



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**  
**ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΤΙΤΛΟΣ: Πειραματική αξιολόγηση φαινολικών  
συστατικών για τις ιδιότητές τους ως εναλλακτικά του  
θειώδους.**

**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΔΡΟΥΖΑΣ**

**ΑΜ:718161025**

**Επιβλέπων: Ευάγγελος Μπερής. PhD**

**ΑΘΗΝΑ, 2021**

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω τον κο. Μπερή για την υπέροχη πρόταση και ιδέα του να συμμετέχω στο πρόγραμμα. Έπειτα την κα. Έβελην Δήμκου για την απεριόριστη βοήθεια που μου προσέφερε σε οποιοδήποτε ζήτημα προέκυψε αλλά και που κανόνισε τη διαμονή μου πριν ακόμα φύγω για τη Γερμανία. Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ στους κυρίους Max Freund και Felipe Andres Salinas Bonich για την καθοδήγηση τους και την βοήθειά τους σε όλα τα θέματα της εργασίας.

# Πίνακας περιεχομένων

## 1. ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Στόχοι και σκοποί της εργασίας - Πρόλογος Σελ. 9

1.2 Εισαγωγή στον Αμπελώνα της Γερμανίας Σελ. 10

1.2.1 Riesling Σελ. 11

## 2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ

2.1. Τα θειώδη και ο ρόλος τους στην οινοπαραγωγή Σελ. 11

2.1.1. Ιδιότητες - Δράσεις Σελ. 11

2.1.2. Μορφές θειωδών και τρόποι εφαρμογής Σελ. 12

2.1.3. Ποσότητες - Επιτρεπόμενα όρια - Ευρωπαϊκή Νομοθεσία Σελ. 15

2.1.4. Ολικό - Ελεύθερο θειώδες και τρόποι ελέγχου Σελ. 16

2.1.5. Εναλλακτικές ουσίες των θειωδών Σελ. 17

2.2. Κρασιά χωρίς προσθήκη θειωδών Σελ. 19

2.3. Οξειδοαναγωγικό δυναμικό οίνων Σελ. 21

2.3.1 Οξυγόνο – Οξείδωση Σελ. 21

2.3.2 Δυναμικό οξειδοαναγωγής – Αντιδράσεις δυναμικού οξειδοαναγωγής Σελ. 22

2.4. Φαινολικές ουσίες οίνων και οξείδωση αυτών Σελ. 23

2.4.1 Μη φλαβονοειδείς φαινόλες Σελ. 24

2.4.2 Φλαβονοειδείς φαινόλες Σελ. 25

2.4.3 Ενζυματική δραστηριότητα Σελ. 27

2.5. Η Βοτρύτιδα της Αμπέλου Σελ. 27

2.5.1 Κύκλος της ασθένειας Σελ. 28

2.5.2 Συμπτώματα Σελ. 29

2.5.3 Τρόποι πρόληψης/αντιμετώπισης Σελ. 30

## 3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Σελ. 31

3.1. Εισαγωγή Σελ. 31

**3.2. Υλικά και μέθοδοι Σελ. 33**

**3.3. Αποτελέσματα Σελ. 40**

**3.4. Συζήτηση – Συμπεράσματα Σελ. 60**

**4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ Σελ. 62**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το πείραμα έγινε ζυμώνοντας γλεύκος από σταφύλια τα οποία είχαν προσβληθεί από βοτρυτή. Μετά την πίεση το γλεύκος χωρίστηκε σε τρία βαρέλια δηλαδή ένα ανά κατεργασία. Έπειτα μετά την απολάσπωση προστέθηκαν ζύμες, θρεπτικά και τα αντιοξειδωτικά σε δύο από αυτά, τα οποία ήταν θειώδες και το προϊόν ESTAAN και η κάθε κατεργασία χωρίστηκε ξανά σε τρία δεξαμενάκια. Στο τρίτο δεν προστέθηκε κανένα αντιοξειδωτικό και παρέμεινε ως τυφλό δείγμα. Καθημερινά γινόταν μέτρηση πυκνότητας και δυναμικού οξειδοαναγωγής, κάθε δύο μέρες γινόταν μέτρηση του πληθυσμού των κυττάρων και κατά την αλλαγή μέσου αποθήκευσης δηλαδή πριν και μετά την ζύμωση μετρήθηκαν οι λάσπες ογκομετρικά αλλά και με φυγοκέντριση. Σπανιότερα γίνονταν και γενικές αναλύσεις στο γλεύκος και έπειτα στον τελικό οίνο. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν είχαν μεγάλο ενδιαφέρον. Όσον αφορά τις πυκνότητες υπήρξε μικρό προβάδισμα για το θειώδες ενώ δεύτερο με μικρή διαφορά τελείωσε το δείγμα με το ESTAAN. Τα κύτταρα ήταν περισσότερα στο τυφλό δείγμα και αυτό είναι λογικό αφού δεν υπήρχε κάποιος αντιμικροβιακός παράγοντας σε αυτό. Στα άλλα δύο δείγματα οι μετρήσεις ήταν πολύ κοντά η μια με την άλλη με το δείγμα με το θειώδες να προηγείται ελάχιστα. Στις γενικές αναλύσεις προζυμωτικά δεν υπήρχαν αξιοσημείωτες διαφορές προζυμωτικά ενώ μεταζυμωτικά θετικότερες ως ήταν αναμενόμενο ήταν οι μετρήσεις του θειώδους και του ESTAAN. Στη μέτρηση των λασπών σαφώς περισσότερη ποσότητα έχει το τυφλό ενώ μετά έρχεται το δείγμα με το θειώδες και αποδοτικότερο χωρίς σημαντική διαφορά είναι το ESTAAN. Όσον αφορά τα οξειδώσιμα φαινολικά το ESTAAN έχει μακράν περισσότερα αφού εξάλλου στη σύστασή του εμπεριέχονται αντιοξειδωτικές ουσίες από φαινολικά συστατικά. Συνοψίζοντας το προϊόν ESTAAN δείχνει ενθαρρυντικά αποτελέσματα παρόλο που χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για να εξακριβωθεί η χρησιμότητα και η αποδοτικότητα του.

## ABSTRACT

The experiment took place by fermenting must from grapes that were infected by botrytis. After pressing the grape must was separated into three barrels one for each treatment. Following the racking yeast and nutrients were added as well as the antioxidants into two out of three samples, those being sulphite and the product ESTAAN and this treatment was once again separated into three little tanks. In the third there was no antioxidant added and thus it remained as the control sample. everyday density was measured as well as the redox, every two days the population of cells capable to provide colonies was counted and whenever there was a change in storage lees was also counted by volume and by centrifuge. Rarely general analysis also took place in the masters well as in the final wine. The results that were produced were of great interest. concerning the densities there was a small lead for the sulphite while second came the product ESTAAN with little difference. There were more cells in the control sample and that is to be expected because there was no antimicrobial substances in it. in the other two samples the measuring we're pretty close with sulphite having the lead by a small amount. concerning the general analysis there was no significant difference before racking there were more positive measuring's in in the sulphite and in the ESTAAN sample. in the measuring of the lees there was substantially more volume in the control sample while the sulphite sample being second and the ESTAAN sample being the most efficient with no significant difference. concerning the oxidative phenolic matter the the sample with the product ESTAAN words by far leading because very well oxidative phenolics in its composition. Summing up the product ESTAAN so some encouraging results even though further study needs to be done in order to I validate its usefulness and its efficiency.

*Διασαφήσεις εξεταστικής επιτροπής*

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο «Πειραματική αξιολόγηση φαινολικών συστατικών για τις ιδιότητές τους ως εναλλακτικά του θειώδους» και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

<b>Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (1<sup>ο</sup> Μέλους Επιτροπής)</b>	
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (2<sup>ο</sup> Μέλους Επιτροπής)</b>	
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (3<sup>ο</sup> Μέλους Επιτροπής)</b>	

## **ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος **ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΔΡΟΥΖΑΣ** του **ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ - ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΥ** με αριθμό μητρώου 18161025, φοιτητής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

**Ονοματεπώνυμο Συγγραφέως Πτυχιακής Εργασίας**

**ΔΡΟΥΖΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ**

---



# **1. ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

## **1.1. Στόχοι και σκοποί της εργασίας - Πρόλογος - Λέξεις κλειδιά**

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις και τα εργαστήρια του πανεπιστημίου Hochschule Geisenheim University στην πόλη Geisenheim στη Γερμανία. Στόχος είναι ο έλεγχος της προστασίας του φυτικού πρόσθετου με όνομα ESTAAN σε σχέση με το θειώδες. Σκοπός είναι να διαπιστωθεί αν το συγκεκριμένο προϊόν είναι ικανός αντικαταστάτης του θείου ώστε να αποφευχθούν τα αρνητικά που έρχονται με αυτό.

This dissertation took place in the facilities of Hochschule Geisenheim University in the town of Geisenheim in Germany. The aim is to test the level of protection of the plant-based additive named ESTAAN in comparison to sulphite. The aim is to discover whether the product is a sufficient replacement of sulphite so as to avoid the negative aspects that come with it.

**Λέξεις κλειδιά:** Φαινόλες - Φαινολικά συστατικά - Εναλλακτικές θειώδους - Βοτρίτης - Αντιοξειδωτική προστασία - Αντιμικροβιακή προστασία

## 1.2. Εισαγωγή στον Αμπελώνα της Γερμανίας

Ο Γερμανικός αμπελώνας είναι υπεύθυνος για την παραγωγή μεγάλου πλήθους οίνων υψηλής ποιότητας. Αποτελείται από 13 οινοπαραγωγικές ζώνες οι οποίες υπάρχουν διάσπαρτες σε όλα τα γεωγραφικά μήκη και πλάτη της χώρας. Αυτές είναι οι: Ahr, Baden, Franken, Hessische Bergstraße, Mittelrhein, Mosel, Nahe, Pfalz, Rheingau, Rheinhessen, Saale-Unstrut, Sachsen και Wurttemberg. Στις περιοχές αυτές καλλιεργούνται πολλές γερμανικές και κάποιες διεθνείς ποικιλίες. Επίσης, στο μεγαλύτερο ποσοστό επικρατούν οι λευκές ποικιλίες όπως το πασίγνωστο Riesling άλλα και λιγότερο γνωστές όπως το Silvaner το οποίο κάποτε αποτελούσε την σημαντικότερη γερμανική ποικιλία και το Gewürztraminer το οποίο έχει γίνει και αυτό δημοφιλές σε όλο τον κόσμο. Παρά την δημοφιλία των λευκών ποικιλιών δεν λείπουν και οι ερυθρές από τους αμπελώνες. Το πιο γνωστό ερυθρό σταφύλι ίσως είναι το Pinot Noir το οποίο στην Γερμανία ονομάζεται και Spätburgunder το οποίο είναι ακριβής μετάφραση στα γερμανικά. Ακόμα υπάρχουν και λιγότερο διαδεδομένες ερυθρές ποικιλίες όπως το Schwarzriesling το οποίο αν και σημαίνει “μαύρο Riesling” δεν έχει καμία σχέση με αυτό, ή και το Trollinger το οποίο είναι μια πολύ παλιά ιταλοαυστριακή ποικιλία.

### **1.2.1 Riesling**

Το Riesling αποτελεί την πιό ξακουστή και επιφανή γερμανική ποικιλία. Είναι μια λευκή ποικιλία η οποία καλλιεργείται σε όλες τις οινοπαραγωγικές ζώνες της Γερμανίας. Η αντοχή της στο κρύο αλλά και τα επίπεδα οξύτητας που προσφέρει στους οίνους της την καθιστούν ιδανική ποικιλία για τον γερμανικό αμπελώνα. Ειδικότερα αν ληφθεί υπόψιν πως ευημερεί με λιγοστές ανάγκες σε νερό και σε πετρώδη εδάφη.

Οι οίνοι Riesling αν καταναλωθούν σε νεαρή ηλικία έχουν φρουτώδη έως και εξωτικά χαρακτηριστικά τα οποία συνδυάζονται άψογα με την τραγάνη οξύτητα - χαρακτηριστικό- της ποικιλίας. Με την πάροδο του χρόνου τα φρουτώδη αρώματα δίνουν τη θέση τους σε πιο πολύπλοκες νότες πετρόλ οι οποίες έχουν και μεγάλο μέρος της ευθύνης για την δημοφιλία της ποικιλίας.

Δεν είναι σπάνιο κανείς να δει πολύ παλιούς οίνους από αυτή την ποικιλία σε δημοπρασίες να αγγίζουν εξωφρενικά ποσά λόγω φυσικά της σπανιότητας αλλά και της δυνατότητας της ποικιλίας να παλαιώνει για πραγματικά τεράστια διαστήματα δεδομένων συνθηκών που ευνοούν την παλαίωση.

## **2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ**

### **2.1. Τα θειώδη και ο ρόλος τους στην οινοπαραγωγή**

#### **2.1.1. Ιδιότητες - Δράσεις**

Το θειώδες είναι ένα πολύ ευδιάλυτο στο νερό αέριο (ένα μέρος νερού μπορεί να διαλύσει 39 μέρη θειώδους) το οποίο είναι το πιο κοινό συντηρητικό τροφίμων αλλά και του κρασιού. Ακόμα, χρησιμοποιείται εδώ και εκατοντάδες χρόνια αφού σύμφωνα με ιστορικές πηγές πρώτοι το χρησιμοποίησαν ήταν οι Ρωμαίοι οι οποίοι έκαigan κεριά θείου μέσα στα βαρέλια για τον καθαρισμό τους και παρατήρησαν πως τα κρασιά που παράγονταν εκεί ήταν πιο ανθεκτικά στην οξείδωση και διατηρούνταν ευκολότερα (Giacosa et al., 2019).

Ξεχωρίζει, για την ευρεία προστασία που παρέχει αφού δρα αντιοξειδωτικά αλλά και αντιμικροβιακά ταυτόχρονα, γεγονός που δικαιολογεί την ευρεία χρήση του (Pat Henderson, 2009).

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του θειώδους περιλαμβάνουν την διαπεραστική του οσμή αλλά και το διάφανο χρώμα του. Γι' αυτό είναι σημαντικό ο οινολόγος να προσέξει τις ποσότητες αλλά και το χρονικό σημείο που θα γίνει κάποια προσθήκη αφού μπορεί να επηρεάσει άμεσα και αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος (Boroski et al., 2017). Το χρώμα, τα σάκχαρα αλλά κυρίως το pH, η οξύτητα και γενικότερος τύπος του τελικού προϊόντος επηρεάζουν την αναγκαία ποσότητα θειώδους που χρειάζεται να προστεθεί για την προστασία του γλεύκους ή του οίνου κατά τα διάφορα στάδια της παραγωγής (Pat Henderson, 2009). Επιπλέον, πολύ σημαντικό ρόλο στην ποσότητα και το χρόνο θείωσης είναι η επιθυμία ή μη της ύπαρξης μηλογαλακτικής ζύμωσης αφού λόγω της αντιμικροβιακής του δράσης το θείο μπορεί πολύ εύκολα να αναστείλει την λειτουργία των μη ανεκτικών σε αυτό γαλακτικών βακτηρίων.

Πολλές φορές στην οινοποιεία τα ονόματα διοξείδιο του θείου, θειώδες και SO<sub>2</sub> χρησιμοποιούνται ως συνώνυμα.

Αξίζει να σημειωθεί πως από την πλευρά του καταναλωτή μπορούν να παρατηρηθούν πληθώρα αντιδράσεων όπως δερματίτιδα, κνίδωση, αγγειοοίδημα, πόνος στην κοιλιακή χώρα, διάρροια, βρογχοσυστολή και σε μικρότερο ποσοστό αναφυλαξία, που οφείλονται σε αλλεργικά αίτια λόγω χαμηλής ανοχής του ατόμου στο θειώδες (Guerrero & Cantos-Villar, 2015). Ακόμα το θειώδες στην αέρια μορφή του μπορεί εκτός των άλλων να επηρεάσει αρνητικά τους εργαζόμενους ενός οινοποιείου αφού έχει αποδειχθεί πως άτομα που πάσχουν από άσθμα είναι πιθανότερο να δείξουν ευαισθησία και να υπάρξουν αρνητικές επιπτώσεις στον οργανισμό τους κατά την εργασία τους με το συγκεκριμένο συντηρητικό (Freedman, 1980).

### **2.1.2. Μορφές θειωδών και τρόποι εφαρμογής**

Η προσθήκη θείου είναι πιθανή με διάφορους τρόπους.

Αυτή μπορεί να γίνει:

- Με καύση του θείου
- Με μορφή αερίου
- Σε υδατικό διάλυμα

- Με άλατα που απελευθερώνουν SO<sub>2</sub> (Giacosa et al., 2019).

