

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΚΡΗΤΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ



TECHNOLOGICAL  
EDUCATIONAL  
INSTITUTE *of* CRETE  
DEPARTMENT *of* CROP SCIENCE

## ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«ΔΙΕΥΡΕΝΗΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ ΤΟΥ  
ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΣΕ ΛΕΥΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ»

ANNA ΜΠΑΤΣΙΟΥ

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2013



**ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

ΚΑΘ. ΙΩΑΝΝΗΣ ΦΥΣΑΡΑΚΗΣ

ΚΑΘ. ΦΙΛΙΠΠΟΣ ΒΕΡΒΕΡΙΔΗΣ

ΚΑΘ. ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΛΙΟΡΑΔΑΚΗΣ

**ΤΟ ΕΡΓΟ ΑΥΤΟ ΥΛΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΚΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΤΟΥ  
ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΤΟΥ ΤΕΙ  
ΚΡΗΤΗΣ.**



Αφιερώνεται στην αδερφή μου, Λόις  
και στους γιους μου, Ιωάννη & Ιδομενέα.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

**Η** παρούσα διατριβή ξεκίνησε και ολοκληρώθηκε στο εργαστήριο Αμπελουργικής Τεχνικής του τμήματος Φυτικής Παραγωγής, της Σχολής Γεωπονίας, του ΤΕΙ Κρήτης με την επιστημονική υποστήριξη του εργαστηρίου Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας και του εργαστηρίου Γεωργικών Βιομηχανιών. Αυτή τη στιγμή που το έργο έχει ολοκληρωθεί, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή Ιωάννη Φυσαράκη για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στο εργαστήριό του και να προσπαθήσω να φέρω σε πέρας ένα, όπως αποδείχθηκε, δύσκολο έργο.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Φίλιππο Βερβερίδη, Επιστ. Υπευθ. Εργαστηρίου Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Φυτών (PBBL) και τον κ. Δημήτρη Λυδάκη, Ομότιμος Καθηγητής της σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας του ΤΕΙ Κρήτης, οι οποίοι συνέβαλαν σημαντικά στην εκτέλεση των πειραμάτων και για την πολύτιμη συνεισφορά τους στην αξιολόγηση της εργασίας μου. Ευχαριστώ τον κ. Κολιοραδάκη Γεώργιο, Καθηγητής Εφαρμογών στο γνωστικό αντικείμενο της Αμπελουργίας που είναι μέλος της εξεταστικής επιτροπής της πτυχιακής μου διατριβής.

Ευχαριστώ την κ. Νίκη Ταβερναράκη, Επιστημονικός Συνεργάτης της σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας του ΤΕΙ Κρήτης για την συμβολή της στο πειραματικό μέρος της εργασίας μου.

Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον πατέρα μου που αποτέλεσε δάσκαλος ζωής και με έμαθε να μην τα παρατάω ποτέ. Τέλος, αναμφίβολα πολλά ευχαριστώ αξίζουν στην οικογένειά μου, για την ηθική και οικονομική στήριξη.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	<b>VI</b>
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b> .....	<b>VII</b>
<b>ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ</b> .....	<b>IX</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	<b>XI</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XII</b>
<b>1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΦΟΡΑ</b> .....	<b>1</b>
1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ ΣΤΟ ΚΡΑΣΙ.....	1
1.2 Ο ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ .....	3
1.2.1 ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ .....	5
1.2.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ .....	6
1.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ SO <sub>2</sub> ΣΤΗΝ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ .....	21
1.4 Η ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΘΕΙΩΜΕΝΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΥΓΕΙΑ .....	26
1.4.1 ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΥΓΕΙΑ .....	26
1.4.2 ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΥΓΕΙΑ .....	31
1.5 ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΕΣ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ .....	33
1.5.1 Ο ΣΥΜΒΙΒΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΗΣ ΔΙΑΤΑΞΗΣ .....	33
1.5.2 ΠΑΝΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ .....	34
1.5.3 ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΚΕΣ ΕΡΕΥΝΕΣ ΤΩΝ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΩΝ .....	46
<b>2 ΥΛΙΚΑ</b> .....	<b>50</b>
2.1 ΠΕΙΡΑΜΑ 2010 .....	50
2.1.1 ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ .....	50
2.1.2 ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ .....	50
2.1.3 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ/ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΓΛΕΥΚΟΥΣ.....	52
2.1.4 ΕΠΟΠΤΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΕΩΣ .....	53
2.1.5 ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ .....	54
2.1.6 ΕΜΦΙΑΛΩΣΗ .....	54
2.1.7 ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ .....	55
2.2 ΠΕΙΡΑΜΑ 2011 .....	55
2.2.1 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ & ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΟΙΝΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ .....	55
2.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑ: ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΟΙΝΩΝ ΜΕ ΟΞΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ .....	57
<b>3 ΜΕΘΟΔΟΙ</b> .....	<b>61</b>
3.1 ΠΕΙΡΑΜΑ 2010 .....	61
3.1.1 ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ .....	61


3.1.2	ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ .....	62
3.1.3	ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ/ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ & ΤΟΥ ΓΛΕΥΚΟΥΣ .....	62
3.1.4	ΕΠΙΟΠΤΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΕΩΣ .....	66
3.1.5	ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ .....	68
3.1.6	ΕΜΦΙΑΛΩΣΗ .....	68
3.1.7	ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ .....	69
3.2	ΠΕΙΡΑΜΑ 2011 .....	69
3.2.1	ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ & ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΟΙΝΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ.....	69
3.2.2	ΠΕΙΡΑΜΑ: ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΟΙΝΩΝ ΜΕ ΟΞΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ .....	75
<b>4</b>	<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>80</b>
4.1	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟ-ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΙΜΩΝ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΩΝ.....	80
4.1.1	ΠΕΙΡΑΜΑ 2010 .....	80
4.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΑ-ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΕΩΝ ΧΕΙΡΙΣΜΩΝ .....	103
4.2.1	ΠΕΙΡΑΜΑ 2011 .....	103
4.2.2	ΠΕΙΡΑΜΑ: ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΟΙΝΩΝ ΜΕ ΟΞΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ .....	115
<b>5</b>	<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>133</b>
5.1	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟ-ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΙΜΩΝ ΧΕΙΡΙΣΜΩΝ .....	133
5.1.1	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΩΝ ΣΤΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ .....	133
5.1.2	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΩΝ ΣΤΟ ΜΟΥΣΤΟ.....	136
5.1.3	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ .....	140
5.2	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑ-ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΙΜΩΝ ΧΕΙΡΙΣΜΩΝ .....	142
5.3	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΟΙΝΩΝ ΜΕ ΟΞΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ .....	149
<b>6</b>	<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ.....</b>	<b>150</b>
	<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>	<b>153</b>
	<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>156</b>



## ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ

Οι συντομώσεις που χρησιμοποιούνται μέσα στο κείμενο και στις Εικόνες / Σχήματα

<b>Σύντμηση</b>	<b>Πλήρες όνομα</b>
<i>Δ.Α.Τ.</i>	<i>Διορθωμένος Αλκοολικός Τίτλος</i>
<i>ΕΚ</i>	<i>Ευρωπαϊκή Κοινότητα</i>
<i>Γ.Γ.Ε.Τ.</i>	<i>Γενική Γραμματεία Έρευνας &amp; Τεχνολογίας</i>
<i>Ε.Θ.Ι.Α.Γ.Ε.</i>	<i>Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας</i>
<i>Ε.Κ.Π.Α.</i>	<i>Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών</i>
<i>Μ</i>	<i>Μάρτυρας</i>
<i>Π.Ε.Π.</i>	<i>Περιφερειακό Επιχειρησιακό Πρόγραμμα Κρήτης</i>
<i>π.Χ.</i>	<i>προ Χριστού</i>
<i>Τ.Ε.Ι.</i>	<i>Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα</i>
<i>Χ</i>	<i>Χαλκούχο</i>
<i>AA</i>	<i>Ascorbic acid</i>
<i>ADH</i>	<i>Alcohol dehydrogenase</i>
<i>AIAB</i>	<i>Associazione Italiana per l' Agricoltura Biologica</i>
<i>AOC</i>	<i>Admiral Overseas Corporation</i>
<i>APS</i>	<i>Adenosine 5-phosphosulfate</i>
<i>atm</i>	<i>atmosphere</i>
<i>ATP</i>	<i>Adenosine triphosphate</i>
<i>ATPase</i>	<i>ATP synthase</i>
<i>BBT</i>	<i>Bromothymol</i>
<i>B<sup>me</sup></i>	<i>Baumé</i>
<i>°C</i>	<i>degree Celsius</i>
<i>cm<sup>3</sup></i>	<i>cubic centimetre</i>
<i>eNOS</i>	<i>enzyme Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
<i>FDA</i>	<i>Food and Drug Administration</i>
<i>FTU</i>	<i>Formazin Turbidity Unit</i>
<i>GAPDH</i>	<i>Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase</i>
<i>gr</i>	<i>gram</i>
<i>IFOAM</i>	<i>International Federation of Organic Agriculture Movements</i>
<i>INRA</i>	<i>Institut National de la Recherche Agronomique</i>

<b>Σύντμηση</b>	<b>Πλήρες όνομα</b>
<i>ITAB</i>	<i>Institut Technique de l Agriculture Biologique</i>
<i>ITV</i>	<i>Institut Francais de la Vin &amp; du Vin</i>
<i>Kg</i>	<i>kilogramme</i>
<i>KPa</i>	<i>kilopascal</i>
<i>l</i>	<i>litre</i>
<i>LAB</i>	<i>Lactic Acid Bacteria</i>
<i>LD<sub>50</sub></i>	<i>Lethal dose, 50%</i>
<i>mg</i>	<i>milligram</i>
<i>ml</i>	<i>millilitre</i>
<i>MLF</i>	<i>Malolactic Fermentation</i>
<i>mm</i>	<i>millimetres</i>
<i>mol</i>	<i>molarity</i>
<i>MPa</i>	<i>Megapascal</i>
<i>N</i>	<i>Normality</i>
<i>NAD<sup>+</sup></i>	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
<i>NTU</i>	<i>Nephelometric Turbidity Unit</i>
<i>nm</i>	<i>nanometer</i>
<i>O</i>	<i>Oleosan</i>
<i>OIV</i>	<i>Office International de la Vigne et du Vin</i>
<i>PAPS</i>	<i>3-phosphoadenosine-5-phosphosulfate</i>
<i>pH</i>	<i>power of hydrogen</i>
<i>pKa</i>	<i>acid dissociation constant</i>
<i>ppm</i>	<i>parts per million</i>
<i>PPO</i>	<i>polyphenol oxidases</i>
<i>Qs</i>	<i>Quarts</i>
<i>RES</i>	<i>Resveratrol</i>
<i>sp.</i>	<i>species</i>
<i>SRIG</i>	<i>Κρατικό Ινστιτούτο Έρευνας του Geisenheim</i>
<i>TA</i>	<i>Titrateable Acidity</i>
<i>UA</i>	<i>Universidade d' Aveiro</i>
<i>UNIUD</i>	<i>Università degli Studi di Udine, Dipartimento di Scienze deglialiment</i>
<i>V</i>	<i>Vitosan</i>
<i>var.</i>	<i>variety</i>
<i>VCSC</i>	<i>Università Cattolica del Sacro Cuore</i>
<i>ViN</i>	<i>Vinidea</i>
<i>v/v</i>	<i>volume per volume</i>
<i>WHO</i>	<i>World Health Organization</i>
	<i>Σήμανση κινδύνου δηλητηριάσεων</i>

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Οι προσπάθειες κατάρριψης του μύθου, ότι το διοξείδιο του θείου είναι η μοναδική λύση στην οινοποίηση, έχουν εντατικοποιηθεί. Τα έτη 2010 και 2011 πραγματοποιήθηκε μια μελέτη διερεύνησης φυσικών αντικαταστατών του θειώδους σε λευκή οινοποίηση. Σε αγροτεμάχιο βιολογικής καλλιέργειας ποικιλίας Πλυτό, που είχαν γίνει πειραματικές επεμβάσεις των ερευνώμενων σκευασμάτων Oleosan και Vitosan, έγινε συγκομιδή το έτος 2010. Στα γλεύκη των σταφυλιών πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των κλασσικών οινολογικών παραμέτρων. Το σκεύασμα Oleosan αξιολογήθηκε ακατάλληλο για οινοποίηση. Το σκεύασμα Vitosan παρουσίαζε θετικά χαρακτηριστικά, έτσι χρησιμοποιήθηκε ως προσθετική ουσία σε αντιπαραβολή με το θειώδους ανυδρίτη στις λευκές οινοποιήσεις. Παρήχθησαν 6 τύποι λευκών ξηρών κρασιών. Οι εργαστηριακές αναλύσεις συνεχίστηκαν αξιολογώντας την κατάσταση των πειραματικών οίνων. Η αντιβακτηριδιακή δράση του σκευάσματος Vitosan χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση. Έτσι, το πείραμα συνεχίστηκε με την αξιολόγηση του Vitosan στα εμβολιασμένα δείγματα των πειραματικών οίνων με οξικά βακτήρια. Το Vitosan αποδείχτηκε ότι μπορεί να είναι πιθανά αξιοποιήσιμο, φυσικό σκεύασμα ως προς τη μερική αντικατάσταση του θειώδους ανυδρίτη σε λευκή οινοποίηση.

## **ABSTRACT**

Efforts to prove false the myth, that sulfur dioxide is the only solution in winemaking, had intensified. The years 2010 and 2011, there was a study investigating natural replacements of sulfur dioxide in white winemaking. In a biological cultivated vineyard plot of variety Plyto, that had applied experimental treatments, were harvested in 2010. The grapes must were measured by oenological classic parameters. The product Oleosan was evaluated unsuitable for winemaking. The product Vitosan showed positive characteristics so is used as additive in comparison with sulfur dioxide in white Vinifications. There were produced six types of dry white wines. The laboratory analyzes were continued by assessing the status of the experimental wines. The antibacterial activity of the product Vitosan needs further searching. Thus, the experiment continued with the evaluation of Vitosan in inoculated samples of the experimental wines by acetic bacteria. Vitosan proved that might be potentially utilizable natural replacement of sulfur dioxide in white winemaking.

# 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΦΟΡΑ

## *1.1 Ιστορική αναδρομή της χρήσης του θειώδους ανυδρίτη στο κρασί*

Ο οίνος είναι από τα πιο διαδεδομένα αλκοολούχα ποτά. Επιστημονικά στοιχεία μέχρι και αρχαίοι μύθοι συνδυάζουν το παρελθόν του οίνου με την ιστορική πορεία της γεωργίας και γενικότερα του ανθρώπινου πολιτισμού.

Η ιστορία του πηγάζει από την Ευρασία, συγκεκριμένα από τη ζώνη της Μεσοποταμίας και τις περιοχές γύρω από την Κασπία θάλασσα. Η χρονολόγησή του κυμαίνεται από το 6000 π.Χ. έως το 5000 π.Χ.. Αρχαιολογικές αποδείξεις μαρτυρούν την έντονη οινολογική δραστηριότητα στους μεγάλους πολιτισμούς της αρχαιότητας, αρχικά της Αιγύπτου και στη συνέχεια της Ελλάδας και της Ιταλίας. Οι Εικόνες 1, 2 και 3 δείχνουν αρχαιολογικά ευρήματα που καταδεικνύουν τη δραστηριότητα της οινοποίησης στα χρόνια εκείνα (Jackson, 2008).

Το κρασί αποτελούσε βαθύς προβληματισμός, με τις πρώτες χημικές αντιδράσεις που είναι η ζύμωση και η οξείδωση και ο τρόπος ελέγχου τους. Οι Ρωμαίοι καίγοντας θειάφι κάπνιζαν τα βαρέλια, επιτυγχάνοντας έτσι την απολύμανση και τη διατήρηση των βαρελιών οίνου (Scollary, 2012). Συγκεκριμένα, οι Ρωμαίοι το χρησιμοποιούσαν όταν διαπίστωσαν ότι μπορούσαν να προστατεύουν το κρασί τους από το να αποκτά οσμή ξυδιού, με το να καίγανε κεριά με συστατικό το θείο, μέσα στα κρασοβάρελα (Henderson P., 2009). Ωστόσο, τα στοιχεία παραμένουν ασαφή.



**Εικόνα 1.** Βαρέλια οίνου στην αρχαία Ελλάδα (Wikipedia, **Εικόνα 2.** Αμφορείς στην αρχαία Ιταλία. (Purcell., 2012). 1985).



**Εικόνα 3.** Τοιχογραφία με δραστηριότητες περί σταφυλιού και οίνου στην αρχαία Αίγυπτο (El Dorry, 2012).

Το 1487, εμφανίζεται η πρώτη γραπτή αναφορά για τη χρήση του SO<sub>2</sub> στην παραγωγή οίνου με σκοπό την προστασία του από τυχόν αλλοιώσεις. Η αναφορά αυτή δημοσιεύτηκε στο Rotenburg της Γερμανίας, όπου αναφερόταν για καύση του SO<sub>2</sub> σε μορφή σκόνης μαζί με ρίζα ενός είδους βιολέτας. Υπάρχουν ιστορικές ενδείξεις ότι η γενικότερη εντατική χρήση του διοξειδίου του θείου πρωτοεμφανίζεται πίσω στο τέλος του δέκατου όγδοου αιώνα. Αυτό που είναι σίγουρο, είναι ότι οι Γάλλοι νωρίς τον 20<sup>ο</sup> αιώνα στη Βόρεια Αφρική έκαναν συστηματική χρήση του διοξειδίου του θείου και επιπλέον τη χρήση φιάλης για τη σταθεροποίηση του κρασιού (Jackson, 2008).

Στη σύγχρονη εποχή, η χρήση του θειώδους ανυδρίτη στην οινοποίηση είναι ευρεία. Η χρήση του στηρίζεται με κατάλληλη νομοθεσία διεθνώς. Έτσι, εξασφαλίζεται η καλή ποιότητα κρασιού και η διατηρησιμότητά του στον χρόνο (Goode, 2005).

## 1.2 Ο θειώδης ανυδρίτης

Ο θειώδης ανυδρίτης ή αλλιώς το διοξείδιο του θείου είναι μια χημική ένωση, η οποία αποτελείται από ένα άτομο θείου (S) και δύο ατόμων οξυγόνου (O) (Εικόνα 4). Ο συνδυασμός αυτών των ατόμων κάνουν το μόριο διπολικό (Hasenberg, 2008). Το διοξείδιο του θείου είναι εν κανόνα αέριο, άχρωμο, τοξικό και ευδιάλυτο στο νερό. Έχει βαριά και διεισδυτική οσμή. Είναι ερεθιστικό για τα μάτια (Hasenberg, 2008, Wikipedia, 2012). Ερεθιστική επίδραση έχει και στους αεραγωγούς του ανθρώπινου αναπνευστικού συστήματος, αφού η εισπνοή αυτού του αερίου μπορεί να προκαλέσει πνευμονικό οίδημα και η παρατεταμένη εισπνοή σε υψηλές δόσεις, μπορεί να προκαλέσει θάνατο (Biancalana, 2006).

Η προέλευσή του SO<sub>2</sub> στη φύση εντοπίζεται στα πετρώματα, στα ηφαιστειακά αέρια, ως προϊόντα από τις ατελούς καύσεις ορυκτών καυσίμων στις βιομηχανίες και σε υγρή φάση, ως διάλυμα σε νερά θερμών πηγών. (Βερεσόγλου, 2010) Είναι μια ένωση που υπάρχει φυσικώς στη ράγα του σταφυλιού ή και ως προϊόν από είδη ζυμομυκήτων κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης (κυρίως αντιπρόσωποι είναι των γενών *Saccharomyces sp.*, *Schizosaccharomyces sp.*, *Hanseniaspora sp.* και *Torulopsis sp.*) (Τσέτουρας, 2008). Ασφαλώς, στους οίνους, χρειάζεται να υπάρχει ένας τεράστιος πληθυσμός μικροοργανισμών, ζυμών, για να μπορεί να παραχθεί μια ποσότητα που σπάνια υπερβαίνει τα 10mg/ l, ενώ σε ελάχιστες περιπτώσεις φτάνει στα 30mg/ l. Ωστόσο, σπάνια είναι και η παντελώς έλλειψη του

SO<sub>2</sub> στο κρασί ( Ribéreau – Gayon et al., 2006).

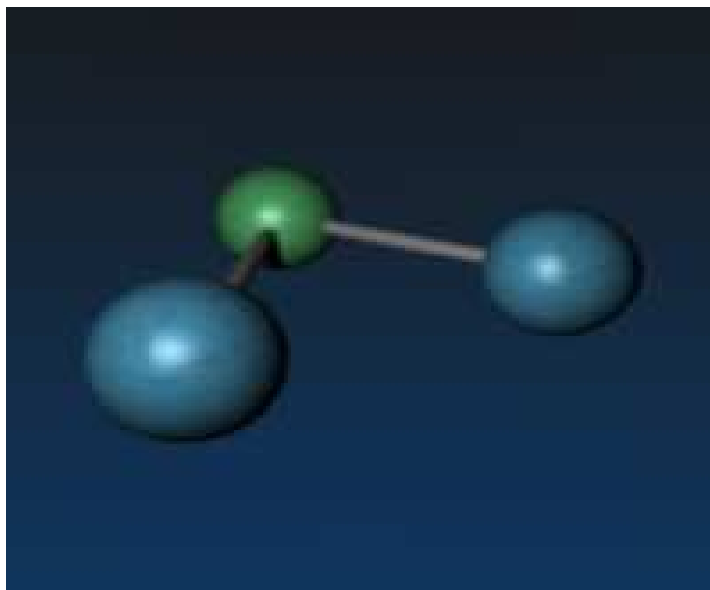
Το SO<sub>2</sub> είναι θεμελιώδης ουσία στη βιομηχανία τροφίμων. Χρησιμοποιείται ως συντηρητικό σε μεγάλο αριθμό προϊόντων. Η συντηρητική ιδιότητα των θειωδών ουσιών σχετίζεται με το σύνολο των ικανοτήτων τους όπως η αντισηπτική, η λευκαντική και η αντιοξειδωτική δράση, και ως αναστολείς της ενζυμικής αμάρωσης (Freedman, 1980). Η παρουσία του μες τα προϊόντα δηλώνεται με κωδικούς, σύμφωνα με την κωδικοποίηση των προσθετικών ουσιών της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Η χημική ένωση SO<sub>2</sub> ταξινομείται στην ομάδα των θειούχων ενώσεων. Το εύρος των κωδικών είναι E220- E228 (ΕΚ αρ. 423/2008, Di Costo, 2006).

Οι μορφές του θειώδους ανυδρίτη που χρησιμοποιούνται στην οινολογία είναι του καθαρού θείου, της στερεής ή της υγροποιημένης μορφής και τα διαλύματα του θειώδους ανυδρίτη (Τσέτουρας, 2008). Λεπτομερής αναφορά των μορφών με τους κωδικούς Ε.Ε. του αναγράφονται στον Πίνακα 1.

**Πίνακας 1.** Οι μορφές του θειώδους ανυδρίτη που χρησιμοποιούνται στην οινολογία με την αντίστοιχη κωδικοποίησή τους και λειτουργία τους.

ΚΩΔΙΚΟΙ Ε.Ε.	ΧΗΜΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
E220	Διοξείδιο του θείου	Φυσικό συντηρητικό
E221	Θειώδες νάτριο	Σύνθετο συντηρητικό
E222	Όξινο θειώδες νάτριο	Σύνθετο συντηρητικό & Λευκαντικό μέσο
E223	Μεταθειώδες νάτριο	Σύνθετο συντηρητικό & Αντιοξειδωτικό
E224	Μεταθειώδες κάλιο	Σύνθετο συντηρητικό
E225	Θειώδες κάλιο	Σύνθετο συντηρητικό
E226	Θειώδες ασβέστιο	Σύνθετο συντηρητικό
E227	Όξινο θειώδες ασβέστιο	Σύνθετο συντηρητικό
E228	Όξινο θειώδες κάλιο	Σύνθετο συντηρητικό





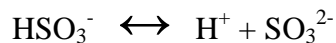
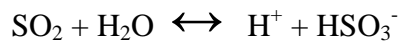
Εικόνα 4. Το μοριακό  $SO_2$ . (NASA, 2012)

### 1.2.1 Φυσικές ιδιότητες

Σε αυτήν την υποενότητα δίνεται μια περιεκτική περιγραφή των φυσικών ιδιοτήτων του θειώδους ανυδρίτη για να κατανοηθεί καλύτερα η συμπεριφορά του στο μούστο και στο κρασί (Πίνακας 2). Οι πιο χαρακτηριστικές φυσικές ιδιότητες του  $SO_2$  είναι η διαλυτότητα, ο ιονισμός και η μεταβλητότά του στο διάλυμα.

Διαλυτότητα. Η διαλυτότητα του θειώδους ανυδρίτη είναι πολύ υψηλή στο νερό. Παρουσιάζει μεγάλο εύρος διαλυτότητας, για παράδειγμα 228g/ l στους  $0^{\circ}C$ , 162,1g/ l στους  $10^{\circ}C$ , 112,9g/ l στους  $20^{\circ}C$  και 78,1g/ l στους  $30^{\circ}C$ . Γενικότερα, στο πρακτικό μέρος, η θερμοκρασία έχει άμεση επίδραση στη διαλυτότητα. Αξιοσημείωτο είναι ότι σε μικρές τιμές της θερμοκρασίας παρουσιάζει μεγάλη διαλυτότητα. Αυτή η ιδιότητα δίνει τη δυνατότητα δημιουργίας και προετοιμασίας διαλυμάτων με διοξειδίου του θείου σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Επιπλέον, η ιδιότητα αυτή είναι υπεύθυνη στην ύπαρξη κινδύνου κατά τη χρήση του, όταν αυτό υπερβαίνει ορισμένες τιμές θερμοκρασιών και πιέσεων, με τον κίνδυνο διαρροής αερίων θείου.

Ιονισμός. Η διάλυση του διοξειδίου του θείου με διαλύτη το νερό δίνει προϊόν, ένα μετρίως ισχυρό οξύ με σταθερά ιοντισμού οξέος,  $pK_a = 1,77 - 7,20$  (Boulton, 1998). Η ιοντική τους ισορροπία στο νερό στους  $25^{\circ}C$ , είναι η ακόλουθη:




Η μορφή  $\text{SO}_2$  στο νερό ονομάζεται μοριακή. Η μοριακή μορφή συναντάται σε τιμές pH μικρότερες του 1,86 (Hasenberg, 2008, Jackson, 2008, Ribéreau – Gayon et al., 2006). Το  $\text{HSO}_3^-$ , δηλαδή η πρώτη ιονισμένη μορφή του  $\text{SO}_2$ , αναφέρεται ως μπισουλφίτ. Το  $\text{HSO}_3^-$  είναι η πιο συνηθισμένη μορφή του διοξειδίου του θείου στους μούστους και στα κρασιά, ανάμεσα σε τιμές pH 1,86- 7,18. Είναι ασθενές οξύ, οπότε στο διάλυμα, αντιδρά και σχηματίζει νέες ενώσεις, οι οποίες ονομάζονται θειώδεις (Henderson, 2009). Η δεύτερη ιονισμένη μορφή του, το θειώδες ιόν  $\text{SO}_3^{2-}$  κυριαρχεί σε τιμές μεγαλύτερες του 7,18. Το ιόν  $\text{SO}_3^{2-}$  είναι η αντιοξειδωτική μορφή του  $\text{SO}_2$  που βρίσκεται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις υπό κρασιού συνθήκες. Η δράση του να καταναλώνει  $\text{O}_2$  είναι πολύ μειωμένη, εξαιτίας της ελάχιστης ποσότητας του μέσα στο κρασί (Jackson, 2008, Ribéreau – Gayon et al., 2006, Boulton et al., 1998).

Μεταβλητότητα. Οι διάφορες μορφές των θειωδών στο διάλυμα του μούστου και του κρασιού βρίσκονται σε άνισες ποσότητες. Η συγκέντρωσή τους μεταβάλλεται από την οξύτητα ή το pH του διαλύματος. Όσο πιο όξινο ή μικρότερο είναι το pH του διαλύματος, τόσο η αντίδραση ευνοεί το σχηματισμό μοριακού  $\text{SO}_2$  κι αντίθετα όσο αυξάνεται το pH του διαλύματος τόσο η αντίδραση κατευθύνεται στη δημιουργία ιονισμένων μορφών του (Henderson, 2009). Η μεταβλητότητα επηρεάζεται και από την τάση των ατμών επί του διαλύματος. Οι ατμοί πάνω στην επιφάνεια του διαλύματος περιέχουν ελεύθερο  $\text{SO}_2$ . Αυτό είναι σημαντικό θέμα από της άποψης απώλειας  $\text{SO}_2$  μέσω εξάτμισης και της αισθητήριας άποψης, αφού επηρεάζει την οσμή. Η πίεση των ατμών είναι ανάλογη όχι μόνο από τη συγκέντρωση του ελεύθερου διοξειδίου του θείου, αλλά και με τη συγκέντρωση της μοριακής του μορφής στο διάλυμα (Boulton et al., 1998).

### 1.2.2 Χημικές ιδιότητες

Μερικές από τις κύριες χημικές ιδιότητές του είναι η αντισηπτική δράση, η αντιοξειδωτική δράση και η δεσμευτική ικανότητα ενώσεων του χυμού του σταφυλιού και του οίνου.

**Πίνακας 2:** Οι φυσικές ιδιότητες του θειώδους ανυδρίτη.

Όνομα IUPAC	Διοξείδιο του θείου
Άλλα ονόματα	Οξείδιο του θείου Θειώδες ανυδρίτη
Μοριακός Τύπος	SO <sub>2</sub>
Συντακτικός Τύπος	O=S=O
Ηλεκτρονικός Τύπος	$\text{:}\ddot{\text{O}}-\ddot{\text{S}}=\ddot{\text{O}}\text{:}$
Μοριακό Βάρος	64,066 g mol <sup>-1</sup>
Ειδικό Βάρος	2,2636 (στους 0°C)
Πυκνότητα	2,6288 kg m <sup>-3</sup>
Σημείο Τήξεως	-72°C (στα 101,3kPa, 1atm)
Σημείο Ζέσεως	-10 (στα 101,3kPa, 1atm)
Διαλυτότητα σε νερό	228g/l στους 0°C
Πίεση Ατμού	237kPa
Οξύτητα (pKa)	1.81
Ταξινόμηση από ΕΕ	
LD <sub>50</sub>	3000ppm (30 λεπτά εισπνοής από ποντίκι)
Όρια Αναφλεξιμότητας	Άφλεκτο

Αντισηπτική δράση. Η αντισηπτική δράση του θειώδους ανυδρίτη αναφέρεται στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης σε μεγάλο εύρος μικροοργανισμών. Αυτή η προσθετική ουσία έχει μεγάλη ανασταλτική δράση ως προς τις ζύμες, μυκοδερμικές ζύμες, γαλακτικά βακτήρια (lactic acid bacteria -LAB) και σε μια περιορισμένη έκταση οξικά βακτήρια και ορισμένων άλλων που προκαλούν αλλοιώσεις (Santos M., 2012, Ribéreau – Gayon et al., 2006).

Η ολική ποσότητα του διοξειδίου του θείου μέσα στο κρασί δεν είναι όλη ενεργή. Η μοριακή μορφή είναι η κυρίως δραστική μορφή του SO<sub>2</sub>. Η δραστικότητα του μοριακού SO<sub>2</sub> είναι σε συνάρτηση με την αντισηπτική του δραστηριότητα (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Η αντιμικροβιακή επίδραση βασίζεται στο μηχανισμό του SO<sub>2</sub> να επεμβαίνει στη βιοσύνθεση των βακτηρίων, με αποτέλεσμα την καταστολή τους. Συγκεκριμένα, το μοριακό SO<sub>2</sub> εισέρχεται μέσω της κυτταρικής μεμβράνης στο κύτταρο και επιδρά τη δραστηριότητα των ενζύμων και των πρωτεϊνών (Henderson, 2009, Jackson, 2008).

Οι ζύμες καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες οξυγόνου για την παραγωγή του παραπροϊόντος, διοξειδίου του άνθρακα κι έτσι δημιουργούν ημιαναερόβιες συνθήκες που ευνοούν την αλκοολική ζύμωση. Οι ζύμες, επίσης, κατευθύνουν το πυροσταφυλικό για την παραγωγή αιθανόλης και την αναγέννηση του NAD<sup>+</sup> (Εικόνα 6). Η γενική αντίδραση που χαρακτηρίζει την αλκοολική ζύμωση είναι:



εξόζη                      αιθανόλη      διοξείδιο του άνθρακα

Στην πραγματικότητα δεν περιλαμβάνει μόνο το μετασχηματισμό των σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) σε αλκοόλη, αλλά είναι μια πιο περίπλοκη διαδικασία η οποία λαμβάνει μέρος στο κυτταρόπλασμα και συμμετέχουν πλήθος ενώσεων όπως η γλυκερόλη, κετόνες και εστέρες (Moreno-Arribas and Polo, 2009).

Πολλά και διαφορετικά είδη συμμετέχουν στην αλκοολική ζύμωση. Σε πρώιμα στάδια συναντώνται ζύμες των γενών *Kloeckera*, *Hanseniaspora* και *Candida*, σε ενδιάμεσα στάδια γένη των *Pichia* και *Metschnikowia*, και στα τελικά, ζύμες που παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αιθανόλης όπως τα *Saccharomyces cerevisiae* και τα *Brettanomyces* (Ribéreau – Gayon et al., 2006). Βέβαια, οι άγριες ζύμες οι οποίες προκαλούν αυθόρμητες ζυμώσεις στο μούστο είναι εντελώς ανεπιθύμητες. Γενικά, γρήγορα χάνουν τη ζωή τους από την αλκοόλη που παράγουν. Ωστόσο αποτελούν αιτία των παραγόμενων δυσάρεστων γεύσεων, γι αυτό οι οινοποιοί

προσθέτουν τόσο SO<sub>2</sub> όσο το μοριακό SO<sub>2</sub> στο χυμό, θα βρίσκεται σε τέτοιο επίπεδο (0,54-0,90mg/l ανάλογα με το pH), στο οποίο οι ζύμες και τα οξικά βακτήρια είναι πολύ ευαίσθητα και πεθαίνουν, χωρίς όμως καμιά επιβλαβή συνέπεια για τις επιθυμητές ζύμες του γένους *Saccharomyces* (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

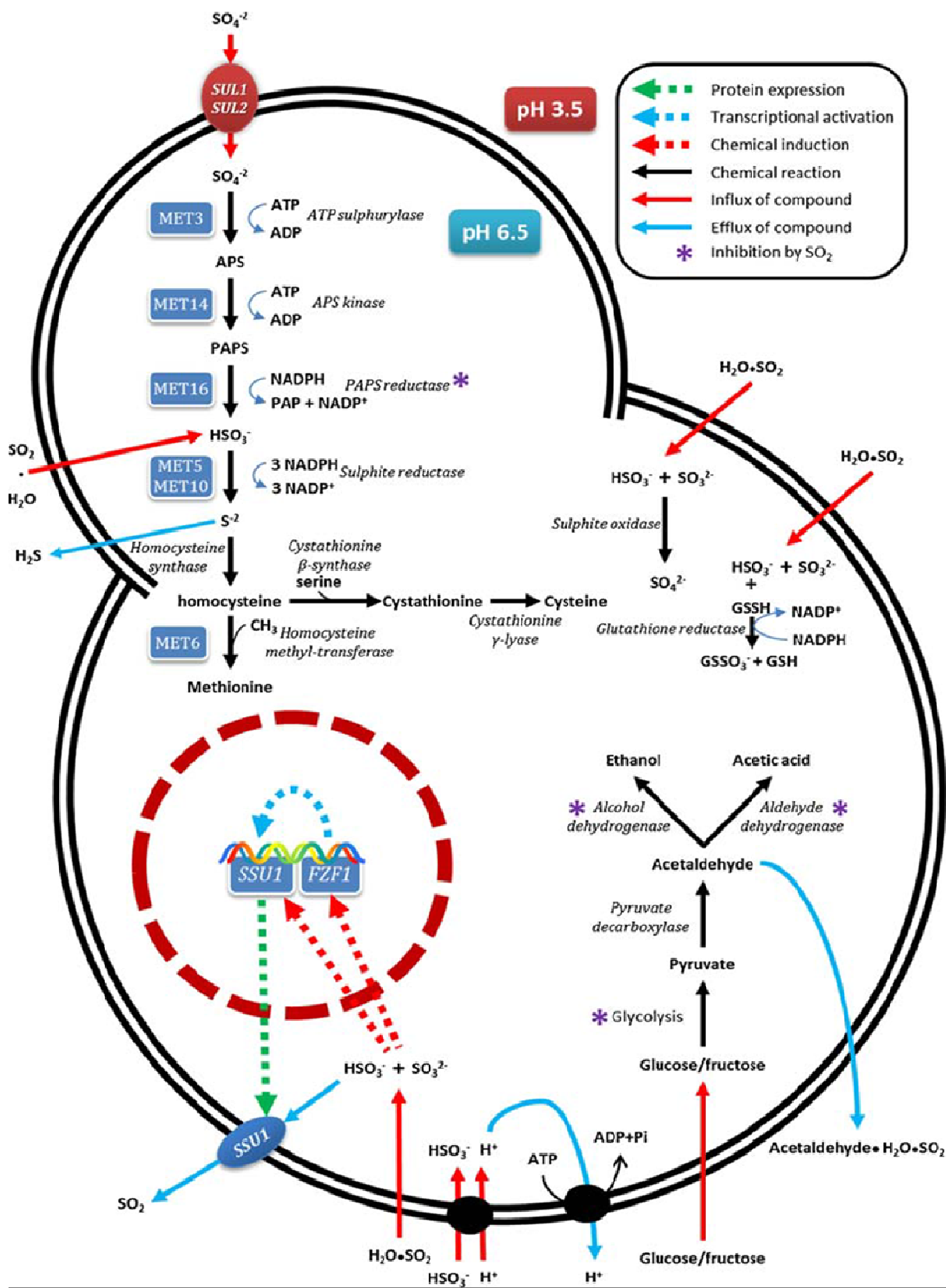
Ο τρόπος που ενεργεί η μοριακή μορφή του διοξειδίου του θείου στις ζύμες είναι ενδοκυτταρικός. Διεισδύει μέσω της κυτοπλασματικής μεμβράνης των κυττάρων της ζύμης, με διάχυση. Εκεί ιονίζεται σε συγκεντρώσεις προϊόντων, ανάλογα με τη διαφορά των pH μεταξύ των διαλυμάτων του κυττάρου της ζύμης και του χυμού σταφυλιού. Αυτή η χημική διαφορά των διαλυμάτων οδηγεί στον ενδοκυττάριο εγκλωβισμό των θειωδών μορφών. Τα ιόντα του θειώδους και οι διθειώδεις ρίζες με τους ειδικούς τους υποδοχείς επεμβαίνουν στις διάφορες μεταβολικές αντιδράσεις των κυττάρων-ζυμών. Ενεργοποιούν τα ένζυμα της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATPase) και της υδρόλυσης της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP- Adenosine triphosphate), με αποτέλεσμα τον εμποτισμό της συνεισφοράς και της περαιτέρω παραγωγής του ATP. Αναστέλλουν το ένζυμο, αφυδρογονάση γλυκεραλδεΐδης-3-φωσφορικής (GAPDH- Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) που είναι σημαντικό στο έκτο βήμα της γλυκόλυσης. Εμποδίζουν τα ένζυμα, την αφυδρογονάση αλκοόλης (ADH- alcohol dehydrogenase), η οποία είναι υπεύθυνη για την αλληλομετατροπή μεταξύ των ενώσεων αλκοολών/ αλδεϊδών/ κετονών, και επιπλέον την αφυδρογονάση αλδεΐδης (NAD<sup>+</sup>- aldehyde dehydrogenase), που καταλύει την οξείδωση των αλδεϊδών προς καρβοξυλικά οξέα (Εικόνα 5). Η αδρανοποίηση αυτών των βιοχημικών λειτουργιών των κυττάρων της ζύμης έχει ως αποτέλεσμα την μείωση του ATP και την παύση της αναγέννησης του NAD<sup>+</sup>, δηλαδή το θάνατό τους (Stratford and Rose, 1986, Divol et al., 2012).

Στην περίπτωση παρουσίας μεγάλου αριθμού οξικών βακτηρίων, προσθήκη μεγάλων συγκεντρώσεων SO<sub>2</sub> δεν γίνεται -όχι επειδή δεν θα ήταν αποτελεσματική-, αλλά διότι προκαλεί έντονη μυρωδιά και γεύση της παρουσία του στο κρασί, πράγμα που θεωρείται απαράδεκτο (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Οι οινοποιοί εκμεταλλεύονται την ποικιλότητα των ζυμών όσον αφορά για την ανθεκτικότητά τους στην αιθανόλη. Δεν είναι όλοι οι μικροοργανισμοί του μούστου επιζήμιοι και δεν χρησιμοποιείται ο θειώδης ανυδρίτης για την ολική καταστροφή τους. Ένας τέτοιος μικροοργανισμός είναι ο *Saccharomyces cerevisiae*. Χρησιμοποιείται ως προσθετό μέσο με τον εμβολιασμό ξηρής ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* πριν την έναρξη της ζύμωσης, ευνοώντας την ανάπτυξή του και μόνο. Έτσι, επιτυγχάνεται η επιλεκτική ανάπτυξη ζυμομυκήτων και η δραστική μείωση των αερόβιων

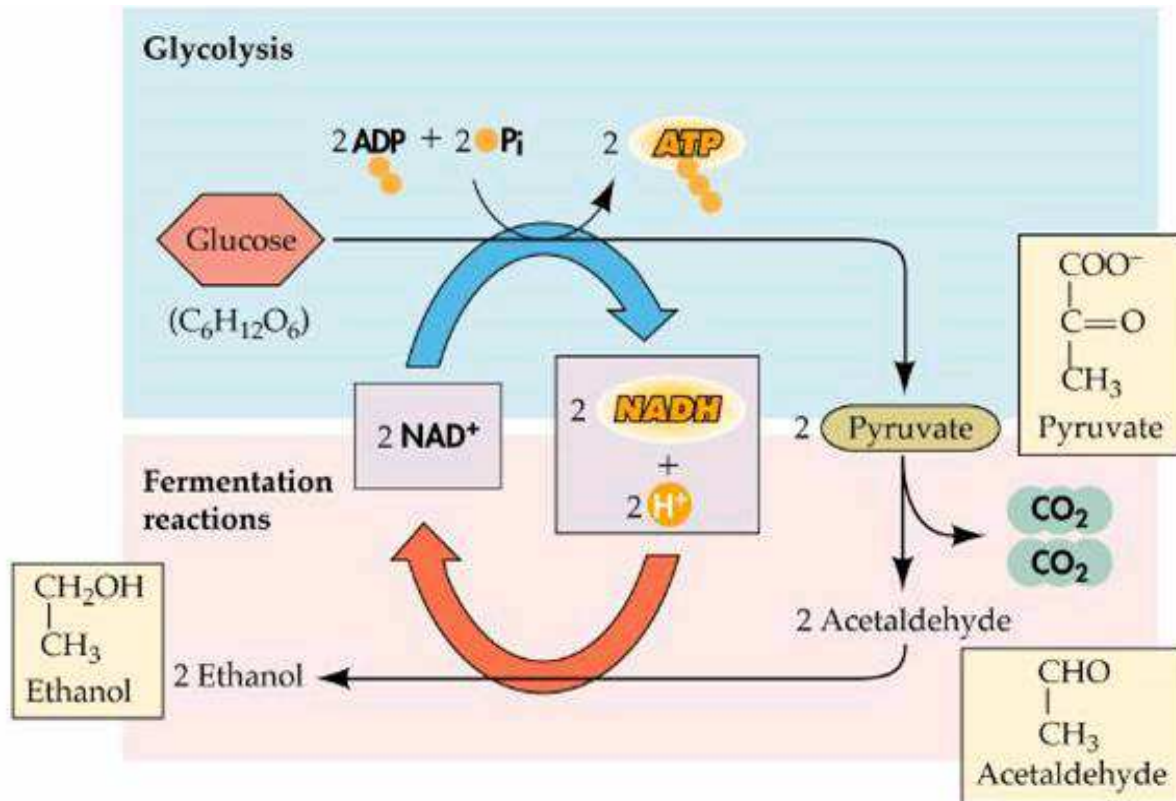
βακτηρίων και κυρίως των οξικών (Moreno-Arribas and Polo, 2009, Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Η ανασταλτική επίδραση του διοξειδίου του θείου στη μηλογαλακτική ζύμωση είναι πολύ μεγαλύτερη από ότι είναι για την αλκοολική ζύμωση που εκτελείται από ζύμες του γένους *Saccharomyces*. Η μηλογαλακτική ζύμωση (malolactic fermentation ή MLF), είναι η δευτερεύουσα ζύμωση που συνήθως συναντάται σε μια μη ελεγχόμενη οινοποίηση. Κύριοι υπεύθυνοι της MLF είναι τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB). Η προέλευση των βακτηρίων γαλακτικού οξέος βρίσκεται σε μεγάλη ποικιλία πηγών, όπως στο χώμα, στα σταφύλια και στην επιφάνεια των εξοπλισμών. Κύριοι αντιπρόσωποι των LAB είναι τα γένη *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostococcus* και *Oenococcus*. Τα βακτήρια αυτά, είναι μικροαερόφιλα, δηλαδή είναι μεν αερόβια αλλά διεγείρονται από μικρές ποσότητες οξυγόνου. Τα LAB αποικοδομούν το L-μηλικό οξύ σε L-γαλακτικό οξύ, σχηματίζουν το παραπροϊόν, το διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>), συνοδεύονται από ανεπιθύμητες γεύσεις, αρώματα και μείωση της οξύτητας του οίνου (Εικόνα 7). Επιπλέον, επεμβαίνουν σε πολλές άλλες μεταβολικούς οδούς του οίνου όπως της γλυκόζης και της φρουκτόζης παράγοντας τα υποπροϊόντα των οξικών οξέων και του οξικού αιθυλεστέρα (Von Wright et al., 2012).

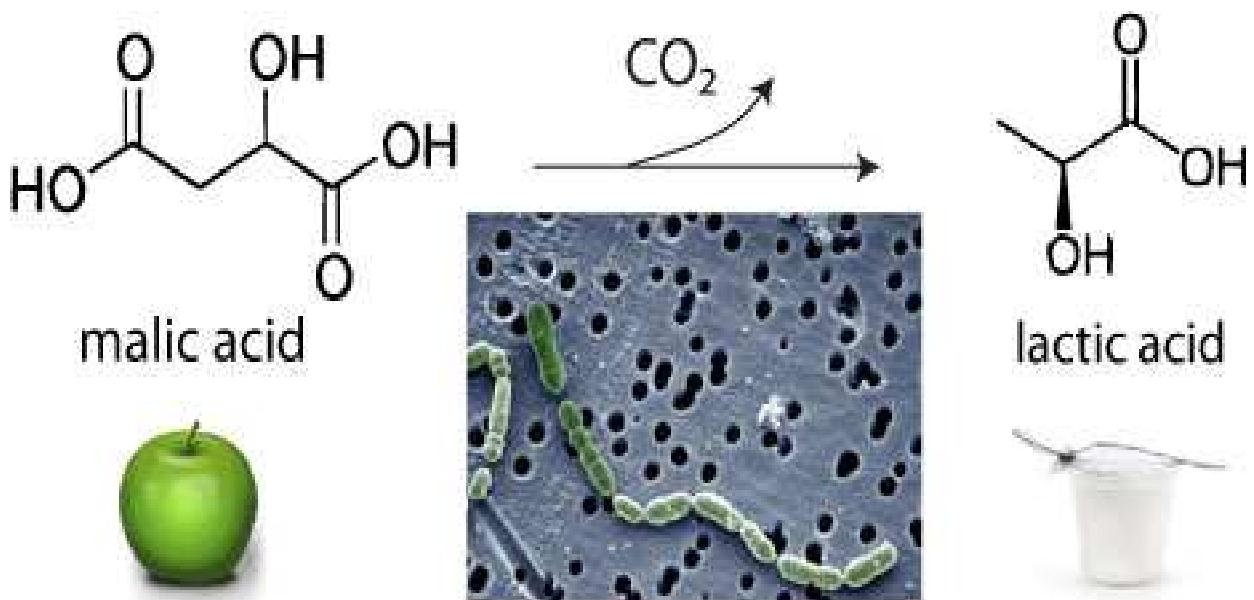
Όπως έχει προαναφερθεί, το μοριακό διοξείδιο του θείου έχει την υψηλότερη αντιμικροβιακή δράση στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος (Henderson, 2009). Ιδιαίτερα, οι ενώσεις ακεταλδεϋδη-SO<sub>2</sub> και πυροσταφυλικό οξύ-SO<sub>2</sub> είναι ιδιαίτερα δραστικές έναντι των LAB. (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Τα LAB μεταβολίζουν τις ενώσεις ακεταλδεϋδη και το πυροσταφυλικό οξύ, ελευθερώνοντας το μοριακό SO<sub>2</sub> το οποίο δρα εναντίον τους (Osborne et al., 2000, Ough, 1992). Σε συνθήκες μακρίας συντήρησης κι υψηλών θερμοκρασιών, τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (κυρίως υπεύθυνα είναι του γένους *Lactobacillus*) προκαλούν αρνητικές επιπτώσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Κύρια υπαίτια δράση τους είναι η δράση τους στον αναερόβιο μεταβολισμό της γλυκερόλης σε 3-υδροξυπροπιοναλδεϋδη. Το μοριακό SO<sub>2</sub> αδρανοποιεί το ένζυμο αφυδρογονάση της γλυκερόλης εμποδίζοντας τη δραστηριότητα των βακτηρίων αυτών. Επίσης, ο θειώδης ανυδρίτης επεμβαίνει στον μεταβολισμό του κιτρικού οξέος από τα LAB, δεσμεύοντας το διακετύλιο το οποίο προσδίδει το βουτυρώδες άρωμα στο κρασί (Von Wright et al, 2012). Σε χαμηλό pH, το SO<sub>2</sub> σε μικρές συγκεντρώσεις εμποδίζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων και σε υψηλές συγκεντρώσεις, τα βακτήρια πεθαίνουν (Henderson, 2009).



**Εικόνα 5:** Το συνοπτικό μονοπάτι της αφομοίωσης του θειώδους & οι κυτταρικές και οι μοριακές ανταποκρίσεις του *S.cerevisiae* με την παρουσία του SO<sub>2</sub>. (Divol B., 2012)



*Εικόνα 6. Οι αντιδράσεις & τα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης.*



*Εικόνα 7. Βασική αντίδραση της μηλογαλακτικής αντίδρασης.*

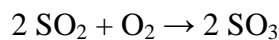


Ένα άλλο μικροβιακό πλήγμα του μούστου και του κρασιού είναι οι μούχλες. Η κύρια αντιπρόσωπος στις μούχλες είναι η γκριζα μούχλα με παθογόνο τη *Botrytis cinerea*. Η επέμβαση με το SO<sub>2</sub> γίνεται πολύ νωρίς. Ξεκινά πριν από τη σύνθλιψη των μολυσμένων σταφυλιών (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Συνήθως, εφαρμόζονται μυκητοκτόνα όπως το Captan, το Ronilan και το Orthene-50, πάνω στα σταφύλια. Η επέμβαση αυτή είναι σημαντική επειδή οι μούχλες είτε εμποδίζουν την ανάπτυξη των ζυμών είτε τις σκοτώνουν με αποτέλεσμα να παρεμποδίζουν τη δημιουργία των ζυμώσεων. Αυτό εξαρτάται από το επίπεδο τοξικότητας του περιβάλλοντος που θα δημιουργήσουν (Ough, 1992). Η δράση του θειώδους ανυδρίτη σε μούστο προερχόμενο από σταφύλια προσβεβλημένα από βοτρυτή, βασίζεται στη δεσμευτική του ικανότητα. Μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε μολυσμένο μούστο από τον μύκητα *Botrytis cinerea*, διαπιστώθηκε πως υψηλές δεσμευτικές τάσεις παρουσίασε το SO<sub>2</sub> όταν υπήρχαν υψηλές συγκεντρώσεις ουδέτερα καρβονύλια και δικαρβονυλικών ενώσεων. Η διυδροξυακετόνη, 5-οξοφρουκτόζη και η γλυκονολακτόνη σε ισορροπία με το γλυκονικό οξύ είναι υπεύθυνα για τη δεσμευτική ικανότητα του SO<sub>2</sub> (Barbe, 2000). Μια διαφορετική μελέτη έδειξε ότι, μόνο όταν η γλυκόζη είναι ως πρόδρομος του γαλακτικού οξέος, ανακυκλώνεται σε δ-γλυκονολακτόνη και στη συνέχεια δεσμεύεται με το μοριακό SO<sub>2</sub>. Το SO<sub>2</sub> έχει μεγάλη δράση όταν τα διαλύματα των μολυσμένων μούστων ή οίνου περιέχει σε υψηλά επίπεδα διυδροξυακετόνη, 5-οξοφρουκτόζη και γλυκονικό οξύ (Barbe, 2001). Γενικότερα, όταν ο μούστος είναι μολυσμένος από μούχλες, πρέπει να προστεθούν μεγαλύτερες ποσότητες θειώδους ανυδρίτη στον μούστο (Ribéreau – Gayon et al., 2006).

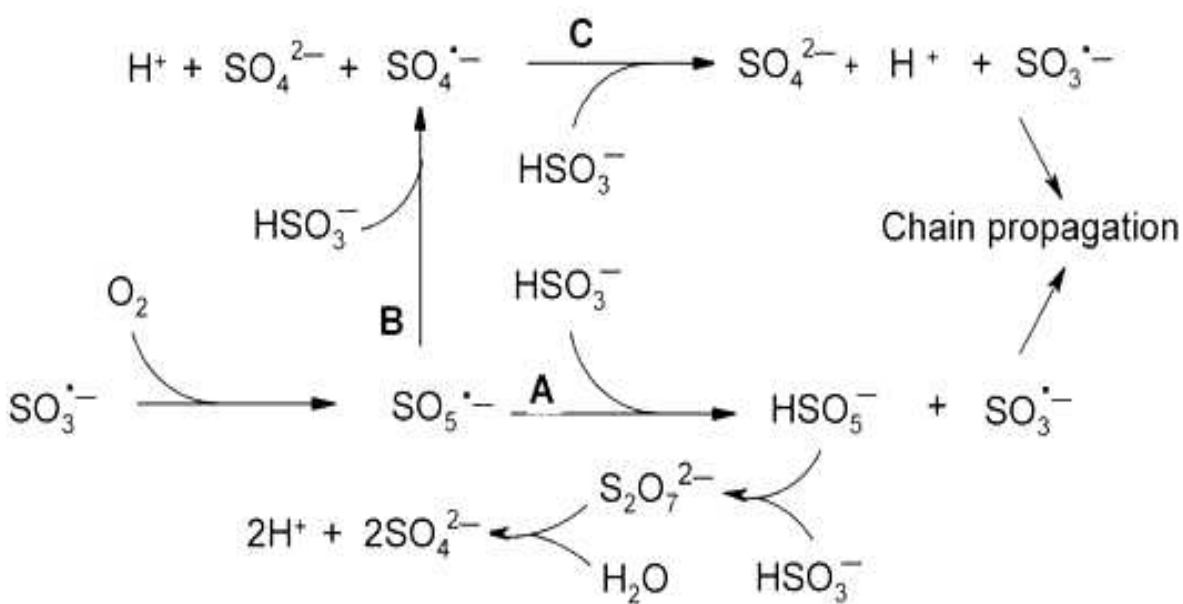
Οι συγκεντρώσεις του SO<sub>2</sub> εξαρτώνται από τη χημεία του κάθε οίνου. Αυτό συνεπάγεται οι αλληλεπιδράσεις με την τιμή του pH με την χημική ισορροπία του μοριακού και ελεύθερου διοξειδίου του θείου και των θειωδών ιόντων στο διάλυμα και την τυχόν πλεονάζουσα ύπαρξη του SO<sub>2</sub> από παραγωγή μερικών στελεχών των ζυμών. Η δράση όποιας συγκέντρωσης του θειώδους ανυδρίτη αυξάνεται με τις επεμβάσεις των οινολόγων, τέτοιες είναι το φιλτράρισμα για τη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού, κατά τη συντήρηση γίνεται επιπρόσθετη προσθήκη θειώδους για την αποτροπή δημιουργίας δευτερευουσών ζυμώσεων και προστασία από την θολούρα (Boulton, 1998).

