είναι η αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος σε ακεταλδεΐδη με την ταυτόχρονη απομάκρυνση ενός μορίου διοξειδίου του άνθρακα. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από την αποκαρβοξυλάση του πυροσταφυλικού οξέος και έχει σαν πρόσθετη ομάδα την πυροφωσφορική θειαμίνη ( $\text{TPP}$ ).

Η δεύτερη ενζυμική αντίδραση που λαμβάνει χώρα αφορά την αναγωγή της ακεταλδεΐδης σε αιθυλική αλκοόλη (αιθανόλη). Η αντίδραση αυτή καταλύεται από την αλκοολική αφυδρογονάση η οποία περιέχει ένα ιόν ψευδαργύρου  $\text{Zn}^{2+}$ . Επίσης, το  $\text{NADH}^+$  που έχει παραχθεί στην γλυκόλυση επαναοξειδώνεται σε  $\text{NAD}^+$ . Τέλος, κατά την αλκοολική ζύμωση παράγονται 2 μόρια  $\text{ATP}$  ένα για κάθε μόριο γλυκόζης που αποικοδομήθηκε τα οποία αντιστοιχούν σε 14,6 kcal (=2  $\text{ATP}$ \*7,3kcal).



Εικόνα 18 : Πορεία αλκοολικής ζύμωσης

#### 4.3 Δευτερεύοντα προϊόντα

Η αλκοολική ζύμωση δεν ολοκληρώνεται μόνο με τον σχηματισμό της γλυκερόλης σε εναλλαγή με την αιθυλική αλκοόλη αλλά παράγονται και μία σειρά από δευτερεύοντα προϊόντα. Η προέλευση των δευτερευόντων αυτών προϊόντων οφείλεται στην εξέλιξη του πυροσταφυλικού οξέος σε αναερόβιο περιβάλλον και στην ακεταλδεΐδη. Τα δευτερεύοντα προϊόντα που σχηματίζονται κατά την γλυκεροπυρουβική ζύμωση είναι:

- Το οξικό οξύ

- Το μυρμηκικό οξύ
- Το βουτυρικό οξύ
- Η ακετόνη
- Η ακετοΐνη
- Η βουτανεδιόλη-2,3
- Το διακετύλιο
- Το οξαλικό οξύ
- Το μηλικό οξύ
- Το φουμαρικό οξύ
- Το ηλεκτρικό οξύ
- Το προπιονικό οξύ
- Το κιτρομηλικό οξύ
- Το προπιονικό οξύ

Άλλα δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης είναι το γαλακτικό οξύ και οι ανώτερες αλκοόλες (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

**Ανώτερες αλκοόλες:** παράγονται κατά την απαμίνωση των ελεύθερων αμινοξέων που έχουν προκύψει από την πρωτεολυτική διάσπαση των πρωτεϊνών, της ζύμης και του υποστρώματος. Οι σημαντικότερες ανώτερες αλκοόλες είναι οι προπανόλη-1, βουτανόλη-1, βουτανόλη-2, 2-μεθυλοπροπανόλη-1, 2-μεθυλοβουτανόλη-1, πεντανόλη-1 και εξανόλη-1.

**Γλυκερίνη:** η γλυκερίνη είναι το ενδιάμεσο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης. Ο σχηματισμός είναι ευκολότερος με την επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών, με υψηλή περιεκτικότητα σε τρυγικό οξύ και με προσθήκη θειώδη ανυδρίτη.

**Οξέα:** το κυριότερο από τα οξέα κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης είναι το οξικό οξύ. Υψηλά επίπεδα οξικού οξέος μπορούν να παραχθούν με την παρουσία του οξικού και του γαλακτικού οξέος στο εκχύλισμα των βακτηρίων.

**Ακεταλδεΐδη:** είναι το ενδιάμεσο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης που προκύπτει από την αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος.

**Εστέρες:** ο σπουδαιότερος εστέρας είναι ο οξικός αιθυλεστέρας  $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$  ο οποίος σχηματίζεται από την αντίδραση του οξικού οξέος με την αιθανόλη.

**Ακετάλες:** σχηματίζονται από την αντίδραση της ακεταλδεΐδης με την αιθανόλη.

#### 4.4 Γλυκεροπυροσταφυλική ζύμωση

Η γλυκεροπυροσταφυλική ζύμωση είναι η ταυτόχρονη παραγωγή γλυκερόλης και πυροσταφυλικού οξέος από διαφορετικές βιοχημικές γραμμές. Η ζύμωση αυτή ακολουθεί τον δρόμο της αλκοολικής ζύμωσης και έχει ως αποτέλεσμα να σχηματίζονται προϊόντα τα οποία αποτελούν τα δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί με την έξοδο της σταφυλαμάζας από τα εκθλιπτήρια – απορραγιστήρια γίνεται η προσθήκη του θειώδη ανυδρίτη. Η προσθήκη αυτή έχει ως

στόχο να προστατέψει το γλεύκος από τις διάφορες οξειδώσεις. Ο θειώδης ανυδρίτης όμως αφού εισέλθει στο κύτταρο δεσμεύεται από διάφορες ουσίες όπως την ακεταλδεΐδη. Το διοξείδιο του θείου δεσμεύεται σταθερά με αυτή την ένωση με αποτέλεσμα να μην μπορεί να γίνει η αναγωγή προς αιθανόλη μέσω της δευτέρης ενζυμικής αντίδρασης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην γίνει η παραπάνω μετατροπή που θα ήταν ο αποδέκτης και τελικά ως τελικός αποδέκτης να είναι των ηλεκτρονίων του NADH να είναι η 1-φωσφορική ακετόνη. Η 1-φωσφορική ακετόνη παράγεται από την οξείδωση της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεΐδης και αν γίνει αναγωγή της ένωσης αυτής δίνει την 3-φωσφορική γλυκερόλη. Η τελευταία αποφωσφορυλιώνεται με απομάκρυνση της φωσφορικής ρίζας υπό την μορφή φωσφορικού οξέος σε γλυκερόλη.

Κατά την συγκεκριμένη μεταβολική οδό 2 μόρια ATP παράγονται για κάθε μόριο εξόζης που αποικοδομείται. Το ATP είναι απαραίτητο για να ενεργοποιηθεί η γλυκόζη κατά το πρώτο βήμα της γλυκόλυσης. Τελικά κατά την γλυκεροπυροσταφυλική ζύμωση το ενεργειακό κέρδος για το κύτταρο είναι μηδέν αφού τα 2 μόρια ATP που παράγονται καταναλώνονται στα πρώτα στάδια της γλυκόλυσης. Επιπλέον οι υψηλές συγκεντρώσεις της γλυκόζης κατά την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης δίνουν μεγαλύτερα ποσοστά γλυκερόλης. Υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες ο μικροοργανισμός παράγει μεγαλύτερα ποσά γλυκερόλης οι οποίες δεν απελευθερώνονται εκτός του κυτταροπλάσματος με σκοπό να επέλθει η εξισορρόπηση της οσμωτικής πίεσης.

Είναι αναγκαίο να τονιστεί ότι η γλυκοπυροσταφυλική ζύμωση δεν λαμβάνει χώρα μόνο με την παρουσία θειώδους αλλά τουλάχιστον στην αρχή της αλκοολικής ζύμωσης οι ζύμες χρειάζονται οξυγόνο για την ανάπτυξή τους. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το πυροσταφυλικό οξύ με την παρουσία οξυγόνου αποδίδει μεγαλύτερη παραγωγή ATP στην αναπνευστική αλυσίδα. Έτσι με αυτή την διαδικασία η αλκοολική αφυδρογονάση και η πυροσταφυλική αποκαρβοξυλάση είναι ανενεργές. Αποτέλεσμα της παραπάνω διαδικασίας είναι η μικρή παραγωγή ακεταλδεΐδης με αποτέλεσμα το NADH να μην μπορεί να την χρησιμοποιήσει και να χρησιμοποιεί τελικά για να οξειδωθεί την δι-υδροξυ-ακετόνη.

Από την παραπάνω διαδικασία προκύπτουν τα δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης.

#### **4.5 Αιτίες διακοπής της αλκοολικής ζύμωσης**

Η αύξηση κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης εξαρτάται στην αρχή από τα σάκχαρα και στην συνέχεια από την αιθανόλη. Τόσο τα σάκχαρα όσο και η αιθανόλη δρουν παρεμποδιστικά για να συνεχίσει η διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να σταματήσει πριν από την μετατροπή του συνόλου των σακχάρων σε αιθανόλη (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

Οι αιτίες διακοπής της αλκοολικής ζύμωσης είναι διάφορες, μερικές από αυτές είναι οι ακόλουθες:



- Η υψηλή θερμοκρασία: όσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία τόσο πιο γρήγορη είναι η ζύμωση άρα και τόσο μεγαλύτερες οι πιθανότητες να σταματήσει και να αφήσει αζύμωτα σάκχαρα.
- Η χαμηλή θερμοκρασία σε ψυχρά κλίματα: η χαμηλή θερμοκρασία σε ψυχρά κλίματα έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της δραστηριότητας των ζυμών με αποτέλεσμα να γίνεται διακοπή της δράσης τους.
- Η έλλειψη οξυγόνου μπορεί να οδηγήσει σε διακοπή της αλκοολικής ζύμωσης (οι ζύμες για να αναπτυχθούν έχουν ανάγκη την παρουσία οξυγόνου στην αρχή της αλκοολικής ζύμωσης)
- Η αυστηρή απολάσπωση μπορεί να οδηγήσει σε εξάντληση του γλεύκους από ζύμες και θρεπτικά συστατικά
- Η μεγάλη περιεκτικότητα σε σάκχαρα ή η καθυστερημένη προσθήκη σακχάρων
- Η μόλυνση του γλεύκους από βακτήρια ή άγριες ζύμες (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

#### **4.6 Επεμβάσεις μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης**

Οι επεμβάσεις που γίνονται μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης είναι:

- Προσθήκη ή εμβολιασμός με ζύμες ενός γλεύκους στο οποίο η ζύμωση είναι στο τελικό στάδιο
- Προσθήκη μονόξινου φωσφορικού αμμωνίου 10g/hl και θειαμίνης 50mg/hl. Ευνοϊκές συνθήκες για την προσθήκη είναι οι 20° C και όχι οι 25° C (η αιθανόλη είναι τοξική για την ζωή των ζυμών)
- Σε λευκό οίνο γίνεται προσθήκη ενεργού άνθρακα 10 – 20 g/hl, ο οποίος διευκολύνει το τελείωμα της ζύμωσης
- Στον ερυθρό είναι πρέπει να γίνει διαχωρισμός του κρασιού από τα στέμφυλα γιατί είναι πλούσια σε βακτήρια. Με την απομάκρυνση των στεμφύλων προκαλείται μία μικρή ψύξη του γλεύκους. Είναι βέβαια απαραίτητος ένας αερισμός και μία ελαφριά θείωση σε ποσοστό 3 – 4 g/hl. Επίσης μπορεί να είναι απαραίτητη και η προσθήκη κυττάρων ενός στελέχους ζύμης ανθεκτικής στην αιθανόλη.

#### **4.7 Παράγοντες που επηρεάζουν την αλκοολική ζύμωση**

Ο τρόπος με τον οποίο ένας παράγοντας επηρεάζει την διαδικασία της ζύμωσης πρέπει να γίνει αντιληπτός από τα πρώτα στάδια για να αντιμετωπιστεί κατάλληλα, εάν είναι δυνατό, ώστε να μην επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την αλκοολική ζύμωση και την ποιότητα του οίνου.

Η ζύμωση γίνεται πάντα με την βοήθεια μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται από τον πληθυσμό τους και από την ζυμωτική τους ικανότητα. Συνεπώς όσοι παράγοντες επηρεάζουν τους μικροοργανισμούς επηρεάζουν και την διαδικασία της ζύμωσης.

