



Οινολογία Ι

Αλλοιώσεις Οίνου

Βασιλική Κοντογιάννη, Χημικός, MSc., Ph.D.

Βακτήρια γλεύκους και οίνου

- ▶ Τα βακτήρια είναι μονοκύτταροι προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί.
-
- ▶ Σ 'αυτά περιλαμβάνονται οι σφαιρικές μορφές (κόκκοι), οι ραβδοειδείς μορφές (ραβδία, βάκιλοι), και οι ελικοειδείς μορφές (σπειρύλλια και δονάκια).
 - ▶ Η πορεία οиноποίησης είναι μια σύνθετη μικροβιακή διαδικασία στην οποία συμμετέχουν ζυμομύκητες και βακτήρια.
 - ▶ Οι δύο αυτές κατηγορίες μικροοργανισμών υπάρχουν στα σταφύλια, όπως και στον εξοπλισμό που χρησιμοποιείται στην οиноποίηση.
 - ▶ Από τα βακτήρια σημαντικά είναι τα γαλακτικά βακτήρια και τα οξικά βακτήρια.
 - ▶ Τα γαλακτικά βακτήρια επιτελούν τη μηλογαλακτική ζύμωση, και επιφέρουν διάφορες αλλαγές στον οίνο. Επίσης, προξενούν διάφορες αλλοιώσεις.
 - ▶ Τα οξικά βακτήρια έχουν αρνητική επίδραση στον οίνο, με σχηματισμό οξικού οξέος και οξικού αιθυλεστέρα.
 - ▶ Πάντως, η φυσιολογική πορεία είναι γλεύκος-οίνος-ξύδι, και τη μετατροπή του οίνου σε ξύδι επιτελούν τα οξικά βακτήρια.

Γαλακτικά βακτήρια

- ▶ Τα γαλακτικά βακτήρια είναι μία ετερογενής ομάδα Gram θετικών βακτηρίων που έχουν ως χαρακτηριστικό την παραγωγή γαλακτικού οξέος ως κύριου προϊόντος με την ζύμωση σακχάρων είτε άλλων υποστρωμάτων.
- ▶ Τα γαλακτικά βακτήρια θεωρείται ότι είναι ασφαλή (GRAS, Generally Regarded as Safe), και επιπλέον έχουν θετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου.
- ▶ Τα γαλακτικά βακτήρια ανάλογα με την κύρια οδό που χρησιμοποιούν για την ζύμωση της γλυκόζης διακρίνονται σε ομοζυμωτικά και ετεροζυμωτικά.
- ▶ Τα ομοζυμωτικά ακολουθούν την οδό Embden-Meyerhof και παράγουν σχεδόν αποκλειστικά γαλακτικό οξύ, ενώ τα ετεροζυμωτικά την οδό των φωσφορικών πεντοζών και την οδό φωσφοκετολάσης και παράγουν εκτός από το γαλακτικό οξύ –που είναι το κύριο προϊόν- και άλλες ενώσεις όπως αιθανόλη και CO₂.
- ▶ Σύμφωνα με την τρέχουσα κατάταξη στα γαλακτικά βακτήρια ανήκουν τα γένη *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus* και *Oenococcus*. Επίσης τα *Carnobacterium*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* και *Weissella*.

Γαλακτικά βακτήρια

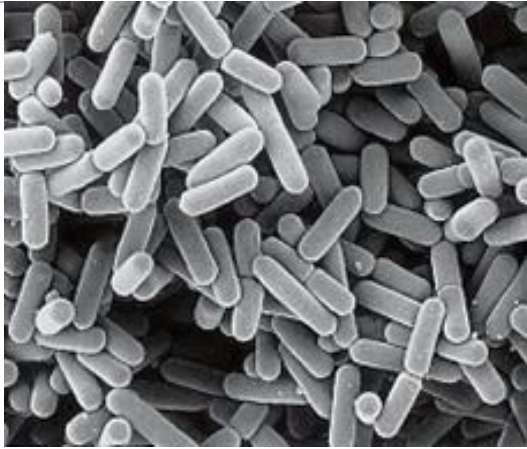
- ▶ Η γαλακτική ζύμωση διακρίνεται σε ομογαλακτική και ετερογαλακτική.
- ▶ Κατά την ομογαλακτική ζύμωση, που χρησιμοποιείται η γλυκολυτική οδός Embden-Meyerhof, παράγεται σχεδόν αποκλειστικά γαλακτικό οξύ.
 - ▶ $\text{γλυκόζη} + 2\text{ADP} + 2\text{P}_i \rightarrow 2 \text{γαλακτικό οξύ} + 2\text{ATP}$
- ▶ Εκτός από το γαλακτικό παράγονται σε ελάχιστες ποσότητες οξικό οξύ, μυρμηκικό οξύ και αιθανόλη.
- ▶ Η ομογαλακτική ζύμωση επιτελείται κυρίως από τα γένη *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* και είδη του γένους *Lactobacillus*.
- ▶ Κατά την ετερογαλακτική ζύμωση χρησιμοποιείται η οδός των φωσφορικών πεντοζών και παράγονται γαλακτικό οξύ, αιθανόλη και CO_2
 - ▶ $\text{γλυκόζη} + 2\text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{γαλακτικό οξύ} + \text{αιθανόλη} + \text{CO}_2 + \text{ATP}$
- ▶ Επίσης, σχηματίζονται γλυκερόλη, οξικό οξύ.
- ▶ Η ετερογαλακτική ζύμωση επιτελείται από τα γένη *Leuconostoc*, *Oenococcus* και είδη του γένους *Lactobacillus*.



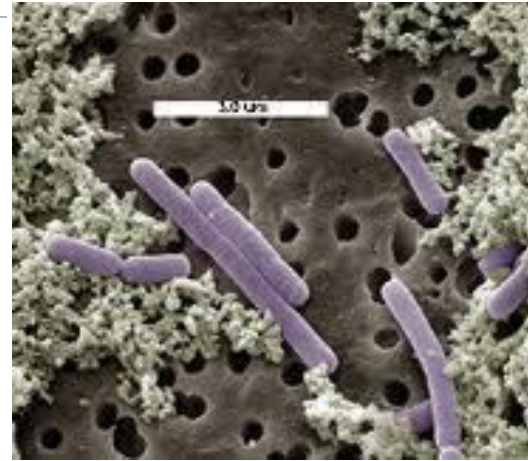
Γαλακτικά βακτήρια

- ▶ Τα γαλακτικά βακτήρια σταφυλιών, γλεύκους και οίνου ανήκουν στα γένη *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Oenococcus* και *Leuconostoc*.
- ▶ Οι **λακτοβάκιλλοι** είναι μικροαερόφιλοι/προαιρετικά αναερόβιοι. Για ανάπτυξη χρειάζονται πλούσιο μέσο με ζυμώσιμα ζάχαρα. Από τους λακτοβάκιλλους κύρια είναι τα *L. casei*, *L. plantarum* (προαιρετικά ετεροζυμωτικά) και τα *L. brevis*, *L. hilgardii* (αυστηρά ετεροζυμωτικά).
- ▶ Οι **πεδιόκοκοι** είναι προαιρετικά αναερόβιοι. Έχουν άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης 25-30°C με pH 6,0. Είναι ομοζυμωτικοί. Μεταξύ αυτών βρίσκονται κυρίως τα *P. damnosus*, *P. pentosaceus*.
- ▶ Το ***Oenococcus*** είναι οξεόφιλο προαιρετικά αναερόβιο. Αναπτύσσεται σε pH 4,8 σε θερμοκρασίες 18-30°C. Για ανάπτυξη χρειάζεται πλούσιο μέσο με γλεύκος. Είναι σχετικά ανθεκτικό στην αιθανόλη. Είναι ετεροζυμωτικό. Παλαιότερα το *Oenococcus* ανήκε στο γένος *Leuconostoc*, το *Leuconostoc oenos*. Αργότερα (1995) το οξεόφιλο αυτό βακτήριο διαχωρίστηκε σε νέο γένος, το *Oenococcus*.
- ▶ Από τα *leuconostocs*, που βέβαια έχουν παρόμοιες ιδιότητες, βρίσκεται το *Leuconostoc mesenteroides* (subsp. *mesenteroides*).

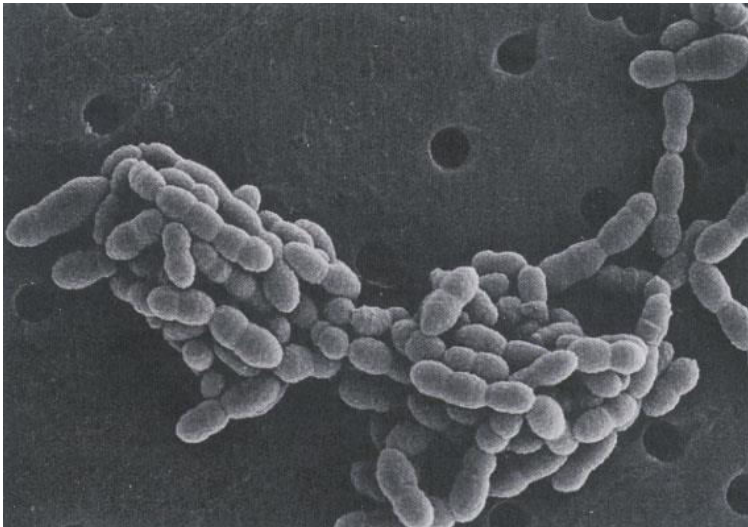
Γαλακτικά βακτήρια



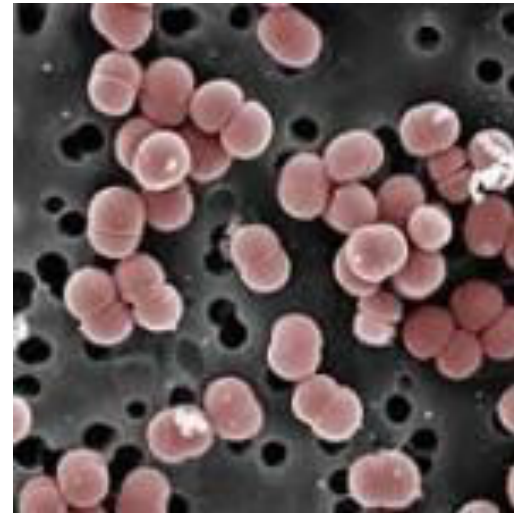
Lactobacillus brevis



Lactobacillus casei



Oenococcus oeni



Pediococcus

Μεταβολισμός γαλακτικών βακτηρίων στον οίνο

- ▶ Από τις μεταβολικές δραστηριότητες των ΜΓΒ στον οίνο η πιο σημαντική είναι η αναγωγή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ.
- ▶ Επίσης, σημαντική είναι και η αποικοδόμηση του κιτρικού οξέος.
- ▶ Όμως, γαλακτικά βακτήρια μεταβολίζουν και άλλες ενώσεις για τον πολλαπλασιασμό τους, όπως ζάχαρα, γλυκερόλη, τρυγικό οξύ, και ορισμένα αμινοξέα.



Μεταβολισμός γαλακτικών βακτηρίων στον οίνο

- ▶ Ο οίνος περιέχει αρκετά g/L μηλικό οξύ.
- ▶ Το μηλικό οξύ αποικοδομείται από το μηλογαλακτικό ένζυμο γαλακτικών βακτηρίων. Με τη μετατροπή αυξάνει το pH και μαλακώνει η γεύση.
- ▶ Το μηλικό οξύ έχει όξινη και στυφή γεύση και το γαλακτικό πιο μαλακό flavour.
- ▶ Ο οίνος περιέχει 200-300 mg/L κιτρικό οξύ.
- ▶ Γαλακτικά βακτήρια μπορεί να μεταβολίσουν το κιτρικό οξύ με παραγωγή οξικού οξέος.
- ▶ Τα γαλακτικά βακτήρια μεταβολίζουν το τρυγικό οξύ, και αναπτύσσεται αρνητικό flavour που οφείλεται στο οξικό οξύ, στον οξικό αιθυλεστέρα και στο ακεταμίδιο (ασθένεια εκτροπής).



Μεταβολισμός γαλακτικών βακτηρίων στον οίνο

- ▶ **Ζάχαρα** : τα ζάχαρα που απομένουν μετά την αλκοολική ζύμωση είναι επαρκή για παροχή ενέργειας και την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων. Με ετερογαλακτική πορεία από τα ζάχαρα μπορεί να παραχθεί ποσότητα οξικού οξέος. Επίσης, έχει αναφερθεί αποικοδόμηση πολυζαχαριτών.
- ▶ **Γλυκερόλη** : Επίσης τα γαλακτικά βακτήρια μεταβολίζουν την γλυκερόλη (ασθένεια πίκρανης).
- ▶ **Φαινολικά συστατικά** : γαλακτικά βακτήρια μεταβολίζουν υδροξυκινναμωμικά οξέα με παραγωγή πτητικών φαινολών, 4-αιθυλογουαϊκόλη και 4-αιθυλοφαινόλη. Αυτές έχουν αρνητική επίδραση στο άρωμα του οίνου. Πάντως, τα επίπεδα των ενώσεων αυτών είναι συνήθως χαμηλά.
- ▶ **Υδρόλυση γλυκοζιτών** : σε γαλακτικά βακτήρια έχει βρεθεί δραστικότητα β-γλυκοσιδάσης. Το ένζυμο αυτό απελευθερώνει ενώσεις αρώματος που είναι γλυκοζιτικά συδεδμένα, όπως τερπενικές αλκοόλες. Πιθανόν με τον τρόπο αυτό γαλακτικά βακτήρια μπορεί να αυξάνουν το άρωμα του οίνου.
- ▶ **Αμινοξέα και πεπτίδια** : με μεταβολισμό θειούχων αμινοξέων μπορεί να παραχθεί υδρόθειο και άλλες θειούχες ενώσεις. Γαλακτικά βακτήρια μπορεί να υδρολύουν πεπτίδια.