Η καύση είναι και ο παλαιότερος τρόπος όπως αναφέρθηκε και πρωτύτερα και χρησιμοποιείται κυρίως για την αποστείρωση κλειστών χώρων. Αυτοί είναι κυρίως βαρέλια και δεξαμενές οι οποίοι ύστερα από σχολαστικό καθάρισμα χρειάζονται να υποστούν κάποια αποστείρωση ώστε να υπάρχει προστασία από ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς όπως ο βρεττανομύκητας. Τα αέρια που εκκρίνονται με την καύση έχουν την δυνατότητα να περάσουν μέσα από το πορώδες του ξύλου του βαρελιού και να αποστειρώσουν σε βάθος. Εξάλλου, φαίνεται ξεκάθαρα στα αποσυναρμολογημένα βαρέλια πως ο οίνος έχει διαπεράσει τα τοιχώματα έως και για αρκετά χιλιοστάμετρα. Σε μεγαλύτερες δόσεις τα αέρια αυτά αρκούν για την αποστείρωση ακόμα και μεγαλύτερων δοχείων όπως δεξαμενές όλων των ειδών. Πιο συνηθισμένος τρόπος καύσης είναι σε δισκία που κρεμιούνται στον αέρα μέσα στο εκάστοτε δοχείο και αναφλέγονται ενώ υπάρχουν και άλλοι τύποι όπως κεριά, ταμπλέτες, στικς και άλλα. Ενώ η καύση αποτελεί πολύ καλό τρόπο απολύμανσης χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή για όποιον δουλεύει πάνω στη διαδικασία αφού τα αέρια που δημιουργούνται είναι ιδιαίτερα τοξικά. Το θειώδες που μένει πίσω στα δοχεία μπορεί να διαλυθεί εύκολα στον οίνο, οπότε καλό είναι να γίνεται μέτρηση του θειώδους αφού τοποθετηθεί σε αυτά για να υπάρχει συνολική εικόνα.

Η προσθήκη σε αέρια μορφή είναι μια ακόμη πολύ διαδεδομένη μέθοδος αφού είναι ιδιαίτερα εύκολη και ελεγχόμενη. Η αποθήκευση του αέριου θειώδους γίνεται σε υγρή μορφή υπό πίεση (3-5 bar) μέσα σε μπουκάλες. Η μέτρηση της ποσότητας μπορεί να γίνει ζυγίζοντας την μπουκάλια οπότε η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για πολύ μεγάλης κλίμακας παραγωγές χωρίς αυτό να αποκλείει μικρού παραγωγούς να βρίσκουν δικές του μεθόδους μέτρησης ώστε να χρησιμοποιούν το αέριο. Το υγροποιημένο αέριο είναι αγνό και δεν περιέχει άλλες ουσίες που μπορεί πχ να δημιουργηθούν από την καύση. Είναι επίσης δυνατόν να γίνει προσθήκη κατά τη μεταφορά γλεύκους/οίνου μιας και αυτό θα βοηθήσει σε καλύτερη ανάμειξη. Ωστόσο, χρειάζεται ειδικός εξοπλισμός αφού το αέριο θείο είναι ιδιαίτερα επιθετικό.

Η προσθήκη στη μορφή υδατικού διαλύματος είναι μια πολύ δημοφιλής μέθοδος προσθήκης για μικρότερες παραγωγές αφού είναι ευκολότερος ο

υπολογισμός σε μικρές ποσότητες και δεν χρειάζονται μέσα όπως μπουκάλες. Το συνηθέστερο είναι να χρησιμοποιείται σκόνη μεταμπισουλφίτ καλίου η οποία διαλύεται σε νερό με τελική συγκέντρωση διαλύματος γύρω στο 10-25%. Αυτό, γιατί έχει λιγότερο διαπεραστική οσμή από το να διαλυθεί αέριο σε νερό το οποίο είναι ακόμη ένας τρόπος προσθήκης θείου αλλά αυτή τη φορά με συγκέντρωση περίπου 5-10%. Το θετικό της διάλυσης αερίου στο νερό αντί για απευθείας προσθήκη είναι η πολύ καλύτερη ομογενοποίηση των ουσιών (Ough C S, 1986).

Προζυμωτικά είναι πολύ συνήθης η χρήση του όξινου θειικού αμμωνίου το οποίο περιέχει συνήθως 15% περιεκτικότητα σε SO<sub>2</sub>. Είναι εύκολο να υπολογιστεί η δόση, είναι σταθερό και περιέχει περίπου 22% αφομοιώσιμο άζωτο το οποίο βοηθά σαν συμπλήρωμα σε αυτό που θα προστεθεί μαζί με το εμβόλιο. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται κυρίως προζυμωτικά αφού η προσθήκη του στον έτοιμο οίνο μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο. Το πιο διαδεδομένο άλας που χρησιμοποιείται ωστόσο δεν είναι άλλο από το μεταδιθειώδες κάλιο. Απλό και εύκολο στη χρήση, με θεωρητική περιεκτικότητα σε SO<sub>2</sub> 57% αλλά στην πράξη για οινολογικούς σκοπούς περιέχει 50%. Η προσθήκη στερεού θειώδους με τη μορφή αλάτων μπορεί να γίνει σε οποιοδήποτε στάδιο της οινοποίησης και συχνά προτιμάται διότι δεν χρειάζεται η ανάμειξή του με νερό αλλά και για τον εύκολο υπολογισμό της ακριβής δοσολογίας.

Η προσθήκη θειώδους συνήθως γίνεται πριν τη ζύμωση κατά το πάτημα, μετά την μεταζυμωτική απολάσπωση και πριν την εμφιάλωση. Ο τρόπος που θα προστεθεί το θείο επηρεάζεται από το στάδιο που βρίσκεται η οινοποίηση αλλά και από το τι υπάρχει διαθέσιμο στο εκάστοτε οινοποιείο. Η δόση εξαρτάται από τον τύπο το pH και την οξύτητα όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα αλλά και από την υγεία των σταφυλιών. Σημαντικό να σημειωθεί πως τουλάχιστον για τους ερυθρούς οίνους αλλά και γενικά για οίνους που πρόκειται να υποστούν μηλογαλακτική ζύμωση είναι μια επιπλέον προσθήκη μετά την ολοκλήρωση αυτής που συμβάλλει στη μικροβιακή σταθερότητα αποφεύγοντας έτσι ελαττώματα ειδικά όταν πρόκειται για οίνους που θα ωριμάσουν σε βαρέλια. Οι προσθήκες κατά την έκθλιψη αλλά και μετά την μεταζυμωτική απολάσπωση μπορούν να αποφευχθούν χάρη στην τεχνολογία που υπάρχει στις μέρες μας. Είναι δυνατόν με τη χορήγηση αδρανών αερίων να αποφευχθεί η επαφή των σταφυλιών τόσο κατά το σπάσιμο/πάτημα τους όσο και του γλεύκους κατά τη μεταφορά του στις δεξαμενές. Ακόμα με παρόμοιο τρόπο

γίνεται και να αποφευχθεί η χρήση θειώδους κατά την αποθήκευση του οίνου μετά την απολάσπωση. Το δυσκολότερο εγχείρημα και συνεπώς δυσκολότερο να αντικατασταθεί η χρήση θειώδους είναι κατά την διάρκεια της παλαίωσης στην φιάλη. Εκεί για λόγους σταθερότητας καλό είναι να μην αποφεύγεται η προσθήκη θείου.

### 2.1.3. Ποσότητες - Επιτρεπόμενα όρια - Ευρωπαϊκή Νομοθεσία

Τα όρια στη χρήση διοξειδίου του θείου κατά την ευρωπαϊκή νομοθεσία καθορίζονται από την διάταξη (EC) Νο. 606/2009 [εκεί υπάρχουν και περισσότερες λεπτομέρειες για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με ειδικές κατηγορίες οίνων] και είναι τα εξής:

Πίνακας 1 Όρια θειώδους νομοθεσίας Ε.Ε

Τύπος οίνου	Όρια θειώδους σε συμβατικούς οίνους	Όρια θειώδους σε βιολογικούς οίνους
Ερυθροί οίνοι με σάκχαρα <5g/l	150 mg/L	100 mg/L σάκχαρα <2 g/L
		120 mg/L σάκχαρα >2 g/L και <5 g/L
Ερυθροί οίνοι με σάκχαρα >=5g/l	200 mg/L	170 mg/L σάκχαρα <2 g/L
Λευκοί και ροζέ οίνοι <5g/l	200 mg/L	150 mg/L σάκχαρα >2 g/L και <5 g/L
		170 mg/L
Λευκοί και ροζέ οίνοι >=5g/l	250 mg/L	220 mg/L
Ειδικό οίνοι παραγράφου 2c	300 mg/L	270 mg/L
Ειδικό οίνοι παραγράφου 2d	350 mg/L	320 mg/L
Ειδικό οίνοι παραγράφου 2e	400 mg/L	370 mg/L
παραγράφος 4 - καιρικές συνθήκες	+50 mg/L	+50 mg/L
οίνοι λικέρ με σάκχαρα<5g/l	150 mg/L	120 mg/L
οίνοι λικέρ με σάκχαρα>=5g/l	200 mg/L	170 mg/L
αφρώδεις οίνοι ποιότητας παρ. 1a	185 mg/L	155 mg/L
αφρώδεις οίνοι παρ. 1b	235 mg/L	205 mg/L
παραγράφος 2 - καιρικές συνθήκες	+40 mg/L	+40 mg/L

Τα όρια που έχει θέσει η ΕΕ είναι αρκετά υψηλά ώστε να μπορούν να προστατευτούν οίνοι ακόμα και αυτοί παραγόμενοι από σταφύλια που δεν είναι ιδιαίτερα υγιή. Για αυτό και οι περισσότεροι οινοπαραγωγοί θα επιλέξουν να προσθέσουν αισθητά λιγότερο από το επιτρεπόμενο θειώδες. Εδώ αξίζει να αναφερθεί πως τα όρια για τα θειώδη σε άλλα μέρη του κόσμου όπως πχ στην Αυστραλία ή τις Η.Π.Α είναι κατά πολύ ανώτερα από της ΕΕ.

Από τον πίνακα παρατηρείται επίσης πως τα όρια που αφορούν βιολογικού οίνους είναι χαμηλότερα για να ταιριάζουν με την γενικότερη φιλοσοφία

παρασκευής τους. Χώρες όπως η Ελλάδα ακόμα και σε περιπτώσεις βιολογικών οίνων δεν θα χρειαστεί καν να πλησιάσουν το όριο ενώ αντίθετα βορειότερες χώρες όπως πχ Γερμανία που υποφέρουν από συνεχόμενες βροχοπτώσεις και χαμηλές θερμοκρασίες (ή και πολύ υψηλές για την εποχή λόγω κλιματικής αλλαγής) δυσκολεύονται να παράγουν βιολογικούς οίνους εξαιτίας της μη φυσιολογικής ωρίμανσης των σταφυλιών τους. Βέβαια αυτό οφείλεται συνδυαστικά και στις μεθόδους καλλιέργειας οι οποίες είναι αυστηρότερες για βιολογικά αμπέλια και έχουν ως συνέπεια δυσκολότερη αποφυγή των ασθενειών.

Ο ακριβής υπολογισμός της ποσότητας προσθήκης διοξειδίου του θείου είναι ιδιαίτερα εύκολος αν λάβει κανείς υπόψιν πως στο διαδίκτυο πέρα από τους πίνακες που συνδυάζουν ποσό θείωσης και pH υπάρχουν και εφαρμογές που κάνουν το ίδιο πολύ εύκολα και με μεγάλη ακρίβεια.

#### **2.1.4. Ολικό - Ελεύθερο θειώδες και τρόποι ελέγχου**

Ολικό ονομάζεται το σύνολο του θειώδους που υπάρχει σε ένα γλεύκος ή οίνο. Αυτό αποτελείται από το σύνολο του ελεύθερου και του δεσμευμένου θειώδους.

Όταν προσθέτουμε διοξείδιο του θείου σε ένα νερό ή ένα υδατικό διάλυμα όπως ο οίνος το οποίο είναι εξάλλου περίπου 80% νερό αυτό πραγματοποιεί την χημική αντίδραση  $H_2O + SO_2 \leftrightarrow H^+ + HSO_3^- \leftrightarrow 2H^+ + SO_3^{2-}$

Στο υδατικό διάλυμα το  $SO_2$  ονομάζεται μοριακό θειώδες και έχει αντιμικροβιακό ρόλο. Τυπικές ποσότητες που θα βρούμε σε έναν οίνο είναι 0,6-0,8 mg/L και έχει κατώφλι αντίληψης τα 2 mg/L.

Το  $HSO_3^-$  ονομάζεται ελεύθερο θειώδες και έχει κυρίως αντιοξειδωτικό ρόλο. Τυπικές ποσότητες είναι 20-40 mg/L.

Το  $SO_3^{2-}$  ονομάζεται θειώδες και δεν έχει κάποιο σημαντικό ρόλο αφού στην πράξη αποτελεί <1% του  $SO_2$  στο pH των οίνων

Η υπόλοιπη ποσότητα δεσμεύεται από άλλες ουσίες όπως φαινολικά συστατικά, οξέα, ακεταλδεΐδη κ.α. και για αυτό ονομάζεται δεσμευμένο. (Danilewicz & Standing, 2018; A. L. Waterhouse et al., 2016)



Σε ένα οινοποιείο η μέτρηση μοριακού και ελεύθερου θειώδους αποτελεί έλεγχο ρουτίνας και γίνεται σε τακτικά χρονικά διαστήματα. Οι συχνότεροι τρόποι μέτρησης είναι τρεις.

- Τιτλοδότηση στην οποία οξειδωτικά αντιδραστήρια προστίθενται απευθείας στον οίνο. Γνωστότερη είναι η ιοδιομετρική μέθοδος και χρησιμοποιείται κάποιος δείκτης για να παρατηρηθεί η αλλαγή.

- Οξείδωση δείγματος για να μετατραπεί το θείο σε μοριακό ώστε να απομονωθεί και να μετρηθεί. Γνωστότερη από αυτές τις μεθόδους είναι η μέθοδος αερισμού-οξείδωσης. Στην οποία το οξειδωμένο δείγμα αποστάζεται σε δοχείο με υπεροξείδιο του υδρογόνου για να παραχθεί θειικό οξύ το οποίο μετά τιτλοδοτείται.

- Διαχωρισμός και προσδιορισμός μιας μορφής ελεύθερου θειώδους (μοριακό η διθειώδες) χωρίς αλλαγή στο pH ή αραιώση. Τέτοιες μέθοδοι δεν χρησιμοποιούνται συνήθως στην παραγωγή οίνου και περιλαμβάνουν μεθόδους όπως την ηλεκτροφόρηση του  $\text{HSO}_3^-$ .

### **2.1.5. Εναλλακτικές ουσίες των θειωδών**

Το διοξείδιο του θείου προσφέρει σφαιρική και ευρεία προστασία από την οξείδωση αλλά και από ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς. Δηλαδή αντιμετωπίζει αποτελεσματικά και δίχως δυσκολία για τον παραγωγό τους δύο σημαντικότερους εχθρούς του οίνου. Δυστυχώς, το κόστος είναι ο κίνδυνος για την υγεία μέρους των καταναλωτών το οποίο ισοδυναμεί με λιγότερες πωλήσεις. Ακόμα σε ακατάλληλα χέρια το ίδιο το θείο μπορεί να αποτελέσει εχθρό του κρασιού λόγω των οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών. Η αναζήτηση για ουσίες που θα είχαν δράση παρόμοια με του θείου δίχως τις παρενέργειες είναι φυσικό επόμενο. Ως τώρα δεν έχει βρεθεί ουσία που να καλύπτει τις αντιοξειδωτικές και ταυτόχρονα τις αντιμικροβιακές ανάγκες της οινοπαραγωγής. Υπάρχει ωστόσο γκάμα ουσιών οι οποίες εξιδεικευμένα προσφέρουν προστασία για έναν εχθρό από τους δύο.

Αντιμικροβιακές ουσίες

Η λυσοζύμη είναι ένα ένζυμο που βοηθάς τον έλεγχο των γαλακτικών βακτηρίων στον οίνο. Συνδυαστικά με το θείο βοηθά στη διατήρηση της έντασης του χρώματος η οποία μειώθηκε εξαιτίας αυτού. Ωστόσο το αρνητικό με τη λυσοζύμη είναι πως μπορεί να ανασταλλεί η δράση της από τις ανθοκυάνες. Ακόμα, πριν την εμφιάλωση μπορεί να έχει ακόμα και αρνητικές συνέπειες στην πυκνότητα του χρώματος . Επίσης κατακάθεται ως ίζημα και λόγω πιθανών αλλεργιών στα αυγά η ΕΕ επιβάλλει να υπάρχει ειδική σήμανση στα μπουκάλια με υπολειπόμενη λυσοζύμη (Giacosa et al., 2019).

Το σορβικό οξύ είναι μία αντιμυκητιακή ουσία που μπορεί να προστεθεί ως σορβικό κάλιο. Χρησιμοποιείται σε προϊόντα με χαμηλό αλκοολικό δείκτη για να αποφευχθεί η περαιτέρω ανάπτυξη σακχαρομυκήτων και κατά συνέπεια η συνέχεια της ζύμωσης. Δεν είναι μπορεί ωστόσο ώστε να σταματήσει την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων τα οποία μπορούν να μεταβολίσουν το σορβικό οξύ και να παράξουν δυσάρεστες οσμές. Παλαιότερα χρησιμοποιούταν σε συνδυασμό με το θείο σε γλυκός οίνους ενώ πλέον λόγω των αποτελεσματικών φίλτρων που υπάρχουν στην αγορά σπάνια χρησιμοποιείται (Lisanti et al., 2019).

Η χιτοζάνη είναι ακόμα μία ουσία που μπορεί να έχει στη διάθεσή του ένας οινολόγος ώστε να περιορίσει την εξάπλωση μικροοργανισμών όπως ο *Oenococcus oeni* ή ο *B. Bruxellensis* ενώ ταυτόχρονα δεν επηρεάζεται ο πιο ανθεκτικός *Saccharomyces cerevisiae*. Δυστυχώς βοηθά μόνο στον περιορισμό του πληθυσμού των συγκεκριμένων μικροοργανισμών και όχι στην εξάλειψη τους πράγμα που μπορεί να θεωρηθεί αρνητικό της (Bağder Elmaci et al., 2014).