### **i. Θερμοκρασία**

Οι μύκητες που παίρνουν μέρος στην διαδικασία της ζύμωσης έχουν το πλεονέκτημα ότι μπορούν να αναπτυχθούν σε μεγάλες θερμοκρασίες. Αντίθετα η θερμοκρασία της ζύμωσης δεν πρέπει να παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις. Για παράδειγμα εάν κατά την διαδικασία της ζύμωσης αυξηθεί ή μειωθεί η θερμοκρασία κατά 10° C θα προκαλέσει σοβαρά προβλήματα στις ζύμες με αποτέλεσμα την αργή ολοκλήρωση της ζύμωσης, την παραγωγή αναγωγικών οσμών ή και το διακοπή του βρασμού.

Στους λευκούς οίνους η κατάλληλη θερμοκρασία ζύμωσης είναι στους 15-18 °C και στους ερυθρούς οίνους στους 22-25 °C.

Τα σάκχαρα που περιέχονται στο γλεύκος επηρεάζουν την θερμοκρασία (αύξηση θερμοκρασίας) κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Για την αποφυγή αυτής της μεταβολής τα σύγχρονα οινοποιεία διαθέτουν δεξαμενές με ψυκτικά μηχανήματα τα οποία κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης διατηρούν την θερμοκρασία στα επιθυμητά επίπεδα (Masneuf et. al., 2006).

### **ii. Ανταγωνισμός των μικροοργανισμών του γλεύκους**

Ο ανταγωνισμός προκύπτει μεταξύ των μικροοργανισμών που περιέχει ήδη το γλεύκος από τα στέμφυλα και του σακχαρομύκητα που προσθέτει ο οινοποιός. Το ποιος μικροοργανισμός θα επικρατήσει εξαρτάται από τον αρχικό πληθυσμό που είχε ο κάθε μικροοργανισμός αλλά και από την δυνατότητα να επιβιώσει και να επικρατήσει στις δεδομένες συνθήκες. Η ικανότητα όμως αυτή επηρεάζεται από την αντοχή του μικροοργανισμού στις συγκεκριμένες θερμοκρασίες, την περιεκτικότητα σε θειώδες ανυδρίτη αλλά και από άλλα χαρακτηριστικά όπως η ταχύτητα απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών, η ταχύτητα του πολλαπλασιασμού και τη έκκριση τοξικών ουσιών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι προσθήκες που πρέπει να προστεθούν από τις επιλεγμένες ζύμες να γίνονται σε μεγάλη ποσότητα έτσι ώστε να έχουν το πλεονέκτημα να επικρατήσουν (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2000).

### **iii. Διαθεσιμότητα θρεπτικών ουσιών**

Για το πολλαπλασιασμό των ζυμομυκήτων είναι απαραίτητη η παρουσία αζωτούχων ενώσεων, υδατανθράκων και μεταλλικών αλάτων. Οι θρεπτικές ουσίες οι οποίες περιέχονται σ' ένα γλεύκος δεν είναι σίγουρο ότι θα είναι πάντα επαρκείς για να συμβάλουν στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Επιπλέον υπάρχει περίπτωση μία θρεπτική ουσία να μειώνεται από κάποιους μικροοργανισμούς με συνέπεια να μην αναπτύσσονται άλλοι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί που δρα η συγκεκριμένη θρεπτική ουσία.

Επίσης καθοριστικός παράγοντας για την πορεία της αλκοολικής ζύμωσης είναι η περιεκτικότητα του γλεύκους σε αζωτούχες ενώσεις, οι οποίες είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των σακχαρομυκήτων. Η σχέση που αναπτύσσεται όπως έχει διαπιστωθεί από πολλές μελέτες μεταξύ της αλκοολικής ζύμωσης και του ολικού αζώτου του γλεύκους είναι γραμμική. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η περιορισμένη ποσότητα του αζώτου στο γλεύκος να θεωρείται υπεύθυνη για την καθυστέρηση και τη διακοπή της αλκοολικής ζύμωσης

Εάν παρατηρηθεί με την βοήθεια του οργανοληπτικού και του ποιοτικούς ελέγχου έλλειψη σε κάποια από τις ουσίες που αναφέρθηκαν τότε παρεμβαίνει ο οινοποιός με βοηθητικές ουσίες όπως για παράδειγμα μίγμα από αμμωνιακά άλατα, μίγμα θειαμίνης, στελέχη ζυμών, βιταμίνες και αμινοξέα.

#### **iv. Περιεκτικότητα σε αλκοόλη**

Η αλκοόλη αναστέλλει τον ρυθμό ζύμωσης και αυξάνει την θερμοκρασία. Εάν υπάρξει αύξηση της αλκοόλης πάνω από το 10% κατ' όγκο του γλεύκους που ζυμώνεται τότε επηρεάζει αρνητικά την δράση της ζύμης. Η ζύμη γίνεται λιγότερο ενεργή και όταν η περιεκτικότητά της αυξηθεί πάνω από το 15% κατ' όγκο τότε αναστέλλει την δράση των σακχαρομυκήτων. Γι' αυτό το λόγο κιάλας στην αρχή της αλκοολικής ζύμωσης ο ρυθμός ζύμωσης είναι έντονος ενώ στην συνέχεια όταν αυξηθεί ο αλκοολικός βαθμός ο ρυθμός της ζύμωσης μειώνεται σταδιακά ("Οινοτεχνία, η επιστήμη του κρασιού στην πράξη", Τσέτουρας, 2003).

#### **v. Περιεκτικότητα σε οξυγόνο**

Οι ζύμες αναπτύσσονται είτε σε αερόβιες είτε σε αναερόβιες συνθήκες, έτσι και το γλεύκος ζυμώνεται είτε σε κλειστές είτε σε ανοικτές δεξαμενές. Σε ανοικτές δεξαμενές η ζύμωση ολοκληρώνεται μόνη της με αποτέλεσμα ο αλκοολικός βαθμός να είναι μεγάλος και το ποσοστό των αζύμωτων σακχάρων να είναι μικρό. Υπάρχει όμως και ο κίνδυνος της οξειδωσης του γλεύκους με συνέπεια το κρασί που θα δημιουργηθεί να είναι οξειδωμένο.

Στα κλειστά δοχεία οινοποίησης υπάρχει σύστημα εξόδου του διοξειδίου του άνθρακα αλλά ταυτόχρονα κιάλας εμποδίζεται η είσοδος οξυγόνου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι ζυμομυκήτες να μην οξειδώνονται στο επιθυμητό επίπεδο έτσι η θερμοκρασία αυξάνεται και μπορεί να οδηγήσει στην διακοπή της ζύμωσης. Έτσι η αλκοολική ζύμωση δεν εξελίσσεται σωστά και σ' αυτό το σημείο επιτρέπεται ο αερισμός του γλεύκους για να μπορέσει η αλκοολική ζύμωση να συνεχίσει χωρίς προβλήματα ("Οινοτεχνία, η επιστήμη του κρασιού στην πράξη", Τσέτουρας, 2003).

#### **vi. Περιεκτικότητα σε οργανικά οξέα**

Τα οργανικά οξέα ρυθμίζουν την ολική οξύτητα και την ενεργό οξύτητα (pH), παρεμποδίζοντας έτσι την αύξηση των βακτηρίων, δίνοντας ώθηση στην ανάπτυξη των μυκήτων με συνέπεια να επηρεάσουν την αλκοολική ζύμωση (Castineira, et. al. 2002).

#### **vii. Επίδραση ουσιών με τοξική δράση**

Οι τοξικές ουσίες οι οποίες συναντώνται στο γλεύκος είναι πιθανό να προέρχονται από την δράση των μικροοργανισμών ή από τυχόν αμπελουργικές εργασίες (χρήση φυτοφαρμάκων). Ανάλογα με την τοξική τους δράση αλλά και με την αναλογία που βρίσκονται σ' ένα γλεύκος έχουν την δυνατότητα να δυσκολέψουν την λειτουργία των ζυμομυκήτων με αποτέλεσμα να καθυστερήσουν ή να διακόψουν την ζύμωση. Στην περίπτωση που θανατωθούν πολλά κύτταρα ζυμών αυτό δεν αποτελεί πρόβλημα γιατί υπάρχει μεγάλος αριθμός ζυμομυκήτων και μεγάλη επάρκεια θρεπτικών ουσιών που θα συμβάλουν στο να αρχίσει η αλκοολική ζύμωση. Αυτό μόνο που μπορεί να παρατηρηθεί είναι μία καθυστέρηση στην έναρξη της ζύμωσης μέχρι να αυξηθεί ξανά

ο πληθυσμός των ζυμομυκήτων και ο ρυθμός της ζύμωσης να γίνει κανονικός (“Οινοτεχνία, η επιστήμη του κρασιού στην πράξη”, Τσέτουρας, 2003).

#### **viii. Προσθήκη αντισηπτικών ουσιών**

Το θειώδες οξύ χρησιμοποιείται ως αντισηπτική ουσία για την προστασία του γλεύκους από την δράση των οξειδωτικών ενζύμων σε μικρές πάντα ποσότητες. Αντίθετα εάν προστεθεί μεγάλη ποσότητα θειώδους οξέος θα έχει ως αποτέλεσμα να βλάψει όλους του μικροοργανισμούς και να μειώσει την περιεκτικότητα της θειαμίνης (“Οινοτεχνία, η επιστήμη του κρασιού στην πράξη”, Τσέτουρας, 2003).

#### **ix. Ενέργειες οινοποιού**

Ο οινοποιός κατέχει σημαντικό ρόλο για την ποιότητα του κρασιού. Μπορεί να καθορίσει την πορεία της αλκοολικής ζύμωσης αλλά και να αυξήσει ή να μειώσει την ποσότητα των μικροοργανισμών σ' ένα γλεύκος. Έτσι μπορεί να προσθέσει ζύμες και να επέμβει μέσω της απολάσπωσης, του φιλτραρίσματος, της ρύθμισης της θερμοκρασίας και της προσθήκης αντισηπτικών (“Οινοτεχνία, η επιστήμη του κρασιού στην πράξη”, Τσέτουρας, 2003).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup>: ΖΥΜΕΣ

Οι ζύμες είναι μονοκύτταροι οργανισμοί πολύ μικρές σε διάσταση, έχουν διάμετρο από 4 έως 10 μm. Το κύτταρό τους αποτελείται από την κυτταρική μεμβράνη, τον πυρήνα, το κυτόπλασμα, το βακίλιο, τα μιτοχόνδρια και άλλους οργανίτες. Επειδή είναι μονοκύτταροι οργανισμοί δεν είναι ξεκάθαρο που ανήκουν. Δεν μπορούν να καταταγούν ούτε στο φυτικό βασίλειο ούτε όμως και στο ζωικό βασίλειο. Ανήκουν σε μία ξεχωριστή ομάδα που ονομάζεται πρώτιστα. Σ' αυτή την ομάδα κατατάσσονται τα βακτήρια και μερικές άλλες κατηγορίες μικροοργανισμών.

Οι δύο κατηγορίες ζυμών που συναντώνται στην οινολογία είναι οι ασκομύκητες και οι ατελείς μύκητες. Το αποτέλεσμα της ζωής και της δράσης τους είναι η αλκοολική ζύμωση. Πιο συγκεκριμένα οι ζύμες αυτές βρίσκονται πάνω στα ώριμα σταφύλια στην κηρώδη ουσία των φλοιών των ρογών. Η μεταφορά τους στα σταφύλια γίνεται κυρίως με έντομα από το έδαφος και από σάπια υπολείμματα καρπών.

Οι ζύμες ανάλογα με τον τρόπο παραγωγής τους χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες στις σπορογόνες και στις άσπορες. Οι σπορογόνες πολλαπλασιάζονται με εκβλαστήσεις (αγενώς) και με σπόρια (εγγενώς), ενώ οι άσπορες παράγονται μόνο με εκβλαστήσεις. Η αγενής αναπαραγωγή των ζυμών γίνεται με κυτταρική διαίρεση, με εκβλάστηση ή με τον συνδυασμό και των δύο. Η αναπαραγωγή με κυτταρική διαίρεση χαρακτηρίζει τις ζύμες που ανήκουν στις οικογένειες *Endomycetaceae* και *Schizosaccharomycoidae*. Οι σπορογόνες ζύμες (εγγενείς) αναπαράγονται τόσο με σπόρια όσο και με εκβλαστήσεις. Όταν το υλικό, στο οποίο αναπτύσσονται οι ζύμες, γίνει δυσμενές οι σπορογόνες ζύμες σταματούν τον πολλαπλασιασμό τους με την διαδικασία της εκβλάστησης και μετατρέπονται σε ασκούς που περιέχουν ασκοσπόρια και συνεχίζουν τον πολλαπλασιασμό τους. Χαρακτηριστικές ζύμες που αναπαράγονται με αυτό τον τρόπο είναι ζύμες που συμπεριλαμβάνονται στο γένος *Kloeckera* και στο γένος *Hanseniaspora*.