Ανάπτυξη κατά την οινοποίηση

- ▶ Γαλακτικά βακτήρια βρίσκονται στην επιφάνεια των σταφυλιών και στο γλεύκος σε πολύ μικρούς πληθυσμούς.
- ▶ Βρίσκονται τα *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lc. mesenteroides* και *O. oeni*.
- ▶ Τις αρχικές ημέρες της αλκοολικής ζύμωσης πολλαπλασιάζονται, αλλά οι πληθυσμοί τους είναι μικροί, περίπου 10^4 κύτταρα/mL.
- ▶ Με την εξέλιξη της ζύμωσης οι πληθυσμοί τους μειώνονται σε 10^2 κύτταρα/mL.
- ▶ Αυτό αποδίδεται στην τοξικότητα της αλκοόλης που παράγεται, στο χαμηλό pH, και στην ανάπτυξη των ζυμών.
- ▶ Στη συνέχεια τα κύτταρα που επιζούν αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται και μπορεί να φτάσουν σε πληθυσμούς $10^6 - 10^8$ κύτταρα/mL.
- ▶ Η μηλογαλακτική ζύμωση συμβαίνει στο στάδιο αυτό και ολοκληρώνεται στη στατική φάση.



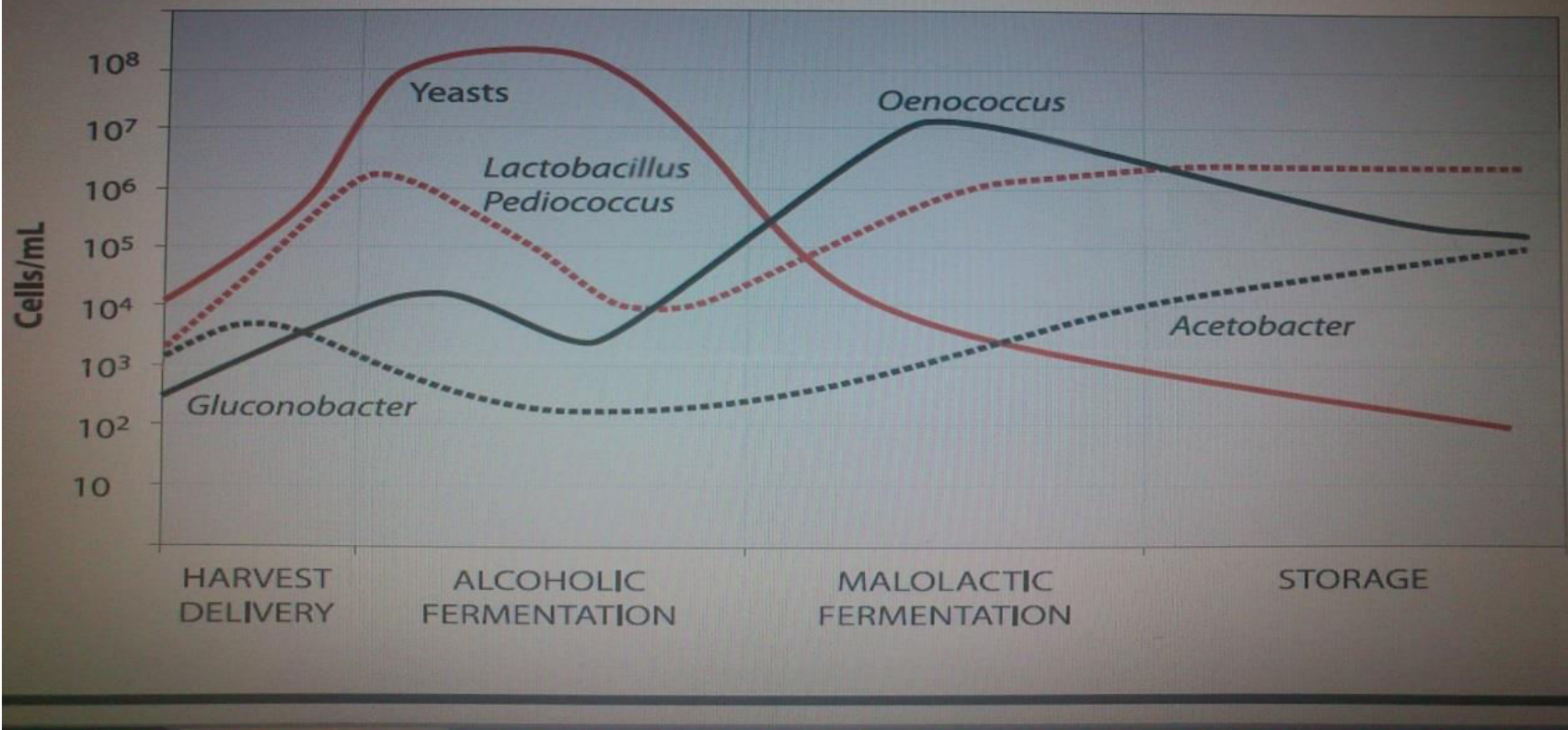
Ανάπτυξη κατά την οινοποίηση

- ▶ Το *O. oeni* είναι το κύριο είδος που έχει βρεθεί μετά την αλκοολική ζύμωση και κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση.
- ▶ Η ανάπτυξή του συμβαίνει, και μπορεί να ευνοηθεί με αύξηση της θερμοκρασίας του οίνου στους 20-25 °C και σε συνθήκες χαμηλού θειώδη ανυδρίτη (λιγότερο από 15-20 mg/L ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη).
- ▶ Μετά την ολοκλήρωση της ΜΓΖ, μπορεί να ακολουθεί ανάπτυξη άλλων γαλακτικών βακτηρίων, όπως *Lactobacillus* και *Pediococcus*.

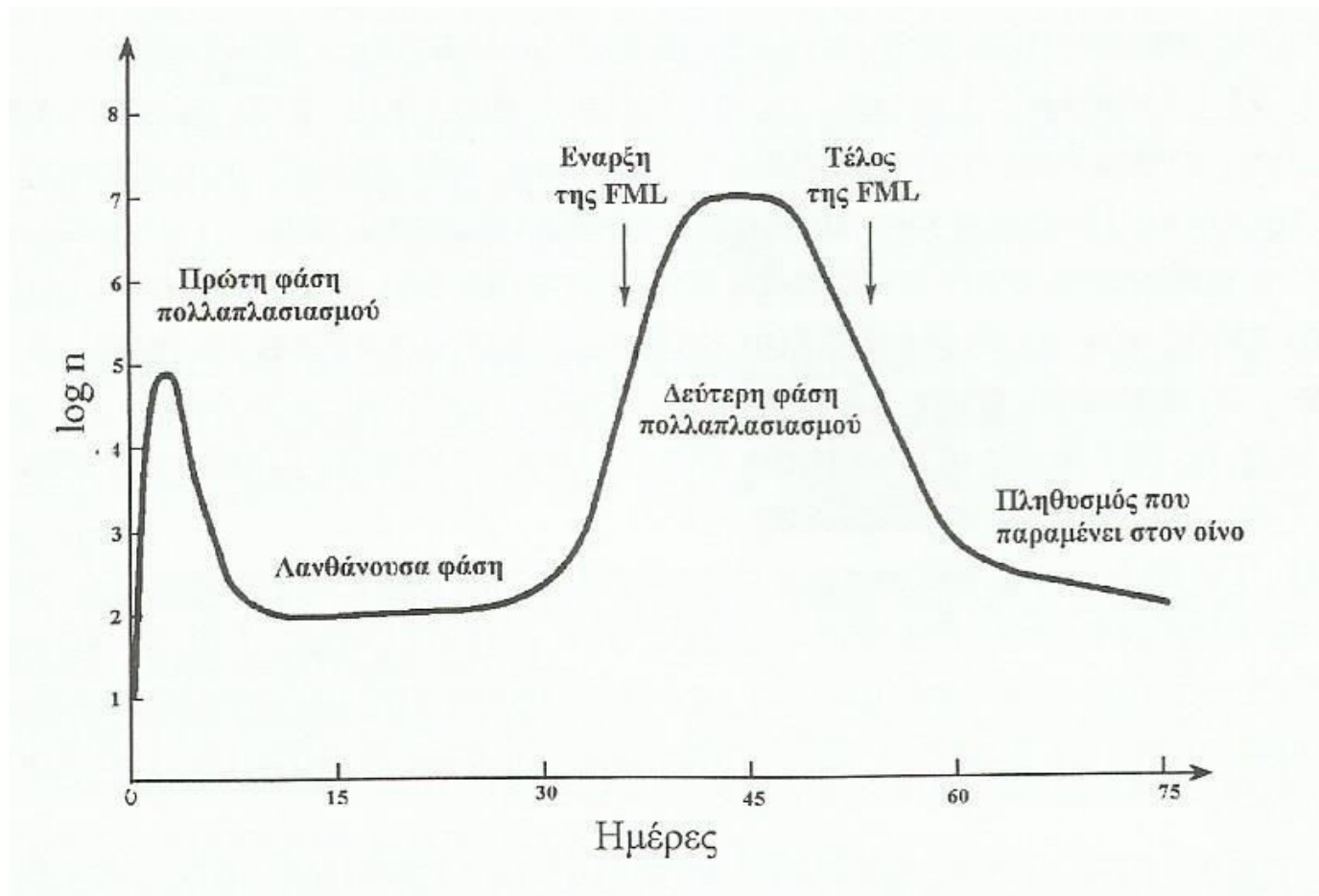


Ανάπτυξη κατά την οινοποίηση

Figure 1. Growth cycle of lactic acid bacteria in wine during vinification and storage



Φάση επιτέλεσης της μηλογαλακτικής ζύμωσης (FML).



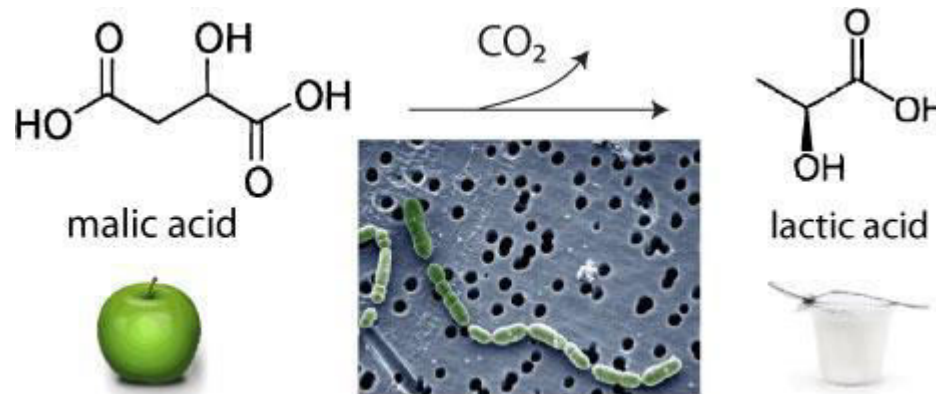
Φάση επιτέλεσης της μηλογαλακτικής ζύμωσης (FML).

- ▶ Υπό τυπικές συνθήκες, τα γαλακτικά βακτήρια παραμένουν ζωντανά στον οίνο κατά την αποθήκευση.
- ▶ Ακόμη και εάν δεν πολλαπλασιάζονται μπορεί με μεταβολισμό κάποιων υποστρωμάτων να παράγουν ανεπιθύμητες ενώσεις και να αλλοιώσουν τον οίνο, ιδιαίτερα *Lactobacillus* και *Pediococcus*.
- ▶ Οι συνθήκες στον οίνο για ανάπτυξη μηλογαλακτικών βακτηρίων και επιτέλεση της ΜΓΖ δεν είναι ευνοϊκές.
- ▶ Η θερμοκρασία, το pH, η αλκοόλη, ο θειώδης ανυδρίτης και η έλλειψη θρεπτικών δεν επιτρέπουν την ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων. Μάλιστα υψηλά επίπεδα αλκοόλης και θειώδη ανυδρίτη μπορεί ακόμη τα θανατώσουν.
- ▶ Έτσι, μπορεί οι πληθυσμοί των μηλογαλακτικών βακτηρίων να μη φτάνουν στα υψηλά επίπεδα για την ζύμωση, ενώ μπορεί να συμβαίνει αργή ζύμωση ή διακοπή της ζύμωσης.
- ▶ Μερικές φορές αρκετές εβδομάδες ή ακόμη και μήνες χρειάζονται για την ανάπτυξη και τη ΜΓΖ. Στις ημέρες μας, είναι κοινή πρακτική η άμεση προσθήκη στον οίνο καθαρής καλλιέργειας (starter) στελέχους μηλογαλακτικού βακτηρίου.