Αντιοξειδωτική δράση. Τα θειώδη με τρεις τρόπους ασκούν αντιοξειδωτική προστασία: α. με την άμεση δέσμευση του οξυγόνου, β. με την αντίδραση του με το υπεροξείδιο του υδρογόνου και γ. με την εμπόδιση οξειδώσεων που προκαλούν το σχηματισμό κινόνων με το να ξανασχηματίζονται φαινόλες (Santos et al., 2012).

α. Η άμεση δέσμευση του διαλυμένου οξυγόνου από το διοξείδιο του θείου περιγράφεται με την ακόλουθη αντίδραση:



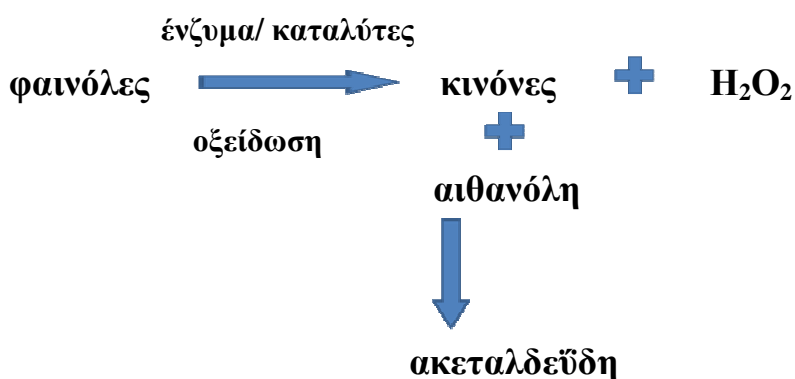
Αυτή η χημική αντίδραση είναι πολύ αργή σε αντίθεση από την ενζυμική οξείδωση. (Ribéreau – Gayon et al., 2006, Ough C.S. and Crowell E.A., 1987). Η οξειδωτική δραστηριότητα του  $\text{SO}_2$  περιγράφεται στην Εικόνα 8 ως ένας κύκλος αναπαραγωγής των μορφών θειωδών ( $\text{SO}_3^{\cdot-}$ ). Αρχικά, η θειώδης ρίζα αντιδρά ταχεία με το οξυγόνο και παράγεται υπεροξυμονοθειική ρίζα (Εικόνα 8, οδό Α). Η υπεροξυμονοθειική ρίζα, της οποίας η οξειδωτική δράση της είναι πολύ πιο μεγαλύτερη από εκείνη του δισθενή σιδήρου, οξειδώνει τα διθειώδη, σε δύο κατευθύνσεις, την οδό Α και την οδό Β. Ως αποτέλεσμα την αναγέννηση της θειώδης ρίζας στην οδό Β και του σχηματισμού των υπεροξυμονοθειικών ιόντων. Τα υπεροξυμονοθειικά ιόντα υδρολύουν αμέσως σε θειικό  $\text{SO}_4^{2-}$ . Ακολουθεί η οξείδωση από τα θειικά στα διθειώδη και επαναλαμβάνεται ο κύκλος της οξείδωσης των θειωδών.



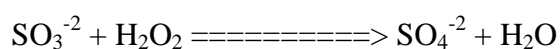
**Εικόνα 8.** Η ριζική διάδοση της αλυσίδας στην οξείδωση θειωδών. Ένα μόριο  $\text{O}_2$  και ένα σύνολο από δύο ιόντα θειώδους αντιδρούν σε κάθε στροφή του κύκλου (Danilewicz, 2007).

Στις επόμενες δύο περιπτώσεις οξείδωσης βασίζονται στην αυτοοξείδωση του χυμού

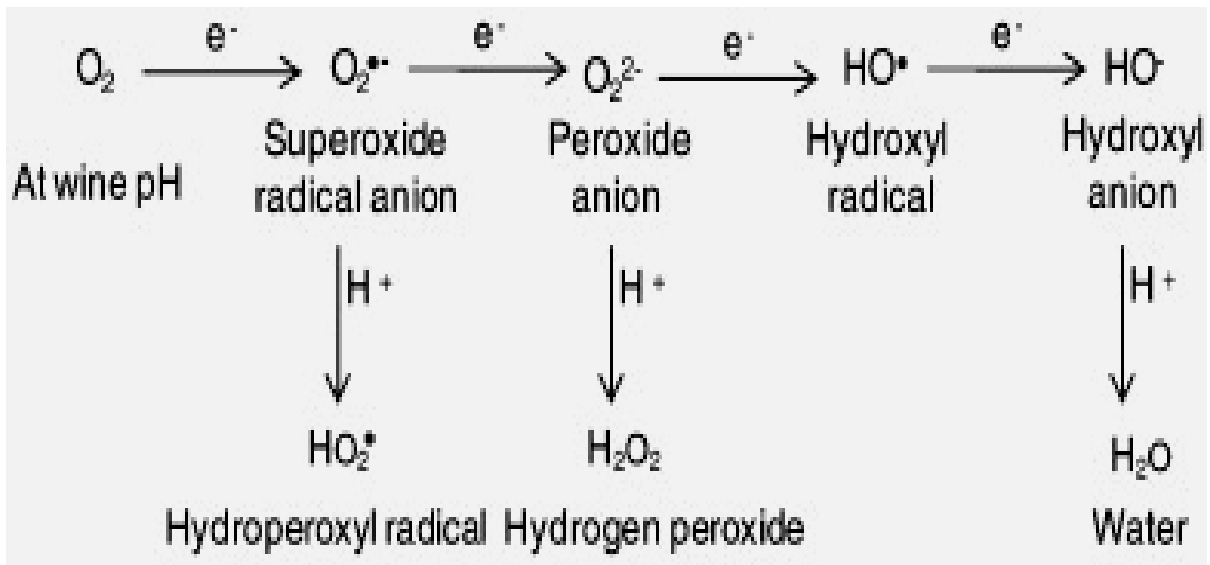
του σταφυλιού, η οποία περιγράφεται από την παρακάτω γενική αντίδραση:



β. Η δεύτερη περίπτωση οξείδωσης είναι της χημικής οξείδωσης, όταν το διαλυμένο οξυγόνο στο κρασί μετατρέπεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (Εικόνα 9). Η χημική οξείδωση αναφέρεται στην οξείδωση των φαινολών που περιέχουν μια κατεχόλη ή μια galloyl ομάδα. Η αναγωγή του οξυγόνου σε υπεροξείδιο του υδρογόνου γίνεται με τη σταδιακή προσθήκη πρωτονίων από μέταλλα, όπως του δισθενή σιδήρου ή του μονοσθενή χαλκού (Oliveira et al., 2011). Το  $\text{H}_2\text{O}_2$  συμμετέχει στις μετατροπές της αιθανόλης σε ακεταλδεΐδη, και των αλκοολών σε αντίστοιχες αλδεΐδες, και καταλύουν την οξείδωση πολυμερισμού των φαινολών ενώσεων. Αυτό το φαινόμενο γίνεται κατά την επεξεργασία και την ωρίμανση του οίνου (Ough and Crowell, 1987, Ribéreau – Gayon et al., 2006). Η οξείδωση των φαινολών από το ελεύθερο οξυγόνο του κρασιού παράγει το  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Το υπεροξείδιο του υδρογόνου αντιδρά με τα παρούσα ελεύθερα θειώδες του κρασιού, σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



Εξαιτίας της πυρηνόφιλης εκτόπισης του νερού από τα όξινα θειώδες ιόντα αντιδρούν και σχηματίζουν θεϊκή μορφή του διοξειδίου του θείου ( $\text{SO}_4^{-2}$ ), η οποία δεν είναι ενεργή (Danilewicz, 2007). Δίνεται έμφαση πως αυτή η αντίδραση είναι μονόδρομη, δηλαδή μη αντιστρέψιμη, που σημαίνει το τέλος του ελεύθερου διοξειδίου του θείου στο κρασί (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).



**Εικόνα 9.** Μετατροπή του διαλυμένου  $O_2$  στο οίνο σε  $H_2O_2$ . (Oliveira et al., 2011)

γ. Τρίτη περίπτωση οξειδωσης αναφέρεται στις οξειδώσεις που προκαλούν τον σχηματισμό των κινόνων. Σύμφωνα με αυτήν την περίπτωση, τα ένζυμα είναι κυρίως υπεύθυνα για αυτήν την κατηγορία των οξειδώσεων, γι αυτό ονομάζονται ενζυματικές οξειδώσεις (Ribéreau – Gayon et al., 2006). Η ενζυματική οξείδωση είναι φαινόμενο που συναντάται σχεδόν εξ ολοκλήρου στο γλεύκος των σταφυλιών. Το περιεχόμενο του γλεύκους πρέπει να είναι πλούσιο σε μια ομάδα φαινυλοπροπανοειδών αντιοξειδωτικών, τα hydroxycinnamates όπως είναι τα flavan-3-ols, p-κουμαρικό τρυγικό οξύ και το caffeoyl tartaric acid ( $C_{13}H_{12}O_9$ ) (Oliveira et al., 2011). Ωστόσο, συνυπεύθυνοι είναι κι άλλοι καταλύτες, όπως τα μεταλλικά στοιχεία τα οποία αναφέρθηκαν πρωτύτερα. Τα μεταλλικά στοιχεία συμβάλλουν ως καταλύτες στη μεταφορά ηλεκτρονίων, στις οξειδώσεις των βενζολικών πυρήνων των φαινολικών παραγώγων προς τον σχηματισμό των κανόνων και των υπεροξειδίων (Εικόνα 10) (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Το  $SO_2$  ως αντιοξειδωτικό δεν ενεργεί όπως ένα οποιαδήποτε άλλο αντιοξειδωτικό, όπως για παράδειγμα το ασκορβικό οξύ. Το  $SO_2$  δρα ανασταλτικά σε ένζυμα που βρίσκονται ήδη μέσα στο μούστο των σταφυλιών (Jackson, 2008). Τα ένζυμα, που καταλύουν τις οξειδώσεις του γλεύκους και του κρασιού, ονομάζονται οξειδάσες. Οι πολυφαινολοξειδάσες είναι οι κυριότερες οξειδάσες (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Δύο από τα σημαντικότερα ένζυμα που ευθύνονται για αυτές τις οξειδώσεις, πριν από τη ζύμωση, είναι η τυροσινάση

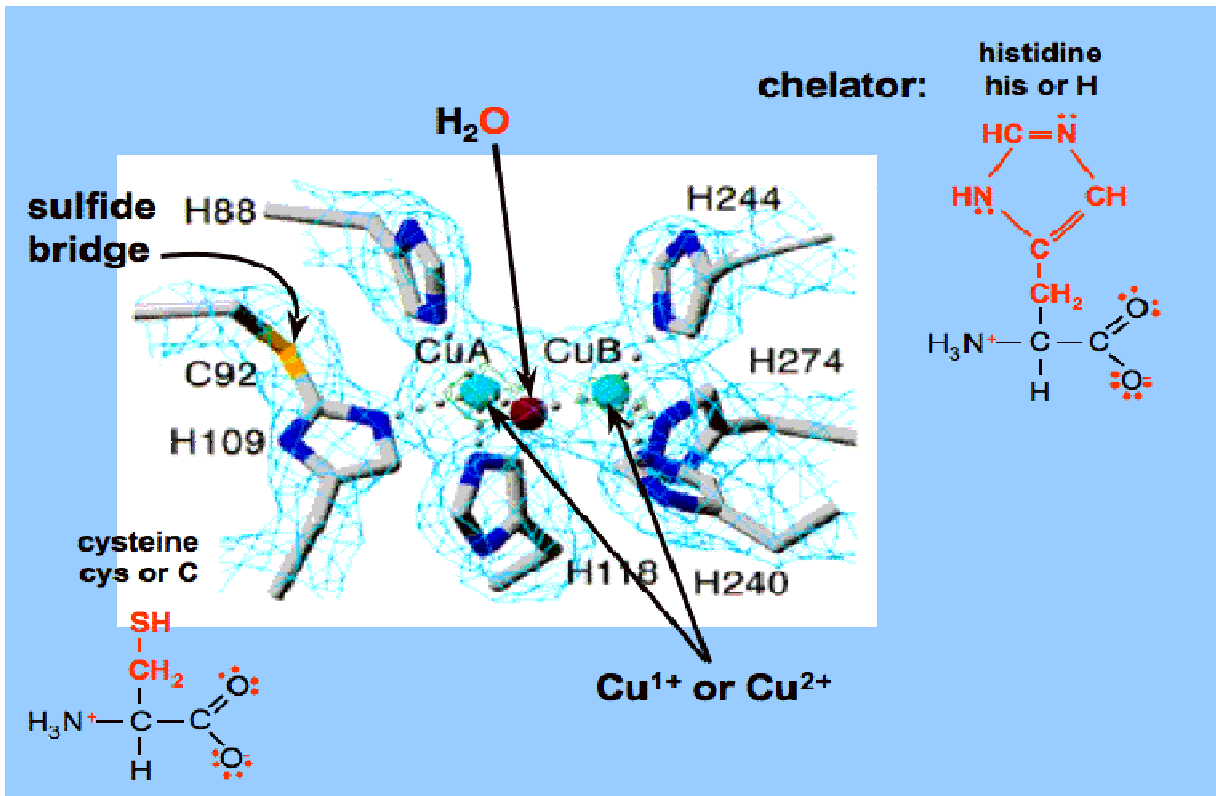
(PPO-polyphenoloxidase) (Εικόνα 11) και η λακκάση (Εικόνα 12). Η τυροσινάση καταλύει την υδροξυλίωση των μονοφαινόλων σε διφαινόλες και την οξείδωση των ορθοφαινόλων (orthophenols) σε κινόνες (Εικόνα 13) (Ough and Crowell, 1987). Είναι ένζυμο που παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στο διοξείδιο του θείου και χαρακτηρίζεται από τη μεγάλη αστάθειά της στις διάφορες τιμές του pH.

Η λακκάση είναι ένζυμο που υπάρχει σε μούστο που έχει παραχθεί από σταφύλια μολυσμένα από το μύκητα *Botrytis cinerea*. Η λακκάση σε αντίθεση με την τυροσινάση έχει μεγαλύτερο εύρος δράσης, γεγονός που την κάνει πιο επιζήμια. Ο κίνδυνος οξείδωσης από την λακκάση συνεχίζεται και μετά τη μετατροπή του μούστου σε κρασί. Αυτή καταλύει την οξείδωση των μονο-, των ορθο-, των παρα- και των μετα-φαινόλων, τις διανίνες, το ασκορβικό οξύ και την αποικοδόμηση μεγάλων ομάδων φαινολικών ενώσεων που είναι υπεύθυνες για το χρώμα (Εικόνα 14) (Romano and Suzzi, 1993, Santos et al, 2012). Μελέτες έχουν δείξει ότι το διοξείδιο του θείου σταματά την ύπαρξη των κινονών στο διάλυμα με τη μετατροπή τους σε διφαινόλες:



Έχει αποδειχτεί ότι ο μετασχηματισμός των ενώσεων κινονών πάλι, αλλά διαφορετικών φαινόλων σχετίζεται με την οξείδωση των θειωδών σε θεικών που γίνεται φυσικά συνάμα με την αυτοοξείδωση των φαινόλων (Jackson, 2008).

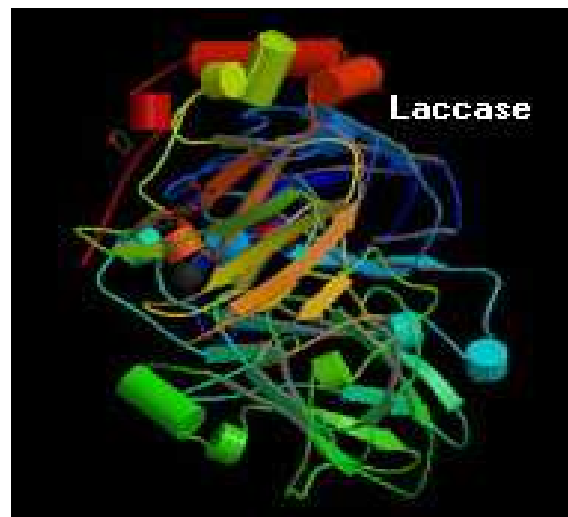
Οι οξειδωτικές αντιδράσεις συμβαίνουν τόσο στα λευκά κρασιά όσο και στα ερυθρά. Αν και, οι ερυθροί οίνοι έχουν πλούσιο υπόστρωμα οξείδωσης, τις φαινόλες, έχει αποδειχτεί ότι ιδιαίτερα ευαίσθητα είναι τα λευκά. Επομένως, η συμβολή του θειώδους ανυδρίτη είναι καθοριστική αφού εμπλέκεται με προδρόμους που προκαλούν τις οξειδωτικές αντιδράσεις είτε με τον εμποδισμό αντίδραση τους με το οξυγόνο ή με τη αντιστρεψιμότητα της επίδρασης του οξυγόνου (Henderson, 2009, Jackson, 2008).



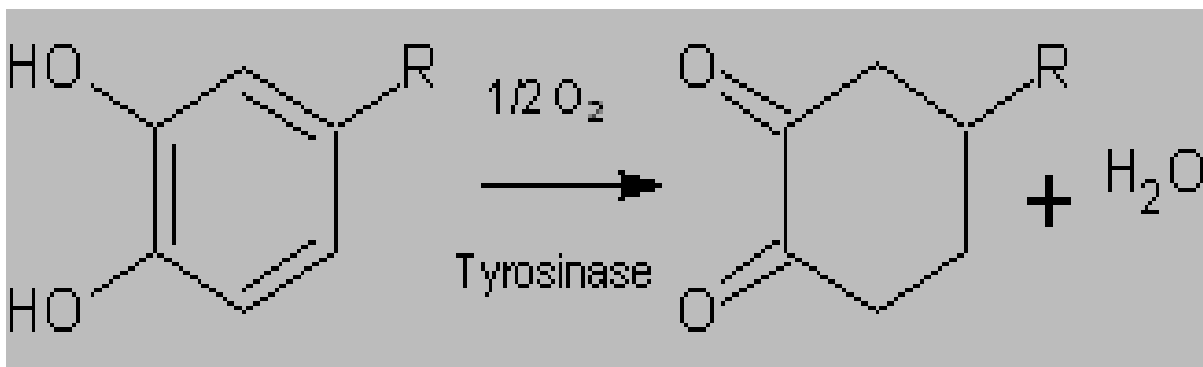
**Εικόνα 10.** Μοντέλο συστήματος οξείδωσης του κρασιού. Οι επεμβάσεις των ιόντων Cu που δρουν ως καταλύτες τις οξειδώσεως και τις επεμβάσεις των θειωδών με τη δεσμευτική τους δράση (Klabunde et al., 1998).



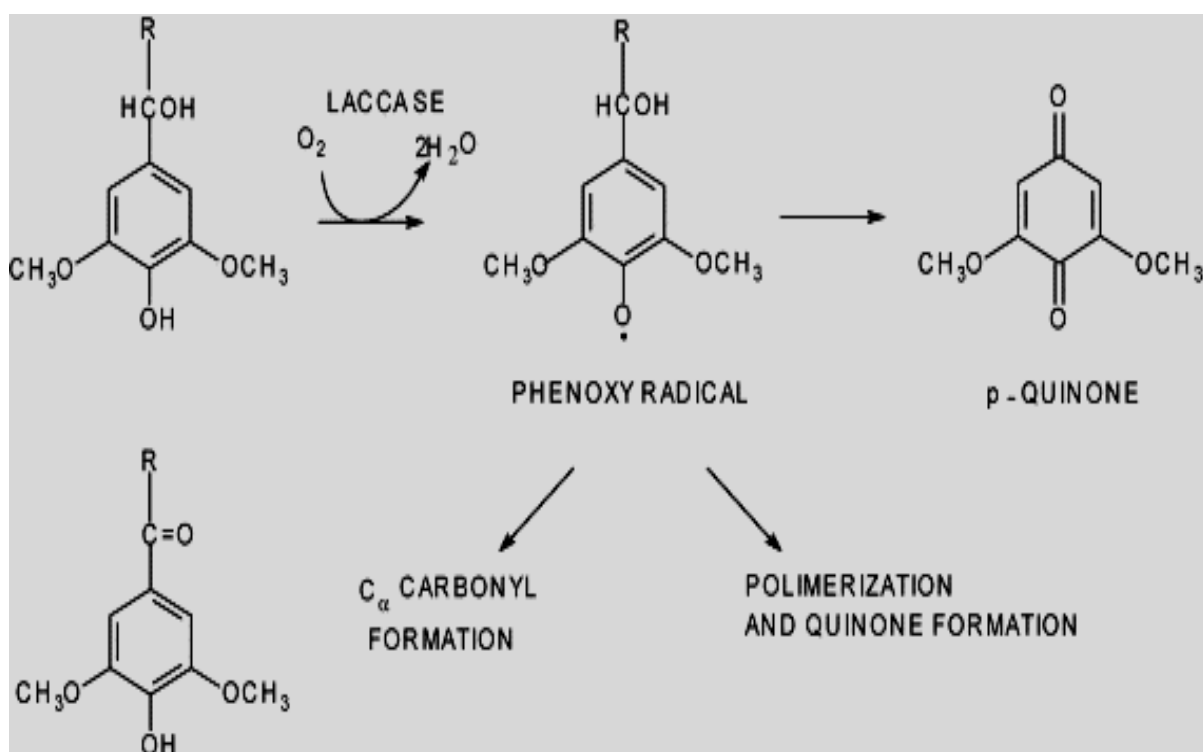
**Εικόνα 11.** Τυροσινάση (IUP, 2012)



**Εικόνα 12.** Λακκάση (E.C., 2000)



**Εικόνα 13.** Οξείδωση των φαινολών από την τυροσινάση (Oliveira et al., 2011).

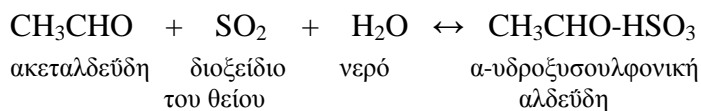


**Εικόνα 14.** Οξείδωση των φαινολών από τη λακκάση (Minussi et al, 2002).

Δέσμευση συστατικών του κρασιού: Όταν ο θειώδης ανυδρίτης προστίθεται στο μούστο ή στον οίνο διαλύεται. Ακολουθεί η μερικός αντίδραση με συστατικά του διαλύματος. Τελικά, ο θειώδης ανυδρίτης δεσμεύεται με ορισμένα από αυτά τα συστατικά, για παράδειγμα με την ακεταλδεΐδη, την αιθανάλη, τις καρβονυλικά και δικαρβονυλικά μόρια, τα κετονικά οξέα (το πυροσταφυλικό οξύ, το α-κετογλουταρικό οξύ), τα σάκχαρα (τη

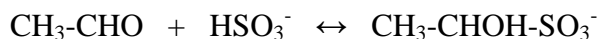
γλυκόζη), και με άλλες παρόμοιες ενώσεις όπως τις τανίνες, τις ανθοκυάνες, και το γλυκονικό οξύ σε περιπτώσεις μόλυνσεως από βοτρυτή (Jackson, 2008, Goode, 2005).

Η σημαντικότερη δέσμευσή του είναι αυτή με την ακεταλδεΐδη:



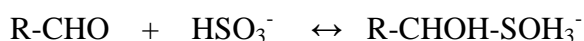
Η σύνδεση του SO<sub>2</sub> με την ακεταλδεΐδη είναι ισχυρή. Είναι μια αντίδραση πολύ αργή, αλλά και αντιστρέψιμη (Ribéreau – Gayon et al., 2006). Ο ρόλος του διοξειδίου του θείου, με αυτή τη μορφή, αποτελεί εγγύηση πως κατά την προσθήκη του στα μπουκάλια - κατά το στάδιο της συντήρησης, - θα διατηρήσει την ποιότητα του οίνου και θα τον προστατέψει από την πρόωμη οξείδωση (Jackson, 2008).

Μεγάλο μέρος του δεσμευτικού μέρους του θειώδους ανυδρίτη δεσμεύεται από την αιθανάλη, με τέτοιο τρόπο όπως φαίνεται στην ακόλουθη αντίδραση:



Οι ενώσεις αιθανάλης-θειωδών εντοπίζονται κυρίως κατά την αλκοολική ζύμωση, αφού η αιθανάλη αποτελεί ενδιάμεσο προϊόν του σχηματισμού της αιθανόλης από τα σάκχαρα του γλεύκους των σταφυλιών.

Στο διάλυμα του μούστου ή του κρασιού παρατηρούνται μεγάλα ποσά του δεσμευμένου θειώδες με μόρια καρβονυλικών και δικαρβονυλικών ενώσεων. Οι γενικές αντιδράσεις των δεσμευμένων καρβονυλικών ενώσεων με τα θειώδη ιόντα είναι:



Η δέσμευση των θειωδών ιόντων με τις καρβονυλικές ενώσεις προστατεύει τον οίνο από αμαύρωση, κυρίως στην περίπτωση που οφείλεται από την ενζυματική οξείδωση της τέφρας σήψης. Οι ενώσεις των HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> με μόρια δικαρβονυλικών συνδέονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις συνήθως με το μεθυλογλυοξάλη και την γλυοξάλη.

Μεγάλης δεσμευτικής ισχύος ενώσεις θειωδών κάνουν με τα κετονικά οξέα. Κετονικά



οξέα που συνήθως συναντώνται σε θειώδες ενώσεις είναι του 2-οξογλουταρικό οξύ και του πυροσταφυλικού οξέος. Τέτοιες ενώσεις συσσωρεύονται στο διάλυμα του σταφυλιού σε περιπτώσεις αερισμών, μεγάλων θερμοκρασιών και μειωμένης συγκεντρώσεως θειαμίνης.

Το ιόντα του θειώδους δεσμεύονται με τα σάκχαρα και τα παράγωγά τους, όμως έχουν μικρή δεσμευτική δύναμη. Πρακτικά με τη φρουκτόζη και τη σακχαρόζη δε σχηματίζει δεσμούς. Σε αντίθεση, με την αραβινόζη και λιγότερο με τη γλυκόζη, δημιουργεί ενώσεις. Μεγαλύτερη δεσμευτική ικανότητα παρουσιάζει στα παράγωγα των σακχάρων που συνήθως εμφανίζονται σε περιπτώσεις σήψεων. Μερικά παραδείγματα παραγώγων σακχάρων είναι η κετο-5-φρουκτόζη, η xylosone και το δικετο-2,5-γλυκονικό οξύ (Ribéreau – Gayon et al., 2006).

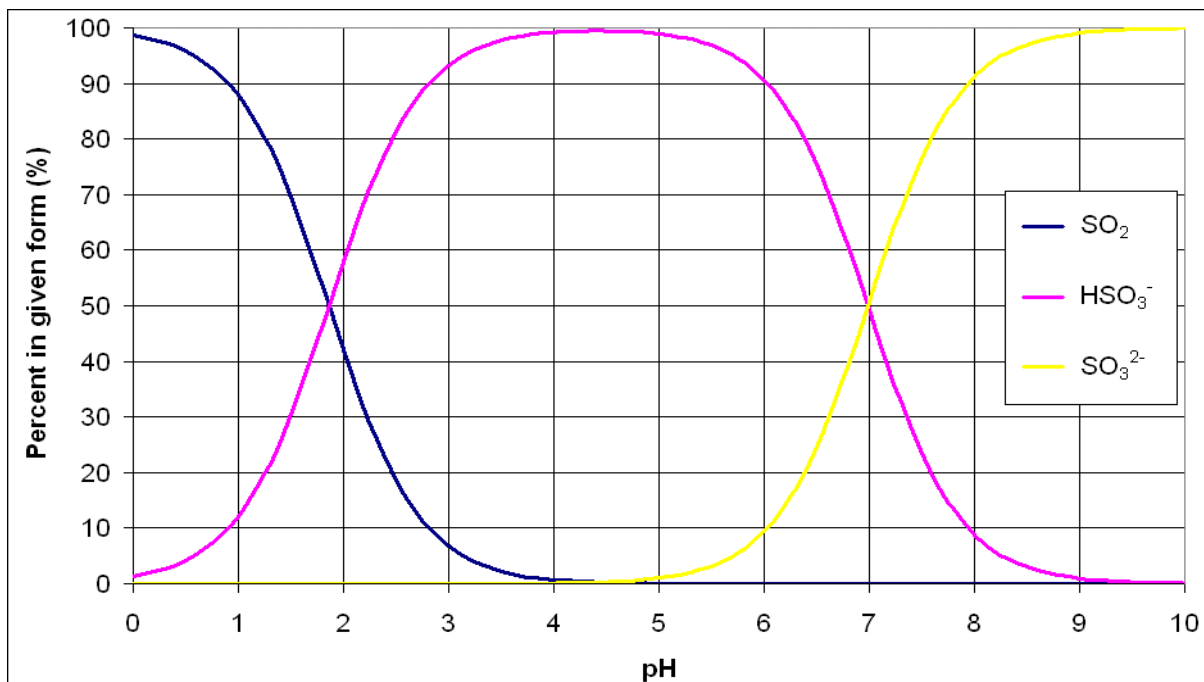
Τα θειώδη δεσμεύονται λιγότερο και με άλλες ενώσεις, όπως το γλυκουρονικό και γαλακτουρονικό οξύ, φαινόλες, ανθοκυάνες και ταννίνες. Στις τρεις τελευταίες ομάδες ενώσεων, η δέσμευσή του από τα θειώδη γίνονται ορατά στο γυμνό μάτι. Εξαρτάται, βέβαια, από την οξύτητα, τη θερμοκρασία και φυσικά από το χρώμα της ποικιλίας. Στους λευκούς οίνους είναι γνωστά ελάχιστα για τις επιδράσεις των φαινολικών παραγώγων στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Βρίσκονται σε περιεκτικότητα 25-250mg/ l για ξηρούς και ακόμη πιο χαμηλές για γλυκούς λευκούς οίνους από ευγενείς σήψη και με αντίθεση των γλυκών λευκών οίνων που συμπυκνώθηκαν με ξήρανση, το ποσοστό μοιάζει με αυτό των ερυθρών. Ανθοκυανίνες οι οποίες είναι υπεύθυνες για το κόκκινο χρώμα, βρίσκονται σε πλούσιες ποσότητες στις έγχρωμες ποικιλίες σταφυλιών. Ελαφρώς, αποχρωματίζεται τα κόκκινα λόγω του σχηματισμού θειωδών-ανθοκυανινών. Φαινόμενο αισθητό ιδιαίτερα σε ανοιχτά κόκκινα και ροζέ κρασιά (Henderson, 2009).

Τέλος, η άμεση οξειδωση του χυμού είτε του κρασιού από το οξυγόνο δεν μπορεί να αποφευχθεί. Γιατί το μεγαλύτερο μέρος την ποσότητας προσθήκης θειώδους ανυδρίτη μένει δεσμευμένο. Ωστόσο, η δραστηριότητα της ένωσης του SO<sub>2</sub> είναι τόσο έντονη που καταφέρνει σημαντική μείωση των δυσμενών επιπτώσεων στο κρασί.

### **1.3 Ο ρόλος του SO<sub>2</sub> στην οινοποίηση**

Οι πολλές ιδιότητες του SO<sub>2</sub>, τον έχουν κάνει μια αναντικατάστατη προσθετική ουσία στην οινοποίηση. Στη συμβατική οινοποίηση, το SO<sub>2</sub> είναι παρών σε όλα τα στάδια της οινοποίησης, με όλες τις μορφές των θειωδών.

Η κατανόηση των επιδράσεων της ουσίας βασίζεται πρωτίστως στην κατανόηση των μορφών του  $\text{SO}_2$  και της αναλογίας αυτών στο διάλυμα του μούστου ή του κρασιού. Οι μορφές που συναντώνται, όπως προειπώθηκε, είναι εκείνη των ελεύθερων και των δεσμευμένων μορφών του θειώδους ανυδρίτη. Οι μορφές που συναντώνται και η αναλογία τους στο διάλυμα του μούστου και του κρασιού εξαρτώνται από το pH και από εάν είναι δεσμευμένες με καρβονύλιο ή με ακόρεστες ενώσεις ή παραγώγων φαινολών. Όλα τα κρασιά είναι όξινα άλλα πιο πολύ κι άλλα πιο λίγο (Goode, 2005). Το σύνηθες pH του οίνου κυμαίνεται στις τιμές 3- 4. Στην Εικόνα 15, φαίνεται καθαρά ότι για το εύρος pH ενός κρασιού, κυριαρχούν στο διάλυμα του κρασιού η μορφή των θειωδών ιόντων ( $\text{HSO}_3^-$ ). Σε αυτές τις τιμές του pH, οι συγκεντρώσεις της μοριακής και θειωδών μορφών του θειώδους ανυδρίτη υπολογίζονται ότι βρίσκονται στο κρασί σε ποσοστό 99,99% (Henderson, 2009). Η αναλογία αυτή των θειωδών μορφών οφείλεται στο χαμηλό pH των οίνων και γι αυτό είναι πολύ αποτελεσματικό το  $\text{SO}_2$  στην αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική προστασία του οίνου (Goode, 2005).



**Εικόνα 15.** Η αναλογία των διαφόρων μορφών του  $\text{SO}_2$  σε εύρος pH 0 έως 7. Οι οίνοι έχουν εύρος pH 3-4, άρα το μπισουλφίτ ιόν είναι η κυρίαρχη μορφή του ελεύθερου στο κρασί (Ribéreau – Gayon. et al., 2006).

Είναι πολύ σημαντικό, να υπολογίζεται με ορθό τρόπο η κατάλληλη ποσότητα στην ανάλογη ποσότητα του μούστου και στη συνέχεια του κρασιού. Τα στυλ και οι μεθοδολογίες παρασκευής οίνων ποικίλλουν από περιοχή σε περιοχή και από οινοποιό σε οινοποιό. Ύστερα εξαρτώνται κι από την παραγόμενη ποιότητα, για παράδειγμα εάν αυτή είναι κακής και καθίσταται αναγκαία, προστίθενται μεγαλύτερες ποσότητες. Οι υπέρμετρες δοσολογίες, όμως, εξουδετερώνουν το ποικιλιακό άρωμα ή εξίσου κακό, δυναμώνει την οσμή του διοξειδίου του θείου στο κρασί. Εμποδίζουν τη δραστηριότητα των επιθυμητών ζυμών και υπάρχει ο κίνδυνος του πρόωρου σταματήματος της αλκοολικής ζύμωσης. Στους ερυθρούς οίνους, δημιουργείται το πρόβλημα της αδρανοποίησης των ανθοκυανινών, με αποτέλεσμα να χάσουν το χρώμα τους. Οι ανεπαρκείς ποσότητες, από την άλλη πλευρά, δεν διαβεβαιώνουν την σταθερότητα των χαρακτηριστικών του κρασιού. Η μικροβιακή και η οξειδωτική φθορά δεν μπορούν να συνυπάρχουν με την ποιότητα και τη διατηρησιμότητά της (Ribéreau – Gayon et al., 2006). Οι διακυμάνσεις των παραγόντων αυτών, κάνουν αδύνατο την καθιέρωση απόλυτων κανόνων, κατά συνέπεια να υπάρχουν πολλές επιλογές (Henderson, 2009, Di Costo, 2006).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση, όμως, έχει προσπαθήσει να οριοθετήσει όσον το δυνατόν τις δοσολογίες του θειώδους σε συνάρτηση με την περιοχή-χώρα και το είδος του οίνου (Πίνακας 3). Τα εύρη των τιμών αυτών λαμβάνουν υπόψη και το όφελος της ανθρώπινης υγείας. Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσμοθετήσει ως μέγεθος μέτρησης του διοξειδίου του θείου στην οινοποίηση, τα μέρη στο εκατομμύριο (ppm) και τα χιλιοστόγραμμα (mg/ l). Τα νομικά όρια που επιβάλλονται, σε γενικές γραμμές, για την τελική συγκέντρωση του SO<sub>2</sub> στο κρασί είναι έως 160 mg/ l για τα κόκκινα κρασιά και 210 mg/ l για τα λευκά. Είναι υποχρεωτικό να αναγράφεται στην ετικέτα με τον κωδικό αναγνώρισης ή με το όνομα του χημικού (Di Costo, 2006).

Μεγάλη βαρύτητα από τους οινοποιούς δίνεται και η χρονική στιγμή προσθήκης του θειώδους ανυδρίτη. Η χρονική στιγμή προσθήκης εξαρτάται από την ποικιλία, το χρώμα της και το στάδιο της οινοποίησης. Έχει τεράστια επίδραση στον τελικό χαρακτήρα ενός οίνου, είτε προστεθεί πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης είτε μεταγενέστερά της. Η προσθήκη του SO<sub>2</sub> πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της δράσεως του ενζύμου οξειδάση της πολυφαινόλης, που συνεπάγει την μειωμένη πιθανότητα της οξειδωτικής αμαύρωσης του μούστου. Επιπλέον, επηρεάζονται τα τελικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου των οποίων συντελεί στη διατήρηση

αρωμάτων όπως των φρουκτωδών αρωμάτων ή των αρωμάτων λουλουδιών που υπήρχαν ήδη από το μούστο. Μέχρι το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, η συντριπτική ποσότητα του θειώδους θα έχει δεσμευτεί, ενώ το μικρό υπόλοιπο του, θα έχει προστατέψει τον οίνο από ανεπιθύμητες δευτερογενούς ζυμώσεις (Henderson, 2009).

Στην οινοποίηση λευκών ποικιλιών προστίθεται με την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης και μετά της διήθησης των στερεών μερών των σταφυλιών, γιατί αποτρέπει την απόκτηση του βαθύ κίτρινου ή βαθυπράσινου χρωματισμού του μούστου.

Στην παραγωγή ερυθρών κρασιών, ο θειώδης ανυδρίτης προστίθεται πριν από τη ζύμωση για την καλύτερη εκχύλιση του χρώματος και τανινών από τις φλούδες τους. Μελέτες δείχνουν τη σημαντική επίδρασή του στο χρώμα και στην εκχύλιση των φαινολικών συστατικών από τα στερεά μέσα κατά τη ζύμωση. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις του SO<sub>2</sub> κατά τη ζύμωση προκαλεί μεγαλύτερη αύξηση της εκχύλισης των ολικών φαινολών, τανινών και λιγότερη των ανθοκυανινών στο μούστο και στη συνέπεια στο κρασί. Φυσικά, εξαρτώνται από τη φύση των ανθοκυανινών και τα χαρακτηριστικά της κάθε ποικιλίας (Pajovic et al., 2010).

Σε καμιά περίπτωση δεν πρέπει να πραγματοποιηθεί προσθήκη θειώδους ανυδρίτη, όταν το κρασί βρίσκεται ήδη σε ζύμωση. Η θερμοκρασία του μούστου είναι πολύ υψηλή και συνήθως συνοδεύεται από δυσάρεστα αρώματα και γεύσεις, όπως αυτή του ίδιου του διοξειδίου του θείου και των χαλασμένων αυγών. Ακολουθεί και ο κίνδυνος της αύξησης της ποσότητας των ιζημάτων, εξαιτίας της πήξης κολλοειδών ουσιών που ήδη περιέχονται στο μούστο. Εξαιρεση αποτελεί όταν θέλουμε να παρασκευάσουμε οίνους με μεγάλη συγκέντρωση σακχάρων και υψηλού αλκοολικού βαθμού, όπως οι κόκκινοι οίνοι Banyuls AOC, Maury και οι λευκοί οίνοι Muscat de Beaumes de Venise AOC, Muscat de Rivesaltes και Muscat de Frontignan. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται mutage. Σύμφωνα με αυτήν, η προσθήκη μεγάλης ποσότητας SO<sub>2</sub> έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή της αλκοολικής ζύμωσης δηλαδή εμποδίζεται η δραστηριότητα των ζυμών, με αποτέλεσμα να μείνουν αζύμωτα σάκχαρα, προσδίδοντας ιδιαίτερη γλυκιά γεύση στα κρασιά που παράγονται. (Biancalana, 2006).

Το διοξείδιο του θείου προστίθεται και σε μεταγενέστερο στάδιο της οινοποίησης, με σκοπό να προστατευτεί ο οίνος από τη γήρανση. Κατά το φαινόμενο της γήρανσης του οίνου, οι ποσότητες των θειωδών μορφών του διοξειδίου του θείου στο διάλυμα μειώνονται, με παράλληλη σταδιακή μείωση της αποτελεσματικότητάς του. Για το λόγο αυτό, ποσότητα SO<sub>2</sub>

**Πίνακας 3.** Μέγιστες επιτρεπές συγκεντρώσεις του SO<sub>2</sub> διάφορους τύπους οίνων. Κανονισμοί της Ευρωπαϊκής Κοινότητας & προτάσεις της OIV. (Ribéreau – Gayon P. et al., 2006)

A. EU regulations no: 1493/1999 and 1622/2000, modified in 1655/2001

Types of wine	Sugar content <5 g/l	Sugar content = or >5 g/l
Red wines	160 (+40)*	210 (+40)*
White and rosé wines	210 (+40)*	260 (+40)*
Red <i>vins de pays</i>	125	150
White and rosé <i>vins de pays</i>	150	175
Dessert wines	150	200
<i>Vins de pays</i> (TAV >15% vol.; sugar >45 g/l)		
White AOC wines		
Bordeaux superieur, Graves de Vayres, Côtes de Bordeaux		
Saint-Macaire, Premieres Côtes de Bordeaux, Sainte-Foy		
Bordeaux, Côtes de Bergerac suivie ou non de la denomination		
Côtes de Saussignac, Haut Montravel, Côtes de Montravel et		
Rosette, Gaillac		
White DO wines		
Allela, La Mancha, Navarra, Penedes, Rioja, Reuda, Tarragona et Valencia		
Alto Adlge, Trentino "passito" "vendemmia tardiva"		
Vqprd Moscato di Pantelleria naturale and Moscato di Pantelleria		
United Kingdom Vqprd described as follows:		
botrytis, noble harvest, noble late harvested		
German wines		
Spätlese		300
Auslese and some Rumanian white wines		350
Beerenauslese, Ausbruch, Ausbruch-wein, Trockenbeerenauslese, Elswain		400
White AOC wines		
Sauternes, Barsac, Cadillac, Cérons, Louplac,		
Sainte-Croix-du-Mont, Graves supérieurs, Monbazillac,		
Jurançon, Pacherenc du Vic Bilh, Anjou-Coteaux de la Loire,		
Bonnezeaux, Quarts de Chaume, Coteaux de l'Aubance,		
Coteaux du Layon sulvi du nom de la commune d'origine,		
Coteaux du Layon suivi du nom de Chauma, Coteaux de		
Saumur		
Alsace et Alsace grand cru suivi de la mention "vendanges tardives" ou "selection de grains nobles"		
Sweet wines from Greece (sugar = or >45 g/l)		
Samos, Rhodes, Patras, Rio Patron, Cephalonie, Limnos, Sitia, Santorin, Néméa, Daphines		
Certain Canadian white wines (Icewine)		400

\*When required due to weather conditions in certain vineyard areas.

B. OIV—maximum acceptable limits: International Code of Winemaking Practices and Collection of International Wine Analysis Methods, 2001.

Types of wine	Sugar content = or <4 g/l	Sugar content >4 g/l
Red wines	150	300
White and rosé wines	200	300
Certain sweet white wines		400

προστίθεται και στο στάδιο της συντήρησης του οίνου. Η ποσότητα προσθήκης είναι ανάλογη με το επίπεδο των υπαρχουσών μορφών θειώδους στον οίνο. Οι οινοποιοί παρακολουθούν και υπολογίζουν κατά κανόνα το ολικό και το ελεύθερο διοξείδιο του θείου για την πιθανή, μελλοντική προσθήκη. Το ολικό και το ελεύθερο διοξείδιο του θείου αντιπροσωπεύουν την μοριακή μορφή του, η οποία είναι και η πιο δραστική μορφή. Η διαφορά των ποσοτήτων του ελεύθερου από του ολικού υπολογίζεται το δεσμευμένο (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Το δεσμευμένο θειώδες δεν έχει ιδιαίτερη αξία, αφού δεν παρουσιάζει σημαντικές αντιοξειδωτικές και μικροβιακές ιδιότητες. Ωστόσο, σε περιπτώσεις εξάντλησης των αποθεμάτων του ελεύθερου χρησιμοποιείται το δεσμευμένο.

Τέλος, το διοξείδιο του θείου προστίθεται κάθε φορά που ο οίνος έρχεται επαφή με το οξυγόνο. Τέτοιες περιπτώσεις συναντούνται στις διαδικασίες φιλτραρίσματος και εμφιάλωσης. Ακόμα προστίθεται όταν ο οίνος να έχει προσβληθεί από βακτήρια γαλακτικού οξέος, Ανάλογα το βαθμό της μηλογαλακτικής ζύμωσης προστίθεται η αντίστοιχη συγκέντρωση θειώδους ανυδρίτη (Goode, 2005). Το SO<sub>2</sub> εξασθενεί τις δυσάρεστες επιδράσεις των σήψεων και των μούχλων. Επίσης, έχει θετικά αποτελέσματα στη διατήρηση των ευχάριστων ιδιοτήτων της ποικιλίας, αλλά για να πετύχει αυτό πρέπει να γίνει προσθήκη και μετά την αλκοολική ζύμωση (Biancalana, 2006).

Πάντοτε, η γεύση των λευκών κρασιών οφείλεται από τη φύση της μορφής του θειώδους προσθετικού μέσου που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία στο κρασί. Η γεύση και η μυρωδιά του θειώδους στο κρασί θεωρείται πολύ αρνητικό χαρακτηριστικό. Αυτό καθιστά όχι εμπορεύσιμα κρασιά προκαλώντας μεγάλη ζημιά στον οινοπαραγωγό (Henderson, 2009). Επισημαίνεται, ότι πρέπει να δίνεται μεγάλη προσοχή στις ποσότητες προσθήκης έτσι ώστε να αποφευχθούν επιπλέον οργανοληπτικές αλλοιώσεις. Οι διάφορες μορφές του θειώδους μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τους οινοποιούς ισάξια, δίνοντάς τους τη δυνατότητα επιλογής της καταλληλότερης μορφής για τον οίνο που επιθυμούν να το φτιάξουν.

## ***1.4 Η επίπτωση του θειωμένου κρασιού στην ανθρώπινη υγεία***

### ***1.4.1 Θετικές επιπτώσεις του κρασιού στην ανθρώπινη υγεία***

Το κρασί είναι το πιο πολυαγαπημένο ποτό, τόσο από χρονικής παλαιότητας όσο και παγκόσμιας χωροδιάταξης. Τα πλεονεκτήματα της κατανάλωσής του είναι αξιόλογα και το

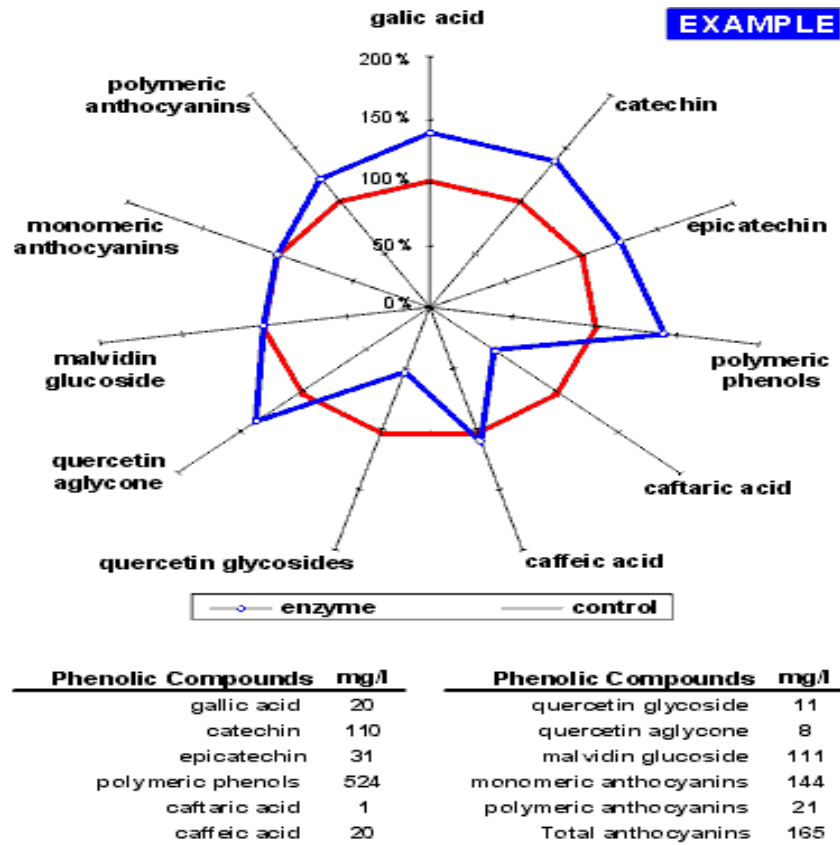
κάνουν όλο και πιο δημοφιλή στο καθημερινό τραπέζι κάθε οικογένειας. Οι πολυφαινόλες και είναι οι κυρίως δημοφιλές ενώσεις για τις θετικές επιδράσεις στην άνθρωπο (Ignarro et al., 2007). Η ομάδα των ενώσεων φαινόλων αντιπροσωπεύεται από τις πολυμοριακές φαινόλες ή φλαβονοειδής φαινόλες που περιλαμβάνουν τις τανίνες και τις μονομοριακές και τις πολυμοριακές ανθοκυάνες, και τις μονομοριακές φαινόλες ή μη φλαβονοειδής φαινόλες από τις οποίες οι πιο αντιπροσωπευτικές ενώσεις είναι το γαλλικό οξύ, την κατεχίνη, την επικατεχίνη, το caftaric οξύ, το καφεϊκό οξύ, τους γλυκοζίτες κερκετίνης, την αγλυκόνη κερκετίνη (Εικόνα 16). (Κουράκου-Δραγώνα, 1998, EST laboratories, 2011). Ιδιαίτερα ισχυρές αντιοξειδωτικές ενώσεις, φαίνονται στην Εικόνα 17, είναι το γαλλικό οξύ, η trans-ρεσβερατρόλη, η κερκετίνη και η ρουτίνη. Από τα τέσσερα, ξεχωρίζει η κερκετίνη ως η ένωση με την πιο ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (López et al., 2003).

Στη συνέχεια, περιγράφονται ορισμένα από τα πιο σημαντικά οφέλη του κρασιού στον άνθρωπο σε κατηγορίες ανά συγκεκριμένου τομέα δράσης:

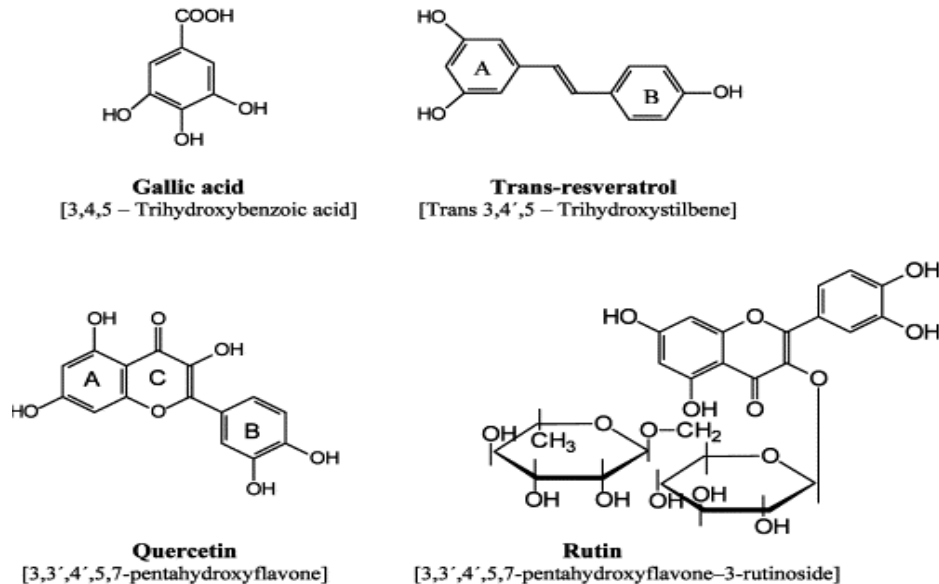
Γεύση. Προσδίδει γεύσεις με το φαγητό ή ακόμη και καλύτερη γεύση. Ιδιαίτερα τα ερυθρά κρασιά που είναι πλούσια σε φλαβονοειδή, αποτελούν το φυσικό θεραπευτή του ανοσοποιητικού συστήματος.

Κυτταρική φυσιολογική διεργασία. Τα συστατικά του σταφυλιού θεωρήθηκαν ότι παρέχουν ιδιαίτερη αποτελεσματική προστασία από το οξειδωτικό στρες των ανθρώπινων κυττάρων. Οι πολυφαινόλες και τα αντιοξειδωτικά παγιδεύουν τις ελεύθερες ρίζες. Εμπλέκονται σε χημικές αντιδράσεις, στις οποίες αλληλεπιδρούν με τους αντίστοιχους υποδοχείς ή ένζυμα που είναι υπεύθυνα στη μεταγωγή σημάτων. Έτσι, επιτυγχάνεται η τροποποίηση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης έτσι ώστε να αποφεύγεται η όποια οξειδωτική βλάβη που θα μπορούσε να υποστούν τα συστατικά των κυττάρων από τις ελεύθερες ρίζες. (Scalbert A. et al., 2005)

Μεταβολισμός. Το κρασί βοηθάει στην ορθή πέψη μεταβολίζοντας τη γλυκόζη όταν καταναλώνεται με υδατάνθρακες, εξασφαλίζοντας το σωστό ρυθμό λειτουργίας του μεταβολισμού της γαστρεντερικής οδού. (Di Costo A., 2006) Ενεργοποιεί τη μικροχλωρίδα του εντέρου, η οποία μεταβολίζει το μεγαλύτερο μέρος των φαινολικών ενώσεων. Συγκεκριμένα, κάνει την απογλυκοζυλίωση των φαινόλων, ακολουθούμενη από τη διάσπαση των δομών των δακτυλίων τους, που οδηγείται στην παραγωγή φαινολικών οξέων και αλδεϋδών.



**Εικόνα 16.** Τα κύρια φαινολικά συστατικά ενός κρασιού και οι συγκεντρώσεις τους. (EST laboratories, 2011)



**Εικόνα 17.** Οι κύριες αντιοξειδωτικές ενώσεις του κρασιού. Γαλλικό οξύ, Trans-ρεσβερατρόλη, Κερκετίνη και Ρουτίνη (López et al., 2003).