### 5.1 Ταξινόμηση των ζυμών

Οι παλαιότερες ταξινομήσεις των ζυμών ταξινομούσαν τις ζύμες σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία ήταν αυτή των ελλειπτικών ζυμών όπου ήταν γνωστή και με τα ονόματα *Saccharomyces cerevisiae*, v. *Ellipsoideus* ή ελλειψοειδής σακχαρομύκητες. Η δεύτερη κατηγορία ήταν αυτή των οξοκορυφών όπου ήταν γνωστή και με τα ονόματα *Saccharomyces apiculata* ή οξυκόρυφος σακχαρομύκητας. Με το πέρασμα όμως του χρόνου οι μελέτες συνεχίστηκαν και γρήγορα έγινε γνωστό ότι υπήρχαν περισσότερα είδη και γένη. Η κατάταξη στα είδη και στα γένη γίνονται με διάφορα κριτήρια τα οποία στηρίζονται στα:

- Μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των κυττάρων
- Στα χαρακτηριστικά των καλλιιεργειών
- Στον τρόπο αναπαραγωγής

### 5.1.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

- Σχήμα – Μέγεθος

Το σχήμα είναι το πρώτο από τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που εξετάζονται σ' ένα ζυμομύκητα ενώ μπορεί να εξεταστεί και ο τρόπος αναπαραγωγής του. Υπάρχουν περιπτώσεις που το σχήμα ενός ζυμομύκητα είναι τόσο χαρακτηριστικό που δεν χρειάζεται να εξεταστεί κανένα άλλο από τα χαρακτηριστικά του. Τα κύτταρα των ζυμών μπορεί να χαρακτηριστούν ως σφαιροειδή, στρογγυλά, ωοειδή – ελλειψοειδή, κυλινδρικά, επιμήκη, οξυκόρυφα, αψιδωτά. Κάποια παραδείγματα ζυμών αποτελούν τα οξυκόρυφα κύτταρα των *Saccharomycodes*, *Nadsonia*, *Hanseniaspora*, τα τριγωνικά κύτταρα του *Trigonopsis* και τα φιαλόμορφα κύτταρα των *Pityrosporum*.

Υπάρχουν όμως και πολλές περιπτώσεις που το σχήμα από μόνο του δεν αρκεί για να δώσει τις κατάλληλες πληροφορίες για μία ζύμη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να εξεταστεί και ο τρόπος παράγεται η συγκεκριμένη ζύμη. Εξετάζεται λοιπόν ο τρόπος αναπαραγωγής σε υγρό υπόστρωμα και ο τρόπος ο οποίος παράγονται τα ασκοσπόρια σε στερεό υπόστρωμα. Ως υγρό υπόστρωμα χρησιμοποιείται το γλεύκος των σταφυλιών τα οποία έχουν σταθεροποιηθεί με παστερίωση. Εκτός από το γλεύκος ως υπόστρωμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν και συνθετικά υποστρώματα ανάλογα πάντα με τις συνθήκες που επικρατούν. Μερικά υποστρώματα γι' αυτή την χρήση είναι η σακχαρόζη, το κιτρικό οξύ, εκχυλίσματα ζυμών, η ασπαραγίνη και φυσικά το νερό.

- ❖ Χαρακτηριστικά Καλλιιεργειών

Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα οι ζύμες μπορούν να καλλιεργηθούν τόσο σε υγρό όσο και σε στερεό υπόστρωμα. Στο υγρό υπόστρωμα για να ταυτοποιηθούν ότι υπάρχουν ζύμες σ' ένα δείγμα σχηματίζονται ίζημα, δακτύλιος ή υμένα. Η ύπαρξη ταυτοποιείται όταν σχηματίζεται ένα υμένιο το οποίο είναι ενδεικτικό της ανάγκης των ζυμών σε οξυγόνο. Εμφανίζεται περίπου μετά από 2 – 3 ημέρες μετά τον εμβολιασμό στην επιφάνεια του υγρού. Ως υγρά υποστρώματα χρησιμοποιούνται κυρίως εκχύλισμα από βύνη ή μίγμα γλυκόζης.

Η ανάπτυξη των ζυμών σε στερεό υπόστρωμα είναι μία μυκοειδής ανάπτυξη και συνδέεται με την ύπαρξη κάψουλας στα κύτταρα. Η μυκοειδής αυτή ανάπτυξη είναι αποτέλεσμα παραγωγής εξωκυττάρων πολυσακχαριτών και χαρακτηρίζεται από την μυκοειδή, βουτυρώδη και εύθραυστη υφή της. Άλλα χαρακτηριστικά που την παρατήρηση ζυμών σε στερεό υπόστρωμα είναι το χρώμα τα περισσότερα γένη χρώματος άσπρου, κρεμ ή ανοικτού καφέ εξαίρεση αποτελούν τα γένη *Rhodotorula* και *Metschnikowia pulcherrina* τα οποία παράγουν χρώματα κίτρινο, πορτοκαλί και καροτινοειδές το πρώτο και ερυθρό το δεύτερο. Επιπλέον παρατηρείται η στιλπνή ή όχι επιφάνεια και η λεία ή ανώμαλη επιφάνεια.

Συνήθως η ανάπτυξη των καλλιιεργειών σε στερεό υπόστρωμα γίνεται μετά από 2 – 3 ημέρες. Υπάρχουν όμως και ζύμες οι καλλιέργειες των οποίων δίνουν αποτελέσματα μετά από 8 ημέρες και είναι αναγκαίο να γίνει και επανάληψη αυτών μετά από περίπου 6 εβδομάδες.

### ❖ Σχηματισμός Σπορίων

Το κριτήριο αυτό αποτελεί βασική προϋπόθεση για να διαχωριστούν οι σπορογόνες ζύμες (*Saccharomycetaceae*) από τις άσπορες ζύμες (*Cryptococcaceae*).

### 5.1.2 Φυσιολογικά Χαρακτηριστικά

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά δίνουν τη δυνατότητα να αναγνωρίζεται το είδος της κάθε ζύμης γρήγορα και με μεγάλη ευκολία. Όμως υπάρχουν κάποια γένη ζυμών τα οποία δεν έχουν τη δυνατότητα να αναγνωριστούν μ' αυτόν τον τρόπο. Έτσι χρησιμοποιούνται διάφορες πηγές άνθρακα και αζώτου, με ευαισθησία στις συνθήκες αερισμού και θερμοκρασίας αλλά με ιδιαίτερες απαιτήσεις στους αυξητικούς παράγοντες και με ανθεκτικότητα στις ανασταλτικές ουσίες, για να γίνει τελικά η ταυτοποίηση του γένους.

### ❖ Χρησιμοποίηση ενώσεων άνθρακα

Η αλκοολική ζύμωση όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι μία μη οξειδωτική διαδικασία που λαμβάνει χώρα στο εσωτερικό των κυττάρων και σε αυστηρά αναερόβιες συνθήκες. Η ζύμωση δίνεται από την παρακάτω εξίσωση:



Όπως διαπιστώνεται το ποσό της ενέργειας που εκλύεται από την ζύμωση είναι πολύ μικρό με αποτέλεσμα οι ζύμες για να εξασφαλίσουν ενέργεια διασπούν αρκετά μεγάλες ποσότητες σακχάρων με αποτέλεσμα την παραγωγή αλκοόλης. Επίσης, πρέπει να τονιστεί ότι η αλκοολική ζύμωση δεν ενδείκνυται για τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Η ενέργεια που παράγεται είναι πολύ μικρή και η αλκοόλη λειτουργεί ως παρεμποδιστικός παράγοντας στην ανάπτυξη των ζυμών.

Από μελέτες που έχουν γίνει έχει αποδεχτεί ότι το πιο διαδεδομένο χαρακτηριστικό για να διακριθούν οι οικογένειες των ζυμών μεταξύ τους είναι η ικανότητα ή η ανικανότητα μιας ζύμης να ζυμώνει τα σάκχαρα σχηματίζοντας αιθανόλη και διοξειδίο του άνθρακα. Η κύρια δοκιμή λοιπόν για να πιστοποιηθεί η ύπαρξη ενζυματικών συστημάτων είναι η οξειδωτική χρησιμοποίηση των σακχάρων. Είναι μία δοκιμή πολύ ευαίσθητη (περισσότερο από την αλκοολική ζύμωση), η οποία δίνει την δυνατότητα να μην χρησιμοποιηθεί κιόλας μεγάλος αριθμός ενώσεων άνθρακα για την λειτουργία της.

Επίσης, η διαδικασία αυτή εξαρτάται από την διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης προς την επιλεγόμενη ουσία του άνθρακα και από την παρουσία του ενζυματικού συστήματος. Τέλος, για να αναγνωριστεί και να ταξινομηθεί η προς εξέταση ζύμη δημιουργείται μία καθαρή καλλιέργεια της ζύμης αυτής που στην συνέχεια θα εμβολιαστεί σε κατάλληλο συνθετικό υπόστρωμα στο οποίο είναι ενσωματωμένη η ουσία αναγνώρισης.

### ❖ Χρησιμοποίηση αζωτούχων ενώσεων

Μια άλλη κατηγορία εφαρμογών για την ταυτοποίηση των ζυμών είναι αυτή των αζωτούχων ενώσεων και κυρίως των αζωτούχων αλάτων. Όμως οι περισσότερες ζύμες δεν χρησιμοποιούν τα νιτρικά άλατα, μόνο δύο γένη ταυτοποιούνται από αυτά.

Το πρώτο γένος είναι το γένος *Hansenula* που τα αφομοιώνει και το δεύτερο γένος είναι το γένος *Pichia* που δεν τα αφομοιώνει. Το θρεπτικό υπόστρωμα που χρησιμοποιείται περιέχει γλυκόζη, όξινο φωσφορικό κάλιο, θειικό μαγνήσιο, νιτρικό κάλιο, χλωριούχο ασβέστιο και χλωριούχο μαγνήσιο.

#### ❖ Χρησιμοποίηση αυξητικών παραγόντων

Υπάρχουν ζύμες που ταυτοποιούνται με την χρήση αυξητικών παραγόντων με αποτέλεσμα όχι μόνο να αντιδρούν θετικά αλλά και να αναπτύσσονται με την παρουσία τους. Η μέθοδος για την παρακολούθηση και κατ' επέκταση και για την ταυτοποίηση τους είναι η μέθοδος της νεφελομετρίας στην οποία παρακολουθείται ο αριθμός των κυττάρων των ζυμών που παράγονται. Ως αυξητικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται οι βιταμίνες βιοτίνη, θειαμίνη, πυροδοξίνη, παντοθενικό οξύ και νικοτιναμίδη. Τέλος, με τη μέθοδο αυτή ταυτοποιούνται οι εξώτροφες ζύμες δηλαδή οι ζύμες που αναπτύσσονται μόνο με τις βιταμίνες.

#### ❖ Χρησιμοποίηση της αιθανόλης

Η μέθοδος αυτή έχει δευτερεύουσα σημασία για την ταυτοποίηση των ζυμών. Για αξιότιμος ένωση χρησιμοποιείται το θειικό αμμώνιο και για θρεπτικό υπόστρωμα χρησιμοποιούνται αιθυλική αλκοόλη, όξινο φωσφορικό κάλιο, θειικό μαγνήσιο, νιτρικό κάλιο, χλωριούχο ασβέστιο και χλωριούχο μαγνήσιο.