#### Αντιοξειδωτικές ουσίες

Κύριο αντιοξειδωτικό στους οίνους αποτελούν τα φαινολικά συστατικά που εμπεριέχονται ήδη φυσικά μέσα τους. Μεγαλύτερες ποσότητες υπάρχουν ασφαλώς στους ερυθρούς οίνους. Κύριες εκπρόσωποι της συγκεκριμένης ομάδας είναι οι τανίνες που ελέγχουν την πικρότητα, το πόσο στιφό είναι, τον συνδυασμό ανθοκυανών αλλά και την αντιοξειδωτική προστασία. Οι τανίνες υπάρχουν κυρίως στα γίγαρτα και στα κουκούτσια. Η προσθήκη επιπλέον τανινών αποτελεί εργαλείο του οινολόγου ενάντια στην οξείδωση και αυτές μπορούν να προέρχονται είτε από τα προαναφερθέντα μέρη του σταφυλιού είτε από βελανίδια. Χρειάζεται ιδιαίτερη

προσοχή όταν γίνεται προσθήκη τανινών σε λευκούς οίνους ώστε να μην επηρεαστούν αρνητικά τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά (Giacosa et al., 2019). Το ασκορβικό οξύ, η γνωστή βιταμίνη C, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντιοξειδωτικό. Μπορεί και δεσμεύει το μοριακό οξυγόνο πριν τα φαινολικά συστατικά και γι' αυτό αποτελεί πολύ σημαντικό εργαλείο στην οινοποίηση. Είναι εύκολα διαλυτή στο νερό και δεν αποτελεί κίνδυνο για την υγεία ακόμα και σε σχετικά μεγάλες ποσότητες. Χρησιμοποιείται συνήθως συνδυαστικά με το θείο ώστε αυτό να οξειδώσει το υπεροξείδιο του υδρογόνου που παράγεται από την οξείδωση του ασκορβικού οξέως (Boroski et al., 2017; Lisanti et al., 2019).

Η γλουταθειόνη έχει επίσης προταθεί ως μέσο για την μείωση του διοξειδίου του θείου λόγω της αντιοξειδωτικής της ιδιότητας. Ωστόσο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο σε λευκές οινοποιήσεις αφού μπορεί να συνεισφέρει στην αποσταθεροποίηση του ερυθρού χρώματος μέσω της αύξησης της διάσπασης της 3-γλυκοσίδης της μαλβιδίνης όταν υπάρχει οξείδωση. Μελλοντικές έρευνες θα καθορίσουν την καταλληλότητά της για την χρήση στην ερυθρή οινοποίηση (Nart Enric et al., 2017)

## **2.2. Κρασιά χωρίς προσθήκη θειωδών**

Με την πάροδο καταναλωτές εξελίσσονται, ενημερώνονται ολοένα και παραπάνω η τάση της αγοράς δείχνει πως προτιμούν προϊόντα τα οποία θα επιβαρύνουν λιγότερο την υγεία τους έναντι των παλαιότερων κλασικών εναλλακτικών. Αυτό συμβαίνει παρά την παγκόσμια οικονομική ύφεση. Η αγορά κρασιού δεν θα μπορούσε να μείνει ανεπηρέαστη μέσα σε όλη αυτή την πρόοδο.

Ενώ η κλασική εναλλακτική των συμβατικών οίνων, οι βιολογικοί, υπάρχουν στην αγορά από παλαιότερα τα τελευταία χρόνια έχει υπάρξει και μία νέα κατηγορία που δεν είναι άλλη από τα κρασιά χωρίς θειώδη. Σε αυτή υπάγονται τα «φυσικά» κρασιά και τα κρασιά με οινοποίηση χαμηλής παρεμβατικότητας. Τα συγκεκριμένα κρασιά τις περισσότερες φορές υπάγονται και στην κατηγορία των βιολογικών. Εξάλλου οι βιολογικός αμπελώνας έχει δει μεγάλη άνθηση αφού για παράδειγμα στην Ευρώπη η έκταση του αυξήθηκε από 88.000 σε 256.000 ha γης (European Commission, 2013).

Τα κρασιά χωρίς θειώδη μπορούν να παραχθούν με τεχνολογικά μέσα που αποτρέπουν το γλεύκος ή τον οίνο από το να έρθει σε επαφή με το οξυγόνο με την προσθήκη η χωρίς εναλλακτικών του θειώδους. Ακόμα, η οινοποίηση μπορεί να ακολουθήσει μια περισσότερο ρουστίκ τάση και να γίνει κλασική οινοποίηση κατά την οποία αποφεύγονται εντελώς τα πρόσθετα και κάθε υψηλής τεχνολογίας διευκόλυνση. Πολύ συχνά οι οινοποιοί ακολουθούν μια μέση προσέγγιση ως προς αυτές τις τακτικές οινοποίησης η οποία τους εξυπηρετεί βάσει του μεγέθους της παραγωγής αλλά και του διαθέσιμου εξοπλισμού. Αποφεύγοντας τις υπερβολικές προσθήκες όπως του θειώδους αλλά και τις υψηλές τεχνολογικές παρεμβάσεις οι οινοποιοί αποσκοπούν στην ανάδειξη του εδαφοκλιματικού συστήματος (terroir) αλλά και της τυπικότητας της εκάστοτε ποικιλίας που πολλές φορές χάνετε ή καλύπτεται από ένα συνονθύλευμα οργανοληπτικών χαρακτηριστικών προερχόμενων από επιλεγμένες ζύμες και «ξένων» πρόσθετων.

Επιστρέφοντας στην αγορά και τον καταναλωτή, έρευνες έχουν δείξει πως η μερίδα των καταναλωτών που προτιμά αυτού του είδους κρασιά δεν αποτελεί την πλειοψηφία αφού πρόκειται για άτομα «σχετικά» με τον οίνο ή που τουλάχιστον έχουν κάποιες βασικές γνώσεις πάνω σε αυτό. Ωστόσο παρά το πλήθος τους είναι διατεθειμένοι να ξοδέψουν παραπάνω χρήματα σε έναν τέτοιο οίνο, ιδιαίτερα αν περιλαμβάνει σήμανση ΠΟΠ, ΠΓΕ ή αντίστοιχη για την κάθε χώρα, από ότι θα ξόδευαν σε ένα μπουκάλι συμβατικού κρασιού (D'Amico et al., 2016).

## **2.3. Οξειδοαναγωγικό δυναμικό οίνων**

### **2.3.1 Οξυγόνο – Οξείδωση**

Το οξυγόνο είναι αποτελεί σημαντικό παράγοντα κατά την οινοποιητική διαδικασία, πριν μετά και κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης όπως και κατά την περίοδο της παλαίωσης. Ωστόσο, μεγάλες ή μη ελεγχόμενες δόσεις οξυγόνου σε περιόδους κατά τις οποίες δεν είναι απαραίτητο μπορούν να οδηγήσουν σε οξείδωση και έτσι να δημιουργηθούν μη επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όπως δυσάρεστες οσμές ή μείωση της πολυπλοκότητας και της αρτιότητας της γευστικής παλέτας σε ένα γλεύκος ή οίνο. Αντίθετα με παλαιότερες, ξεπερασμένες πλέον

πληροφορίες, το οξυγόνο δεν οξειδώνει το ίδιο άμεσα τον οίνο. Για να καταναλωθεί το οξυγόνο είναι αναγκαίο να υπάρχουν μεταλλικοί καταλύτες μαζί με μόρια υδρογόνου που δρουν ως δότες ηλεκτρονίων. Συγκεκριμένα, υπάρχουν σίδηρος δύο (Fe (II)) και ο-διφαινόλες (A. L. Waterhouse et al., 2016). Έρευνες (Benítez et al., 2002) έχουν δείξει πως ακόμα και σουλφίδια του χαλκού, του σιδήρου και του μαγγανίου δεν προκαλούν ενζυμική καστανίωση (browning) στους οίνους. Όμως, υψηλότερες συγκεντρώσεις σιδήρου θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε υψηλότερα επίπεδα ενζυμικής καστανίωσης (Li et al., 2008). Διατηρώντας τα επίπεδα μαγγανίου κάτω από 0,8 mg/L αυτή μπορεί να αποφευχθεί, γεγονός που υποδεικνύει αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο μετάλλων.

Το οξυγόνο ακόμα, είναι σημαντικό για την υγεία των ζυμών αλλά και γενικότερα για την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης. Αν δεν προστεθεί στα αρχικά στάδια της ζύμωσης σε επαρκή ποσότητα, με ιδανική δόση περίπου 5 mg/L (Julien et al., 2000; Sablayrolles et al., 1996), ανάμεσα και σε άλλους παράγοντες μπορεί να οδηγήσει σε αργή ή ακόμα και κολλημένη ζύμωση. Αυτό συμβαίνει διότι σε περίπτωση που στερηθούν το οξυγόνο οι ζυμομύκητες δεν μπορούν να δημιουργήσουν στερόλες και ακόρεστα λιπαρά οξέα που διαδραματίζουν ρόλο ζωτικής σημασίας για το ανοχής των ζυμομυκήτων στην αιθανόλη (Valero et al., 2001).

Οι αλδεΐδες είναι μεταξύ των κατηγοριών των προϊόντων της οξείδωσης με την ακεταλδεΐδη να είναι αυτή που παράγεται σε μεγαλύτερες ποσότητες. Η παραγωγή αυτή γίνεται με την αντίδραση Fenton κατά την οποία χρησιμοποιείται ο σίδηρος δύο (Fe (II)) ως καταλύτης αντιδρώντας με το υπεροξείδιο του υδρογόνου που σχηματίζεται από την οξείδωση των διφαινολών σε κινόνες. Η αντίδραση της ρίζας υδροξιλίου που σχηματίζεται κατά την αντίδραση Fenton θα αντιδράσει με την αιθανόλη στον οίνο σχηματίζοντας έτσι ακεταλδεΐδη. Φυσικά υπάρχουν και άλλες αλδεΐδες παρούσες στον οίνο οι οποίες παίζουν μεγάλο ρόλο στο οργανοληπτικό προφίλ του τελικού προϊόντος αλλά για πολλές από αυτές η καταγωγή τους δεν είναι ακόμα γνωστή (A. L. Waterhouse et al., 2016).

### 2.3.2 Δυναμικό οξειδοαναγωγής – Αντιδράσεις δυναμικού οξειδοαναγωγής

Οξειδοαναγωγή είναι η διαδικασία η οποία περιλαμβάνει την απόκτηση ή την απώλεια ηλεκτρονίων μέσω χημικών αντιδράσεων μεταξύ δύο μερών. Το μέρος που «χάνει» ηλεκτρόνια οξειδώνεται και το μέρος που «κερδίζει» ηλεκτρόνια ανάγεται. Το δυναμικό οξειδοαναγωγής μετριέται σε Volts (v) και υποδηλώνει την τάση μίας ουσίας να οξειδώνεται ή να ανάγεται. Στον οίνο το να είναι γνωστό το δυναμικό οξειδοαναγωγής για μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή είναι ένα σημαντικό εργαλείο είναι ζωτικής σημασίας και μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο στα χέρια ενός οινοπαραγωγού. Στην πράξη είναι δύσκολο να υπολογιστεί το πραγματικό δυναμικό οξειδοαναγωγής διότι ένα πλατινένιο ηλεκτρόδιο χρησιμοποιείται για τη μέτρηση και αυτό αποκαλύπτει την άμεση αναγωγή του οξυγόνου και έτσι η αξία που μετριέται σχετίζεται μόνο με τη συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου (A. L. Waterhouse et al., 2016). Παρ' όλα αυτά. Το δυναμικό οξειδοαναγωγής στον οίνο παραμένει μία ιδιαίτερα σημαντική ένδειξη καθώς προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες οι οποίες οδηγούν σε στρατηγικές επιλογές όπως οι αερισμοί και πότε να πραγματοποιηθούν.

Η επεξεργασία των σταφυλιών πριν τη ζύμωση μπορεί να διευκολύνει την οξείδωση ειδικά όταν αφορά σταφύλια προσβεβλημένα από βοτρυτή. Κατά την αλκοολική ζύμωση δημιουργείται ένα αναγωγικό περιβάλλον κυρίως λόγω της έλλειψης οξυγόνου και η τιμή του δυναμικού οξειδοαναγωγής βρίσκεται στο κατώτατο σημείο που θα βρεθεί. Μία μείωση στο δυναμικό οξειδοαναγωγής παρατηρείται ακόμη και κατά την διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Φυσικά κατά την αποθήκευση υπάρχει αύξηση και προσεκτικός σχεδιασμός πρέπει να γίνει για να αποφευχθούν τιμές λιγότερο από 150 mV. Αυτός είναι ένας αριθμός που υποδεικνύει πως πρέπει να γίνει ελαφρύς αερισμός. Στην περίπτωση που η τιμή πέσει χαμηλότερα από 50mV ισχυρός αερισμός είναι αναγκαίο να πραγματοποιηθεί. Σαν συμπέρασμα, ένας ιδιαίτερα σημαντικός ρόλος μπορεί να αποδοθεί στο επίπεδο του οξυγόνου στον οίνο και κατά συνέπεια στο δυναμικό οξειδοαναγωγής (Killeen et al., 2018).

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το δυναμικό οξειδοαναγωγής είναι το φως και η θερμοκρασία που είναι γνωστό πως είναι ιδιαίτερα σημαντικοί για την διατήρηση του κρασιού στο χρόνο. Γι' αυτό τα σκούρα μπουκάλια και οι μέτριες θερμοκρασίες προτιμώνται. Τέλος, το pH μπορεί να επηρεάσει δευτερευόντως την αλλαγή του δυναμικού οξειδοαναγωγής και αυτό διότι μεγάλες αλλαγές στο pH δεν ισοδυναμούν με μεγάλες αλλαγές στο οξειδοαναγωγικό δυναμικό (Moreno Juan & Peinado Rafael, 2012b, 2012a).

#### **2.4. Φαινολικές ουσίες οίνων και οξείδωση αυτών**

Τα φαινολικά συστατικά βρίσκονται σε αφθονία στη φύση και συγκεκριμένα σε τρόφιμα όπως τα φρούτα. Συμβάλλουν σε καίρια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά με συχνότερο παράδειγμα να αποτελεί το χρώμα δίχως να περιορίζονται αποκλειστικά σε αυτό. Η αξιολόγηση του χρώματος οδηγεί σε συμπεράσματα για ωρίμανση ενός καρπού, όπως επίσης για το αν έχει προσβληθεί από κάποια ασθένεια αλλά και γενικά για φυσιολογικούς ή βιοχημικούς παράγοντες που το επηρεάζουν (MONAGAS et al., 2005).

Στον άνθρωπο τα αποτελέσματά τους φαίνονται στην προστασία του καρδιαγγειακού συστήματος, ο οποίος είναι και ο λόγος που ο πληθυσμός της Γαλλίας εμφανίζει πολύ χαμηλά σχετικών προβλημάτων παρά την κατανάλωση μεγάλων σχετικά ποσοτήτων λιπαρών στη διατροφή του (Renaud & Lorgeril, 1992).

Στα σταφύλια και στους οίνους επηρεάζουν το χρώμα, την στυπτικότητα και την πικράδα. Ακόμα παίρνουν μέρος σε οξειδωτικές και πρωτεϊνικές αντιδράσεις όπως επίσης και σε αντιδράσεις που αφορούν την παλαίωση των οίνων. Κατά κύριο λόγο βρίσκονται στην φλούδα και τα γίγαρτα των σταφυλιών ενώ σε σημαντικά μικρότερες ποσότητες εντοπίζονται στον χυμό (MONAGAS et al., 2005).

Η σύσταση των φαινολικών αποτελείται από ένα βενζολικό δακτύλιο με τουλάχιστον μία ομάδα υδροξυλίου ενωμένη με αυτόν. Χωρίζονται σε φλαβονοειδή και μη-φλαβονοειδή ανάλογα με τη χημική τους σύσταση. Τα φλαβονοειδή εμφανίζουν μεγάλη ποικιλομορφία όσον αφορά τους οίνους και η βασική τους δομή είναι δύο βενζολικοί δακτύλιοι ενωμένοι με μια αλυσίδα τριών ατόμων άνθρακα που

δημιουργεί μια ετεροκυκλική ένωση που περιλαμβάνει το οξυγόνο. Από τα μη-φλαβονοειδή συχνότερα συναντώνται τα υδροξυκιναμωνικά οξέα (A. L. Waterhouse et al., 2016).

Τα συχνότερα φαινολικά που απαντώνται στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις είναι:

- Οι τανίνες που ορίζουν την στυπτικότητα κυρίως των ερυθρών οίνων αλλά και επηρεάζουν το χρώμα.
- Οι ανθοκυάνες που είναι υπεύθυνες για το χρώμα των ερυθρών σταφυλιών αλλά δεν υπάρχουν στα λευκά σταφύλια.
- Οι φλαβονόλες και οι διυδροφλαβονόλες.
- Τα στυλβένια τα οποία δεν επηρεάζουν τον οίνο αλλά προσφέρουν στην υγεία του ανθρώπου (Sabel et al., 2017).