Μηλογαλακτική ζύμωση

- ▶ Μηλογαλακτική ζύμωση (ΜΓΖ) στον οίνο καλείται η ενζυμική μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ.
- ▶ Συμβαίνει συνήθως μετά την αλκοολική ζύμωση, αλλά μπορεί να συμβούν και ταυτόχρονα.
- ▶ Η αναγωγή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ δεν είναι πραγματική ζύμωση αλλά μάλλον μία ενζυμική αντίδραση που συμβαίνει από γαλακτικά βακτήρια, μετά την εκθετική φάση ανάπτυξης τους.
- ▶ Η ΜΓΖ επιτελείται από το *Oenococcus oeni*, είδος που μπορεί να αναπτύσσεται σε χαμηλό pH (< 3,5), υψηλά επίπεδα αλκοόλης (> 10 % vol.) και υψηλά επίπεδα θειώδη ανυδρίτη (όπως 50 mg/L). Επίσης, ανθεκτικά στελέχη *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* μπορεί να αναπτύσσονται και να συμμετέχουν στη ΜΓΖ ζύμωση, ιδιαίτερα σε pH > 3,5.



Μηλογαλακτική ζύμωση

- ▶ Το μηλογαλακτικό ένζυμο είναι διμερές αποτελούμενο από όμοιες υπομονάδες 60 kDa, και έχει ως συνένζυμο το NAD και μαγγάνιο.
- ▶ Το μηλογαλακτικό ένζυμο έχει χαρακτηριστεί βιοχημικά σε *O. oeni*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lc. mesenteroides*. Επίσης, έχει χαρακτηριστεί γενετικά σε *O. oeni*.
- ▶ Με τη ΜΓΖ συμβαίνει μείωση της οξύτητας (κυρίως σε οίνους που παράγονται σε ψυχρές περιοχές).
- ▶ Αυτό συμβαίνει καθόσον με τη μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό παράγεται CO₂ και ένα δι-καρβοξυλικό οξύ μετατρέπεται σε μονο-καρβοξυλικό.
- ▶ Επίσης, με τη δράση των μηλογαλακτικών βακτηρίων παράγονται ενώσεις αρώματος, και έτσι υπάρχει θετική επίδραση στο άρωμα του οίνου.
- ▶ Πάντως, μη ελεγχόμενη μηλογαλακτική ζύμωση μπορεί να οδηγήσει σε ανεπιθύμητα αποτελέσματα.
- ▶ Αυτό μπορεί να συμβεί με παραγωγή ενώσεων με αρνητική επίδραση στο flavour όπως το οξικό οξύ, και ακόμη με παραγωγή βιογενών αμινών.



Μηλογαλακτική ζύμωση

- ▶ Το μηλογαλακτικό ένζυμο είναι διμερές αποτελούμενο από όμοιες υπομονάδες 60 kDa, και έχει ως συνένζυμο το NAD και μαγγάνιο.
- ▶ Το μηλογαλακτικό ένζυμο έχει χαρακτηριστεί βιοχημικά σε *O. oeni*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lc. mesenteroides*. Επίσης, έχει χαρακτηριστεί γενετικά σε *O. oeni*.
- ▶ Με τη ΜΓΖ συμβαίνει μείωση της οξύτητας (κυρίως σε οίνους που παράγονται σε ψυχρές περιοχές).
- ▶ Αυτό συμβαίνει καθόσον με τη μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό παράγεται CO₂ και ένα δι-καρβοξυλικό οξύ μετατρέπεται σε μονο-καρβοξυλικό.
- ▶ Επίσης, με τη δράση των μηλογαλακτικών βακτηρίων παράγονται ενώσεις αρώματος, και έτσι υπάρχει θετική επίδραση στο άρωμα του οίνου.
- ▶ Πάντως, μη ελεγχόμενη μηλογαλακτική ζύμωση μπορεί να οδηγήσει σε ανεπιθύμητα αποτελέσματα.
- ▶ Αυτό μπορεί να συμβεί με παραγωγή ενώσεων με αρνητική επίδραση στο flavour όπως το οξικό οξύ, και ακόμη με παραγωγή βιογενών αμινών.

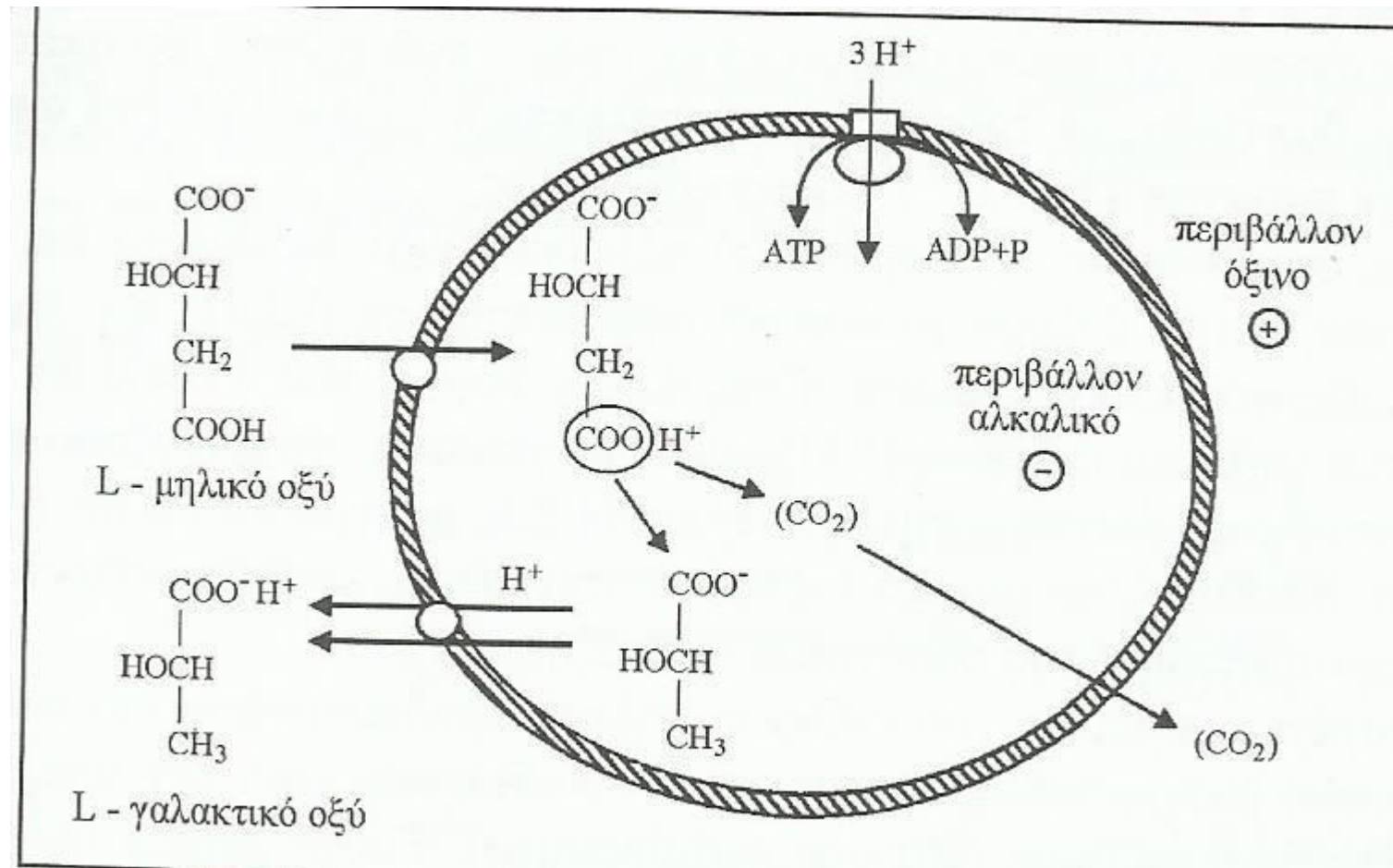


Μηλογαλακτική ζύμωση

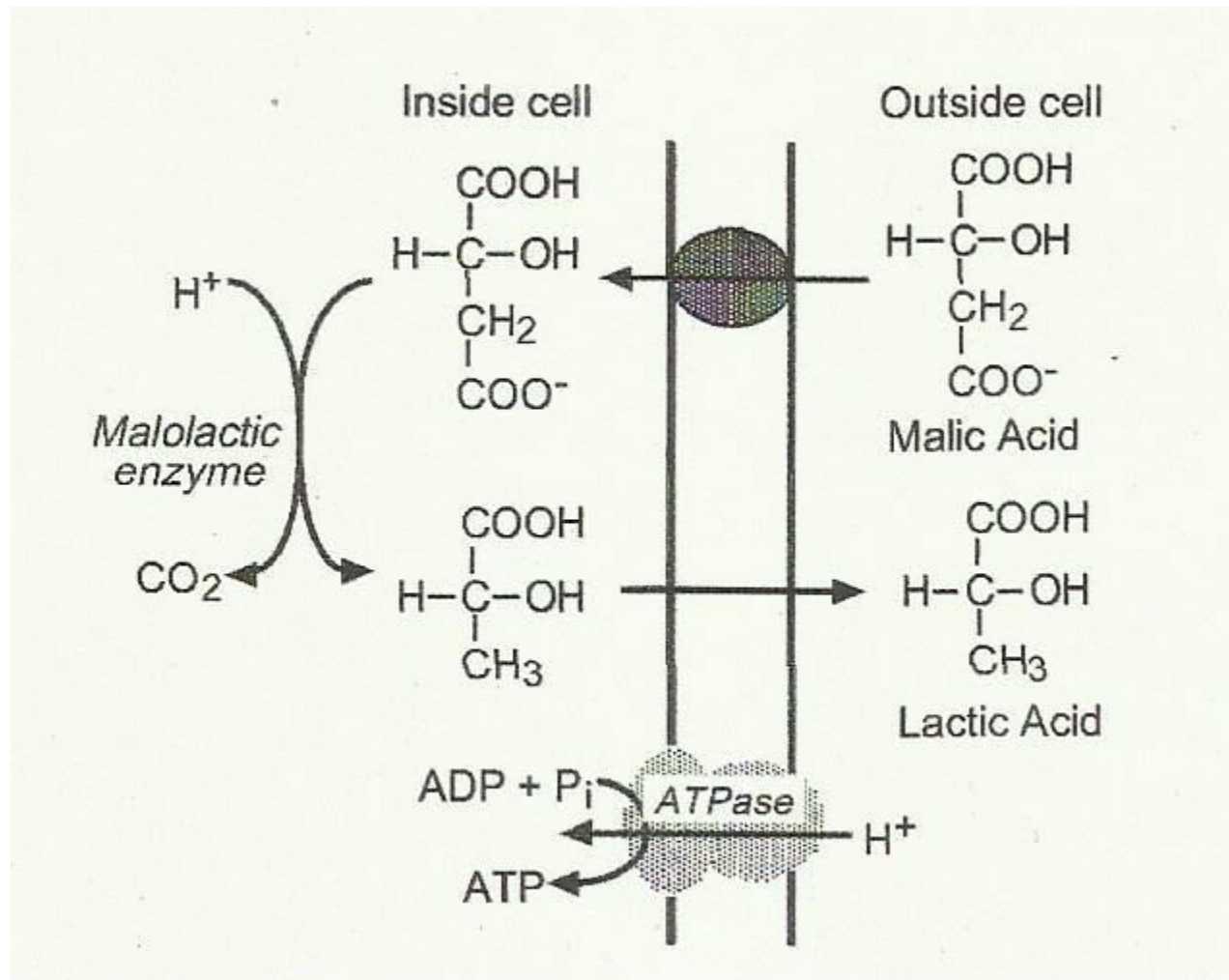
- ▶ Οι κύριοι παράγοντες επηρεάζουν την πορεία της μηλογαλακτικής ζύμωσης είναι το pH, η θερμοκρασία, το SO_2 και η αλκοόλη.
- ▶ Ιδανικές συνθήκες για την επίτευξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης είναι $\text{pH} > 3,2$ (3,2-3,6), θερμοκρασία 15-20 °C (λευκοί οίνοι 15 °C, ερυθροί οίνοι 20 °C), αλκοόλη $< 12,5 \text{ \% vol.}$, ολικός θειώδης ανυδρίτης $< 20 \text{ mg/L}$ και ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης $< 10 \text{ mg/L}$



Μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ



Μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ

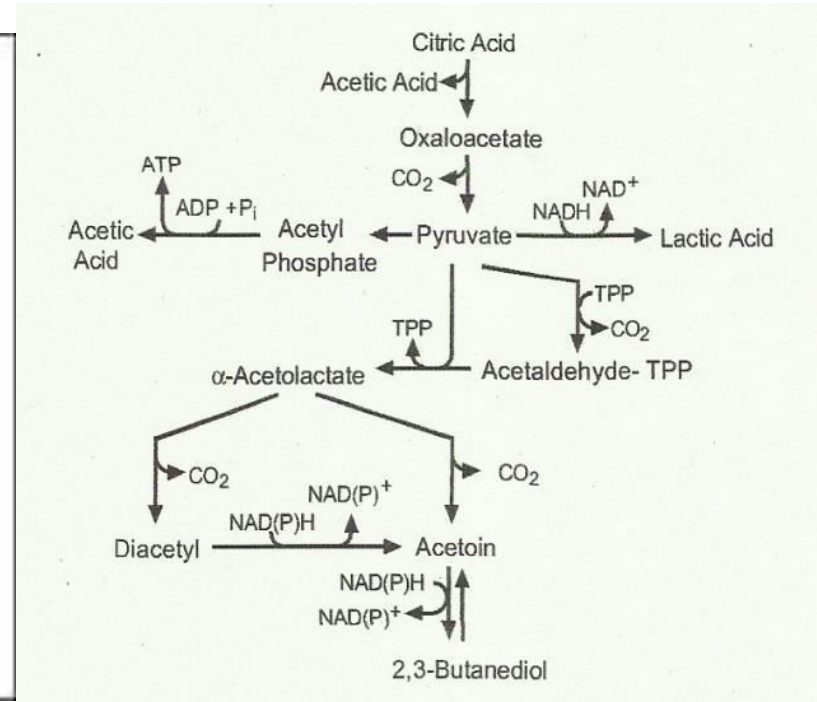
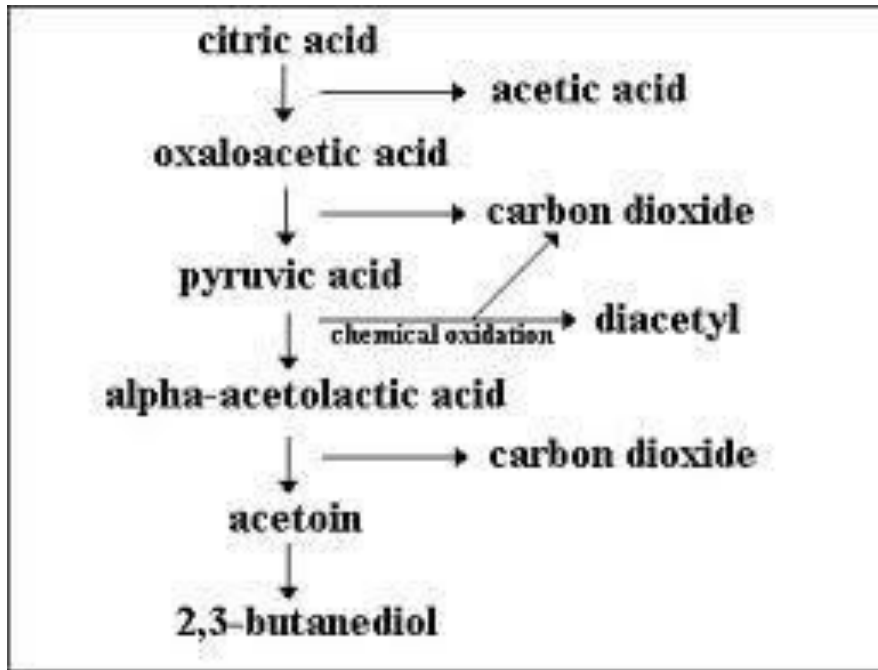


Παραγωγή διακετυλίου

- ▶ Κατά τη ζύμωση του κιτρικού οξέος, αρχικά το κιτρικό οξύ διασπάται σε οξικό και οξαλοξικό οξύ.
- ▶ Στη συνέχεια το οξαλοξικό οξύ αποκαρβοξυλιώνεται προς πυροσταφυλικό οξύ.
- ▶ Ακολούθως, παράγεται α-ακετογαλακτικό οξύ, που με αποκαρβοξυλίωση δίνει ακετοΐνη, μέρος της οποίας μετατρέπεται σε 2,3 βουτανοδιόλη.
- ▶ Το διακετύλιο παράγεται με οξείδωση της ακετοΐνης ή με οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του α-ακετογαλακτικού οξέος.



Παραγωγή διακετυλίου



Το διακετύλιο σε επίπεδα 2-3 mg/L στους λευκούς οίνους και 4-5 mg/L στους ερυθρούς οίνους προσδίδει ιδιαίτερο άρωμα.

Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις προσδίδει έντονο άρωμα βουτύρου.

Επίδραση της ΜΓΖ στην ποιότητα και σύσταση του οίνου

- ▶ Πτώση οξύτητας
- ▶ Η συνολική πτώση της οξύτητας κυμαίνεται από 0,1-0,3 % και η αύξηση του pH από 0,1-0,3.
- ▶ Γενικότερα κρασιά που παράγονται σε περιοχές ψυχρού κλίματος έχουν μια φυσική υψηλή οξύτητα και επωφελούνται από την πτώση της λόγω της ΜΓΖ.
- ▶ Αντίθετα, κρασιά περιοχών ζεστών κλιμάτων, έχουν μικρότερη οξύτητα οπότε επιπλέον μείωσή της επιφέρει αρνητικά αποτελέσματα στην ποιότητα του κρασιού, δίνοντάς του μία στυφή γεύση και δημιουργώντας ένα φιλικό προς τα επιβλαβή βακτήρια περιβάλλον.



Επίδραση της ΜΓΖ στην ποιότητα και σύσταση του οίνου

- ▶ Μεταβολές οσμής- γεύσης (flavour)
- ▶ Η μεταβολική δραστηριότητα των γαλακτικών βακτηρίων σχετίζεται με αλλαγές που συμβαίνουν στον οίνο και αφορούν τη γεύση και το άρωμά του. Η ΜΓΖ προσδίδει γεύση και άρωμα όπως βουτύρου και καρυδιού, ενώ παρατηρείται εξασθένηση του πρωτογενούς αρώματος.
- ▶ Μείωση έντασης χρώματος
- ▶ Επίσης, συμβαίνει μείωση της έντασης του χρώματος με απώλεια μπλε τόνων. Αυτό κυρίως οφείλεται σε απορρόφηση ανθοκυανών στα τοιχώματα των βακτηρίων , ενώ επίσης βοηθούν η αύξηση του pH και τα χαμηλά επίπεδα θειώδη ανυδρίτη.



Τρέχουσες χρήσεις

- ▶ Η χρήση starters είναι σήμερα συνήθης. Συνήθως χρησιμοποιείται 1 ή 2-3 στελέχη *O. oenos*. Έτσι, ελέγχεται η έναρξη της ζύμωσης.
- ▶ Επίσης παρεμποδίζεται η ανάπτυξη ανεπιθύμητων γαλακτικών βακτηρίων (*Lactobacillus*, *Pediococcus*) που μπορεί παράγουν οξικό οξύ και ακόμη βιογενείς αμίνες.
- ▶ Χρησιμοποιούνται λυοφιλοποιημένα παρασκευάσματα, αν και ελέγχεται η μείωση της βιωσιμότητά τους. Η φάση ενυδάτωσης είναι σημαντική για την βιωσιμότητά τους. Υπάρχουν και φρέσκα και καταψυγμένα παρασκευάσματα.
- ▶ Ο έλεγχος για πιθανή ευαισθησία σε βακτηριοφάγους είναι σημαντικός. Ο ενοφθαλμισμός συνήθως γίνεται μετά την αλκοολική ζύμωση, για αποφυγή ανάπτυξης ανεπιθύμητων γαλακτικών βακτηρίων.
- ▶ Επίσης, ελέγχεται ο συν-ενοφθαλμισμός ζύμης και βακτηρίου. Έτσι, το γαλακτικό βακτήριο προσαρμόζεται στο περιβάλλον του οίνου (ιδιαίτερα την αιθανόλη).



Τρέχουσες χρήσεις

- ▶ Η μικροοξυγόνωση σχετίζεται με την προσθήκη starter και τη μηλογαλακτική ζύμωση.
- ▶ Είναι τεχνική προσθήκης μικρών και ελεγχόμενων ποσοτήτων οξυγόνου στον οίνο, κυρίως για σταθεροποίηση του χρώματος των ερυθρών οίνων.
- ▶ Το οξυγόνο σε χαμηλά επίπεδα ευνοεί αντιδράσεις ανθοκυανών και ταννινών προς έγχρωμα προϊόντα με σταθερό χρώμα.
- ▶ Έτσι, δεν συμβαίνει μείωση των ανθοκυανών.
- ▶ Η μικροοξυγόνωση καθυστερεί την έναρξη της ΜΓΖ. Έτσι, πρέπει να έχει ολοκληρωθεί πριν τον ενοφθαλμισμό του starter.



Οξικά βακτήρια

- ▶ Τα οξικά βακτήρια είναι Gram αρνητικά ή Gram μεταβλητά, ελλειψοειδή /ραβδία.
- ▶ Είναι υποχρεωτικά αερόβιοι μικροοργανισμοί.
- ▶ Η πιο γνωστή εφαρμογή τους είναι η οξείδωση της αιθανόλης σε οξικό οξύ, στην παραγωγή ξυδιού.



Μεταβολισμός οξικών βακτηρίων

- ▶ Τα οξικά βακτήρια ως πηγή άνθρακα χρησιμοποιούν ζάχαρα, την αιθανόλη, τη γλυκερόλη, το γαλακτικό οξύ.
- ▶ Ως πηγή αζώτου χρησιμοποιούν ανόργανες (άλατα αμμωνίου) και οργανικές πηγές.
- ▶ Επίσης, για την ανάπτυξή τους απαραίτητα είναι διάφορα αμινοξέα και βιταμίνες του συμπλέγματος Β.
- ▶ Είναι γνωστή η ικανότητά τους να οξειδώνουν ζάχαρα και αλκοόλες με τελικά προϊόντα οργανικά οξέα.
- ▶ Οξειδώνουν ζάχαρα προς κετονοξέα, αλκοόλες σε ζάχαρα όπως μαννιτόλη σε φρουκτόζη. Επίσης, οξειδώνουν τη γλυκερόλη σε δι-υδροξυ-ακετόνη.
- ▶ Τα οξικά βακτήρια του γένους *Acetobacter* μπορεί να οξειδώσουν το γαλακτικό οξύ. Σχηματίζεται, ως ενδιάμεσο το πυροσταφυλικό, που αποκαρβοξυλιώνεται προς ακεταλδεΐδη που οξειδώνεται προς οξικό.