#### ❖ Χρησιμοποίηση θειώδη ανυδρίτη

Στην δοκιμή αυτή η ταυτοποίηση γίνεται ανάλογα με την ανθεκτικότητα των ζυμών στον θειώδη ανυδρίτη. Ανάλογα με την ανθεκτικότητά τους χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

- Ζύμες που αντέχουν μέχρι 100 mg/L θειώδη ανυδρίτη για παράδειγμα οι *Saccharomyces rosei*, *Kloeckera*, *Hanseniaspora*
- Ζύμες που αντέχουν μέχρι 150 mg/L θειώδη ανυδρίτη για παράδειγμα οι *Saccharomyces ellipsoideus*, *Torulopsis stellata*
- Ζύμες που αναπτύσσονται σε υψηλά επίπεδα θειώδη ανυδρίτη που κυμαίνονται από 250 mg/L έως 400 mg/L για παράδειγμα οι *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces bailii*, *Saccharomycodes ludwigii*

## 5.2 Ζύμες Οινοποίησης

Οι ζύμες αυτές βρίσκονται στα στέμφυλα και στο γλεύκος και επιτελούν την ζύμωση του κύριου όγκου των σακχάρων. Στην κατηγορία των σακχαρομυκήτων (εκτός από τον σακχαρομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*) υπάγονται σε ελλειψοειδή σακχαρομύκητας (*Ellipsoideus*), ο *Apiculatus*, ο *Pasterianus*, ο *Bayanus* και πολύ άλλοι σακχαρομύκητες. Το σχήμα τους είναι διαφόρων ειδών: κυκλικό, ωοειδές, ελλειπτικό και επίμηκες. Οι σακχαρομύκητες αυτοί αποτελούν τον πληθυσμό των ιθαγενών ζυμομυκήτων. Οι κυριότεροι σακχαρομύκητες είναι οι:



- ***Saccharomyces cerevisiae***:

Συμμετέχει από την αρχή της ζύμωσης αλλά σε μικρά ποσοστά. Στην συνέχεια αυξάνεται η συμμετοχή του σε ποσοστό μέχρι και 90% στο σύνολο των ζυμών. Δεν έχει την δυνατότητα ζύμωσης της γαλακτόζης και κατά την διάρκεια της ζύμωσης αυξάνεται σε μικρά ποσοστά η πτητική οξύτητα. Επιπλέον, έχει ζυμωτική ικανότητα μέχρι 13 – 14 % vol.

- ***Saccharomyces chevalieri***:

Έχει παρόμοια δράση με τον *Saccharomyces cerevisiae* μόνο που δεν έχει την δυνατότητα ζύμωσης της μαλτόζης.

- ***Saccharomyces bayanus***:

Η περιεκτικότητά του στο σταφύλι είναι περιορισμένη έχει όμως την ικανότητα αναζύμωσης περίπου το 40%. Συνεχίζει την διαδικασία της ζύμωσης μετά τον *Saccharomyces cerevisiae*. Επίσης, έχει ζυμωτική ικανότητα σε ποσοστό περίπου 16 – 18 % vol και είναι ανθεκτικό στο θειώδες.

- ***Schizosaccharomyces pombe***:

Παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Βρίσκεται σπάνια στα γλεύκη και στο κρασί και έχει την ικανότητα να μετατρέπει το μηλικό οξύ σε αλκοόλη. Επιπλέον, προσβάλει τα αζύμωτα σάκχαρα στα θειωμένα γλεύκη. Η δυνατότητα αυτή του δίνεται γιατί παρουσιάζει ανθεκτικότητα στις μεγάλες συγκεντρώσεις του θειώδους ανυδρίτη.

- ***Saccharomyces bailli***:

Ο ζυμομύκητας αυτός δεν συναντάται πολύ συχνά στα σταφύλια και παρουσιάζει μεγάλη ανθεκτικότητα στον θειώδη ανυδρίτη. Επιπλέον είναι υπεύθυνος για τις αναζυμώσεις που συμβαίνουν στα γλυκά κρασιά.

- ***Hanseniaspora uvarum - Kloeckera apiculata***:

Έχουν μικρή ζυμωτική ικανότητα περίπου 3 – 4 % vol αλλά η παρουσία τους πάνω στο σταφύλι είναι μεγάλη.

- ***Saccharomycodes ludwigii***:

Είναι ανθεκτικός στον θειώδη ανυδρίτη και προκαλεί αναζυμώσεις στα κρασιά που εμφιαλώνονται. Επίσης, παράγει μεγάλη ποσότητα οξικού αιθυλεστέρα και η ικανότητα ζύμωσης ανέρχεται σε ποσοστό 17 % vol.

- ***Torulopsis basillaris***:

Ο μύκητας αυτός είναι ανθεκτικός στον θειώδη ανυδρίτη και συμμετέχει στην ζύμωση σε ποσοστό 6 – 8 % vol.

- ***Candida***:

Βρίσκεται σε μεγάλα ποσοστά στο σταφύλι και δεν έχει ζυμωτική ικανότητα αλλά αναπνευστική. Προκαλεί την ασθένεια της άνθησης σχηματίζοντας στην επιφάνεια του οίνου μυκήλιο λευκού ή υποκίτρινου χρώματος. Τέλος, για να μπορέσει να αναπτυχθεί καταναλώνει αιθυλική αλκοόλη.

- **Brettanomyces:**

Όπως και στο γένος *Candida* έτσι και σ' αυτό σχηματίζεται μυκήλιο λευκού ή υποκίτρινου χρώματος. Η ανάπτυξή του δεν είναι πολλές φορές επιθυμητή διότι σχηματίζεται από τον πολλαπλασιασμό του οξικός αιθυλεστέρας και ακεταμίδιο.

### 5.3 Η ζωή των ζυμών

#### ❖ Χημική σύσταση ζυμών

Η χημική σύσταση των ζυμών διαφέρει ανάλογα με το είδος τους και το θρεπτικό υπόστρωμα στο οποίο καλλιεργούνται. Είναι καλό ο οινοποιός να γνωρίζει ποια συστατικά του γλεύκους έχει την δυνατότητα να αξιοποιήσει η κάθε ζύμη για τον πολλαπλασιασμό της και ποια από αυτά μπορούν να ενισχυθούν ή να συμπληρωθούν για τον ίδιο σκοπό. Οι ζύμες περιέχουν νερό σε ποσοστό 75% και ξηρή ουσία σε ποσοστό 25%. Η ξηρή ουσία αποτελείται από:

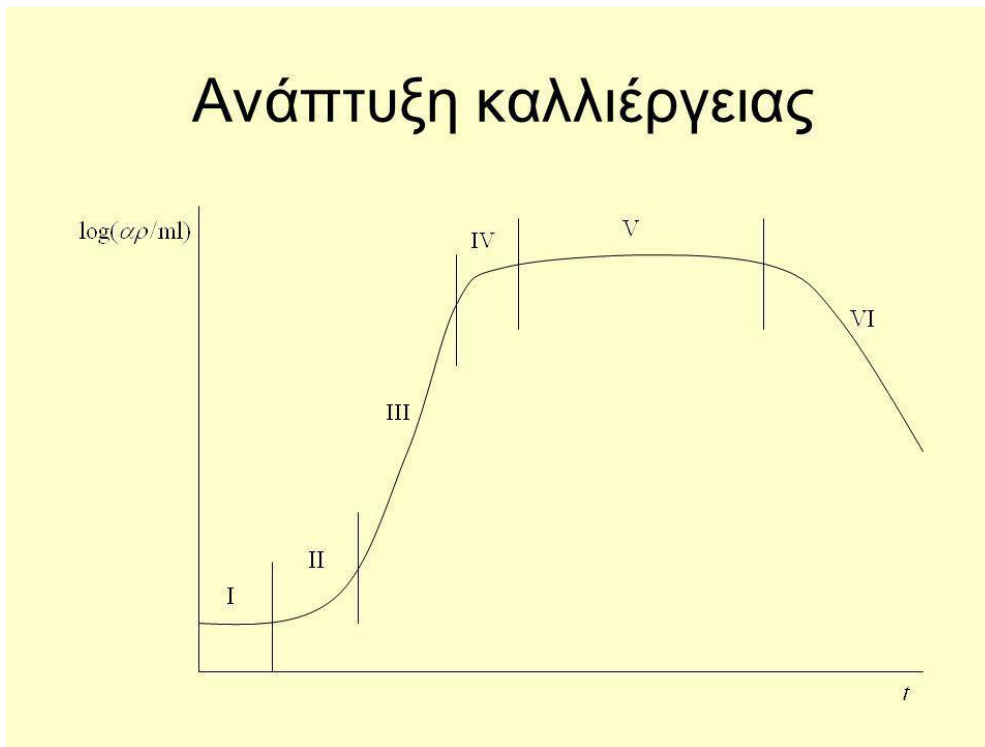
- Υδατάνθρακες (25 – 50 %)
- Πρωτεΐνες (30 – 75%)
- Ανόργανες ουσίες (5 – 10%)
- Λιπίδια (2 – 5%)
- Ένζυμα
- Βιταμίνες

#### ❖ Ο κύκλος ζωής των ζυμών

Ο κύκλος ζωής των ζυμών συμπεριλαμβάνει τα επόμενα στάδια:

- Λανθάνουσα φάση:** Σ' αυτό το στάδιο τα κύτταρα προσαρμόζονται στις καινούριες συνθήκες και δεν συμβαίνει ακόμη καμία κυτταροδιαίρεση. Καθυστερεί για μικρό χρόνο η έναρξη του πολλαπλασιασμού τους.
- Φάση επιτάχυνσης:** Στη φάση αυτή αρχίζει σιγά – σιγά ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων. Η καμπύλη είναι παράλληλη προς τον οριζόντιο άξονα και προς το τέλος της φάσης αυτής αρχίζει η ανοδική πορεία.
- Λογαριθμική φάση:** Η φάση αυτή αντιπροσωπεύει εξ' ολοκλήρου τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Η θνησιμότητα είναι μηδενική.
- Φάση στασιμότητας:** Στη φάση αυτή δεν παρατηρείται πλέον καμία ανάπτυξη των κυττάρων αλλά ούτε και μείωση. Η καμπύλη είναι πλέον οριζόντια με τον άξονα και ο πληθυσμός παραμένει σταθερός για αρκετό χρονικό διάστημα.
- Φάση μείωσης:** Ο πληθυσμός των κυττάρων αρχίζει να μειώνεται. Τα κύτταρα αυτολύονται και ελευθερώνουν τα συστατικά τους. Η καμπύλη πλέον παίρνει μία καθοδική πορεία και ο χρόνος διάρκειας του σταδίου εξαρτάται από το μέγιστο αριθμό των κυττάρων που υπήρχε στην προηγούμενη φάση.

# Ανάπτυξη καλλιέργειας



Εικόνα 19 : Κινητική ανάπτυξη καλλιέργειας ζυμών

## 5.4 Η διατροφή των ζυμών

Οι ζύμες παίρνουν όλα τα θρεπτικά συστατικά που τους είναι απαραίτητα από το γλεύκος. Πριν τελειώσει η ζύμωση ορισμένα από τα θρεπτικά αυτά στοιχεία εξαντλούνται και είναι απαραίτητο να προστεθούν ξανά ώστε η ζύμωση να ολοκληρώσει το έργο της. Τα κυριότερα από τα θρεπτικά συστατικά θα αναφερθούν παρακάτω:

### Πηγές άνθρακα

Οι ζύμες όπως είναι γνωστό είναι ετερότροφοι οργανισμοί και δεν έχουν το πλεονέκτημα να μπορούν να αφομοιώσουν το διοξείδιο του άνθρακα όπως τα φυτά. Είναι αναγκαίο οι ενώσεις του άνθρακα να είναι διαθέσιμες στο υπόστρωμα στο οποίο αναπτύσσονται οι ζύμες. Οι απαιτήσεις των ζυμών εξαρτώνται από την παρουσία ή την απουσία οξυγόνου.

Σε αερόβιο περιβάλλον όπου η ζύμη αναπνέει έχει την δυνατότητα να χρησιμοποιήσει την ενέργεια και την ύλη από ένα αρκετά μεγάλο αριθμό μορίων, όπως είναι τα σάκχαρα, τα αμινοξέα, η αλκοόλη. Όλα αυτά τα μόρια του άνθρακα δίνουν στο τέλος διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Το φαινόμενο αυτό αποτελεί την αναπνοή των ζυμών.