#### **2.4.1 Μη φλαβονοειδείς φαινόλες**

Το σύνολο των φαινολικών οξέων αποτελείται από τα βενζοϊκά οξέα τα κινναμικά οξέα και τα στυλβένια.

Τα βενζοϊκά οξέα διαφέρουν βάσει της χαρακτηριστικής ομάδας η οποίας είναι προσκολλημένη στον δακτύλιό τους και εμφανίζονται είτε με γλυκοζιλιωμένη μορφή είτε ως εστέρες. Το κυρίαρχο βενζοϊκό οξύ είναι το γαλλικό οξύ το οποίο βρίσκουμε σε μεγαλύτερες ποσότητες σε ερυθρούς οίνους και σε πολύ μικρότερες σε λευκούς.

Τα κινναμικά οξέα εμφανίζονται συνήθως με μορφή εστέρων του τρυγικού οξέως και σπανιότερα ως γλυκοζιλιωμένες μορφές. Οι συγκεντρώσεις τους είναι μεγαλύτερες στη φλούδα των σταφυλιών με αυτή να είναι μεγαλύτερη στα ερυθρά από τα λευκά. Οι τρυγικοί εστέρες οξειδώνονται εύκολα από το ένζυμο τυροσινάση το οποίο προέρχεται από την προσβολή των σταφυλιών από βοτρυτή. Αποτέλεσμα της οξείδωσης είναι το καφέτιασμα της σάρκας και ίσως συμβάλλει στη μείωση των αρωματικών προδρόμων.

Τα στυλβένια περιέχουν δύο βενζολικούς δακτυλίους ενωμένους από ένα μόριο αιθανόλης ή αιθυλενίου. Από αυτή την κατηγορία ενώσεων η trans



ρεσβερατρόλη παράγεται από τα αμπέλια σαν αντίδραση στις προσβολές από μύκητες. Βρίσκεται κυρίως στη φλούδα και εκχυλίζεται κυρίως κατά την ερυθρή οινοποίηση. Είναι η ουσία που βοηθά στην προστασία του καρδιαγγειακού συστήματος και δεν προσφέρει κάποιο οργανοληπτικό χαρακτηριστικό (Rentsch Michael and Wilkens, 2009).

## 2.4.2 Φλαβονοειδείς φαινόλες

Αποτελούνται από 15 άτομα άνθρακα που σχηματίζουν δύο βενζολικούς δακτυλίους που ενώνονται με έναν τρίτο ετεροκυκλικό δακτύλιο. Ανάλογα την σύσταση του ετεροκυκλικού μπορούν να χωριστούν σε φλαβονόλες, διυδροφλαβονόλες, φλαβόνες ανθοκυανιδίνες και φλαβανόλες.

Οι φλαβονόλες έχουν κίτρινο χρώμα οπότε δεν επηρεάζουν σημαντικά τους ερυθρούς οίνους. Υπάρχουν στις φλούδες των λευκών και ερυθρών σταφυλιών με γλυκοζυδιωμένη μορφή.

Οι διυδροξυφλαβονόλες διαφέρουν από τις φλαβονόλες λόγω της έλλειψης διπλού δεσμού στον ετεροκυκλικό δακτύλιο. Έχουν επίσης κίτρινο χρώμα και δεν επηρεάζουν σημαντικά το τελικό χρώμα των ερυθρών οίνων.

Οι φλαβανόλες περιέχουν ένα ετεροκυκλικό πυράνιο και σχηματίζουν ένα μεγάλο σύνολο ισομερών μορφών κατεχινών και των πολυμερών τους. Μπορούν να εστεροποιηθούν μέσω του γαλλικού οξέως.

Τανίνες είναι μια ομάδα ουσιών που μπορούν να παράξουν σταθερά σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες. Προκαλούν την στυπτικότητα και την πικράδα στον οίνο μέσω της ένωσής τους με το σάλιο. Παράγονται κυρίως από τον πολυμερισμό των φλαβανολών και πρέπει να είναι αρκετά μεγάλες ώστε να δημιουργήσουν σταθερά σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες. Η απαιτούμενη μοριακή μάζα για τις τανίνες είναι μεταξύ 600 και 3500 kDa (10-12 μονάδες φλαβανολών) και για αυτό τα μονομερή των φλαβανολών δεν θεωρούνται τανίνες (Friedman Mendel et al., 2019).

Κατά την παλαίωση το ξύλο απελευθερώνει υδρολύσιμες τανίνες ή ελλαγιτανίνες οι οποίες επιτρέπεται ακόμη και να προστεθούν με τη μορφή

οιολογικών τανινών. Η συνολική ποσότητα τανινών διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία αλλά και μεταβάλλεται σε κάθε στάδιο της ωρίμανσης του καρπού. Επιπλέον σε ποικιλίες στις οποίες έγινε ανάλυση παρατηρήθηκε διαφορά στις τανίνες από τη φλούδα και σε αυτές από τα γίγαρτα. Φάνηκε επίσης μεγαλύτερη στυπτικότητα σε αυτές που ήταν προερχόμενες από τα γίγαρτα όπως επίσης μεγαλύτερος ήταν ο αριθμός μονομερών, διμερών και τριμερών σε αυτά.

Με τη λέξη ανθοκυάνες περιγράφουμε τις ομάδες ουσιών των ανθοκυανίνων και των ανθοκυανιδίων οι οποίες περιέχουν έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο πυρονίου και προσφέρουν στο χρώμα του ερυθρού οίνου αφού έχουν μπλε-κόκκινη απόχρωση (Friedman Mendel et al., 2019; Pezhmanmehr, 2019). Οι ανθοκυάνες είναι φτιαγμένες από μια ανθοκυανιδίνη δεσμευμένη με ένα σάκχαρο μέσω ενός γλυκοζιτικού δεσμού. Είναι εύκολα διαλυτές στο νερό πράγμα που καθιστά τη μεταφορά τους στο φυτό και έπειτα στον οίνο εύκολη. Βρίσκονται κυρίως στη φλούδα των κόκκινων σταφυλιών και σε σπάνιες περιπτώσεις στο χυμό όπως συμβαίνει με την ποικιλία Garnacha Tintorera (Pezhmanmehr, 2019).

Η μαλβιδίνη είναι η ανθοκυανιδίνη η οποία βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα σε όλες τις ποικιλίες σταφυλιών και έτσι μπορεί να θεωρηθεί ως η κύρια ουσία χρωματισμού του κρασιού. Οι ποσότητες άλλων ανθοκυανιδίων διαφέρουν από ποικιλία σε ποικιλία λόγω απόχρωσης. Υπάρχουν όλες σε όλες τις ποικιλίες αλλά σε διαφορετικά ποσοστά (Pezhmanmehr, 2019).

### 2.4.3 Ενζυματική δραστηριότητα

Κατά την συλλογή του γλεύκους η επαφή του με τον ατμοσφαιρικό αέρα οδηγεί σε αυθόρμητη παραγωγή καφέ χρωματισμών. Αυτό συμβαίνει λόγω της οξείδωσης των φαινολικών συστατικών σε κινόνες. Το ένζυμο υπεύθυνο για αυτό ονομάζεται πολυφαινολική οξειδάση. Σκούρο χρώμα στο λευκό γλεύκος μπορεί να προκληθεί από τα κινναμικά οξέα και τους τρυγικού εστέρες τους οι οποίοι είναι ευάλωτοι στην οξείδωση. Δύο ένζυμα που έχουν εντοπιστεί με τη δραστηριότητα της πολυφαινολικής οξειδάσης είναι η τυροσινάση και η λακάση (A. Waterhouse & Nikolantonaki, 2015).

Η δραστηριότητα της κινναμικής δεκαρβοξυλάσης δημιουργεί σωρεία προβλημάτων στον οίνο αφού καταλύουν την αντίδραση των φαινολικών οξέων τα οποία δεν επηρεάζουν το άρωμα σε πτητικές φαινόλες που μπορεί να φέρουν ανεπιθύμητα αρωματικά χαρακτηριστικά. Αυτή η ενζυματική δραστηριότητα υπάρχει στις περισσότερες ζύμες και μετατρέπει το φεουλικό και p-κουμαρικό οξύ σε 4-βινυλγουαϊακόλη και 4-βινολφαινόλη. Αυτό συμβαίνει περισσότερο σε λευκούς οίνους παρά σε κόκκινους διότι παρά το ότι οι δεύτεροι περιέχουν περισσότερους προδρόμους αυτών των πτητικών φαινολών η δράση της κινναμικής δεκαρβοξυλάσης διακόπτεται από τις πολυφαινόλες. Βέβαια κάποιοι ερυθροί οίνοι περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις από αιθυλ φαινόλες παραγόμενες από της βινυλφαινόλ αναγωγή. Η καταγωγή αυτών των ουσιών εντοπίζεται στο βακτηριακό μεταβολισμό κατά την μηλογαλακτική ζύμωση, στην παλαίωση λόγω του βρετανομύκητα η ακόμα και από το καμένο ξύλο μέσα στα βαρέλια (Moreno Juan & Peinado Rafael, 2012a).

## 2.5. Η βοτρυτίδα της Αμπέλου

Ο βοτρυτής (*Botrytis cinerea*) είναι ένα αερομεταφερόμενο παθογόνο των φυτών το οποίο προσβάλλει πάνω από 200 διαφορετικές καλλιέργειες παγκοσμίως συμπεριλαμβανομένης της αμπέλου, *Vitis vinifera*. Ανήκει στο βασίλειο των μυκήτων και προκαλεί προβλήματα όπως μαλάκωμα και σάπισμα του ιστού λαχανικών και φρούτων που εμφανίζονται ακόμα και μεγάλο χρονικό διάστημα μετά τη συγκομιδή των καρπών δημιουργώντας γκρι κονιδιοφόρα και κονίδια χαρακτηριστικά της ασθένειας που προκαλεί. Αυτό δυσκολεύει την μεταφορά των προϊόντων σε μεγάλες αποστάσεις. Η αντιμετώπισή του βοτρυτή είναι ιδιαίτερα δύσκολη αφού χρησιμοποιεί πλήθος μεθόδων για την επίθεσή του όπως μυκήλια και κονίδια ή σκληρώτια τα οποία βοηθούν στην επιβίωσή του για μεγάλα χρονικά διαστήματα σε απομεινάρια από σπαρτά. Για αυτούς τους λόγους αδύνατη η αντιμετώπισή του από ένα και μόνο μέτρο ή σκεύασμα και χρειάζεται εις βάθος μελέτη για την αντιμετώπιση αλλά και την κατανόησή του. Δεν είναι τυχαίο που τεράστιες βιομηχανίες φαρμάκων ασχολούνται με προϊόντα κατά της βοτρυτίδας αφού η

έκταση που έχει κάθε χρόνο αλλά και το κόστος σε ζημιές από αυτή είναι τεράστιο (Elad et al., 2007; Williamson et al., 2007).

### **2.5.1 Κύκλος της ασθένειας**

Ο βοτρυτής επιβιώνει τον χειμώνα δρώντας σαπροφυτικά σε διάφορα είδη φυτών. Στον αμπελώνα ο βοτρυτής διατηρείται τον χειμώνα με διάφορους τρόπους οι οποίοι συνήθως είναι σκληρώτια, στα υπολείμματα του φυτού μετά το κλάδεμα αλλά και σε άλλους νεκρωτικούς ιστούς σταφυλιών και στο έδαφος. Την άνοιξη απελευθερώνονται νέα κωνίδια τα οποία είναι αρκετά για να προσβάλλουν τους νέους βλαστούς και άλλα αναπτυσσόμενα μέρη του φυτού. Κατά την περίοδο ανάπτυξης του βοτρυτή παράγονται υδρολυτικά ένζυμα και μεταβολίτες οι οποίοι βοηθούν στην εισχώρηση στον ιστό και την παραγωγή αποικιών του παθογόνου μύκητα (Elad et al., 2007). Φυσικές αλλά και χημικές άμυνες του ξενιστή καταστέλλουν τη δράση του βοτρυτή της μόλυνσεως νωρίς μέσα στη χρονιά και το παθογόνο εισέρχεται σε μια λανθάνουσα κατάσταση έως τον περκασμό. Από εκεί κι έπειτα συνεχίζει την δράση του αφού οι άμυνες του ξενιστή μειώνονται φυσικά. Η λανθάνουσα προσβολή των ποδίσκων και σε μικρότερο βαθμό των σταφυλιών επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα των σταφυλιών κατά τη συγκομιδή τους. Προσβολή μπορεί να γίνει ακόμα και όταν έχουν σχηματιστεί τα σταφύλια αλλά συνήθως γίνεται σε σκισμένα ή χτυπημένα σταφύλια μέσω αερομεταφερούμενων παθογόνων ή μέσω μυκηλίου το οποίο έχει σχηματιστεί και έρχεται σε επαφή με τους καρπούς. Μεγάλες περιόδους υγρασίας επίσης βοηθούν στην ανάπτυξη του βοτρυτή και ενθαρρύνουν την ανάπτυξη παθογόνου ανάπτυξης στα φύλλα, γεγονός που οδηγεί σε απώλειες κατά τη συγκομιδή (Elmer & Reglinski, 2006).

### **2.5.2 Συμπτώματα**

Στο αμπέλι η βοτρυτίδα εμφανίζεται με πλήθος συμπτωμάτων αφού επηρεάζει τα περισσότερα μέρη του φυτού. Αυτά εξαρτώνται ιδιαίτερα από τις κλιματολογικές συνθήκες, το στάδιο της ασθένειας αλλά και την εποχή. Τα φύλλα

αρχικά εμφανίζουν ακανόνιστες κηλίδες στο έλασμα οι οποίες αργότερα σκουραίνουν και νεκρώνονται. Αν υπάρχει πολλή υγρασία δημιουργείται γκρι μυκήλιο.

Στην λιγότερο συχνή προσβολή των νεαρών κληματίδων εμφανίζονται καστανές αποχρώσεις οι οποίες στη συνέχεια καλύπτονται από καρποφορίες του παθογόνου. Αποτελεί απόλυτα καταστροφικό αν δεν αντιμετωπιστεί έγκαιρα διότι αναγκαστικά δημιουργούνται δευτερογενείς κληματίδες πράγμα που επηρεάζει την φυσιολογική ανάπτυξη και ωρίμανση του καρπού (Elad et al., 2007).

Η συχνότερη κ σημαντικότερη ζημιά είναι η προσβολή των σταφυλιών. Αν τυχόν υπάρχει υψηλή υγρασία παρατηρείται μερική ή και ολική ξήρανση των ταξιανθιών. Η προσβολή των ανθών από το παθογόνο παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση μέχρι το γυάλισμα όπου και γίνεται η προσβολή. Αυτή πραγματοποιείται από πληγές ή σχίσμο της επιδερμίδας. Ανάλογα το χρώμα της ποικιλίας δημιουργούνται καστανές για τη λευκές η καστανοϊώδεις, για τις ερυθρές ποικιλίες, πληγές. Ακολουθεί μαλάκωμα της επιδερμίδας έως το σχίσμό της. Σε συνθήκες υψηλής υγρασίας το παθογόνο αναπτύσσεται στην επιφάνεια των ραγών ενώ σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας υπάρχει αφυδάτωση και ξήρανση (FARMALEARN, 2021).

Το γλεύκος επηρεάζεται άμεσα από τα ένζυμα που παράγονται όπως είναι η λακάση (φαινολική οξειδάση). Για αυτό το λόγο είναι πιο επιρρεπές στην οξειδωση. Μειώνεται η διαύγεια όπως επίσης αλλάζει η γεύση, η αίσθηση στο στόμα, το άρωμα αλλά και γίνεται πιο επιρρεπής σε μικροβιακές προσβολές (JACOMETTI et al., 2010).

### **2.5.3 Τρόποι πρόληψης/αντιμετώπισης**

Πάγια τακτική ενάντια στο βοτρυτή αποτελούν καλλιεργητικές τεχνικές ώστε να αποφευχθεί η προσβολή σε μεγάλη έκταση εξ αρχής. Αυτές οι τεχνικές μπορεί να ξεκινούν από βασικούς παράγοντες όπως έλεγχος εδάφους για συστατικά που βοηθούν τον μύκητα πχ υπερβολική συγκέντρωση αζώτου ή κάλυψη του εδάφους με

αχυρόστρωμα ώστε να αποφευχθεί η αιώρηση του μύκητα που μπορεί να βρίσκεται σε αυτό. Ακόμα στο αμπέλι μπορεί να γίνει έλεγχος της άρδευσης ώστε να μην συγκεντρώνεται υπερβολική υγρασία, να ακολουθείται στυλ πέργκολας για την μορφή του αμπελιού ώστε να υπάρχει απόσταση από το έδαφος, ξεφύλλισμα για καλύτερο αερισμό αλλά και κλαδέματα που επιτρέπουν την καλή κυκλοφορία του αέρα. Ακόμα υπάρχουν ποικιλίες ανθεκτικότερες στον βοτρυτή όπως επίσης και υποκείμενα που μπορούν να συνδυαστούν για μεγαλύτερη προστασία (Elad et al., 2007; JACOMETTI et al., 2010; Williamson et al., 2007).