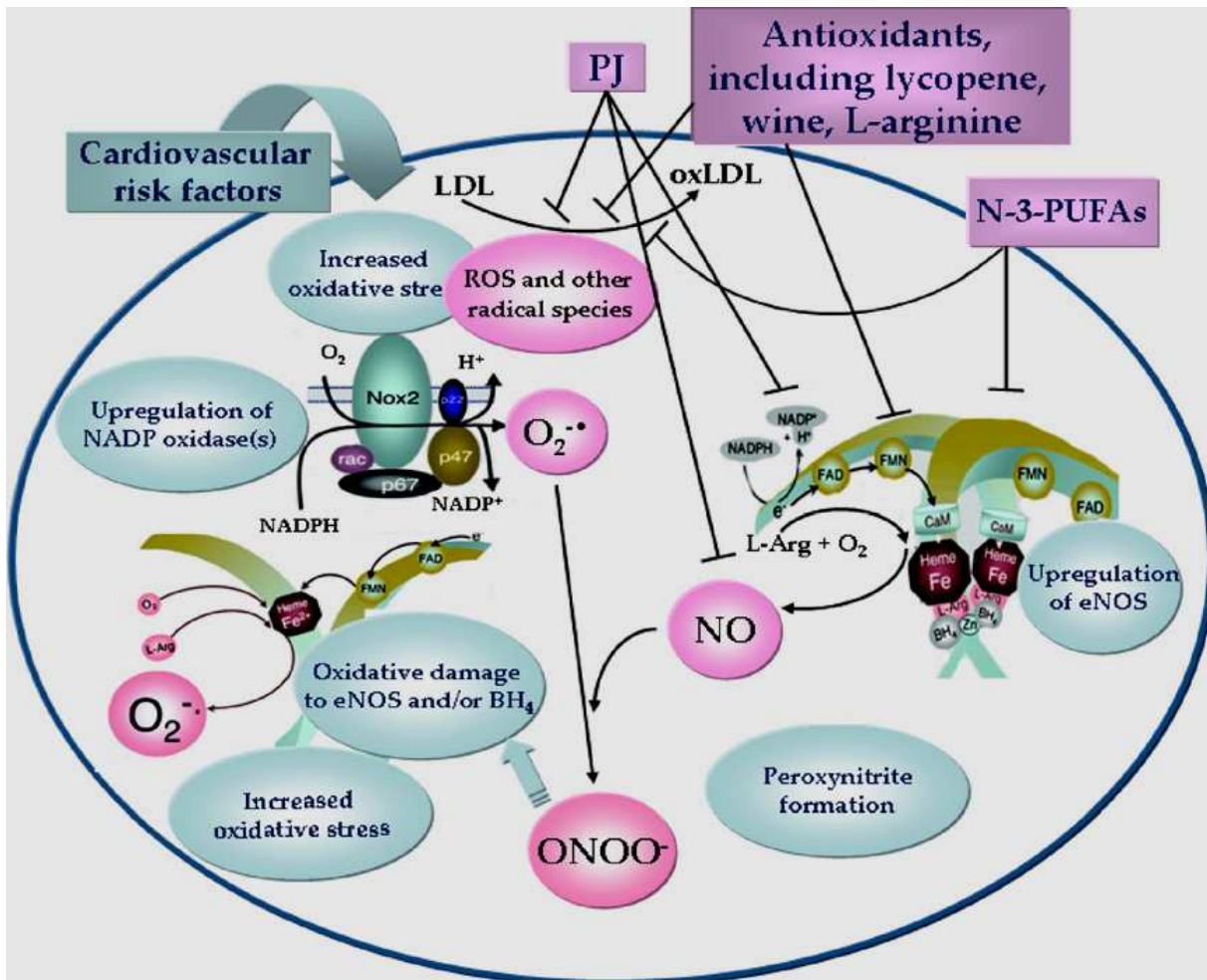


Τα προϊόντα αυτά, μεταφέρονται στα διάφορα όργανα διαμέσου του αίματος. Σε γενικές γραμμές είναι πολύ δύσκολο να αξιολογηθεί πλήρως η συνεισφορά τους στον ανθρώπινο οργανισμό. Είναι όμως σίγουρο, η συμμετοχή των φαινολικών οξέων στις ακόλουθες βιοχημικές αντιδράσεις, φέρνουν καλά αποτελέσματα στην υγεία του οργανισμού. (Forester S.C. & Waterhouse A.L., 2009) Ένα άλλο παράδειγμα είναι οι επιδράσεις των ισοφλαβονών στις ενδοκυτταρικές λειτουργίες. Οι ισοφλαβόνες, οι οποίες έχουν υποδοχείς οιστρογόνων, ενδέχεται ότι συμβάλλουν στην αύξηση της οστεϊκής πυκνότητας. Έρευνες συσχετίζουν την ενδοκυττάρια δράση των ισοφλαβονών με την οστεϊκή αποκατάσταση των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών (Scalbert et al., 2005).

Πρόληψη και θεραπεία ασθενειών. Η ρεσβερατρόλη (RES – Resveratrol) είναι ένα παράγωγο των στιλβενίων, ένας τύπος φαινολών που εντοπίζεται στους φλοιούς και στα γίγαρτα των σταφυλιών. Είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό. Μέχρι το 1997, η δραστηριότητά του ήταν άγνωστη. Όμως, εκείνη τη χρονιά μια έρευνα έδειξε θετικά αποτελέσματα στην πρόληψη του καρκίνου του δέρματος *in vitro*. Από τότε, συνεχίζονται οι έρευνες, με εύρεση μεγάλης θετικής δράσης έναντι άλλων ειδών καρκίνου, όπως των νεκρωτικών καρκίνων, νεοπλασιών, λευχαιμίας και του μαστού (Brown et al., 2009, Xin et al., 2011). Χρησιμοποιείται ως βάση σε φάρμακα για τη θεραπεία ισχυρών φλεγμονωδών νόσων όπως σκωληκοειδίτιδα, περιτονίτιδα. Ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση έχει στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών του ανθρώπινου αναπνευστικού συστήματος. Θετικά αποτελέσματα βρέθηκαν στην αντιμετώπιση των σήψεων. Είναι πολύ σημαντικό εύρημα, γιατί όπως είναι γνωστό στην ιατρική κοινότητα, είναι πολύ δύσκολη η θεραπεία και η πλήρης αποκατάσταση ασθενών με σήψη (Donnelly et al, 2004).

Η ρεσβερατρόλη έχει μελετηθεί για την προστατευτική δράση στα καρδιαγγειακά νοσήματα με όχι αξιοσημείωτα αποτελέσματα (Ashby et al., 1999). Αντιθέτως, διαφορετικά αντιοξειδωτικά συστατικά του κρασιού, σχετίζονται με έναν ελαφρώς, μειωμένο κίνδυνο θνησιμότητας, από τη στεφανιαία καρδιακή νόσο και την αθηροσκλήρωση. Τηρώντας, όμως, πάντα μια μετριοπαθή κατανάλωση, περίπου 1-4 ποτήρια ανά ημέρα. (Cleophas, 1999). Η κατανάλωση σε λογικές ποσότητες κάνει καλό στην καρδιά. Μειώνεται η αρτηριακή πίεση για λίγες ώρες, εν ώρα πόσης και συνεχίζει ώρες μετά. Μειώνει στρες και ένταση, συμβάλει στην καλύτερη ποιότητα ύπνου (Di Costo, 2006). Ο τρόπος με τον οποίο προστατεύει το κρασί την καρδιά από αυτές τις ασθένειες περιγράφεται σχηματικά στην Εικόνα 18. Οι ασθένειες αυτές, προκαλούν επιθηλιακές βλάβες μέσω των οξειδίων του αζώτου (NO) που

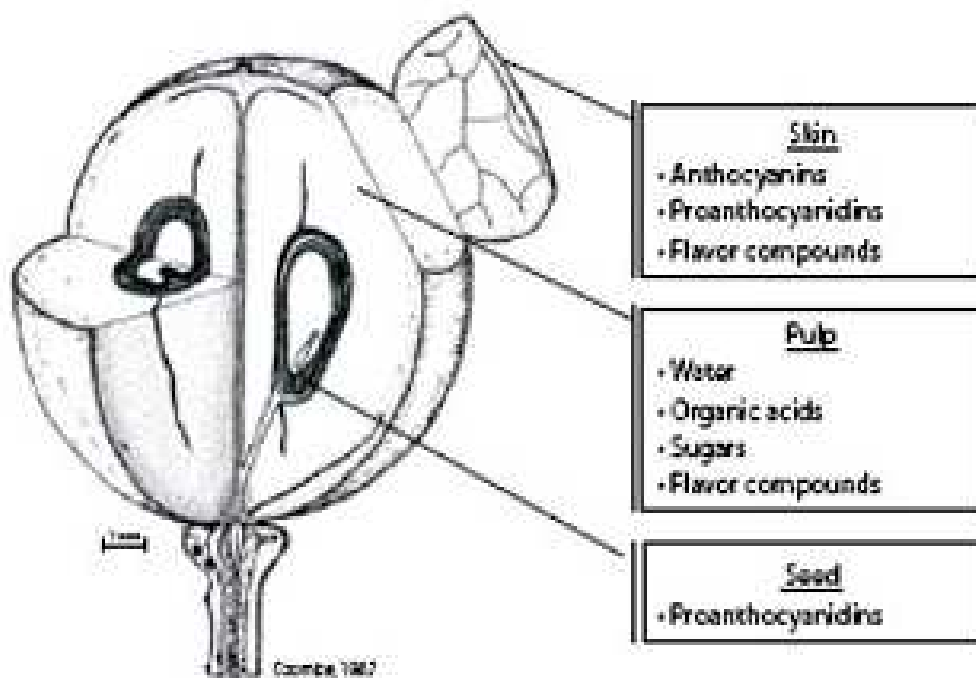
είναι υπεύθυνο για το οξειδωτικό στρες των επιθηλιακών κυττάρων. Τα αντιοξειδωτικά μειώνουν τη δράση του οξειδίου του αζώτου είτε με τοπική εξάντληση υποστρωμάτων του ή με εκτροπή της ενδοθηλιακής συνθάσης του νιτρικού οξειδίου (eNOS), το οποίο δημιουργεί ρίζες υπεροξειδίων οξυγόνου που είναι συνυπόστρωμα του NO (Ignarro et al., 2007).



**Εικόνα 18.** Δράση των αντιοξειδωτικών στην καρδιά (Ignarro et al., 2007).

Κι άλλα συστατικά του κρασιού όπως η αιθανόλη φέρει ειδική προστατευτική δράση σε παθήσεις του μυοκαρδίου, που οι αιτίες εμπλοκής είναι ίδιας φύσεως με εκείνες που προηγήθηκαν για την αθηροσκλήρωση. Η αιθανόλη αυξάνει την πυκνότητα των λιποπρωτεϊνικών επιπέδων και συνάμα μειώνει τα συσσωματώματα των αιμοπεταλίων. Επίσης, έρευνες ενδεικνύουν θετικά αποτελέσματα και για το αιφνίδιο καρδιακό θάνατο (Ignarro et al., 2007).

Οι ενώσεις αυτές εντοπίζονται κυρίως στο φλοιό της ράγας και στα γίγαρτα, γι αυτό τα ερυθρά κρασιά είναι αυτά που από τους επιστήμονες συνιστώνται για κατανάλωση. Βέβαια, ο καθορισμός των φαινολών εξαρτάται από τη διαδικασία οινοποίησης (αναφορά στην προηγούμενη ενότητα). Η Εικόνα 19 απεικονίζει με ακρίβεια την κατανομή/ προέλευση των σημαντικότερων φαινολικών μορίων σε μια ράγα σταφυλιού. Εξαιρέση αποτελούν οι ενώσεις, υδροξυκινναμικά οξέα, γιατί ήδη υπάρχουν στο μούστο (Kennedy, 2008).



**Εικόνα 19.** Κατανομή σημαντικών συστατικών ενώσεων που υπάρχουν στη ράγα σταφυλιού που σχετίζεται με την ποιότητα του οίνου (Kennedy, 2008).

#### 1.4.2 Αρνητικές επιπτώσεις του κρασιού στην ανθρώπινη υγεία

Η κατανάλωση του κρασιού, ενώ περιλαμβάνει όλα τα παραπάνω οφέλη, συνοδεύεται από αρκετά μειονεκτήματα, λόγω των αρνητικών επιδράσεων του θειώδους ανυδρίτη. Ακολουθεί ο διαχωρισμός των μειονεκτημάτων του θειώδους ανυδρίτη, σε κατηγορίες ανάλογα με το είδος της ζημιάς που κάνει:

**Μεταβολές σε βιταμίνη:** Σε μερικά άτομα εντοπίστηκε, η καταστροφική δράση του διοξειδίου του θείου και των θειωδών ενώσεων σε βιταμίνες του συμπλέγματος Β.

Συγκεκριμένα αποκαλύφθηκε μέσω της οξειδωτική τους δράσης προκαλούν την αποδόμηση της βιταμίνης B1 ή θειαμίνης και της βιταμίνης B12 ή κυανοβαλαμίνης. Η καταστροφή της βιταμίνης B1 συνοδεύεται από συμπτώματα ταχυκαρδίας, αδυναμίας, ευερεθιστικότητας και πονοκεφάλους. Ενώ η απώλεια της κυανοβαλαμίνης ακολουθείται με τα συμπτώματα αναιμίας ή νευρολογικών προβλημάτων (όπως μελαγχολία, διαταραχές μνήμης ή όρασης) (Di Costo, 2006).

Κεφαλαλγίες: Κεφαλαλγίες, είναι μία από τις πιο συνηθισμένες ζημιές που οφείλονται από τα θειώδη των κρασιών. Τα θειώδη δεν είναι υπαίτιοι των πονοκεφάλων μόνο μέσω της καταστροφής της θειαμίνης στον ανθρώπινο οργανισμό. Μελέτες της αμερικάνικης Υπηρεσίας Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA - Food and Drug Administration) έδειξαν ότι ασθενείς που είχαν ασήμαντες ποσότητες του ενζύμου, της οξειδάσης των θειωδών ήταν συνένοχο. Σύμφωνα με αυτές τις μελέτες, η οξειδάση των θειωδών επεξεργάζεται τα θειώδη πρόσθετα στο ήπαρ και τα αποβάλλει μέσω των ούρων. Η ικανότητα του ενζύμου υπολογίζεται με τη μέτρηση των αποβαλλόμενων θειωδών στα ούρα. Στα λεγόμενα ευαίσθητα θειώδη άτομα βρέθηκε ότι στα ούρα τους έχουν μεγάλη ποσότητα θειωδών, που σημαίνει ότι η ικανότητα εξάλειψής τους από τον οργανισμό τους είναι μικρή, δηλαδή έχουν μειωμένη έως ελλιπή παρουσία της οξειδάσης των θειωδών. Μάλιστα, το κύριο και εντονότερο σύμπτωμα που παρουσιάστηκε σε όλους ήταν οι πονοκέφαλοι (Ough, 1992, Di Costo, 2006).

Αλλεργικές επιδράσεις: Τα ευαίσθητα άτομα που εισπνέουν το διοξείδιο του θείου, εξαιτίας του pH στο στομαχιού τους, έχουν μικρότερο βαθμό ιονισμού του SO<sub>2</sub>, με αποτέλεσμα να μένει δεσμευμένο εκεί. (Ough, 1992). Ανεξαρτήτως του τρόπου πρόσληψης- είτε μέσω εισπνοής είτε με κατάποση- μπορεί να τους δημιουργήσει άσμα, ακόμα και σε υψηλές αραιώσεις. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο ένας στους εννέα ασθενείς άσματος επιδεινώνεται από την κατανάλωση ποτών ή τροφίμων με θειώδη (Freedman, 1980). Άλλα άτομα εμφανίζουν εκζέματα, διάρροιες, ρινίτιδες και κνιδώσεις (Di Costo, 2006).

Αλληλεπιδράσεις με φάρμακα: Έχουν συσχετιστεί η αύξηση της ευαισθησίας στα θειώδη όταν έκανα φαρμακευτική αγωγή με κορτικοστεροειδή. Σε άλλους ανθρώπους έχουν υποστεί άλλες σοβαρές αντιδράσεις στους οποίους είτε χορηγούσαν ενδοφλέβια είτε εισπνεόμενα φάρμακα (Di Costo, 2006).

Η ανάγκη να προστατευτούν άνθρωποι ευαίσθητοι στα θειώδη, ώθησε στη θέσπιση ορίων ασφαλείας για τη χρήση τους. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO- World

Health Organization) είναι ο υπεύθυνος θεσμός να αξιολογεί τις τοξικές επιδράσεις κάθε προσθετικής ουσίας των τροφίμων, περιλαμβανομένου και του διοξειδίου του θείου. Ως τη μέγιστη ημερησία πρόληψη ορίζει στα 0,7mg/ kg του ανθρώπινου σωματικού βάρους και την θανατηφόρα δόση σε 1,5 g/ kg του σωματικού βάρους (Biancalana, 2006).

Παρόλο της νομοθετική προστασίας, τα άτομα αυτά δυσχεραίνουν στη κατανάλωση του αλκοόλ. Δεν είναι αρκετό να προστατευτούν ικανοποιητικά από τα αρνητικά αποτελέσματα των θειωδών προσθετών.

### **1.5 Προσπάθειες αντικατάστασης του θειώδους ανυδρίτη**

Η σύγχρονη τάση των επιστημόνων για την αποκλειστική χρήση φυσικών πρόσθετων ουσιών στην οινολογία. Η ανάγκη εξασφάλισης υγιούς και ασφαλές τρόφιμα ξεκινά από τις μεταχειρίσεις του ίδιου του περιβάλλοντος από όπου ξεκινά η καλλιέργεια όσο και στην επιλογή του φυτού και την περαιτέρω μεταχείρισή του. Έτσι, πειράματα με νέους στόχους ξεκίνησαν από την παγκόσμια επιστημονική κοινότητα να γίνονται. Ένας τομέας που δεν θα μπορούσε να μείνει από έξω είναι της αμπελουργίας-οινολογίας.

#### **1.5.1 Ο συμβιβασμός της νομοθετικής διάταξης**

Η αγάπη για το ίδιο το φυτό, το αμπέλι, των προϊόντων του, αλλά και των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των ραγών έχουν οδηγήσει σε νέο εύρος πειραμάτων με ωφέλιμη δράση. Το SO<sub>2</sub> είναι η σημαντικότερη βοηθητική ουσία που χρησιμοποιείται στην οινολογία, αλλά οι αρνητικές της επιπτώσεις, ιδίως αυτές στην ανθρώπινη υγεία, την έχουν κάνει και την πιο μισητή. Επιπλέον, η υποχρεωτική χρήση του, δυσανασχετεί τους παραγωγούς στην παραγωγή βιολογικού κρασιού. Μέχρι τώρα, τα σταφύλια μπορούσαν να είναι πιστοποιημένα και όταν η προέλευσή τους είναι από βιολογική καλλιέργεια αμπελιού τότε επιτρεπόταν μόνο η αναφορά στην ετικέτα «κρασί από βιολογικά σταφύλια».

Η Ευρωπαϊκή Κοινότητα διευθέτησε νέα νομοθετική ρύθμιση για τους αμπελουργούς της βιολογικής καλλιέργειας. Θεσπίστηκε ο Κανονισμός 834/2007 και τέθηκε σε εφαρμογή από τη συγκομιδή του έτους 2012. Σύμφωνα, με αυτόν επιτρέπει στις ετικέτες των μπουκαλιών των οίνων να αναγράφεται ο όρος «βιολογικό κρασί» Αυτό αποτελεί μια ανάσα στους οινοποιούς και ειδικά στους καλλιεργητές βιολογικής καλλιέργειας. Με αυτόν τον

κανονισμό, η βιολογική καλλιέργεια του οίνου ολοκληρώθηκε. Όσον αφορά τη χρήση προσθετικών ουσιών ορίζεται με ένα υποσύνολο τεχνικών οδηγιών, στον Κανονισμό 606/2009. Ο Κανονισμός 606/2009 μειώνει αισθητά τα μέγιστα όρια των προσθετικών ουσιών στη βιολογική οινοποίηση. Το επίπεδο των θειωδών στο βιολογικό κρασί πρέπει να είναι τουλάχιστον 30-50 mg/l χαμηλότερα από τα συμβατικά. Συγκεκριμένα, στους ερυθρούς οίνους ορίζεται ως μέγιστη περιεκτικότητα σε θειώδη τα 100 mg/l και στους λευκούς/ ροζέ οίνους, τα 150 mg/l (Euro Group, 2012).

### **1.5.2 Πανερωπαϊκή διερεύνηση φυσικών αντικαταστατών του θειώδους**

Η αναζήτηση γίνεται όλο και πιο έντονη όχι μόνο λόγω των αρνητικών επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία ή στην οινολογία, αλλά και του οικολογικού κινήματος προς τα βιολογικά προϊόντα. Οι μελέτες του οινολογικού τομέα, με την αρχή του καινούριου αιώνα, έχουν στραφεί στην εύρεση εναλλακτικής λύσης για τον πλήρη αποκλεισμό της χρήσης των θειωδών στη βιομηχανία του οίνου. Ο στόχος των μελετών είναι η εύρεση οποιαδήποτε φυσικού, βιολογικού ή ήπιου τεχνολογικού μέσου που θα πραγματοποιήσει τούτον το οινολογικό στόχο.

#### **1.5.2.1 Winesulfree**

Το πρόγραμμα «Winesulfree» αναζωπύρωσε τις ελπίδες για τη δυνατότητα παραγωγής οίνου χωρίς προσθήκη θειώδους ανυδρίτη. Χρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση. Ήταν μια επένδυση ύψους 321.982.000 ευρώ. Οι συμμετέχοντες χώρες ήταν η Ισπανία, η Πορτογαλία και η Ελβετία. Υποστηρίχθηκε από τον Πανερωπαϊκό Δίκτυο για την Ανάπτυξη Έρευνας, EUREKA, με συντονιστή τον Dão Sul της Wine Company. Συνεργάστηκαν με το Πανεπιστήμιο Αβέιρο της Ισπανίας (UA- Universidade d' Aveiro). Οι επικεφαλής της ερευνητικής ομάδας ήταν ο Manuel Coimbra και η Cláudia Nunes, οι οποίοι ανήκουν στο τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου.

Ο κύριος σκοπός του προγράμματος ήταν η εύρεση υποκαταστάτη ή αντικαταστάτη του θειώδους ανυδρίτη στην οινοποίηση. Η ανεύρεση μιας τέτοιας ουσίας, έπρεπε να επιτρέπει την παραγωγή οίνων με περιεκτικότητα θειώδους ελάχιστη έως μηδενική και δυνατότητα εμπορικής εκμετάλλευσης. Οι έρευνες οδηγήθηκαν σε τρεις τομείς:

- Πολυσακχαρίτες.
- Ενώσεις εκχυλισμάτων.
- Ήπια τεχνολογία υψηλής υδροστατικής πίεσης.

Η ερευνητική ομάδα στην την ομάδα των πολυσακχαριτών, μελετήθηκαν από ποικιλίες μαύρης ελιάς, που βρέθηκε μια αντιβακτηριδιακή δράση ανάλογη με τη δραστηριότητα και τη διαθεσιμότητα ενζύμων στο κυτταρικό τοίχωμα των πολυσακχαριτών (Cardoso M.S. et al, 2010). Η ομάδα πολυσακχαριτών που ήταν περισσότερο αξιοσημείωτη ήταν των sesquiterpenoids. Στις ενώσεις εκχυλισμάτων, διακρίθηκε μια ένωση η χιτοζάνη (chitosan), η οποία μελετήθηκε σε λευκές οινοποιήσεις (European Research., 2008).

Χιτοζάνη. Η χιτοζάνη είναι ένας πολυσακχαρίτης που παράγεται από τη χιτίνη, ένωση που εντοπίζεται στους εξωσκελετούς των αστακών, των γαρίδων, των καβουριών και των καλαμαριών. Η διαδικασία απομάκρυνσης της χιτοζάνης περιγράφεται συνοπτικά στην Εικόνα 20 (Patel, 2005). Η μέθοδος της χιτοζάνης έχει φέρει την επανάσταση στη βιομηχανία του κρασιού. Παρουσιάζει πολύ υψηλή αντιβακτηριδιακή και αντιμυκητική δράση (Baliska-Ramiszl et al., 2005). Έχει δοκιμαστεί με επιτυχία στους λευκούς οίνους και το επόμενο βήμα είναι η εφαρμογή της σε ερυθρούς και αφρώδης οίνους. Η μέθοδος της χιτοζάνης διατηρεί όλες τις κοινές, οινολογικές πρακτικές που τηρούνται στα οινοποιία. Υπάρχει η δυνατότητα προσθήκης της χιτοζάνης με τον ίδιο τρόπο εκείνου του θειώδους ανυδρίτη, δηλαδή στα διάφορα στάδια της οινοποίησης για την προστασία του οίνου από μικροβιακές ή οξειδωτικές αλλοιώσεις (Lage, 2012, E.C., 2008).

Sesquiterpenoids. Οι ενώσεις sesquiterpenoids είναι αντιοξειδωτικές ενώσεις που περιέχονται φυσικά στους φλοιούς των σταφυλιών. Υπάρχουν πολλές ενώσεις, στα σταφύλια, μερικές από αυτές είναι (+)-cycloisositivene, γ-elemene, α-ylangene, β-bourbonene, β-cubenene, β-caryophyllene, 3,7-guaiadiene, (-)-isolede, (+)-aromadendrene (Εικόνα 21). (Coelho et al., 2005). Το τελικό πόρισμα ήταν θετικό για την μερική υποκατάσταση του διοξειδίου του θείου (E.C., 2008).

### 1.5.2.2 Orwine

Το Orwine ήταν ένα τριετές πρόγραμμα επιδοτούμενο από την Ευρωπαϊκή Ένωση. Αναπτύχθηκε μετά από το πρόγραμμα, Winesulfree. Το θέμα της αναφερόταν στην βιολογική

αμπελουργία και οινοποίηση. Συγκεκριμένα, ήταν η ανάπτυξη φιλικών τεχνολογιών προς το περιβάλλον και τον καταναλωτή με στόχο τη βελτίωση της ποιότητας του οργανικού κρασιού και της επιστήμης του με βάση των νομοσχεδίων. Το ερευνητικό έργο, Orwine, ήταν ειδικό στοχοθετημένο έργο με την επιδίωξη της καινοτομίας.

Το ευρωπαϊκό σχέδιο περιλάμβανε τα έτη 2006, 2007 και 2008. Στην οργάνωση του προγράμματος συντέλεσαν ερευνητές βιοτεχνολογίας διαφόρων χωρών, της Ιταλίας, της Γαλλίας, της Ελβετίας, της Γερμανίας και του Βελγίου. Συντονιστής του έργου ήταν η Ιταλική Ένωση για τη Βιολογική Γεωργία (AIAB- Associazione Italiana per l' Agricoltura Biologica). Οι υπόλοιπες οργανώσεις που συμμετείχαν στην εκτέλεση του ερευνητικού προγράμματος, ήταν:

- Το Ιταλικό Πανεπιστήμιο UNIUD (- Università degli Studi di Udine, Dipartimento di Scienze degli alimenti)
- Το Ιταλικό Πανεπιστήμιο VCSC (-Università Cattolica del Sacro Cuore),
- Η ιταλική οργάνωση ViN (- Vinidea),
- Την Περιφερειακή Μονάδα του Βελγίου IFOAM EU Group (- International Federation of Organic Agriculture Movements),
- Το Γαλλικό Ινστιτούτο INRA (- Institut National de la Recherche Agronomique),
- Το Ινστιτούτο Οίνου & Αμπέλου της Γαλλίας, ITV(- Institut Français de la Vin & du Vin),
- Το Τεχνολογικό Ινστιτούτο για τη Βιολογική Καλλιέργεια της Γαλλίας, ITAB (-Institut Technique de l'Agriculture Biologique),
- Την Γερμανική Ομοσπονδιακή Ένωση Βιοκαλλιεργητών Κρασιού, ECOVIN,
- Το Γερμανικό Κρατικό Ινστιτούτο Έρευνας του Geisenheim, SRIG και
- Το Ελβετικό Ερευνητικό Ινστιτούτο Βιολογικής Γεωργίας Frick, FiBL (- Research Institute of Organic Agriculture).

Οι στόχοι του προγράμματος εναρμονίζονταν με τους κανόνες του Κώδικα Ορθής Πρακτικής και ήταν οι ακόλουθοι:

- Αναγνώριση και εκτίμηση των υπαρχουσών μέσων στη βιολογική οινοποίηση.
- Προσδιορισμός των αναγκών των καταναλωτών και των φορέων της αγοράς.



- Ανάπτυξη καινοτόμων μεθόδων οινοποίησης και σκοπιμότητα εφαρμογής τους σε επιλεγμένα 28 οινοποιεία στην Ευρώπη.
- Υποβολή των ευρημάτων στην Ευρωπαϊκή Επιτροπή για την απόκτηση εγκυρότητας μέσω κατάλληλης νομοθεσίας.

Τα αποτελέσματα ήταν να επιτραπεί η χρήση 20 προσθετικών ουσιών στη βιομηχανική οινοποίηση βιολογικού κρασιού. Τα σημαντικότερα περιγράφονται παρακάτω. (Trioli et al., 2009).

### ***1.5.2.3 Διερεύνηση κατάλληλης τεχνολογίας αντικατάστασης του θειώδους ανυδρίτη***

Η αναζήτηση μέσου ήπιας τεχνολογίας ως εναλλακτική λύση του θειώδους ανυδρίτη, έχει ξεκινήσει από πολλές δεκαετίες. Ο Πίνακας 4 παρουσιάζει τις τεχνολογικές μεθόδους με συνοπτική περιγραφή των χαρακτηριστικών τους.

Παλμικά ηλεκτρικά κύματα. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην εκπομπή βραχέων παλμών υψηλού ηλεκτρικού πεδίου. Είναι μια μη-θερμική και γρήγορη μέθοδος με την οποία επιτυγχάνεται η καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών, χωρίς καμιά ποιοτική αλλοίωση.

Υπέρηχοι. Οι υπέρηχοι πετυχαίνουν αποτέλεσμα παστερίωσης χωρίς σημαντική αύξηση της θερμοκρασία του περιβάλλοντος του κρασιού. Σημειώνεται, ότι δεν έχει επίδραση στα σπόρια, γι αυτό συνιστάται η εφαρμογή τους σε συνδυασμό με οινολογικά πρόσθετα.

Υπεριώδης. Η υπεριώδης τεχνολογία είναι μέθοδος που στηρίζεται στη χρήση ακτινοβολίας ηλεκτρομαγνητικού φάσματος μεταξύ 100 και 400nm για την καταπολέμηση των επιζήμιων μικροοργανισμών του κρασιού. Είναι πολύ αποτελεσματική τεχνολογία αλλά η χρήση της πρέπει να εφαρμόζεται με αμέριστη προσοχή, αφού το παραμικρό λάθος προκαλεί αντίθετα αποτελέσματα.

Υψηλής πίεσης. Είναι μια μη θερμική μέθοδος που υποβάλλει τον οίνο σε πιέσεις τιμών που κυμαίνονται από 100 έως 1000MPa. Είναι οικολογική μέθοδος, αφού χρησιμοποιεί το νερό ως μέσο συμπίεσης και είναι επιδοκιμασμένη για τη χρήση της από το πρόγραμμα Winesulfree (Santos et al., 2012).

**Πίνακας 4.** Τα πλεονεκτήματα & τα μειονεκτήματα των εναλλακτικών ήπιων τεχνολογιών στην οινοποίηση.

<b>ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>	<b>ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΜΕΘΟΔΟΥ</b>	<b>ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΜΕΘΟΔΟΥ</b>
ΠΑΛΜΙΚΑ ΗΛΕΚΤΡΙΚΑ ΚΥΜΑΤΑ	-ΚΑΤΑΣΤΡΕΦΕΙ ΕΠΙΒΛΑΒΗΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ - ΕΠΙΤΑΧΥΝΕΙ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΩΝ - ΕΠΙΤΑΧΥΝΕΙ ΤΗΝ ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΤΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ	
ΥΠΕΡΗΧΟΙ	- ΕΠΙΤΑΧΥΝΕΙ ΤΗΝ ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΩΝ - ΕΠΙΤΑΧΥΝΕΙ ΤΗΝ ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΤΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ	
ΥΠΕΡΙΩΔΗΣ	- ΚΑΤΑΣΤΡΕΦΕΙ ΕΠΙΒΛΑΒΗΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ - ΣΥΜΒΑΛΛΕΙ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΟΙΝΩΝ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΕΝΟΙ ΜΕ ΣΤΙΛΒΕΝΙΑ	- ΜΙΚΡΟΤΕΡΗ Η ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΤΟΥΣ ΕΓΧΡΩΜΟΥΣ ΟΙΝΟΥΣ
ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ	-ΚΑΤΑΣΤΡΕΦΕΙ ΕΠΙΒΛΑΒΗΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ	- ΘΕΛΕΙ ΠΟΛΥ ΠΡΟΣΟΧΗ Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ, ΓΙΑΤΙ ΑΝΤΙ ΝΑ ΜΕΙΩΣΕΙ, ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΑΥΞΗΣΕΙ ΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ENZYMΩΝ

#### 1.5.2.4 Ερευνώμενες ουσίες φυσικής προελεύσεως

Υπάρχουν πολλές άλλες ενώσεις εκτός της λυσοζύμης που εκτιμούνται και

αξιολογούνται. Οι ουσίες αυτές περιλαμβάνουν τις μαννοπρωτεΐνες, τις ταννίνες γενικά τις φαινολικές ενώσεις και τις βακτηριοσίνες. Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται οι κυριότερες προσθετικές ενώσεις και τα χαρακτηριστικά τους (Santos et al., 2012).

Μαννοπρωτεΐνες (mannoproteins). Οι μαννοπρωτεΐνες είναι πολυσακχαρίτες, συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος της ζύμης, *Saccharomyces cerevisiae* (Εικόνα 22). Μελετήθηκαν τρεις διαφορετικές ποικιλίες (Touriga Nacional, Alfrocheiro & Aragônes) ειδικά για τη δράση των μαννοπρωτεϊνών στη σταθερότητα των ταννινών. Βρέθηκαν ικανοποιητικές ενδείξεις ότι προλαμβάνουν την κρυστάλλωση των τρυγικών αλάτων και της σταθεροποίησης του χρώματος του κρασιού. Όμως και στους λευκούς οίνους, μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν, ότι παίζουν μεγάλο ρόλο στη χημική σύνθεση και δομή. Ενεργούν ως ένα προστατευτικό κολλοειδές το οποίο καλύπτει την επιφάνεια των τρυγικών κρυστάλλων (Marques, 2010, Rodriguez et al., 2012). Οι μαννοπρωτεΐνες διακινούνται στο εμπόριο από την εταιρεία Laffort Oenologie με το εμπορικό σκεύασμα MannoSprab. Η εφαρμογή του γίνεται πριν την εμφιάλωση. Το κύριο μειονέκτημα των μαννοπρωτεϊνών είναι ότι η δράση της είναι μεμονωμένης λειτουργικότητας. Η αποτελεσματικότητά της είναι προσωρινή και όχι μακροπρόθεσμη (Browyer and Moine-Ledoux, 2007).

Λυσοζύμη. Η λυσοζύμη (lysozyme) (Εικόνα 23) είναι ένζυμο που εξάγεται από το ασπράδι του αυγού. Είναι η πιο συνηθισμένη υποκατάστατη τεχνική για την καταπολέμηση των βακτηρίων. Δεν έχει καθόλου αποτελεσματική δράση στα οξικά βακτήρια, ούτε στους σακχαρομύκητες. Αντιθέτως, έχει μεγάλη αντισηπτική δράση έχει έναντι των γαλακτικών οξέων. Μειώνει σημαντικά τον πληθυσμό των βακτηρίων ακόμα και μετά την έναρξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Η δραστηριότητά της είναι μεγαλύτερη σε μεγάλα pH. Μελέτες έχουν δείξει ότι συμβάλλει στη μείωση των οσμών που οφείλονται στην ύπαρξη πτητικών οξέων (Sonni et al., 2009). Στην ερυθρή οινοποίηση έχει διαπιστωθεί, ότι με την καθυστέρηση προσθήκης του διοξειδίου του θείου και της προσθήκης λυσοζύμης, εξασφαλίζεται η σταθερότητα του κόκκινου χρώματος (Ribéreau – Gayon et al, 2006). Η λειτουργικότητα της λυσοζύμης δεν εκφράζεται με τον ίδιο τρόπο σε όλους τους τύπους οίνων. Σε λευκούς οίνους, η αποτελεσματικότητας είναι πολύ μεγαλύτερη σε σύγκριση των ερυθρών οίνων όπου είναι μικρότερη. Η μειωμένη αποτελεσματικότητας της λυσοζύμης στους ερυθρούς οίνους οφείλεται στο μεγάλο ποσοστό συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων. Οι οινολογικές φαινόλες εμποδίζουν τη δράση του ενζύμου, μουραμιδάσης, της λυσοζύμης που έχει την ιδιότητα να ενεργεί ως ήπιο αντιμικροβιακό μέσο. (Cuzzo et al., 2011, Azzolini et al.,

2005).

Φαινολικές ενώσεις. Οι πολυφαινόλες αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη ομάδα ενώσεων που εντοπίζονται στα σταφύλια και στο κρασί. Οι πολυφαινόλες βρίσκονται σε πλούσιες ποσότητες στις έγχρωμες ποικιλίες. Οι προστατευτικές, αντισηπτικές ιδιότητές τους περιγράφονται από νωρίς του έτους 1930. Μελέτες έχουν δείξει πόσο σημαντική είναι η προσθήκη τους κατά την οινοποίηση, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρασιού προσφέροντάς του πρόσθετη σταθερότητα του χρώματος, της γεύσης και του αρώματος. Σημαντικές είναι οι αλληλεπιδράσεις των φαινολών με τις ζύμες. Μερικές από τις φαινόλες που έχουν μελετηθεί είναι το ασκορβικό οξύ, οι τανίνες και γενικότερα ενώσεις της υποομάδας των αντιοξειδωτικών (König et al., 2009).

Ασκορβικό οξύ. Το ασκορβικό οξύ η βιταμίνη C (AA- Ascorbic Acid) είναι το κύριο πρόσθετο μέσο στην βιομηχανική οινοποίηση εδώ και καιρό. Είναι πολύ ισχυρό αντιοξειδωτικό και μάλιστα ισχυρότερο από το SO<sub>2</sub>, κατά 1700 φορές. Ο τρόπος λειτουργίας του είναι όμοια με εκείνης του SO<sub>2</sub> με τη διαφορά πως έχει έμμεση αντίδραση με το οξυγόνο. Αντιδρά με το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) και παράγει φαινολικά παράγωγα όπως το κινναμωμικό οξύ, το καφεϊκό οξύ και το caftaric οξύ. Στην αρχή δρα δραστικά, όμως στη συνέχεια ενεργεί ως προ- οξειδωτικό, δηλαδή να προκαλέσει οξειδωτικό στρες. Η προσθήκη του ασκορβικού οξέος στο κρασί παραμένει αμφιλεγόμενη. Για το λόγο τούτον, χρησιμοποιείται ως συμπληρωματικό αντιοξειδωτικό συντηρητικό με το SO<sub>2</sub>, σε αναλογία 1:1 (Bradshaw et al., 2011, Bradshaw et al, 2003, Peng et al., 1998).

Τανίνες. Η χρήση ως προσθετικών ουσιών, οι τανίνες, στην οινολογία ιδιαίτερα στην παραγωγή ερυθρών ποικιλιών δεν ήταν και τόσο ενθαρρυντικές. Σε κρασιά Merlot, Cabernet και Sauvignon προστέθηκαν υδρολυμένες τανίνες σε διάφορες συγκεντρώσεις για να μελετηθούν οι επιπτώσεις της προσθήκης αυτής στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων κρασιών. Τα αποτελέσματα έδειξαν αλλοιώσεις στις οργανοληπτικές ιδιότητες σε μεγάλο βαθμό με ανάλογες αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα. Συνιστάται μόνο η χρήση αυτών των προσθετικών ουσιών σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Επιπλέον, μια αυξημένη παραγωγή των εκχυλισμένων ταννινών έχει πολύ μεγάλο κόστος γεγονός που καθιστά τη μέθοδο αυτή οικονομικά ασύμφορη για την οινολογική βιομηχανία (Harbertson et al., 2012).

Αντιοξειδωτικές ουσίες. Μια μελέτη έδειξε θετικά αποτελέσματα στη μειωμένη χρήση του διοξειδίου του θείου. Η μελέτη αυτή, διεκπεραιώθηκε σε μια περίοδο επτά μηνών,

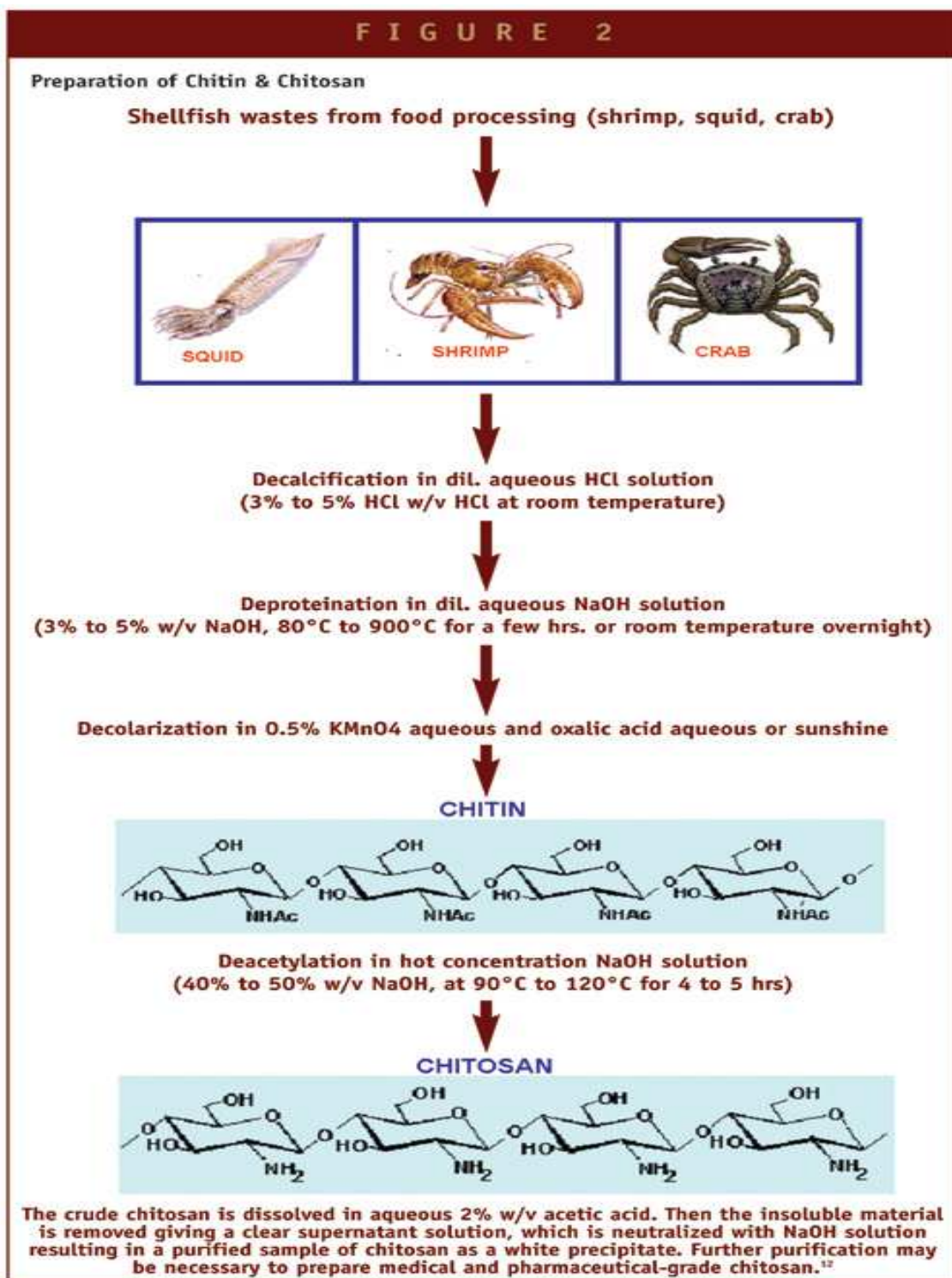
η οποία αποσκοπούσε την προστασία ή τη διόρθωση των οσμών των πτητικών οξέων. Εστίαζε την προσοχή της αντικατάστασης του θειώδους κατά τη αποθήκευση λευκών οίνων, με προσθήκη καφεϊκού οξέος ή γλουταθειόνης ή μείγμα αυτών με μειωμένη ποσότητα θειώδους. Δοκιμάστηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις για να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητά τους ενάντια σε πτητικές ενώσεις, όπως των οξικών εστέρων, αιθυλοεστέρων, τερπενίων και λιπαρών οξέων. Μετά από αξιολόγηση τα αποτελέσματα ήταν εντυπωσιακά. Όχι μόνο διατήρησαν μειωμένες τις συγκεντρώσεις των πτητικών ενώσεων αλλά είχαν μεγαλύτερο εύρος προστασίας από ότι το θειώδες (Roussis et al., 2007).

Αφυδατωμένοι φλοιοί σταφυλιών. Με σκοπό να μειωθεί η ποσότητα προσθήκης θειώδους σε στάδιο για την εκχύλιση φαινολών σε οινοποίηση ροζέ κρασιών, διεξήγαγαν μελέτες για τη χρήση των στέμφυλων ως πρόσθετο. Χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικοί τύποι λευκού κρασιού για την παραγωγή ροζέ. Τα αποτελέσματα των μελετών ήταν πολύ ενθαρρυντικά όσον αφορά στην εκχύλιση των φαινολών και ιδιαίτερα των ανθοκυανινών. Με την άμεση προσθήκη αφυδατωμένων φλοιών σταφυλιών επιτεύχθηκαν ισοδύναμα χαρακτηριστικά με τους εμπορικούς ροζέ οίνους. Το αξιόλογο είναι η διατηρησιμότητα των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των ροζέ οίνων μετά από τρεις μήνες αποθήκευσης (Pedroza et al., 2011).

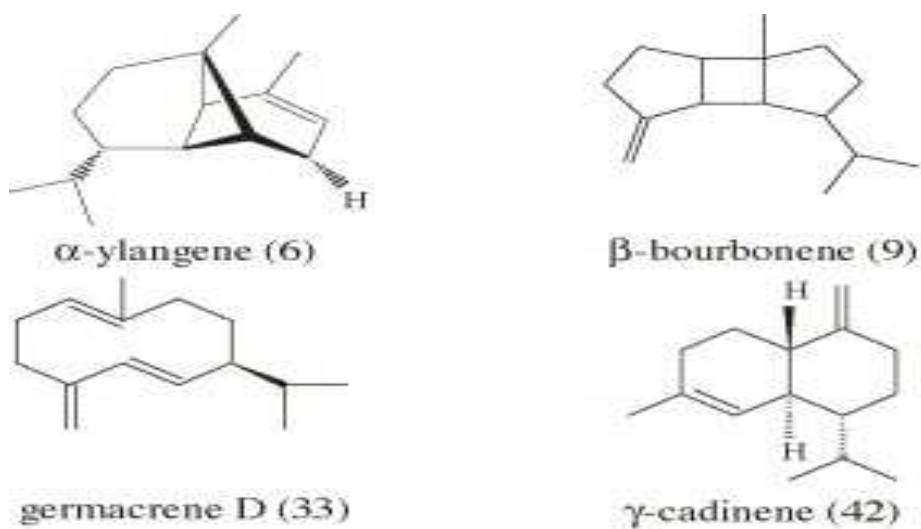
Βακτηριοσίνες. Βακτηριοσίνες είναι μικροπεπτίδια που παράγονται από τα γαλακτικά οξέα τροφίμων. Επηρεάζουν αρνητικά, σημαντικά τον πληθυσμό των βακτηρίων Gram+. Μερικά από αυτά είναι η νισίνη, η πεδιοκίνη και πιανταρισίνη. Στην Εικόνα 24 απεικονίζεται η δράση τριών βακτηριοσίνων στα βακτήρια, μετατρέποντάς τα ευάλωτα. Δρουν πάνω στην κυτταρική μεμβράνη των βακτηρίων. Τα μειονεκτήματά τους είναι ότι είναι αναποτελεσματικά κατά των Gram- βακτηρίων και δεν επηρεάζουν ούτε την ανάπτυξη των ζυμών. Τα πλεονεκτήματά τους είναι πως δεν είναι τοξικά και είναι άοσμα και άχρωμα (Cotter et al., 2005, Santos et al., 2012). Παρόλα αυτά, οι βακτηριοσίνες δεν έχουν εγκριθεί ακόμα. Παραμένει, όμως, θέμα έρευνας για την κοινή προσθήκη με το διοξείδιο του θείου σε οινοποιήσεις (Santos et al, 2012).

**Πίνακας 5.** Τα πλεονεκτήματα & τα μειονεκτήματα των σημαντικότερων, ερευνώμενων, φυσικής προελεύσεως, προσθετικών ενώσεων στην οινοποίηση.

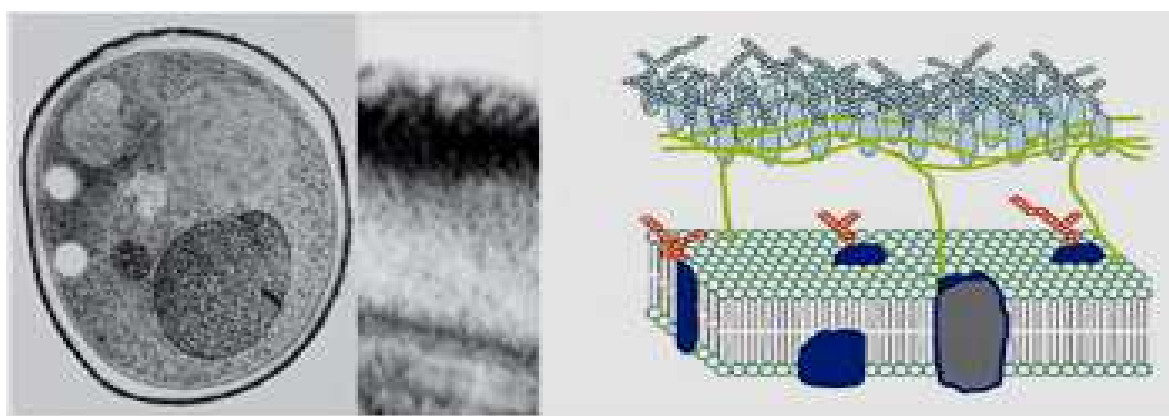
Φυσικής προελεύσεως προθετικές ουσίες	Πλεονεκτήματα μεθόδου	Μειονεκτήματα μεθόδου
Λυσοζύμη	<ul style="list-style-type: none"> <li>- αντιβακτηριδιακή δράση</li> <li>-ελέγχει τη μηλογαλακτική ζύμωση</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- μηδενική δράση εναντίον των ζυμών &amp; ελάχιστη εναντίον των Gram(-) βακτηρίων</li> <li>- αδρανοποιείται στους ερυθρούς οίνους</li> <li>- δημιουργεί θόλωμα στον οίνο</li> </ul>
Φαινολικές ενώσεις	<ul style="list-style-type: none"> <li>- αντιβακτηριδιακή δράση</li> <li>- αντιοξειδωτική δράση</li> <li>- θετικές επιδράσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- μπορούν να έχουν αρνητικές επιδράσεις στο χρώμα και στη γεύση</li> </ul>
Βακτηριοσίνες	<ul style="list-style-type: none"> <li>- αντιβακτηριδιακή δράση</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- δεν έχουν καμιά επίδραση στις ζύμες</li> </ul>



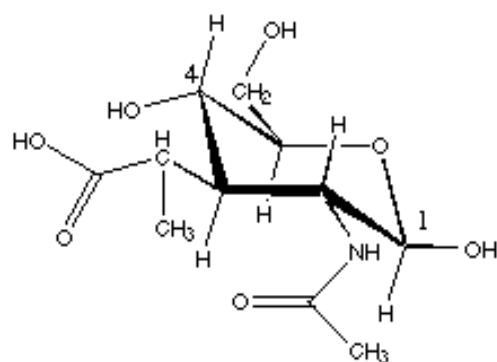
*Εικόνα 20. Η διαδικασία παραγωγής της χιτοζάνης (Patel, 2005).*



**Εικόνα 21.** Διάφορα είδη (Coelho et al., 2005).

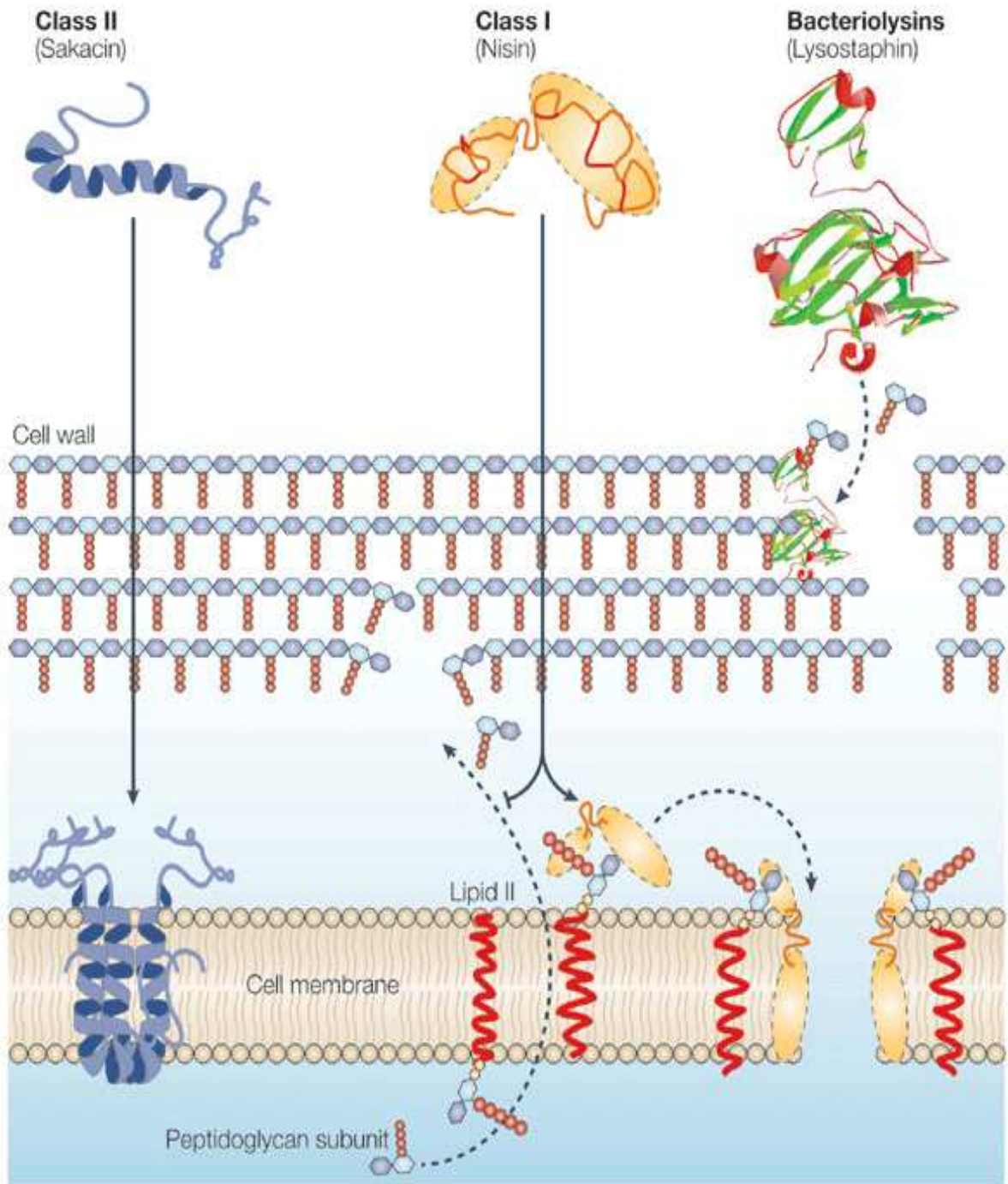


**Εικόνα 22.** Mannoproteins (Marques, 2010).



**Εικόνα 23.** Η δομή της λυσοζύμης (Middleburg College, 2012).





Copyright © 2005 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Microbiology

**Εικόνα 24.** Βακτηριοσίνες που επεμβαίνουν σε κυτταρική μεμβράνη βακτηρίου (Cotter et al., 2005).

### 1.5.3 Καινοτομικές έρευνες των ελληνικών ιδρυμάτων

Το Ελληνικό Ινστιτούτο Οίνου, Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (Ε.Θ.Ι.Α.Γ.Ε.) συνεργάστηκε με το τμήμα Οινολογίας και Ποτών, του Τ.Ε.Ι. Αθηνών για τη διερεύνηση ενός καινοτόμου σκευάσματος ως πρόσθετο μέσο σε ερυθρή οινοποίηση. Η παραγωγή του σκευάσματος έγινε με μη τοξική διαδικασία, του οποίου το περιεχόμενο αποτελείται κυρίως από εκχύλισμα μαύρου ραπανιού (*Raphanus niger*) και ασκορβικού οξέος. Το είδος του μαύρου ραπανιού χρησιμοποιούταν από παλιά στην παραδοσιακή ιατρική ως φάρμακο και δεν άργησε να ανακαλύψουν οι επιστήμονες για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητές του. Η μελέτη αυτή έγινε κατά το έτος 2005 σε τέσσερις διαφορετικές κόκκινες οινοποιήσεις. Ο βασικός στόχος ήταν η αξιολόγηση της χρήσης αυτού του σκευάσματος ως εναλλακτικό αντιοξειδωτικό προϊόν στην ερυθρή οινοποίηση. Οι επεμβάσεις έγιναν σε παρτίδες του κόκκινου κρασιού με προσθήκη του σκευάσματος μαζί με θειώδες και μόνο του. Αργότερα αξιολογήθηκαν βάσει ποιοτικών παραμέτρων όπως το χρώμα, την περιεκτικότητα σε φαινόλες, την αντιοξειδωτική δράση και κλασσικών οινολογικών παραμέτρων. Τα αποτελέσματα δεν ήταν τα αναμενόμενα. Δεν παρατηρήθηκε καμιά αξιολογική αντιοξειδωτική συμπεριφορά. Ωστόσο, η συμπεριφορά του σκευάσματος έδωσε ενδείξεις μερικής υποκατάστασης του διοξειδίου του θείου και δυνατότητα παραγωγής αποδεκτών εμπορικών κόκκινων ξηρών κρασιών (Salaha et al., 2008).