Σε αναερόβιο περιβάλλον η ζύμη δεν έχει την δυνατότητα να χρησιμοποιήσει μεγάλο αριθμό ενώσεων για την ανάπτυξή της παρά μόνο κάποια σάκχαρα. Τα σάκχαρα τα οποία χρησιμοποιούνται είναι κυρίως οι εξόζες και πιο συγκεκριμένα η D - γλυκόζη, η D - φρουκτόζη και η D - μααννόζη. Επίσης, οι ζύμες έχουν την δυνατότητα να χρησιμοποιήσουν και ορισμένους δισακχαρίτες αφού βέβαια πρώτα τους

μετατρέψουν σε μονοσακχαρίτες για να μπορέσουν να τους αφομοιώσουν. Έτσι η μαλτόζη μπορεί να μετατραπεί σε 2 μόρια γλυκόζης και η σακχαρόζη σε 1 μόριο φρουκτόζης και 1 μόριο γλυκόζης. Όταν λοιπόν σ' ένα αναερόβιο περιβάλλον οι ζύμες παράγουν αλκοόλη, διοξείδιο του άνθρακα και δευτερεύοντα προϊόντα αυτό το φαινόμενο αποτελεί την αλκοολική ζύμωση.

### Πηγές αζώτου

Για το σχηματισμό των ζυμών σε αμινοξέα είναι απαραίτητη η ανάγκη προσθήκης αμμωνιακού αζώτου. Οι ζύμες για να πολλαπλασιαστούν καταναλώνουν πολύ μεγάλη ποσότητα αζωτούχων συστατικών προερχόμενα από το γλεύκος με αποτέλεσμα το αμμωνιακό άζωτο να είναι πρώτο σε κατανάλωση και να εξαντλείται ήδη από την πρώτη μέρα που λαμβάνει χώρα η ζύμωση. Μέσω των αμινοξέων (συνθέτονται από τα κετονικά οξέα), οι ζύμες φτιάχνουν τις δικές τους πρωτεΐνες. Έτσι λοιπόν όταν το αμμωνιακό άζωτο έχει φτάσει σε πολύ μικρές ποσότητες στο γλεύκος οι ζύμες προμηθεύονται το αμμωνιακό άζωτο για να συνεχιστεί η ζύμωση από τα αμινοξέα, τα πολυπεπτίδια και τις πρωτεΐνες.

Ο σκοπός του αζώτου είναι να βοηθήσει τις ζύμες στον πολλαπλασιασμό τους γι' αυτό το λόγο κιάλας όσο περισσότερο άζωτο έχουν οι ζύμες στην διάθεση τους τόσο πιο έντονη είναι η ζυμωτική τους ικανότητα. Συνήθως η προσθήκη του αζώτου γίνεται πριν αρχίσει η ζύμωση γιατί το άζωτο εξαντλείται από την πρώτη κιάλας ημέρα. Εάν η προσθήκη του αζώτου γίνει πιο αργά τότε δεν θα αξιοποιηθεί όλη η ποσότητα και αυτό θα έχει ως συνέπεια ο οίνος να περιέχει υπολείμματα αζώτου τα οποία με την σειρά τους μπορούν να οδηγήσουν στην ανεπιθύμητη ανάπτυξη βακτηρίων. Τέλος, καλό είναι να αναφερθεί ότι στην λευκή οينوποίηση η έλλειψη αζώτου γίνεται ακόμη πιο έντονη σε σύγκριση με την ερυθρή γιατί η ζύμωση λαμβάνει χώρα απουσία των στεμφύλων.

### Ανόργανα συστατικά

Εκτός από τα ανόργανα άλατα υπάρχουν και πολλά ιχνοστοιχεία που λαμβάνουν μέρος έστω και σε πολύ μικρές ποσότητες για την ανάπτυξη των ζυμών. Οι ζύμες κατά τον πολλαπλασιασμό τους δεν χρησιμοποιούν στο έπακρον όλες τις ενώσεις που τους προσφέρονται ή εάν τις χρησιμοποιήσουν υπάρχουν και ουσίες που δεν τις χρειάζονται πια και τις αποβάλλουν με την μορφή τέφρας πάνω στο υπόστρωμα. Η τέφρα περιέχει κάποια όμως ιχνοστοιχεία όπως αργίλιο, βρώμιο, χρώμιο, χαλκός, ψευδάργυρος τα οποία τελικά συμβάλουν έστω και σε πάρα πολύ μικρές ποσότητες για τον πολλαπλασιασμό των ζυμών.

### Οξυγόνο

Η ζύμη για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί έχει την ανάγκη του οξυγόνου αλλά απαιτείται και ένας μεγάλος αριθμός ζυμομυκήτων. Ο πληθυσμός αυτός επιτυγχάνεται με το αερόβιο περιβάλλον. Επίσης, οι ζυμομύκητες ανάλογα με την ποσότητα του οξυγόνου που έχουν στην διάθεσή τους αναπτύσσουν δύο διαφορετικές ιδιότητες την ζύμωση και την αναπνοή. Στη ζύμωση η οποία λαμβάνει χώρα σε αναερόβιο περιβάλλον τα σάκχαρα μεταβολίζονται σε αλκοόλη και διοξείδιο

του άνθρακα αλλά και σε άλλα δευτερεύοντα προϊόντα τα οποία εκλύουν θερμότητα 40 kcal.

Στην περίπτωση που τα σάκχαρα πολλαπλασιάζονται παρουσία οξυγόνου αποσυντίθενται σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό, ενώ ταυτόχρονα εκλύεται θερμότητα ίση με 686 kcal. Είναι απαραίτητο να τονιστεί ότι κατά την αλκοολική ζύμωση δεν υπάρχει απόλυτος διαχωρισμός ανάμεσα στην αναπνοή και στη ζύμωση ή ανάμεσα στο αερόβιο ή στο αναερόβιο περιβάλλον.

Επιπλέον, ο αερισμός δεν πρέπει να γίνει πριν την έναρξη της ζύμωσης γιατί δεν ασκεί καμία αλλαγή. Ο αερισμός είναι απαραίτητο να γίνει την 2<sup>η</sup> ημέρα της ζύμωσης γιατί έχει ως αποτέλεσμα να παραχθεί μεγαλύτερος αριθμός κυττάρων σε σύγκριση με εκείνο του συνεχούς αερισμού και οδηγεί σε ταχεία ανάπτυξη των κυττάρων. Τέλος, όταν ο αερισμός γίνει περίπου την 4<sup>η</sup> ημέρα της ζύμωσης επιδρά πολύ λιγότερο στον πολλαπλασιασμό των ζυμών, ενώ όταν γίνει την 8<sup>η</sup> ημέρα δεν έχει κανένα αποτέλεσμα και το φαινόμενο εξελίσσεται όπως όταν δεν υπάρχει καθόλου αερισμός.

### Θερμοκρασία

Οι ζυμομυκήτες είναι οργανισμοί μεσόφιλοι και ψυχρόφιλοι και μπορούν να αναπτυχθούν ή σε χαμηλές θερμοκρασίες (20° C) ή σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται ανάμεσα στους 20 – 45° C ανάλογα πάντα στο γένος που ανήκουν. Η ζύμωση εξελίσσεται πιο γρήγορα σε υψηλές θερμοκρασίες και πιο συγκεκριμένα σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 30 – 39° C. Όπως έχει αναφερθεί ξανά όσο πιο υψηλή είναι η θερμοκρασία τόσο πιο περιορισμένη είναι η ζύμωση, τόσο πιο λίγα είναι τα ποσά των σακχάρων που ζυμώνονται και τόσο πιο μικρό είναι το ποσοστό της αλκοόλης που παράγεται. Επομένως, είναι αναγκαίο να επιλέγετε η κατάλληλη θερμοκρασία έτσι ώστε να μπορέσει να αποφευχθεί η διακοπή της ζύμωσης. Τέλος, η επιλογή της κατάλληλης θερμοκρασίας δίνει την δυνατότητα να αναπτυχθούν διάφορες αρωματικές ενώσεις που και αυτές με την σειρά του συμβάλλουν στην δημιουργία ενός οίνου ποιότητας.

### pH

Η οξύτητα του θρεπτικού υλικού μέσα στην οποία βρίσκεται ο πληθυσμός των ζυμομυκήτων είναι μία σημαντική παράμετρος για τον πολλαπλασιασμό και τις διάφορες δραστηριότητες τους. Το άριστο pH για να αναπτυχθούν οι ζύμες κυμαίνεται μεταξύ του 4 έως του 6. Από διάφορες έρευνες έχει διαπιστωθεί ότι η καλύτερη ανάπτυξη των ζυμών που βρίσκονται στα γλεύκη αλλά και για τον σχηματισμό διάφορων προϊόντων της αλκοολικής ζύμωσης γίνεται σε υψηλό pH.

### Συνδυασμός pH και θερμοκρασίας

Εάν γίνει ένας σωστός συνδυασμός μεταξύ του pH και της θερμοκρασίας της ζύμωσης του γλεύκους τότε ασκείται σημαντική επίδραση στην ανάπτυξη των ζυμομυκήτων αλλά και στην ποιότητα του οίνου που θα παραχθεί.

### Συγκέντρωση σακχάρων

Άλλος ένα πολύ σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την ανάπτυξη και τον μεταβολισμό των ζυμών είναι η συγκέντρωση των σακχάρων στο γλεύκος. Πολύ υψηλές ή αντίστοιχα πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις σακχάρων δεν είναι ευνοϊκές ούτε για την ανάπτυξη των ζυμών αλλά ούτε και για την ταχύτητα της ζύμωσης και πολλές φορές παρατηρείται η διακοπή της ζύμωσης.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6<sup>ο</sup>: ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΥΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ**

### **6.1 Ποιοτικά χαρακτηριστικά**

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά ενός οίνου δίνονται από τους ποσοτικούς προσδιορισμών κάποιων παραμέτρων οι οποίοι θα αναλυθούν παρακάτω.

- **Προσδιορισμός της ολικής οξύτητας του γλεύκους και του οίνου με δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης**

Πραγματοποιείται με ογκομέτρηση με την βοήθεια ενός αλκαλικού διαλύματος NaOH μέχρι να εξουδετερωθούν όλες οι περιεχόμενες ελεύθερες καρβοξυλομάδες. Η εξουδετέρωση πιστοποιείται με τη χρήση του δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης που αλλάζει χρωματισμό σε ένα ορισμένο pH. Συνήθως η εξουδετέρωση των οξέων πραγματοποιείται σε pH 7. Το διοξείδιο του άνθρακα και ο θειώδης ανυδρίτης δεν πρέπει να λαμβάνουν μέρος στην εξουδετέρωση. Η μονάδα μέτρησης είναι τα χλιοστοϊσοδύναμα ανά λίτρο (meq/L).

- **Προσδιορισμός της ενεργού οξύτητας (pH) του γλεύκους ή οίνου με ηλεκτρονικό πεχάμετρο**

Η μέτρηση πραγματοποιείται με τη βοήθεια του ηλεκτρικού πεχαμέτρου το οποία φέρει ηλεκτρόδια υάλου. Τα πεχάμετρα λειτουργούν με βάση την αρχή της δυναμομετρικής μέτρησης του pH, η οποία προσδιορίζει τη συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου μέσα σε ένα διάλυμα.

- **Προσδιορισμός αιθυλικής αλκοόλης (αλκοολικός τίτλος %vol)**

Η μέτρηση πραγματοποιείται με την μέθοδο της απλής απόσταξης. Η μέτρηση της πυκνότητας του αποστάγματος γίνεται με αραιόμετρο και ο αλκοολομετρικός τίτλος προσδιορίζεται με προσέγγιση ενός δεκάτου (0,1% vol). Επίσης μετράται και η θερμοκρασία με θερμομέτρο.

- **Προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας**

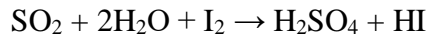
Η μέτρηση βασίζεται στην παραλαβή των πτητικών οξέων με απόσταξη και στην ογκομέτρηση αυτών με άλκαλι παρουσία δείκτη φαινολοφθαλεΐνης και είναι γνωστή ως μέθοδος Duclaux – Gayon.

- **Προσδιορισμός των αναγωγικών σακχάρων με τη μέθοδο αποχρωματισμού του φελίγγειου υγρού**

Η μέθοδος βασίζεται στην ιδιότητα των αναγωγικών σακχάρων να ανάγουν και να αποχρωματίζουν το φελίγγειο υγρό (αλκαλικό διάλυμα του χαλκού) όταν βρίσκεται σε βρασμό (“Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία”, Σουφλερός, 2009).