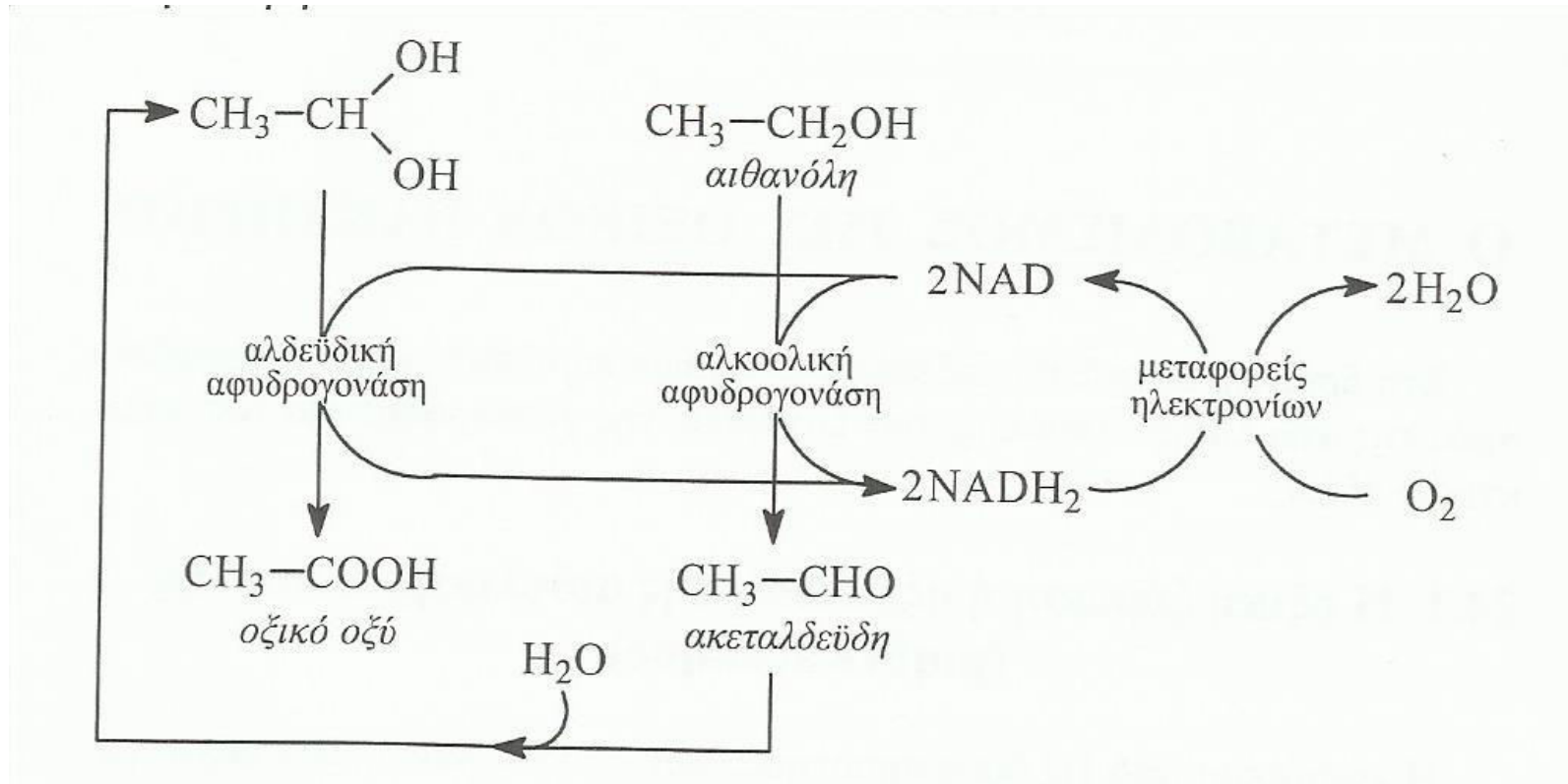


Οξική ζύμωση ή οξείδωση της αιθανόλης

- ▶ Η πιο σημαντική δραστηριότητα των οξικών βακτηρίων είναι η οξείδωση της αιθανόλης σε οξικό οξύ. Αυτή είναι στα πλαίσια αερόβιου μεταβολισμού.
- ▶ Είναι δύο σταδίων.
- ▶ Η αιθανόλη μετατρέπεται σε ακεταλδεΐδη, και στη συνέχεια αυτή σε οξικό οξύ.
- ▶ Ορισμένα βακτήρια μπορούν να οξειδώσουν μέρος του οξικού οξέος σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό, αλλά αυτό δεν συμβαίνει στον οίνο.
- ▶ Επίσης, ορισμένα βακτήρια προκαλούν μερική εστεροποίηση του οξικού οξέος με την αιθανόλη.
- ▶ Ο οξικός αιθυλεστέρας που σχηματίζεται συμμετέχει θετικά ή αρνητικά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων.
- ▶ Γενικά η εστεροποίηση των οξέων γίνεται μέσα στα κύτταρα (τα οξέα που δεν εισέρχονται στο κύτταρο δεν εστεροποιούνται)
- ▶ Οι εστέρες αυτοί αποτελούν το 95% των εστέρων που δημιουργούνται με βιολογική οδό.



Οξείδωση της αιθανόλης από τα οξικά βακτήρια



Οξικά βακτήρια

- ▶ Τα οξικά βακτήρια είναι πολύ διαδεδομένα στη φύση, και βρίσκονται και πάνω στα σταφύλια.
- ▶ Υπάρχουν σε όλα τα σαπισμένα σταφύλια, όπως και σε ορισμένα υγιή. Τα οξικά βακτήρια έχουν αρνητικό ρόλο στην οινοποίηση.
- ▶ Επιζούν στις διάφορες φάσεις της αλκοολικής ζύμωσης , και ο έλεγχός τους είναι σημαντικός για παραγωγή οίνου καλής ποιότητας.
- ▶ Αυτά που βρίσκονται συχνά στην πορεία της οινοποίησης είναι τα *Gluconobacter oxydans*, *Acetobacter aceti* και *Acetobacter pasteurianus*.
- ▶ Επίσης, σε μικρότερο βαθμό, βρίσκονται τα *Gluconoacetobacter liquefasciens* και *Gluconoacetobacter hansenii*.



Οξικά βακτήρια

- ▶ Γενικά, οι παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη των οξικών βακτηρίων κατά την οينوποίηση είναι το οξυγόνο (και το διαλυμένο οξυγόνο), η θερμοκρασία, το pH του γλεύκους και οίνου, ο θειώδης ανυδρίτης, τα επίπεδα της αιθανόλης.
 - ▶ Είναι υποχρεωτικά αερόβια.
 - ▶ Έτσι, το διαθέσιμο οξυγόνο καθορίζει σε σημαντικό βαθμό την ανάπτυξή τους.
 - ▶ Για έλεγχό τους πρέπει να ελέγχεται το οξυγόνο.
 - ▶ Η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης των οξικών βακτηρίων είναι 25-30°C, ενώ αναπτύσσονται στην περιοχή 5-42°C.
 - ▶ Πάντως, σε θερμοκρασίες < 15°C η ανάπτυξη είναι μικρή.
 - ▶ Έτσι, η οξίνιση των οίνων ευνοείται τις θερμότερες εποχές του έτους.
-



Οξικά βακτήρια

- ▶ Τα οξικά βακτήρια έχουν άριστο pH 5-6,5, αλλά αναπτύσσονται σε pH 3-4.
- ▶ Η ανάπτυξή τους σε pH 3,2-3,8 είναι μικρή, ενώ δεν αναπτύσσονται σε pH < 3,0.
- ▶ Επίσης, τα οξικά βακτήρια είναι ευαίσθητα στον θειώδη ανυδρίτη, που σε επίπεδα 30 mg/L εμποδίζει την ανάπτυξή τους.
- ▶ Σημειώνεται ότι στην επιφάνεια του οίνου που συνήθως αναπτύσσονται τα οξικά βακτήρια, ο θειώδης ανυδρίτης οξειδώνεται με απώλεια της αντιμικροβιακής του δράσης.
- ▶ Η οξική ζύμωση είναι πιο σπάνια σε οίνους με υψηλά επίπεδα αλκοόλης, καθόσον είναι ευαίσθητα στην αλκοόλη.
- ▶ Το φιλτράρισμα του οίνου είναι, επίσης, σημαντικό, όπως και η χρήση αερίου όπως CO₂ και επακόλουθη αποφυγή οξυγόνου.



Η πτητική οξύτητα των κρασιών

- ▶ Η πτητική οξύτητα των κρασιών οφείλεται σχεδόν αποκλειστικά στο οξικό οξύ.
- ▶ Το οξικό οξύ μπορεί να προέρχεται από δράση οξικών βακτηρίων, αλλά επίσης και γαλακτικών βακτηρίων και ζυμομυκήτων.
- ▶ Πάντως, είναι κυρίως βακτηριακής προέλευσης.
- ▶ Τα οξικά βακτήρια μετατρέπουν την αιθανόλη σε οξικό οξύ και άλλα προϊόντα.
- ▶ Τα γαλακτικά βακτήρια μετατρέπουν την γλυκόζη με ετερογαλακτική ζύμωση σε οξικό οξύ και άλλα προϊόντα.
- ▶ Πιο σπάνια μετατρέπουν το τρυγικό οξύ σε CO₂ γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, ακετοϊνικές ενώσεις.
- ▶ Ακόμη, τη γλυκερόλη σε γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ και ακρολεΐνη.
- ▶ Οι ζυμομύκητες παράγουν οξικό οξύ, ως υποπροϊόν της γλυκεροπυροσταφυλλικής ζύμωσης.



Μικροβιακές αλλοιώσεις οίνου

- ▶ Μικροβιακές αλλοιώσεις ή ασθένειες του οίνου είναι οι ανεπιθύμητες μεταβολές που προκαλούνται από μικροοργανισμούς.
- ▶ Το κρασί περιέχει υψηλή συγκέντρωση αλκοόλης, έχει χαμηλό pH, περιέχει μικρές συγκεντρώσεις αζώτου, περιέχει φαινολικά συστατικά που έχουν αντιμικροβιακή δράση, κατά κανόνα περιέχει θειώδη ανυδρίτη που έχει αντιμικροβιακή δράση, είναι σε αναερόβιο περιβάλλον.
- ▶ Όλα τα παραπάνω συμβάλλουν στο να είναι δύσκολη η μικροβιακή ανάπτυξη στους οίνους.
- ▶ Με δευτερογενείς ζυμώσεις από ζύμες προκαλείται θόλωμα, ίζημα και παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα.
- ▶ Τα γλυκά κρασιά είναι ευαίσθητα επειδή περιέχουν ζάχαρα.
- ▶ Αυτά μπορεί να ζυμωθούν από ζύμες ανθεκτικές στην αλκοόλη και τον θειώδη ανυδρίτη, όπως τις *Saccharomyces oniformis* και *Schizosaccharomyces pombe*.

Μικροβιακές αλλοιώσεις οίνου

- ▶ Μικροβιακές αλλοιώσεις ή ασθένειες του οίνου είναι οι ανεπιθύμητες μεταβολές που προκαλούνται από μικροοργανισμούς.
- ▶ Το κρασί περιέχει υψηλή συγκέντρωση αλκοόλης, έχει χαμηλό pH, περιέχει μικρές συγκεντρώσεις αζώτου, περιέχει φαινολικά συστατικά που έχουν αντιμικροβιακή δράση, κατά κανόνα περιέχει θειώδη ανυδρίτη που έχει αντιμικροβιακή δράση, είναι σε αναερόβιο περιβάλλον.
- ▶ Όλα τα παραπάνω συμβάλλουν στο να είναι δύσκολη η μικροβιακή ανάπτυξη στους οίνους.
- ▶ Με δευτερογενείς ζυμώσεις από ζύμες προκαλείται θόλωμα, ίζημα και παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα.
- ▶ Τα γλυκά κρασιά είναι ευαίσθητα επειδή περιέχουν ζάχαρα.
- ▶ Αυτά μπορεί να ζυμωθούν από ζύμες ανθεκτικές στην αλκοόλη και τον θειώδη ανυδρίτη, όπως τις *Saccharomyces oniformis* και *Schizosaccharomyces pombe*.

Μικροβιακές αλλοιώσεις οίνου

- ▶ Κατά κανόνα οι μικροβιακές αλλοιώσεις των οίνων οφείλονται σε οξειδωτικές ζύμες και βακτήρια.
- ▶ Οξειδωτικές ζύμες όπως οι *Brettanomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Hansenula* προκαλούν την άνθηση.
- ▶ Οξικά βακτήρια, *Acetobacter* και *Gluconobacter*, προκαλούν την οξίνιση (ξύνισμα).
- ▶ Γαλακτικά βακτήρια προκαλούν την εκτροπή ή εκτροπίαση, την πίκρανση, την πάχυνση και την γαλακτική-μαννιτική ζύμωση.



Μικροβιακές αλλοιώσεις οίνου

- ▶ Οι μικροοργανισμοί αλλοίωσης βρίσκονται στο περιβάλλον μαζί με τους ζυμομύκητες της ζύμωσης.
 - ▶ Όμως κατά την ζύμωση δεν πολλαπλασιάζονται.
 - ▶ Οι ζυμομύκητες της ζύμωσης είναι πιο ανθεκτικοί από τα βακτήρια σε χαμηλότερα pH, υψηλότερους αλκοολικούς βαθμούς, και σε μεγαλύτερες περιεκτικότητες SO₂.
 - ▶ Σε κρασιά με pH 3-4 τα περισσότερα βακτήρια δεν αναπτύσσονται όπως και σε υψηλές συγκεντρώσεις θειώδη ανυδρίτη, και με περισσότερους από 12 αλκοολικούς βαθμούς.
 - ▶ Η θερμοκρασία επηρεάζει την εμφάνιση ασθενειών στο κρασί.
 - ▶ Όσο μικρότερη είναι η θερμοκρασία τόσο επιβραδύνεται η ανάπτυξη των βακτηρίων. Παράδειγμα τα οξικά βακτήρια έχουν άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης περίπου 30°C.
 - ▶ Έτσι, οι ασθένειες των κρασιών, και μάλιστα η οξίνιση, εμφανίζονται άνοιξη-καλοκαίρι.
-