Μια έρευνα που χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας & Τεχνολογίας (Γ.Γ.Ε.Τ.) και ονομάστηκε Περιφερειακό Επιχειρησιακό Πρόγραμμα Κρήτης (Π.Ε.Π.) τα έτη 2004-2006, βασιζόταν στη μελέτη των φυσικών εκχυλισμάτων Vitosan και Oleosan. Η μελέτη αυτή αναπτύχθηκε με τη συνεργασία του εργαστηρίου Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Φυτών του Τ.Ε.Ι. Κρήτης (PBBL- Plant Biochemistry & Biotechnology), που ήταν και ο συντονιστής του προγράμματος, και του εργαστηρίου Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (Ε.Κ.Π.Α.).

Το Vitosan είναι ένα σκεύασμα πλούσιο σε ρεσβερατρόλη κι άλλα αντιοξειδωτικά του αμπελιού. Η προέλευσή της είναι από ερευνητικό πρόγραμμα του εργαστηρίου Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Φυτών του Τ.Ε.Ι Κρήτης. Η διαδικασία παρασκευής του Vitosan, ήταν ο εξής:

1. Συλλογή φυτικού υλικού από στέμφυλα ως αποβλήτων οινοποίησης διαφόρων κόκκινων ποικιλιών, με πλειοψηφία κρητικών ποικιλιών, κυρίως τις οινοποιήσιμες ποικιλίες

Μαλβαζιάς και Κοτσιφάλι. Οι ποικιλίες, Μαλβαζιά και Κοτσιφάλι, επιλέχθηκαν γιατί χαρακτηρίζονται από την υψηλή περιεκτικότητα αντιοξειδωτικών ουσιών. Όμως, σε μεγαλύτερη αναλογία των στέμφυλων περιέχονταν στέμφυλα λευκών ποικιλιών.

2. Ξήρανση και εκχύλιση με διαλύτες αυξημένης πολικότητας (διχλωρομεθάνιο/ μεθανόλη/ νερό)

Στο εργαστήριο PBBL του ΤΕΙ Κρήτης, στην πρώτη εκχύλιση πάρθηκε ένα αιθανολικό εκχύλισμα. Ακολούθησε η κατεργασία του διαλύματος με άλλους διαλύτες από το Ε.Κ.Π.Α και παράχθηκε ένα εμπλουτισμένο σε πολυφαινόλες αλκοολικό κλάσμα. Μετά τη χρήση αναλυτικών οργάνων υγρής χρωματογραφίας, έγινε η απομόνωση φυσικών αντιοξειδωτικών ουσιών της αμπέλου, όπου καταμετρήθηκαν τα επίπεδα των φυσικών μεταβολιτών όπως η κερκετίνη, βινιφερίνη, κατεχίνη και επικατεχίνη. Έπειτα, από ανάλυση του κλάσματος, διαπιστώθηκε σημαντική ποσότητα trans-RES. Στο εκχύλισμα αυτό δόθηκε η επωνυμία Vitosan. Η χρήση της απόβλεπε στον έλεγχο φυτοπαθογόνων που αφορούν το αμπέλι, για παράδειγμα το μύκητα *Botrytis cinerea*. Η λογική είναι ότι με την προσθήκη επιπλέον ποσότητα ρεσβερατρόλης, δίνεται μια φυσική βοήθεια στο φυτό από το ίδιο το φυτό (Γελασάκη, 2011).

Στο εργαστήριο PBBL του ΤΕΙ Κρήτης παρήχθη και το σκεύασμα Oleosan. Το Oleosan είναι ένα σκεύασμα που το βασικό του συστατικό είναι η ολευροπεΐνη (oleuropein) (Mavrakis, 2009). Η ολευροπεΐνη είναι ένα μια πολυφαινόλη, συστατικό του ελαιολάδου και χαρακτηρίζεται από υψηλή αντιοξειδωτική δράση (Omar, 2010). Η διαδικασία παρασκευής του Oleosan, ήταν η εξής:

1. Συλλογή φυτικού υλικού –φύλλα – από δέντρα ελιάς, *Olea europaea* var. Κορωνέικη. Οι ελιές άνηκαν σε έναν ελαιώνα ηλικίας 50- 60 χρονών, στο νησί της Κρήτης. Ο χρόνος συγκομιδής των φύλλων ήταν κατά τη διάρκεια των ετών 2005-2006.
2. Αποξήρανση και κονιοποίηση των φύλλων.
3. Εκχύλιση με τη χρήση διαλυτών (ακετόνη/  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH)
4. Αποξήρανση της ολευροπεΐνης (περιεκτικότητας 50-60%).
5. Χρήση αναλυτικών οργάνων υγρής χρωματογραφίας.
6. Απόκτηση ολευροπεΐνη καθαρότητας 99%.

Στο εκχύλισμα αυτό δόθηκε η επωνυμία Oleosan (Mavrakis, 2009). Εξετάστηκε η

δραστηριότητα της χρήσης του σκευάσματος Oleosan στον έλεγχο φυτοπαθογόνων που αφορούν το αμπέλι, για παράδειγμα το μύκητα *Botrytis cinerea*. Η λογική είναι ότι με την προσθήκη επιπλέον ποσότητα ολευροπεΐνης, δίνεται μια φυσική βοήθεια στο φυτό από μια ένωση φυτικής προελεύσεως.

Ωστόσο, ο τρόπος διεξαγωγής των ερευνών, η επιλογή των οινολογικών μεθόδων και πρακτικών πρέπει να τηρούν τις προϋποθέσεις, οι οποίες ορίζονται από τις νομοθεσίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Δε γίνονται αποδεκτά τα μέσα που μελετούνται που επιφέρουν τυχόν αλλοιώσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που προσφέρει η κάθε ποικιλία και την όποια αρνητική επίπτωση είτε προς τον άνθρωπο είτε προς το περιβάλλον. Είναι επιθυμητό η ανεύρεση μιας προσθετικής ουσίας ή μεθόδου ήπιας τεχνολογίας που μπορεί να εφαρμοστεί σε λευκή, ερυθρή και ροζέ οινοποίηση και στην παραγωγή αφρωδών οίνων.

## **1.6 Σκοπός της παρούσας Πτυχιακής Διατριβής**

Σκοπός της εργασίας είναι η διερεύνηση της δράσης των φυσικών αντικαταστατών του θειώδους ανυδρίτη σε λευκή οινοποίηση. Η έρευνα επεκτάθηκε από το μούστο, στην οινοποίηση έως και στη συντήρηση οίνου από λευκής ποικιλίας σταφύλια.

Η εργασία αυτή αποτελεί τη συνέχεια της πτυχιακής εργασίας της Γελασάκης Χρυσοβαλάντου Ε., φοιτήτριας του τμήματος φυτικής παραγωγής, με επιβλέποντα καθηγητή Βερβερίδη Φίλιππο, υπεύθυνο του εργαστηρίου Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Τ.Ε.Ι. Κρήτης. Η πτυχιακή εργασία της Γελασάκη πραγματοποιήθηκε τις χρονιές 2009-2010. Ο στόχος της πτυχιακής ήταν η καταπολέμηση και ο περιορισμός της εξάπλωσης του παθογόνου *Botrytis cinerea* με το σκεύασμα της Vitosan. Επιλέχθηκαν ισάριθμα πρέμνα ποικιλίας Δαφνί και Πλυτό του αμπελώνα βιολογικής καλλιέργειας, του ιδιοκτήτη κ. Λυραράκη, στο Αλάγνι του νομού Ηρακλείου. Σε αυτά τα πρέμνα εφαρμόστηκαν διάφορες συγκεντρώσεις χαλκούχου σκευάσματος και σκευάσματος Vitosan. Επίσης, κρατήθηκαν ίδιου αριθμού πρεμνών ανέπαφα από φυτοπροστατευτικά σκευάσματα και αποτέλεσαν το μάρτυρα. Ακολούθησαν προ-συλλεκτικές αξιολογήσεις σε συνθήκες αμπελώνα και μετα-συλλεκτικές αξιολογήσεις σε συνθήκες εργαστηρίου. Παρατηρήθηκε πως η συγκέντρωση 10% Vitosan ήταν η πιο δραστική. Οι υπόλοιπες συγκεντρώσεις, καθυστέρησαν την ανάπτυξη του μύκητα, όμως δεν τον παρεμπόδισαν οριστικά. Σε γενικές γραμμές, τα εμφανή αποτελέσματα για την αποδοτικότητα του σκευάσματος Vitosan, ήταν θετικά (Γελασάκη,

2011).

Η διερεύνηση της φυτοπροστατευτικής δράσης του σκευάσματος Vitosan στα σταφύλια οδήγησε την έρευνα για τη δράση του στην οινοποίηση. Έτσι, έγινε ο πειραματικός σχεδιασμός για τη μελέτη της δράσης του σκευάσματος Vitosan, αλλά και του Oleosan σε λευκή οινοποίηση. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε κατά τα έτη 2010 και 2011. Το πείραμα ξεκίνησε μετά από επεμβάσεις που έγιναν σε σταφύλια μόνο της ποικιλίας Πλυτό, για τη φυτοπροστατευτική δράση στη βοτρυτίδα. Αφού έγινε η συγκομιδή των σταφυλιών, τα σταφύλια συνθλίφθηκαν σε ένα μικρο-οινοποιείο στο Αλάγνι. Ο μούστος των σταφυλιών χωρίστηκε σε τρεις ομάδες ανάλογα με την πρόσθετη ουσία που τους δόθηκε (μεταμπισουλφίτ - Vitosan - Oleosan). Ο μούστος οδηγήθηκε άμεσα και μερικά δείγματα σταφυλιών ανά επέμβαση, στο αγρόκτημα του Τ.Ε.Ι. Κρήτης. Αρχικά, στο εργαστήριο Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, έγιναν φαινοτυπικές παρατηρήσεις των σταφυλιών για μια γενική αξιολόγηση της φυτοπροστατευτικής αποτελεσματικότητας των σκευασμάτων. Μελετήθηκε ο μούστος, προκειμένου να καθοριστεί η διακύμανση των συστατικών του και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του, που θα αποτελέσει τον αρχικό γνώμονα του πειράματος για την οινολογική αξιολόγηση. Ακολούθησαν, τα στάδια της οινοποίησης. Μετά από ένα μήνα, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες, οι οποίες υπέστη σε συνεχή εργαστηριακών αναλύσεων στο εργαστήριο Γεωργικών Βιομηχανιών. Τα αποτελέσματα συγκεντρώθηκαν και αξιολογήθηκαν για το αν τα σκευάσματα είναι ικανά για μερική ή ολική αντικατάσταση του θειώδους ανυδρίτη.

Την περίοδο των Χριστουγέννων 2010-2011, στο ψυκτικό θάλαμο όπου διαφυλάττονταν οι πειραματικοί οίνοι, έγινε ένα ατύχημα που προκάλεσε την ταχεία γήρανσή τους. Το πείραμα σχεδιάστηκε προς διαφορετική κατεύθυνση. Έλαβαν μέρος, μια σειρά χημικών αναλύσεων και η προσβολή δειγμάτων των πειραματικών οίνων με οξικά βακτήρια, αφού εμπλουτίστηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις με το σκεύασμα Vitosan. Στόχος ήταν η διερεύνηση της φυτοπροστατευτικής δράσης συγκεκριμένα του σκευάσματος Vitosan, αφού υπήρξαν θετικές ενδείξεις. Τέλος, όλα τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε πίνακες και στατιστικές απεικονίσεις, στη συνέχεια αξιολογούνται με κριτήρια σύγκρισης και της υπάρχουσας οινολογικής γνώσης.

## **2 ΥΛΙΚΑ**

### **2.1 Πείραμα 2010**

#### **2.1.1 Συγκομιδή σταφυλιών**

- 60 πρέμνα του αμπελώνα βιολογικής καλλιέργειας Λυραράκη (Εικ. 25)
- Ψαλίδια
- 16 Κλούβες

#### **2.1.2 Οινοποίηση**

- Αποβοστρυχωτής (Εικ. 26)
- Πιεστήριο (Εικ. 27)
- Νερό βρύσης
- 6 νταμιτζάνες χωρητικότητας 50l
- Ζυγαριά που μετράει μεικτό βάρος
- Μεταμπισουλφίτ & Σκεύασμα Vitosan
- Ταμπελάκια σήμανσης
- Ψυκτικό Θάλαμο



**Εικόνα 25.** Ο αμπελώνας βιολογικής καλλιέργειας Λυραράκη.



**Εικόνα 26.** Αποβοστρωχτής.



**Εικόνα 27.** Πιεστήριο.

### **2.1.3 Εργαστηριακές παρατηρήσεις/ αναλύσεις των σταφυλιών και του γλεύκους**

#### **2.1.3.1 Παρατηρήσεις της φυτοπροστατευτικής δράσης στα σταφύλια**

- Αντιπροσωπευτικά σταφύλια από κάθε χειρισμό
- Απορροφητικά χαρτιά

#### **2.1.3.2 Μελέτη της ωρίμανσης των σταφυλιών**

#### **2.1.3.3 Πολτοποίηση σταφυλιών – πρώτη ύλη**

- 20 ράγες σταφυλιών από κάθε επέμβαση
- Διάφανες πλαστικές σακούλες
- Ηλεκτρονική ζυγαριά ακριβείας
- Πλαστικό χωνάκι
- Τούλι
- Κωνικές φιάλες των 250 ml

#### **2.1.3.3.1 Μέτρηση σακχάρων του γλεύκους**

- Υδροβολέας με απιονισμένο νερό
- 1-2 σταγόνες χυμού σταφυλιού από τις κωνικές φιάλες
- Διαθλασίμετρο χειρός (μέτρηση σε Brix)

#### **2.1.3.3.2 Μέτρηση ολικής οξύτητας του γλεύκους**

- 10 ml μούστου ανά επέμβαση
- Προχομήδα των 10 ml
- Κωνική φιάλη των 250 ml
- Διάλυμα NaOH 0,1N
- Υδροβολέας με απιονισμένο νερό
- Σταγόνες δείκτη βρωμοθυμόλης (BBT), μιας ουσίας που αλλάζει το χρώμα σε pH 7.



#### **2.1.3.3.3 Μέτρηση ενεργής οξύτητας ή pH του γλεύκους**

- Δείγματα των μούστων
- Κωνικές φιάλες των 250 ml
- Πεχάμετρο τύπου Crison GLP 21

#### **2.1.3.3.4 Υπολογισμός των ολικών φαινόλων του γλεύκους**

- Δείγματα των μούστων
- Προχοοδα του 1ml
- Ογκομετρική φιάλη των 100 ml
- Μηχάνημα φασματοφωτόμετρου, μοντέλο Shimadzu uv-1700. Είναι φασματοφωτόμετρο υπεριώδους UV-VIS.
- Κυψελίδες χαλαζίου, πάχους 10mm
- Κυψελίδες γυάλινες G
- Απιονισμένο νερό

#### **2.1.3.3.5 Οργανοληπτική εξέταση του γλεύκους**

- Μπλέντερ ηλεκτρικό
- 20 ράγες σταφυλιών από κάθε επέμβαση
- Φυγόκεντρο
- 6 μεταλλικά δοχεία
- falcons
- Δοκιμαστικοί σωλήνες

#### **2.1.4 Εποπτεία ελεγχόμενης αλκοολικής ζυμώσεως**

##### **2.1.4.1 Εμβολιασμός με καθαρή ζύμη**

- Νταμιτζάνες με το μούστο
- Σκεύασμα Actiflore Bayanus (code: BO 213), που περιέχει στελέχη της ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* var. *Bayanus*

- Ζάχαρη
- Νερό απιονισμένο, θερμοκρασίας των 40 °C
- 6 γυάλινα δοχεία
- Ηλεκτρονική ζυγαριά ακριβείας

#### **2.1.4.2 Έλεγχος των αναγόντων σακχάρων**

- ένα θερμόμετρο Brannan, βαθμολογημένο στους 110°C,
- έναν ογκομετρικό σωλήνα των 250 cm<sup>3</sup> και
- ένα αραιόμετρο Dujardin- Sallton, εκφρασμένο σε βαθμούς Baumé.

#### **2.1.5 Μετάγγιση**

- έξι καινούρια γυάλινα δοχεία των 50l, αφού υπέστη καθαρισμός με καυτό νερό και στέγνωσαν,
- ένα αλφαδολάστιχο μικρής διατομής,
- κομμάτια τούλι ελάχιστου μεγέθους τετραγωνικών τρυπών και
- λαστιχάκια

#### **2.1.6 Εμφιάλωση**

- Νταμιτζάνες με το κρασί
- 133 γυάλινες φιάλες, σκούρας πράσινης απόχρωσης
- Καυτό νερό
- Αλφαδολάστιχο, αφού απολυμάνθηκε με καυτό νερό,
- Τούλι
- Λαστιχάκια
- Πώματα φελλού
- Χειροκίνητο πωματιστικό μηχάνημα
- Ετικέτες

### **2.1.7 Συντήρηση**

- Θάλαμος ψύξης, στις εγκαταστάσεις του αγροκτήματος του ΤΕΙ Κρήτης (Εικ. 28)
- Σύστημα ρύθμισης της θερμοκρασίας-κλιματιστικό

## **2.2 Πείραμα 2011**

### **2.2.1 Αναλύσεις & Μετρήσεις των πειραματικών οίνων κατά τη συντήρηση**

#### **2.2.1.1 Οργανοληπτική εξέταση των πειραματικών οίνων**

- 200 ml από κάθε τύπο πειραματικού κρασιού
- 6 Ογκομετρικοί κύλινδροι των 250 ml

#### **2.2.1.2 Μέτρηση ολικής οξύτητας των πειραματικών οίνων**

- 10 ml οίνου ανά επέμβαση
- Προχοοδα των 10 ml
- Κωνική φιάλη των 250 ml
- Διάλυμα NaOH 0,1N
- Υδροβολέας με απιονισμένο νερό
- Σταγόνες δείκτη βρωμοθυμόλης (BBT), μιας ουσίας που αλλάζει το χρώμα σε pH 7.

#### **2.2.1.3 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων**

- Αποστακτική συσκευή με ρεύμα υδρατμών
- Ένα μπουκάλι από κάθε επέμβαση
- Φιάλη βρασμού των 500ml
- Κωνική φιάλη των 250 ml
- Διάλυμα NaOH 0,1N
- Δείκτη φαινολοφθαλείνης 1%

- Υδροβολέας με απιονισμένο νερό

#### **2.2.1.4 Μέτρηση αλκοολικού τίτλου αποστάγματος των πειραματικών οίνων**

- Ποσότητα 250ml αποστάγματος οίνου από κάθε χειρισμό
- Ένα θερμόμετρο Brannan, βαθμολογημένο στους 110°C,
- Έναν ογκομετρικό σωλήνα των 250 cm<sup>3</sup> και .
- Ένα αλκοολόμετρο Dujardin- Salleron

#### **2.2.1.5 Οργανοληπτική εξέταση των οίνων κατά τη συντήρηση**

- Ένα μπουκάλι κρασί από τον κάθε χειρισμό
- 6 ογκομετρικοί κύλινδροι των 250ml

#### **2.2.1.6 Προσδιορισμός ολικού SO<sub>2</sub>**

- Δείγματα οίνων, ο Μάρτυρας με θειώδες, το Vitosan με θειώδες και το Oleosan με θειώδες
- Διάλυμα ιωδίου N/50
- Τιτλοδοτικός σωλήνας
- Σιφόνιο των 50 ml
- Κωνική φιάλη των 250 ml
- 25cc διαλύματος KOH 1N
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 20cc
- Δείκτη αμύλου 1%, 2cc
- 10ml διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% v/v

#### **2.2.1.7 Προσδιορισμός ελεύθερου SO<sub>2</sub>**

- Ογκομέτρηση διαλύματος οίνου με διάλυμα ιωδίου N/50.

- Δείγματα και των τριών διαλυμάτων των οίνων, Μάρτυρας με θειώδες, Vitosan με θειώδες και Oleosan με θειώδες
- Κωνική φιάλη των 250ml
- Σιφόνιο των 50ml
- 5cc H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% κατ' όγκο
- 2cc δείκτης αμύλου 1%.

#### **2.2.1.8 Υπολογισμός της θολερότητας των πειραματικών οίνων**

- Δείγματα οίνων του κάθε χειρισμού
- Φορητού φωτόμετρου, τύπου Hanna HI93703
- Γυάλινα φιαλίδια
- Απορροφητικό πετσετάκι

#### **2.2.2 Πείραμα: Εμβολιασμός δειγμάτων των πειραματικών οίνων με οξικά βακτήρια**

##### **2.2.2.1 Ενεργοποίηση των οξικών βακτηρίων**

- Ξύδι εμπορίου, του οποίου η προέλευση είναι η Ένωση Ηρακλείου
- Υγραντήρας (Εικ. 29)
- 3 καθαρές κωνικές φιάλες Duran Schott
- Θερμόμετρο Brannan, βαθμολογημένο στους 110°C,
- Απιονισμένο νερό
- Βαμβάκι

##### **2.2.2.2 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σακχάρων του ζυδιού**

- Ξύδι εμπορίου
- ένα θερμόμετρο Brannan, βαθμολογημένο στους 110°C
- έναν ογκομετρικό σωλήνα των 250 cm<sup>3</sup> και

- ένα αραιόμετρο Dujardin- Sallton, εκφρασμένο σε βαθμούς Baumé.


### **2.2.2.3 Προσδιορισμός περιεκτικότητας οξικών οξέων του ζυδιού**

- Ορθοστάτης με προχομήδα
- Κωνική φιάλη των 250 ml
- Σιφόνιο των 10 ml
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 100 ml
- Πρότυπο διάλυμα NaOH 0,1N
- Ξύδι εμπορίου
- Δείκτης φαινολοφθαλεΐνης
- Υδροβολέας με απιονισμένο νερό

### **2.2.2.4 Προετοιμασία δειγμάτων των πειραματικών οίνων για το εμβολιασμό τους**

- 2 μπουκάλια ανά πειραματικοί οίνοι
- 24 κωνικές φιάλες των 250 ml
- Φίλτρα 125mm  $\varnothing$  Whatman<sup>®</sup>
- Προχομήδα των 50ml
- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 250 ml
- Πλαστικά χωνιά
- Ξύδι εμπορίου
- Βαμβάκι
- Ετικέτες
- Χάρτινη κούτα
- Συσκευή ανακίνησης, τάραχτρο
- Ηλεκτρικό θερμομέτρο τύπου Quartz
- Ψυκτικός θάλαμος του εργαστηρίου Γεωργικών Βιομηχανιών

#### **2.2.2.5 Υπολογισμός των δοσολογιών του σκευάσματος Vitosan**

- Σκεύασμα Vitosan
- Ηλεκτρονική ζυγαριά ακριβείας, με προέλευση κατασκευής 
- Κουταλάκι δειγματοληψίας
- Πλαστικές κάψουλες μιας χρήσεως

#### **2.2.2.6 Εργαστηριακές αναλύσεις στα δείγματα**

##### **2.2.2.6.1 Προσδιορισμός ολικής οξύτητας των δειγμάτων**

Έγινε χρήση υλικών ακριβώς αυτών που περιγράφονται στην υποενότητα 3.2.1.2.

##### **2.2.2.6.2 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας των δειγμάτων**

Έγινε χρήση υλικών ακριβώς αυτών που περιγράφονται στην υποενότητα 3.2.1.3.

##### **2.2.2.6.3 Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου αποστάγματος των δειγμάτων**

Έγινε χρήση υλικών ακριβώς αυτών που περιγράφονται στην υποενότητα 3.2.1.4.



**Εικόνα 28.** Οι πειραματικοί οίνοι ταξινομημένοι μες το θάλαμο ψύξης του αγροκτήματος του ΤΕΙ Κρήτης.



**Εικόνα 29.** Το φορητό φωτόμετρο, τύπου Hanna HI93703, εν ώρα μέτρηση δείγματος πειραματικού οίνου.



## 3 ΜΕΘΟΔΟΙ

### 3.1 Πείραμα 2010

#### 3.1.1 Συγκομιδή σταφυλιών

Ο τρύγος πραγματοποιήθηκε τις πρωινές ώρες σε διάστημα δύο ημερών. Τα σταφύλια κοβόντουσαν με μαχαίρι μαζί με τον ποδίσκο, επίσης συνοδεύονταν από εργασίες όπως:

- Απομάκρυνση ξένων υλών (φύλλα, κομμάτια ξύλου)
- Απομάκρυνση σαλιγκαριών, φαγωμένες ράγες από πουλιά
- Απομάκρυνση ραγών προσβεβλημένων με την τέφρα σήψη

Τα σταφύλια μαζεύονταν σε κλούβες. Έγινε ο χωρισμός τους σε τρεις ομάδες, σύμφωνα με τον οποίο θα ακολουθηθεί και στο μούστο:

1. Μάρτυρας και χαλκούχα (από εφαρμογή χαλκούχου σκευάσματος Fuegoopper, υδατοδιαλυτός οξυγλωριούχος χαλκός σε αναλογία 5ml/ l, με προστατευτική δράση, της εταιρίας βιολογικών σκευασμάτων Crowmore)
2. Vitosan (μαζί των συγκεντρώσεων των 10% και 5%)
3. Oleosan (μαζί των συγκεντρώσεων των 5% και 2%)

### **3.1.2 Οινοποίηση**

Οι γεμισμένες κλούβες μεταφέρθηκαν γρήγορα στο μικροοινοποιητήριο, όπου με τις ακόλουθες διαδικασίες παραλήφθηκε το γλεύκος τους:

- Ομαδοποίηση των σταφυλιών σε τρεις επεμβάσεις: 1. Μάρτυρας & Χαλκούχα, 2. Vitosan (συγκεντρώσεων 10% & 5%) και 3. Oleosan (συγκεντρώσεων 5% & 2%).
- Αποβοστρυχωποίηση και έκθλιψη σταφυλιών ανά επέμβαση τη φορά – ενδιάμεσα των εφαρμογών των επεμβάσεων καθαρισμός του πιεστηρίου με τρεχούμενο νερό βρύσης – με την εξής σειρά: Μάρτυρας- Χαλκούχα, Vitosan και τέλος Oleosan.
- Γέμισμα των νταμιτζάνων με το μούστο
- Ζύγιση. Έτσι πρώτα μετρήθηκε μια άδεια νταμιτζάνα και μετά ζυγίστηκαν οι γεμισμένες από τις οποίες αφαιρέθηκε το απόβαρο για να υπολογιστεί το καθαρό βάρος έτσι ώστε να υπολογίσουμε το ποσό της προστιθέμενης ουσίας
- Προσθήκη στις μισές νταμιτζάνες με μεταμπισουλφίτ & τις λοιπές με σκεύασμα Vitosan.

Προστέθηκε θειώδες σε αναλογία 5gr θειώδες ανά 100l μούστου. Η φιλοσοφία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό του προστιθέμενου ποσού Vitosan σε ποσότητα μούστου ήταν προσεγγιστική για την απόκτηση οποιαδήποτε ένδειξη θετικής δράσης του.

Επομένως, προστέθηκαν προσεγγιστικά κατά 10% στα 100l μούστο. Συγκεκριμένα, προστέθηκε 15gr Vitosan στο A δοχείο του μάρτυρα/χαλκούχα, 15gr Vitosan στο A δοχείο του Vitosan και 25gr Vitosan στο A δοχείο του Oleosan

- Σήμανση των νταμιτζάνων. Χρησιμοποιήθηκαν ταμπελάκια στα οποία αναγράφηκαν το όνομα της ομάδας του μούστου και της προσθετικής ουσίας τους.
- Μεταφορά των νταμιτζάνων στο ψυκτικό θάλαμο του εργαστηρίου Αμπελουργίας, στο αγρόκτημα του ΤΕΙ Κρήτης. Διατηρείται σε θερμοκρασία +2°C για ένα 24ωρο, για να γίνει η στατική απολάσπωση

### **3.1.3 Εργαστηριακές παρατηρήσεις/ αναλύσεις των σταφυλιών & του γλεύκους**

#### **3.1.3.1 Παρατηρήσεις της φυτοπροστατευτικής δράσης στα σταφύλια**

- Τοποθέτηση των σταφυλιών σε απορροφητικά χαρτιά ανά χειρισμό

- Παρατηρήσεις ανά τεταρτημόριο τσαμπιού

### **3.1.3.2 Μελέτη της ωρίμανσης των σταφυλιών**

#### **3.1.3.2.1 Πολτοποίηση σταφυλιών – πρώτη ύλη**

- Ζύγισμα των 20 ραγών ανά επέμβαση
- Συμπίεση των ραγών δια χειρός μέσα στις σακούλες
- Απομάκρυνση των στερεών συστατικών του χυμού, με τη βοήθεια του τούλι
- Τοποθέτηση του χυμού, με τη βοήθεια χωνιού στις κωνικές φιάλες

#### **3.1.3.2.2 Μέτρηση σακχάρων του γλεύκους**

- Ρύθμιση του διαθλασιμέτρου στους 20 °C.
- Τοποθέτηση αποσταγμένου νερού θερμοκρασίας 20 °C στην επιφάνεια του πρίσματος,
- Κατεύθυνση του οργάνου στο φως για να φωτίσει τη βαθμολογημένη κλίμακα
- Χρήση του ρυθμιστικού κοχλία ώστε να φέρει την ένδειξη 0.
- Τοποθέτηση 1 με 2 σταγόνες γλεύκους.
- Απευθείας δίνεται η ένδειξη της περιεκτικότητας του γλεύκους σε σάκχαρο.
- Η περιεκτικότητα των σακχάρων του γλεύκους υπολογίζεται σε σάκχαρο κατά βάρος, όπου 1 Brix = 1% σακχάρου κατά βάρος = 1 gr/ 1 ρυθμισμένο σε θερμοκρασία 20 °C.
- Όταν το μετρούμενο γλεύκος έχει θερμοκρασία μεγαλύτερη ή μικρότερη των 20°C, γίνεται διόρθωση του αποτελέσματος, με πρόσθεση ή αφαίρεση 0,2% ανά τρεις βαθμούς διαφοράς.

#### **3.1.3.2.3 Μέτρηση ολικής οξύτητας του γλεύκους**

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για όλα τα δείγματα είναι η εξής:

- Τοποθέτηση δείγματος μούστου 10 ml σε κωνική φιάλη των 250 ml.
- Προσθήκη 25ml απιονισμένου νερού.

- Προσθήκη 4- 5 σταγόνες BBT.
- Γέμισμα της προχοΐδας με διάλυμα NaOH 0,1N.
- Τοποθέτηση της κωνικής φιάλης με το δείγμα ακριβώς κάτω από την προχοΐδα με συνεχής ανάδευσή της.
- Σταγόνα-σταγόνα NaOH 0,1N πέφτει στην κωνική φιάλη και εξουδετερώνει τα οξέα του μούστου.
- Με την αλλαγή και σταθεροποίηση του χρώματος μπλε, σταματά η ογκομέτρηση.

Η ολική οξύτητα εκφράζεται σε gr τρυγικού οξέος/ l από τον τύπο:

$$\text{Ολική οξύτητα} = \frac{A \times N \times Z}{V} \quad \text{όπου}$$

A = ο όγκος του διαλύματος NaOH 0,1N που καταναλώθηκε (ml)

N = η κανονικότητα του διαλύματος

Z = το γραμμοϊσοδύναμο του τρυγικού οξέος

V = ο όγκος του διαλύματος του μούστου (ml)

**Παρασκευή διαλύματος NaOH 0,1N:** Παίρνονται 4gr NaOH, τα οποία διαλύονται σε 1 λίτρο αποσταγμένο νερό.

#### 3.1.3.2.4 Μέτρηση ενεργής οξύτητας ή pH του γλεύκους

- Πριν την μέτρηση γίνεται το καλιμπράρισμα.
- Χρησιμοποιούνται δύο διαλύματα με καθορισμένη τιμή pH ως σταθερές ένδειξης σύγκρισης, το ένα διάλυμα είναι pH=7 και το άλλο με pH=4.
- Βυθίζονται οι ηλεκτρολύτες στο δείγμα.
- Η ένδειξη αναγράφεται στην οθόνη.

#### 3.1.3.2.5 Υπολογισμός των ολικών φαινόλων στο γλεύκος

Η γενική μέθοδος είναι η φασμαφωτομέτρηση αραιωμένου μούστου 1:100. Η αραιώση επιτυγχάνεται με:

- Λήψη 1ml μούστου σε ογκομετρική φιάλη των 100ml.
- Συμπλήρωση μέχρι τη χαραγή των 100 με απιονισμένο νερό.
- Ανάδευση για την ομοιογένεια του διαλύματος.
- Τμηματική μεταφορά του αραιωμένου γλεύκους σε δοκιμαστικό σωλήνα.
- Φασμαφωτομέτρηση του διαλύματος. Έλαβαν μέρος τέσσερις μετρήσεις στο κάθε δείγμα σε τέσσερα διαφορετικά μήκη κύματος, στα 280nm, στα 520nm, στα 620 nm και στα 420nm. Χρησιμοποιήθηκαν συγκεκριμένες κυψελίδες χαλαζίου, πάχους 10mm, για το μήκος κύματος 280nm, τύπου Quarts (Qs). Ο τύπος των κυψελίδων αλλάχτηκε για τα υπόλοιπα μήκη κύματος, χρησιμοποιήθηκαν κυψελίδες γυάλινες G.
- Καλιμπράρισμα της συσκευής.
- Ορίζεται το μήκος κύματος που θα γίνουν οι μετρήσεις με το κουμπί 'Go to'
- Επιβεβαίωση με το κουμπί 'ENTER'.
- Ορίζεται το μηδέν. Γεμίζονται δύο κυψελίδες, περίπου μέχρι τα  $\frac{3}{4}$  του ύψους της κυψελίδας με απιονισμένο νερό. Τοποθετείται η πρώτη κυψελίδα με το απιονισμένο νερό για την ένδειξη μηδέν και στη συνέχεια η δεύτερη ενεργοποιώντας ως σταθερή ένδειξη το μηδέν, πατώντας το κουμπί 'zero'.
- Αφαιρείται η δεύτερη κυψελίδα από τη συσκευή και προστίθεται στο κατάλληλο ύψος με το αντίστοιχο μούστο-δείγμα.
- Στεγνώνεται προσεκτικά το εξωτερικό μέρος της κυψελίδας με ένα ειδικό πανάκι, ώστε να αφαιρεθούν σκόνες και τυχόν δακτυλικά αποτυπώματα που μπορούν να προκαλέσουν λανθασμένες ενδείξεις.
- Τοποθέτηση στη συσκευή και εμφανίζεται η ένδειξη στην οθόνη.
- Το κάθε διάλυμα αντίστοιχα, με παρόμοιο τρόπο εισήχθη μέσα στην κυψελίδα, με τη σειρά τους
- Οι ενδείξεις είναι τα αποτελέσματα εκφρασμένα σε ABS.

### **3.1.3.2.6 Οργανοληπτική εξέταση του γλεύκους**

- Χτυπήθηκαν στο μπλέντερ ισάριθμες ράγες κάθε δείγματος επί 2 λεπτά ακριβώς.
- Τοποτέθηκαν οι πολτοί στα αντίστοιχα μεταλλικά δοχεία της φυγόκεντρους.

Χρησιμοποιήσαμε 6 μεταλλικά δοχεία τα οποία αριθμήσαμε με τον ακόλουθο τρόπο: με 1 για το μάρτυρα, το 2 για τα χαλκούχα, το 3 για το Vitosan 5%, το 4 για το Vitosan 10%, το 5 για το Oleosan 2% και το 6 για το Oleosan 5%.

- Ρυθμίστηκε η φυγόκεντρος στους 25°C και στις 6500 στροφές επί 10 λεπτά.
- Επαναλήφθηκε, αμέσως, δεύτερη φυγοκέντρωση στις 8000 στροφές, στους 25°C και επί 10 λεπτά, λόγω του ότι η θολερότητα των διαλυμάτων επέμενε.
- Μεταφέρθηκε το περιεχόμενο των μεταλλικών δοχείων σε falcons με ετικέτες που να φέρουν την αντίστοιχη ένδειξη αναγνώρισης.
- Τοποθέτηση τους δοκιμαστικούς σωλήνες, τον έναν δίπλα στον άλλον
- Εκτίμηση του χρώματος
- Εκτίμηση της γεύσης
- Εκτίμηση της διαφάνειας
- Εκτίμηση του αρώματος

### **3.1.4 Εποπτεία ελεγχόμενης αλκοολικής ζυμώσεως**

#### **3.1.4.1 Εμβολιασμός με καθαρή ζύμη**

- Έξοδος των δοχείων από τον ψυκτικό θάλαμο, έπειτα από εικοσιτετράωρη διαμονή τους. Με σκοπό να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- Προετοιμασία του εμβολίου:
  - ο Διάλυση 500gr σκευάσματος σε 5kg νερό
  - ο Προσθήκη και διάλυση και 500gr ζάχαρη
  - ο Αφήνεται να ξεκουραστεί επί 20 λεπτά.
  - ο Ανάδευση του διαλύματος με τη ζύμη.
- Υπολογισμού δοσολογίας του εμβολίου ανά νταμιτζάνα μούστου:

Σύμφωνα με τη δοσολογία απαιτούνται 20gr εμβόλιο σε 100l μούστου, οπότε για τα 30l μούστου μάρτυρας/χαλκούχα με Vitosan θα χρειαστούν 6gr εμβόλιο. Ομοίως, βρίσκεται η ποσότητα που πρέπει να προστεθεί σε κάθε γυάλινο δοχείο. Συνολικά αθροίζοντας όλες τις τιμές, βρίσκεται ότι χρειάζονται 40,2gr εμβόλιο. Το διάλυμα με

τη ζύμη προσδιορίζεται σύμφωνα με την αναλογία 500gr ζύμης στα 500l νερού, επειδή η πυκνότητα είναι  $1 \text{ gr/cm}^3$  άρα αντιστοιχούν και σε 500kg νερού ή 5000gr. Επομένως, τα 500gr ζύμης αντιστοιχούν σε 5000gr νερού άρα τα 40,2gr ζύμης αντιστοιχούν σε 402gr δηλαδή σε 402ml νερού. Ζυγίστηκε καθαρό βάρος ζύμης περίπου 41gr και της ζάχαρης περίπου 40,50gr. Για το ζύγισμα χρησιμοποιήθηκαν μικρά μπολάκια πλαστικά των οποίων μηδενίστηκε το βάρος τους.

- Οι ποσότητες αυτές στην συνέχεια προστέθηκαν σε έναν μεγάλο πλαστικό ογκομετρικό κύλινδρο και τους επετράπη να ηρεμήσουν για 30 λεπτά. Παρατηρήθηκε φούσκωμα που ήταν η ένδειξη ότι ενεργοποιήθηκε.
- Εμβολιασμός των μούστων.
- Παραμονή των νταμιτζάνων σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες με το πόμα ανοιχτό ώστε να μπαίνει το οξυγόνο και τα πόματα καλυμμένα με τούλι – στερεωμένα με λαστιχάκια – ώστε να μην μπουν σκουπίδια ή έντομα.

#### 3.1.4.2 Έλεγχος των αναγόντων σακχάρων

Αυτή η διαδικασία ξεκινάει με την παρακολούθηση της θερμοκρασίας κάθε δοχείου και τον αντίστοιχο υπολογισμό του ειδικού βάρους.

- Προστίθεται ποσότητα γλεύκους κατά τα  $\frac{2}{3}$  του ογκομετρικού σωλήνα.
- Βυθίζεται το θερμόμετρο επί ένα λεπτό.
- Παίρνεται η ένδειξη της θερμοκρασίας.
- Έπειτα βυθίζεται το αραιόμετρο, με κάθετη φορά, στριφογυρίζοντας το μια φορά.
- Αναμονή λίγων δευτερολέπτων μέχρι την ακινητοποίηση του οργάνου
- Ανάγνωση στο κάτω μέρος του μηνίσκου
- Διόρθωση της ένδειξης βαθμών Baumé, χρησιμοποιώντας τον Πίνακα II.
- Το ειδικό βάρος προσδιορίζεται με τη βοήθεια του αντίστοιχου Πίνακα I.
- Οι μετρήσεις των αναγόντων σακχάρων συνεχίστηκαν να προσδιορίζονται με την ίδια μέθοδο μέχρι τον τερματισμό της αλκοολικής ζύμωσης.

### 3.1.5 Μετάγγιση

- Τοποθέτηση του γεμάτου με κρασί δοχείο πάνω στο τραπέζι με πλάγια κλίση
- Τοποθέτηση του άδειου δοχείου, κάθετα στο δάπεδο
- Ενσωμάτωση στα άκρα του αλφαδολάστιχου το τούλι με τη βοήθεια λάστιχου
- Βύθιση του ενός άκρου του αλφαδολάστιχου στο μούστο
- Δημιουργία ροής του μούστου προς την άδεια νταμιτζάνα, με εφαρμογή διαφορά δυναμικού στα άκρα του αλφαδολάστιχο (Εικ. 30).



***Εικόνα 30.** Η διαδικασία της μετάγγισης των πειραματικών οίνων στο ψυκτικό θάλαμο.*

### 3.1.6 Εμφιάλωση

- Απολύμανση των μπουκαλιών με το καυτό νερό
- Στέγνωμα των μπουκαλιών



- Τοποθέτηση του γεμάτου με κρασί δοχείο πάνω στο τραπέζι με πλάγια κλίση
- Τοποθέτηση του άδειου μπουκαλιού, κάθετα στο δάπεδο
- Ενσωμάτωση στα άκρα του αλφαδολάστιχου το τούλι με τη βοήθεια λάστιχου
- Βύθιση του ενός άκρου του αλφαδολάστιχου στο μούστο
- Δημιουργία ροής του μούστου προς το άδειο μπουκάλι, με εφαρμογή διαφορά δυναμικού στα άκρα του αλφαδολάστιχου.
- Τοποθέτηση φελλών στα μπουκάλια μέσω της χρήσης του χειροκίνητου πωματιστικού μηχανήματος.
- Ετικετοκόλληση μπουκάλια, όπου αναγράφονταν οι αντίστοιχες πληροφορίες όσον αφορά τον πειραματικό οίνο. Συγκεκριμένα, αναγράφονταν:
  - η ποικιλία,
  - το πειραματικό αγροτεμάχιο από όπου είχαν συγκομισθεί και
  - την πρόσθετη ουσία που χρησιμοποιήθηκε κατά την οινοποίηση.

### **3.1.7 Συντήρηση**

- Τοποθέτηση & ταξινόμηση των φιαλών οίνου ανά επέμβαση, κάθετα στα ράφια.
- Ρύθμιση κλιματιστικού σε θερμοκρασίας θαλάμου +20 °C.
- Καθημερινός έλεγχος της θερμοκρασίας του θαλάμου.

## **3.2 Πείραμα 2011**

### **3.2.1 Αναλύσεις & μετρήσεις των πειραματικών οίνων κατά τη συντήρηση**

#### **3.2.1.1 Οργανοληπτική εξέταση των πειραματικών οίνων**

- Τοποθετήθηκε ο ένας κύλινδρος δίπλα στον άλλον, έτσι ώστε οι διαφορές του χρώματός τους να είναι πιο εμφανής.
- Εκτίμηση του χρώματος
- Εκτίμηση της γεύσης
- Εκτίμηση της διαφάνειας

- Εκτίμηση του αρώματος

### 3.2.1.2 Μέτρηση ολικής οξύτητας των πειραματικών οίνων

Η μέτρηση της ολικής οξύτητας του οίνου πραγματοποιήθηκε με την εφαρμογή της γενικής μεθόδου τιτλοδότησης με καυστικό νάτριο NaOH 0,1N και χρήσης δείκτη, το μπλε της βρωμοθυμόλης (BBT), μιας ουσίας που αλλάζει το χρώμα σε pH 7. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για όλα τα δείγματα είναι η εξής:

- Τοποθέτηση δείγματος οίνου 10 ml σε κωνική φιάλη των 250 ml.
- Προσθήκη 25 ml απιονισμένου νερού.
- Προσθήκη 4- 5 σταγόνες BBT.
- Γέμισμα της προχοπίδας με διάλυμα NaOH 0,1N.
- Τοποθέτηση της κωνικής φιάλης με το δείγμα ακριβώς κάτω από την προχοπίδα με συνεχής ανάδευσή της.
- Σταγόνα-σταγόνα NaOH 0,1N πέφτει στην κωνική φιάλη και εξουδετερώνει τα οξέα του οίνου.
- Με την αλλαγή και σταθεροποίηση του χρώματος μπλε, σταματά η ογκομέτρηση.

Η ολική οξύτητα εκφράζεται σε gr τρυγικού οξέος/ l από τον τύπο:

$$\text{Ολική οξύτητα} = \frac{A \times N \times Z}{V} \quad \text{όπου}$$

A = ο όγκος του διαλύματος NaOH 0,1N που καταναλώθηκε (ml)

N = η κανονικότητα του διαλύματος

Z = το γραμμοϊσοδύναμο του τρυγικού οξέος

V = ο όγκος του διαλύματος του οίνου (ml)

### 3.2.1.3 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων

Η αποστακτική συσκευή με ρεύμα υδρατμών αποτελούνταν από ένα σύστημα παραγωγής νερού, με δύο φλόγες και από μια φιάλη βρασμού όπου καταλήγουν οι ατμοί του

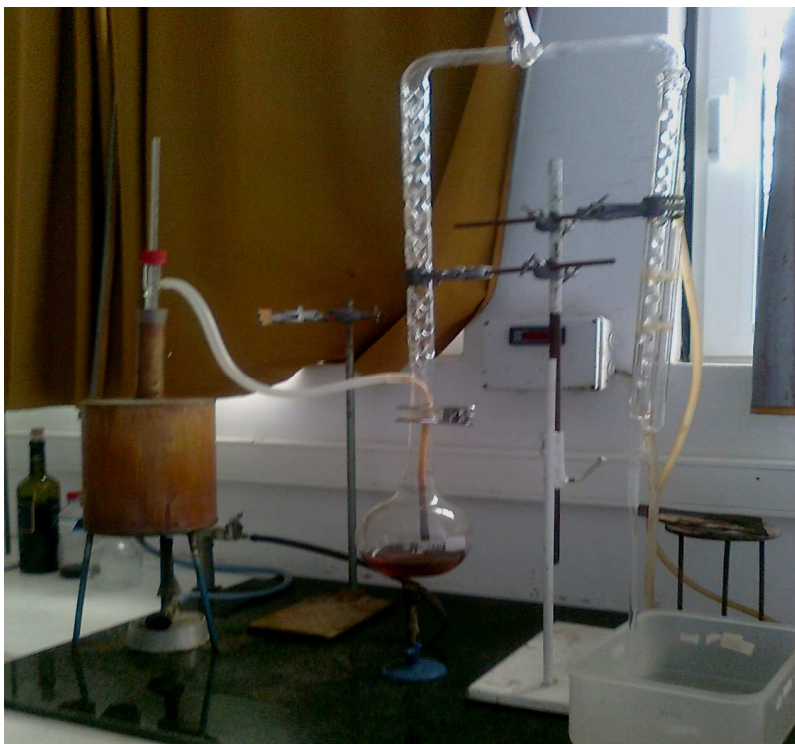
πρώτου μέρους της αποστακτικής συσκευής και ενοποιείται με το κρασί. Τέλος, ξαναγίνονται ατμοί οι οποίοι εισέρχονται σε σωλήνα με εσωτερικές εσοχές οι οποίοι δεν επιτρέπουν τη μεταφορά αφρών κι έπειτα εισέρχονται σε διπλό σωλήνα όπου στο εσωτερικό του έχει βαθουλώματα. Τα βαθουλώματα αυτά αναγκάζουν τους υγροποιημένους υδρατμούς να ακολουθούν συγκεκριμένη διαδρομή στροβιλισμού (Εικ. 31).

- Ενεργοποίηση της αποστακτικής συσκευής με ρεύμα υδρατμών
- Εφοδιασμός της συσκευής με απιονισμένο νερό
- Μεταφορά 200 ml κρασιού από το μπουκάλι στη φιάλη βρασμού
- Απόσταξη μέσα σε 12- 15 λεπτά της ώρας
- Συλλογή 250 ml αποστάγματος στην κωνική φιάλη
- Ογκομέτρηση με διάλυμα NaOH 0,1N, με παρουσία δείκτη φαινολοφθαλείνης 1%
- Εάν V ml NaOH 0,1N καταναλώθηκαν τότε η πτητική οξύτητα είναι  $0,6 \cdot V$  gr/ l σε οξικό οξύ

#### 3.2.1.4 Μέτρηση αλκοολικού τίτλου αποστάγματος των πειραματικών οίνων

- Προστίθεται ποσότητα αποστάγματος οίνου κατά τα  $\frac{2}{3}$  του ογκομετρικού σωλήνα.
- Βυθίζεται το θερμοόμετρο επί ένα λεπτό.
- Παίρνεται η ένδειξη της θερμοκρασίας.
- Έπειτα βυθίζεται το αλκοολόμετρο κάθετα, στριφογυρίζοντας το μια φορά.
- Όταν ακινητοποιείται μέσα στο χυμό τότε λαβαίνετε η μέτρηση του δυναμικού αλκοολικού τίτλου (Εικ. 32).

Στη μέτρηση του αλκοολικού τίτλου, το όργανο είναι ρυθμισμένο στους 20 °C. Εάν η θερμοκρασία της στιγμής της ανάγνωσης δεν είναι ίδια, τότε χρειάζεται διόρθωση. Η διόρθωση γίνεται από τον Πίνακα III.



**Εικόνα 31.** Διαδικασία αποστάγματος με τη χρήση αποστακτικής συσκευής με ρεύμα υδρατμών



**Εικόνα 32.** Μέτρηση Αλκοολικού Βαθμού αποστάγματος πειραματικού οίνου.

### 3.2.1.5 Οργανοληπτική εξέταση των οίνων κατά τη συντήρηση

- Προσθήκη 200ml κρασιού ανά κύλινδρο
- Τοποθετήθηκε ο ένας κύλινδρος δίπλα στον άλλον, έτσι ώστε οι διαφορές του χρώματός τους να είναι πιο εμφανής.
- Εκτίμηση του χρώματος
- Εκτίμηση της γεύσης
- Εκτίμηση της διαφάνειας
- Εκτίμηση του αρώματος

### 3.2.1.6 Προσδιορισμός ολικού $SO_2$

- Παρασκευή διαλύματος ιωδίου N/50
- Γέμισμα καθαρού τιτλοδοτικού σωλήνα με το διάλυμα του ιωδίου μέχρι το σημείο 0.
- Μεταφορά 50ml κρασί με τη βοήθεια σιφωνίου των 50ml μέσα σε κωνική φιάλη των 250ml.
- Προσθήκη 25cc διαλύματος KOH 1N στην κωνική φιάλη, με τη χρήση ογκομετρικού κυλίνδρου των 20cc.
- Ανάδευση και επετράπη στο διάλυμα να επιδράσει για 15 λεπτά.
- Μετά τα 15 λεπτά, προσθήκη ποσότητα 2cc δείκτη αμύλου 1% μέσα στο διάλυμα του κρασιού.
- Προσθήκη 10ml διαλύματος  $H_2SO_4$  25% v/v.
- Ογκομέτρηση με το διάλυμα ιωδίου N/50 μέχρι την εμφάνιση κυανής χροιάς.
- Υπολογισμός του ολικού θειώδη ανυδρίτη: εάν η κατανάλωση του ιωδίου ήταν A ml, τότε ο ολικός θειώδης ανυδρίτης είναι  $A \times 12,8 \text{ mg/l}$ .

Η ολοκλήρωση της αντίδρασης καθορίζεται τελικό κυανό σημείο χρώμα, που βασίζεται στην οξειδοαναγωγική αντίδραση:  $H_2SO_3 + I_2 \rightarrow H_2SO_4 + 2HI$ .

**Παρασκευή διαλύματος ιωδίου N/50:** αραίωση  $100 \text{ cm}^3$  πυκνού διαλύματος ιωδίου 0,1N με τετραπλάσια ποσότητα νερού.

**Παρασκευή διαλύματος KOH 1N:** Σε μικρή ποσότητα νερού αποσταγμένου, γίνεται

αργή προσθήκη 56gr KOH, δηλαδή ίσο με το γραμμοϊσοδύναμό του. Γίνεται γρήγορη ανάδευση και μετά αδειάζεται σιγά σιγά σε φιάλη των 1l, με αποσταγμένο νερό. Δημιουργείται θερμοκρασία, γι αυτό εμβαπτίζεται σε κρύο νερό.

**Παρασκευή διαλύματος αμύλου 1%:** Σε αποσταγμένο νερό 1000ml προστίθεται αργά 10gr αμύλου. Σημείωση: το νερό πρέπει να βρίσκεται σε σημείο βρασμού, για να γίνει με πιο εύκολο τρόπο η διάλυσή του.

### 3.2.1.7 Προσδιορισμός ελεύθερου SO<sub>2</sub>

- Σε κωνική φιάλη των 250ml γίνεται προσθήκη 50ml οίνου
- 5cc H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% κατ' όγκο και
- 2cc δείκτης αμύλου 1%.
- Ακολουθεί ογκομέτρηση με το διάλυμα ιωδίου N/50 μέχρι να εμφανιστεί σταθερό κυανό χρώμα.

Ο ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης είναι, εάν η κατανάλωση του ιωδίου ήταν A ml:  $A \times 12,8 \text{ mg/l}$ .

### 3.2.1.8 Υπολογισμός της θολερότητας των πειραματικών οίνων

Η αρχή λειτουργία του βασίζεται στη διάθλαση μιας δέσμης υπέρυθρου φωτός μέσα στο φιαλίδιο που περιέχει το δείγμα. Η μονάδα μέτρησης της θολερότητας είναι η FTU.