- **Ιωδιομετρικός προσδιορισμός του θειώδη ανυδρίτη (ελεύθερος, δεσμευμένος, ολικός)**

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στον ποσοτικό προσδιορισμό του θειώδη ανυδρίτη και στην οξειδωσή του από το ιώδιο σύμφωνα με την παρακάτω σχέση:



Η αντίδραση αυτή πρέπει να λαμβάνει χώρα σε όξινο περιβάλλον.

- **Προσδιορισμός του δείκτη ολικών πολυφαινολών**

Η μέθοδος αυτή παρατηρείται με απορρόφηση των βενζολικών δακτυλίων των φαινολικών ενώσεων του γλεύκους και του οίνου στην υπεριώδη ακτινοβολία.

- **Προσδιορισμός της χρωματικής έντασης (*I*) και απόχρωσης (*T*)**

Η μέτρηση του χρώματος είναι αποτέλεσμα της επιλεγμένης απορρόφησης μερικών στοιχειωδών ακτινοβολιών και η τιμή προσδιορίζεται από την υπεριώδη ακτινοβολία. Στους λευκούς οίνους το κυρίαρχο χρώμα των οποίων είναι το κιτρινοπράσινο και το χρυσοκίτρινο έχει διαπιστωθεί ότι το μέγιστο της απορρόφησης παρατηρείται στο υπεριώδες φως και σε μήκος κύματος 270-280 nm. Στους ερυθρούς οίνους στους οποίους το χρώμα δεν είναι σταθερό, νέοι οίνοι ζωηρό κόκκινο, παλαιοί οίνοι πορτοκαλοκόκκινο. Επειδή οι ερυθροί οίνοι δεν έχουν σταθερή απόχρωση συνιστάται να γίνεται η μέτρηση του χρώματος σε τρία μήκη κύματος στα 620 nm, όπου είναι η μέγιστη απορρόφηση για το κυανό χρώμα, στα 520 nm, όπου είναι η μέγιστη για το ζωηρό κόκκινο χρώμα και στα 420 nm, όπου η απορρόφηση του κίτρινου χρώματος παρουσιάζει κάποια αύξηση (“Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία”, Σουφλερός, 2009).

- **Προσδιορισμός ταννινών**

Η μέθοδος να τον προσδιορισμό των ταννινών στηρίζεται στην ιδιότητά τους να μετατρέπονται μερικώς σε ανθοκυάνες, μετά από θέρμανση σε όξινο περιβάλλον. Επομένως, προσδιορισμός ανάγεται σε χρωματομετρική μέτρηση των σχηματιζόμενων ταννινών με υπεριώδη ακτινοβολία.

- **Προσδιορισμός ολικών ανθοκυανών**

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ιδιότητα των ανθοκυανών να δίνουν με το ιόν  $\text{SO}_3\text{H}$  άχρωμες ενώσεις. Είναι αναγκαίο να θεωρείται ότι οι υπόλοιπες ουσίες του οίνου δεν συμμετέχουν σ' αυτή την αντίδραση και ότι η αλλαγή του χρώματος, μετά από προσθήκη περίσσειας όξινου θειικού άλατος, είναι ανάλογη προς την περιεκτικότητα των ανθοκυανών.

- **Προσδιορισμός δείκτη ιονισμού ανθοκυανών**

Ο προσδιορισμός του δείκτη ιονισμού δίνει την δυνατότητα εκτίμησης του ποσοστού των ανθοκυανών που βρίσκονται σε ιονισμένη μορφή και δίνουν το χρώμα στον οίνο.

- **Προσδιορισμός του δείκτη αιθανόλης**

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στο ότι ο δείκτης αιθανόλης αποτελεί ένδειξη του ποσοστού των ταννινών του οίνου που είναι ενωμένες με πολυσακχαρίτες. Ο προσδιορισμός του δείκτη αιθανόλης στηρίζεται στην ιδιότητα των πολυσακχαριτών να είναι αδιάλυτοι στην αιθυλική αλκοόλη, οπότε σε υψηλές συγκεντρώσεις αλκοόλης καταβυθίζονται παρασύροντας μαζί τους και τις τανίνες με τις οποίες είναι ενωμένοι.



- **Προσδιορισμός δείκτη υδροχλωρικού οξέος**

Ο δείκτης υδροχλωρικού οξέος δίνει το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών που υπάρχουν στον οίνο. Η μέθοδος στηρίζεται στην ιδιότητα των πολυμερισμένων τανινών να καταβυθίζονται σε ισχυρά όξινο περιβάλλον με τη βοήθεια του υδροχλωρικού οξέος.

- **Προσδιορισμός δείκτη ζελατίνης**

Ο δείκτης της ζελατίνης εκφράζει το μέγεθος της στυφής γεύσης των οίνων. Ο προσδιορισμός αυτού του δείκτη στηρίζεται στην ιδιότητα που έχουν οι τανίνες να ενώνονται με τις πρωτεΐνες και να σχηματίζουν σταθερές ενώσεις. Για την λήψη των πρωτεϊνών παρασκευάζονται διαλύματα τανινών σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις και ένα διάλυμα μάρτυρα στο οποίο υπολογίζεται και σ' αυτό η συγκέντρωση των τανινών. Αφού πρώτα τα διαλύματα μείνουν σε ηρεμία για 3 ημέρες φυγοκεντρώνται και αραιώνονται με αποσταγμένο νερό. Από το αραιωμένο διάλυμα υπολογίζεται η συγκέντρωση των τανινών.

Η διαφορά των συγκεντρώσεων στο μάρτυρα και στα διαλύματα των τανινών που παρασκευάστηκαν δίνουν το ποσοστό των τανινών που δεσμεύτηκαν από τις πρωτεΐνες. Η τιμή του δείκτη ζελατίνης δίνεται από τον τύπο:

$$\text{Δείκτης ζελατίνης} = 100 * (C_o - C_g) / C_o$$

## **6.2 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά**

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός οίνου είναι στην ουσία ο οργανοληπτικός έλεγχος ή πιο απλά η γευσιγνωσία ενός οίνου. Κατά την διαδικασία του οργανοληπτικού ελέγχου ο χαρακτήρας του οίνου έρχεται σε επαφή με τις αισθήσεις του δοκιμαστή (όραση, όσφρηση και γεύση).

- **Όραση**

Η όραση πληροφορεί για το χρώμα, την ένταση και την απόχρωση. Επίσης δίνει πληροφορίες για την διαύγεια, την αδράνεια, την ρευστότητα και την εκχύλιση του διοξειδίου του άνθρακα. Είναι η πρώτη εκτίμηση κατά την γευσιγνωσία και επιδρά και στα επόμενα στάδια.

- **Όσφρηση**

Η όσφρηση εξυπηρετείται από μία ζώνη επιφάνειας η οποία βρίσκεται στο πάνω μέρος της ρινικής κοιλότητας και αποτελεί το κέντρο όσφρησης. Είναι αναγκαίο να τονιστεί ότι η ζώνη επιφάνειας είναι περιορισμένη σε έκταση.

Μία ουσία για να έχει οσμή πρέπει να είναι πτητική και η συγκέντρωσή της να είναι μεγαλύτερη του κατωφλίου της αντίληψης για να μπορέσει να την οσφρανθεί. Ο γευσιγνώστης πρώτα απ' όλα και πριν ακόμη δοκιμάσει μυρίζει τον οίνο και γι' αυτό το λόγο κιόλας χρησιμοποιεί την απευθείας γραμμή της όσφρησης που συνδέει το εξωτερικό περιβάλλον (συγκεκριμένα το κρασί) με το κέντρο της όσφρησης μέσω της ρινικής οδού. Πριν ακόμη ο δοκιμαστής φέρει το ποτήρι κοντά στην μύτη είναι απαραίτητο να το ανακινήσει. Αυτή του η ενέργεια βοηθά στην αύξηση της έντασης και στην απελευθέρωση νέων αρωμάτων. Τέλος, ο οίνος απελευθερώνει αρώματα και

κατά τη γευστική δοκιμή του μέσω της έμμεσης γραμμής όσφρησης, άρωμα του στόματος.

- **Γεύση**

Με τον όρο γεύση εννοείται η αίσθηση του στόματος που χωρίζεται σε τέσσερις κατηγορίες την ξινή, την πικρή, την γλυκιά και την αλμυρή. Το υπόλοιπο της στοματικής αίσθησης είναι η αίσθηση της αφής που δίνει πληροφορίες για το ιξώδες, την θερμοκρασία, την λιπαρότητα, τον όγκο. Επίσης, δίνει πληροφορίες για την αίσθηση της στυφάδας. Επιπλέον γίνεται αντιληπτό το “κάψιμο” που προκαλεί η αιθανόλη το οποίο συμβαίνει στην ικανότητα της αιθανόλης να απορροφά το νερό των κυττάρων. Η αίσθηση της γεύσης επιτελείται με την βοήθεια των θηλών που βρίσκονται στην επιφάνεια της γλώσσας. Κάθε θηλή της γλώσσας αποτελείται από γευστικά κύτταρα. Το κεντρικό τμήμα της γλώσσας δεν έχει μεγάλη πυκνότητα θηλών και δεν μπορεί να αποδώσει κάποια γεύση. Το μπροστινό μέρος της γλώσσας έχει ευαισθησία στην γλυκιά γεύση, τα πλάγια μέρη της γλώσσας παρουσιάζουν ευαισθησία στην ξινή και στην αλμυρή γεύση και το πίσω μέρος της γλώσσας παρουσιάζει ευαισθησία στην πικρή γεύση. Η πικρή γεύση γίνεται πιο αντιληπτή αφού έχει εξέλθει ο οίνος από την στοματική κοιλότητα του δοκιμαστή. Τέλος, η ξινή γεύση μπορεί να γίνει αντιληπτή και στο εσωτερικό από τα μάγουλα.

- **Αλληλεπίδραση γεύσεων**

Οι διάφορες γεύσης του κάθε οίνου αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και μπορούν να μεταβάλλουν η μία την άλλη. Η γλυκιά γεύση μπορεί να μεταβάλλει ελάχιστα την ξινή σε αντίθεση με την ξινή που ελαττώνει πολύ έντονα την γλυκιά. Η αιθανόλη έχει την ικανότητα να ελαττώνει την ξινή γεύση. Επίσης, μπορεί να γίνει από μερικούς οίνους αισθητή και μία αίσθηση σκληράδας. Αυτή οφείλεται στο ότι με την ξινή γεύση αυξάνεται η αίσθηση του καψίματος που προκαλεί η αιθανόλη. Με την σειρά της η γλυκιά γεύση εξουδετερώνει την πικρή (όχι όμως όλη την έντασή της). Στην συνέχεια η αιθανόλη σκεπάζει την στυφή γεύση που προέρχεται από τις τανίνες, αυξάνει την γλυκιά και ελαττώνει την πικρή. Τέλος, η ξινή γεύση αυξάνει την πικρή και η πικρή με την σειρά της αυξάνει την ξινή (“Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί”, Τσακίρης, 2014).

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7<sup>ο</sup>: ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ - ΦΑΣΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΜΑΖΩΝ**

Η αέρια χρωματογραφία είναι μία αναλυτική τεχνική η οποία έχει αναπτυχθεί τα τελευταία 50 χρόνια. Η τεχνική αυτή είναι σχετικά απλή και χρησιμοποιείται για την ανάλυση πτητικών ουσιών σε τρόφιμα, φάρμακα και σε πολλά άλλα.

Το φέρον αέριο το οποίο περιέχεται μέσα σε φιάλη υψηλής πίεσης, μέσα από ρυθμιστές παροχής, οδηγείται στην στήλη. Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται μέσω μιας μικροσύριγγας στην βαλβίδα εισαγωγής του δείγματος που βρίσκεται στην κορυφή της στήλης. Τα συστατικά του δείγματος παρασύρονται από το φέρον αέριο κατά μήκος της στήλης και στο τέλος διαχωρίζονται. Στην συνέχεια τα κλάσματα ανιχνεύονται στον ανιχνευτή και τα σήματα ανίχνευσης καταγράφονται από το καταγραφικό. Σε μερικά μηχανήματα στην συνέχεια υπάρχει μια διάταξη όπου συλλέγονται τα διάφορα κλάσματα και ένα ροόμετρο που ελέγχει την ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου (“Ενόργανη Ανάλυση”, Χατζηϊωάννου, Κουπάρη, 2015).