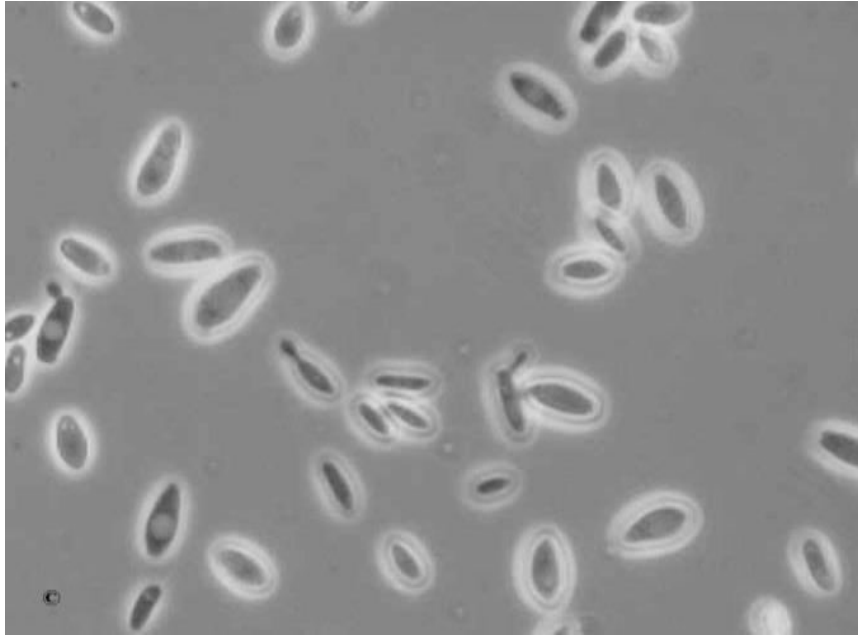


Μικροβιακές αλλοιώσεις οίνου

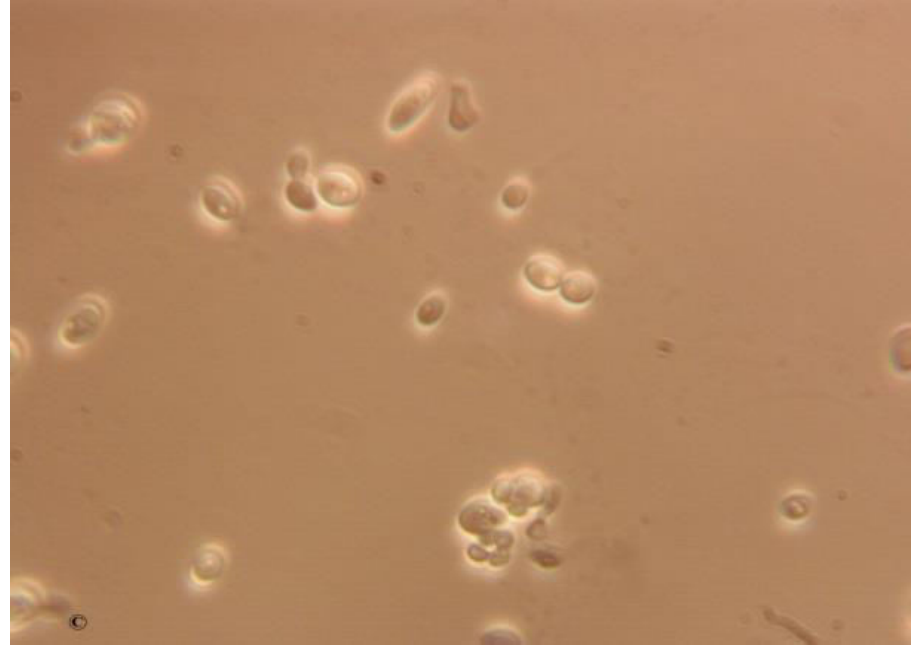
- ▶ Το αζύμωτο ζάχαρο επηρεάζει επίσης την εμφάνιση ασθενειών στο κρασί.
- ▶ Όσο λιγότερο είναι το αζύμωτο ζάχαρο τόσο καλύτερα μπορεί να διατηρηθεί ένα κρασί.
- ▶ Ακόμη, για την πρόληψη ασθενειών από αερόβιους μικροοργανισμούς πρέπει να αποφεύγεται κατά το δυνατό η επαφή του κρασιού με τον αέρα.
- ▶ Μικροβιακής προέλευσης θολώματα στα ερυθρά κρασιά οφείλονται σε ζυμομύκητες και βακτήρια, ενώ στα λευκά σε ζυμομύκητες και σπανίως σε βακτήρια.
- ▶ Εμφανίζονται σε κρασιά, τα οποία δεν είναι καλά διατηρημένα με θειώδη ανυδρίτη και περιέχουν αζύμωτα σάκχαρα και μηλικό οξύ.
- ▶ Στα κρασιά αυτά αναπτύσσονται ζύμες ή βακτήρια, εμφανίζουν θόλωμα ή ίζημα και υποβαθμίζονται οργανοληπτικά.
- ▶ Ταυτόχρονα, υπάρχει έκλυση διοξειδίου του άνθρακα που δηλώνει προσβολή από ζύμες ή βακτήρια.



Μικροβιακές αλλοιώσεις οίνου



Brettanomyces

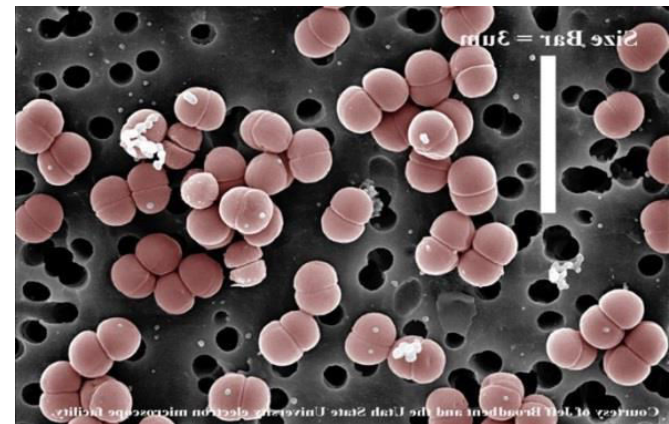


Pichia

Μικροβιακές αλλοιώσεις οίνου



Lactobacillus casei



Pediococcus pentosaceus

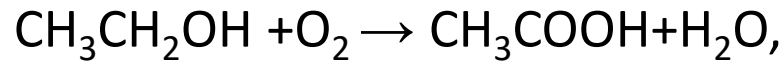
Άνθηση

- ▶ Η άνθηση οφείλεται στις ζύμες *Candida*, *Pichia*, *Brettanomyces*.
 - ▶ Με την επίδραση του αέρα (αερόβιοι μικροοργανισμοί) σχηματίζεται από τους μύκητες στην επιφάνεια του κρασιού ένα λευκό ή υποκίτρινο στρώμα, το οποίο ονομάζεται άνθος του κρασιού.
 - ▶ Στην αρχή προσβάλλεται η αλκοόλη η οποία οξειδώνεται και μετατρέπεται σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό.
 - ▶ Οι ζυμομύκητες, επίσης, αποικοδομούν ταννίνες, εστέρες, και πτητικά οξέα που συμμετέχουν στο άρωμα του κρασιού.
 - ▶ Η ανάπτυξη των ζυμομυκήτων ευνοείται σε μικρό αλκοολικό βαθμό, χαμηλή οξύτητα και σχετικά υψηλό αζύμωτο ζάχαρο, ενώ αναπτύσσονται πολύ δύσκολα σε pH 3-3,2.
 - ▶ Προλαμβάνεται με απογέμισμα των οινοδοχείων και προσθήκη θειώδη ανυδρίτη.
 - ▶ Για την θεραπεία της ασθένειας αυτής πολλές φορές αρκεί το γέμισμα των οινοδοχείων για την απομάκρυνση του υμένα.
 - ▶ Εάν η ασθένεια δεν έχει προχωρήσει αρκετά εφαρμόζεται παστερίωση, ενώ μπορεί να απαιτείται και κολλάρισμα.
-



Οξίνιση (ξύνισμα)

- ▶ Προκαλείται από τα οξικά βακτήρια (Acetobacter) που οξειδώνουν την αλκοόλη προς οξικό οξύ,



- ▶ και αν προχωρήσει μεταβάλλει το κρασί σε ξύδι.
 - ▶ Ευνοείται από την παρουσία αέρα (αερόβια βακτήρια) και σχετικά υψηλή θερμοκρασία.
 - ▶ Πρέπει να αποφεύγονται οι υψηλές θερμοκρασίες και η επίδραση του οξυγόνου σε όλα τα στάδια της οινοποίησης.
 - ▶ Ιδιαίτερη προφύλαξη χρειάζονται τα ερυθρά κρασιά, στα οποία το γλεύκος ζυμώνεται μαζί με τα στέμφυλα.
 - ▶ Τα οξικά βακτήρια προσβάλλουν πιο εύκολα τα κρασιά που είναι φτωχά σε αλκοόλη, ενώ κρασιά με πάνω από 15 % vol δεν προσβάλλονται καθόλου.
 - ▶ Η παρουσία σακχάρων ευνοεί την ανάπτυξη τους.
-



Οξίνιση (ξύνισμα)

- ▶ Τα οξικά βακτήρια μεταφέρονται στα οινοποιεία και μεταδίδονται με την κοινή σκνίπα του κρασιού (*Drosophila*).
 - ▶ Αναπτύσσονται στην επιφάνεια του γλεύκους που ζυμώνεται, όπου σχηματίζουν μια λεπτή κρούστα, γνωστή ως «μάννα του ξυδιού».
 - ▶ Όταν το $\text{pH} < 3$, είναι αδύνατη η ανάπτυξη της ασθένειας.
 - ▶ Επίσης, ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης 30 mg/L εμποδίζει την ανάπτυξη των οξικών βακτηρίων.
 - ▶ Όταν η πτητική οξύτητα του κρασιού είναι μεγαλύτερη από 1 g/L ως οξικό οξύ αποκτά γεύση και οσμή οξικού.
 - ▶ Όταν η πτητική οξύτητα είναι 1,5-2 g/L το κρασί δεν επιδέχεται θεραπεία και πρέπει να μετατρέπεται σε ξύδι ή να αποστάζεται για παραγωγή οινοπνεύματος.
 - ▶ Η παστερίωση και η θείωση είναι η πιο αποτελεσματικοί τρόποι για την πρόληψη ή την καταστολή αρχόμενης οξικής ζύμωσης.
-



Εκτροπή

- ▶ Είναι η πιο συνηθισμένη ασθένεια από αναερόβιους μικροοργανισμούς. Εμφανίζεται σε ζυμωμένα κρασιά που παρασκευάστηκαν από αλλοιωμένα σταφύλια ή δεν αποχωρίστηκαν έγκαιρα από την λάσπη τους.
- ▶ Χαρακτηριστικά της εκτροπής είναι η εμφάνιση λεπτού θολώματος, άνοστης γεύσης και δυσάρεστης οσμής στα κρασιά, όπως και η έκλυση CO_2 .
- ▶ Η δυσάρεστη οσμή οφείλεται στο σχηματισμό ακεταμιδίου.
- ▶ Από τη δράση των βακτηρίων της εκτροπής διασπάται το τρυγικό οξύ, σχηματίζεται γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα.
- ▶ Το βακτήριο της εκτροπής δρα σε $\text{pH} > 3,5$ και δεν αναπτύσσεται σε $\text{pH} 3,2$.
- ▶ Η ασθένεια εμφανίζεται σε όλα τα κρασιά, νέα και παλαιά, κυρίως στις θερμές χώρες κατά τους θερινούς μήνες.
- ▶ Η ασθένεια αυτή θεραπεύεται όταν είναι στην αρχή, ενώ όταν έχει ήδη προχωρήσει η θεραπεία της είναι αδύνατη.
- ▶ Η θεραπεία μπορεί να γίνει με παστερίωση.
- ▶ Επίσης, με θείωση, προσθήκη ταννίνης και κιτρικού οξέος και κολλάρισμα.