- Γίνεται το καλιμπράρισμα της συσκευής.
- Χρησιμοποιούνται δύο φιαλίδια με περιεχόμενα, το πρότυπο HI 93703-0 FTU και HI 93703-10 FTU.
- Διαβεβαίωσης της ένδειξης 0 και 10
- Προσθήκη μικρής ποσότητας οίνου στο φιαλίδιο
- Καλός καθαρισμός με το πετσετάκι στο εξωτερικό του φιαλιδίου
- Εισαγωγή στο φωτόμετρο
- Καταγραφή των ενδείξεων

### 3.2.2 Πείραμα: Εμβολιασμός δειγμάτων των πειραματικών οίνων με οξικά βακτήρια

#### 3.2.2.1 Ενεργοποίηση των οξικών βακτηρίων

- Ρύθμιση του υγραντήρα στους 30 °C
- Βύθιση του θερμομέτρου για διαβεβαίωση της σταθεροποίησης της θερμοκρασίας
- Προσθήκη απιονισμένου νερού στον υγραντήρα & παρακολούθηση το εύρος ευαισθησίας της συσκευής (Εικ. 33).
- Προσθήκη κατά προσέγγιση 450ml ξυδιού σε κάθε κωνική φιάλη
- Κλείσιμο των στομιών με καθαρό βαμβάκι
- Αφήνονται επί 7 μέρες για να ενεργοποιηθούν. Ενδιάμεσα, γίνεται προσθήκη απιονισμένου νερού, σε περιπτώσεις μείωση της στάθμης.



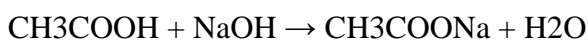
**Εικόνα 33.** Η ενεργοποίηση των οξικών βακτηρίων με τη βοήθεια του υγραντήρα.

### 3.2.2.2 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σακχάρων του ζυδιού

- Προστίθεται ποσότητα ζυδιού κατά τα  $\frac{2}{3}$  του ογκομετρικού σωλήνα.
- Βυθίζεται το θερμόμετρο επί ένα λεπτό.
- Παίρνεται η ένδειξη της θερμοκρασίας.
- Έπειτα βυθίζεται το αραιόμετρο, με κάθετη φορά, στριφογυρίζοντας το μια φορά.
- Αναμονή λίγων δευτερολέπτων μέχρι την ακινητοποίηση του οργάνου
- Ανάγνωση στο κάτω μέρος του μηνίσκου
- Διόρθωση της ένδειξης βαθμών Baumé, χρησιμοποιώντας τον Πίνακα II.

### 3.2.2.3 Προσδιορισμός περιεκτικότητας οξικών οξέων στο ζύδι

- Γέμισμα της προχοπίδας του ορθοστάτη με το πρότυπο διάλυμα μέχρι την ένδειξη 0
- Προσθήκη 2 ml ζυδιού με τη βοήθεια του σιφωνίου στην κωνική φιάλη
- Λήψη 20 ml απιονισμένου νερού με τη βοήθεια του ογκομετρικού κυλίνδρου
- Αραίωση του ζυδιού
- Προσθήκη λίγων σταγόνων δείκτη φαινολοφθαλεΐνης
- Τιτλοδότηση με το πρότυπο διάλυμα NaOH 0,1N, με συνεχή ανάδευση
- Η ογκομέτρηση ολοκληρώνεται με την εμφάνιση μόνιμης αλλαγής του χρώματος
- Υπολογισμός του οξικού οξέος % w/v, ως εξής: Η αντίδραση που πραγματοποιήθηκε με την τιτλοδότηση, είναι:



$n_{\text{οξέος}}$              $n_{\text{βάσης}}$

όπου  $n_{\text{οξέος}}$  τα mol του οξικού οξέος ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) και  $n_{\text{βάσης}}$  του υδροξειδίου του νατρίου ( $\text{NaOH}$ ). Επειδή έγινε αραίωση, ισχύει:

- Όγκος NaOH που καταναλώθηκε, έστω V ml
- moles NaOH =  $(0.1 * V)$  moles
- moles  $\text{CH}_3\text{COOH}$  = moles NaOH
- $m_{\text{CH}_3\text{COOH}} = (n_{\text{CH}_3\text{COOH}} * 60) * \text{gr/l οξικού οξέος}$



- Ο προσδιορισμός έγινε δύο φορές κατά επανάληψη μέσα σε μια εβδομάδα (μετά από 4 μέρες από την 1<sup>η</sup> μέτρηση και η επόμενη μετά από 7 μέρες)

#### 3.2.2.4 Προετοιμασία δειγμάτων των πειραματικών οίνων για τον εμβολιασμό

- Φιλτράρεται το κρασί (Εικ. 34).
- Παίρνονται 4 δείγματα κρασιού των 250ml ανά κατηγορία
- Δημιουργούνται 4 ομάδες (Εικ. 36):
  - Α' Ομάδα= Μάρτυρας – καμιά προσθήκη ζυδιού ή σκευάσματος Vitosan
  - Β' Ομάδα= Εμβολιασμένων – με προσθήκη 2 ml ζυδιού μόνο
  - Γ' Ομάδα= Εμβολιασμένων με μία δόση Vitosan - με προσθήκη 2 ml ζυδιού και μίας δόσης Vitosan
  - Δ' Ομάδα= Εμβολιασμένων με διπλή δόση Vitosan - με προσθήκη 2 ml ζυδιού και δύο δόσεις Vitosan
- Κλείνεται το πόμα των κωνικών φιαλών με βαμβάκι, όχι ερμητικά
- Επικόλληση, όπου αναγράφονταν ο τύπος του κρασιού, η προσθετική ουσία και το είδος του εμβολιασμού που του έγινε
- Τοποθέτηση των δειγμάτων στην κούτα, η οποία ενσωματώθηκε πάνω στο τάραχτρο
- Εισαγωγή στο θάλαμο
- Ρύθμιση του τάραχτρο σε μεσαίο επίπεδο ανακίνησης (Εικ. 37)
- Ρύθμιση της θερμοκρασίας εσωτερικά του θαλάμου στους 30°C
- Παρακολούθηση της θερμοκρασίας του χώρου και των δειγμάτων.

#### 3.2.2.5 Υπολογισμός των δοσολογιών Vitosan

- Ακολουθώντας την αρχική φιλοσοφία της προσθήκης του 5% Vitosan, υπολογίζεται:
  - Β' Ομάδα: Σε κάθε 250ml κρασί θα προστεθούν 0,125gr Vitosan, δηλαδή συνολικά για τα 6 δείγματα, θα χρειαστούν 0,75gr Vitosan
  - Γ' Ομάδα: Αφού θα προστεθεί η διπλάσια ποσότητα, θα είναι συνολικά 1,5gr Vitosan, δηλαδή για κάθε 250ml κρασί θα προστεθούν 0,250gr Vitosan

- Προσεκτική μεταφορά του σκευάσματος σε πλαστική κάψουλα, με τη βοήθεια του κουταλιού δειγματοληψίας
- Ζύγιση με άμεση προσθήκη/ αφαίρεση σκευάσματος, ανάλογα με την ένδειξη της ηλεκτρονικής ζυγαριάς (Εικ. 35).

### **3.2.2.6 Εργαστηριακές αναλύσεις στα δείγματα**

#### **3.2.2.6.1 Προσδιορισμός ολικής οξύτητας των δειγμάτων**

Έγιναν επαναληπτικές μετρήσεις της ολικής οξύτητας όλων των δειγμάτων. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν ακριβώς όπως περιγράφεται στην υποενότητα 3.2.1.2.

#### **3.2.2.6.2 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας των δειγμάτων**

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν ακριβώς όπως περιγράφεται στην υποενότητα 3.2.1.3.

#### **3.2.2.6.3 Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου αποστάγματος των δειγμάτων**

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν ακριβώς όπως περιγράφεται στην υποενότητα 3.2.1.4.



**Εικόνα 34.** Το φιλτράρισμα των πειραματικών οίνων



**Εικόνα 35.** Ο υπολογισμός της μονής δοσολογίας Vitosan.



**Εικόνα 36.** Οι 4 ομάδες των δειγμάτων πειραματικών οίνων.



**Εικόνα 37.** Η συνεχής ανάδευση με το τάρραχτρο των 4 Ομάδων στο θάλαμο του εργαστηρίου Γ. Βιομηχανιών.

## 4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 Αποτελέσματα προ-οινοποιήσιμων μεταχειρίσεων

#### 4.1.1 Πείραμα 2010

##### 4.1.1.1 Συγκομιδή ποικιλίας Πλυτό 2010

Το πειραματικό αγροτεμάχιο που επιλέχθηκε στον αμπελώνα του Λυραράκη, καλλιεργούνταν η ποικιλία Πλυτό. Ο αμπελώνας που επιλέχθηκε βρισκόταν στην περιοχή Αλάγνι, νομού Ηρακλείου, του ιδιοκτήτη κ. Λυραράκη. Τα κύρια χαρακτηριστικά του αμπελώνα ήταν ότι το χωράφι είχε κανονικό επίπεδο, επικρατούσαν ομοιόμορφες συνθήκες τόσο γεωγραφικές όσο και κλιματολογικές, και οι καλλιέργειες διαφόρων οινοποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου ήταν βιολογικές. Η ποικιλία Πλυτό είναι μια παλιά κρητική ποικιλία, *Vitis vinifera*. Είναι λευκή οινοποιήσιμη ποικιλία. Η ιδιαίτερη ευαισθησία της στην βοτρυτίδα είναι η κύρια αιτία της επιλογή της στο πείραμα αυτό. Αν και είναι πυκνόραγη ποικιλία, στο έτος 2010, δεν ήταν και τόσο όσο συνήθως (Γελασάκη, 2011).

Ο τρύγος πραγματοποιήθηκε στις πρωινές ώρες δύο διαφορετικών ημερών. Ο πρώτος τρύγος έγινε στις 17/ 09/ 2010, μεσολάβησαν λίγες βροχοπτώσεις κι ο δεύτερος τρύγος πραγματοποιήθηκε στις 19/ 09/ 2010. Εκείνη την περίοδο, επικρατούσαν υψηλή σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας και ζέστη, συνθήκες ευνοϊκές για την ανάπτυξη της τέφρας σήψης.

Συγκεντρώθηκαν συνολικά 22 κλούβες σταφύλια ποικιλίας Πλυτό κι από τις 4 διαφορετικές φυτοπροστατευτικές επεμβάσεις – μάρτυρα, επέμβαση με χαλκό, επέμβαση με Vitosan και επέμβαση με Oleosan. Τα σταφύλια που συγκεντρώθηκαν από πρέμνα τα οποία ήταν των μεταχειρίσεων μάρτυρας και Χαλκούχων τοποθετήθηκαν μαζί, γιατί θα συνοινοποιηθούν και θα αποτελέσουν τον Μάρτυρα του πειραματικού οίνου. Στον Πίνακα 6 αναγράφονται ο αριθμός των κλούβων σταφυλιών που συγκεντρώθηκαν ανά επέμβαση.

Μερικά αντιπροσωπευτικά τσαμπιά σταφυλιών ανά επέμβαση, φυλάχθηκαν και οδηγήθηκαν στο εργαστήριο Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας για περαιτέρω αναλύσεις. Τα υπόλοιπα οδηγήθηκαν σε μικροοινοποιητήριο στην περιοχή των Αρχανών όπου έλαβε μέρος η παραγωγή του μούστου.

**Πίνακας 6.** Ο αριθμός των κλουβών ανά επέμβαση πρεμνών ποικιλίας Πλυτό.

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΠΛΥΤΟ		
ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΡΕΜΝΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΛΟΥΒΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΑΣ & ΧΑΛΚΟΥΧΑ	20	4
VITOSAN	20	5
OLEOSAN	20	7
ΣΥΝΟΛΟ		16

#### 4.1.1.2 Αποτελέσματα της οινοποίησης των σταφυλιών

Ο μούστος που παράχθηκε από την σύνθλιψη των σταφυλιών αντιστοιχούσε σε δύο δοχεία για κάθε επέμβαση. Αμέσως μετά το ζύγισμα των δοχείων, πραγματοποιήθηκε η προσθήκη των προσθετικών ουσιών που θα μελετώνται σε αυτήν τη μελέτη. Στο ένα από το ζεύγος των νταμιτζάνων προστέθηκε SO<sub>2</sub> και στο άλλο Vitosan. Η μορφή του SO<sub>2</sub> που επιλέχθηκε ως η καταλληλότερη ήταν αυτή του Κ-μεταμπισουλφίτ (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) (Ough C, 1992).

Οι ακριβείς ποσότητες των σκευασμάτων που προστέθηκαν υπολογίστηκαν σε αναλογία με το βάρος του γλεύκους. Τα δεδομένα παρουσιάζονται στον Πίνακα 7. Η ποσότητα του μεταμπισουλφίτ που προστέθηκε υπολογίστηκε βάση της αναλογίας 5gr μεταμπισουλφίτ ανά 100 l μούστου. Η ποσότητα του σκευάσματος Vitosan υπολογίστηκε

προσεγγιστικά κατά 10% στα 100 l μούστο.

Στη συνέχεια, οι νταμιτζάνες με τα γλεύκη, μεταφέρθηκαν στο ψυκτικό θάλαμο του εργαστήριου αμπελουργίας του αγροκτήματος του ΤΕΙ Ηρακλείου, Κρήτης. Η θερμοκρασία του ψυκτικού θαλάμου ρυθμίστηκε στους +2°C, υπολογίζοντας ότι με αυτόν τον τρόπο οι θερμοκρασίες που θα επικρατούσαν μέσα στα γυάλινα δοχεία, θα ήταν μεταξύ +4 °C και +5 °C. Σκοπός ήταν ο καθαρισμός του γλεύκους με τη μέθοδο της στατικής απολάσπωσης. Η μέθοδος αυτή καθαρισμού του γλεύκους βασίζεται στη φυσική καταβύθιση της οινολάσπης που συμβαίνει σε περιπτώσεις χαμηλών θερμοκρασιών. Ο χρόνος διατήρησής τους στο θάλαμο ήταν για ένα εικοσιτετράωρο.

**Πίνακας 7.** Οι ποσότητες των προστιθέμενων ουσιών στα αντίστοιχα βάρη των γλευκών ανά επέμβαση.

<b>ΓΛΕΥΚΗ ΑΝΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗ</b>	<b>ΚΑΘΑΡΟ ΒΑΡΟΣ ΝΤΑΜΙΤΖΑΝΩΝ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΟ ΣΕ KG</b>	<b>ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ</b>	<b>ΠΡΟΣΤΙΘΕΜΕΝΗ ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΗ ΣΕ GR</b>
<b>ΜΑΡΤΥΡΑΣ</b>	30	VITOSAN	15
	28	ΜΕΤΑΜΠΙΣΟΥΛΦΙΤ	1,4
<b>VITOSAN</b>	36	VITOSAN	15
	34	ΜΕΤΑΜΠΙΣΟΥΛΦΙΤ	1,7
<b>OLEOSAN</b>	49	VITOSAN	25
	54	ΜΕΤΑΜΠΙΣΟΥΛΦΙΤ	2,7
<b>ΣΥΝΟΛΟ</b>	201		

#### **4.1.1.3 Αποτελέσματα των πειραματικών μεταχειρίσεων στα σταφύλια**

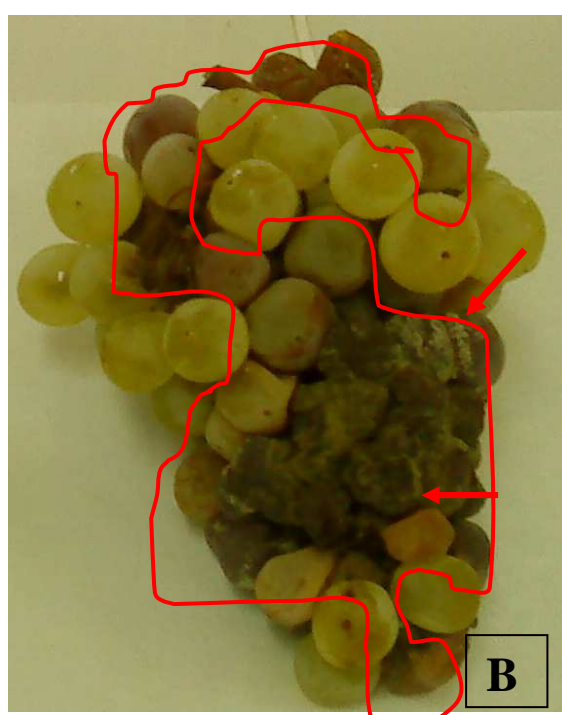
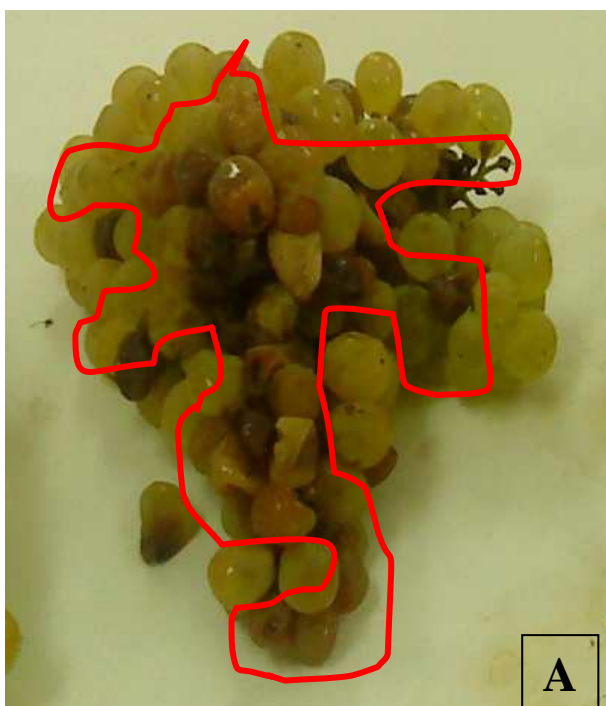
Δείγματα σταφυλιών από κάθε πειραματική μεταχείριση, μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας. Τοποθετήθηκαν ανά επέμβαση στο πάγκο, πάνω σε απορροφητικά χαρτιά και μελετήθηκε η φυτοπροστατευτική δράση των σκευασμάτων σε αναλογία με την έκταση της προσβολής του παθογόνου *Botrytis cinerea* (Εικόνα 38). Οι παρατηρήσεις στα σταφύλια της κάθε μεταχείρισης παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στον

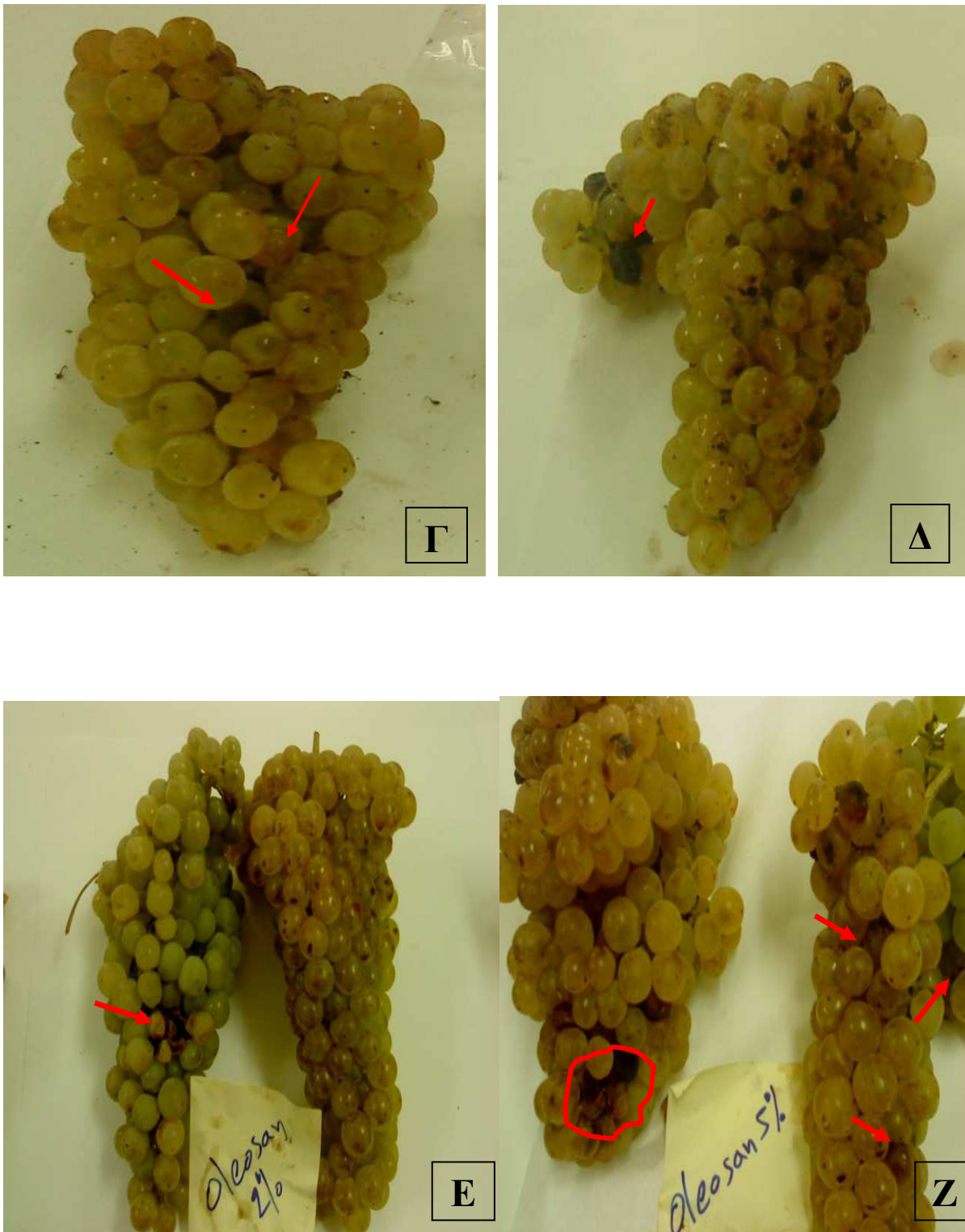
πίνακα 8. Χρησιμοποιείται συντομογραφία για τους χειρισμούς του μούστου, για λόγους ευχρηστίας, οι οποίοι είναι:

- Μ για τον Μάρτυρα
- Χ για την Χαλκούχο επέμβαση
- V 5% για την επέμβαση με το σκεύασμα Vitosan συγκέντρωσης 5%
- V 10% για την επέμβαση με το σκεύασμα Vitosan συγκέντρωσης 10%
- O 2% για την επέμβαση με το σκεύασμα Oleosan συγκέντρωσης 2%
- O 5% για την επέμβαση με το σκεύασμα Oleosan συγκέντρωσης 5%

Αναφέρονται παρατηρήσεις σχετικά με το αν εμφανίζονται αποκλίσεις των χαρακτηριστικών της σταφυλής από αυτές που πρέπει να έχει η ποικιλία Πλυτό. Επιπλέον εξετάστηκε η έκφρασή της σε σχέση με την έκταση της προσβολής του *Botrytis cinerea* και την ανάπτυξη ή όχι μυκηλίου του. Ως τελική παρατήρηση, τα σκευάσματα ανάλογα με τη φυτοπροστατευτική δράση, συσχετιζόμενη με το πλήθος των ελαττωματικών χαρακτηριστικών που εντοπίστηκαν στα σταφύλια, κατά φθίνουσα σειρά είναι:

Vitosan > Oleosan > Μάρτυρας > Χαλκούχα





**Εικόνα 38.** (Α) Σταφύλια Μάρτιρα, (Β) σταφύλια επέμβασης χαλκούχων, (Γ) σταφύλια επέμβασης Vitosan 5%, (Δ) σταφύλια επέμβασης Vitosan 10%, (Ε) σταφύλια επέμβασης Oleosan 2% και (Ζ) σταφύλια επέμβασης Oleosan 5%. Μελετώντας τις εικόνες, εκτιμάται η ζημιά των ραγών από τον *Botrytis cinerea*, στην (Α) κατά 90%, στην (Β) κατά 95%, στην (Γ) κατά 5%, στην (Δ) κατά 3%, στην (Ε) κατά 50% και στην (Ζ) κατά 50%.



**Πίνακας 8.** Η εκτίμηση της φυτοπροστατευτικής δράσης των μεταχειρίσεων (μάρτυρας, επεμβάσεις με χαλκούχο, Vitosan & Oleosan) σε σταφύλια ποικιλίας Πλυτό.

ΤΥΠΟΣ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗΣ	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΤΑΦΥΛΗΣ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ	ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΜΥΚΗΛΙΟΥ	ΆΛΛΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ
M	ΑΡΑΙΟΤΕΡΗ	90%	ΝΑΙ	
X	ΠΥΚΝΟΤΕΡΗ	95%	ΝΑΙ	Η ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΕΣΩΤΕΡΙΚΑ ΤΗΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ ΚΥΡΙΑΡΧΟΥΣΕ
V 5%	ΚΑΝΟΝΙΚΗ	5%	ΌΧΙ	ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ (ΕΡΥΘΡΗ). ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗΣ ΜΕ ΝΕΡΟ
V 10%	ΚΑΝΟΝΙΚΗ	3%	ΌΧΙ	ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ- ΕΛΑΙΩΔΗ. Η ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΕ ΦΑΣΗ ΣΤΑΜΑΤΗΜΕΝΗΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ.
O 2%	ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ & ΠΥΚΝΟΤΕΡΗ	50%	ΌΧΙ	
O 5%	ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ & ΠΥΚΝΟΤΕΡΗ	50%	ΌΧΙ	

#### 4.1.1.4 Αποτελέσματα των πειραματικών μεταχειρίσεων στο γλεύκος για την παρακολούθηση της ωρίμανσης

Επιλέχθηκαν 20 ράγες από κάθε επέμβαση και πολτοποιήθηκαν με σκοπό τη λήψη μούστου για να υποστεί εργαστηριακές αναλύσεις. Πριν την πολτοποίηση, ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας, όπου στον Πίνακα 9 φαίνονται τα αποτελέσματα.

**Πίνακας 9.** Το καθαρό βάρος των 20 ραγών ανά επέμβαση

ΡΑΓΕΣ ΑΠΟ ΧΕΙΡΙΣΜΟΥΣ	ΚΑΘΑΡΟ ΒΑΡΟΣ ΡΑΓΩΝ ΣΕ gr
M	59,880
X	59,944
V 5%	63,209
V 10%	64,116
O 2%	57,358
O 5%	63,893

#### 4.1.1.4.1 Αποτελέσματα της μέτρησης των σακχάρων του γλεύκους

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των σακχάρων του γλεύκους με τη διαθλασιμετρία, αποσκοπεί στον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των σακχάρων του γλεύκους και της πυκνότητας, με τη βοήθεια του Πίνακα Ι. Συγκεντρωτικά, οι τιμές που βρέθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

**Πίνακας 10.** Η περιεκτικότητα των σακχάρων και η πυκνότητα κάθε μούστου ανά επέμβαση.

Τύπος Μούστου	Μέτρηση σακχάρων σε Brix	Μέτρηση Σακχάρων σε gr/l	Ειδικό Βάρος
M	25,5	255	1,109
X	24,9	249	1,107
V 5%	25,9	259	1,111
V 10%	25,7	257	1,110
O 2%	19	181,8	1,080
O 5%	22,5	221	1,095

Επιλέχθηκε να πολτοποιηθούν ράγες για τη λήψη μούστου, για το λόγο του ότι ο μούστος αυτός είναι λιγότερο επιβαρυσμένος από τα ιζήματα κι από τα πρόσθετα μέσα. Έτσι, η μέτρηση γίνεται όσο το δυνατόν με ακρίβεια. Οι θερμοκρασίες των γλευκών ήταν στους 20°C, οπότε δε χρειαζόνταν διόρθωση οι τιμές τους.

Μελετώντας τα διαγράμματα παρατηρείται μια έντονη διαφορά στην πυκνότητα του

γλεύκους που προέρχονται από σταφύλια των επεμβάσεων Oleosan. Η πυκνότητα τους είναι πιο μικρή, ιδιαίτερα του γλεύκους από σταφύλια επεμβάσεως Oleosan συγκεντρώσεως 2%. Απεναντίας, η υπολειμματικότητα του σκευάσματος Vitosan την επιφάνεια των ραγών δεν θεωρείται άμεσος αρνητικός παράγοντας. Μάλιστα, οι μούστοι των σταφυλιών που εφαρμόστηκε αυτό το σκεύασμα, έχουν την υψηλότερη πυκνότητα σακχάρων.

#### 4.1.1.4.2 Αποτελέσματα της μέτρησης της ολικής οξύτητας του γλεύκους

Τα αποτελέσματα της μέτρησης της ολικής οξύτητας κάθε τύπου γλεύκους αναγράφονται στον Πίνακα 11.

**Πίνακας 11.** Η ολική οξύτητα ανά τύπου γλεύκους.

ΤΥΠΟΣ ΜΟΥΣΤΟΥ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΟΛΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/L
M	4,9	7,350
X	6,1	9,150
V 5%	5,2	7,800
V 10%	5,15	7,725
O 2%	6,9	10,350
O 5%	4,85	7,275

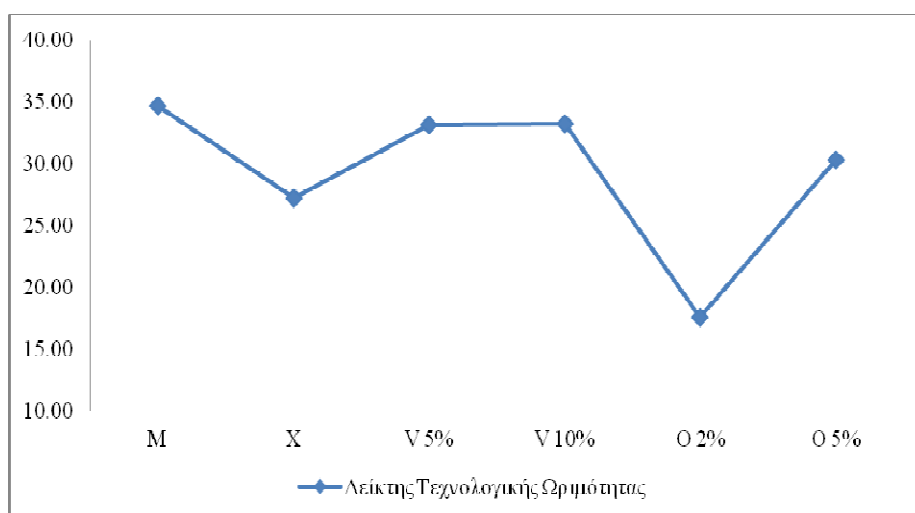
Παρατηρείται μεγάλη διακύμανση τιμών της ολικής οξύτητας μεταξύ των γλευκών. Ο τύπος Oleosan συγκεντρώσεως 2% έχει τη μεγαλύτερη τιμή που σημαίνει ότι περιέχει μεγαλύτερη συγκέντρωση ελεύθερων καρβοξυλομάδων στο διάλυμά του. Δεύτερος σε μικρή οξύτητα, έρχεται ο μούστος από μεταχείριση με χαλκούχο. Οι υπόλοιποι τύποι γλεύκους έχουν τιμές ολικής οξύτητας που κυμαίνονται πάνω κάτω στο ίδιο επίπεδο. Η ολική οξύτητα σε συνδυασμό με την περιεκτικότητα των σακχάρων προσδιορίζεται η τεχνολογική ωριμότητα των σταφυλιών. Η τεχνολογική ωριμότητα των σταφυλιών αποτελεί ένα συμβατικό κριτήριο και ορίζεται από το λόγο της περιεκτικότητας των σακχάρων (gr/ l) προς την αντίστοιχη ολική οξύτητα, εκφρασμένη σε gr τρυγικού οξέος/ l. Τα αποτελέσματα

παρουσιάζονται στον Πίνακα 12.

Ο δείκτης της τεχνολογικής ωρίμανσης, όσο πιο μεγάλος είναι τόσο ώριμα είναι τα σταφύλια. Όταν ο δείκτης τεχνολογικής ωρίμανσης είναι μεταξύ των τιμών 20-35, τότε τα σταφύλια θεωρούνται ώριμα (Τσέτουρας, 2008). Παρατηρώντας τη γραφική παράσταση της Εικόνας 39, διακρίνονται τα γλεύκη των σταφυλιών των επεμβάσεων με τα σκευάσματα του χαλκούχου και του Oleosan συγκεντρώσεως 2%. Αυτοί οι τύποι μούστων, έχουν το δείκτη τεχνολογικής ωρίμανσης κάτω από το όριο του δείκτη ωρίμανσης, αντιθέτως οι υπόλοιποι τύποι μούστων είναι σε θεμιτά επίπεδα. Το αποτέλεσμα είναι φυσικό επακόλουθο, αφού ο δείκτης τεχνολογικής ωρίμανσης είναι ανάλογος με τη συγκέντρωση των σακχάρων και αντιστρόφως ανάλογος με την ολική οξύτητα του γλεύκους.

**Πίνακας 12.** Η τεχνολογική ωρίμανση των σταφυλιών της κάθε επέμβασης

ΤΥΠΟΥ ΓΛΕΥΚΟΥΣ	ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ ΩΡΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΓΛΕΥΚΟΥΣ
M	34,79
X	27,21
V 5%	33,21
V 10%	33,27
O 2%	17,57
O 5%	30,38



**Εικόνα 39.** Ο δείκτης τεχνολογικής ωριμότητας ανά τύπου γλεύκους.

#### 4.1.1.4.3 Αποτελέσματα της μέτρησης της ενεργής οξύτητας του γλεύκους

Το σύνολο των οξέων συμπληρώνεται με τη μέτρηση των τιμών του pH (ή αλλιώς την ενεργός οξύτητα) των μούστων (Τσέτουρας, 2008). Η ενεργός οξύτητα οφείλεται μόνο από τα κατιόντα υδρογόνου των μορίων οξέων και όξινων αλάτων που βρίσκονται σε διάσταση. Η τιμή του pH εξαρτάται από τα είδη των οξέων που περιέχονται στο μούστο, όπως για παράδειγμα το pH παίρνει μικρότερη τιμή όταν το διάλυμα είναι πλουσιότερο σε συγκέντρωση τρυγικού οξέος από ότι στην περίπτωση ηλεκτρικού οξέος (Jackson R, 2008). Με τη βοήθεια πεχάμετρου, μετρήθηκε η ενεργός οξύτητα του κάθε τύπου γλεύκους και τα αποτελέσματα τοποθετήθηκαν σε πίνακα (Πίνακας 13). Οι τιμές των pH των μούστων εκτιμούνται πολύ καλές. Το βέλτιστο pH γλεύκους λευκών σταφυλιών πριν τη διαδικασία της ζύμωσης είναι 2,9 έως 4. Οι τιμές της ενεργής οξύτητας του κάθε τύπου γλεύκους βρίσκονται εντός αυτών των ορίων. Οι τιμές pH αποκλίνουν ελάχιστα η μία από την άλλη. Επομένως, τα γλεύκη έχουν κοινή σύσταση σε οξέα.

**Πίνακας 13.** Η τιμή pH ανά τύπου μούστο.

ΤΥΠΟΣ ΜΟΥΣΤΟΥ	ΤΙΜΕΣ PH
M	3,66
X	3,61
V 5%	3,69
V 10%	3,65
O 2%	3,31
O 5%	3,53

#### 4.1.1.4.4 Αποτελέσματα του υπολογισμού των ολικών φαινόλων του γλεύκους

Η ποιοτική κατάσταση του μούστου που θα σημάνει και την ποιοτική κατάσταση του οίνου στο μέλλον καθορίζεται κι από το χρώμα. Το χρώμα καθορίζεται άμεσα από την απορρόφηση του φωτός από γλεύκος σε ένα ορατό φάσμα. Με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου έγιναν οι παρακάτω εκτιμήσεις του χρώματος των μούστων. Οι μετρήσεις των εκχυλισμάτων των ραγών στο φασματοφωτόμετρο, έγιναν στα μήκη κύματος

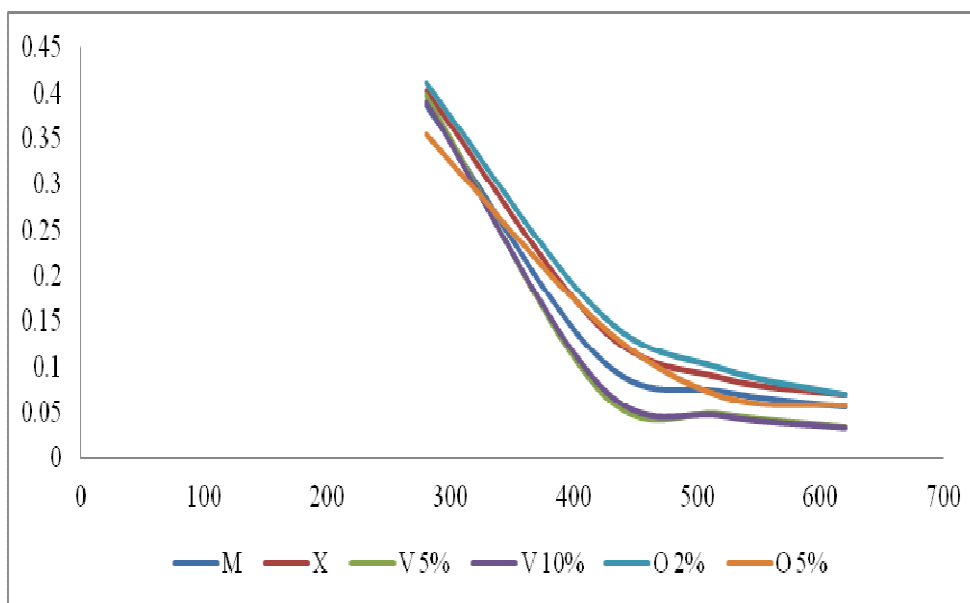
280nm, 520nm, 620nm και 420nm. Ήταν αναγκαία η εξαγωγή ομοιογενούς εκχυλίσματος, γι αυτό πριν γίνουν αυτές οι αναλύσεις, οι πολτοποιημένοι χυμοί φυγοκεντρήθηκαν. Ο d280 είναι ο δείκτης ολικών φαινολών– ο οποίος υπολογίζεται είτε μόνο από τους φλοιούς είτε από ολόκληρες τις ράγες. Τα 520nm είναι το μήκος κύματος απορρόφησης του πράσινου χρώματος, δηλαδή εμφανίζεται το κόκκινο χρώμα και είναι δείκτης συγκέντρωσης τανινών και των ελεύθερων ανθοκυανινών. Τα 620nm όπου απορροφάται το ερυθρό χρώμα και εμφανίζεται το κυανοπράσινο. Αυτό το χρώμα δηλώνει την ύπαρξη ανθοκυανινών υπό μορφή της άνυδρης βάσης. Στα 420 nm γίνεται η απορρόφηση του ιώδες και το εμφανιζόμενο χρώμα είναι το κίτρινο- πράσινο που συνήθως είναι αρνητική ένδειξη για το λευκό οίνο (Κουράκου-Δραγώνα, 1998, Ivanova et al., 2010).

Οι μετρήσεις απορρόφησης των εκχυλισμάτων των ραγών, οι οποίες αναγράφονται στον Πίνακα 14, εξασφαλίζουν μια εκτίμηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολών στο χυμό των ραγών της κάθε μεταχείρισης.

**Πίνακας 14.** Οι ενδείξεις του φασματοφωτόμετρου για μούστο ανά επέμβαση σε μήκη κύματος 280nm, 520nm, 620nm και 420nm.

Τύπος Μούστου	d280 εκφρασμένα σε ABS	d520 εκφρασμένα σε ABS	d620 εκφρασμένα σε ABS	d420 εκφρασμένα σε ABS
M	0,387	0,073	0,056	0,110
X	0,402	0,088	0,070	0,145
V 5%	0,397	0,048	0,034	0,075
V 10%	0,390	0,045	0,032	0,080
O 2%	0,410	0,098	0,070	0,160
O 5%	0,354	0,068	0,058	0,148

Τα αποτελέσματα της φασματοφωτομέτρησης απεικονίζονται στην καμπύλη των μεταβολών της απορρόφησης στα μήκη κύματος με τους αντίστοιχους τύπους οίνων (Εικ. 40).



**Εικόνα 40.** Η καμπύλη μεταβολών της απορρόφησης στα μήκη κύματος με τους αντίστοιχους τύπους οίνων.

Η περιεκτικότητα των συστατικών των μούστων σε φαινόλες, χρωστικές και μονομερείς ενώσεις, όπως φαίνεται από την καμπύλη του διαγράμματος, διαφέρουν από μούστο σε μούστο. Μικρές είναι οι διαφορές μεταξύ των τύπων Χαλκούχου, Vitosan 5%, Oleosan 2% και Oleosan 5%. Αντιθέτως, παρατηρείται μια έντονα μειωμένη απορροφητικότητα στα μήκη κύματος, 420nm, των τύπων μούστων Μάρτυρας και Vitosan 10%. Αυτό σημαίνει, ότι οι μούστοι τους περιέχουν μικρότερες συγκεντρώσεις ορισμένων πολυμερών ενώσεων, που είναι υπεύθυνες για το κίτρινο- καφέ χρώμα.

Τα μήκη κύματος 420nm και 520nm θεωρούνται κλειδιά. Σε αυτά τα μήκη κύματος βασίζεται ο υπολογισμός της έντασης και της απόχρωσης του χρώματος. Μαζί συντελούν στην ανάπτυξη της εντύπωσης του ερυθρωπού, καφετί ή κίτρινου χρώματος. Η ένταση του χρώματος του εκχυλίσματος (I), σύμφωνα με την αποδεκτή, επίσημη μέθοδος από τον OIV, εκφράζεται ως το άθροισμα των απορροφήσεων στα 420nm, στα 520nm και στα 620nm, και επειδή χρησιμοποιούνται κυψελίδες πάχους 10mm πολλαπλασιάζονται επί 10:

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

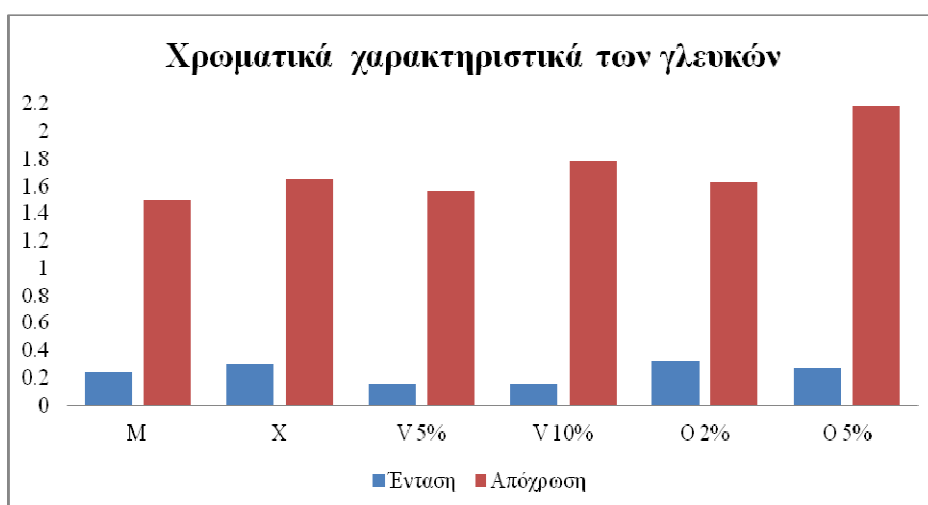
Η απόχρωση από το πηλίκιο των δυο απορροφήσεων (N):

$N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$ , (Πίνακας 15) (Κουράκου- Δραγώνα Σ., 1998) (Ivanova V. et al., 2010).

**Πίνακας 15.** Τα χρωματικά χαρακτηριστικά του κάθε τύπου μούστου.

ΤΥΠΟΙ ΜΟΥΣΤΩΝ	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΧΡΩΜΑΤΟΣ	ΧΡΩΜΑΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	
		ΈΝΤΑΣΗ $A_{420} + A_{520} + A_{620}$	ΑΠΟΧΡΩΣΗ $A_{420} : A_{520}$
M	ΑΝΟΙΧΤΟ ΚΙΤΡΙΝΟ	0,239	1,50
X	ΑΝΟΙΧΤΟ ΚΙΤΡΙΝΟ	0,303	1,65
V5%	ΡΟΖΕ	0,157	1,56
V10%	ΡΟΖΕ ΕΝΤΟΝΟ	0,157	1,78
O2%	ΕΛΑΦΡΥ ΚΙΤΡΙΝΟΠΡΑΣΙΝΟ	0,328	1,63
O5%	ΚΙΤΡΙΝΟ-ΠΡΑΣΙΝΟ	0,274	2,18

Στη συνέχεια, κατασκευάζεται η γραφική παράσταση. Στην Εικόνα 41, διακρίνεται ότι η ένταση του χρώματος του μούστου εκφράζεται σε αναλογία με την απόχρωσή του.



**Εικόνα 41.** Οι τιμές απορρόφησης των χρωματικών χαρακτηριστικών των γλευκών.

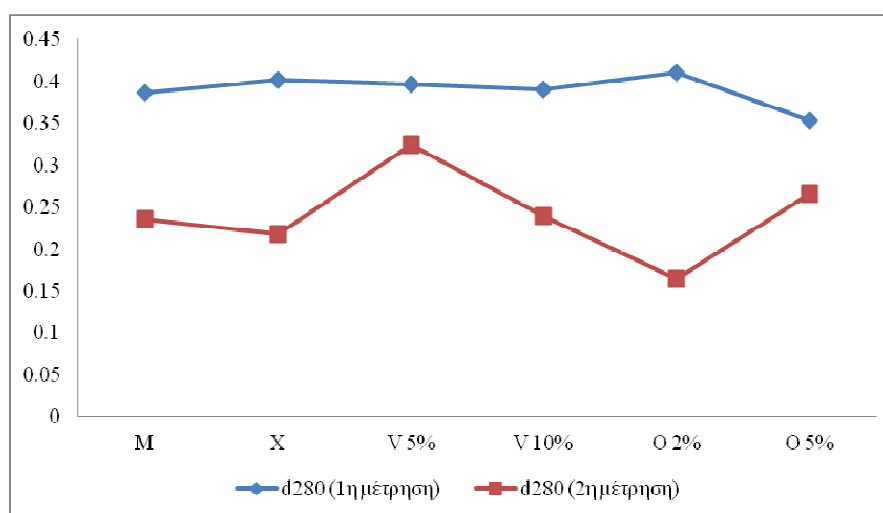


Η ένταση ή αλλιώς η πυκνότητα του χρώματος δηλώνει την αξία του ως προς την τάση του μούστου στη γήρανση. Το μέγιστο όριο της που ορίζεται ότι ο μούστος είναι ικανός να μετατραπεί σε ένα καλό κρασί είναι 1,2 έως 1,3 (Ribéreau – Gayon et al., 2006). Στην περίπτωση μας, όλοι οι τύποι γλεύκους προδιαθέτουν θετικά τη μελλοντική μετατροπή τους σε οίνους καλής ποιότητας.

Η φασματοφωτομετρική ανάλυση των μούστων επαναλήφθηκε μετά από μία μέρα. Αυτήν τη φορά, έγινε μόνο η μέτρηση της απορρόφησής τους στα 280nm, όπως φαίνεται στον Πίνακα 16. Στη συνέχεια, έγινε η γραφική απεικόνιση του δείκτη των ολικών φαινολών, μαζί και τις δύο μετρήσεις (Εικόνα 42).

**Πίνακας 16.** Ενδείξεις φασματοφωτόμετρου d280 σε μούστο ανά επέμβαση.

Τύπος Μούστου	d280 εκφρασμένο σε ABS
M	0,235
X	0,218
V 5%	0,324
V 10%	0,240
O 2%	0,164
O 5%	0,266



**Εικόνα 42.** Οι δείκτες ολικών φαινολών ανά τύπου γλεύκους της 1<sup>ης</sup> και της 2<sup>ης</sup> μέτρησης.

Η μέτρηση του δείκτη των ολικών φαινολών θα αποτελέσει ένδειξη για τη στυφάδα της γεύσης, εάν εκτιμηθεί κατά την οργανοληπτική εξέταση που ακολουθήσει. Συγκρίνοντας τις δύο μετρήσεις, παρατηρείται μια γενική μείωση της απορρόφησης φωτός στο μήκος κύματος 280nm. Το γλεύκος τύπου Vitosan 5%, έχει τη μικρότερη μείωση, ενώ εντονότερη μείωση απορρόφησης συναντάται στο τύπο γλεύκους, Oleosan 2%. Οι τιμές διαφέρουν εξαιτίας τις διαφορετικές μεταχειρίσεις των σταφυλιών που έγιναν και την ωριμότητα των σταφυλιών.

#### 4.1.1.4.5 Αποτελέσματα της οργανοληπτικής εξέτασης των γλεύκων

Μετά στο τέλος των εργαστηριακών αναλύσεων των κατηγοριών των γλευκών, πραγματοποιήθηκε η πρώτη οργανοληπτική εξέτάσή τους. Η οργανοληπτική εξέταση έγινε με τα είδη των γλευκών τοποθετημένων σε ογκομετρικούς κυλίνδρους, το ένα παράλληλα στο άλλο και χρησιμοποιήθηκαν οι αισθήσεις της όρασης, όσφρησης και γεύσης. Οι εκτιμήσεις με βάση τις αισθήσεις αναγράφονται λεπτομερώς στον Πίνακα 17.

**Πίνακας 17.** Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής εξέτασης της κάθε κατηγορίας γλεύκους.

ΑΙΣΘΗΣΗ		ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ					
		Μ	Χ	V 5%	V 10%	O 2%	O 5%
ΌΨΗ	ΔΙΑΥΓΕΙΑ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΔΙΑΥΓΗΣ
	ΧΡΩΜΑ	ΛΕΥΚΟ-ΚΙΤΡΙΝΟ	ΛΕΥΚΟ-ΚΙΤΡΙΝΟ	ΕΡΥΘΡΟ	ΈΝΤΟΝΟ ΕΡΥΘΡΟ	ΚΙΤΡΙΝΟ-ΠΡΑΣΙΝΟ	ΚΙΤΡΙΝΟ-ΠΡΑΣΙΝΟ
ΟΣΜΗ	ΈΝΤΑΣΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ	ΑΙΣΘΗΤΟ	ΈΝΤΟΝΟ	ΕΛΑΦΡΟ	ΕΛΑΦΡΟ	ΈΝΤΟΝΟ	ΑΙΣΘΗΤΟ
	ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΑΡΩΜΑΤΟΣ	ΠΟΛΥ ΑΡΜΟΝΙΚΟ	ΠΟΛΥ ΑΡΜΟΝΙΚΟ	ΣΥΝΘΕΤΟ	ΣΥΝΘΕΤΟ	ΣΥΝΘΕΤΟ	ΣΥΝΘΕΤΟ
ΓΕΥΣΗ	ΈΝΤΑΣΗ ΣΩΜΑΤΟΣ	ΓΕΜΑΤΟ	ΓΕΜΑΤΟ	ΠΛΟΥΣΙΟ	ΠΛΟΥΣΙΟ	ΦΤΩΧΟ	ΦΤΩΧΟ
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ		ΠΟΛΥ ΚΑΛΟ	ΠΟΛΥ ΚΑΛΟ	ΚΑΛΟ	ΚΑΛΟ	ΜΕΤΡΙΟ	ΜΕΤΡΙΟ

Η οργανοληπτική εξέταση του Μάρτυρα και της Χαλκούχου επέμβασης δείχνει πολύ

καλά αποτελέσματα. Οι εκτιμήσεις των χαρακτηριστικών όψης, οσμής και γεύσης των μούστων τους εκτιμήθηκαν αντιπροσωπευτικές της ποικιλίας Πλυτό. Τα γλεύκη των σταφυλιών που μεταχειρίστηκαν με τα σκευάσματα Vitosan 5% και 10% είχαν μια σημαντική απόκλιση του χρώματος από την ποικιλία. Χαρακτηρίζονταν με έντονο ερυθρό χρώμα, με αναλογία στην ένταση σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση Vitosan. Το γλεύκος με το χειρισμό Vitosan 10% παρουσιάζει ακόμα πιο βαθύ το ερυθρό χρώμα, από το γλεύκος με το χειρισμό Vitosan 5%. Τα υπόλοιπα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους ήταν αρκετά καλά. Τελικώς, οι μούστοι τους προσδιορίστηκαν ως ουδέτεροι. Σημαντική εξαίρεση αποτέλεσαν οι μούστοι που προήλθαν από τα σταφύλια που τους είχαν κάνει χειρισμό με το Oleosan. Οι μούστοι από τις επεμβάσεις με το Oleosan έχουν ελαφριά απόκλιση με πράσινη απόχρωση, επίσης με αναλογία έντασης με το ποσοστό επέμβασης. Χαρακτηρίστηκε ότι στο Oleosan 2% έγινε μια μικρή αλλοίωση οσμής αλλά πιο έντονη παρουσίασε το Oleosan 5% το οποίο άφηνε και μια γεύση λαδιού.

#### **4.1.1.5 Αποτελέσματα της εποπτείας ελεγχόμενης αλκοολικής ζύμωσης**

##### **4.1.1.5.1 Αποτελέσματα του εμβολιασμού με καθαρή ζύμη**

Η εφαρμογή χαμηλής θερμοκρασίας στη στατική απολάσπωση είχε ως αποτέλεσμα την επιβράδυνση της αλκοολικής ζύμωσης. Με σκοπό την εξασφάλιση της αύξησης της ταχύτητας της αλκοολικής ζύμωσης και της ολοκλήρωσής της, έγινε προσθήκη συγκεκριμένης ζύμης. Για το λόγο αυτό, επιλέχθηκε το σκεύασμα Actiflore Bayanus (code: BO 213), που περιέχει στελέχη της ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* var. *Bayanus*. Προετοιμάστηκε το εμβόλιο-ζύμη.

Η ζύμη ενυδατώθηκε και στη συνέχεια, τροφοδοτήθηκε με ζάχαρη, ως το θρεπτικό συστατικό για τον πολλαπλασιασμό της ζύμης. Οι ποσότητες που έπρεπε να προστεθούν ανά νταμιτζάνα υπολογίστηκαν, σύμφωνα με την αναγραφόμενη, προτεινόμενη δοσολογία 20gr εμβόλιο σε 100 l μούστου. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των τριών, με βάση του βάρους τους, εκφρασμένο σε kg, από τον Πίνακα 7. Οι κατάλληλες δοσολογίες προστέθηκαν μετά την απολάσπωση για την επίτευξη της βέλτιστης ποιότητας.

Στον Πίνακα 18, παρουσιάζονται οι προστιθέμενες ποσότητες εμβολίου ανά τύπου γλεύκους.

**Πίνακας 18.** Η ποσότητα του εμβολίου ανά αντίστοιχο μούστο. (Όπου χρησιμοποιείται το: 1 για SO<sub>2</sub> και το 2 για Vitosan.)

Τύπος Μούστου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Δόση Εμβολίου σε gr
M	1	60
M	2	56
V	1	72
V	2	68
O	1	98
O	2	108

#### 4.1.1.5.2 Αποτελέσματα του ελέγχου των αναγόντων σακχάρων

Όταν οι εργαστηριακές αναλύσεις των μούστων ολοκληρώθηκαν, άρχισαν εκείνες των οίνων. Ξεκίνησαν μια σειρά από μετρήσεις των αναγόντων σακχάρων, με σκοπό την εποπτεία της αλκοολικής ζύμωσης.

**Πίνακας 19.** Η πρώτη μέτρηση του ελέγχου των αναγόντων σακχάρων ανά τύπο μούστου.

**29/09/2010**

Τύπος Μούστου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θερμοκρασία σε °C	Βαθμοί B <sup>me</sup>	Διορθωμένοι Βαθμοί B <sup>me</sup>
M	1	26	2,2	2,6
M	2	25	1,7	2,05
V	1	26	6,1	6,4
V	2	25	5,6	5,85
O	1	27	5,1	5,45
O	2	26	6,2	6,5

Η μέτρηση αυτή είναι πολύ σημαντική γιατί πιστοποιεί το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης. Η χρήση του αραιομέτρου βοηθά στην κατανόηση με τι βαθμό έντασης πραγματοποιείται η αλκοολική ζύμωση. Ενδεικνύοντας την πυκνότητα του διαλύματος,

γίνεται αντιληπτό ότι όσο πιο ψηλά ανεβαίνει το αραιόμετρο στο διάλυμα (δηλαδή δείχνει μεγαλύτερη τιμή Baumé) τόσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των σακχάρων. Αντίθετα, όσο το αραιόμετρο βυθίζεται στο διάλυμα (δηλαδή δείχνει μικρότερη τιμή Baumé), τόσο εντονότερη γίνεται η αλκοολική ζύμωση. Οι τιμές των αναγόντων σακχάρων, όπως φαίνεται στον πίνακα, δείχνουν ότι η αλκοολική ζύμωση προχωρά και στα έξι.