Τα τελευταία χρόνια έχουν δημιουργηθεί ποικιλίες οι οποίες δειλά αρχίζουν να χρησιμοποιούνται σε μεγάλης έκτασης παραγωγή οι οποίες είναι σχεδιασμένες με σκοπό την αντοχή τους σε διάφορες ασθένειες, μέσα σε αυτές και ο βοτρυτής. Οι ποικιλίες αυτές είναι γνωστές ως PIWI και ίσως αποτελούν το επόμενο βήμα στην προστασία από μυκητιακές ασθένειες εφόσον και το κοινό εξοικειωθεί μαζί τους. Είναι ποικιλίες «υβρίδια» δηλαδή συνδυασμός δύο άλλων ειδών αμπέλου ώστε να συνδυαστούν επιθυμητά χαρακτηριστικά όπως ανθεκτικότητα και ευχάριστα αρώματα. Επίσης πρέπει να τονιστεί πως γονιδιακά πρέπει να αποτελούνται από τουλάχιστον 85% *Vitis Vinifera*. Χρησιμοποιούνται ήδη σε διάφορες περιοχές της Γερμανίας και ερευνώνται εδώ και χρόνια στο πανεπιστήμιο του Geisenheim.

Τα συνθετικά μυκητοκτόνα αποτελούν φυτοφάρμακα που καταστέλλουν τη δράση του μύκητα και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν βάσει του τρόπου λειτουργίας τους. Δηλαδή μπορεί να δρουν σε επαφή με τον μύκητα με απορρόφηση από το φυτό από το έδαφος που οδηγεί σε αντίσταση στην ασθένεια. Τα περισσότερα δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν στην καλλιέργεια της αμπέλου είτε γιατί το προϊόν το οποίο προκύπτει είναι ακατάλληλο για βρώση είτε διότι προκαλούν σοβαρές συνέπειες στο περιβάλλον (JACOMETTI et al., 2010). Ωστόσο, στο εμπόριο υπάρχουν διάφορες μάρκες συνθετικών μυκητοκτόνων τα οποία χρησιμοποιούν διαφορετικές δραστικές ουσίες και πετυχαίνουν πολύ καλό αποτέλεσμα ενώ ταυτόχρονα είναι εγκεκριμένα για χρήση στην αμπελοκαλλιέργεια. Στην βιολογική καλλιέργεια στην οποία επιτρέπονται για χρήση σαφώς λιγότερα σκευάσματα συνήθεις τακτικές αποτελούν το ψέκασμα με θειικό χαλκό ή το μείγμα Μπορντό το οποίο αποτελείται από χαλκό και ενυδατωμένο ασβεστόλιθο σε μορφή

πούδρας. Ο χαλκός μπορεί να ψεκαστεί σε μορφή πούδρας ή διαλύματος σε διάφορες μορφές. Με την πάροδο των χρόνων ωστόσο οι αμπελουργοί ολοένα και λιγότερο κάνουν χρήση του αφού συσσωρεύεται στο έδαφος μολύνοντας αυτό αλλά και τον υδροφόρο ορίζοντα. Ακόμα ο χαλκός τείνει να επηρεάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων (JACOMETTI et al., 2010).

Οι παραγωγοί οδηγούνται στην εύρεση διάφορων εναλλακτικών των βιολογικών και μη σκευασμάτων οι οποίες μπορεί να περιλαμβάνουν μύκητες και βακτήρια που καταστέλλουν τη δράση του βοτρυτή ή ακόμα και διαλύματα ελαίων τα οποία ψεκάζονται και βοηθούν στην αντιμετώπιση του συγκεκριμένου μύκητα.

### **3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

#### **3.1. Εισαγωγή**

Με την πάροδο των χρόνων και καθώς ο κλάδος της οινοποίησης εξελίσσεται, εξελίσσονται μαζί και οι καταναλωτές οι οποίοι πλέον δεν αρκούνται στα άρτια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ή την προέλευση του εκάστοτε οίνου αλλά επιζητούν να μάθουν παραπάνω για την διαδικασία παραγωγής του και τι προστίθεται σε αυτόν. Το θειώδες όπως αναφέρθηκε ήδη αποτελεί ίσως το σημαντικότερο πρόσθετο στο γλεύκος αλλά και στον οίνο και είναι ευρέως διαδεδομένο για την αντιμικροβιακή αλλά και αντιοξειδωτική του δράση.

Πέρα από τα πολλά αδιαμφισβήτητα οφέλη υπάρχουν και πολλά μειονεκτήματα που έρχονται με τη χρήση του θειώδους. Αυτά μπορούν να έχουν άμεσο αντίκτυπο στην ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος και συμπεριλαμβάνουν την απώλεια έντασης χρώματος, το διαπεραστικό-καυστικό άρωμα του θειώδους που αποτελεί και ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του (Boroski et al., 2017) αλλά ακόμα μπορεί να υπάρξει δυσκολία στην εκκίνηση της ζύμωσης λόγω του σχεδόν τοξικού για της ζύμες περιβάλλοντος που δημιουργείται στο γλεύκος στα ανώτερα νόμιμα επίπεδα θείωσης. Επιπλέον, από την πλευρά του καταναλωτή μπορούν να παρατηρηθούν πληθώρα αντιδράσεων όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Γι' αυτούς του λόγους αλλά και λόγω της προώθησης των «φυσικών» και χαμηλής παρεμβατικότητας κρασιών, καταναλωτές και οινοπαραγωγοί στρέφονται σε κρασιά που έχουν παραχθεί με μεθόδους οινοποίησης που χρησιμοποιούν ελάχιστα ή δεν περιέχουν καθόλου θειώδη. Οι πρώτοι γιατί θεωρούν το θείο ως μέσω που «σπλώνει» την φυσικότητα και την καθαρότητα των κρασιών, μα και για να αποφύγουν δυσάρεστους πονοκεφάλους και αρνητικά αποτελέσματα στην υγεία τους (Vally et al., 2009) και οι δεύτεροι για να κερδίσουν το μέρος των καταναλωτών αλλά και για να πετύχουν την άνοδο στην ποιότητα των οίνων τους .

Μέχρι στιγμής δεν υπάρχει ουσία που να αντικαθιστά πλήρως το θειώδες διότι είναι η μόνη ασφαλής για κατανάλωση που παρέχει αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση. Οι προσπάθειες για την μείωση ή και εξάλειψη του στην διαδικασία της οινοποίησης είναι περισσότερο συνδυαστικές μέθοδοι καλής υγιεινής αλλά και άλλων συνήθως φιλικότερων σκευασμάτων.

Οινολογικές τανίνες απομονωμένες από βελανίδια ή μέρη του σταφυλιού (κυρίως γίγαρτα και φλούδες) αλλά και το γνωστό ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) (Bradshaw et al., 2011) χρησιμοποιούνται στην οινοποίηση για τον αντιοξειδωτικό τους ρόλο (Giacosa et al., 2019). Όσον αφορά το μικροβιακό φόρτο αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με μηχανικά μέσα όπως αποστειρωτικά φίλτρα ή ελαφριά παστερίωση υπό κενό. Επιπροσθέτως, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ένζυμα όπως η λυσοζύμη για να ελεγχθούν τα γαλακτικά βακτήρια, το σορβικό οξύ έχει αντιμυκητιακές ιδιότητες και μπορεί να προστεθεί ως σορβικό κάλιο και τέλος η κυτοσίνη είναι ένα νεότερο συστατικό που έχει δείξει αντιμικροβιακή δράση (Nart Enric et al., 2017). Δυστυχώς κανένα από τα μη μηχανικά μέσα δεν έχει την ευρεία αντιμικροβιακή δράση του θείου οπότε η προστασία είτε θα είναι ελλιπής, είτε θα έρχεται μαζί με σημαντικά οργανοληπτικά μειονεκτήματα και καταπόνηση του γλεύκους/οίνου από τα μηχανικά μέσα.

Σημαντικότερα αποτελέσματα ως τώρα φέρουν έρευνες κατα τις οποίες χρησιμοποιούνται συνδυαστικές μέθοδοι που περιλαμβάνουν τα παραπάνω αλλά και τη χρήση ζυμοκλήτων και αερίων (Ferrer-Gallego et al., 2017).

Άλλες έρευνες εκμεταλεύονται αποκλειστικά πολυφαινόλες ώστε να δώσουν επιλογές αντικατάστασης του θειώδους που προέρχονται από φυτικά συστατικά (García-Ruiz et al., 2012).



Όσον αφορά την αντιμικροβιακή προστασία έχουν γίνει άλματα και σε αυτό το πεδίο (Lisanti et al., 2019) δίχως ωστόσο να υπάρχει κι εκεί τελική απάντηση ως προς την απόλυτη προστασία.

Παρακάτω θα αναφερθεί η πειραματική διαδικασία, τα αποτελέσματα και ο σχολιασμός αυτών σε σχέση με την οινοποίηση μούστου από σταφύλια προσβεβλημένα σε μεγάλο ποσοστό από βοτρυτή με τη χρήση του φυσικού προϊόντος φυτικής προέλευσης ESTAAN.

### **3.2. Υλικά και μέθοδοι**

Για το πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκαν σταφύλια της ποικιλίας Riesling από τα αμπέλια του πανεπιστημίου τα οποία ήταν προσβεβλημένα σε ποσοστό περίπου 70% από βοτρυτή. Η συγκομιδή και η αρχική επεξεργασία έγινε στις 26/10. Το συνολικό του βάρους ήταν 404kg και χρησιμοποιήθηκε το πνευματικό πιεστήριο της σχολής για να αποκομίσουμε περίπου 280kg γλεύκος. Έπειτα το γλεύκος χωρίστηκε σε 3 πλαστικά βαρέλια τα οποία περιείχαν 90kg το καθένα και προστέθηκαν τα σκευάσματα που θα χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε ένα. Το ένα αφέθηκε ως έχει και χρησιμοποιήθηκε ως control για να υπάρχει σύγκριση, στο δεύτερο προστέθηκαν 3 ml/l προϊόντος ESTAAN 200-F-9 δηλαδή 270ml συνολικά και στο τρίτο προστέθηκαν 45mg/l SO<sub>2</sub> το οποίο μεταφράζεται ως 27ml υγρού θειώδους περιεκτικότητας 15% w/v. Έγινε ανάδευση και λήψη δειγμάτων για φυγοκέντριση και μέτρηση ιζήματος, λήψη χρωματικού φάσματος, πυκνότητας και για περαιτέρω αναλύσεις πριν τοποθετηθούν στο ψυγείο στους 10°C.

Οι γενικές μετρήσεις που περιλαμβάνουν ολικό δείκτη σακχάρων υπολειπόμενα σάκχαρα, pH, ολική οξύτητα, τρυγικό οξύ, πτητική οξύτητα, μηλικό, αιθανόλη, γλυκονικό οξύ και γλυκερίνη έγιναν στα εξειδικευμένα εργαστήρια του τμήματος οιολογίας του πανεπιστημίου από επαγγελματίες και πραγματοποιήθηκαν πριν αρχίσει και αφού τελείωσε η ζύμωση.

Στις 29/10 τα βαρέλια βγήκαν από το ψυγείο ώστε να έρθουν σε μια πιο φιλική για τον εμβολιασμό θερμοκρασία.

Στις 30/10 τα γλεύκη απολασπώθηκαν και μεταφέρθηκαν σε όμοια βαρέλια και μετρήθηκε ο όγκος των λασπών για το καθένα. Μετά πήρε μέρος ο εμβολιασμός

και η προσθήκη θρεπτικών. Χρησιμοποιήθηκαν ζυμομύκητες της εταιρείας Erbslöh και τύπου Oenoferm – Xtreme σε ποσότητα 25 g/hl και σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή. Όσον αφορά τα θρεπτικά χρησιμοποιήθηκαν 30 g/hl LALVIN GO-FERM κατά την προετοιμασία του εμβολίου για την προστασία και εξοικείωση των ζυμών.

Για να πετύχουμε καλύτερη και αυστηρότερη απολάσπωση τα γλεύκη μοιράστηκαν σε τρία δεξαμενάκια των 50L το καθένα στις 3/11 και μετρήθηκαν εκ νέου οι όγκοι των λασπών που έμειναν σε κάθε πλαστικό βαρέλι. Τα δεξαμενάκια τοποθετήθηκαν στο κελάρι της σχολής και τοποθετήθηκαν ταμπελάκια με όνομα και αριθμό ώστε να ξεχωρίζουν. Καθημερινά μετρούταν πυκνότητα και θερμοκρασία με τη χρήση πυκνόμετρου σε όλα τα δεξαμενάκια και δυναμικό οξειδοαναγωγής στο πρώτο από κάθε σκεύασμα με τη χρήση ειδικού ηλεκτροδίου και λογισμικού. Κάθε δύο μέρες εκτός των άλλων μετρούταν αριθμός κυττάρων για έλεγχο της κινητικής των ζυμών με μικροσκόπιο σε πλάκα Neubauer χωρίς αραιώση του γλεύκους.

Στις 30/10 υπήρξε αλλαγή τοποθεσίας των δοχείων σε θερμότερο μέρος αφού παρατηρήθηκε σημαντική επιβράδυνση της ζύμωσης.

Στις 7/12 έγινε απολάσπωση των οίνων και μεταφορά τους σε πλαστικά βαρέλια όμοια με αυτά που χρησιμοποιήθηκαν στα πρώτα στάδια του πειράματος. Μετρήθηκε ο όγκος λασπών που παρέμεινε στα δεξαμενάκια καθώς και πραγματοποιήθηκε φυγοκέντριση σε δείγματα και μετρήθηκε το ίζημα. Ακόμα, μετρήθηκε το χρωματικό φάσμα ξανά και έγιναν εκ νέου προσθήκες ανάλογα το δείγμα. Ο όγκος του οίνου σε κάθε πλαστικό βαρέλι υπολογίστηκε περίπου σε 73L και προστέθηκαν 219ml ESTAAN 200-RW-90 και 71ml 5% w/v SO<sub>2</sub>.

Στις 10/12 έγινε απολάσπωση και μεταφορά εκ νέου σε δεξαμενάκια γεμάτα για να μην υπάρχει περισσευούμενο οξυγόνο μέσα και μετρήθηκε ξανά η λάσπη που έμεινε πίσω.

Στις 11/12 έγιναν οι τελικές προσθήκες που αποτελούνταν από 43 ml SO<sub>2</sub> % w/v και 270ml ESTAAN 200-RW-90. Έπειτα, έγινε φιλτράρισμα και εμφιάλωση.



Εικόνα 1 βοτρυτωμένα σταφύλια ποικιλίας Riesling



Εικόνα 2 βοτρυτωμένα σταφύλια ποικιλίας Riesling



Εικόνα 3 πνευματικό πιεστήριο



Εικόνα 4 πνευματικό πιεστήριο



Εικόνα 5 θρεπτικά συστατικά ζυμών μάρκας Lalvin Go-Ferm



Εικόνα 6 ζυμομύκητες μάρκας Erbsloh oenoferm x-treme



*Εικόνα 7 δεξαμενάκια αποθήκευσης-ζύμωσης*



Εικόνα 8 δεξαμενάκια αποθήκευσης-ζύμωσης

### 3.3. Αποτελέσματα

Μετρήσεις πυκνότητας (σε  $g/cm^3$ )

Πίνακας 2 Πυκνότητες ανά κατηγορία ( $g/cm^3$ )

Date	Control A	Temperature	Control B	Temperature	Control C	Temperature
20/10/2020	1,093	14,1	1,093	14,1	1093	14,1
2-Νοε	1,079	19,3	1,079	19,2	1,079	19
3-Νοε	1,069	19,8	1,07	19,4	1,07	19,1
4-Νοε	1,063	18,8	1,064	19	1,064	18,7
5-Νοε	1,057	18,2	1,058	18,3	1,058	18,2
6-Νοε	1,05	18,2	1,052	17,9	1,052	17,6
7-Νοε	1,046	18,4	1,047	18,2	1,048	18
8-Νοε	1,041	19	1,043	18,6	1,043	18,3
9-Νοε	1,038	18	1,039	18,2	1,04	18,1
10-Νοε	1,038	18,8	1,034	17,6	1,039	17,5
11-Νοε	1,029	17,4	1,031	17,5	1,031	17,3
12-Νοε	1,024	17,7	1,027	17,2	1,027	17,2
13-Νοε	1,021	17	1,023	17	1,025	16,8



14-Νοε	1,018	18,3	1,02	18,3	1,021	17,6
16-Νοε	1,011	17,3	1,013	17,4	1,014	17,2
17-Νοε	1,008	17,2	1,011	17,1	1,011	17
18-Νοε	1,005	17,1	1,008	17,1	1,008	17,1
19-Νοε	1,003	16,8	1,005	17	1,006	16,7
20-Νοε	1,001	16,9	1,004	16,6	1,004	16,6
23-Νοε	0,998	16,2	0,999	16,2	1	16,2
24-Νοε	0,997	16	0,998	16	0,999	15,9
25-Νοε	0,997	16,1	0,998	16,1	0,998	15,9
26-Νοε	0,997	15,3	0,997	15,4	0,997	15
30-Νοε	0,998	22,2	0,998	22,3	0,998	22,5
1-Δεκ	0,997	21,1	0,997	21,4	0,997	21,2
2-Δεκ	0,997	21,5	0,997	21,4	0,997	21,2
4-Δεκ	0,997	21,3	0,997	21,5	0,997	21,4
7-Δεκ	0,996	22,2	0,996	22,5	0,996	22,5

Πίνακας 3 Πυκνότητες ανά κατηγορία (g/cm<sup>3</sup>)