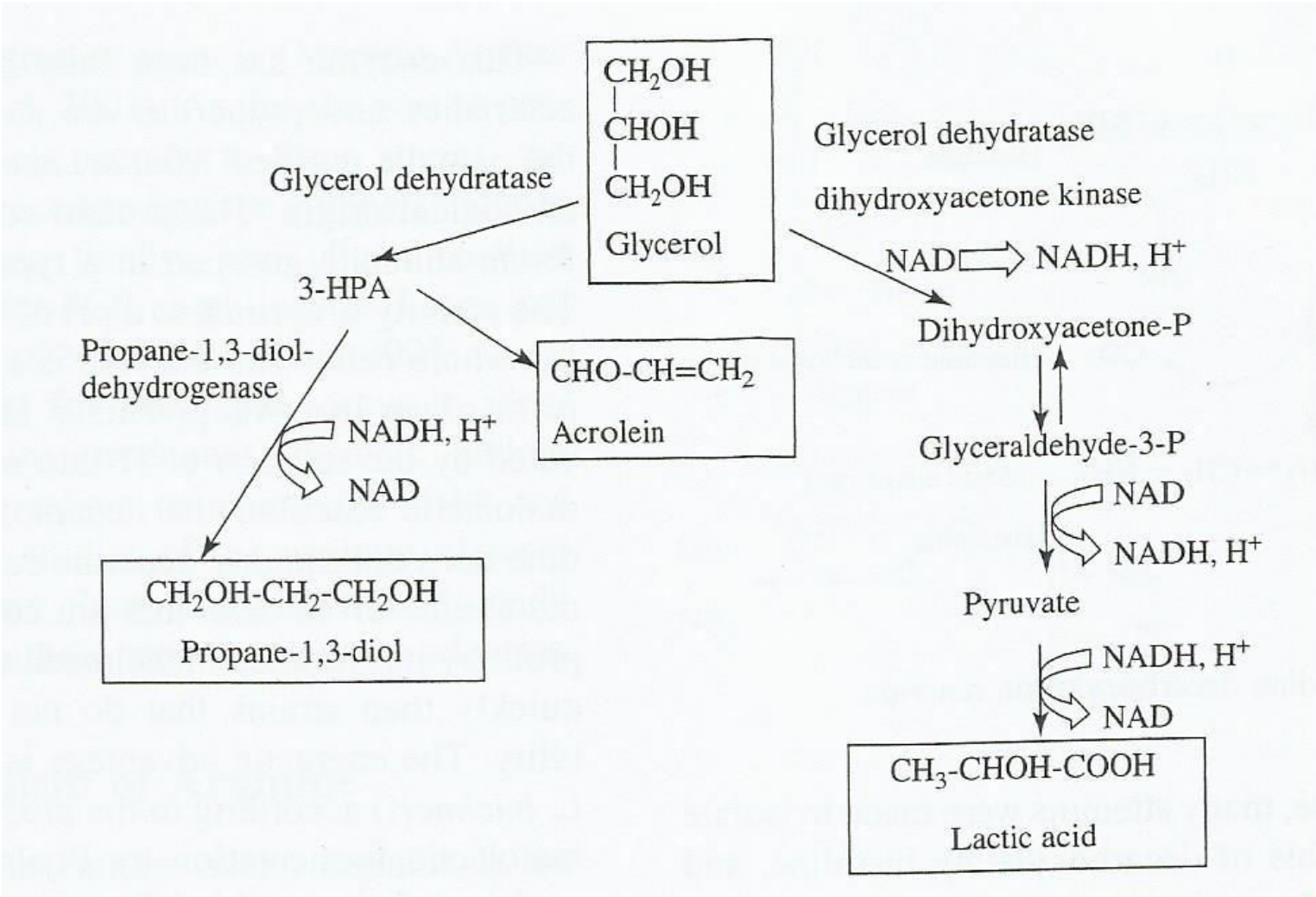


Πίκραση

- ▶ Πίκραση είναι η γαλακτική ζύμωση της γλυκερόλης από τα γαλακτικά βακτήρια.
 - ▶ Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι το γαλακτικό οξύ, το οξικό οξύ και η ακρολεΐνη.
 - ▶ Η τελευταία ενώνεται στο κρασί με τις τανίνες και τις άλλες φαινολικές ουσίες και δίνει πικρή γεύση.
 - ▶ Γι' αυτό εμφανίζεται περισσότερο στα ερυθρά κρασιά που είναι πλούσια σε τανίνες και φαινολικά συστατικά.
 - ▶ Το κρασί παρουσιάζει όξινη και βουτυρώδη οσμή. Θολώνει, το χρώμα αλλάζει προς το μαύρο, εμφανίζεται ίζημα, η γεύση γίνεται άνοστη και υπόγλυκη, η μυρωδιά άσχημη και χαρακτηριστική.
 - ▶ Παρουσιάζεται κυρίως στα παλαιά ερυθρά κρασιά.
 - ▶ Η πίκραση επιδέχεται θεραπείας όταν βρίσκεται στην αρχή, και μάλιστα πριν εμφανιστεί η πικρή γεύση.
 - ▶ Η θεραπεία γίνεται είτε με παστερίωση είτε με θείωση, προσθήκη ταννίνης και κιτρικού οξέος και κολλάρισμα.
-



Αποικοδόμηση γλυκερόλης από γαλακτικά βακτήρια.
 Από το πυροσταφυλικό οξύ παράγεται επίσης οξικό οξύ και ακετοϊνικές ενώσεις. 3-HPA=3-HydroxyPropionAldehyde



Πάχυνση

- ▶ Η ασθένεια αυτή προσβάλλει σχεδόν αποκλειστικά τα λευκά κρασιά που περιέχουν ακόμη αζύμωτο ζάχαρο.
- ▶ Εκδηλώνεται με την εμφάνιση θολώματος, το κρασί γίνεται παχύρευστο και γλοιώδες, αφήνει στη γλώσσα ένα ελαιώδες επίχρισμα.
- ▶ Δεν έχει απαραίτητα υψηλή πτητική οξύτητα, ενώ το άρωμα συνήθως δεν αλλοιώνεται.
- ▶ Προκαλείται από είδη *Leuconostoc* που παράγουν δεξτράνη.
- ▶ Για την πρόληψη της πάχυνσης πρέπει να επιτελείται γρήγορη και πλήρης ζύμωση, χωρίς υπολειμματικά σάκχαρα.
- ▶ Το κρασί να έχει κανονικά επίπεδα ταννινών, και να γίνεται αποτελεσματική διαύγαση.
- ▶ Η θεραπεία γίνεται με θείωση, προσθήκη ταννίνης, και διαύγαση.



Μαννιτίωση (Γαλακτική- μαννιτική ζύμωση)

- ▶ Η ασθένεια αυτή εκδηλώνεται κυρίως σε κρασιά των θερμών κλιμάτων.
- ▶ Προκαλείται από βακτήρια που αποικοδομούν τη φρουκτόζη (κυρίως) προς μανίτη (γλυκεία γεύση), τη γλυκόζη προς γαλακτικό οξύ.
- ▶ Παράγονται επίσης ως δευτερογενή προϊόντα οξικό οξύ, γλυκερόλη, ηλεκτρικό οξύ. Η ασθένεια αυτή είναι γνωστή και σαν γλυκοξινάδα.
- ▶ Το κρασί γίνεται θολό, με γλυκόξινη γεύση, δυσάρεστη οσμή, λόγω της ταυτόχρονης παρουσίας υψηλών ποσοτήτων αζύμωτων σακχάρων και οξικού οξέος, και παρατηρείται αύξηση της ολικής και της πτητικής οξύτητας.
- ▶ Η μαννιτίωση εμφανίζεται σε περιπτώσεις κρασιών με μικρή οξύτητα, με αζύμωτο ζάχαρο, αν η θερμοκρασία είναι υψηλή, είτε κατά την διάρκεια της ζύμωσης είτε λίγο μετά το τέλος της.
- ▶ Η θεραπεία της μαννιτίωσης είναι δύσκολη.
- ▶ Όταν βρίσκεται σε εξέλιξη γίνεται με παστερίωση και αύξηση της οξύτητας (προσθήκη τρυγικού και οξικού οξέος), προσθήκη ταννίνης και κολλάρισμα.



Ζύμωση κιτρικού οξέος

- ▶ Κατά τη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης ή αργότερα, ορισμένα από τα γαλακτικά βακτήρια μεταβολίζουν και το κιτρικό οξύ, με αποτέλεσμα την παραγωγή οξικού οξέος και γαλακτικού οξέος.
- ▶ Το φαινόμενο αυτό θεωρείται υπεύθυνο για την αύξηση της πτητικής οξύτητας κατά τη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης ή αργότερα και έχει δυσμενή επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρασιού.
- ▶ Για τον παραπάνω λόγο η προσθήκη του κιτρικού οξέος στους οίνους, για την αύξηση της οξύτητας ή τη δέσμευση του σιδήρου, είναι πολύ περιορισμένη.





Παραγωγή ισταμίνης

- ▶ Η ισταμίνη είναι τοξική σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από 10 mg/L.
- ▶ Συνήθης συγκέντρωσή της είναι σε ερυθρά κρασιά 0,22 mg/L και σε λευκά κρασιά 1,55 mg/L.
- ▶ Η ισταμίνη σχηματίζεται όταν η βιομάζα των βακτηρίων μείνει σε επαφή με το κρασί.
- ▶ Γι' αυτό το λόγο πρέπει να γίνεται αναστολή γαλακτικών βακτηρίων, όπως μετά το τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης.



Παραγωγή ισταμίνης

- ▶ Η ισταμίνη είναι τοξική σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από 10 mg/L.
- ▶ Συνήθης συγκέντρωσή της είναι σε ερυθρά κρασιά 0,22 mg/L και σε λευκά κρασιά 1,55 mg/L.
- ▶ Η ισταμίνη σχηματίζεται όταν η βιομάζα των βακτηρίων μείνει σε επαφή με το κρασί.
- ▶ Γι' αυτό το λόγο πρέπει να γίνεται αναστολή γαλακτικών βακτηρίων, όπως μετά το τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης.

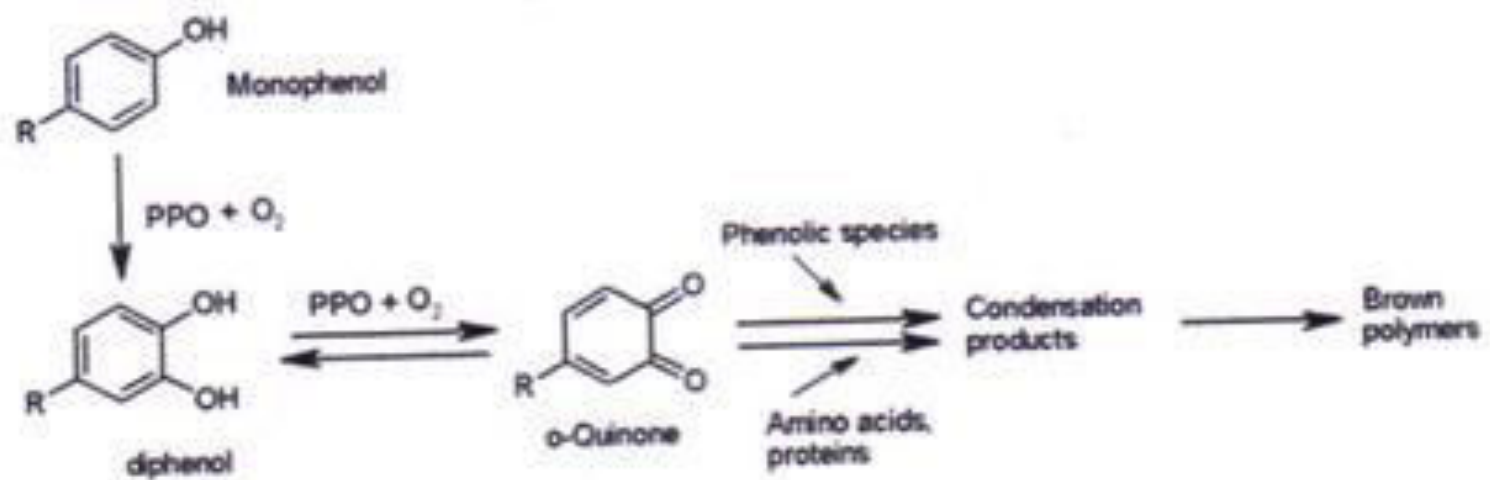


Ενζυμική οξείδωση στο γλεύκος

- ▶ Η οξείδωση στο γλεύκος είναι ενζυμικό φαινόμενο.
- ▶ Τα οξειδωτικά ένζυμα είναι η πολυφαινυλοξειδάση και η λακκάση.
- ▶ Η πολυφαινυλοξειδάση είναι φυσικά υπάρχον ένζυμο, ενώ η λακκάση παράγεται από τον μύκητα *Botrytis cinerea* (φαιά σήψη).
- ▶ Υποστρώματα είναι φαινολικά συστατικά, ενώ επίσης το οξυγόνο είναι απαραίτητο.
- ▶ Η γλουταθειόνη αναστέλει την οξείδωση / καστάνωση (browning) με σχηματισμό trans-γλουταθειονυλ-καφταρικού οξέος (καφταρικό οξύ = καφεουλ-τρυγικό οξύ), που είναι άχρωμο παράγωγο σχετικά σταθερό στην οξείδωση.
- ▶ Όμως, στη συνέχεια η οξείδωση συνεχίζεται, όπως με δράση λακκάσης.
- ▶ Ο θειώδης ανυδρίτης είναι αναστολέας της οξείδωσης, όπως και το ασκορβικό οξύ.



Αντιδράσεις ενζυμικής καστάνωσης (browning) στο γλεύκος



Λιποξειδάση (λιποξειγενάση)

- ▶ Κατά το προζυμωτικό στάδιο της οينوποίησης, με δράση λιποξειγενάσης σχηματίζεται ομάδα πτητικών ενώσεων με έξι άτομα άνθρακα.
- ▶ Στην ομάδα αυτή είναι οι εξανάλη, εξανόλη, cis-3-εξενόλη, trans-2-εξενόλη, και cis- και trans- ισομερή της 2- και 3-εξενάλης.
- ▶ Αυτές, ανάλογα με τη συγκέντρωση έχουν αρνητική επίδραση στο flavour προσδίδοντας οσμή χόρτου, βοτάνου.
- ▶ Οι παραπάνω ενώσεις σχηματίζονται από το λινολενικό οξύ (βρίσκεται στο γλεύκος) με δράση λιποξειγενάσης που ακολουθείται από δράση άλλων ενζύμων (ένζυμο διάσπασης υδρουπεροξειδίων, αλκοολική δευδρογονάση).