Οι παρατηρήσεις που κάναμε όταν τοποθετήθηκαν και οι έξι ογκομετρικοί κύλινδροι με τον αντίστοιχο μούστο ο ένας δίπλα στον άλλο ήταν: Οι μούστοι Vitosan με θειώδες και Vitosan με vitosan παρουσιάζουν έντονη διαφορά χρώματος από τους υπόλοιπους μούστους, το χρώμα τους είναι κόκκινο-καφέ. Ο μούστος του Μάρτυρα με θειώδες έχει λιγότερο ωραίο χρώμα από το Μάρτυρα με Vitosan, αλλά είναι καθαρό χρώμα, χρώμα που αντιπροσωπεύει την ποικιλία και έχει καλή γεύση. Ο Μάρτυρας με Vitosan είναι ελαφρώς μεταχρωματισμένος, έχει ωραίο άρωμα και ωραία γεύση.

Την επομένη μέρα επαναλήφθηκαν οι μετρήσεις κατά την πρωινή ώρα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα.

**Πίνακας 20.** Η δεύτερη μέτρηση του ελέγχου των αναγόντων σακχάρων ανά τύπο μούστου.

**30/09/2010**

Τύπος Μούστου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θερμοκρασία σε °C	Βαθμοί B <sup>me</sup>	Διορθωμένοι Βαθμοί B <sup>me</sup>
M	1	26	0	0
M	2	27	0	0
V	1	28	3,2	3,6
V	2	28	3,2	3,6
O	1	29	2,3	2,75
O	2	28	3,1	3,4

Παρατηρείται ότι ο οίνος τύπου Μάρτυρα ολοκλήρωσε την αλκοολική ζύμωση πιο γρήγορα από τους άλλου τύπους οίνου. Συνεχίζονται οι μετρήσεις για τους οίνους τύπου Vitosan και Oleosan. Την ίδια μέρα, μετά από περίπου 9 ώρες, δηλαδή το απόγευμα, έγιναν ξανά οι μετρήσεις ελέγχου των αναγόντων σακχάρων, οι οποίες αναρτούνται στον Πίνακα 12.

**Πίνακας 21.** Η τρίτη μέτρηση του ελέγχου των αναγόντων σακχάρων ανά τύπο μούστου..

Τύπος Μούστου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θερμοκρασία σε °C	Βαθμοί σε B <sup>me</sup>	Διορθωμένοι Βαθμοί B <sup>me</sup>
M	1	28	0	0
M	2	27	0	0
V	1	28	2	2,40
V	2	28	2	2,40
O	1	29	1,1	1,55
O	2	29	2	2,45

Το επόμενο πρωί, την ίδια ώρα, πήραμε την τέταρτη μέτρηση του δυναμικού αλκοολικού τίτλου των τεσσάρων επεμβάσεων που δεν είχε σταματήσει η αλκοολική ζύμωση.

**Πίνακας 22.** Η τέταρτη μέτρηση του ελέγχου των αναγόντων σακχάρων ανά τύπο μούστου.

**01/10/2010**

Τύπος Μούστου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θερμοκρασία σε °C	Βαθμοί B <sup>me</sup>	Διορθωμένοι Βαθμοί B <sup>me</sup>
M	1	-	-	-
M	2	-	-	-
V	1	26	1,0	1,30
V	2	27	0,9	1,25
O	1	28	0	-
O	2	27	0,8	1,15

Η αλκοολική ζύμωση του Oleosan με το θειώδες ολοκληρώθηκε, οπότε σταματάνε και για αυτό το κρασί οι μετρήσεις με το αραιόμετρο. Το απόγευμα της ίδιας μέρας επαναλαμβάνετε ο έλεγχος των σακχάρων, όπου και διαπιστώθηκε και στις τρεις περιπτώσεις που έχουν μείνει η πλήρη μετατροπή των σακχάρων σε αλκοόλη, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 23.

**Πίνακας 23.** Η πέμπτη μέτρηση του ελέγχου των αναγόντων σακχάρων ανά τύπο μούστου.

Τύπος Μούστου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θερμοκρασία σε °C	Βαθμοί B <sup>me</sup>	Διορθωμένοι Βαθμοί B <sup>me</sup>
M	1	-	-	-
M	2	-	-	-
V	1	25	0,3	0,55
V	2	25	0,5	0,75
O	1	-	-	-
O	2	26	0,3	0,60

**Πίνακας 24.** Η έκτη μέτρηση του ελέγχου των αναγόντων σακχάρων ανά τύπο μούστου.**02/10/2010**

Τύπος Μούστου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θερμοκρασία σε °C	Βαθμοί B <sup>me</sup>	Διορθωμένοι Βαθμοί B <sup>me</sup>
M	1	-	-	-
M	2	-	-	-
V	1	-	0	-
V	2	-	0	-
O	1	-	-	-
O	2	-	0	-

Η διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης και για τα έξι κρασιά ολοκληρώθηκε. Οι χειρισμοί τους συνεχίστηκαν με την μετάγγιση. Κατά τη διάρκεια της μετάγγισης για κάθε περίπτωση, έλαβαν μέρος παρατηρήσεις σχετικά με το χρώμα, το άρωμα, τη γεύση και την οινολάσπη.

#### 4.1.1.6 Αποτελέσματα της μεταγγίσεως

Η διαδικασία της μετάγγισης πραγματοποιήθηκε εντός δύο ημερών στο χώρο του ψυκτικού θαλάμου, μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης. Οι συνθήκες που

επικρατούσαν στο χώρο αυτό, ήταν δροσερός και σκοτεινός όσο θα μπορούσε ένα δωμάτιο την ημέρα. Σκοπός αυτού του σταδίου είναι ο διαχωρισμός του οίνου με τις οινολάσπες οι οποίες καθιζάνουν στις νταμιτζάνες. Είναι αναγκαία η άμεση εφαρμογή αυτής της διαδικασίας για να αποφευχθούν καταστάσεις ανάπτυξης θολωμάτων και ασθeneιών στο κρασί.

Η μετάγγιση ξεκίνησε την πρώτη ημέρα με τον οίνο Μάρτυρα με θειώδες, έπειτα το Μάρτυρα με Vitosan και το Vitosan με θειώδες. Τη δεύτερη ημέρα με το Vitosan με Vitosan, το Oleosan με θειώδες και τέλος με το Oleosan με Vitosan.

Στη διάρκεια της διαδικασίας της μετάγγισης, ο αερισμός του οίνου ήταν αναπόφευκτος. Ο αερισμός κατά τη μετάγγιση αναδεικνύει τα αρώματα του οίνου έτσι, λοιπόν, παρακολούθηθηκαν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των νεοπαραγόμενων πειραματικών οίνων. Όλες οι λεπτομέρειες των οργανοληπτικών παρατηρήσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 25.

Τα κρασιά τύπου Μάρτυρας διατηρούσαν τη διαύγειά τους, το καλό και αντιπροσωπευτικό χρώμα της ποικιλίας, το ευχάριστο άρωμα και τη γεύση. Μια μικρή απόκλιση του χρώματος παρουσίασε ο οίνος τύπου Μάρτυρα με Vitosan, ο οποίος μεταχρωματίστηκε ελαφρώς ερυθρός ο οίνος. Στη βάση του δοχείου εντοπίστηκε μεγαλύτερο ποσοστό οινολάσπης από το δοχείο του Μάρτυρα με το θειώδες.

Τα κρασί τύπου Vitosan με θειώδες παρουσίαζε έντονη απόκλιση από το χαρακτηριστικό χρώμα της ποικιλίας Πλυτό. Ήταν ένας κοκκινωπός-καφετί χρωματισμός. Το κρασί τύπου Vitosan με Vitosan είχε ελάχιστα πιο βαθύ ερυθρό χρωματισμό από το κρασί Vitosan με θειώδες. Οινολάσπη, στις περιπτώσεις αυτές, υπήρχε σε μεγαλύτερο βαθμό από τις περιπτώσεις των οίνων του Μάρτυρα. Τα υπόλοιπα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους εκτιμούνται πολύ θετικά.

Τα κρασιά τύπου Oleosan εξελίχθηκαν με μειωμένη διαύγεια. Χαρακτηρίστηκαν από έντονη θολερότητα. Το κρασί τύπου Oleosan με θειώδες διατηρούσε τον κιτρινοπράσινο χρωματισμό που είχε αρχικά, από τη φάση του μούστου. Αντιθέτως, το Oleosan με Vitosan είχε μεταχρωματιστεί ελαφρώς προς ερυθρό. Οι γεύσεις τους ήταν με ελάττωμα, εφόσον ήταν πολύ βαριά στην κατάποση και αφήναν έντονα στη γλώσσα μια ελαιώδη αίσθηση.



**Πίνακας 25.** Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των πειραματικών οίνων κατά τη μετάγγιση.**02/10/2010 & 03/10/2010**

ΑΙΣΘΗΣΗ		ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΟΙΝΟΥ					
		Μ	Μ	Ν	Ν	Ο	Ο
		1	2	1	2	1	2
ΨΗ	ΔΙΑΥΓΕΙΑ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΘΟΛΟ	ΘΟΛΟ
	ΟΙΝΟΛΑΣΠΗ	ΑΡΚΕΤΗ	ΑΡΚΕΤΗ	ΠΛΟΥΣΙΑ	ΠΛΟΥΣΙΑ	ΠΛΟΥΣΙΑ	ΠΛΟΥΣΙΑ
	ΧΡΩΜΑ	ΛΕΥΚΟ-ΚΙΤΡΙΝΟ	ΛΕΥΚΟ-ΚΙΤΡΙΝΟ	ΕΡΥΘΡΟ	ΈΝΤΟΝΟ ΕΡΥΘΡΟ	ΚΙΤΡΙΝΟ-ΠΡΑΣΙΝΟ	ΚΑΦΕ-ΚΟΚΚΙΝΟ
ΟΣΜΗ	ΈΝΤΑΣΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ	ΑΙΣΘΗΤΟ	ΈΝΤΟΝΟ	ΕΛΑΦΡΟ	ΕΛΑΦΡΟ	ΈΝΤΟΝΟ	ΑΙΣΘΗΤΟ
	ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΑΡΩΜΑΤΟΣ	ΠΟΛΥ ΑΡΜΟΝΙΚΟ	ΠΟΛΥ ΑΡΜΟΝΙΚΟ	ΣΥΝΘΕΤΟ	ΣΥΝΘΕΤΟ	ΣΥΝΘΕΤΟ	ΣΥΝΘΕΤΟ
ΓΕΥΣΗ	ΈΝΤΑΣΗ ΣΩΜΑΤΟΣ	ΓΕΜΑΤΟ	ΓΕΜΑΤΟ	ΠΛΟΥΣΙΟ	ΠΛΟΥΣΙΟ	ΦΤΩΧΟ	ΦΤΩΧΟ
	ΚΑΤΑΠΟΣΗ ΟΙΝΟΥ	ΕΥΚΟΛΗ	ΕΥΚΟΛΗ	ΕΥΚΟΛΗ	ΕΥΚΟΛΗ	ΒΑΡΙΑ/ΔΥΣΑΡΕΣΤΗ	ΒΑΡΙΑ
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ		ΠΟΛΥ ΚΑΛΟ	ΠΟΛΥ ΚΑΛΟ	ΚΑΛΟ	ΚΑΛΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ

**4.1.1.7 Αποτελέσματα της μεταγγίσεως**

Μετά από 1,5 περίπου μήνα της ολοκλήρωσης της μετάγγισης, ξεκίνησε το στάδιο της εμφιάλωσης του πειραματικών οίνων. Είναι μια απλή, μηχανική διαδικασία. Είναι αναγκαία γιατί δίνει στο κρασί την τελική του μορφή ως προϊόν. Χρησιμοποιήθηκαν φιάλες σκούρου χρώματος για προστασία των οίνων από το φως και πρασινωπό γυαλί όπως συνιστάται ως αδρανές υλικό συσκευασίας των λευκών οίνων. Οι φιάλες που χρειάστηκαν για την εμφιάλωση όλης της ποσότητας του οίνου, φαίνονται στον Πίνακα 26. Τα πώματα φελλού

προτιμήθηκαν επειδή προσφέρουν καλή ποιότητα στεγανότητα, ελαστικότητα και προστασία από εξωγενής οσμές και από την οξείδωση..

**Πίνακας 26.** Ο αριθμός των εμφιαλωμένων φιαλών ανά κατηγορία οίνου.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Αριθμός Φιαλών
M	1	19
M	2	22
V	1	23
V	2	23
O	1	23
O	2	23

Μετά την τοποθέτηση των πωμάτων, ακολούθησε η κόλληση των ετικετών στις φιάλες. Η ετικέτα είχε την εξής μορφή:

<b>ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΟΙΝΟΣ</b>	
<b>ΠΟΙΚΙΛΙΑ: ΠΛΥΤΟ</b>	
<b>ΗΜ/ΝΙΑ ΣΥΓΚΟΜΙΔΗΣ: 19/09/2010</b>	
<b>ΠΕΙΡ. ΑΜΠΕΛΟΤΕΜΑΧΙΟ:</b>	<b>A</b>
<b>ΤΡΟΠΟΣ ΟΙΝ/ΣΗΣ:</b>	<b>B</b>

Όπου α: το όνομα του χειρισμού του αμπελοτεμάχου, δηλαδή Μάρτυρας ή Vitosan ή Oleosan, και

όπου β: το είδος της προσθήκης, δηλαδή προσθήκη SO<sub>2</sub> ή προσθήκη Vitosan.

Τέλος, αποθηκεύονται στο θάλαμο ψύξης, στις εγκαταστάσεις του αγροκτήματος του ΤΕΙ Κρήτης, με ρυθμιζόμενη θερμοκρασία θαλάμου στους +20 °C.

## 4.2 Αποτελέσματα μετα-οινοποιήσεων χειρισμών

### 4.2.1 Πείραμα 2011

Στον Πίνακα 27, παρουσιάζεται η κατάσταση στην οποία βρέθηκαν οι φιάλες οίνων.

**Πίνακας 27.** Η κατάσταση των μπουκαλιών μετά από το ατύχημα.

**13/ 01 2011**

Τύπος Πειραματικού Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Αρχικός Αριθμός Φιαλών	Τελικός Αριθμός Φιαλών	Θολές Φιάλες	Φιάλες Χωρίς Φελλό
M	1	19	18	-	-
M	2	22	18	2	-
V	1	23	21	-	-
V	2	23	18	2	3
O	1	23	18	-	-
O	2	23	19	1	-

Γενικά, αυτό που παρατηρήθηκε για την κατάσταση των πειραματικών οίνων είναι ότι υπέστησαν σε συνθήκες, οι οποίες προκάλεσαν τη ραγδαία γήρανσή τους. Η γήρανση αυτή εκτιμάται να προσεγγίζει τα χαρακτηριστικά γήρανσης που θα εμφάνιζαν σε 4- 5 χρόνια. Για την περαιτέρω εκτίμηση της κατάστασης των πειραματικών οίνων, επακολούθησαν μια σειρά από εργαστηριακές αναλύσεις τους.

#### 4.2.1.1 Αποτελέσματα της οργανοληπτικής εξέτασης των πειραματικών οίνων

Έγινε δειγματοληψία 1 μπουκάλι από κάθε επέμβαση, για τη φαινοτυπική σύγκριση των πειραματικών οίνων.

**Πίνακας 28.** Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των πειραματικών οίνων κατά τη συντήρηση.

ΑΙΣΘΗΣΗ		ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΟΙΝΟΥ					
		Μ		V		Ο	
		1	2	1	2	1	2
ΟΨΗ	ΔΙΑΥΓΕΙΑ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΔΙΑΥΓΗΣ	ΕΛΑΦΡΙΑ ΘΟΛΟ	ΘΟΛΟ	ΔΙΑΥΓΗ/ΛΑΜΠΡΟ	ΔΙΑΥΓΗ
	ΧΡΩΜΑ	ΚΙΤΡΙΝΟ-ΠΡΑΣΙΝΟ/ΚΑΦΕ	ΕΡΥΘΡΟ	ΚΑΦΕ	ΚΟΚΚΙΝΟ-ΚΑΦΕ	ΠΡΑΣΙΝΟ-ΚΙΤΡΙΝΟ/ΚΑΦΕ	ΕΡΥΘΡΟ
ΟΣΜΗ	ΜΕ ΕΛΑΤΤΩΜΑ	ΈΝΤΟΝΟ	ΑΝΕΠΑΙΣΘΗΤΟ	ΛΙΓΑ ΑΡΩΜΑΤΑ ΑΝΘΕΩΝ	ΕΛΑΦΡΟ	ΈΝΤΟΝΟ	ΑΙΣΘΗΤΟ
	ΤΟ ΕΛΑΤΤΩΜΑ ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ	ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ	ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ	-	ΟΣΜΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ	ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ	ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ
ΕΥΣΗ	ΈΝΤΑΣΗ ΣΩΜΑΤΟΣ	ΦΤΩΧΟ	ΦΤΩΧΟ	ΚΑΝΟΝΙΚΟ	ΦΤΩΧΟ	ΦΤΩΧΟ	ΦΤΩΧΟ
	ΚΑΤΑΠΟΣΗ ΟΙΝΟΥ	ΒΑΡΙΑ	ΔΥΣΑΡΕΣΤΗ	ΣΥΝΗΘΙΣΜΕΝΗ	ΔΥΣΑΡΕΣΤΗ	ΣΥΝΗΘΙΣΜΕΝΗ	ΒΑΡΙΑ
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ		ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΠΟΛΥ ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΜΕΤΡΙΟ	ΠΟΛΥ ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΠΟΛΥ ΑΡΝΗΤΙΚΟ

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 28, όλοι οι τύποι των κρασιών υπέστη αλλοίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Τα κρασιά οξειδώθηκαν με αποτέλεσμα τον έντονο μεταχρωματισμό τους, με μεγάλη απόκλιση από το επιθυμητό. Εν τω πλείστω, τα χρώματά τους προσεγγίζουν το καφετί. Χρώμα ακριβώς όπως αναμένονταν από κακομεταχειρισμένο από υψηλές θερμοκρασίες λευκό οίνο. Σημειώνεται ότι ο πειραματικός οίνος, Μάρτυρας με θειώδες, διατήρησε καλή διαύγεια καθώς και είχε τη μικρότερη αλλοίωση του χρώματος. Όσον αφορά τη διαύγεια, οι οίνοι με την προσθήκη του θειώδες είναι περισσότερο διαυγή σε σύγκριση με αυτά με την προσθήκη Vitosan που είναι σχετικά θολά. Το κρασί Vitosan με Vitosan ήταν θολό. Έγινε, λοιπόν, δειγματοληψία μιας μικρής ποσότητας κρασιού και το περάστηκε από φίλτρο. Παρατηρήθηκε «συννέφιασμα», που οδήγησε σε υποψία για εκτροπή.

Τα κρασιά με επέμβαση το θειώδες διατήρησαν σε καλύτερο βαθμό το χρώμα. Η εξέλιξη των χρωστικών ειδικά στο κρασί Oleosan με θειώδες ήταν η μικρότερη. Το Oleosan με θειώδες παρουσίαζε μεγαλύτερη διαύγεια από όλα τα άλλα δείγματα κρασιών. Κράτησε

καλύτερα και το χρώμα, βέβαια διατηρούσε την πρασινοκίτρινη απόχρωσή του. Αντίθετα, τα κρασιά με τις επεμβάσεις Vitosan παρουσίασαν μεγαλύτερη εξέλιξη, που είναι φυσιολογικό επακόλουθο αφού το Vitosan περιέχει περισσότερες χρωστικές. Κατά φθίνουσα σειρά, λαμπρότητα παρουσίασε μεγαλύτερη:

$$O-1 > V-1 > O-2 > V-2 > M-1 > M-2$$

Κατά φθίνουσα σειρά, το κρασί με το καλύτερο άρωμα ήταν:

$$V-1 > O-1 > M-1 > M-2 > O-2 > V-2$$

Γενικά, παρατηρούμε ότι η εξέλιξη επηρέασε λιγότερο τη γεύση, από όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Η κατάποση τους, γενικά, ήταν υποφερτή. Εξαίρεση αποτελεί ο οίνος Vitosan με Vitosan, του οποίου η γεύση είναι ανούσια και δυσάρεστη. Επιπλέον, οι πειραματικοί οίνοι Oleosan με θειώδες και Oleosan με Vitosan γευστικά ήταν ενοχλητικά δυσάρεστη, εφόσον διατηρούσαν την ελαιώδη υφή.

Σύμφωνα με τις τελευταίες παρατηρήσεις, οδήγησε το πείραμα, έπειτα από μιάμιση εβδομάδα να γίνει η μέτρηση του ολικού και ελεύθερου θειώδους και να επαναληφθούν οι μετρήσεις της ολικής και πτητικής οξύτητας και του αλκοολικού τίτλου.

#### **4.2.1.2 Αποτελέσματα των εργαστηριακών αναλύσεων των πειραματικών οίνων στις 13/01/2011**

##### **4.2.1.2.1 Αποτελέσματα της μέτρησης ολικής οξύτητας των πειραματικών οίνων**

**Πίνακας 29.** Τα αποτελέσματα της πρώτης μέτρησης της ολικής οξύτητας ανά πειραματικό οίνο.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Όγκος του διαλύματος NaOH 0,1N που καταναλώθηκε (ml)	Ολική Οξύτητα εκφρασμένη σε gr τρυγικού οξέος/l
M	1	3,1	4,65
M	2	4,05	6,075
V	1	2,8	4,2
V	2	3,25	4,875
O	1	2,82	4,35
O	2	3,05	4,575

Ο υπολογισμός της ολικής οξύτητας γίνεται με την ίδια μεθοδολογία που

ακολουθείται στην υποενότητα 4.1.1.4.2 της ενότητας των αποτελεσμάτων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 29.

Ο πειραματικός οίνος Μάρτυρας με Vitosan τη μεγαλύτερη ολική οξύτητα, ενώ οι ολικές οξύτητες των άλλων πειραματικών οίνων κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα.

#### **4.2.1.2.2 Αποτελέσματα της πρώτης μέτρησης του αλκοολικού τίτλου αποστάγματος των πειραματικών οίνων**

Η μέτρηση της περιεκτικότητας αλκοόλης ενός οίνου βασίζεται στην αρχή Gay-Lussac και γίνεται με φυσικό τρόπο (απόσταξη – πυκνομετρία). Χρησιμοποιείται ένα αλκοολόμετρο που δείχνει αμέσως τον αλκοολικό βαθμό. Ο όρος αλκοολικός βαθμός ισούται με τον αριθμό των λίτρων καθαρής αλκοόλης που περιέχονται σε 100 λίτρα κρασιού στους 20 °C. Εάν η θερμοκρασία του δείγματος τη στιγμή της ανάγνωσης είναι ίδια δεν χρειάζεται διόρθωση. Εάν είναι διαφορετική τότε γίνεται διόρθωση της ένδειξης, καθοδηγούμενοι από τον Πίνακα III. Αποτελεί έναν τρόπο υπολογισμού της περιεκτικότητας σε αλκοόλ. Η μέθοδος, η οποία ακολουθήθηκε, ήταν με την απόσταξη για τον συνυπολογισμό και της εστεροποιημένης αιθανόλης. Τα αποτελέσματα της πρώτης μέτρησης του αλκοολικού βαθμού αποστάγματος των πειραματικών κρασιών, παρουσιάζονται στον Πίνακα 30.

**Πίνακας 30.** Η πρώτη μέτρηση αλκοολικού τίτλου των πειραματικών οίνων.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θερμοκρασία σε °C	Αλκοολικός Τίτλος	Δ.Α.Τ.
M	1	26	14,4	13,20
M	2	26	13,7	12,60
V	1	26	16,0	14,70
V	2	25,5	15,7	14,60
O	1	25	14,7	13,40
O	2	25,5	14,5	13,40

Οι πειραματικοί οίνοι Vitosan διατηρούν υψηλό αλκοολικό βαθμό. Οι πειραματικοί οίνοι Oleosan και Μάρτυρας έχουν μειωμένο αλκοολικό βαθμό. Αξιοσημείωτη μείωση είναι

του πειραματικού οίνου Μάρτυρας με Vitosan, που είναι το περισσότερο μειωμένο.

#### 4.2.1.2.3 Αποτελέσματα της πρώτης μέτρησης πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων

Η μέθοδος προσδιορισμού της πτητικής οξύτητας βασίζεται στην απόσταξη των πτητικών οξέων σε ρεύμα υδρατμών και στην ογκομέτρηση του αποστάγματος με διάλυμα NaOH 0,1N. Η οξύτητα του αποστάγματος που προκύπτει από την απόσταξη του οίνου ονομάζεται πτητική οξύτητα. Η πτητική οξύτητα δίνει ένα μέτρο της συνολικής παρουσίας τους στον οίνο. Σύμφωνα με τους κανονισμούς της Ευρωπαϊκής Ένωσης είναι αποδεκτό ότι η πτητική οξύτητα αποτελείται από τα οξέα της σειράς του οξικού οξέος που απαντούν στους οίνους, είτε ελεύθερα είτε με μορφή αλάτων. . Επειδή από αυτά τα οξέα το επικρατέστερο είναι το οξικό οξύ, η πτητική οξύτητα εκφράζεται συνήθως σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο ( $\text{g}_{\text{οξικού οξέος}}/\text{l}$ ) αν και ο επίσημος τρόπος έκφρασης είναι σε χιλιοστογραμμοισοδύναμα ανά λίτρο ( $\text{me}/\text{l}$ ). Αμέσως, μετά την τιτλοδότηση γίνεται η κατάλληλη διόρθωση των ml κατανάλωσης διαλύματος NaOH 0,1N και τα δεδομένα καταγράφονται στον Πίνακα 31 (Λυδάκης, 2009, Pand, 2000).

**Πίνακας 31.** Τα αποτελέσματα της πρώτης μέτρησης πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Όγκος του διαλύματος NaOH 0,1N που καταναλώθηκε (ml)	1 <sup>η</sup> Πτητική Οξύτητα εκφρασμένη σε gr οξικού οξέος/ l
M	1	1,30	0,78
M	2	2,20	1,32
V	1	2,10	1,26
V	2	1,3	0,78
O	1	0,7	0,42
O	2	0,8	0,48

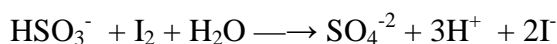
Τα εύρη τιμών πτητικής οξύτητας σε υγρή νεαρά κρασιά είναι 0,1-0,5 gr οξικού οξέος/ l, έως 0,8 gr οξικού οξέος/ l για τα παλιά (Λυδάκης, 2009). Παρατηρείται ότι οι οίνοι Μάρτυρας με θειώδες, Vitosan με Vitosan, Oleosan με θειώδες και Oleosan με Vitosan

ανήκουν στην κατηγορία των υγιή νεαρών κρασιών. Αντιθέτως, οι οίνοι Μάρτυρας με Vitosan και Vitosan με θειώδες έχουν τιμές πτητικής οξύτητας που χαρακτηρίζονται τα παλιά κρασιά.

#### 4.2.1.3 Αποτελέσματα των εργαστηριακών αναλύσεων των πειραματικών οίνων στις 24/01/2011

##### 4.2.1.3.1 Αποτελέσματα προσδιορισμού ελεύθερου διοξειδίου του θείου

Στη λευκή οινοποίηση είναι θεμιτό με την προσθήκη μικρής ποσότητας SO<sub>2</sub> να επιτευχθεί καλή προστασία. Όσο πιο πολύ είναι το ελεύθερο θειώδες τόσο πιο καλά προστατεύεται το χρώμα του. Έτσι, λοιπόν, χρειάζεται να ελέγξη κατά πόσο επηρεάστηκε η παραμένουσα ποσότητα SO<sub>2</sub>. Οι προσδιορισμοί αυτοί έγιναν μόνο στα τρία δείγματα οίνων με επέμβαση θειώδους. Ο προσδιορισμός του ελεύθερου- θειώδη ανυδρίτη βασίζεται στην οξειδοαναγωγική αντίδραση του διοξειδίου του θείου με το ιώδιο ως εξής:



Η οξείδωση γίνεται σε ισχυρά όξινο περιβάλλον, γι' αυτό χρησιμοποιείται διάλυμα H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% κατ' όγκο. Διαφορετικά το ιώδιο αντιδρά με πολυφαινόλες, σάκχαρα, αλδεΐδες και άλλους αναγωγικούς παράγοντες. Το τέλος της αντίδρασης ελέγχεται με την εμφάνιση μπλε χρώματος, όταν η περίσσεια του ιωδίου δίνει χρώμα παρουσία αμύλου. Τα αποτελέσματα δίνονται στον Πίνακα 32.

**Πίνακας 32.** Ο ελεύθερος θειώδες που περιέχεται στους πειραματικούς οίνους με προσθετική ουσία το SO<sub>2</sub>.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Όγκος του διαλύματος ιωδίου N/50 που καταναλώθηκε (ml)	Ελεύθερος Θειώδες εκφραζόμενος σε χιλιοστογραμμάρια SO <sub>2</sub> ανά λίτρο (mg/l)
M	1	1,4	22,4
V	1	1,9	30,4
O	1	0,9	14,4



Ισχύει, γενικά, για τα κρασιά ότι πρέπει να έχουν 30- 40mg/l ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη. Την προϋπόθεση αυτή την τηρεί μόνο ο πειραματικός οίνος Vitosan με θειώδες, αντίθετα οι δυο άλλοι οίνοι έχουν χαμηλή περιεκτικότητα θειώδους. Μάλιστα ο πειραματικός οίνος Oleosan με θειώδες έχει την πιο μικρή περιεκτικότητα.

#### 4.2.1.3.2 Αποτελέσματα προσδιορισμού ολικού διοξειδίου του θείου

Ο υπολογισμός του ολικού θειώδες γίνεται τη μέθοδο τιτλοδότησης με διάλυμα ιωδίου N/50, μεταβάλλοντας το pH του οίνου σε ισχυρά αλκαλικό με προσθήκη KOH. Με αυτόν τον τρόπο, αποδεσμεύεται ο ανυδρίτης από τις ενώσεις του με την ακεταλδεΐδη επιτρέποντας τον ταυτόχρονο προσδιορισμό και της δεσμευμένης μορφής. Ακολουθώντας αυτήν τη μέθοδο προσδιορισμού του ολικού διοξειδίου του θείου, τα αποτελέσματα καταγράφονται στον Πίνακα 33.

**Πίνακας 33.** Το ολικό θειώδες που περιέχεται στους πειραματικούς οίνους με προσθετική ουσία το SO<sub>2</sub>.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Όγκος του διαλύματος ιωδίου N/50 που καταναλώθηκε (ml)	Ολικό Θειώδες εκφραζόμενος σε χιλιοστογραμμάρια SO <sub>2</sub> ανά λίτρο (mg/ l)
M	1	2,8	44,8
V	1	2,9	46,4
O	1	2,1	33,6

#### 4.2.1.3.3 Αποτελέσματα προσδιορισμού δεσμευμένου διοξειδίου του θείου

**Δεσμευμένη μορφή θειώδους ανυδρίτη:** Υπολογίζεται με τη διαφορά του ελεύθερου από του ολικού θειώδες ανυδρίτη, ως εξής:

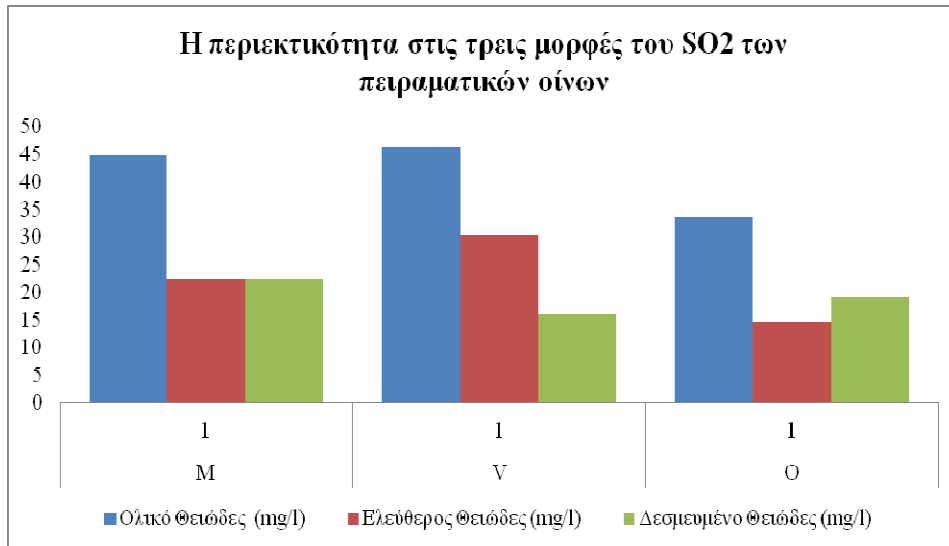
$$M-1: 44,8 - 22,4 = 22,4 \text{ mg SO}_2/ \text{l}$$

$$V-1: 46,4 - 30,4 = 16 \text{ mg SO}_2/ \text{l}$$

$$O-1: 33,6 - 14,4 = 19,2 \text{ mg SO}_2/ \text{l}$$

Η περιεκτικότητα στις διάφορες μορφές του SO<sub>2</sub> των πειραματικών οίνων Μάρτυρας,

Vitosan και Oleosan με προσθετική ουσία μόνο το θειώδες ανυδρίτη απεικονίζονται στο παρακάτω γράφημα (Εικόνα 43).



**Εικόνα 43.** Η περιεκτικότητα των πειραματικών οίνων στις τρεις μορφές του SO<sub>2</sub>.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο πειραματικός οίνος Oleosan παρουσιάζει σημαντική μειωμένη περιεκτικότητα σε ολικό θειώδες και ιδιαίτερα της ελεύθερης μορφής του. Ο οίνος τύπου Vitosan έχει τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικού, αλλά και ελεύθερου SO<sub>2</sub>. Ενώ, ο Μάρτυρας έχει ίσες ποσότητες ελεύθερης και δεσμευμένη μορφής SO<sub>2</sub>.

#### **4.2.1.3.4 Αποτελέσματα της δεύτερης μέτρησης αλκοολικού τίτλου αποστάγματος των πειραματικών οίνων**

Έγινε επανάληψη της μέτρησης του αλκοολικού βαθμού αποστάγματος των πειραματικών οίνων. Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε ήταν η ίδια. Τα αποτελέσματα της ανάγνωσης του αλκοολομέτρου διορθωμένα με τη βοήθεια του Πίνακα III, παρουσιάζονται στον Πίνακα 34.

Στη δεύτερη μέτρηση του αλκοολικού βαθμού, διακρίνονται οι πειραματικοί οίνοι τύπου Vitosan που κρατάνε σχετικά υψηλό αλκοολικό βαθμό, σε σύγκριση με τους υπόλοιπους τύπους οίνων. Αξιοσημείωτο είναι, ο τύπος κρασιού, Μάρτυρας με Vitosan, ο

οποίος παρουσίαζε ιδιαίτερη μείωση του αλκοολικού βαθμού. Η συμπεριφορά απόκλισης αυτού του πειραματικού οίνου θα παρακολουθείται πιο στενά, στις παρακάτω εργαστηριακές αναλύσεις.

**Πίνακας 34.** Τα αποτελέσματα της δεύτερης μέτρησης του αλκοολικού βαθμού των πειραματικών οίνων.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θερμοκρασία σε °C	Αλκοολικός Τίτλος	Διορθωμένος Αλκοολικός Τίτλος
M	1	23	13,80	13,20
M	2	23	11,90	11,40
V	1	23	15,20	14,50
V	2	23	14,80	14,10
O	1	23	13,80	13,20
O	2	23	13,90	13,10

#### 4.2.1.3.5 Αποτελέσματα της δεύτερης μέτρησης πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων

Μετά από μερικές μέρες, επαναλήφθηκε η μέτρηση της πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων για να μελετηθεί η υγιεινή κατάστασή τους. Χρησιμοποιώντας την ίδια μέθοδο, με απόσταξη με ρεύμα υδρατμών, έγιναν οι μετρήσεις, των οποίων τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα.

**Πίνακας 35.** Τα αποτελέσματα της δεύτερης μέτρησης πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Όγκος του διαλύματος NaOH 0,1N που καταναλώθηκε (ml)	2 <sup>η</sup> Πτητική Οξύτητα εκφρασμένη σε gr οξικού οξέος/ l
M	1	1	0,6
M	2	1,8	1,08
V	1	0,4	0,24
V	2	0,8	0,48
O	1	0,6	0,36
O	2	0,6	0,36

Ο οίνος Μάρτυρας με επέμβαση Vitosan εξακολουθεί να έχει την υψηλότερη τιμή πτητικής οξύτητας.

#### 4.2.1.4 Αποτελέσματα των εργαστηριακών αναλύσεων των πειραματικών οίνων στις 28/01 2011

Γίνεται δεύτερη μέτρηση της ολικής οξύτητας των πειραματικών οίνων. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 36 όπου διακρίνονται οι διακυμάνσεις των τιμών τους.

**Πίνακας 36.** Τα αποτελέσματα της δεύτερης μέτρησης ολικής οξύτητας των πειραματικών οίνων.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Όγκος του διαλύματος NaOH 0,1N που καταναλώθηκε (ml)	Ολική Οξύτητα εκφρασμένη σε gr τρυγικού οξέος/ l
M	1	5,9	4,425
M	2	7,7	5,775
V	1	6,0	4,500
V	2	4,5	3,375
O	1	5,9	4,425
O	2	5,7	4,275

Η υψηλότερη ολική οξύτητα διακρίνεται να έχει ο οίνος Μάρτυρας με προσθετική ουσία Vitosan, με τιμή 5,775gr τρυγικού οξέος/ l. Οι τιμές της ολικής οξύτητας των τριών τύπων των πειραματικών οίνων που έχουν προσθετική ουσία τον θειώδες ανυδρίτη, κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα. Ενώ, τη χαμηλότερη τιμή έχει ο οίνος Vitosan με Vitosan, ίση με 3,375gr τρυγικού οξέος/ l.

#### 4.2.1.5 Αποτελέσματα των εργαστηριακών αναλύσεων των πειραματικών οίνων στις 16/02/ 2011

Μετέπειτα από 23 μέρες, επαναλαμβάνονται οι προσδιορισμοί του αλκοολικού βαθμού και της πτητικής οξύτητας των οίνων.

Ακολούθησε ο προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων για

Τρίτη φορά. Επειδή χρησιμοποιήθηκε 40cc πτητικού αποστάγματος, διαιρέθηκε το τιτλοδοτούμενο ποσό κατανάλωσης του διαλύματος NaOH 0,1N δια του 4 και στη συνέχεια υπολογίστηκε η πτητική οξύτητα. Τα αποτελέσματα αναγράφονται στους Πίνακες 37 και 38.

**Πίνακας 37.** Τα αποτελέσματα της τρίτης μέτρησης του αλκοολικού βαθμού των πειραματικών οίνων.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θερμοκρασία σε °C	Αλκοολικός Τίτλος	Δ.Α.Τ.
M	1	22	13,6	13,2
M	2	22,5	12,9	12,4
V	1	22,5	14,9	14,4
V	2	22	15	14,5
O	1	22,2	14	13,6
O	2	22,5	13,8	13,3

**Πίνακας 38.** Τα αποτελέσματα της τρίτης μέτρησης πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων.

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Όγκος του διαλύματος NaOH 0,1N που καταναλώθηκε (ml)	3 <sup>η</sup> Πτητική Οξύτητα εκφρασμένη σε gr οξικού οξέος/ l
M	1	2,1	1,26
M	2	3,9	2,34
V	1	1,2	0,72
V	2	1,7	1,02
O	1	1,2	0,72
O	2	1,2	0,72

Οι τιμές που συγκεντρώθηκαν κατά την τρίτη μέτρηση πτητικής οξύτητας δείχνουν μια γενική αύξηση. Την υψηλότερη τιμή πτητικής οξύτητας έχει ο πειραματικός οίνος

Μάρτυρας με Vitosan, ίση με 2,34gr οξικού οξέος/ l. Παρατηρείται, ότι οι τύποι οίνων Vitosan μεθειώδες, Oleosan μεθειώδες και Oleosan με Vitosan, έχουν ίσες τιμές κατά την πτητική οξύτητα 0,72 gr οξικού οξέος/ l.

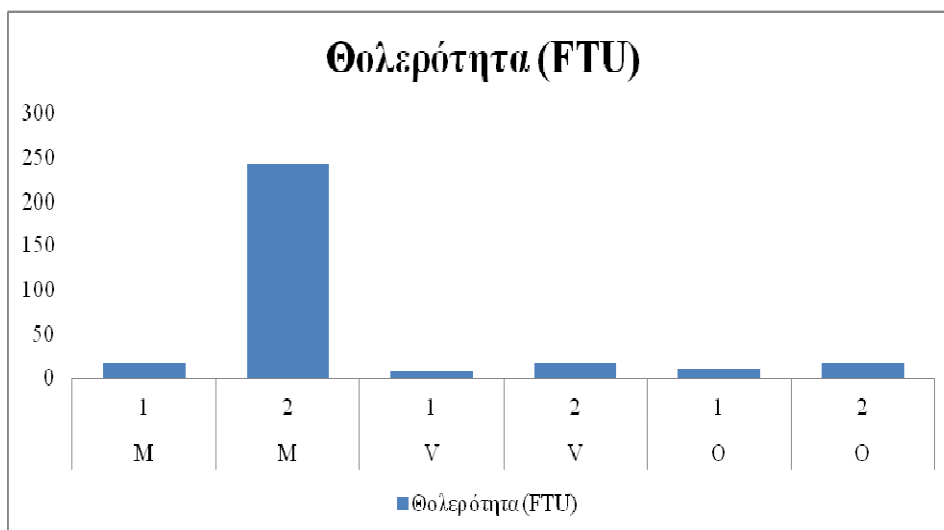
#### 4.2.1.6 Αποτελέσματα της μέτρησης θολερότητας των πειραματικών οίνων

Στην υποενότητα 4.2.1.1, η οργανοληπτική εξέταση των οίνων έδειξε μπουκάλια κρασιών, των οποίων η διαύγειά τους είχε αισθητά μειωθεί. Για μια πιο ολοκληρωμένη εκτίμηση, ακολουθήθηκε η εκτίμηση της διαύγειας μέσω οπτικής τεχνικής, δηλαδή του θολερομέτρου (ή νεφελομέτρου). Η θολερότητα είναι ένα οπτικό αποτέλεσμα διάχυσης του φωτός σε μέσο διασποράς λεπτών σωματιδίων, συστατικών του κρασιού. Η μονάδα μέτρησης της θολερότητας που χρησιμοποιείται είναι η μονάδα νεφελομετρικής θολερότητας (NTU – Nephelometric Turbidity Unit) και η μονάδα σχηματισμού θολερότητας (FTU – Formazin Turbidity Unit), όπου NTU = FTU (Leguillou, 1994). Η μέθοδος της νεφελομετρίας εφαρμόστηκε και στους έξι τύπους πειραματικών οίνων. Τα δεδομένα αναρτήθηκαν στον Πίνακα 39 και στη συνέχεια κατασκευάστηκε η γραφική παράσταση (Εικ. 44), για να γίνουν πιο ευδιάκριτες οι διαφορές.

**Πίνακας 39.** Τα αποτελέσματα των μετρήσεων θολερότητας των πειραματικών οίνων.

**21/ 02/ 2011**

Τύπος Οίνου	Τύπος Προσθετικής Ουσίας	Θολερότητα (FTU)
M	1	18,30
M	2	243,00
V	1	6,79
V	2	17,43
O	1	11,48
O	2	18,12



**Εικόνα 44.** Η γραφική παράσταση των μετρήσεων θολερότητας των πειραματικών οίνων.

Τα κρασιά παρουσιάζουν έξι διαφορετικά επίπεδα θολερότητας. Οι οίνοι Μάρτυρας με θειώδες, Vitosan με θειώδες, Vitosan με Vitosan, Oleosan με θειώδες και Oleosan με Vitosan βρίσκονται σε επίπεδα θολερότητας κάτω από 20 FTU. Την καλύτερη εικόνα τη διατηρεί ο πειραματικός οίνος Vitosan με θειώδες, με τιμή 6,79 FTU. Τη χειρότερη εικόνα την έχει το κρασί Μάρτυρας με Vitosan, με τιμή ίση με 243,00 FTU.

Κάνοντας συγκρίσεις μεταξύ των δειγμάτων κρασιών με επεμβάσεις θειώδους και των δειγμάτων με επεμβάσεις Vitosan, ευδιάκριτα φαίνεται η πετυχημένη δράση του SO<sub>2</sub> ως διαυγαστικό μέσο του κρασιού και η μειωμένη ικανότητα του Vitosan στη διαύγεια των κρασιών.

#### **4.2.2 Πείραμα: Εμβολιασμός δειγμάτων των πειραματικών οίνων με οξικά βακτήρια**

##### **4.2.2.1 Σχεδιασμός του πειράματος, 22/ 02/ 2011**

Η δυσμενής κατάσταση που επικρατούσε στο θάλαμο με τα κρασιά κατά την περίοδο των δύομιση εβδομάδων, ανάγκασε την αλλαγή της πορείας του πειραματικού σχεδίου. Η θερμική μεταχείριση των πειραματικών οίνων στους +40°C και η φωτεινή επίδραση προκάλεσαν την τεχνητή γήρανση των οίνων. Οι εργαστηριακές μετρήσεις του κρασιού του

Μάρτυρα με επέμβαση Vitosan υποδείκνυε βακτηριακή προσβολή. Η αποτελεσματικότητα του σκευάσματος Vitosan σε βακτηριακές προσβολές αμφισβητήθηκε.

Το πείραμά, έτσι, συνεχίστηκε υποβάλλοντας όλα τα δείγματα υπό αναπτυσσόμενες μικροβιακές συνθήκες. Σκοπός ήταν η εξέταση της ανοχής τους σε πληθυσμό βακτηρίων και η εύρεση σχετικά με ποιες από τις δύο επεμβάσεις, η θειώδης ή το Vitosan, διακρίνεται από καλύτερη προστατευτική ικανότητα στο κρασί. Ο μικροβιακός πληθυσμός που επιλέχθηκε για τον εμβολιασμό των δειγμάτων κρασιών ήταν τα οξικά βακτήρια. Τα οξικά βακτήρια προμηθεύτηκαν από την Ένωση Ηρακλείου στη μορφή του ξυδιού. Επιλέχθηκε εμπορικό ξύδι παρασκευασμένο από λευκά σταφύλια. Έγιναν εργαστηριακές αναλύσεις για τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης του ξυδιού.

Ετοιμάστηκαν τέσσερις ομάδες δειγμάτων των έξι διαφορετικών πειραματικών οίνων. Η πρώτη ομάδα, Α' Ομάδα, αποτέλεσε τα δείγματα Μάρτυρα, τα οποία ήταν δείγματα κρασιών και των έξι διαφορετικών κρασιών, χωρίς καμιά πρόσμιξη. Η δεύτερη ομάδα, η Β' Ομάδα, συμπεριλάμβανε δείγματα των έξι τύπων κρασιών, εμβολιασμένα με οξικά βακτήρια (προσθήκη 2cc ξυδιού/ δείγμα κρασιού). Η τρίτη ομάδα (Γ' Ομάδα) δειγμάτων εμβολιάστηκαν με οξικά βακτήρια και προστέθηκε μονή δόση σκευάσματος Vitosan. Η τέταρτη ομάδα, Δ' Ομάδα, δειγμάτων υπέστη σε εμβολιασμό οξικών βακτηρίων και προσθήκης διπλάσιας ποσότητας δόσης Vitosan, από εκείνης που προστέθηκε στα δείγματα της Γ' Ομάδας. Οι ποσότητες οξικών βακτηρίων που χρησιμοποιούνται για τον εμβολιασμό των δειγμάτων είναι ίσες και για τις τρεις ομάδες.

Όλα τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στο θάλαμο του εργαστηρίου Γεωργικών Βιομηχανιών, του τμήματος Φυτικής Παραγωγής, της σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας του Τ.Ε.Ι. Κρήτης. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν πάνω σε τάραχτρο για να εξασφαλιστεί η διαρκής ανάδευση του κρασιού με το σκεύασμα Vitosan, και ρυθμίστηκε ο θάλαμος στους +30°C, για την εξασφάλιση της ζωτικότητας των βακτηρίων. Η εξέλιξη των 4 ομάδων δειγμάτων των κρασιών παρακολούθηθηκε μέσω εργαστηριακών μετρήσεων της ολικής οξύτητάς τους. Προτού γίνει ο προσδιορισμός της ολικής οξύτητας των δειγμάτων, έγινε έλεγχος της θερμοκρασίας για τη διαβεβαίωση της ορθής ροής του πειράματος. Η θερμοκρασία εντός του κουτιού είναι 32,4 βαθμοί Κελσίου και τυχαία επιλέχθηκε η καταμέτρηση της θερμοκρασία του δείγματος διπλής δόσης εμβολιασμένο M-1 που ήταν ίσο με 31,5 βαθμοί. Ακολούθησαν οι τρεις προσδιορισμοί ολικής οξύτητας των δειγμάτων. ο πρώτος προσδιορισμός της ολικής οξύτητας των δειγμάτων, όπως φαίνονται τα αποτελέσματα στους Πίνακες 40 – 43. Τα



αποτελέσματα της δεύτερης μέτρησης παρουσιάζονται στους Πίνακες 44, 45, 46 και 47, ενώ τα αποτελέσματα της τρίτης μέτρησης στους Πίνακες 48, 49, 50 και 51.

Τέλος, όταν διαπιστώθηκε η απενεργοποίηση της δράσης των βακτηρίων, έγινε η απόσταξή τους για τη μέτρηση της πτητικής οξύτητας και του προσδιορισμού του αλκοολικού τίτλου.

#### 4.2.2.2 Αποτελέσματα των εργαστηριακών αναλύσεων του ξυδιού

Πριν από τη διαδικασία ενεργοποίησης των οξικών βακτηρίων, έλαβαν μέρος οι αρχικές μετρήσεις του ξυδιού, οι οποίες ήταν:

- Προσδιορισμός σακχάρων του ξυδιού. Η περιεκτικότητα των σακχάρων ήταν 1,5 Bme σε θερμοκρασία  $T=18^{\circ}\text{C}$ .
- Προσδιορισμός της πρώτης ολικής οξύτητας του ξυδιού. Ο προσδιορισμός της ολικής οξύτητας βασίζεται στην αντίδραση των οξικού οξέος με την ασθενές βάση NaOH, όπως φαίνεται στην ακόλουθη αντίδραση:  
$$\text{CH}_3\text{COOH} + \text{NaOH} \rightarrow \text{CH}_3\text{COONa} + \text{H}_2\text{O}$$
 Έγινε η τιτλοδότηση του ξυδιού με 0,1 N NaOH, καταναλώθηκε 21,1 ml NaOH=> Άρα η ολική οξύτητα ήταν ίση με 63,3 gr οξικού οξέος/l.

Στη συνέχεια, το κρασί δέχτηκε θερμική μεταχείριση και αυξημένης υγρασίας, μέσω της συσκευής, υγραντήρα. Η περιεκτικότητα % (w/v) του ξυδιού σε οξικό οξύ προσδιορίστηκε επιπλέον δύο φορές:

- Μετρήσεις μετά από 4 μέρες:  $T=30^{\circ}\text{C}$  με την τιτλοδότηση καταναλώθηκε 41,3 ml 0,1N NaOH=> Η ολική οξύτητα είναι ίση με 123,9 gr οξικού οξέος/l.
- Μετρήσεις μετά από 7 μέρες:  $T=30^{\circ}\text{C}$  με την τιτλοδότηση καταναλώθηκε 20,5 ml 0,1N NaOH=> Η ολική οξύτητα είναι ίση με 7,5 gr οξικού οξέος/l.