Date	ESTAAN A	Temperature	ESTAAN B	Temperature	ESTAAN C
20/10/2020	1092	14,1	1092	14,1	1092
2-Νοε	1,079	19	1,079	19	1,079
3-Νοε	1,07	19,6	1,07	19,4	1,07
4-Νοε	1,062	18,7	1,063	18,6	1,064
5-Νοε	1,056	18,3	1,056	18,3	1,057
6-Νοε	1,049	18,3	1,05	17,7	1,051
7-Νοε	1,044	18,4	1,045	17,8	1,045
8-Νοε	1,038	18,2	1,04	17,9	1,04
9-Νοε	1,034	18,1	1,036	17,9	1,036
10-Νοε	1,028	18	1,03	17,2	1,031
11-Νοε	1,025	17,4	1,027	17,5	1,027
12-Νοε	1,021	17,5	1,022	17,5	1,022
13-Νοε	1,017	16,6	1,019	16,7	1,02
14-Νοε	1,014	17,6	1,016	17,3	1,017
16-Νοε	1,008	17,2	1,009	17,1	1,011
17-Νοε	1,006	17,1	1,007	17,1	1,008
18-Νοε	1,003	17	1,005	17	1,006
19-Νοε	1,003	16,7	1,003	16,8	1,004
20-Νοε	1	16,4	1,001	16,3	1,002
23-Νοε	0,998	16,9	0,998	16,4	0,999
24-Νοε	0,995	15,7	0,997	15,8	0,998
25-Νοε	0,996	15,6	0,997	15,7	0,997
26-Νοε	0,996	15	0,996	14,9	0,997

30-Νοε	0,997	22,5	0,997	22,7	0,997
1-Δεκ	0,996	21,9	0,996	21,9	0,997
2-Δεκ	0,996	22	0,996	21,9	0,996
4-Δεκ	0,996	21,9	0,996	21,9	0,996
7-Δεκ	0,997	22,6	0,997	22,3	0,997

Πίνακας 4 Πυκνότητες ανά κατηγορία (g/cm<sup>3</sup>)

Date	SO2 A	Temperature	SO2 B	Temperature	SO2 C	Temperature
20/10/2020	1093	13,8	1093	13,8	1093	13,8
2-Νοε	1,079	19	1,08	19,2	1,079	19
3-Νοε	1,069	19,5	1,07	19,3	1,072	19,2
4-Νοε	1,062	18,7	1,064	18,7	1,063	18,7
5-Νοε	1,055	18,4	1,055	18,4	1,058	18,2
6-Νοε	1,049	17,8	1,049	18,1	1,05	18,9
7-Νοε	1,043	19	1,044	18,3	1,045	17,9
8-Νοε	1,037	18,1	1,039	18,4	1,041	18,2
9-Νοε	1,034	17,9	1,035	18	1,037	17,8
10-Νοε	1,028	17,7	1,029	17,6	1,031	17,3
11-Νοε	1,024	17,9	1,025	17,6	1,025	17,5
12-Νοε	1,019	17,1	1,021	17,2	1,024	17
13-Νοε	1,016	16,6	1,017	16,7	1,02	16,5
14-Νοε	1,013	16,9	1,015	16,8	1,017	16,8
16-Νοε	1,007	17	1,008	17	1,012	16,9
17-Νοε	1,005	17	1,006	17	1,009	17
18-Νοε	1,003	17	1,004	17,1	1,007	17
19-Νοε	1,001	16,6	1,002	16,6	1,005	16,5
20-Νοε	1	16,2	1,001	16,2	1,004	16,1
23-Νοε	0,997	16,1	0,998	16,1	1	16
24-Νοε	0,997	15,8	0,998	15,8	0,999	15,7
25-Νοε	0,997	15,7	0,997	15,6	0,999	15,5
26-Νοε	0,996	14,5	0,996	14,6	0,998	14,6
30-Νοε	0,997	22,7	0,997	22,7	0,998	22,7
1-Δεκ	0,997	22,3	0,997	22,2	0,997	21,8
2-Δεκ	0,997	22	0,997	21,9	0,997	21,5
4-Δεκ	0,997	21,9	0,997	22	0,997	22
7-Δεκ	0,997	22,1	0,997	22,4	0,997	22,7

Πίνακας 5 Πυκνότητες ανά κατηγορία μετά τη διόρθωση στους 20°C (g/cm<sup>3</sup>)

Date	Control A	Control B	Control C
20/10/2020	1,092	1,092	1,09182
2-Νοε	1,079	1,079	1,0788
3-Νοε	1,069	1,070	1,06982
4-Νοε	1,063	1,064	1,06374
5-Νοε	1,057	1,058	1,05764
6-Νοε	1,050	1,052	1,05152
7-Νοε	1,046	1,047	1,0476
8-Νοε	1,041	1,043	1,04266
9-Νοε	1,038	1,039	1,03962
10-Νοε	1,038	1,034	1,0385
11-Νοε	1,029	1,031	1,03046
12-Νοε	1,024	1,026	1,02644
13-Νοε	1,021	1,022	1,02436
14-Νοε	1,018	1,020	1,02052
16-Νοε	1,011	1,012	1,01344
17-Νοε	1,008	1,010	1,0104
18-Νοε	1,005	1,007	1,00742
19-Νοε	1,003	1,004	1,00534
20-Νοε	1,001	1,003	1,00332
23-Νοε	0,998	0,998	0,99924
24-Νοε	0,997	0,997	0,99818
25-Νοε	0,997	0,997	0,99718
26-Νοε	0,997	0,996	0,996
30-Νοε	0,998	0,998	0,9985
1-Δεκ	0,997	0,997	0,99724
2-Δεκ	0,997	0,997	0,99724
4-Δεκ	0,997	0,997	0,99728
7-Δεκ	0,996	0,997	0,9965

Πίνακας 6 Πυκνότητες ανά κατηγορία μετά τη διόρθωση στους 20°C (g/cm<sup>3</sup>)

Date	ESTAAN A	ESTAAN B	ESTAAN C
20/10/2020	1,091	1,091	1,091
2-Νοε	1,079	1,079	1,079
3-Νοε	1,070	1,070	1,070
4-Νοε	1,062	1,063	1,064
5-Νοε	1,056	1,056	1,057
6-Νοε	1,049	1,050	1,051
7-Νοε	1,044	1,045	1,045
8-Νοε	1,038	1,040	1,040
9-Νοε	1,034	1,036	1,036
10-Νοε	1,028	1,029	1,030
11-Νοε	1,024	1,027	1,026
12-Νοε	1,021	1,022	1,022
13-Νοε	1,016	1,018	1,019
14-Νοε	1,014	1,015	1,016
16-Νοε	1,007	1,008	1,010
17-Νοε	1,005	1,006	1,007
18-Νοε	1,002	1,004	1,005
19-Νοε	1,002	1,002	1,003
20-Νοε	0,999	1,000	1,001
23-Νοε	0,997	0,997	0,998
24-Νοε	0,994	0,996	0,997
25-Νοε	0,995	0,996	0,996
26-Νοε	0,995	0,995	0,996
30-Νοε	0,998	0,998	0,998
1-Δεκ	0,996	0,996	0,997
2-Δεκ	0,996	0,996	0,996
4-Δεκ	0,996	0,996	0,996
7-Δεκ	0,998	0,997	0,998

Πίνακας 7 Πυκνότητες ανά κατηγορία μετά τη διόρθωση στους 20°C (g/cm<sup>3</sup>)

Date	SO2 A	SO2 B	SO2 C
20/10/2020	1,092	1,092	1,092
2-Νοε	1,079	1,080	1,079
3-Νοε	1,069	1,070	1,070
4-Νοε	1,062	1,064	1,063
5-Νοε	1,055	1,055	1,058
6-Νοε	1,049	1,049	1,050
7-Νοε	1,043	1,044	1,045
8-Νοε	1,037	1,039	1,041
9-Νοε	1,034	1,035	1,037
10-Νοε	1,028	1,029	1,030
11-Νοε	1,024	1,025	1,025
12-Νοε	1,018	1,020	1,023
13-Νοε	1,015	1,016	1,019
14-Νοε	1,012	1,014	1,016
16-Νοε	1,006	1,007	1,011
17-Νοε	1,004	1,005	1,008
18-Νοε	1,002	1,003	1,006
19-Νοε	1,000	1,001	1,004
20-Νοε	0,999	1,000	1,003
23-Νοε	0,996	0,997	0,999
24-Νοε	0,996	0,997	0,998
25-Νοε	0,996	0,996	0,998
26-Νοε	0,995	0,995	0,997
30-Νοε	0,998	0,998	0,999
1-Δεκ	0,997	0,997	0,997
2-Δεκ	0,997	0,997	0,997
4-Δεκ	0,997	0,997	0,997
7-Δεκ	0,997	0,997	0,998

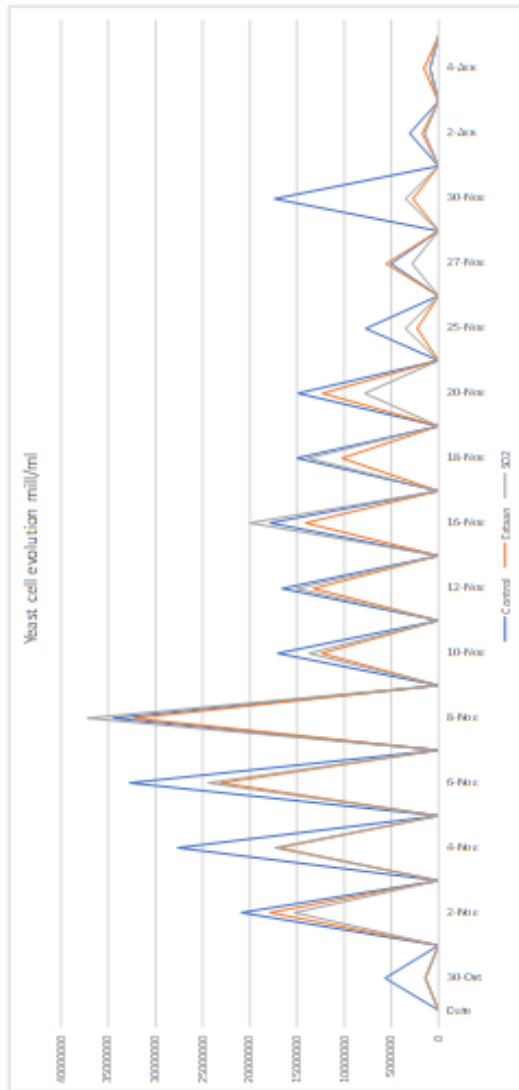
Πίνακας 8 Μέσος όρος πυκνοτήτων των 3 δοχείων μετά τη διόρθωση στους 20° C (g/cm<sup>3</sup>)

Date	Control	ESTAAN	SO <sub>2</sub>
20/10/2020	1,092	1,091	1,092
2-Νοε	1,079	1,079	1,079
3-Νοε	1,070	1,070	1,070
4-Νοε	1,063	1,063	1,063
5-Νοε	1,057	1,056	1,056
6-Νοε	1,051	1,050	1,049
7-Νοε	1,047	1,044	1,044
8-Νοε	1,042	1,039	1,039
9-Νοε	1,039	1,035	1,035
10-Νοε	1,037	1,029	1,029
11-Νοε	1,030	1,026	1,024
12-Νοε	1,026	1,021	1,021
13-Νοε	1,022	1,018	1,017
14-Νοε	1,019	1,015	1,014
16-Νοε	1,012	1,009	1,008
17-Νοε	1,010	1,006	1,006
18-Νοε	1,007	1,004	1,004
19-Νοε	1,004	1,003	1,002
20-Νοε	1,002	1,000	1,001
23-Νοε	0,998	0,998	0,998
24-Νοε	0,997	0,996	0,997
25-Νοε	0,997	0,996	0,997
26-Νοε	0,996	0,995	0,996
30-Νοε	0,998	0,998	0,998
1-Δεκ	0,997	0,997	0,997
2-Δεκ	0,997	0,996	0,997
4-Δεκ	0,997	0,996	0,997
7-Δεκ	0,996	0,997	0,997

Συγκρίνοντας τις πυκνότητες, και ιδιαίτερα τον μέσο όρο των διορθωμένων πυκνοτήτων, παρατηρούμε πως την πρώτη εβδομάδα της ζύμωσης οι διαφορές είναι μη αξιοσημείωτες αφού περιορίζονται σε μικρότερες σε μικρότερες της τάξης του τρίτου δεκαδικού ψηφίου. Πλησιάζοντας το τέλος της πρώτης εβδομάδας ζύμωσης παρατηρούμε πως ήδη υπάρχει αισθητή διαφορά μεταξύ των δειγμάτων στα οποία υπάρχει κάποιο πρόσθετο σε σχέση με το τυφλό. Το ίδιο μοτίβο συνεχίζεται έως την 13<sup>η</sup> ημέρα. Για τις επόμενες 5 ημέρες υπάρχει ένα μικρό προβάδισμα στο γλεύκος που προστέθηκε SO<sub>2</sub> έναντι του γλεύκους με το ESTAAN αλλά είναι υποτυπώδες. Μετά την 20<sup>η</sup> Νοεμβρίου όπου έγινε και η αλλαγή περιβάλλοντος σε πιο ζεστό οι πυκνότητες έχουν έρθει σε ισορροπία μεταξύ των τριών δειγμάτων.

Πίνακας 9 Πληθυσμός κυττάρων ικανών να δώσουν αποικίες (cfu)

	<b>Control</b>	<b>Estaan</b>	<b>SO2</b>
Date	CFU/ml (Mill cell)	CFU/ml (Mill cell)	CFU/ml (Mill cell)
30-Οκτ	5696000	1344000	1504000
	<b>5,7 mill</b>	<b>1,34 mill</b>	<b>1,5 mill</b>
2-Νοε	20928000	17840000	15264000
	<b>20,9 mill</b>	<b>17,84 mill</b>	<b>15,26 mill</b>
4-Νοε	27632000	16832000	17312000
	<b>27,6 mill</b>	<b>16,8 mill</b>	<b>17,31 mill</b>
6-Νοε	32768000	23072000	24400000
	<b>32,76 mill</b>	<b>23,07 mill</b>	<b>24,4 mill</b>
8-Νοε	34480000	32240000	37230000
	<b>34,48 mill</b>	<b>32,24 mill</b>	<b>37,23 mill</b>
10-Νοε	17080000	12400000	13700000
	<b>17,08 mill</b>	<b>12,4 mill</b>	<b>13,7 mill</b>
12-Νοε	16620000	13260000	15040000
	<b>16,62 mill</b>	<b>13,26 mill</b>	<b>15,04 mill</b>
16-Νοε	17880000	14120000	20000000
	<b>17,88 mill</b>	<b>14,12 mill</b>	<b>20 mill</b>
18-Νοε	14960000	10280000	13820000
	<b>14,96 mill</b>	<b>10,28 mill</b>	<b>13,82 mill</b>
20-Νοε	14920000	12300000	7860000
	<b>14,92 mill</b>	<b>12,3 mill</b>	<b>7,86 mill</b>
25-Νοε	7720000	2280000	3540000
	<b>7,72 mill</b>	<b>2,28 mill</b>	<b>3,54 mill</b>
27-Νοε	5040000	5560000	2760000
	<b>5,04 mill</b>	<b>5,56 mill</b>	<b>2,76 mill</b>
30-Νοε	17400000	2680000	3540000
	<b>17,4 mill</b>	<b>2,68 mill</b>	<b>3,54 mill</b>
2-Δεκ	3100000	1760000	1500000
	<b>3,1 mill</b>	<b>1,76 mill</b>	<b>1,5 mill</b>
4-Δεκ	960000	1560000	900000
	<b>0,96 mill</b>	<b>1,56 mill</b>	<b>0,9 mill</b>



Γράφημα 1 Εξέλιξη πληθυσμού κυττάρων



Παρατηρείται, πως ενώ το δείγμα control δίχως πρόσθετο έχει σχεδόν σε όλη τη διάρκεια της ζύμωσης περισσότερες αποικίες ενεργών κυττάρων η ταχύτητα της ζύμωσης παρατηρήθηκε ως χαμηλότερη. Συγκεκριμένα, έντονη διαφορά παρατηρείται από πριν τον εμβολιασμό, όπου έλειπε ο ανασταλτικός για τις «άγριες»/γηγενείς ζύμες παράγοντας. Αυτή η διαφορά συνεχίζει να υπάρχει και τις πρώτες τουλάχιστον 5 μέρες της ζύμωσης έως ότου η συγκέντρωση της παραγόμενης αιθανόλης είναι αρκετή ώστε να κυριαρχήσουν οι περισσότερο ανθεκτικοί εμβολιασμένοι στο γλεύκος σακχαρομύκητες. Βέβαια, από εκεί και έως το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης παρατηρείται πως εξακολουθεί να υπάρχει η διαφορά υπέρ του δείγματος control έναντι των άλλων δύο αν και σε μικρότερα επίπεδα.

Όσον αφορά τη σύγκριση των δειγμάτων με το ESTAAN και το SO<sub>2</sub> οι διαφορές του πληθυσμού είναι σαφώς μικρότερες, με το δεύτερο να έχει προβάδισμα έναντι του πρώτου. Ωστόσο, αφού παρατηρήθηκαν μη αξιολογες διαφορές στην ταχύτητα των δύο ζυμώσεων θα μπορούσε να ληφθεί το συμπέρασμα πως κανένα από τα δύο προϊόντα δεν είναι αποτελεσματικότερο από το άλλο.