Ως φέρον αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε αέριο που βρίσκεται σε υπερκάθαρη κατάσταση, το οποίο μπορεί να διαφοροποιηθεί στον ανιχνευτή, από τα διάφορα συστατικά του μίγματος. Είναι πολύ σημαντικό το φέρον αέριο να είναι αδρανές και απαλλαγμένο από προσμίξεις. Επίσης δεν πρέπει να περιέχει οξυγόνο, γιατί τότε μπορεί να οξειδωθεί η στατική φάση και αυτό σημαίνει καταστροφή της στήλης, ιδιαίτερα όταν αυτή είναι τριχοειδής και η ποσότητα της στατικής φάσης είναι ελάχιστη. Ίχνη υγρασίας επίσης απενεργοποιούν τη στατική φάση, γι’ αυτό το λόγο το φέρον αέριο πρέπει να είναι απαλλαγμένο από υγρασία. Η επιλογή του φέροντος αερίου εξαρτάται κυρίως από τον τύπο του ανιχνευτή που χρησιμοποιείται (στην προκειμένη περίπτωση το φέρον αέριο είναι το ήλιο) (“Ενόργανη Ανάλυση”, Χατζηϊωάννου, Κουπάρη, 2015).

Το πιο σημαντικό μέρος του χρωματογράφου είναι η στήλη που διαθέτει. Υπάρχουν δύο είδη στηλών οι πληρωμένες στήλες και οι τριχοειδείς. Η στήλη αποτελείται από έναν επιμήκη σωλήνα, συνήθως με τη μορφή σπειράματος ή U, ώστε να καταλαμβάνει κατά το δυνατόν μικρότερο χώρο. Είναι φτιαγμένη από ανοξείδωτο χάλυβα, χαλκό, αργίλιο, ύαλο ή πλαστικό. Το μήκος των πληρωμένων στηλών είναι περίπου 1-2 m και το μήκος των τριχοειδών στηλών είναι από 30 έως 120 m.

Το δείγμα που είναι συνήθως όγκου 1μL εισάγεται μαζί με το φέρον αέριο από την αρχή της στήλης με μια μικροσύριγγα, διαμέσου μιας ελαστικής πλακέτας ή διαφράγματος (septum). Η ταχύτητα και η ικανότητα του διαχωρισμού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Για αυτό το λόγο η στήλη βρίσκεται σε φούρνο, του οποίου η θερμοκρασία ελέγχεται αυστηρά. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφορών δυνάμεων συγκράτησης και έκλουσης που λαμβάνουν χώρα ανάμεσα στα συστατικά του μίγματος, στο υλικό πλήρωσης της στήλης και στην ροή του φέροντος αερίου. Το δεύτερο μέρος του χρωματογράφου περιλαμβάνει τον ανιχνευτή, ο οποίος τοποθετείται στο τέλος της στήλης στη συνέχεια τα σήματα ενισχύονται στον ενισχυτή και καταγράφονται στο καταγραφικό σύστημα (“Ενόργανη Ανάλυση”, Χατζηϊωάννου, Κουπάρη, 2015).

Στη συνέχεια ένα μέρος από το έκλουσμα της χρωματογραφικής στήλης οδηγείται στην πηγή ιόντων, αφού όμως πρώτα έχει απαλλαγεί από την μεγαλύτερη ποσότητα του φέροντος αερίου. Με αυτόν τον τρόπο είναι δυνατό να προσδιοριστεί το μοριακό βάρος (MB) της ένωσης και ο τρόπος σύνδεσης των διαφόρων ομάδων μεταξύ τους.

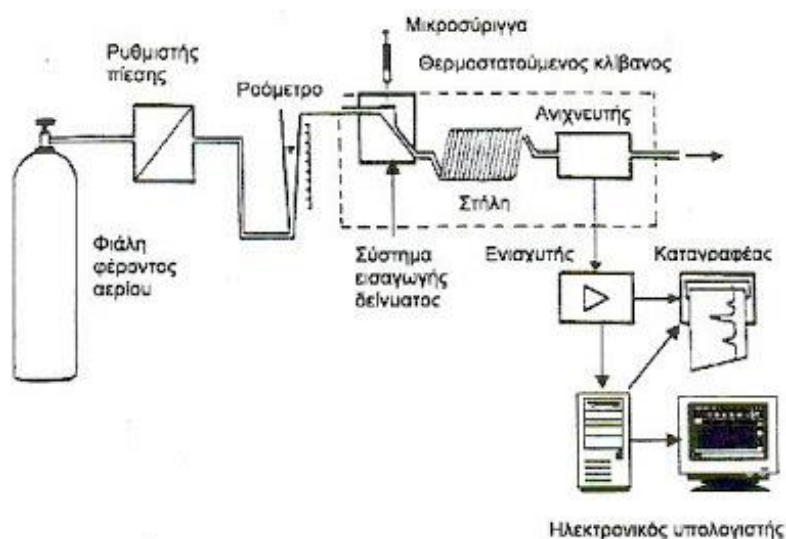
Τα φασματοφωτόμετρα μαζών αποτελούνται από:

- Το θάλαμο ιοντισμού, όπου μετατρέπεται η ένωση σε ιόντα, συνήθως κατιόντα με απόσπαση ενός ηλεκτρονίου
- Τον αναλυτή μαζών, όπου γίνεται διαχωρισμός των ιόντων με βάση το λόγο  $m/z$
- Τον ανιχνευτή

Ο χώρος όπου δημιουργούνται και επιταχύνονται τα ιόντα διατηρείται σε κατάσταση υψηλού κενού. Με το υψηλό κενό δημιουργούνται (σε χαμηλές θερμοκρασίες θέρμανσης) ατμοί της ουσία που θα προσδιοριστεί χωρίς τη διάσπασή της και οδηγούνται στο θάλαμο ιοντισμού. Στο τέλος της ανάλυσης απομακρύνονται τα μόριά της και τα ουδέτερα προϊόντα της διάσπασης από το χώρο όπου έγινε η μέτρηση (“Ενόργανη Ανάλυση”, Χατζηϊωάννου, Κουμπάρη, 2015).

Ο αναλυτής αποτελείται από ένα σωλήνα σε σχήμα τόξου, που βρίσκεται μέσα σε ομογενές μαγνητικό πεδίο μεγάλης έντασης (3000-4000 gauss) και σε διεύθυνση κάθετη προς τις δυναμικές γραμμές του μαγνητικού πεδίου. Με δύο κυκλικές οπές – διαφράγματα μεταβλητής ακτίνας στην αρχή και στο τέλος του σωλήνα ένα μέρος από τα ιόντα που δεν εστιάζονται στο κέντρο των διαφραγμάτων απορρίπτεται.

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος ιοντισμού είναι με βομβαρδισμό των αερίων μορίων της ένωσης με δέσμη ηλεκτρονίων (EI). Κατά τον ιοντισμό της ένωσης με ηλεκτρόνια, ο οποίος επιτυγχάνεται με βομβαρδισμό μορίων αυτής με δέσμη ηλεκτρονίων μεγάλης ενέργειας (συνήθως 70 eV), δημιουργείται μια απώλεια ενός ηλεκτρονίου από μέρους της ένωσης και μια κατιοντική ρίζα, που αντιστοιχεί στο μοριακό ιόν. Οι κατιοντικές αυτές ρίζες επιταχύνονται αρχικά με ηλεκτρικό πεδίο και στη συνέχεια κινούνται μέσα στο μαγνητικό πεδίο, οπότε εκτρέπονται και διαχωρίζονται με βάση το  $m/z$ .



Εικόνα 20 : Σχηματικό διάγραμμα αερίου χρωματογράφου

# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η συγκριτική μελέτη της δυνατότητας αλκοολικής ζύμωσης γενετικά τροποποιημένης ζύμης σε διάφορες θερμοκρασίες. Πραγματοποιήθηκαν ζυμώσεις σε δείγματα ανασυσταμένου γλεύκους σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες με άγρια ζύμη w303-1a και με γενετικά τροποποιημένη ζύμη στην οποία έχει γίνει μετάλλαξη στην πρωτεΐνη *msn2* και στο αμινοξύ 582 έχοντας αντικαταστήσει το αμινοξύ σερίνη με αλανίνη.

### 1. ΥΛΙΚΑ – ΟΡΓΑΝΑ

Τα υλικά και τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων παρουσιάζονται στη συνέχεια:

- Συμπυκνωμένο γλεύκος
- 6 κωνικές φιάλες 1000 mL
- 1 ογκομετρικό κύλινδρο των 500 mL
- 1 ογκομετρικό κύλινδρο των 100 mL
- 1 ογκομετρικό κύλινδρο των 50 mL
- 2 ποτήρια ζέσεως
- 1 γυάλινη ράβδος
- 1 πυκνόμετρο που μετράει °Be βαθμονομημένο στους 15° C
- 1 θερμομότρο
- Προχοΐδα
- Σιφόνιο 5 mL
- Πουαρ
- Κωνικές φιάλες των 50 mL
- Ψυγείο στους 15° C
- Πυριαντήριο στους 30° C
- Υπερκάθαρο νερό (3D)

### 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Αρχικά, λήφθηκε συμπυκνωμένο γλεύκος το οποίο είχε 39 °Be. Το γλεύκος ήταν στο ψυγείο και πριν χρησιμοποιηθεί παρέμεινε για 1 ώρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια, συμπληρώθηκε ο ογκομετρικός κύλινδρος των 500 mL μέχρι τη χαραγή των 150 mL. Προστέθηκε υπερκάθαρο νερό μέχρι τα 500 mL. Έπειτα το δείγμα μεταγγίστηκε προσεκτικά σε ένα ποτήρι ζέσεως του 1L και αναδεύθηκε καλά με την γυάλινη ράβδο μέχρι να ομογενοποιηθεί το δείγμα.

Ακολούθως το δείγμα επανατοποθετήθηκε στον ογκομετρικό κύλινδρο των 500 mL. Έπειτα μια ποσότητα από το δείγμα τοποθετήθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο των 100 mL και εμβαπτίστηκε το πυκνόμετρο. Μετά τη σταθεροποίηση του πυκνόμετρου

έγινε καταγραφή της ένδειξης καθώς και καταγραφή της θερμοκρασίας του δείγματος τη δεδομένη χρονική στιγμή.