#### 4.2.2.3 Αποτελέσματα του πρώτου προσδιορισμού της ολικής οξύτητας των δειγμάτων των πειραματικών οίνων

**Πίνακας 40:** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της πρώτης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Α' Ομάδας (Μάρτυρας).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
A	M	1	6,8	10,2
A	M	2	7,1	10,65
A	V	1	5,7	8,55
A	V	2	7,2	10,8
A	O	1	5,95	8,925
A	O	2	7,35	11,025

**Πίνακας 41:** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της πρώτης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Β' Ομάδας (Εμβολιασμένα).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
B	M	1	7,6	11,4
B	M	2	8,1	12,15
B	V	1	7	10,5
B	V	2	7	10,5
B	O	1	6,5	9,75
B	O	2	7	10,5

**Πίνακας 42:** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της πρώτης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Γ' Ομάδας (Εμβολιασμένα με 1 δόση Vitosan).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	Όγκος του Διαλύματος ΝΑΟΗ 0,1N που Καταναλώθηκε (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
Γ	M	1	7,7	11,55
Γ	M	2	7,8	11,7
Γ	V	1	7,5	11,25
Γ	V	2	8	12
Γ	O	1	6,7	10,05
Γ	O	2	7,2	10,8

**Πίνακας 43:** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της πρώτης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Δ' Ομάδας (Εμβολιασμένα με διπλή δόση Vitosan).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	Όγκος του Διαλύματος ΝΑΟΗ 0,1N που Καταναλώθηκε (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
Δ	M	1	9,6	14,4
Δ	M	2	9,2	13,8
Δ	V	1	6,7	10,05
Δ	V	2	7,55	11,325
Δ	O	1	8	12
Δ	O	2	7,2	10,8

**4.2.2.4 Αποτελέσματα του δεύτερου προσδιορισμού της ολικής οξύτητας των δειγμάτων των πειραματικών οίνων, στις 25/02/2011**

**Πίνακας 44:** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της δεύτερης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Α' Ομάδας (Μάρτυρας).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	Όγκος του Διαλύματος ΝΑΟΗ 0,1N που καταναλώθηκε (ml)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
A	M	1	7,6	11,4
A	M	2	7,8	11,7
A	V	1	7	10,5
A	V	2	7,2	10,8
A	O	1	6	9
A	O	2	7	10,5

**Πίνακας 45:** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της δεύτερης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Β' Ομάδας (Εμβολιασμένα).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	Όγκος του Διαλύματος ΝΑΟΗ 0,1N που καταναλώθηκε (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/L
B	M	1	8	12
B	M	2	8,2	12,3
B	V	1	7	10,5
B	V	2	7,7	11,55
B	O	1	7,5	11,25
B	O	2	7,7	11,55

**Πίνακας 46.** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της δεύτερης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Γ' Ομάδας (Εμβολιασμένα με 1 δόση Vitosan).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
Γ	M	1	7,75	11,625
Γ	M	2	8,5	12,75
Γ	V	1	7,5	11,25
Γ	V	2	8,65	12,975
Γ	O	1	7	10,5
Γ	O	2	8,6	12,9

**Πίνακας 47.** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της δεύτερης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Δ' Ομάδας (Εμβολιασμένα με διπλή δόση Vitosan).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
Δ	M	1	9,9	14,85
Δ	M	2	10,1	15,15
Δ	V	1	7,9	11,85
Δ	V	2	8,1	12,15
Δ	O	1	8,15	12,225
Δ	O	2	7,6	11,4

**4.2.2.5 Αποτελέσματα του τρίτου προσδιορισμού της ολικής οξύτητας των δειγμάτων των πειραματικών οίνων, στις 04/03/2011**

*Πίνακας 48. Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της τρίτης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Α' Ομάδας (Μάρτυρας)*

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
A	M	1	7,1	10,65
A	M	2	7,4	11,1
A	V	1	6,3	9,45
A	V	2	10,7	16,05
A	O	1	6,6	9,9
A	O	2	6,5	9,75

*Πίνακας 49. Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της τρίτης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Β' Ομάδας (Εμβολιασμένα).*

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
B	M	1	8,1	12,15
B	M	2	8,4	12,60
B	V	1	8,2	12,30
B	V	2	8,7	13,05
B	O	1	8,9	13,35
B	O	2	8,6	12,9

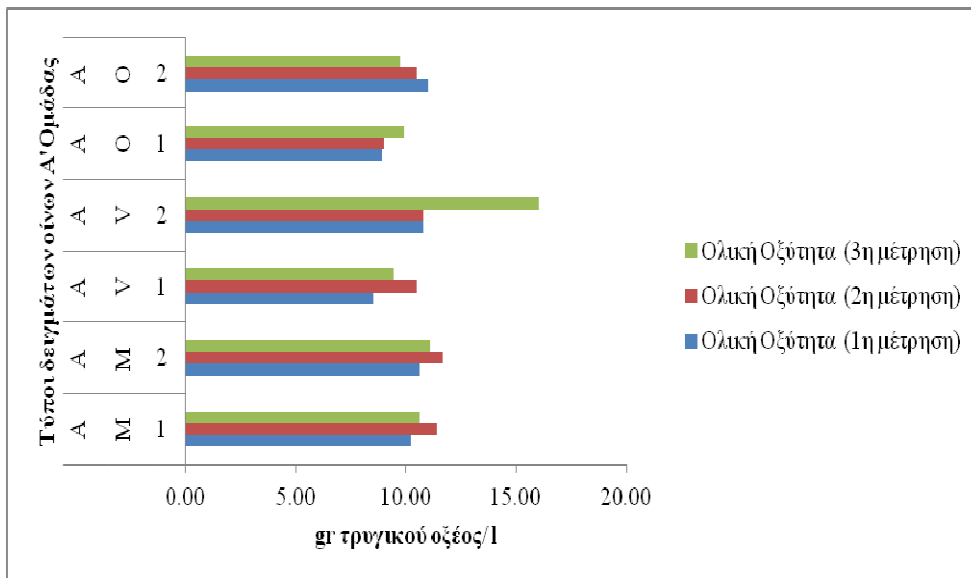
**Πίνακας 50.** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της τρίτης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Γ' Ομάδας (Εμβολιασμένα με 1 δόση Vitosan).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
Γ	M	1	8,7	13,05
Γ	M	2	8,6	12,9
Γ	V	1	8	12
Γ	V	2	8,3	12,45
Γ	O	1	7,8	11,70
Γ	O	2	7,85	11,775

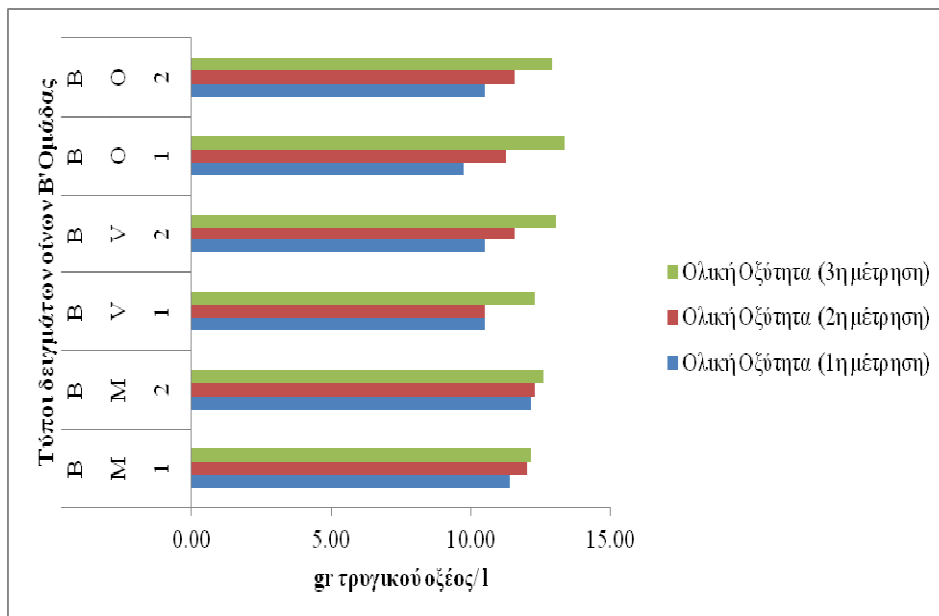
**Πίνακας 51.** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της τρίτης ολικής οξύτητας των δειγμάτων κρασιού της Δ' Ομάδας (Εμβολιασμένα με διπλή δόση Vitosan).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR ΤΡΥΓΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ/ L
Δ	M	1	8,55	12,825
Δ	M	2	8,5	12,75
Δ	V	1	7,4	11,1
Δ	V	2	8,7	13,05
Δ	O	1	8,3	12,45
Δ	O	2	7,2	10,80

Δημιουργήθηκαν οι αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις των πινάκων - για την διευκόλυνση των παρατηρήσεων - που δείχνουν τα αποτελέσματα της ολικής οξύτητας των δειγμάτων των πειραματικών οίνων ανά ομάδα μεταχείρισης. (Εικόνα 45, 46, 47 και 48).

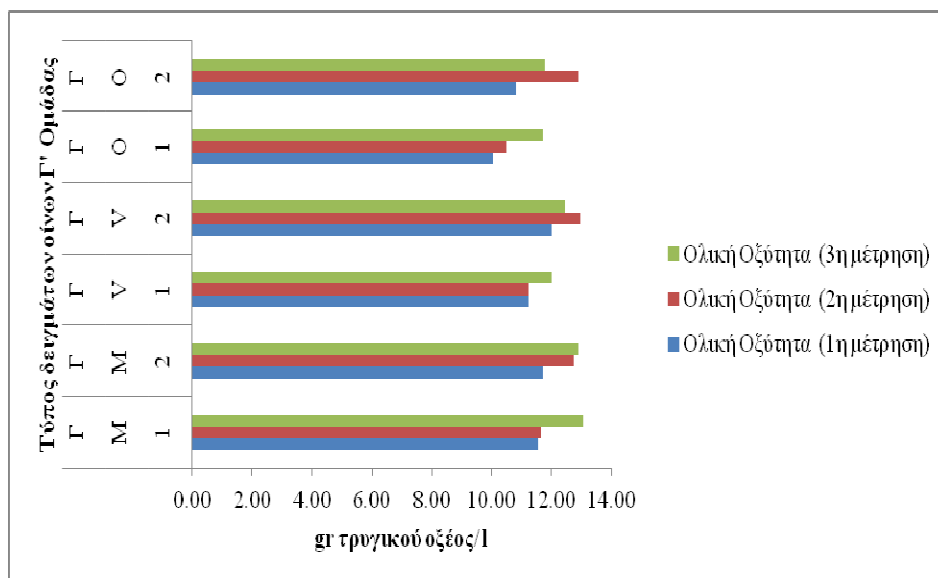


**Εικόνα 45.** Οι τιμές της ολικής οξύτητας των δειγμάτων της Α' Ομάδας,.

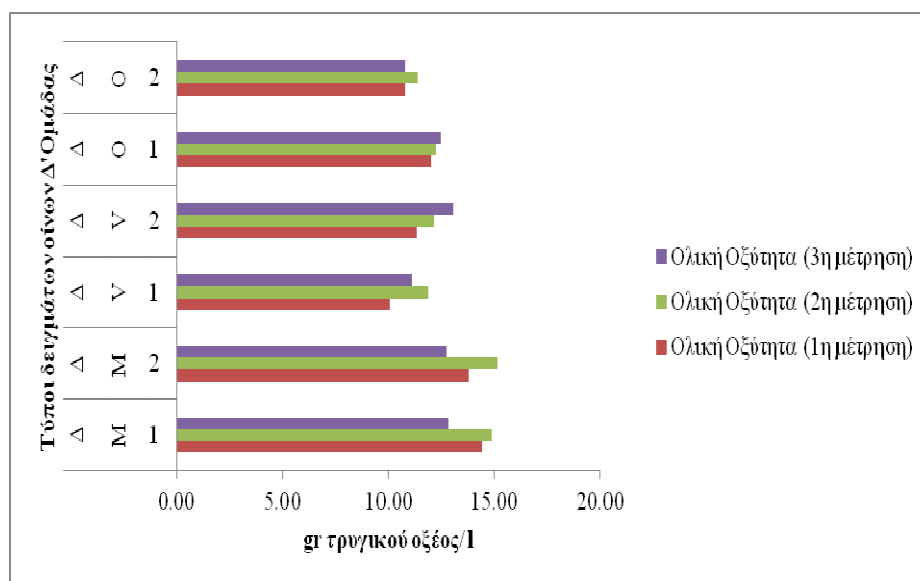


**Εικόνα 46.** Οι τιμές της ολικής οξύτητας των δειγμάτων της Β' Ομάδας,.





**Εικόνα 47.** Οι τιμές της ολικής οξύτητας των δειγμάτων της Γ' Ομάδας.



**Εικόνα 48.** Οι τιμές της ολικής οξύτητας των δειγμάτων της Δ' Ομάδας.

Στην Α Ομάδα παρατηρείται ότι η τελική ολική οξύτητα των δειγμάτων είναι ελαφρώς αυξημένη. Η τελική ολική οξύτητα του δείγματος τύπου V-2 είναι σε μεγάλο βαθμό αυξημένη. Αντίθετα, του O-1 η ολική οξύτητα μειώθηκε.

Στην Β' Ομάδα, διακρίνεται σε όλα τα εμβολιασμένα δείγματα κρασιών μια αυξητική

τάση της ολικής οξύτητας.

Στην Γ' Ομάδα επίσης παρατηρείται η ολική οξύτητα σε όλα τα δείγματα αυξημένη.

Στην Δ Ομάδα, η ολική οξύτητα του Μ-1 και του Μ-2 είναι ελαττωμένη, ενώ του V - 2, του Ο-1 και του Ο-2 που είναι αυξημένη.

#### 4.2.2.6 Αποτελέσματα μέτρησης πτητικής οξύτητας των δειγμάτων των πειραματικών οίνων

Η μειωμένη θερμοκρασία, η οποία λήφθηκε έπειτα από 7 μέρες περίπου από το ξεκίνημα του πειράματος, έδειξε το τέλος της δράσης των οξικών βακτηρίων στα αντίστοιχα διαλύματα. Έτσι λοιπόν, έγιναν οι τελικές μετρήσεις των πτητικών οξυτήτων των δειγμάτων, των οποίων τα αποτελέσματα καταγράφηκαν στους παρακάτω πίνακες (Πίνακες 52, 53, 54 και 55).

**Πίνακας 52.** Τα αποτελέσματα της μέτρησης πτητικής οξύτητας των δειγμάτων των πειραματικών οίνων της Α' Ομάδας.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR/L ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
A	M	1	1,95	11,7
A	M	2	2,2	13,2
A	V	1	1,05	6,3
A	V	2	1,22	7,3
A	O	1	0,96	5,8
A	O	2	1,03	6,2

**Πίνακας 53.** Τα αποτελέσματα της μέτρησης πτητικής οξύτητας των δειγμάτων των πειραματικών οίνων της Β' Ομάδας.

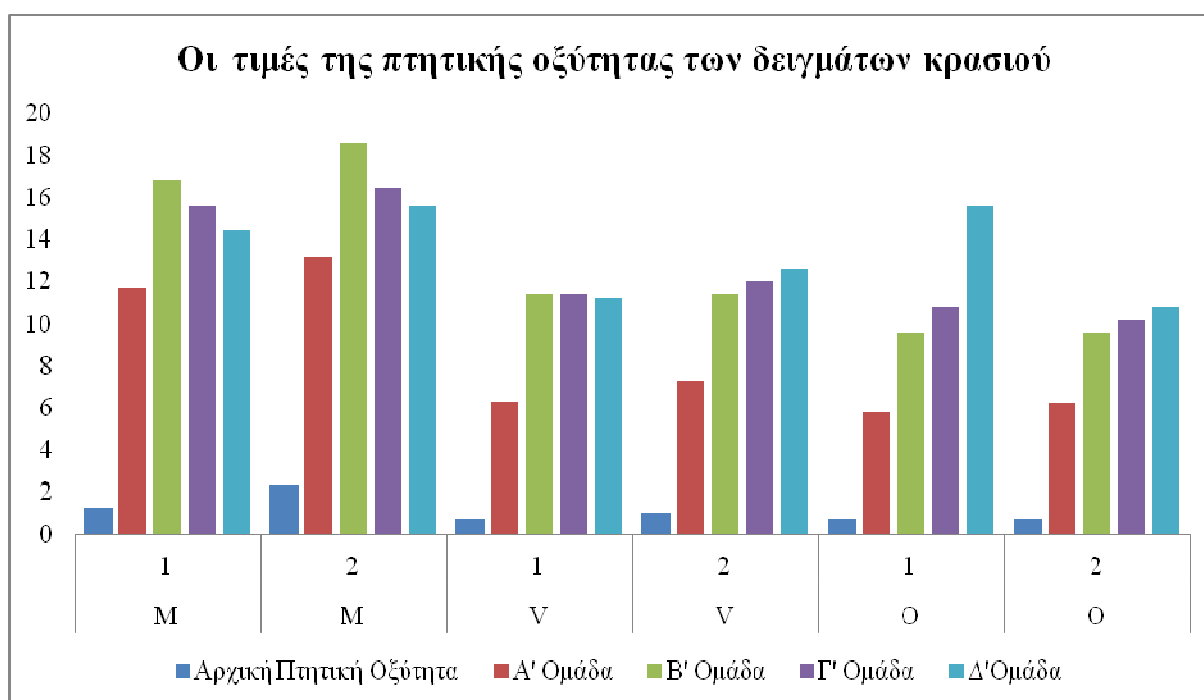
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR/L ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
B	M	1	2,8	16,8
B	M	2	3,1	18,6
B	V	1	1,9	11,4
B	V	2	1,9	11,4
B	O	1	1,6	9,6
B	O	2	1,6	9,6

**Πίνακας 54.** Τα αποτελέσματα της μέτρησης πτητικής οξύτητας των δειγμάτων των πειραματικών οίνων της Γ' Ομάδας.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR/L ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
Γ	M	1	2,6	15,6
Γ	M	2	2,75	16,5
Γ	V	1	1,9	11,4
Γ	V	2	2	12,0
Γ	O	1	1,8	10,8
Γ	O	2	1,7	10,2

**Πίνακας 55.** Τα αποτελέσματα της μέτρησης πτητικής οξύτητας των δειγμάτων των πειραματικών οίνων της Δ' Ομάδας.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΌΓΚΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΝΑΟΗ 0,1N ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΕ (ML)	ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ GR/L ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
Δ	M	1	2,4	14,4
Δ	M	2	2,6	15,6
Δ	V	1	1,86	11,2
Δ	V	2	2,1	12,6
Δ	O	1	2,6	15,6
Δ	O	2	1,8	10,8



**Εικόνα 49.** Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της πτητικής οξύτητας των δειγμάτων των τεσσάρων ομάδων.

Τα αποτελέσματα απεικονίζονται συγκεντρωτικά στην Εικόνα 49. Στην εικόνα προστέθηκε και η τελευταία πτητική μέτρηση που έγινε στους πειραματικούς οίνους προτού ξεκινήσει το πείραμα και χαρακτηρίζεται ως αρχική.

Όπως αναμένονταν, συγκρίνοντας τις τιμές, οι τιμές την πτητικής οξύτητας ήταν υψηλότερες κατά πολύ περισσότερο από την αρχική αφού εμβολιάστηκαν με οξικά βακτήρια. Σε όλες τις περιπτώσεις των δειγμάτων των μεταχειρίσεων, τα εμβολιασμένα, τα εμβολιασμένα με μία δόση Vitosan και τα εμβολιασμένα με διπλή δόση Vitosan, παρουσιάζουν αυξημένη πτητική οξύτητα σε σχέση με τις τιμές της ομάδας Μάρτυρα.

Η χειρότερη απόδοση θα μπορούσε να εκτιμηθεί ότι είχε ο τύπος οίνου O-1, γιατί ακόμη και με τη διπλή δόση σκευάσματος Vitosan, παρουσιάζει εμφανή άνοδο της περιεκτικότητας οξικών οξέων στο διάλυμά του. Σε δεύτερη θέση, με τις ίδιες παρατηρήσεις έρχεται το δείγμα του Vitosan με Vitosan. Ενώ, τα δείγματα του τύπου Vitosan με θειώδες παρατηρείται ότι οι τιμές της πτητικής οξύτητάς τους στους χειρισμούς, των εμβολιασμένων με μία δόση Vitosan και των εμβολιασμένων με διπλή δόση Vitosan, είναι μικρότερες από την αντίστοιχη πτητική οξύτητα της ομάδας των εμβολιασμένων.

Ωστόσο, καλύτερη εικόνα απαντάται στα δείγματα των πειραματικών οίνων Μάρτυρα τόσο με επέμβαση θειώδες όσο και με επέμβαση Vitosan. Τα δείγματα των τύπων Μάρτυρα, της ομάδας Γ και Δ, διακρίνονται από πτητική οξύτητα μικρότερης τιμής από εκείνης των αντίστοιχων της ομάδας Β.

#### ***4.2.2.7 Αποτελέσματα μέτρησης αλκοολικού τίτλου αποστάγματος των δειγμάτων των πειραματικών οίνων***

Κλείνοντας το πείραμα αυτό, έγιναν οι τελικές μετρήσεις του αλκοολικού βαθμού με τη χρήση του αλκοολομέτρου και ύστερα τη διόρθωση των τιμών με τη βοήθεια του Πίνακα IV. Οι ενδείξεις του αλκοολομέτρου καθώς και οι αντίστοιχοι διορθωμένοι βαθμοί παρουσιάζονται παρακάτω σε πίνακες ανά ομάδα επέμβασης (Πίνακες 56, 57, 58 και 59).

**Πίνακας 56.** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού του αλκοολικού βαθμού των δειγμάτων των πειραματικών οίνων της Α' Ομάδας.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΣΕ °C	ΈΝΔΕΙΞΗ ΤΟΥ ΑΛΚΟΟΛΟΜΕΤΡΟΥ (%V/V)	Δ.Α.Τ.
A	M	1	20	8,45	8.45
A	M	2	21	8	7.8
A	V	1	21	9,59	9.39
A	V	2	21	9,7	9.7
A	O	1	21	8,2	8
A	O	2	20,5	8,36	8.16

**Πίνακας 57.** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού του αλκοολικού βαθμού των δειγμάτων των πειραματικών οίνων της Β' Ομάδας.

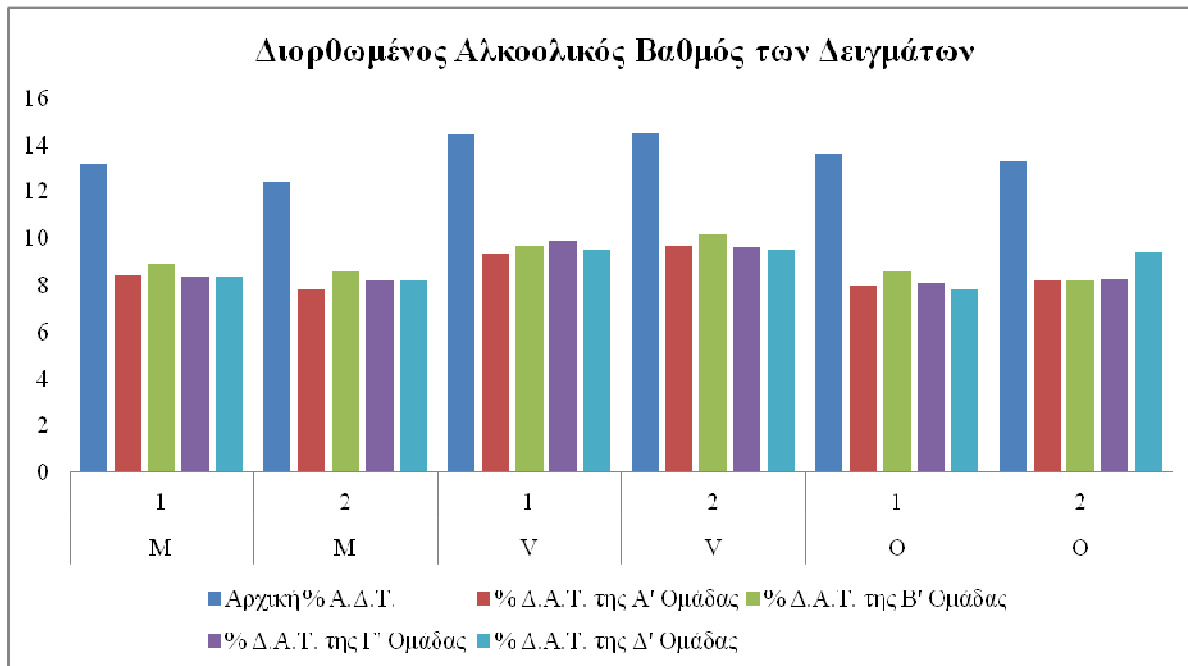
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΣΕ °C	ΈΝΔΕΙΞΗ ΤΟΥ ΑΛΚΟΟΛΟΜΕΤΡΟΥ (%V/V)	Δ.Α.Τ.
B	M	1	20,5	9,02	8.92
B	M	2	20,5	8,7	8.6
B	V	1	21	9,9	9.7
B	V	2	22	10,57	10.17
B	O	1	21,5	8,9	8.6
B	O	2	22	8,6	8.2

**Πίνακας 58.** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού του αλκοολικού βαθμού των δειγμάτων των πειραματικών οίνων της Γ' Ομάδας.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΣΕ °C	ΈΝΔΕΙΞΗ ΤΟΥ ΑΛΚΟΟΛΟΜΕΤΡΟΥ (%V/V)	Δ.Α.Τ.
Γ	Μ	1	20,5	8,5	8.4
Γ	Μ	2	20,5	8,3	8.2
Γ	Υ	1	21	10,1	9.9
Γ	Υ	2	21	9,8	9.6
Γ	Ο	1	20,5	8,2	8.1
Γ	Ο	2	20,5	8,4	8.3

**Πίνακας 59.** Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού του αλκοολικού βαθμού των δειγμάτων των πειραματικών οίνων της Δ' Ομάδας.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ	ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΤΥΠΟΣ ΠΡΟΣΘΕΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΣΕ °C	ΈΝΔΕΙΞΗ ΤΟΥ ΑΛΚΟΟΛΟΜΕΤΡΟΥ (%V/V)	Δ.Α.Τ.
Δ	Μ	1	20,5	8,5	8.4
Δ	Μ	2	20	8,2	8.2
Δ	Υ	1	20	9,5	9.5
Δ	Υ	2	20	9,5	9.5
Δ	Ο	1	20	7,8	7.8
Δ	Ο	2	20,5	9,5	9.4



**Εικόνα 50.** Τα αποτελέσματα των μετρήσεων του αλκοολικού βαθμού αποστάγματος των δειγμάτων των τεσσάρων ομάδων.

Στην Εικόνα 50, παρουσιάζονται συγκεντρωτικά όλα τα δεδομένα των Πινάκων 27, 46, 47, 48 και 49. Οι τιμές του αλκοολικού βαθμού των πειραματικών οίνων, του Πίνακα 27, συσχετίζονται με τις λοιπές τιμές για να φανεί η θερμική και η μικροβιακή επίδραση κατά τις επεμβάσεις που έγιναν στα δείγματα των πειραματικών κρασιών. Είναι φανερή η καθολική μείωση του αλκοολικού βαθμού του κάθε δείγματος και της κάθε ομάδας επέμβασης.

Τα δείγματα των πειραματικών οίνων Μάρτυρας με θειώδες, Μάρτυρας με Vitosan, Vitosan με Vitosan και Oleosan με θειώδες διατηρούν καλύτερα το επίπεδο των τιμών του αλκοολικού βαθμού κοντά σε εκείνη του αντίστοιχού τους δείγμα-μάρτυρα (Α' Ομάδας) και χαμηλότερη από αυτή του αντίστοιχού τους δείγμα-εμβολιασμένα (Β' Ομάδας).

Αντίθετα, το δείγμα του πειραματικού οίνου Vitosan με θειώδες της Γ' Ομάδας παρουσιάζει αύξηση της τιμής του αλκοολικού βαθμού, ενώ το αντίστοιχο της Δ' Ομάδας διατηρεί το επίπεδο του αλκοολικού βαθμού χαμηλότερο από ότι εκείνη της Β' Ομάδας. Τη χειρότερη εικόνα παρουσιάζει το δείγμα του τύπου Oleosan με Vitosan της Δ' Ομάδας, το οποίο παρουσιάζει έντονη αύξηση της περιεκτικότητας αλκοόλης στο διάλυμα.



## 5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη ενότητα αυτή, γίνεται η αξιολόγηση όλων των χειρισμών που έλαβαν μέρος από την αρχή του πειράματος. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων στοχεύει στην απάντηση των αποριών:

1. Τα σκευάσματα Vitosan και Oleosan μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φυτοπροστατευτικά προϊόντα;
2. Τα σκευάσματα Vitosan μπορεί να αντικαταστήσει το θειώδες ανυδρίτη στην οينوποίηση;
3. Τα σκευάσματα Vitosan φέρει αντιβακτηριδιακή δράση;

Αυτά τα ερωτήματα απαντιούνται στις παρακάτω υποενότητες του πέμπτου κεφαλαίου.

### **5.1 Αξιολόγηση των προ-οينوποιήσιμων χειρισμών**

#### **5.1.1 Αξιολόγηση των πειραματικών μεταχειρίσεων στα σταφύλια**

Το πείραμα σχεδιάστηκε με τις καλύτερες προϋποθέσεις. Οι εργασίες γίνονταν με προσοχή από τον τρύγο. Τηρήθηκαν οι προδιαγραφές συγκομιδής με σχολαστικότητα. Ο τρύγος πραγματοποιήθηκε κατά τις πρωινές ώρες. Τα σταφύλια καθαρίστηκαν εντελώς από τις μολυσμένες ράγες για την προστασία του μούστου από πιθανές μελλοντικές ενζυματικές

οξειδώσεις.

Στα σταφύλια, όπως φαίνονται στην Εικόνα 38, διαπιστώθηκε διαφοροποίηση της έκτασης της προσβολής του παθογόνου *Botrytis cinerea*. Τα σταφύλια των επεμβάσεων Μάρτυρας και Χαλκούχων είχαν την πιο εκτεταμένη προσβολή, σε εύρος 90-95%. Εντοπίστηκε μυκήλιο και στις δύο περιπτώσεις επέμβασης. Η φυτοπροστασία του χαλκούχου σκευάσματος διαπιστώνεται ότι είναι πολύ μικρότερη από τα σκευάσματα Vitosan και Oleosan. Τα σκευάσματα Vitosan και Oleosan προστάτεψαν σε ικανοποιητικό βαθμό τα σταφύλια από το μύκητα.

Τα σκεύασμα Oleosan είχε την ίδια δράση και στις δύο συγκεντρώσεις, 2% και 5%. Η εξάπλωση του βοτρυτή περιορίστηκε στο 50% της επιφάνειας των σταφυλιών και δεν υπήρξε ανάπτυξη μυκηλίου. Παρατηρήθηκε παρουσία υπολειμματικότητας του σκευάσματος στις επιφάνειες των ραγών. Αυτό αποτελεί αρνητικό στοιχείο στην επιλογή αυτού του σκευάσματος, γιατί η υπολειμματικότητα του Oleosan με δυσκολία απομακρύνεται από τις επιφάνειες και χαρακτηρίζεται από μια ελαιώδη υφή, η οποία είναι πολύ δυσάρεστη στη γεύση. Έτσι, πράγματι, το σκεύασμα Oleosan δεν προτείνεται να χρησιμοποιηθεί για επιτραπέζια σταφύλια.

Τα σταφύλια με επεμβάσεις συγκεντρώσεων Vitosan χαρακτηρίστηκαν από την πλήρη αναστολή της δραστηριότητας του μύκητα σε σημείο έως ότου, δεν αναπτύχθηκε ποτέ μυκήλιο. Ελάχιστη ήταν η έκταση του *Botrytis cinerea* στα σταφύλια, στα 5% για τη συγκέντρωση σκευάσματος 5% και στα 3% για τη συγκέντρωση σκευάσματος 10%. Διαπιστώθηκε υπολειμματικότητα σκευάσματος, ερυθρού χρώματος, πάνω στις επιφάνειες των ραγών. Όμως, η υπολειμματικότητα του Vitosan δεν είναι ανησυχητική, επειδή εύκολα απομακρύνεται με έναν καλό υγρό καθαρισμό. Η επέμβαση Vitosan με συγκέντρωση 10% είχε τη πιο αποτελεσματική δράση προστασίας στα σταφύλια.

Τα σταφύλια των αμπελιών, στα οποία έγιναν επεμβάσεις, καμιά (Μάρτυρας), με χαλκούχο σκεύασμα και με σκεύασμα Oleosan και στις δύο συγκεντρώσεις, ήταν πιο μεγάλα και πυκνόραγα από ότι τα σταφύλια των επεμβάσεων Vitosan. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στην παραλλακτικότητα που παρουσιάζουν τα αμπέλια μιας ποικιλίας σε έναν αμπελώνα, τόσο στη ζωηρότητά τους όσο και στην παραγωγικότητά τους και όχι στα σκευάσματα που εφαρμόστηκαν (Jackson, 2008). Έτσι, δεν υπολογίστηκε η πυκνότητα και το μέγεθος των σταφυλιών ως ελαφρυντικός παράγοντας στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των σκευασμάτων.

Πίνακας 60. Οι Εργαστηριακές Μετρήσεις στα Πεύκη των 6 Τύπων Μούστων

AA	V	ΕΠΕ	S	TA	pH	d280-1	d280-2	d520	d620	d420
1	M	1	24.9	9.15	3.61	0.387	0.235	0.073	0.056	0.11
2	X	2	25.5	7.35	3.66	0.402	0.218	0.088	0.07	0.145
3	V5%	1	25.9	7.8	3.69	0.397	0.324	0.048	0.034	0.075
4	V10%	2	25.7	7.725	3.65	0.39	0.24	0.045	0.032	0.08
5	02%	1	19	10.35	3.31	0.41	0.164	0.098	0.07	0.16
6	05%	2	22.5	7.275	3.53	0.354	0.266	0.068	0.058	0.148

Όπου:  
 1-M  
 2-V  
 S-περιεκτικότητα  
 σακχάρων

### 5.1.2 Αξιολόγηση των Πειραματικών μεταχειρίσεων στο μούστο

Η επιδίωξη της καλής ποιότητας του μούστου συνεχίστηκε στο μηχάνημα σύνθλιψης των σταφυλιών. Σε κάθε σύνθλιψη σταφυλιών διαφορετικής επέμβασης μεσολαβούσε πλύσιμο του μηχανήματος με άφθονο νερό. Έγινε η σωστή τήρηση των χρονοδιαγραμμάτων, όσον αφορά την προσθήκη των προσθετικών ουσιών, τον έλεγχο της θερμοκρασίας και του εμβολιασμού με ζύμες.

Είναι σημαντικό να είναι γνωστό από πριν, η χημική σύσταση του μούστου, γιατί καθορίζει την εξέλιξη του μούστου σε κρασί, την έγκαιρη διόρθωσή του και τη διατήρησή του. Στον Πίνακα 60, αναγράφτηκαν συγκεντρωτικά οι βασικές εργαστηριακές μετρήσεις των μούστων.

Η καλή ισορροπία στη γεύση ενός ξηρού λευκού κρασιού εξαρτάται τόσο από τα σάκχαρα όσο και τα οξέα του σταφυλιού. Η περιεκτικότητα των σακχάρων των λευκών γλευκών που προορίζονται για ξηρά κρασιά, πρέπει να κυμαίνεται από 150 – 300gr/ l (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Γενικά, οι τιμές της περιεκτικότητας σακχάρων τής κάθε κατηγορίας μούστου τηρούν το εύρος. Ο μούστος με προέλευση από σταφύλια που δέχτηκαν επεμβάσεις με Oleosan έχουν τις μικρότερες περιεκτικότητες σε σάκχαρα, με πρωταγωνιστή το μούστο τύπου Oleosan 2%. Η μεγάλη απόκλιση των τιμών περιεκτικότητας σακχάρων με τους υπόλοιπους τύπους μούστων, όπως προαναφέρθηκε στην ενότητα 5, εκτιμάται στον επιβραδυμένο ρυθμό των φυσιολογικών λειτουργιών των συγκεκριμένων πρεμνών, εξαιτίας του μεγάλου φορτίου παραγωγής. Απεναντίας, οι μούστοι των σταφυλιών στους οποίους εφαρμόστηκε το σκεύασμα Vitosan, έχουν την υψηλότερη πυκνότητα σακχάρων. Τα χαλκούχα και ο μάρτυρας φαινοτυπικά φαίνονται το ίδιο.

Είναι, λοιπόν, αναμενόμενα τα αποτελέσματα των προσδιορισμών της ολικής και της ενεργής οξύτητάς τους. Το pH που θεωρείται το βέλτιστο πριν τη διαδικασία της ζύμωσης, είναι 2,9 έως 4 και η ολική οξύτητα σε τιμές 6-8 gr τρυγικού οξέος/ l. Όταν βρίσκεται σε αυτές τις τιμές δίνει κρασί που το χαρακτηρίζει η φρεσκότητα και η όξινη γεύση (Τσέτουρας, 2008, Haddad et al., 1978). Οι τιμές όλων των ειδών γλευκών, όπως φαίνεται στον Πίνακα 60, κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα, εντός των επιθυμητών ορίων. Το μέγεθος της ενεργής οξύτητας είναι αντιστρόφως ανάλογη με της ολικής οξύτητας. Το pH είναι τόσο υψηλότερο όσο χαμηλότερη είναι η ολική οξύτητα και αντιστρόφως. Αυτό παρατηρήθηκε και στις αντίστοιχες μετρήσεις των γλευκών. Στο μούστο Oleosan 2% μετρήθηκε η μικρότερη τιμή pH, ίση με 3,31 και η μεγαλύτερη τιμή ολικής οξύτητας ίση με 10,350 gr τρυγικού οξέος/ l.

Οι τιμές της ενεργής και της ολικής οξύτητας των τύπων μούστων Μάρτυρας, Vitosan 5%, Vitosan 10% και Oleosan 5% κυμαίνονται στο ίδιο επίπεδο. Στο μούστος της χαλκούχου επέμβασης, σημειώθηκε το pH ίσο με 3,61 και η ολική οξύτητα μετρήθηκε ίση με 9,150 gr τρυγικού οξέος/ l, δεύτερη κατά σειρά αύξουσα τιμών. Η διάκριση των τιμών του μούστου της χαλκούχου επέμβασης συσχετίστηκε με την οργανοληπτική εξέταση όπου και διαπιστώθηκε αυξημένη η έντασης της όξινης γεύσης σε σχέση με τους υπόλοιπους μούστους. Εκτιμάται ότι έχει να κάνει με το κύριο συστατικό του σκευάσματος τον ίδιο το χαλκό. Σε χαμηλά pH, ο χαλκός παρουσιάζει αυξημένη διαλυτότητα με τα ιόντα  $\text{Cu}^{+2}$  να πρωταγωνιστούν σε σχηματισμούς συμπλοκών ενώσεων με οργανικούς υποκαταστάτες. Έτσι, πιθανόν στα παραγόμενα σύμπλοκα, να υπάρχουν και οργανικά οξέα τα οποία συμμετείχαν στην μέτρηση της ολικής οξύτητας (Spear and Pierce, 1979).

Η τεχνολογική ωριμότητα – ο λόγος σάκχαρα/ οξύτητα - επηρεάζεται από το επίπεδο δυναμικότητας της σταφυλής. Το τρυγικό οξύ παρουσιάζει αρκετές αυξομειώσεις κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης έτσι ώστε τελικά οι έτοιμες ράγες να περιέχουν ίσες απόλυτες τιμές περιεκτικότητας σε τρυγικό οξύ με τις πράσινες ράγες. Είναι ένα συμβατικό κριτήριο που μεταβάλλεται ανάλογα τα παραγόμενα σταφύλια. Τα επιθυμητά επίπεδα ωρίμανσης των σταφυλιών είναι 20-35 (Τσέτουρας, 2008). Επομένως, όπως φαίνεται στον πίνακα 12, όλοι οι τύποι των μούστων προήλθαν από ώριμα σταφύλια.

Στον προσδιορισμό των διαφόρων τύπων γλεύκων συμπεριλήφθη και η οργανοληπτική τους εξέταση. Όλα τα γλεύκη είχαν πολύ καλή διαύγεια και λαμπρότητα. Τα αρώματα των γλευκών από επεμβάσεις Μάρτυρα και Χαλκούχου ήταν εξευγενισμένα και των γλευκών από επεμβάσεις Vitosan, πλούσια αρώματα λουλουδιών. Αρνητική εντύπωση έκαναν τα γλεύκη από επεμβάσεις Oleosan. Η ελαιώδη υπολειμματικότητα που διακρίθηκε πάνω στα σταφύλια, προφανώς συμμετείχε και στη σύσταση του γλεύκους, με αποτέλεσμα τη δυσάρεστη γεύση και την ενοχλητική κατάποσή του. Ωστόσο αυτό που έκανε τη μεγαλύτερη εντύπωση ήταν το ποιοτικό χαρακτηριστικό, το χρώμα. Οι επεμβάσεις με Vitosan χαρακτηρίζονταν από έντονη διαφορά χρώματος, χαρακτηρίζονται με έντονο ερυθρό χρώμα, με αναλογία στην ένταση με την περιεκτικότητα, δηλαδή το Vitosan 10% παρουσιάζει ακόμα πιο βαθύ το ερυθρό χρώμα που σημαίνει ότι έχει μεγάλη υπολειμματικότητα. Οι επεμβάσεις με το Oleosan έχουν ελαφριά απόκλιση με πράσινη απόχρωση, επίσης με αναλογία έντασης με το ποσοστό επέμβασης. Το χρώμα των μούστων των Vitosan και Oleosan δημιούργησαν μεγάλο προβληματισμό. Ο στόχος ήταν η παραγωγή ξηρού, λευκού οίνου και αυτοί οι

μεταχρωματισμοί που έγιναν τείνουν να κρίνουν ακατάλληλη τη χρήση των σκευασμάτων Vitosan και Oleosan. Έτσι, η άλλη παράμετρος των γλεύκων που αναλύθηκε ήταν το χρώμα.

Η φασματοφωτομετρική ανάλυση του χρώματος αποτελεί σημαντική παράμετρος των γλεύκων. Η μέτρηση της απορρόφησης χημικών ενώσεων οι οποίες είναι υπεύθυνες τόσο για τις θετικές όσο και για τις αρνητικές μεταβολές της ποιότητας από το γλεύκος έως το κρασί και μετέπειτα στην συντήρηση. Το χρώμα των μούστων και κατά συνέπεια των οίνων είναι αποτέλεσμα των συγκεντρώσεων των φαινολικών ενώσεων σε συνδυασμό της εκλεκτικής απορρόφησης ηλιακής ακτινοβολίας. Τα φαινολικά παράγωγα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση του χρώματος και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (γεύση, εξευγενισμός ή καφέτιασμα) (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Τα μήκη κύματος που χρησιμοποιήθηκαν για τις εκτιμήσεις της χημικής σύστασης του λευκού μούστου ήταν:

- 280 nm- είναι ο δείκτης ολικών φαινολών. Χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της περιεκτικότητας ενώσεων φλαβονοειδών φαινόλων, μη φλαβονοειδών (φαινολικών οξέων) και ορισμένων μη φαινολικών ουσιών. Η μέτρηση αυτή βασίζεται σε συγκεκριμένο χαρακτηριστικό αυτών των ενώσεων, στην παρουσία βενζολικού δακτυλίου, ο οποίος παρουσιάζει ισχυρή απορρόφηση στο υπεριώδες φως, με μέγιστο τα 280 nm.
- 420 nm- για την εκτίμηση των καφέ χρωστικών ενώσεων στο μούστο.
- 520 nm- δείκτης των κόκκινων χρωστικών στο μούστο συγκέντρωσης τανινών και των ελεύθερων ανθοκυανινών. Προσδιορίζονται ανθοκυάνες, ολιγομερής και πολυμερής ενώσεις.
- 620 nm- δείκτης της συγκεντρώσεως ανθοκυανινών υπό μορφή της άνυδρης βάσης. Εκφράζεται οπτικά με κυανοπράσινο χρωματισμό.

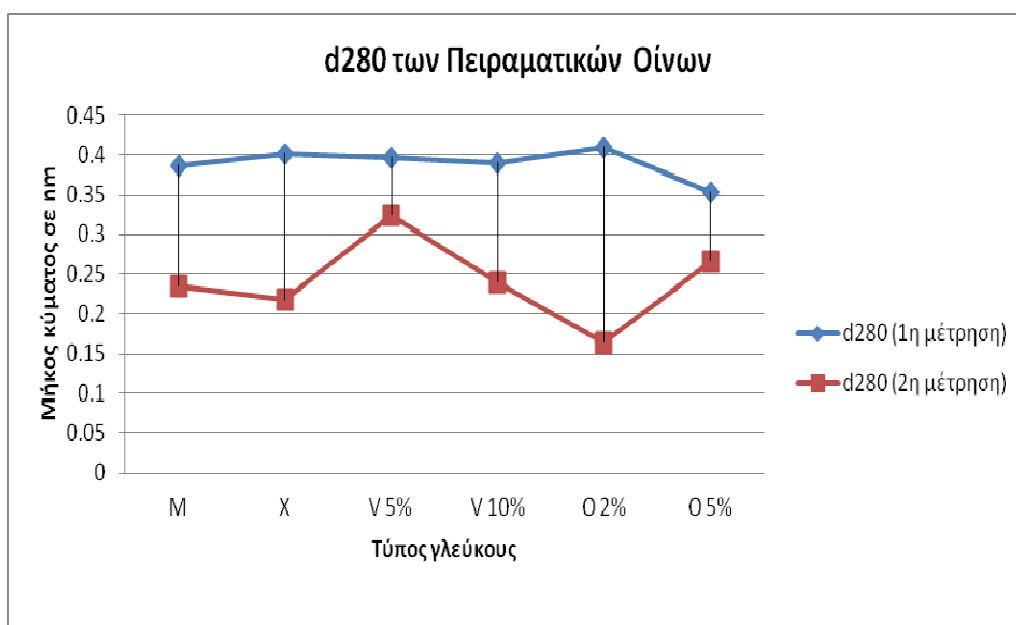
(Κουράκου- Δραγώνα, 1998, Pland, 2000, Ribéreau-Gayon et al, 2006).

Η εκτίμηση του χρώματος των λευκών οίνων γίνεται με τη μέτρηση της απορρόφησης στα 420 nm που είναι το μήκος κύματος που μετριέται το κίτρινο χρώμα. Αποτελεί ένδειξη βαθμού οξειδωσης των λευκών οίνων και όσο πιο οξειδωμένος είναι ο οίνος τόσο πιο μεγάλη είναι η απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος. Στους λευκούς οίνους το 420 nm πρέπει να κυμαίνεται από 0,068 έως 0,150. (Κουράκου- Δραγώνα Σ., 1998) (Πολίτης Γ., 1997) Μόνο ο τύπος Oleosan 2% απόκλινε, έχοντας μεγαλύτερη από τη θεμιτή τιμή σε λευκά οίνοι, ίση με 0,160.

Στα 520 nm, ο μούστος της χαλκούχο επέμβασης έχει την υψηλότερη τιμή. Αυτό σημαίνει ότι περιέχει περισσότερα φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή. Συνέχεια έχουν ο μούστος του Μάρτυρα και του Oleosan 2%. Ενώ, την μικρότερη περιεκτικότητα εμφανίζει ο μούστος της επέμβασης Vitosan 10%.

Οι ενδείξεις του φασματοφωτόμετρου σε μήκος κύματος 620 nm φανερώνουν ότι οι συγκεντρώσεις των κόκκινων χρωστικών στα γλεύκη τύπου Vitosan είναι οι πιο χαμηλές από τα λοιπά γλεύκη. Υποδηλώνεται, δηλαδή, ότι ο ερυθρός χρωματισμός που προσδίδεται στο γλεύκος από την ουσία Vitosan δεν είναι μόνιμος.

Οι μετρήσεις της απορρόφησης των 280 nm εξασφαλίζει μια εκτίμηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολών. Στους λευκούς οίνους, η όσο πιο χαμηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά χαρακτηριστικά θεωρείται η πιο επιθυμητή. Οφείλεται από τη ποικιλία από το χρόνο του τρυγητού και τον δείκτη ωρίμανσης (Πολίτης, 1997). Στην Εικόνα 51, φαίνονται οι αρχικές τιμές απορρόφησης στα 280 nm και οι τελικές τιμές, όπου διακρίνονται και οι διαφορές τους. Οι απορροφήσεις μειώθηκαν λόγω της μειωμένης κινητικής της προσρόφησης των φαινόλων κατά την πορεία του να οδηγηθεί στην αλκοολική ζύμωση (Ivanova et al., 2010).



**Εικόνα 51.** Οι αρχικές και οι τελικές τιμές των μετρήσεων του δείκτη ολικών φαινόλων ανά τύπο γλεύκους.

Στη συνέχεια μελετήθηκαν η ένταση ή πυκνότητα του χρώματος και η απόχρωσή του. Αποτελούν σημαντικό εργαλείο στον οινοποιό γιατί συμβάλουν στον εντοπισμό σε περίπτωση απόκλισης από της τιμές κι έτσι γίνεται έγκαιρη διόρθωση. Σύμφωνα με την ΟΙΥ, αυτά τα μεγέθη αποτελούν τα χρωματικά χαρακτηριστικά. Αποδεκτό εύρος της έντασης του χρώματος γλεύκους που θα οδηγήσει σε ένα καλό κρασί είναι 1,2 έως 1,3 (Ribéreau – Gayon et al., 2006). Τις προϋποθέσεις τηρούν όλα τα γλεύκη, μάλιστα η πιο υψηλή τιμή είναι 0,328 του μούστου επέμβασης Oleosan 2%. Τα γλεύκη αυτά περιγράφονται ως ελαφριά χρωματισμένα (Pand, 2000). Η απόχρωση δηλώνει την αξία του οίνου ως προς τη γήρανση (Ivanova et al., 2010). Τα γλεύκη κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα, την εξαίρεση την κάνει ο μούστος επέμβασης Oleosan, με τιμή απόχρωσης 2,18. Τα αποτελέσματα ποικίλουν, αφού η προέλευσή τους είναι από την ίδια ποικιλία εξαρτώνται από τις καλλιεργητικές φροντίδες.

Οι παρατηρήσεις των γλευκών είναι θετικά υποσχόμενες για την εποχή που έγινε ο τρύγος, για την υφιστάμενη κατάσταση τους και για την εξέλιξή του σε οίνο λευκό ξηρό, όπως είναι το χαρακτηριστικό της ποικιλίας Πλυτό.

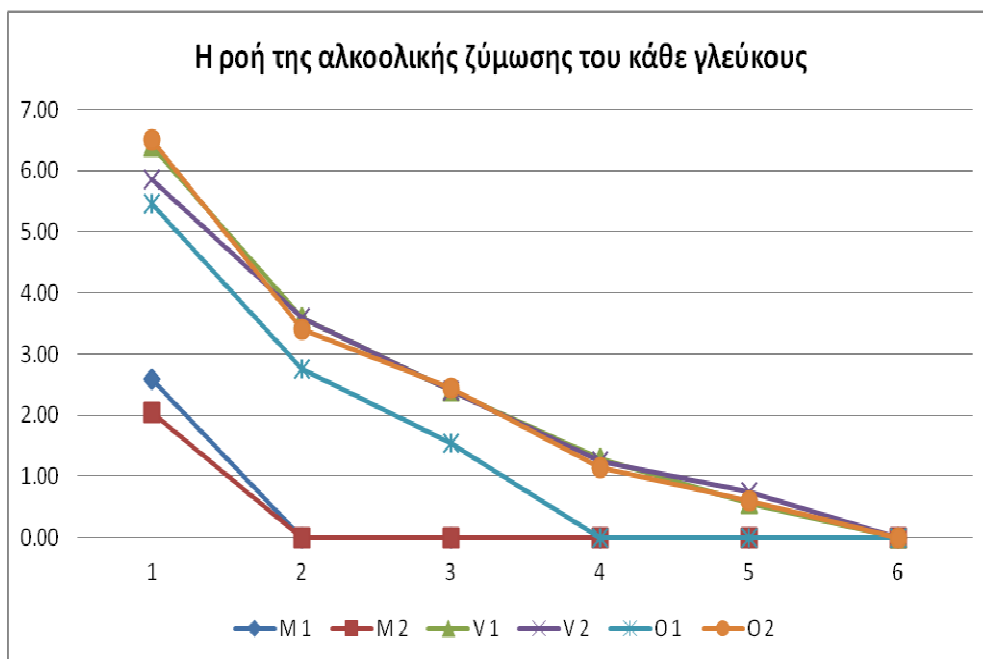
### **5.1.3 Αξιολόγηση των πειραματικών μεταχειρίσεων κατά τη διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης**

Ο θειώδης ανυδρίτης χρησιμοποιείται ως προσθετικό στο μούστο γιατί κανένα άλλο προϊόν δεν μπορεί να τον αντικαταστήσει πλήρως ως αντισηπτικό, ως αντιοξειδωτικό και ως διαυγαστικό ταυτόχρονα. Στην προσπάθεια για την αντικατάστασή του, επιλέχθηκε να δοκιμαστεί το σκεύασμα Vitosan. Απορρίφθηκε να ερευνηθεί το σκεύασμα Oleosan, λόγω της μικρότερης αντιμυκητικής απόδοσης και της ελαιώδης υπολειμματικότητάς της. Το Vitosan είχε μεγάλη αντιμυκητική προστασία στα σταφύλια. Η υπολειμματικότητα του σκευάσματος εκτιμήθηκε ότι δεν ήταν μόνιμη, υπήρχε δυνατότητα αφαίρεσης. Έτσι, αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί και ως προσθετική ουσία στην οινοποίηση των πειραματικών οίνων. Η ποσότητα προσθήκης του Vitosan δεν ακολούθησε τη φιλοσοφία του θειώδους επειδή στόχευε στην αναζήτηση ενδείξεων. Οι πειραματικοί οίνοι, λοιπόν, χωρίστηκαν σε δύο ομάδες σε αυτή που η προσθετική ουσία ήταν ο θειώδης ανυδρίτης και στην άλλη που ήταν το Vitosan.

Οι μούστοι υποβλήθηκαν σε εμβολιασμό με ζύμες, για να εξασφαλιστεί ταχύτητα στη ζύμωση και ολοκληρωτική μετατροπή των σακχάρων σε αλκοόλη. Η ζύμη που επιλέχθηκε



ήταν ο *Saccharomyces cerevisiae* var. *Bayanus*, γιατί έχει μεγαλύτερα ποσοστά βιωσιμότητας και είναι ισχυρός στον ανταγωνισμό με άλλες ζύμες (Τσέτουρας, 2008). Στην Εικόνα 52, δείχνεται η ροή της αλκοολικής ζύμωσης του κάθε τύπου μούστου και μελετάται οι διαφορές μεταξύ των βαθμών έντασης της ζύμωσης μεταξύ των μούστων.



**Εικόνα 52.** Η ροή της αλκοολικής ζύμωσης του κάθε γλεύκους. Στον άξονα των y αναγράφονται οι τιμές των διορθωμένων βαθμών  $B^{me}$  και στον άξονα των x, ο αριθμός της σειράς των μετρήσεων των αναγόντων σακχάρων κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης.

Κατά την αλκοολική ζύμωση παρατηρήθηκε αύξηση της θερμοκρασίας του γλεύκους, αναβρασμός με παράλληλη έκλυση διοξειδίου του άνθρακα, μεταβολή της περιεκτικότητας των σακχάρων και τέλος της μείωσης του ειδικού βάρους. Οι τιμές στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης ήταν ίσες με 0 που σημαίνει ότι δεν υπήρχε κίνδυνος της αναζύμωσης των ζυμών.

Ο βαθμός έντασης των αλκοολικών ζυμώσεων του Μάρτυρα ήταν ο μεγαλύτερος. Η αλκοολική ζύμωση του Oleosan με θειώδες είχε επίσης γρήγορο ρυθμό ολοκλήρωσης, τρίτο κατά σειρά. Ο θειώδης ανυδρίτης συμβάλλει στην ενεργοποίηση ζυμομυκήτων προς όφελος της αλκοολικής ζύμωσης, και όπως φαίνεται, με αποτέλεσμα την επιτάχυνσή της. (Τσέτουρας, 2008). Είναι εμφανής ο επιβραδυμένος βαθμός έντασης της αλκοολικής ζύμωσης των οίνων Vitosan με θειώδες ανυδρίτη, Vitosan με Vitosan και Oleosan με Vitosan.

Το σκεύασμα Vitosan είναι πλούσιο σε πολυφαινόλες οι οποίες έχουν αντιοξειδωτική δράση. Εκτιμάται, ότι το Vitosan εμπόδιζε μερικώς τη δραστηριότητα των ζυμών, η οποία εξαρτάται ένα μέρος της από το οξυγόνο, με αποτέλεσμα την επιβράδυνση της αλκοολικής ζύμωσης.

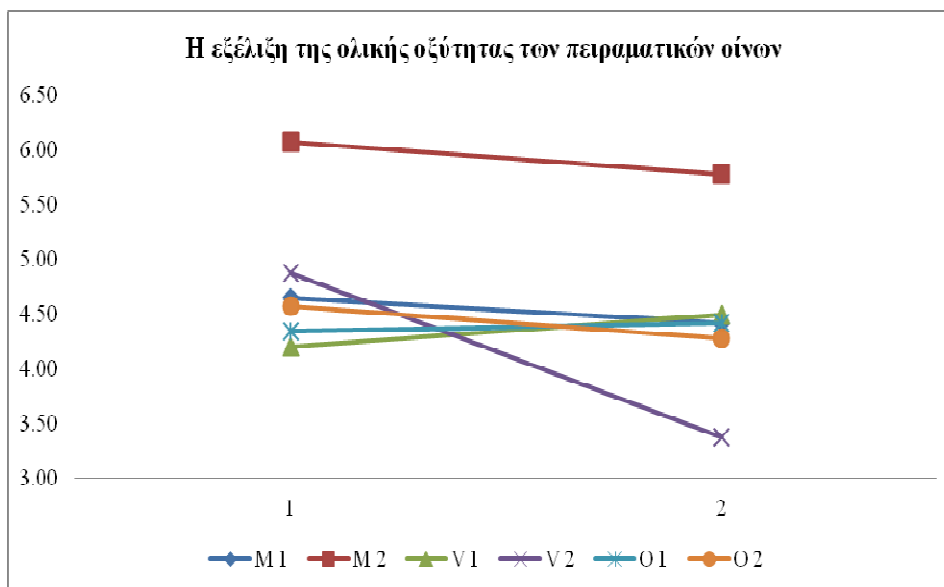
## 5.2 Αξιολόγηση των μετα-οινοποιήσιμων χειρισμών

Η κατάσταση των πειραματικών οίνων μετά το ατύχημα κατά τη συντήρησή τους στο θάλαμο του αγροκτήματος ήταν δυσμενής, αλλά δόθηκε η ευκαιρία να εξεταστεί η συμπεριφορά των σκευασμάτων σε περίπτωση ‘κακής’ αποθήκευσης με αποτέλεσμα τη γήρανση.