Ένζυμα για διαύγαση και εκχύλιση

- ▶ Πηκτινολυτικά ένζυμα
 - ▶ Τα κύρια ένζυμα που χρησιμοποιούνται στη οиноποίηση είναι τα πηκτινολυτικά ένζυμα.
 - ▶ Τα πηκτινολυτικά ένζυμα των σταφυλιών δεν είναι δραστικά στις συνθήκες οиноποίησης (pH και θειώδης ανυδρίτης).
 - ▶ Μυκητιακά πηκτινολυτικά ένζυμα, όμως, είναι ανθεκτικά στις συνθήκες οиноποίησης.
 - ▶ Έτσι, χρησιμοποιούνται ένζυμα από *Aspergillus niger* και *Trichoderma*.
 - ▶ Η χρήση πηκτινολυτικών ενζύμων είναι χρήσιμη
 - ▶ α) για τη διαύγαση. Αυτό καθόσον οι πηκτίνες δρουν ως προστατευτικά κολλοειδή, και
 - ▶ β) για εκχύλιση περισσότερου χυμού, και εκχύλιση συστατικών αρώματος και χρώματος.
-



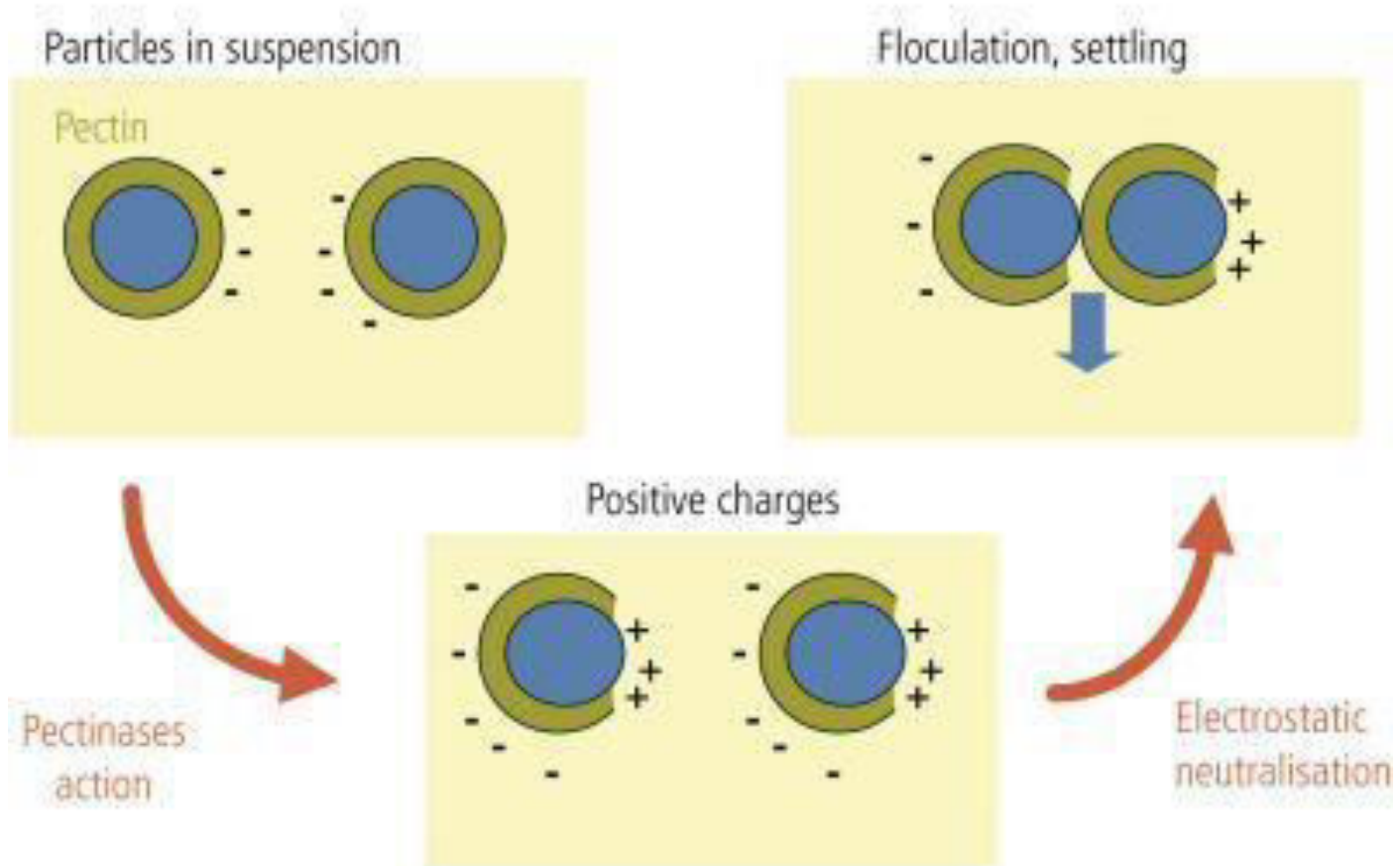
Ένζυμα για διαύγαση και εκχύλιση

- ▶ Πηκτινολυτικά ένζυμα
- ▶ Ως μίγματα με πηκτινολυτικά ένζυμα χρησιμοποιούνται ημικυτταρινάσες από *Aspergillus niger* και γλουκανάσες από *Trichoderma harzianum*, για διάσπαση των αντίστοιχων μεγαλομοριακών ενώσεων.
- ▶ Στη λευκή οινοποίηση τα παραπάνω ένζυμα χρησιμοποιούνται για διαύγαση και εκχύλιση χυμού και ενώσεων αρώματος.
- ▶ Ενώσεις αρώματος όπως τερπενόλες, νορ-ισοπρενοειδή και πεντανόνες βρίσκονται κυρίως στους φλοιούς.
- ▶ Στην ερυθρή οινοποίηση τα παραπάνω ένζυμα χρησιμοποιούνται στην εκχύλιση, με επιπλέον στόχο την εκχύλιση χρώματος.



Καταβύθιση πηκτινών με ενζυμική δράση

Mechanism of enzymatic settling

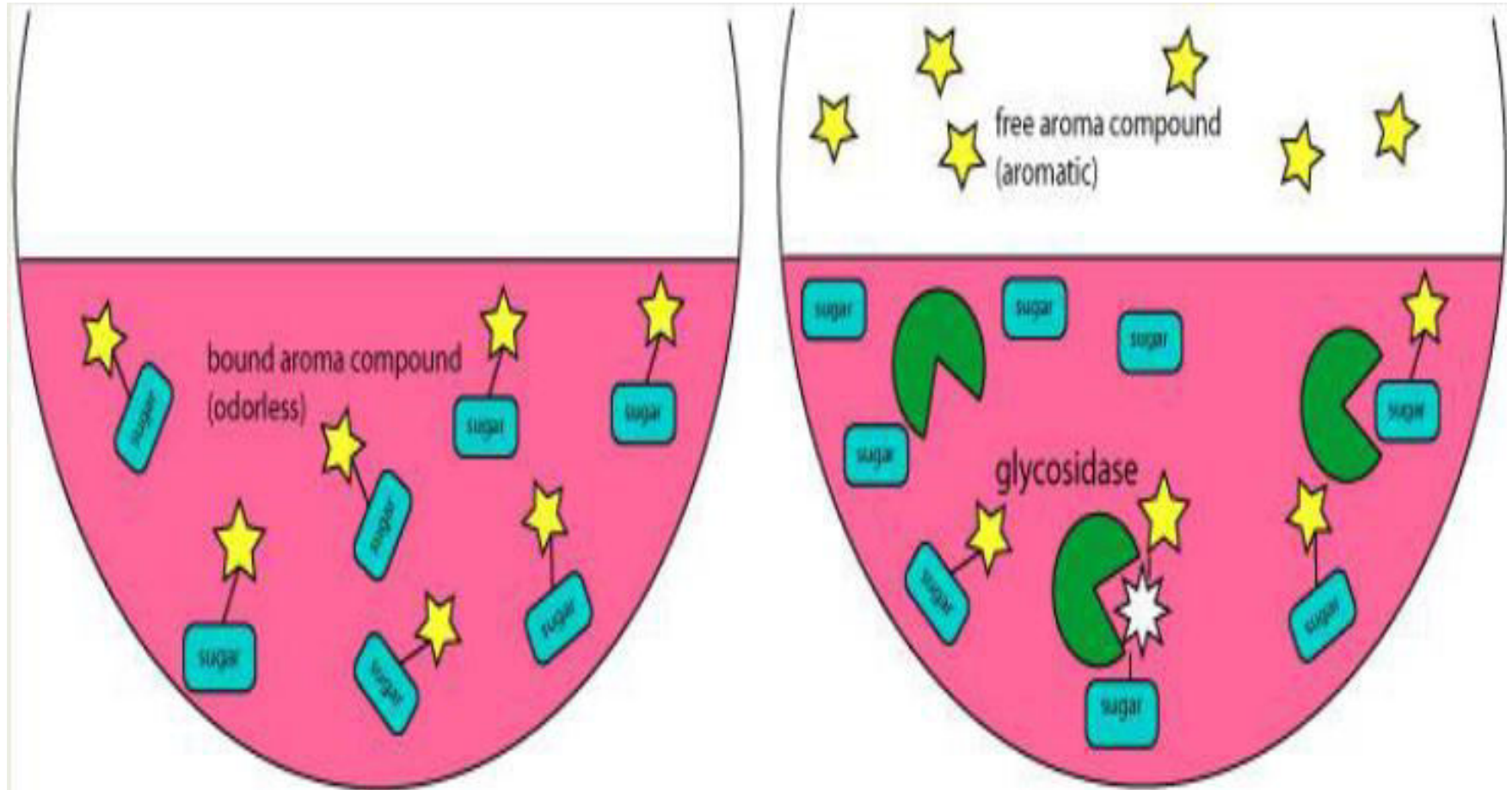


Ένζυμα απελευθέρωσης αρώματος

- ▶ Γλυκοσιδάσες
- ▶ Στα σταφύλια και στο γλεύκος υπάρχουν ενώσεις αρώματος που είναι γλυκοζιτικά δεσμευμένες.
- ▶ Η απελευθέρωση των γλυκοζιτικά δεσμευμένων αρωματικών ενώσεων μπορεί να επιτευχθεί είτε μέσω μιας διαδικασίας όξινης κατάλυσης είτε μέσω της δράσης γλυκοσιδασών.
- ▶ Ωστόσο, η όξινη υδρόλυση είναι αργή.
- ▶ Με ένζυμα, γλυκοσιδάσες, γίνεται άμεσα και απελευθερώνονται τα δεσμευμένα πτητικά συστατικά.
- ▶ Γλυκοσιδάσες υπάρχουν στα σταφύλια που, όμως, στις συνθήκες οινοποίησης δεν είναι πολύ δραστικές. Το ίδιο ισχύει και για γλυκοσιδάσες στελεχών ζυμομυκήτων οινοποίησης. Επίσης, με τη διαύγαση συμβαίνει απομάκρυνση γλυκοσιδασών.
- ▶ Τα ένζυμα που προστίθενται εξωγενώς είναι από *Aspergillus niger*. Οι γλυκοσιδάσες χρησιμοποιούνται συχνά σε μίγμα με πηκτινολυτικά ένζυμα.



Απελευθέρωση ενώσεων αρώματος στον οίνο με δράση γλυκοσιδασών



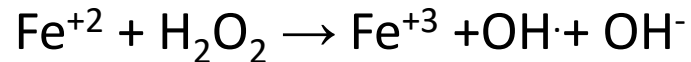
Αντιμικροβιακά ένζυμα

- ▶ Λυσοζύμη
- ▶ Η λυσοζύμη είναι ένα ένζυμο που καταλύει τη διάσπαση κυτταρικών τοιχωμάτων Gram θετικών βακτηρίων, όπως των γαλακτικών βακτηρίων.
- ▶ Χρησιμοποιείται για σταθεροποίηση του οίνου από γαλακτικά βακτήρια.
- ▶ Επίσης, έχει δοκιμαστεί μαζί με ταννίνες για μείωση του χρησιμοποιούμενου θειώδη ανυδρίτη.
- ▶ Πάντως, ελέγχονται ανεπιθύμητα αποτελέσματα που επιφέρει η χρήση της, όπως απώλεια του χρώματος στα κόκκινα κρασιά και σχηματισμός θολώματος στα λευκά.



Οξείδωση οίνου

- ▶ Η οξείδωση στον οίνο δεν είναι ενζυμικό φαινόμενο.
- ▶ Σύμφωνα με την πρόσφατη γνώση η οξείδωση στον οίνο λαμβάνει χώρα με ρίζες υδροξυλίου.
- ▶ Στο pH του οίνου ο Fe(II) ανάγει το οξυγόνο προς υπεροξείδιο του υδρογόνου, το οποίο παρουσία Fe(II) μετασχηματίζεται σε ρίζες υδροξυλίου (αντίδραση Fenton)



- ▶ Ακολούθως, με την οξείδωση των φαινολικών συστατικών από τις ρίζες υδροξυλίου ξεκινάει μια αλληλουχία αντιδράσεων.
 - ▶ Οι κινόνες που σχηματίζονται είναι ασταθείς και αντιδρούν περαιτέρω με το σχηματισμό πολυμερών και δημιουργία καστανού χρώματος.
 - ▶ Οι ρίζες υδροξυλίου είναι πολύ δραστικές και μη επιλεκτικές, και μπορούν να οξειδώσουν σχεδόν όλα τα συστατικά των οίνων.
-



Ροζάρισμα

- ▶ Το ροζάρισμα (pinking) μπορεί να εμφανιστεί σε καλά παρασκευασμένα και συντηρημένα λευκά κρασιά.
- ▶ Το pinking προκαλείται με την γρήγορη μετατροπή των φλαβενίων σε κόκκινα άλατα φλαβυλίου, παρουσία οξυγόνου.
- ▶ Τα φλαβένια μπορούν να σχηματιστούν με αργή αφυδάτωση των προκυανιδινών.



Βιβλιογραφία

- Οινολογία: Επιστήμη και τεχνογνωσία. Σουφλερός Ευάγγελος. Εκδόσεις ΣΟΥΦΛΕΡΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ. 2015
- Παραδόσεις Οινολογίας. Ιωάννης Ρούσσης. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 2017 (Σημειώσεις).
- Οινολογία: Από το σταφύλι στο κρασί. Τσακίρης Αργύρης. Εκδόσεις ΨΥΧΑΛΟΥ, Αθήνα, 4^η Έκδοση-2017.