Πίνακας 10 Γενικές αναλύσεις γλεύκους/οίνου

	Ημερομηνία	Πυκνότητα	Σάκχαρα	Υπολειπόμενα σακχαρα	pH
		20/20	g/L	g/L	
Cont Bot 1	27/10/2020	1,0938	244,6	216,2	3,1
Cont Bot 2	27/10/2020	1,0939	244,9	217,1	3,1
Est Bot 1	27/10/2020	1,0936	244,1	215,1	3,1
Est Bot 2	27/10/2020	1,0936	244,1	215	3,1
BOT SO2 1	27/10/2020	1,0936	244,1	216,4	3
BOT SO2 2	27/10/2020	1,0938	244,6	216,4	3,1

Πίνακας 11 Γενικές αναλύσεις γλεύκους/οίνου

Ολική οξύτητα	Τρυγικό οξύ	πητική οξύτητα	Μηλικό οξύ	Αιθανόλη	Γλυκονικό οξύ	Γλυκερίνη
g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L
10,8	8,1	0,4	2,5	< 0,1	0	2,9
10,7	8,1	0,3	2,6	< 0,1	0	3
10,7	8,1	0,4	2,6	< 0,1	0	3
10,7	8,1	0,4	2,6	< 0,1	0	3,1
10,7	8	0,4	2,6	< 0,1	0	2,9
10,7	8	0,4	2,6	< 0,1	0	3

Πίνακας 12 Γενικές αναλύσεις γλεύκους/οίνου

	Ημερομηνία	Πυκνότητα	Αιθανόλη	Στερεό υπόλειμμα	Υπολειπόμενα σάκχαρα	Γλυκόζη	Φρουκτόζη
		20/20	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L
Cont bot	4-Δεκ	0,9969	101,9	32,5	1,9	0	1,9
Est bot	4-Δεκ	0,9965	102,6	31,1	2,2	0	2,2
So2 bot	4-Δεκ	0,9968	102,3	31,2	2,9	0,2	2,7

Πίνακας 13 Γενικές αναλύσεις γλεύκους/οίνου

Ολική οξύτητα	pH	Τρυγικό οξύ	Μηλικό οξύ	Γαλακτικό οξύ	Πτητική οξύτητα	Γλυκερίνη	Ελεύθερο SO <sub>2</sub>	Ολικό SO <sub>2</sub>
g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	mg/L	mg/L
10,6	2,8	4,7	3,6	0,4	1,1	11,3	0	21
10,3	2,8	4,8	3,6	0,4	1	9,9	0	18
10,3	2,8	4,8	3,6	0,4	1	10	2	19

(πίνακας 13) Οι γενικές αναλύσεις έγιναν με την μέθοδο FTIR.

### Προζυμωτικά

Στις προζυμωτικές γενικές αναλύσεις είναι ξεκάθαρο πως οι τιμές σε κάθε μέτρηση είναι όμοιες ή έχουν μη αξιοσημείωτες διαφορές.

Φανερή είναι ωστόσο η ύπαρξη της αναμενόμενης πτητικής οξύτητας που οφείλεται στην προσβολή από βοτρυτή.

### Μεταζυμωτικά

Τα δείγματα SO<sub>2</sub> και ESTAAN έχουν ελαφρώς παραπάνω αλκοόλη που δικαιολογείται από την επικράτηση των επιθυμητών στελεχών γρηγορότερα και αποτελεσματικότερα έναντι του «ελεύθερου» Control.

Θετικές είναι και οι εντυπώσεις που αφορούν το στερεό υπόλειμμα αφού τα δείγματα που δέχτηκαν προσθήκες έχουν ίδιο ποσό στερεού υπολείμματος και μάλιστα μικρότερου από αυτό του Control.

Η κατανάλωση φρουκτόζης ήταν καλύτερη στο δείγμα Control με πολύ κοντινό αποτέλεσμα με το δείγμα που περιείχε το προϊόν ESTAAN. Αισθητά περισσότερη φρουκτόζη παρέμεινε στο δείγμα του SO<sub>2</sub>.

Τα σχετικά υψηλά νούμερα της πτητικής οξύτητας είναι αναμενόμενα αφού το γλεύκος περιείχε εξ αρχής πληθώρα παραγόντων που ήταν βοηθητικοί στην αύξηση αυτής, λόγω της τεφράς σήψης.

Πίνακας 14 Συνολικά οξειδώσιμα φαινολικά συστατικά

Όνομα	Ημερομηνία	Συνολικά φαινολικά
<b>Wine</b>		<b>mg/L</b>
Ries B Con	17/12/2020	<b>210</b>
Ries B SO <sub>2</sub>	17/12/2020	<b>287</b>
Ries B Est Before filtration	17/12/2020	<b>394</b>
Ries B Est Between filtration	17/12/2020	<b>332</b>
Ries B Est after filtration	17/12/2020	<b>325</b>

Η μέτρηση έγινε με ειδικό μηχάνημα και εξειδικευμένο προσωπικό από την εταιρεία που παρασκευάζει το ESTAAN.

Τα φαινολικά συστατικά είναι βασικά στον οίνο διότι εκτός από οργανοληπτικά χαρακτηριστικά μπορούν να αποτελέσουν και ασπίδα προστασίας ενάντια στην οξείδωση. Έτσι με την μέτρηση τους γίνεται αντιληπτή η επίδραση της οξείδωσης σε έναν οίνο.

Βάσει του παραπάνω είναι αναμενόμενα τα αποτελέσματα που παίρνουμε αφού η μικρότερη ποσότητα φαινολικών συστατικών βρίσκεται στον οίνο Control που δεν περιείχε κάποιο συστατικό προστασίας από την οξείδωση και ήταν πιο επιρρεπής σε αυτή.

Τα περισσότερα φαινολικά απαντώνται στο δείγμα ESTAAN και είναι λογικό αφού πρόκειται για προϊόν με βάση τα φαινολικά συστατικά.

Πίνακας 15 Χρωματικά φάσματα απορρόφησης ακτινοβολίας - Προζυμωτικά

Bot must control		Bot must ESTAAN		Bot must so2	
1603769298	Absorbance	1603769701	Absorbanc	1603769479	Absorbanc
26.10.2020 20:28:18	Extinktion	26.10.2020 20:35:01	Extinktion	26.10.2020 20:31:19	Extinktion
#Data (visible)		#Data (visible)		#Data (visible)	
380	1,789	380	1,739	380	1,696
390	1,537	390	1,42	390	1,438
400	1,409	400	1,269	400	1,297
410	1,318	410	1,161	410	1,199
420	1,234	420	1,065	420	1,108
430	1,164	430	0,984	430	1,034
440	1,098	440	0,917	440	0,975
450	1,039	450	0,857	450	0,92
460	0,978	460	0,801	460	0,869
470	0,919	470	0,749	470	0,818
480	0,86	480	0,699	480	0,769
490	0,803	490	0,654	490	0,72
500	0,747	500	0,608	500	0,669
510	0,694	510	0,565	510	0,622
520	0,645	520	0,527	520	0,578
530	0,6	530	0,492	530	0,539
540	0,558	540	0,459	540	0,502
550	0,524	550	0,435	550	0,475
560	0,49	560	0,409	560	0,447
570	0,46	570	0,388	570	0,422
580	0,434	580	0,368	580	0,4
590	0,412	590	0,352	590	0,382
600	0,39	600	0,335	600	0,366
610	0,37	610	0,32	610	0,35
620	0,352	620	0,308	620	0,336
630	0,337	630	0,296	630	0,324
640	0,321	640	0,285	640	0,311
650	0,307	650	0,273	650	0,298
660	0,293	660	0,264	660	0,288
670	0,281	670	0,256	670	0,278
680	0,27	680	0,246	680	0,269
690	0,257	690	0,237	690	0,261
700	0,25	700	0,231	700	0,25
710	0,24	710	0,223	710	0,244
720	0,231	720	0,216	720	0,235
730	0,223	730	0,208	730	0,229
740	0,216	740	0,202	740	0,221
750	0,21	750	0,197	750	0,215
760	0,202	760	0,192	760	0,209
770	0,198	770	0,188	770	0,205

(πίνακας 15)

Τα μήκη κύματος για το ορατό φως είναι:

- Ιώδες: 380-450 nm
- Μπλε: 450-495 nm
- Πράσινο: 495-570 nm
- Κίτρινο: 570-590 nm
- Πορτοκαλί: 590-620 nm

- Κόκκινο: 620-750nm

## Μέτρηση λασπών με φυγοκέντρωση

Πίνακας 16 Μέτρηση λασπών με φυγοκέντρωση δείγματος - Προζυμωτικά

	Μεικτό Βάρος	Υπόλειμμα	Ποσοστό
26-Οκτ	g	g	%
Control	252,1	2,5	0,99
ESTAAN	251,4	3,2	1,27
SO2	251,9	2,7	1,07
	Μεικτό Βάρος	Υπόλειμμα	Ποσοστό
29-Οκτ	g	g	%
Control	194,1	19,3	9,94
ESTAAN	195,5	18,1	9,26
SO2	197,2	16	8,11
	Μεικτό Βάρος	Υπόλειμμα	Ποσοστό
3-Νοε	g	g	%
Control	256,3	1,2	0,47
ESTAAN	256,8	1	0,39
SO2	257	1,1	0,43

Εμφανώς λιγότερα υπολείμματα έχει το δείγμα που προστέθηκε θειώδες με όχι πολύ πίσω του να βρίσκεται το δείγμα με το ESTAAN. Το δείγμα Control, έχει το μεγαλύτερο βάρος σε υπολείμματα ως αναμενόμενο.

Πίνακας 17 Μέτρηση λασπών με φυγοκέντριση δείγματος - Πριν την μεταζυμωτική απολάσπωση (Μετά το πέρας της ζυμώσης)

Control	Μεικτό Βάρος	Υπόλειμμα	Ποσοστό
7-Δεκ	g	g	%
Δεξ. 1	260,8	1,2	0,46
Δεξ. 2	260,7	1,3	0,50
Δεκ. 3	260,7	0,6	0,23
ESTAAN	Μεικτό Βάρος	Υπόλειμμα	Ποσοστό
7-Δεκ	g	g	%
Δεξ. 1	260,8	1,2	0,46
Δεξ. 2	260,7	1	0,38
Δεκ. 3	260,7	1	0,38
SO2	Μεικτό Βάρος	Υπόλειμμα	Ποσοστό
7-Δεκ	g	g	%
Δεξ. 1	260,8	1,1	0,42
Δεξ. 2	260,7	0,6	0,23
Δεκ. 3	260,7	1	0,38

Ανάλογα είναι κι εδώ τα αποτελέσματα με σημαντική διαφορά την πολύ μικρότερη διαφορά στα υπολείμματα των δυο κατεργασιών. Το δείγμα Control εξακολουθεί να έχει σημαντικά περισσότερα υπολείμματα.

Πίνακας 18 Μέτρηση λασπών με φυγοκέντριση δείγματος - Μετά την απολάσπωση πριν τις προσθήκες

Mixed	Μεικτό Βάρος	Υπόλειμμα	Ποσοστό
7/12/2020	g	g	%
Control	260,7	2	0,77
ESTAAN	260,7	1,5	0,58
SO2	260,7	1,6	0,61

Τα δείγματα SO<sub>2</sub> και ESTAAN παρουσιάζουν σχεδόν ίδιο βάρος υπολειμμάτων. Το δείγμα Control εξακολουθεί να έχει σημαντικά παραπάνω υπολείμματα.

Πίνακας 19 Μέτρηση λασπών με φυγοκέντριση δείγματος - Μετά την απολάσπωση, μετά τις προσθήκες

Mixed	Μεικτό Βάρος	Υπόλειμμα	Ποσοστό
7/12/2020	g	g	%
Control	260,7	0,8	0,31
ESTAAN	260,7	0,9	0,35
SO2	260,7	1,3	0,50

Σε αυτό το στάδιο λιγότερα υπολείμματα έχουν τα δείγματα Control και ESTAAN με παρόμοια ποσοστά και το δείγμα SO<sub>2</sub> εμφανίζει ελαφρώς μεγαλύτερα.

## Μέτρηση λασπών από τα δοχεία με βάσει όγκου

Πίνακας 20 Μέτρηση λασπών από τα δοχεία με βάσει όγκου - Προζυμωτική απολάσπωση

	Λάσπες
29/10/2020	L
Control	4,7
ESTAAN	9,3
SO <sub>2</sub>	7,5

Τα αποτελέσματα εδώ αντικρούουν τα αποτελέσματα της μεθόδου της φυγοκέντρισης και το ESTAAN είναι το δείγμα με τον μεγαλύτερο όγκο λάσπης. Βέβαια η μέθοδος λήψης του δείγματος δεν μπορεί να θεωρηθεί ιδιαίτερα ακριβής οπότε βάσει του δεύτερου πίνακα μπορεί να γίνει η υπόθεση πως την πρώτη φορά είχε γίνει πολύ αυστηρότερη απολάσπωση στο δείγμα ESTAAN από τα άλλα δυο.

## Επανάληψη προζυμωτικής απολάσπωσης

Πίνακας 21 Μέτρηση λασπών από τα δοχεία με βάσει όγκου - Επανάληψη προζυμωτικής απολάσπωσης

	Λάσπες
3/11/2020	L
Control	0,7
ESTAAN	0,25
SO <sub>2</sub>	1,2

Πίνακας 22 Μέτρηση λασπών από τα δοχεία με βάσει όγκου - Μεταζυμωτική απολάσπωση

Control	Λάσπες	ESTAAN	Λάσπες	SO <sub>2</sub>	Λάσπες
7/12/2020	L	7/12/2020	L	7/12/2020	L
1	0,3	1	0,3	1	0,9
2	0,45	2	0,5	2	0,3
3	0,5	3	0,5	3	0,3

Τα τρία δείγματα συνολικά δεν έχουν μεγάλη διαφορά στην παραγωγή λάσπης με το δείγμα SO<sub>2</sub> να έχει το προβάδισμα και τα άλλα δύο δείγματα να είναι πίσω του δίχως πολύ μεγάλη διαφορά.

Πίνακας 23 Μέτρηση λασπών από τα δοχεία με βάσει όγκου - Μεταζυμωτική τοποθέτηση σε δεξαμενάκια

	Λάσπες
10/12/2020	L
Control	0,1
ESTAAN	0,1
SO <sub>2</sub>	0,4



Μετά τις προσθήκες τα δείγματα εδώ συμφωνούν με τα αποτελέσματα της φυγοκέντρωσης με το δείγμα SO<sub>2</sub> να παράγει σαφώς μεγαλύτερη ποσότητα από τα άλλα δύο.