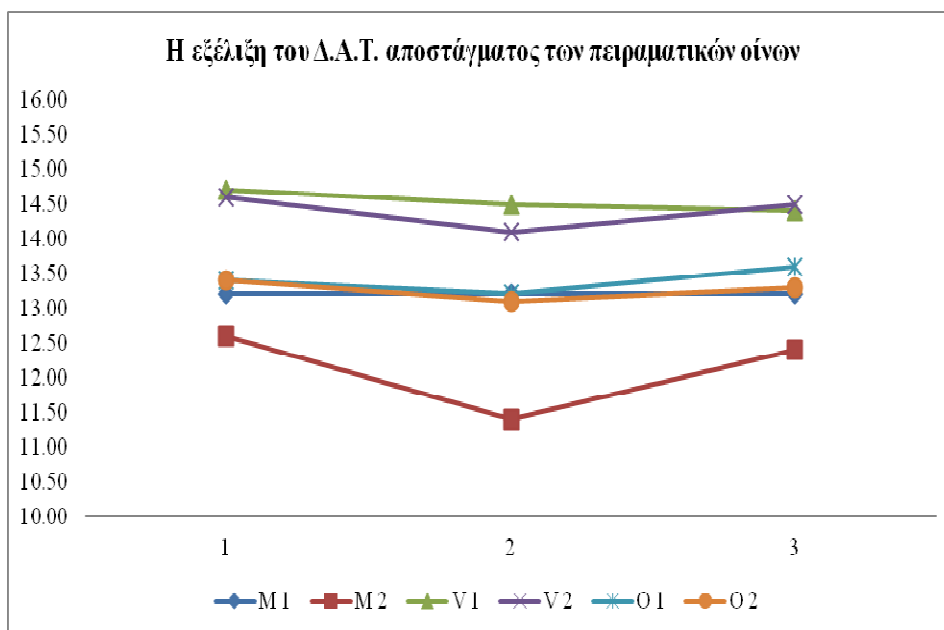
Στους πειραματικούς οίνους παρατηρήθηκαν θολώματα, αλλαγές χρωμάτων, δημιουργία οσμών και σε μερικά μπουκάλια ιζημάτων και αλλοιώσεις στη γεύση. (Πίνακας 25) Στον πειραματικό οίνο Μάρτυρα με Vitosan παρατηρήθηκε συννέφιασμα, που οδήγησε σε υποψία για εκτροπή. Η εικόνα αυτή σημαίνει ότι η θερμική και φωτεινή μεταχείριση των κρασιών επέφερε αλλοίωση της χημικής σύστασή τους.

Η χημική ερμηνεία των πειραματικών οίνων δόθηκε μετά από μια σειρά χημικών αναλύσεων, συγκεκριμένα των προσδιορισμών της ολικής οξύτητας, της πτητικής οξύτητας, του αλκοολικού βαθμού αποστάγματος και της εκτίμησης οργανοληπτικών χαρακτηριστικών με κύριο προσδιοριστικό στοιχείο τη νεφελομέτρηση. Επιπλέον, για τους πειραματικούς οίνους με προσθήκη θειώδες έγινε ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας στις μορφές του θειώδες. Η εξέλιξη της χημείας των πειραματικών οίνων παρουσιάζεται στις Εικόνες 53, 54 και 55.

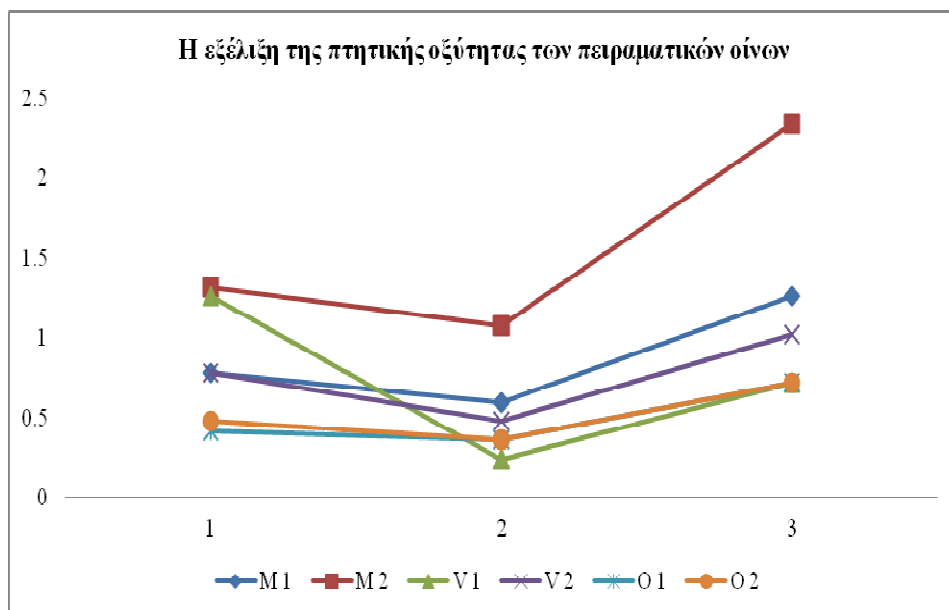
Στους λευκούς οίνους η υψηλή οξύτητα προσδίδει «φρεσκάδα» και «δροσερότητα». Η ολική οξύτητα εξετάζεται γιατί αποτελεί σημαντικός παράγοντας προστασίας του οίνου από τα βακτήρια κατά τη συντήρηση. Θετική δράση έχει όταν είναι υψηλή, κυρίως όταν η τιμή του ξηρού λευκού κρασιού τείνει να είναι κοντά στα 8gr τρυγικού οξέος/l.



**Εικόνα 53.** Η εξέλιξη της ολικής οξύτητας των πειραματικών οίνων. Στον άξονα των y αναγράφονται οι τιμές της ολικής οξύτητας, εκφραζόμενη σε gr τρυγικού οξέος/ l και στον άξονα των x, ο αριθμός της σειράς των μετρήσεών της.



**Εικόνα 54.** Η εξέλιξη του διορθωμένου αλκοολικού τίτλου (Δ.Α.Τ) των πειραματικών οίνων. Στον άξονα των y αναγράφονται οι τιμές του Δ.Α.Τ., εκφραζόμενο σε % αλκοολικών βαθμών στους 20°C και στον άξονα των x, ο αριθμός της σειράς των μετρήσεών του.



**Εικόνα 55** Η εξέλιξη της πτητικής οξύτητας των πειραματικών οίνων. Στον άξονα των y αναγράφονται οι τιμές της πτητικής οξύτητας, εκφραζόμενη σε gr οξικού οξέος/ l και στον άξονα των x, ο αριθμός της σειράς των μετρήσεών της.

Η πτητική μέτρηση αποτελεί δείκτης αλλοίωσης του κρασιού. Στην πτητική οξύτητα δεν συμπεριλαμβάνεται το τρυγικό και το μηλικό οξύ αφού είναι αμετάβλητες ενώσεις μη πτητικές. Τα οξέα που εξατμίζονται είναι οξικό οξύ, βουτυρικό οξύ, όχι τρυγικό και μηλικό οξύ. Η πτητική οξύτητα σε ξηρό κρασί είναι επιτρεπτό να υπάρχει σε συγκέντρωση 0,2-0,4 gr οξικού οξέος/ l. Άνω αυτού του σημείου δείχνει συνήθως προϊόν μικροβιακής προσβολής. Η αιτία παραγωγής πτητικής οξύτητας μπορεί να είναι γαλακτικά βακτήρια, όμως δεν παράγουν οξύτητας πάνω από 0,4-0,6 gr οξικού οξέος/ l. Σε περίπτωση που οι τιμές είναι υψηλότερες από 0,6 gr οξικού οξέος/ l, η πτητική οξύτητα προέρχεται από οξικά βακτήρια. Σε τιμές που υπερβαίνουν τη μονάδα θεωρείται κακό κρασί αλλά αφήνεται το ενδεχόμενο διόρθωσης μέσω φιλτραρίσματος ή άλλων θεραπειών. Όμως σε περιπτώσεις που η πτητική οξύτητα έχει τιμή άνω των 2, το κρασί θεωρείται αυστηρώς ακατάλληλο για εμπορία (Τσέτουρας, 2008, Jackson, 2008).

Στα κρασιά παρατηρήθηκε μεγάλη μείωση της ολικής οξύτητας, του αλκοολικού βαθμού αποστάγματος και αύξηση της πτητικής οξύτητας. Οι μειωμένες τιμές της ολικής οξύτητας και του αλκοολικού βαθμού αποστάγματος δείχνουν ότι τα κρασιά είναι απροστάτευτα, εκτεθειμένα στο μικροβιακό κίνδυνο και αποτελούν ένδειξη αλλοίωσης της

χημικής σύστασης από οξειδώσεις. Ο πειραματικός οίνος Vitosan με Vitosan παρουσιάζει τη μεγαλύτερη μείωση ολικής οξύτητας, με απόλυτη τιμή διαφοράς 0,30. Οι υπόλοιποι οίνοι κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα. Αξιοσημείωτη είναι η αύξηση της πτητικής οξύτητας του M-2 κατά 1,02gr οξικού οξέος/ l και ο μειωμένος αλκοολικό τίτλος αποστάγματος. Οι οίνοι στους οποίους η προσθετική ουσία ήταν ο θειώδης ανυδρίτης παρουσιάζουν μικρότερη αύξηση πτητικής και μικρότερη μείωση των αλκοολικού βαθμού – μάλιστα δεν υπήρξε καμιά μεταβολή του Δ.Α.Τ. του πειραματικού οίνου Μάρτυρα με θειώδες. Ενώ οι οίνοι με προσθετική ουσία το Vitosan ήταν πιο ευαίσθητοι στις αλλοιώσεις. Συγκρίνοντας τα κρασιά με κριτήριο την προέλευσή τους, οι οίνοι του τύπου Oleosan παρουσιάζουν μεγαλύτερη χημική σταθερότητα.

Η υψηλή πτητική οξύτητα, ο μειωμένος αλκοολικός βαθμός (η 2<sup>η</sup> μέτρηση Δ.Α.Τ.= 11,40% vol) και η μειωμένη ολική οξύτητα, σε συνδυασμό με την αλλοίωση του χρώματος επιβεβαίωσαν την υποψία της μικροβιακής προσβολής, της εκτροπής στον πειραματικό οίνο Μάρτυρας με προσθήκη Vitosan. ο κοινή είναι αυτές από Acetobacter. Μάλιστα ο M-2 είναι ο πιο καταστραμμένος οίνος, αφού η πτητική του οξύτητα έφτασε να είναι ίση με 2,34, δηλαδή υπερέβη το όριο των 2, και ο οίνος αυτός θεωρείται ακατάλληλος όχι μόνο για κατανάλωση αλλά και για εμπορία.

Αξιοσημείωτο είναι ότι κάνοντας τον ίδιο τύπο ανάλυσης για έναν συγκεκριμένο οίνο, διακρίνονται διακυμάνσεις μεταξύ των τιμών των μετρήσεων, δεικνύοντας μία μην έχοντας συνοχή εικόνα για τη χημική κατάσταση του ενίοτε οίνου. Αυτό συμβαίνει γιατί το δείγμα της κάθε φοράς μέτρησης είχε προέλευση από διαφορετικό μπουκάλι. Η γήρανση στις φιάλες εκφράστηκε με διαφορετική ταχύτητα. Οι υψηλές θερμοκρασίες και φωτισμός προκάλεσαν χιλιάδες απρόβλεπτες αντιδράσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και στη δομή των κρασιών. Όμως ο τρόπος εκδήλωσης εξαρτήθηκαν από τον τρόπο έκφρασης των αντιδράσεων. Η κάθε χημική αντίδραση αντιπροσωπεύεται από ένα μοναδικό φράγμα ενέργειας, το οποίο πρέπει να ξεπεραστεί για να ακολουθήσει η επόμενη αντίδραση. Ανάλογα, λοιπόν, με το ενεργειακό δυναμικό του κάθε κρασιού θα προκαλείται η επιτάχυνση της ωρίμανσής του. Επομένως, το ποσοστό γήρανσης του κάθε μπουκαλιού είναι ξεχωριστό. (Pandell, 1996).

Η καλύτερη εμφάνιση των κρασιών με την προσθετική ουσία θειώδες ανυδρίτη καθοδήγησε στον προσδιορισμό των επιπέδων του θειώδους. Φυσικό επακόλουθο είναι η μείωση του θειώδους ανυδρίτη κατά 30-50% της αρχικής ποσότητας, μετά το τέλος της

αλκοολικής ζύμωσης (Τσέτουρας, 2008). Προσθήκη δεν ξανάγινε στους πειραματικούς οίνους κατά τη διάρκεια του πειράματος. Είναι αναμενόμενο να παρθούν αποτελέσματα μειωμένων ποσοτήτων διοξειδίου του θείου στους οίνους. Τελικό ελεύθερο επιτρεπτό μεταξύ τιμών 25-150 mg/ l και δεσμευμένου διοξειδίου του θείου έως 0,825 mg/ l (Haddad, 1978). Επειδή η περιεκτικότητα του διοξειδίου του θείου στο μπουκάλι μειώνεται με το χρόνο, η αντιοξειδωτική ικανότητα του γίνεται ανεπαρκής (Henderson, 2009). Η απελευθέρωση των καρβονυλικών οφείλεται στην μετατόπιση της ισορροπίας των ελεύθερων με των δεσμευμένων μορφών, με αποτέλεσμα να δημιουργηθεί ένα οξειδωμένο χρώμα ενώ η απελευθέρωση των καρβονυλίων οδηγεί στο καφέχρωμα (Jackson, 2008). Η ελεύθερη μορφή είναι αυτή που έχει προστατευτική δράση γι αυτό κρίνεται η ολική σε συνάρτηση με αυτήν. Ο πειραματικός οίνος V-1 είχε επαρκή ποσότητα ελεύθερου διοξειδίου του θείου (30,4mg/ l), γι' αυτό και διατηρούσε μερικώς καλά χαρακτηριστικά στη γεύση και στην οσμή (Πίνακας 17). Ενώ, οι ποσότητες του ελεύθερου SO<sub>2</sub> ήταν μειωμένες κάτω από τα θεμιτά όρια. Οι ποσότητες του ολικού διοξειδίου του θείου ήταν πολύ υψηλές, που σημαίνει ότι το μεγαλύτερο μέρος έχει δεσμευτεί.

Σε συνάρτηση με τις χημικές αναλύσεις εκτιμούνται οι οργανοληπτικές αλλοιώσεις. Η αλλοίωση του χρώματος ήταν πολύ εμφανής. Το καφέ χρώμα είναι ανεπιθύμητο στο λευκό κρασί. Η ενζυματική οξείδωση είναι πιο σημαντική από ότι η χημική. Έχει άμεση σχέση με το pH, είναι 9 φορές υψηλότερος ο κίνδυνος για pH άνω του 4 (Li et al., 2008). Τα κρασιά με προσθήκη θειώδους, κυρίως το Oleosan με θειώδες, διατήρησαν καλύτερα το χρώμα τους και τη διαύγειά τους, από ότι αυτών με προσθετική ουσία το Vitosan. Ενδεχομένως, οφείλεται στην μειωμένη περιεκτικότητα χρωστικών, έτσι εμφανίζουν μικρότερη εξέλιξη χρώματος.

Η μείωση της έντασης του χρώματος των κρασιών οφείλεται στην αποδόμηση των ελεύθερων ανθοκυανών. Επιπρόσθετες δομικές αλλαγές έλαβαν μέρος που οδήγησαν στο σχηματισμό και την καθίζηση έγχρωμων πολυμερών (Jackson, 2008). Οι έγχρωμες ενώσεις προκάλεσαν αλλοίωση του χρώματος μέσω της επίδρασης των οξειδωτικών μηχανισμών. Η δημιουργία του κίτρινου χρώματος έγινε εύκολα με την επίδραση της υψηλής θερμοκρασίας που επικρατούσαν αυτήν την περίοδο των 2,5 εβδομάδων στο ψυκτικό θάλαμο. Επίσης, ήταν αποτέλεσμα και της επίδρασης του φωτός το οποίο σε συνεργιστική δράση με την υψηλή θερμοκρασία, κατάστρεψαν τις ελεύθερες ανθοκυάνες και παράλληλα εξαφάνισαν το οξυγόνο. Το οξυγόνο καταναλώθηκε με οξειδώσεις προς το σχηματισμό συμπλόκων και διοξειδίου του άνθρακα, του οποίου η έκλυση του σε μερικά μπουκάλια είχε ως συνέπεια την

εκσφενδόνιση των φελλών τους. Βιοχημικά, σύμφωνα από βιβλιογραφίες, η μαλβίνη υποβαθμίστηκε χημικά και ευνόησε τον σχηματισμό κόκκινων χρωστικών, έτσι το χρώμα γρήγορα εξελίχθηκε από κιτρινωπό- λευκό σε κίτρινο- καφέ και σε άλλους οίνου κίτρινο- κόκκινο. Η χρωματική υποβάθμιση ήταν σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών (Πίνακας 60) και κυρίως των μη. Και οι δύο παράγοντες πρέπει να συμμετέχουν για τα ξηρά κρασιά στο 50% με αιτία την οξειδωση τους είτε από χημική είτε από ενζυμική αιτία. Ο μη φαινολικός παράγοντας του καφετιάσματος είναι οι σακχαρίτες, οι πρωτεϊνικές ενώσεις, η τυροσόλη και ίχνη κατεχίνης. Αυτοί οι οποίοι υπέστησαν την μεγαλύτερη χρωματική αλλαγή διακρίθηκαν από τη δημιουργία έγχρωμων κολλοειδών που υπέστη καθίζηση. Το ποσοστό πολυμερισμού είναι ανάλογο με τη γήρανση (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Παρόλα αυτά, η χημική ηλικία δεν είναι συμβατή με την πραγματική ηλικία των πειραματικών οίνων. Η υψηλή θερμοκρασία συνέλαβε θετικά στις αντιδράσεις διάσπασης του χρώματος. Το κίτρινο χρώμα οφείλεται κυρίως από την οξειδωση των φλαβονόλων, κερκετίνης και πολυμερών γαλλοκατεχινών, μέσω οξειδώσεως του τρυγικού οξέος προς σχηματισμού έγχρωμων ξανθυλιοκατιόντων, γι αυτό και παρατηρήθηκε μείωση ολικής οξύτητας. Μικρή συμβολή είναι οι αρνητικές επιδράσεις του χρώματος από τις φαινόλες γιατί βρίσκονται στους λευκούς οίνους σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Ο φαινολικός παράγοντας καφετιάσματος είναι οι ενώσεις καφεϊκά και κουταρικά οξέα (Jackson, 2008, Ribéreau – Gayon et al., 2006).

Οι υψηλές πτητικές προκαλούν αυξημένη θολερότητα, γι' αυτό και η βακτηριακή προσβολή του M-2 συνοδεύτηκε από έντονο θόλωμα (Nicolini et al., 2011). Η δημιουργία του θολώματος και σε άλλα κρασιά, προκάλεσε απορίες για την πρωτεϊνική σταθερότητα των κρασιών. Οι μηχανισμοί που οδηγούν σε σχηματισμό θολερότητας είναι πολύπλοκοι και εξαρτώνται από μοριακές δομές (Πίνακας 61) (De Bruijn et al., 2009).

Το φως παίζει σημαντικό ρόλο μεταβολίζει αμινοξέα άζωτο και θεικές ενώσεις με αποτέλεσμα την παραγωγή θεικών παραγώγων. Τα θειικά παράγωγα συμβάλλουν με αρνητικό τρόπο τη γεύση του κρασιού (Leguillon, 1994). Το θεμιτό για τα λευκά ξηρά κρασιά είναι ότι η μέτρηση της θολερότητας δεν πρέπει να υπερβαίνει το 1-5 NTU. Επιτρεπτά όρια εμπορεύσιμων κρασιών είναι 10-15 NTU. Μέχρι 10 μονάδες θολότητας στο γυμνό μάτι φαίνεται διαυγές.

**Πίνακας 61.** Τα είδη θολωμάτων και οι αιτίες τους σε λευκούς οίνους.

ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΩΝ ΘΟΛΩΜΑΤΩΝ	ΛΕΥΚΟΙ ΟΙΝΟΙ
Ενζυματική	Θόλωμα οξειδάσων
Μικροβιολογική	Ζυμομύκητες (Σπανίως βακτήρια)
Χημική	Θόλωμα σιδήρου Θόλωμα χαλκού Πρωτεϊνικό θόλωμα (πρωτεΐνες που παράγονται από μηχανισμό άμυνας από παθογόνα) Ίζημα τρυγικών αλάτων

Η θολερότητα αποτελεί ποιοτικό ελάττωμα, είναι η ένδειξη ανεπιθύμητης μικροβιακής ανάπτυξης με αρνητικές επιπτώσεις στη γεύση. Είναι ανάγκη η διαυγαστική δράση των προσθετικών ουσιών που στοχεύουν τη μείωση του πολυμερισμού των ενώσεων. Η αυξημένη προσρόφηση μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η αυξημένη θερμική κατάσταση ευνόησε το φαινόμενο διάχυσης και αύξησης των αριθμό των ενεργών πόρων. Στους 400 NTU είναι μη εμπορεύσιμο. Αποδεκτό με αλλοιώσεις όχι πάνω από 100, αποδεκτό με αλλοιώσεις έως 6-10 (De Bruijn et al., 2009, Farkaš et al., 1988). Το μέγιστο της θολερομετρίας για την αποδοχή λευκού ξηρού κρασιού που μπορεί να γίνει διόρθωση, είναι 100-200 NTU. Η θολερότητα του οίνου M-2 μετρήθηκε ίση με 243 NTU. Το M-2 αποδεικνύεται να είναι τόσο ασταθές που δείχνει υποβάθμιση χωρίς καμιά δυνατότητα επέμβασης. Παρουσιάζουν 6 διαφορετικά επίπεδα που συσχετίζονται άμεσα με την αντίστοιχη τους πτητική οξύτητα. Καλύτερη εικόνα παρουσιάζουν οι οίνοι που έχουν τιμή θολερότητας κάτω από 100, όπως είναι οι οίνοι M-1, V-1, V-2, O-1 και O-2 (Nicolini et al., 2011). Είναι προφανές η δυνατή διαυγαστική δράση του διοξειδίου του θείου σε αντιπαράθεση της ελάχιστης έως ανύπαρκτης διαυγαστικής ικανότητας του σκευάσματος Vitosan.



### **5.3 Αξιολόγηση του πειράματος εμβολιασμένων δειγμάτων των πειραματικών οίνων με οξικά βακτήρια**

Το σκεύασμα Vitosan ήταν αμφισβητούμενο πλέον για την αντιβακτηριδιακή δράση, γι' αυτό έγινε το πείραμα του εμβολιασμού δειγμάτων των πειραματικών οίνων με οξικά βακτήρια και με προσθήκη δύο διαφορετικών συγκεντρώσεων του Vitosan. Τα αποτελέσματα εξέλιξης των δειγμάτων έπειτα από θερμική μεταχείριση φαίνεται στις Εικόνες 45-50.

Γενικά, παρατηρήθηκαν ορισμένες αυξομειώσεις των τιμών ολικής οξύτητας του κάθε δείγματος κατά τις τρεις μετρήσεις. Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ των εμβολιασμένων δειγμάτων οίνου και των αντίστοιχων δειγμάτων εμβολιασμένων με μία δόση και των εμβολιασμένων με διπλή δόση, ήταν μικρές. Είναι λογικό το αποτέλεσμα να έχουν λίγο υψηλότερη ολική οξύτητα από την ομάδα δειγμάτων του Μάρτυρα, εφόσον τα οξικά βακτήρια έχουν καταναλώσει ποσότητα υδατανθράκων προς σχηματισμό οξέων.

Οι μετρήσεις της πτητικής οξύτητας είναι αποθαρρυντικές. Τα δείγματα M-1 και M-2 της ομάδας Β, Γ και Δ παρουσίασαν σημαντική αύξηση της πτητικής οξύτητας (Εικόνα 55). Σημειώνοντας ότι το M-2 ήταν πειραματικός οίνος ο οποίος εξ αρχής παρουσίασε βακτηριακή προσβολή, παρατηρείται μείωση πτητικής οξύτητας των ομάδας Γ και Δ σε σχέση με της Γ. Όμως, δε θεωρείται ένδειξη θετική εφόσον, πρώτον σε δείγματα οίνου με προσθήκη Vitosan διακρίνεται μεγάλη αύξηση της πτητικής οξύτητας και δεύτερον συγκρίνοντας τη με αυτήν της M-1 έχουν κοινή συμπεριφορά κι έτσι συμπεραίνεται ότι η μείωση σχετίζεται με την επέμβαση των σταφυλιών κι όχι με την προσθετική ουσία. Οι μετρήσεις των Δ.Α.Τ. αποστάγματος όλων των δειγμάτων των ομάδων Γ και Δ κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα με της ομάδας Β.

Οι μετρήσεις των δειγμάτων με τις συγκεντρώσεις Vitosan έδειξαν κοινή συμπεριφορά με τα δείγματα των εμβολιασμένων. Αυτές οι παρατηρήσεις οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι το Vitosan ως προσθετική ουσία στην οινοποιεία δεν προστατεύει τον οίνο από προσβολή του από οξικά βακτήρια.

## 6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

*«Ο επιστήμονας δεν είναι ένα άτομο που δίνει τις σωστές απαντήσεις· είναι αυτός που ρωτά τις σωστές ερωτήσεις»*

Claude Lévi- Strauss

Η διερεύνηση των φυσικών αντικαταστατών του θειώδους ανυδρίτη μελετήθηκε λεπτομερώς από τα σταφύλια, στο μούστο, στην οινοποίηση έως και τη συντήρηση. Το σκεύασμα Oleosan αποδείχτηκε ακατάλληλο για χρήση τόσο ως φυτοπροστατευτικό σκεύασμα όσο και στην οινοποιεία. Η ελαιώδης υπολειμματικότητα ήταν ενοχλητική και η εμφάνισή της και η διατηρησιμότητά της στον οίνο ήταν αναπόφευκτη έως και, στις κακές συνθήκες αποθήκευσής του. Μετέβαλε αρνητικά τις οργανοληπτικές ιδιότητες του οίνου, προκάλεσε μεταχρωματισμό, αλλοίωση της οσμής και σε μεγαλύτερο βαθμό τη γεύσης. Αυτή η συμπεριφορά του τόν απέκλεισε από την ιδέα καν, να εξεταστεί και ως προσθετική ουσία στην οινοποίηση.

Το Vitosan αξιολογήθηκε ως σκεύασμα με υψηλή αντιμυκητολογική δράση. Συμμετείχε εναρμονισμένα στην εκδήλωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του ποικιλιακού οίνου και του παρέιχε ως ενός σημείου προστασία στην περίπτωση της χημικής

γήρανσης. Παρουσίασε μειονεκτήματα, αρχικά με την ερυθρή υπολειμματικότητα. Η υπολειμματικότητα διατηρήθηκε και στο γλεύκος και στο κρασί. Όμως, για την παραγωγή λευκού κρασιού, ο οποιαδήποτε μεταχρωματισμός του οίνου θεωρείται ανεπιθύμητος. Η φασμαφωτομέτρηση των οίνων με Vitosan απέδειξε ότι δεν ήταν μια μόνιμη κατάσταση. Ενδέχεται η χρήση μεθόδου διόρθωσης αυτού του μεταχρωματισμού. Μειονέκτημα του Vitosan είναι η μειωμένη ικανότητά του στη διαύγεια του οίνου, η οποία είναι αναγκαίο ποιοτικό χαρακτηριστικό των λευκών οίνων. Επίσης, το σκεύασμα Vitosan δεν εξασφαλίζει βακτηριδιακή προστασία στα κρασιά. Συμπεραίνεται, ότι το Vitosan μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην οινοποίηση, αλλά ως συμπληρωματικό. Η χρήση του σκευάσματος Vitosan ενδείκνυται για μερική υποκατάσταση του θειώδους. Συνιστάται η επανάληψη του πειράματος υπό καλύτερες συνθήκες. Σε λευκούς οίνους επιβάλλεται εκ των πραγμάτων, η εύρεση επίλυσης της επίμονης εμφάνισης του μεταχρωματισμού. Η έρευνα μπορεί συνεχιστεί και για την αξιολόγηση του σκευάσματος Vitosan σε ερυθρή οινοποίηση. Τελικά, η πλήρης αντικατάσταση του θειώδους ανυδρίτη ήταν ανεπιτυχής.

Η εύρεση μιας οριστικής λύσης φαίνεται πολύ δύσκολη έως απογοητευτική. Το διοξείδιο του θείου είναι μια ένωση, με ιδιότητες που εξυπηρετούν πολύπλευρα τις ανάγκες της οινολογίας. Δεν θα πρέπει να λησμονείται η χρήση του θειώδους ανυδρίτη στη διαδικασία της οινοποίησης, τουλάχιστον όχι μέχρι να βρεθεί η σούπερ συνταγή. Άλλωστε, ποιος απολαύνει οξειδωμένο κρασί; Ποιος τα καταφέρνει καλύτερα από το θειώδες ανυδρίτη; Η αναγκαιότητά του είναι αναμφισβήτητη και του εξασφαλίζει τη συμβολή του στο τομέα της οινοποίησης.

Ωστόσο, τα αρνητικά αποτελέσματα που έχει κυρίως στον ανθρώπινο οργανισμό δεν μπορούν να παραμεριστούν. Οι προσπάθειες, για την εύρεση αντικαταστατών του θειώδους ανυδρίτη, έχουν ήδη αρχίσει από την αρχή αυτού του αιώνα. Η προσοχή των ερευνητών έχουν επικεντρωθεί στα φαινολικά, τα οποία κυριαρχούν στην έκφραση τέτοιων χαρακτηριστικών κι έτσι κερδίζουν με τις ιδιότητές τους την προσοχή προς όφελος της υγείας. Το σταφύλι και η ελιά αποτελούν φθηνή πηγή παραγωγής και έχουν πλούσιες συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων. Οι μελέτες που πραγματοποιούνται πάνω σε αυτά είναι πολλές και πολύ υποσχόμενες. Το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας είναι ζωηρό. Μεγάλος ζήλος έρευνας στην οινοποίηση υπάρχει και στη χώρα μας, με επικέντρωση των ερευνητών προς φυσικούς αντικαταστάτες του θειώδους και τα αποτελέσματα είναι πολύ θετικά.

Αναγνωρίζεται ότι σε ορισμένες περιπτώσεις το διοξείδιο του θείου είναι η μόνη

λύση. Ο μύθος ότι το διοξείδιο του θείου είναι η μοναδική λύση στην οινοποίηση πρέπει να καταρριφθεί. Τα αποτελέσματα του πειράματος αυτού, προσδίδει ελπίδα ότι η λύση είναι κοντά. Θα είναι μία ένωση ή η συνεργιστική δράση δύο ή περισσότερων; Για τώρα δεν γνωρίζεται η απάντηση. Όπως και να έχει, στο νου του ο κάθε ερευνητής πρέπει να θυμάται το απόφθεγμα του πιο διάσημου ανθρωπολόγου του 20<sup>ου</sup> αιώνα, του Claude Lévi - Strauss.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

**Πίνακας I.** Αντιστοιχία Σακχάρων γλεύκους, Βαθμών Baumé, Βαθμών Brix και Ειδικού Βάρους (Τσέτουρας., 2008)

Ο πίνακας ισχύει για γλεύκη που προέρχονται από υγιή σταφύλια.

°Brix	Σάκχαρα (g/L)	Σχετική πυκνότητα	ΔΑΤ	°Brix	Σάκχαρα (g/L)	Σχετική πυκνότητα	ΔΑΤ
10	85.4	1.041	5.0	20	192.9	1.084	11.3
10.2	87.5	1.041	5.1	20.2	195.1	1.085	11.5
10.4	89.6	1.042	5.3	20.4	197.4	1.086	11.6
10.6	91.6	1.043	5.4	20.6	199.6	1.087	11.7
10.8	93.7	1.044	5.5	20.8	201.9	1.088	11.9
11	95.8	1.045	5.6	21	204.1	1.089	12.0
11.2	97.9	1.046	5.7	21.2	206.4	1.090	12.1
11.4	100.0	1.046	5.9	21.4	208.6	1.091	12.3
11.6	102.0	1.047	6.0	21.6	210.9	1.092	12.4
11.8	104.1	1.048	6.1	21.8	213.1	1.093	12.5
12	106.2	1.049	6.2	22	215.4	1.094	12.7
12.2	108.4	1.050	6.4	22.2	217.7	1.094	12.8
12.4	110.5	1.051	6.5	22.4	219.9	1.095	12.9
12.6	112.6	1.052	6.6	22.6	222.2	1.096	13.1
12.8	114.7	1.052	6.7	22.8	224.5	1.097	13.2
13	116.8	1.053	6.9	23	226.7	1.098	13.3
13.2	118.9	1.054	7.0	23.2	229.0	1.099	13.5
13.4	121.0	1.055	7.1	23.4	231.3	1.100	13.6
13.6	123.1	1.056	7.2	23.6	233.6	1.101	13.7
13.8	125.3	1.057	7.4	23.8	235.9	1.102	13.8
14	127.4	1.058	7.5	24	238.2	1.103	14.0
14.2	129.5	1.059	7.6	24.2	240.5	1.104	14.1
14.4	131.7	1.059	7.7	24.4	242.8	1.105	14.3
14.6	133.8	1.060	7.9	24.6	245.1	1.106	14.4
14.8	135.9	1.061	8.0	24.8	247.4	1.107	14.5
15	138.0	1.062	8.1	25	249.7	1.108	14.7
15.2	140.2	1.063	8.2	25.2	252.0	1.108	14.8
15.4	142.4	1.064	8.4	25.4	254.2	1.109	14.9
15.6	144.5	1.065	8.5	25.6	256.5	1.110	15.1
15.8	146.7	1.065	8.6	25.8	258.8	1.111	15.2
16	148.9	1.066	8.8	26	261.1	1.112	15.4
16.2	151.0	1.067	8.9	26.2	263.4	1.113	15.5
16.4	153.2	1.068	9.0	26.4	265.7	1.114	15.6
16.6	155.4	1.069	9.1	26.6	268.0	1.115	15.7
16.8	157.6	1.070	9.3	26.8	270.3	1.116	15.9
17	159.7	1.071	9.4	27	272.6	1.117	16.0
17.2	161.9	1.072	9.5	27.2	274.9	1.118	16.2
17.4	164.1	1.073	9.6	27.4	277.3	1.119	16.3
17.6	166.3	1.073	9.8	27.6	279.6	1.120	16.4
17.8	168.5	1.074	9.9	27.8	282.0	1.121	16.6
18	170.7	1.075	10.0	28	284.4	1.122	16.7
18.2	172.9	1.076	10.2	28.2	286.8	1.123	16.9
18.4	175.1	1.077	10.3	28.4	289.2	1.124	17.0
18.6	177.3	1.078	10.4	28.6	291.6	1.125	17.1
18.8	179.5	1.079	10.5	28.8	294.0	1.126	17.3
19	181.8	1.080	10.7	29	296.4	1.127	17.4
19.2	184.0	1.081	10.8	29.2	298.9	1.128	17.6
19.4	186.2	1.082	10.9	29.4	301.3	1.129	17.7
19.6	188.4	1.083	11.1	29.6	303.8	1.130	17.9
19.8	190.7	1.083	11.2	29.8	306.2	1.131	18.0
				30	308.7	1.132	18.1

**Πίνακας II.** Διόρθωση των βαθμών Baumé βάση της θερμοκρασίας (Iland, 2000)

Θερμοκρασία γλεύκους (°C)	Μέτρηση αραιομέτρου	Διορθωμένη τιμή (στους 20°C)	
		Baumé	Ειδικό βάρος
15	X	x-0.25	x-0.0010
16	X	x-0.20	x-0.0008
17	X	x-0.15	x-0.0006
18	X	x-0.10	x-0.0004
19	X	x-0.05	x-0.000
20	X	x	x
21	X	x+0.05	x+0.0002
22	X	x+0.10	x+0.0004
23	X	x+0.15	x+0.0006
24	X	x+0.20	x+0.0008
25	X	x+0.25	x+0.0010



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βερεσόγλου Δ., 2010, Οικολογία, γ' έκδοση, Εκδόσεις Διονύσιος Σ. Γαρταγάνης, 260 σελ.
- Γελασάκη Χ.Ε., 2011, Εφαρμογή του φυτικού εκχυλίσματος Vitosan σε πρέμνα ποικιλιών Δαφνί και Πλυτό & κομμένα σταφύλια της ποικιλίας Δαφνί για την προ- και μετα-συλλεκτική προστασία τους από τον βοτρώτη (*Botrytis cinerea*), Πτυχιακή εργασία του τμήματος Φυτικής Παραγωγής του Τ.Ε.Ι. Κρήτης, 6-9, 22- 53 σελ.
- Κουράκου-Δραγώνα Σ., 1998, Θέματα Οινολογίας, Εκδόσεις Τροχαλία, 104, 182- 186, 207-264 σελ.
- Λυδάκης Δ., 2009, Γεωργικές Βιομηχανίες εγχειρίδιο εργαστηριακών ασκήσεων, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Εκδόσεις ΤΕΙ Κρήτης, 35-42 σελ.
- Πολίτη Γ., 2002, Φτιάχνοντας το κρασί μας, Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε., 75-105 σελ.
- Τσέτουρας Π., 2008, Οινοτεχνία-Η επιστήμη του κρασιού στην πράξη ISO 22000, Β' έκδοση, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, 36-38, 50-54 σελ.

### ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ashby J., Tinwell H., Pennie W., Brooks AN., 1999, Partial and weak oestrogenicity of the red wine constituent resveratrol: consideration of its superagonist activity in MCF-7 cells and its suggested cardiovascular protective effects, *Journal of Applied Toxicology*, 19(1): 39-45.
- Azzolini M., Tosi E., Veneri G., Zapparoli G., 2005, Evaluating the efficacy of lysozyme against lactic acid bacteria under different winemaking scenarios, *South African Journal of Enology and Viniculture*, volume 31 (2): 99-105.
- Baliska- Ramiszl A., Wojtasz- Pajak A., Pilarczyk B., Ramiszl A., Lauraunsl L., 2005, Antibacterial and antifungal activity of chitosan, *ISAH- Warsaw, Poland* (2): 1-3.
- Barbe, J.-C., De Revel, G., Joyeux, A., Lonvaud-Funel, A. & Bertrand, A., 2000, Role of carbonyl compounds in SO<sub>2</sub> binding phenomena in musts and wines from botrytized grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(8), 3413–3419.



- Barbe, J.-C., De Revel, G., Joyeux, A., Lonvaud-Funel, A. & Bertrand, A., 2001, Role of botrytized grape micro-organisms in SO<sub>2</sub> binding phenomena, *Journal of Applied Microbiology*, 90 (1): 34-42.
- Biancalana A., 2006, Making Wine: Sulfur Dioxide, Internet magazine Di Wine Taste, 11 (47): 1-2.
- Blasi M., Barbe J.-C., Dubourdieu D., Deleuze H., 2008, New Method for Reducing the Binding Power of Sweet White Wines, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18): 8470-8474.
- Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E., 1998, Principles and Practices of Winemaking, Chapman & Hall, New York, 82-91, 448-464.
- Bradshaw M.P., Barril C., Clark A.C., Prenzler P.D., Scollary, G.R., 2011, Ascorbic Acid: A Review of its Chemistry and Reactivity in Relation to a Wine Environment, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 51 (6): 479-498.
- Bradshaw M.P., Scollary, G.R., Prenzler, P.D., 2003, Defining the ascorbic acid crossover from anti-oxidant to pro-oxidant in a model wine matrix containing (+)-catechin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(14): 4126-4132.
- Brown L., Kroon P.A., Das G.K., Das S., Tosaki A., Chan V., Singer M.V., Feick P., 2009, The biological responses to Resveratrol and other polyphenols from alcoholic beverages, *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 33(9): 1513-1523.
- Bowyer, P.K & V. Moine-Ledoux. 2007. Mannostab: the award-winning new potassium bitartrate stabilisation product, *Austr & New Zealand Grapegrower & Winemaker*, 6: 57-62.
- Cardoso M.S., Mafra I., Reis A., Nunes C., Saraiva J.A., Coimbra M.A., 2010, Naturally fermented black olives: effect on cell wall polysaccharides and on enzyme activities of Taggiasca and Conservolea varieties, *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology*, 43(1): 153-160.
- Cleophas T.J., 1999, Wine, beer and spirits and the risk of myocardial infarction: a systematic review, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 53(9): 417-423.
- Coelho E., Rocha S.M., Delgadillo I., Coimbra M.A., 2005, Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during *Vitis vinifera* L. cv. 'Baga' ripening, *Analytica Chimica Acta*, 563(1-2): 204-214.

- Cotter P.D., Hill C., Ross P.R., 2005, Bacteriocins: Developing innate immunity in food, *Nature Review: Microbiology*, 3 (10): 777-789.
- Cuzzo F., Cappello M.S., Azzolini M., Tosi E., Zapporoli G., 2011, The inhibitory effects of wine phenolics on lysozyme activity against lactic acid bacteria, *International Journal Of Food Microbiology*, 148 (8): 184-190.
- Danilewicz J.C., 2011, Mechanism of Autoxidation of Polyphenols and Participation of Sulfite in Wine: Key the Role of Iron, *Am. J. Enol. Vitic.*, 62 (3): 319-328.
- Danilewicz J.C., 2007, Interaction of Sulfur Dioxide, Polyphenols, and Oxygen in a Wine Model System: Central Role of Iron and Copper, *Am. J. Enol. Viti.*, 58 (1): 53-60.
- De Amicis F., Giordano F., Vivacqua A., Pellegrino M., Panno ML., Tramontano D., Fuqua SAW., Ando. S., 2011, Resveratrol, through NF- $\kappa$ B/p53/Sin3/HDAC1 complex phosphorylation, inhibits estrogen receptor gene expression via p38MAPK/CK2 signaling in human breast cancer cells. *The FASEB Journal*, 25 (10): 3695.
- De Bruijn J., Valdebenito A., Loyola C., Serra I., Salazar F., López F., 2009, Estabilización en Continuo de Chardonnay con Resina de Intercambio Iónico: Efecto en los Perfiles Proteínicos y Fenólicos del Vino, *Chilean J. Agric. Res.*, 69 (1): 54- 59.
- Di Costo A., 2006, E220 E221 E222 E223 E226 E228 Sono additivi conservanti conosciuti come Solfiti, anidride solforosa. Cosa sono, in quali alimenti si trovano e quanti realmente ne mangiamo, [online] available from: <http://www.naturopataonline.org/articoli/32-inquinamento-e-salute/685-e220-e221-e222-e223-e226-e228-sono-additivi-conservanti-conosciuti-come-solfiti-anidride-solforosa-cosa-sono-in-quali-alimenti-si-trovano-e> [accessed 15 March 2011]
- Dimston R.A., 2010, Malolactic Fermentation – image, [online] available from: <http://alexandrachel.pbworks.com/w/page/20238208/Malolactic%20Fermentation> [accessed 20 October 2012]
- Divol B., Du Toit M., Duckitt E., 2012, Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(3): 601–613.
- Donnelly L.E., Newton R., Kennedy G.E., Fenwick P.S., Leung R., Russel R., Barnes P.J., 2004, Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular

mechanisms, American Journal of Physiology, Lung Cellular and Molecular Physiology, 287(4): L774-L783.

El Dorry M., 2012, Wine Making in Egypt, [online] available from: <<http://www.arabworldbooks.com/egyptomania/wine.htm>> [accessed 06 October 2012]

ENDO 08, The Endocrine Society's 90th annual meeting, San Francisco, June 15-18, 2008.

EST Laboratories, 2011, Red Wine Phenolic Report, White Wine Phenolic Report, California, [online] available from [accessed 13 December 2011]: <<http://www.etslabs.com/display.aspx?catid=48,50,58&pageid=74>> [accessed 06 October 2012]

Euro Group, 2012, Νέοι κανόνες της ΕΕ για το «βιολογικό κρασί», Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, ΕΚ αριθμός 423/2008, [online] available from: <[http://www.ifoam.org/about\\_ifoam/around\\_world/eu\\_group-new/positions/pdf/IFOAMEU\\_dossier\\_new\\_regulation\\_EL.pdf](http://www.ifoam.org/about_ifoam/around_world/eu_group-new/positions/pdf/IFOAMEU_dossier_new_regulation_EL.pdf)> [accessed 05 November 2012]

European Research, 2008, European researchers seek alternatives to sulphur dioxide in wine, Internet J. Research & Innovation E.C., <[http://ec.europa.eu/research/headlines/news/article\\_08\\_11\\_04\\_en.html](http://ec.europa.eu/research/headlines/news/article_08_11_04_en.html)> [accessed 30 January 2011]

European Commission (E.C.), 2008, European researchers seek alternatives to sulphur dioxide in wine, [online] available from: <[http://ec.europa.eu/research/infocentre/article\\_en.cfm?id=/research/headlines/news/article\\_08\\_11\\_04\\_en.html&item=Health%20%26%20life%20sciences&artid=8813&caller=AllHeadlines](http://ec.europa.eu/research/infocentre/article_en.cfm?id=/research/headlines/news/article_08_11_04_en.html&item=Health%20%26%20life%20sciences&artid=8813&caller=AllHeadlines)> [accessed 30 January 2011]

European Commission (E.C.), 2000, Fungal metalloenzymes oxidizing aromatic compounds of industrial interest, image laccase, [online] available from: <<http://lignin.cib.csic.es/pelas/pelas.html>> [accessed 21 October 2012]

Farkaš J., 1988, Technology and Biochemistry of Wine, Gordon and Bleach Science Publishers, Vol. 2, Czechoslovakia, 348-367, 518.

Forester S.C., Waterhouse A.L., 2009, Metabolites Are Key To Understanding Health Effects of Wine Polyphenolics, The Journal of Nutrition, 134(9): 1824S- 1831S.

- Fraunhofer Institute for interfacial Engineering and Biotechnology, 2010, Journal of Viticulture and Enology, Germany, 1.
- Freedman B.J., 1980, Sulfur dioxide in foods and beverages: its use as a preservative and its effect on asthma, *British Journal of Diseases of the Chest*, 74 (2): 128-134.
- Goode J., 2005, *The Science of Wine: From Vine to Glass*, University of California Press, 1, 95, 115-117.
- Haddad P.R., Sterns M., Wardlaw J., 1978, Analysis of wine- an undergraduate project, Chemistry Department of Australian National University, Au, 86- 89.
- Harbertson J.F., Parpinello G.P., Heymann H., Downey M.O., 2012, Impact of exogenous tannin additions on wine chemistry and wine sensory character, *Food Chemistry*, 131 (3),184-190.
- Hasenberg L., 2008, Sulfur Dioxide, DECHEMS e.V., 6-9 .
- Henderson P., 2009, Sulfur Dioxide, Science behind this anti-microbial, anti-oxidant, wine additive, *Practical Winery & Vineyard Journal*, Winter Edition, 1-6.
- Ignarro L.J., Balestrieri M.L., Napoli C., 2007, Nutrition, physical activity and cardiovascular disease: An update, *Cardiovascular Research*, 73 (2), 326-340.
- Iland P., 2000, Techniques for chemical analysis and quality monitoring during winemaking, Campbelltown S. Aust: Patrick Iland Wine Promotions, 26, 64-67, 70-83, 98-100.
- IUP (-Indiana University), 2012, About Biochemistry, Tyrosinase (image), [online] available from: <<http://www.iup.edu/biochemistry/about/default.aspx>> [accessed 22 November 2012]
- Ivanova V., Stefova M., Chinnici F., 2010, Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines standardized spectrophotometric methods, *J. Serb. Chem. Soc.*, 75(1): 45- 59.
- Jackson R.S., 2008, *Wine Science: Principles and Applications*, 3<sup>rd</sup> edition, Academy Press, San Diego, 312-315, 449-464, 491.
- Kennedy J.E., 2008, Grape and wine phenolics: Observations and recent findings, *Ciencia e Investigación Agraria*, 35 (2): 107-120.
- Klabunde T., Eicken C., Sacchetini J.C, Krebs B., 1998, Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center, *Nature Structural Biology*, 5 (12): 1084-1090.

- König H., Unden G., Fröhlich J., 2009, Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 307.
- Lage S., 2012-04-03, Químicos de Aveiro produzem vinho para intolerantes a sulfitos, *Jornal de Gência*, 20.
- Leguillon Y., 1994, Η χρήση ζυμομυκήτων στην οινοποίηση, *Οινολόγος*, 29 (Οκτώβριος, Νοέμβριος, Δεκέμβριος): 33-35.
- Li H., Guo A., Wang H., 2008, Mechanisms of oxidative browning of wine, *Food Chemistry*, 108 (1): 1-13.
- López M., Martínez F., Dell Valle C., Ferrit M., Luque R., 2003, Study of phenolic compounds as natural antioxidants by fluorescence method, *Talanta*, 60 (2-3): 609-616.
- Lück E., Jager M., 1997, *Antimicrobial Food Additives: Characteristics, Uses, Effects*, Springer-Verlag, Germany, pages, 103-105, 111, 112.
- Marques P., 2010, Claristar™ - O que são manoproteínas?- image, [online] available from: <https://sites.google.com/site/freitasvilar3/in-the-news/claristartm-oquesaomanoproteinas> > [accessed 20 October 2012]
- Mavrakis T., 2009, “Exploitation of bioactive constituents of olive leaves, grape pomace, olive mill waste water and their applications in phytoprotection”, PhD Thesis, Cranfield University, Applied Mycology Group, Cranfield Health, Faculty of Medicine and BioSciences, pages, 30-32, 43.
- Middleburg College, 2012, Lysozyme structure tutorial, [online] available from: <http://cat.middlebury.edu/~chem/chemistry/class/bio/ch322/lysozyme/lysozyme2.html> > [accessed 22 November 2012]
- Minussi R.C., Pastore G.M., Durán N., 2002, Potential applications of laccase in food industry- *Trends in Food, Science & Technology* 13 (6-7): 205-216.
- Moreno-Arribas M.V., Polo M.C., 2009, *Wine Chemistry and Biochemistry*, Springer, Spain, 3-5, 9, 10.
- NASA (-National Aeronautics and Space Administrator), 2012, The SO<sub>2</sub> Molecule (image), [online] available from: [http://mls.jpl.nasa.gov/products/so2\\_product.php](http://mls.jpl.nasa.gov/products/so2_product.php) > [accessed 20 November 2012]
- Nicolini G., Moser S., Roman T., Mazzi E., Larcher R., 2011, Effect of juice turbidity on fermentative volatile compound in white wine, *Vitis*, 50 (3): 131-135.

- Oliveira L.M., Ferreira A.C.S., De Freitas V., Silva A.M.S., 2011, Oxidation mechanisms occurring in wines, *Food Research International*, 44 (5): 1115-1126.
- Omar H.S., 2010, Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects, *Sci. Pharm.*, 78 (2): 133-154.
- Osborne I.P., Mira de Ordūna R., Pilone G.J., Liu S.U., 2000, Acetaldehyde metabolism by wine lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Letters* 191 (10): 51-55.
- Ough C.S., 1992, *Winemaking Basics*, Food Products Press, U.S.A., 101-103, 190, 275-277.
- Ough C.S., Crowell E.A., 1987, Use of sulfur dioxide in winemaking, *Journal of Food Science*. 52 (2): 386-388, 393.
- Pajović, R.; Božinović, Z.; Petkov, M. , 2010, "Uticaj SO<sub>2</sub> na sadržaj bojenih materija i kvalitet vina Vranac", "XXI Naučno-stručna konferencija poljoprivrede i prehrambene industrije. Zbornik radova, Bosnia i Hercegovina, 29 (11): 813-823.
- Pandell Al.J., PhD, 1996, How Temperature Affects the Aging of Wine, *The Alchemist's Wine Perspective*, 1 (11): 125- 130.
- Patel V., Patel M., Patel R., 2005, Chitosan: A Unique Pharmaceutical Excipient, *Drug Development & Delivery*, 5 (69): 2, 3.
- Pedroza M.A., Carmona M., Salinas M.R., Zalacain A., 2011, Use of Dehydrated Waste Grape Skins as a Natural Additive for Producing Rosé Wines: Study of Extraction Conditions and Evolution, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*., 59 (20): 10976–10986.
- Peng Z., Duncan B., Pocock K.F., Sefton M.A., 1998, The effect of ascorbic acid on oxidative browning of white wines and model wines, *Australian Journal of Grape and Wine Research* 4 (2): 127-35.
- Purcell N., 1985, Wine and Health in Ancient Italy, *Journal of Romans Studies*, 75 (4): 12-14.
- Ribéreau – Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud A., 2006, *Handbook of Enology (volume 1), The Microbiology of Wine and Vinifications (Second edition)*, John Wiley & Sons Inc., France, 193-210, 420-427.
- Ribéreau – Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D., 2006, *Handbook of Enology (Volume 2), The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments (Second edition)*, John Wiley & Sons, Ltd, France, 5- 9, 231.

- Rodriguez A., Ricardo da Silva J.M., Lucas C., Lauren O., 2012, Effect of commercial mannoproteins on wine colour and tannins stability, *Food and Chemistry*, 131 (3): 907-914.
- Romano P. and Suzzi, G., 1993, Sulphur dioxide and wine micro organisms. In: *Wine Microbiology and Biotechnology*. Edited by Fleet, G., Harwood Academic Publishers GmbH, Chur, Switzerland, 373-393.
- Roussis I.G., Lambropoulos I., Tzimas P., 2007, Protection of Volatiles in a Wine with Low Sulfur Dioxide by Caffeic Acid or Glutathione, *Am. J. Enol. Vitic.*, 58 (2): 274-278.
- Salaha M.I., Kallithraka S., Marmaras I., Koussissi E., Tzourou I., 2008, A natural alternative to sulphur dioxide for red wine production: Influence on colour, antioxidant activity and anthocyanin content, *Journal of Food Composition and Analysis* 21 (8): 660- 666.
- Santos M., Nunes C., Saraiva J., Coimbra M., 2012, Chemical and physical methodologies for the replacement/reduction of sulfur dioxide use during winemaking: review of their potentialities and limitations, *European Food Research & Technology*, Springer Verlag, 234 (1): 1-12.
- Scalbert A., Johnson I.T., Saltmarsh M., 2005, Polyphenols: antioxidants and beyond, *The American Journal Nutrition*, 81(1): 215S-217S.
- Scollary G. R., 2012, Views grapevine: SO<sub>2</sub>: a valuable vine component, *Chemistry in Australia*, (9): 38,39.
- Sonni F., Bastante M.J.C., Chinnici F., Natali N., Riponi C., 2009, Replacement of sulfur dioxide by lysozyme and oenological tannins during fermentation: influence on volatile composition of white wines, *J. Sci. Food Agr.*, 89 (12): 688-696.
- Spear P.A., Pierce R.C., 1979, Copper in the aquatic environment: chemistry, distribution, and toxicology, National Research Council of Canada, Ottawa, 31-36.
- Stratford M., Rose A.H., 1986, Transport of sulfur dioxide by *Saccharomyces cerevisiae*, *Journal of General Microbiology*, 132 (1): 1-6.
- Trioli G., Hofmann U., Comuzzo P., Cottureau P., Jonis M., Werner M., Salmon J.M., Fragoulis G., Barbier J.M., Zironi R., Tat L. and Scobioala S., 2009, ORWINE: Code de bonne viticulture et vinification biologique, Hofmann U. ECOVIN- vd Meer M.; Levite D, Switzerland, 6-9, 73- 126, 201-209, 215.

Von Wright A., Lahtinen S., Ouwehand A.C., Salminen S., 2012, Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Fourth Edition, CRC Press, U.S.A., 343- 350.

WebProScientists, 2012, Alcoholic Fermentation – image, [online] available from: <<http://webproscientists.blogspot.gr/2012/11/alcoholic-fermentation.html>> [accessed 22 November 2012]

Wikipedia, 2012, Sulfur dioxide- image, [online] available from: <[http://en.wikipedia.org/wiki/Sulfur\\_dioxide](http://en.wikipedia.org/wiki/Sulfur_dioxide)> [accessed 20 November 2012]

Xin He, Yu Wang, Jinhong Zhu, Mohammed Orloff, Charis Eng., 2011, Resveratrol enhances the anti-tumor activity of the mTOR inhibitor rapamycin in multiple breast cancer cell lines mainly by suppressing rapamycin-induced AKT signaling . Cancer Letters , 301 (2): 168.