Το δείγμα απαιτείται να έχει 13-14 °Be. Στην περίπτωση που είναι πιο πυκνό αραιώνεται με υπερ καθαρό νερό, ενώ εάν είναι πιο αραιό προστίθεται περισσότερη ποσότητα γλεύκους στο ήδη υπάρχον δείγμα, ανακινείται καλά με τη γυάλινη ράβδο μέχρι να ομογενοποιηθεί. Κατεγράφη εκ νέου η ένδειξη των °Be και της θερμοκρασίας. Αφού έχει ρυθμιστεί το δείγμα στους επιθυμητούς βαθμούς °Be, τοποθετείται σε κωνική φιάλη των 1000 mL. Στη συνέχεια ανακινείται πολύ καλά με κυκλικές κινήσεις η ογκομετρική φιάλη με το μάρτυρα w303-1a και προστίθεται στη φιάλη. Στη συνέχεια μια ποσότητα από το δείγμα τοποθετήθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο την 100 mL και εμβαπτίστηκε το πυκνόμετρο. Μετά τη σταθεροποίηση του πυκνόμετρου έγινε καταγραφή της ένδειξης καθώς και καταγραφή της θερμοκρασίας του δείγματος τη δεδομένη χρονική στιγμή. Παίρνονται 5 mL από το δείγμα με την βοήθεια σιφώνιου και τοποθετούνται σε κωνική φιάλη των 50 mL. Έπειτα γίνεται τιτλοδότηση του δείγματος με KOH 1M και καταγράφονται τα mL που έχουν καταναλωθεί. Αποθηκεύεται ποσότητα από το δείγμα σε γυάλινα μπουκάλια των 10 mL τα οποία στη συνέχεια τοποθετούνται στην κατάψυξη για μελλοντική χρήση. Το δείγμα σκεπάζεται πολύ καλά με αλουμινόχαρτο για να μην είναι εκτεθειμένο στις διάφορες θερμοκρασίες που θα αναπτυχθούν. Το συγκεκριμένο δείγμα αφήνεται να ηρεμίσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Την επόμενη μέρα και για όσο χρονικό διάστημα διήρκεσε η αλκοολική ζύμωση ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία τοποθετήθηκε το δείγμα σε ένα ποτήρι ζέσεως στη συνέχεια μεταφέρθηκε το περιεχόμενό του, σε ένα δεύτερο ποτήρι ζέσεως. Αυτή η διαδικασία ακολουθήθηκε με σκοπό το δείγμα να απαλλαχτεί από το διοξείδιο του άνθρακα. Εάν αυτό περιείχε διοξείδιο του άνθρακα τότε η μέτρηση °Be που θα γινόταν δεν θα έδινε τα σωστά αποτελέσματα. Στη συνέχεια μια ποσότητα από το δείγμα τοποθετήθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο την 100 mL και εμβαπτίστηκε το πυκνόμετρο. Μετά τη σταθεροποίηση του πυκνόμετρου έγινε καταγραφή της ένδειξης καθώς και καταγραφή της θερμοκρασίας του δείγματος τη δεδομένη χρονική στιγμή. Παίρνονται 5 mL από το δείγμα με τη βοήθεια σιφώνιου και τοποθετούνται σε κωνική φιάλη των 50 mL. Έπειτα γίνεται τιτλοδότηση του δείγματος με KOH 1M και καταγράφονται τα mL που έχουν καταναλωθεί. Αποθηκεύεται ποσότητα από το δείγμα σε γυάλινα μπουκάλια των 10 mL τα οποία στη συνέχεια τοποθετούνται στην κατάψυξη για μελλοντική χρήση. Έπειτα το δείγμα αφήνεται να ηρεμίσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και την επόμενη μέρα, μέχρι η μέτρηση των °Be να γίνει 0.

Η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται και για την υγρή ζύμη w303-1a\_msn2-582 (582) που τοποθετήθηκε και αυτή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Όλη η παραπάνω διαδικασία έγινε και για τους μάρτυρες που περιείχαν την υγρή ζύμη w303-1a και για τις υγρές ζύμες w303-1a\_msn2-582 που τοποθετήθηκαν σε ψυγείο 15° C και σε πυριαντήριο στους 30° C.

Αφού ολοκληρώθηκαν όλες οι ζυμώσεις και για τα τρία ζευγάρια δείγματος που τοποθετήθηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασίες συνεχίστηκαν οι μετρήσεις στον αέριο

χρωματογράφο. Τα δείγματα που ήταν τοποθετημένα στην κατάψυξη τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για να υγροποιηθούν και πάλι.

Στην συνέχεια κατασκευάστηκαν 6 πρότυπα διαλύματα αιθανόλης διαφορετικής συγκέντρωσης το κάθε ένα. Σε μία ογκομετρική φιάλη τοποθετήθηκαν τα mL αιθανόλης (1,3,5,7,9 και 11 mL) και συμπληρώθηκε μέχρι την χαραγή με υπέρ καθαρό νερό. Έπειτα τοποθετήθηκε 1 mL από το κάθε πρότυπο σε γυάλινα φιαλίδια των 5 mL με πώμα και τοποθετήθηκαν στον αέριο χρωματογράφο. Από τα 59 δείγματα γλεύκους αυτά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα 21 με τυχαία επιλογή. Σε γυάλινα φιαλίδια των 5 mL με πώμα τοποθετήθηκε 1 mL από το κάθε δείγμα και 1 mL ισοπροπανόλη. Στην συνέχεια τοποθετήθηκαν και αυτά στον αέριο χρωματογράφο ο οποίος είχε ρυθμιστεί να παίρνει μέτρηση κάθε 30 λεπτά.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη συνέχεια δίνονται οι πίνακες με τα αποτελέσματα των μετρήσεων για τις ζυμώσεις σε διαφορετικές θερμοκρασίες με τη χρήση των δύο ειδών ζύμης.

**Πίνακας 1: Μετρήσεις για τη ζύμωση γλεύκους με χρήση ζύμης αγρίου τύπου w303-1a σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σε διαφορετικές ημέρες ζύμωσης.**

Ημέρα	<sup>0</sup> Be	Οξύτητα %	Ένδειξη φωτομέτρου
1	11,8	1,1	0.307
2	11,2	1,5	
3	11	2,1	
4	10,5	3,2	1.170
7	8	5,9	1.691
8	7,8	6,4	
9	6,7	7,1	
10	5,5	7,5	1.724
11	4,8	7,7	1.796
14	1,7	8,7	
15	1	8,6	1.940
16	0	8,6	1.936
37	0		1.927



**Πίνακας 2: Μετρήσεις για τη ζύμωση γλεύκους με χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σε διαφορετικές ημέρες ζύμωσης.**

Ημέρα	<sup>0</sup> Be	Οξύτητα %	Ένδειξη φωτομέτρου
1	11,8	1,1	0.509
2	10	1,8	
3	7	2,3	
4	4,3	2,8	2.223
7	0,8	4,4	2.370
8	0	4,7	
9	0		
10	0		2.260
11	0		2.270
14	0		
15	0		2.189
16	0		2.135
37	0		1.964

Από τα ανωτέρω αποτελέσματα προκύπτει ότι η ζύμωση με χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης ολοκληρώθηκε την όγδοη ημέρα, ενώ με τη χρήση του αγρίου τύπου ζύμης χρειάστηκαν 16 ημέρες. Επίσης, η οξύτητα του παραγόμενου οίνου με τη χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης βρέθηκε μετά το τέλος της ζύμωσης ίση με 4,7‰, ενώ με τη χρήση ζύμης αγρίου τύπου βρέθηκε ίση με 8,6‰ τιμή πολύ μεγαλύτερη από την επιτρεπόμενη που είναι 6 ‰

**Πίνακας 3: Μετρήσεις για τη ζύμωση γλεύκους με χρήση ζύμης αγρίου τύπου w303-1a σε θερμοκρασία 30°C σε διαφορετικές ημέρες ζύμωσης.**

Ημέρα	<sup>0</sup> Be	Οξύτητα %	Ένδειξη φωτομέτρου
1	12	1,4	
2	11,9	1,6	
3	10,8	1,7	
4	9	2,2	
7	3,5	5,8	2.063
8	2,9	6,3	
9	1,5	6,9	
10	1	7,1	
11	0,1	7,2	2.270
14	0	7,7	2.270
17	0		2.075
18	0		2.075
22	0		2.045
23	0		2.045
44	0		1.875

**Πίνακας 4: Μετρήσεις για τη ζύμωση γλεύκους με χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης σε θερμοκρασία 30°C σε διαφορετικές ημέρες ζύμωσης.**

Ημέρα	<sup>0</sup> Be	Οξύτητα %	Ένδειξη φωτομέτρου
1	12	1,3	
2	10,5	1,7	
3	8,3	2	
4	6,9	2,6	
7	2	5,5	2.057
8	1,8	6,8	
9	1	6,2	
10	0,2	6,6	
11	0	6,8	2.260
14	0		2.238
17	0		2.033
18	0		2.051
22	0		1.995
23	0		1.974
44	0		1.892

Από τα ανωτέρω αποτελέσματα προκύπτει ότι η ζύμωση με χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης ολοκληρώθηκε την ενδέκατη ημέρα, ενώ με τη χρήση του αγρίου τύπου ζύμης χρειάστηκαν 14 ημέρες. Επίσης, η οξύτητα του παραγόμενου οίνου με τη χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης βρέθηκε μετά το τέλος της ζύμωσης ίση με 6,8%, ενώ με τη χρήση ζύμης αγρίου τύπου βρέθηκε ίση με 7,7% τιμή πολύ μεγαλύτερη από την επιτρεπόμενη που είναι 6 %

**Πίνακας 5: Μετρήσεις για τη ζύμωση γλεύκους με χρήση ζύμης αγρίου τύπου w303-1a σε θερμοκρασία 15°C σε διαφορετικές ημέρες ζύμωσης.**

Ημέρα	<sup>0</sup> Be	Οξύτητα %	Ένδειξη φωτομέτρου
1	11,9	1,1	0.280
2	12	1,1	
3	12	1,3	
4	11,1	1,6	0.906
7	8,1	2,3	1.750
8	7,1	2,5	
9	6	3	
10	5	3,4	2.000
11	4	3,9	2.011
14	1,3	4,8	
15	0,9	5,1	2.135
16	0	5,2	2.114
37	0		2.081

**Πίνακας 6: Μετρήσεις για τη ζύμωση γλεύκους με χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης σε θερμοκρασία 15°C σε διαφορετικές ημέρες ζύμωσης.**

Ημέρα	°Be	Οξύτητα ‰	Ένδειξη φωτομέτρου
1	11,9	1	0.538
2	11,1	1,6	
3	10	1,8	
4	8	2,5	1.715
7	4	2,4	2.260
8	3	2,7	
9	2	3,1	
10	1,1	3,3	2.270
11	0,7	3,4	2.301
14	0	3,8	
15	0		2.301
16	0		2.280
37	0		2.157

Από τα ανωτέρω αποτελέσματα προκύπτει ότι η ζύμωση με χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης ολοκληρώθηκε σε 14 ημέρες, ενώ με τη χρήση του αγρίου τύπου ζύμης χρειάστηκαν 16 ημέρες. Επίσης, η οξύτητα του παραγόμενου οίνου με τη χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης βρέθηκε μετά το τέλος της ζύμωσης ίση με 3,8‰, ενώ με τη χρήση ζύμης αγρίου τύπου βρέθηκε ίση με 5,2‰.

#### **4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Με βάση τα ανωτέρω αποτελέσματα προκύπτει ότι η χρήση γενετικά τροποποιημένης ζύμης με μετάλλαξη στην πρωτεΐνη *msn2* και στο αμινοξύ 582 έχοντας αντικαταστήσει το αμινοξύ σερίνη με αλανίνη, οδήγησε σε μικρότερους χρόνους ζύμωσης καθώς και σε παραγωγή οίνου με χαμηλότερη οξύτητα σε σχέση με τον παραγόμενο οίνο με χρήση αγρίου τύπου ζύμης.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### Διεθνής βιβλιογραφία

- Castineira, A. , Pena, R. , Herieco, C. , Carcia – Martin, (2002), Analysis of organic acids in wine by capillary electrophoresis with direct UV detection. Journal of food composition and analysis. 319-331.
- Eva Sanchez-Palomo, M. Consuelo Diaz-Maroto, M. Soledad Perez-Coello, (2005), Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS.
- Masneuf-Pomarede. I. , Chantal Mansour, Marie-Laure M. , Takatoshi Tominaga, Dubourdiou D. , (2006). Influence of fermentation temperature on volatile thiols concentrations in Sauvignon blank wines. Journal of food microbiology. 108, 385-390.

### Ελληνική βιβλιογραφία

- Δαμηλάκος Σ. (1990). « Οινολογία αναλύσεις οινών και ποτών»
- Κουράκου – Δραγώνα Σ. (1998) « Θέματα Οινολογίας», Εκδόσεις Τροχαλία.
- Μπλούκας Ι. (2004). «Επεξεργασία και συντήρηση τροφίμων», Εκδόσεις Σταμούλης.
- Σουφλερός Ε. (2000). «Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία», Τόμος Ι, τυπογραφία Παπαγεωργίου.
- Σουφλερός Ε. (2000). «Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία», Τόμος ΙΙ, τυπογραφία Παπαγεωργίου.
- Τσακίρης Α. (2014), «Οινολογία από το σταφύλι στο κρασί», Εκδόσεις Ψύχαλου.
- Τσέτουρας Π. (2003), «Οινοτεχνία, η επιστήμη του κρασιού στην πράξη», Εκδόσεις Σταμούλης.
- Θ. Χατζηϊωάννου, Μ. Κουπάρη (2015), «Ενόργανη Ανάλυση».