Πίνακας 24 Δυναμικό οξειδοαναγωγής γλεύκους

Control				ESTAAN			SO2			
Date	Time	ORP	T	Time	ORP	T	Time	ORP	T	R ORP
Y-M-D	h:m:s	mV	°C	h:m:s	mV	°C	h:m:s	mV	°C	kOhm
2020-10-27	12:37:41	405,55	17,11	13:00:29	179,06	18,39	13:23:08	335,14	19,22	13,74
2020-10-27	12:42:40	413,15	17,78	13:05:29	188,99	18,87	13:28:07	359,16	19,55	13,57
4/11/2020	13:46:10	162,96	18,07	13:57:56	120,92	18,42	14:10:16	104,91	18,64	15,65
4/11/2020	13:51:10	180,97	18,33	14:02:56	112,37	18,44	14:15:15	132,94	18,6	15,69
5/11/2020	10:54:29	132,94	17,94	11:16:07	112,92	17,66	11:38:22	114,9	17,77	16,53
5/11/2020	10:59:28	138,94	17,87	11:21:06	130,93	17,61	11:43:21	128,93	17,73	16,63
6/11/2020	13:08:15	269,07	18,82	13:48:00	160,96	19,09	14:35:39	124,82	19,51	15,76
6/11/2020	13:09:00	269,07	18,85	13:53:00	170,97	19,23	14:40:39	120,92	19,57	15,7
8/11/2020	15:39:24	215,02	17,72	15:58:47	165,03	17,53	16:23:32	132,94	17,92	15,81
8/11/2020	15:44:24	190,89	17,75	16:03:46	171,79	17,62	16:28:32	130,93	17,98	15,82
9/11/2020	11:41:05	194,73	18,39	12:20:02	100,9	18,36	12:01:57	116,92	18,28	15,8
9/11/2020	11:46:05	221,02	18,49	12:25:02	92,9	18,39	12:06:57	114,92	18,39	15,9
10/11/2020	10:25:28	126,93	16,96	10:43:14	121,02	16,18	10:58:28	126,93	16,22	18,93
10/11/2020	10:30:27	118,98	16,86	10:48:14	110,91	16,14	11:03:27	106,93	16,19	18,69
11/11/2020	12:35:44	207,63	17,68	12:58:01	138,94	17,97	13:26:40	172,97	18,18	16
11/11/2020	12:40:44	203	17,72	13:03:01	130,93	18,01	13:28:34	168,97	18,2	15,86
12/11/2020	10:17:43	116,92	17,98	10:41:32	172,97	18,12	11:08:51	176,98	18,49	15,28
12/11/2020	10:22:42	116,92	18,12	10:46:32	180,98	18,24	11:11:13	172,97	18,53	15,28
13/11/2020	11:35:48	156,96	17,56	11:49:26	146,96	17,33	12:18:08	181,01	17,74	16,84
13/11/2020	11:39:12	158,96	17,63	11:53:41	144,95	17,47	12:23:08	179,06	17,77	16,9
14/11/2020	13:00:08	92,9	17,36	13:20:21	156,96	17,46	14:07:53	156,96	18,08	15,28
14/11/2020	13:05:07	92,9	17,43	13:25:20	165,14	17,64	14:12:52	166,97	18,14	15,37
16/11/2020	10:41:47	146,95	19,11	11:08:00	179,06	19,38	11:39:34	166,97	19,87	14,99
16/11/2020	10:46:46	142,95	19,23	11:13:00	179,17	19,51	11:44:34	160,96	19,96	15,07
17/11/2020	9:49:22	134,94	18,28	10:12:31	192,99	18,72	10:31:04	176,98	19,16	15,36
17/11/2020	9:54:21	144,95	18,43	10:17:31	190,99	18,84	10:36:04	184,58	19,25	15,23
18/11/2020	14:43:24	217,02	18,41	15:10:24	174,98	18,31	15:31:58	192,99	18,64	17,37
18/11/2020	14:48:24	215,02	18,59	15:15:23	188,99	18,28	15:36:58	195	18,77	17,44
19/11/2020	11:12:46	215,02	17,66	11:31:21	211,01	17,66	11:55:27	197	18,02	17,38
19/11/2020	11:17:45	215,02	17,77	11:36:20	211,74	17,94	12:00:27	199,54	18,18	17,5
20/11/2020	8:31:24	197	17,78	8:55:29	168,97	17,46	9:10:48	201	18,13	19,53
20/11/2020	8:36:24	205,01	17,87	9:00:28	166,97	17,58	9:15:48	203	18,05	19,78
23/11/2020	11:40:14	195	16,83	12:05:44	301,1	17,02	12:32:42	245,05	17,42	19,01
23/11/2020	11:45:14	203	16,95	12:10:44	315,11	17,15	12:35:03	247,05	17,46	19,18
24/11/2020	10:40:32	309,11	16,24	11:21:55	290,93	15,74	11:51:33	351,15	15,76	19,66
24/11/2020	10:45:32	307,11	16,24	11:26:55	294,89	15,7	11:56:32	355,15	15,69	19,75
25/11/2020	10:22:28	323,12	16,44	11:05:10	407,41	17,08	10:45:21	357,15	16,71	16,29
25/11/2020	10:27:28	325,14	16,55	11:10:09	409,21	17,18	10:50:20	351,15	16,78	16,4
26/11/2020	11:28:55	367,16	15,58	11:49:22	339,14	14,85	12:04:05	408,99	14,44	20,02
26/11/2020	11:33:55	367,72	15,55	11:54:21	335,13	14,71	12:09:05	409,21	14,37	20,23
27/11/2020	9:29:54	327,13	14,24	9:50:21	273,07	15,05	10:09:55	407,2	15,22	18,87
27/11/2020	9:34:54	331,13	14,42	9:55:21	279,08	15,15	10:14:54	407,2	15,2	19,27
30/11/2020	11:50:31	345,14	20,08	12:18:27	391,19	19,65	12:43:38	391,19	19,72	15,28
30/11/2020	11:55:31	353,15	19,96	12:23:27	393,19	19,56	12:48:38	393,19	19,65	15,3
1/12/2020	10:18:03	375,17	19,55	10:34:36	357,15	19,17	10:47:05	337,13	19,69	14,54
1/12/2020	10:23:02	385,18	19,44	10:39:35	357,15	19,23	10:52:04	341,49	19,65	14,65
2/12/2020	11:13:39	399,19	19,87	11:37:44	367,16	20,08	12:00:58	377,17	19,94	14,46
2/12/2020	11:18:39	403,2	19,79	11:42:44	367,16	19,89	12:05:58	381,18	19,79	14,48
4/12/2020	7:20:01	395,19	17,05	7:36:41	333,13	16,18	7:58:47	379,18	15,55	19,67
4/12/2020	7:25:01	401,2	16,56	7:41:41	335,15	15,84	8:03:47	383,18	15,25	19,74
7/12/2020	10:51:24	409,21	16,65	11:20:10	391,19	16,82	11:07:05	293,09	16,87	17,17
7/12/2020	11:31:44	417,21	18,96	11:49:18	359,16	18,42	12:01:48	279,08	18,2	17,57
7/12/2020	12:06:11	413,21	18,41	12:22:58	365,16	18,17	12:33:15	375,17	17,87	15,83
11/12/2020	12:27:03	387,18	13,25	12:43:16	275,07	13,42	12:58:54	205,01	13,17	18,58
11/12/2020	12:32:02	399,2	13,37	12:48:15	279,08	13,45	13:03:54	203	13,22	19,18
17/12/2020	11:34:07	413,02	17,06	12:34:51	326,29	17,2	12:10:13	188,99	17,02	16,88
17/12/2020	11:39:07	415,21	17,06	12:39:51	331,13	17,11	12:15:13	190,99	17,05	17,05

## Στατιστική ανάλυση

Πίνακας 25 Ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα ( One-way ANOVA) - Μέσος όρος πυκνοτήτων των 3 δοχείων για κάθε σκεύασμα μετά τη διόρθωση στους 20°C.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ				
Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Στήλη 1	28	28,6838	1,02442	0,00082
		3333	2619	7266
Στήλη 2	28	28,6264	1,02237	0,00082
		3333	2619	6799
Στήλη 3	28	28,6262	1,02236	0,00081
		2667	5238	9088

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ						
Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	7,87301	2	3,93651	0,04775	0,95339	3,10931
Μέσα στις ομάδες	0,06677	81	0,00082	0858	8099	0547
Σύνολο	0,06685	83	4384			

Αφού  $F < F_{crit}$  δεν εντοπίζεται σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των τριών δειγμάτων.

Πίνακας 26 Ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα ( One-way ANOVA) - Πληθυσμός κυττάρων

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ				
Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Στήλη 1	15	237,12	15,808	105,507
				1314
Στήλη 2	15	167,49	11,166	81,3218
				8286
Στήλη 3	15	178,36	667	11,89066
				106,983
				6924

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Μεταξύ ομάδων	187,094	2	93,54701	0,95516	0,39294	3,2199422
Μέσα στις ομάδες	4113,37	42	97,93756			
Σύνολο	4300,47	44				

Αφού  $F < F_{crit}$  δεν εντοπίζεται σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των τριών δειγμάτων.

### 3.4. Συζήτηση – Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα του πειράματος μας βοηθούν να αντλήσουμε πληθώρα συμπερασμάτων για την χρήση και την αποτελεσματικότητα του ESTAAN. Είναι φανερό πως σε κάποιο βαθμό δρα παρόμοια με το θειώδες, ωστόσο δεν είναι ξεκάθαρο με μια ματιά αν είναι ικανό να το αντικαταστήσει.

Σε σημαντικούς τομείς όπως η ταχύτητα ζύμωσης αλλά και τον κυτταρικό πληθυσμό τα αποτελέσματα είναι παρόμοια πράγμα ενθαρρυντικό. Αυτό δεν σημαίνει όμως πως το θείο δεν “προηγείται” έναντι του φυτικού προϊόντος σε μετρήσεις όπως η αποδοτικότητα κατά την απολάσπωση, γεγονός που μπορεί να επιφέρει αλλαγή στα κέρδη ανάλογα με την παραγόμενη ποσότητα.

Η λήψη της απόφασης για το εάν το ESTAAN αξίζει να αντικαταστήσει την συμβατική μέθοδο του θειώδους δεν θα ήταν ολοκληρωμένη αν δεν γινόταν και σύγκριση με άλλα παρόμοια εναλλακτικά προϊόντα ώστε να υπάρχει μια γενικότερη ιδέα για το πόσο κοντά βρίσκεται ο κλάδος στο ζητούμενο αποτέλεσμα.

Για παράδειγμα η χρήση του στερεού υπολείμματος από την πίεση των ελιών για την παραγωγή λαδιού. Η χρήση του αποδείχθηκε αντιοξειδωτική όπως και

αντιμικροβιακή λόγω της υδροξυτυροσόλης η οποία υπάρχει σε αυτό (Ruiz-Moreno et al., 2015). Όσον αφορά την αλλαγή στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, είναι μικρή αλλά υπολογίσιμη και αυτό γιατί τα αρώματα του πρόσθετου υπάρχουν στον οίνο φυσιολογικά και με αυτό τον τρόπο απλά ενισχύονται.

Ακόμα έχουν γίνει εκτεταμένες έρευνες για την επίδραση των φαινολικών συστατικών και στους δύο τομείς δράσεις του θειώδους. Όσον αφορά τον κίνδυνο προσβολής από μικροοργανισμούς φάνηκε πως προσφέρουν άμυνα έναντι βακτηρίων αλλά όχι εναντίων ζυμών (Sabel et al., 2017; García-Ruiz et al., 2012). Η προστασία από την οξείδωση είναι ευρέως γνωστή και έχει αναλυθεί πρωτύτερα. Ήδη κυκλοφορούν εξάλλου σκευάσματα που χρησιμοποιούνται συμπληρωματικά ως μέσο προστασίας όπως π.χ οι ελλαγιτανίνες.

Ανακεφαλαιώνοντας το ESTAAN αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο προϊόν το οποίο θα μπορούσε μελλοντικά με τις κατάλληλες προσαρμογές και έπειτα από τον απαραίτητο έλεγχο να παραχθεί μαζικά και να αποτελέσει ισχυρό εργαλείο στα χέρια των οινολόγων. Η φυτική του προέλευση το καθιστά ιδανικό για την βιολογική παραγωγή αλλά και για την δημιουργία “φυσικών” οίνων δίχως τα μειονεκτήματα που έρχονται με τη χρήση του θειώδους.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bağder Elmacı, S., Gulgor, G., Tokatli, M., Erten, H., Isci, A., & Ozçelik, F. (2014). Effectiveness of chitosan against wine-related microorganisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0362-6>
- Benítez, P., Castro, R., Jose Antonio Sanchez Pazo, & Barroso, C. G. (2002). Influence of metallic content of fino sherry wine on its susceptibility to browning. *Food Research International*, 35(8), 785–791. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00075-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00075-3)
- Boroski, M., Crupi, P., Tamborra, P., Antonacci, D., & Toci, A. (2017). Influence of winemaking techniques with low sulphur dioxide on wine varieties chardonnay, pinot and montepulciano. *Journal of Food and Nutrition Research*, 56, 326–334.
- Bradshaw, M., Barril, C., Clark, A., Prenzler, P., & Scollary, G. (2011). Ascorbic Acid: A Review of its Chemistry and Reactivity in Relation to a Wine Environment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 479–498. <https://doi.org/10.1080/10408391003690559>
- D’Amico, M., di Vita, G., & Monaco, L. (2016). Exploring environmental consciousness and consumer preferences for organic wines without sulfites. *Journal of Cleaner Production*, 120, 64–71. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.02.014>
- Danilewicz, J. C., & Standing, M. J. (2018). Reaction Mechanisms of Oxygen and Sulfite in Red Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 69(3), 189–195. <https://doi.org/10.5344/ajev.2018.17095>
- Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., & Delen, N. (2007). *Botrytis: biology, pathology and control*.
- Elmer, P. A. G., & Reglinski, T. (2006). Biosuppression of Botrytis cinerea in grapes. *Plant Pathology*, 55(2), 155–177. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01348.x>

- European Commission. (2013). *Statistics on Agriculture* .
- FARMALEARN. (2021, September). *Βοτρύτης (Τεφρά σήψη) στο Αμπέλι: προκαλεί σοβαρές ζημιές στον αγρό, μετασυλλεκτικά και κατά την αποθήκευση.*
- Ferrer-Gallego, R., Puxeu, M., Nart, E., Martín, L., & Andorrà, I. (2017). Evaluation of Tempranillo and Albariño SO<sub>2</sub>-free wines produced by different chemical alternatives and winemaking procedures. *Food Research International*, 102. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.046>
- Friedman Mendel, Nobuyuki Kozuke, Mizuno Masash, Sakakibara Hiroyuki, Choi Suk-Hyun, Fujitake Mihoyo, & Land Kirkwood M. (2019). The analysis of the content of biologically active phenolic compounds, flavonoids, and glycoalkaloids in harvested red, yellow, and green tomatoes, tomato leaves, and tomato stems. *Current Topics in Phytochemistry*, 15, 44–53.
- García-Ruiz, A., García-Ruiz, A., Cueva, C., González-Rompinelli, E. M., Yuste, M., Torres, M., Martín-Álvarez, P. J., Bartolomé, B., & Moreno-Arribas, M. V. (2012). Antimicrobial phenolic extracts able to inhibit lactic acid bacteria growth and wine malolactic fermentation. *Food Control*, v. 28(2), 212-219–2012 v.28 no.2. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.002>
- Giacosa, S., Río Segade, S., Cagnasso, E., Caudana, A., Rolle, L., & Gerbi, V. (2019). Chapter 21 - SO<sub>2</sub> in Wines: Rational Use and Possible Alternatives. In A. Morata (Ed.), *Red Wine Technology* (pp. 309–321). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814399-5.00021-9>
- Guerrero, R. F., & Cantos-Villar, E. (2015). Demonstrating the efficiency of sulphur dioxide replacements in wine: A parameter review. *Trends in Food Science & Technology*, 42(1), 27–43. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.11.004>
- JACOMETTI, M. A., WRATTEN, S. D., & WALTER, M. (2010). Review: Alternatives to synthetic fungicides for Botrytis cinerea management in vineyards. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(1), 154–172. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2009.0067.x>

- Julien, A., Roustan, J.-L., Dulau, L., & Sablayrolles, J.-M. (2000). Comparison of Nitrogen and Oxygen Demands of Enological Yeasts: Technological Consequences. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(3), 215–222. <https://www.ajevonline.org/content/51/3/215>
- Killeen, D. J., Boulton, R., & Knoesen, A. (2018). Advanced Monitoring and Control of Redox Potential in Wine Fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 69(4), 394–399. <https://doi.org/10.5344/ajev.2018.17063>
- Li, H., Guo, A., & Wang, H. (2008). Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry*, 108(1), 1–13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.065>
- Lisanti, M. T., Blaiotta, G., Nioi, C., & Moio, L. (2019). Alternative Methods to SO<sub>2</sub> for Microbiological Stabilization of Wine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), 455–479. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12422>
- MONAGAS, M., BARTOLOMÉ, B., & GÓMEZ-CORDOVÉS, C. (2005). Updated Knowledge About the Presence of Phenolic Compounds in Wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(2), 85–118. <https://doi.org/10.1080/10408690490911710>
- Moreno Juan, & Peinado Rafael. (2012a). Chapter 4 - Composition of Wine. In J. Moreno & R. Peinado (Eds.), *Enological Chemistry* (pp. 41–52). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-388438-1.00004-2>
- Moreno Juan, & Peinado Rafael. (2012b). Chapter 5 - Polyphenols. In J. Moreno & R. Peinado (Eds.), *Enological Chemistry* (pp. 53–76). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-388438-1.00005-4>
- Nart Enric, Andorra Imma, Puxeu Miquel, Martín Laura, Hidalgo Claudio, & Ferrer-Gallego Raul. (2017). Evaluación de alternativas para la elaboración de vinos de alta calidad libres de sulfuroso. *La Semana Vitivinícola*.
- Ough C S. (1986). Determination of sulfur dioxide in grapes and wines. *Association of Official Analytical Chemists*, 69.



- Pat Henderson. (2009). Sulfur Dioxide: Science Behind this Anti-microbial, Antioxidant Wine Additive. *Practical Winery & Vineyard Journal*.
- Pezhmanmehr, M. (2019). Grape and wine flavonoid composition in transgenic grapevines with altered expression of flavonoid hydroxylase genes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 25.  
<https://doi.org/10.1111/ajgw.12393>
- Rentzsch Michael and Wilkens, A. and W. P. (2009). Non-flavonoid Phenolic Compounds. In M. C. Moreno-Arribas M. Victoria and Polo (Ed.), *Wine Chemistry and Biochemistry* (pp. 509–527). Springer New York.  
[https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5\\_23](https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5_23)
- Sabel, A., Bredefeld, S., Schlander, M., & Claus, H. (2017). Wine Phenolic Compounds: Antimicrobial Properties against Yeasts, Lactic Acid and Acetic Acid Bacteria. *Beverages*, 3(3). <https://doi.org/10.3390/beverages3030029>
- Sablaylorles, J.-M., Dubois, C., Manginot, C., Roustan, J.-L., & Barre, P. (1996). Effectiveness of combined ammoniacal nitrogen and oxygen additions for completion of sluggish and stuck wine fermentations. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82(4), 377–381.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0922-338X\(96\)89154-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0922-338X(96)89154-9)
- Valero, E., Millán, C., & Ortega, JoséM. (2001). Influence of oxygen addition during growth phase on the biosynthesis of lipids in *Saccharomyces cerevisiae* (M330-9) in enological fermentations. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 92(1), 33–38. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(01\)80195-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1389-1723(01)80195-X)
- Vally, H., Misso, N. L. A., & Madan, V. (2009). Clinical effects of sulphite additives. *Clinical & Experimental Allergy*, 39(11), 1643–1651.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03362.x>
- Waterhouse, A. L., Sacks, G. L., & Jeffery, D. W. (2016). *Understanding wine chemistry*. Wiley.

Waterhouse, A., & Nikolantonaki, M. (2015). *Quinone Reactions in Wine Oxidation* (pp. 291–301). <https://doi.org/10.1021/bk-2015-1203.ch018>

Williamson, B., Tudzynski, P., & Kan, J. (2007). Botrytis cinerea: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8, 561–580.  
<https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>