



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΙΤΛΟΣ

**Επίδραση της μικροοξυγόνωσης στα αναλυτικά και οργανοληπτικά
χαρακτηριστικά σε οίνους Merlot**

ΝΙΤΣΑ ΓΕΩΡΓΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΣΕΧΑΝΤΕ ΑΝΤΩΝ

ΑΘΗΝΑ – ΙΟΥΛΙΟΣ 2022



UNIVERSITY OF WEST ATTICA

SCHOOL OF FOOD SCIENCE

DEPARTMENT OF WINE, VINE AND BEVERAGE SCIENCES

BACHELOR THESIS

TITLE

**The effect of micro-oxygenation on the analytical and organoleptic
characteristics of Merlot wines during maturation**

NITSA GEORGIA

Supervisor: SHEHADEH ADNAN

ATHENS – JULY 2022



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

ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο:
« Επίδραση της μικροοξυγόνωσης στα αναλυτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε
οίνους Merlot»

και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (1ου Μέλους Επιτροπής) Σεχάντε Αντνάν	
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (2ου Μέλους Επιτροπής) Κόρκας Ηλίας	
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (3ου Μέλους Επιτροπής) Νικολού Βασίλειος	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογράφουσα Νίτσα Γεωργία, του Γιάννη, με αριθμό μητρώου 161072, φοιτήτρια 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»

Ο/Η Δηλών/ούσα



Περίληψη

Η παρούσα εργασία διαπραγματεύεται την επίδραση της μικροοξυγόνωσης στα αναλυτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε οίνους Merlot κατά την ωρίμανση. Γίνεται η θεωρητική προσέγγιση στον τομέα αυτόν και στις διαδικασίες, καθώς περιλαμβάνει και πειραματικό κομμάτι. Η εργασία αποτελείται από πέντε (5) κεφάλαια. Το πρώτο κεφάλαιο ανακεφαλαιώνει τα σημεία της εργασίας, καθώς αναφέρει και την ερευνητική υπόθεση αυτής. Στο δεύτερο κεφάλαιο γίνεται η θεωρητική προσέγγιση και βιβλιογραφική επισκόπηση του μελετώμενου θέματος. Στη συνέχεια, στο τρίτο κεφάλαιο περιλαμβάνεται η ανάλυση της μικροοξυγόνωσης στους ερυθρούς οίνους, δίνοντας βάση στους οίνους της ποικιλίας Merlot. Επιπλέον, στο τέταρτο κεφάλαιο περιλαμβάνεται το πειραματικό μέρος της εργασίας και συζητούνται τα αποτελέσματα σχετικά με τις χημικές αναλύσεις, τη χρωματική ένταση και την απόχρωση. Επίσης, στο πέμπτο και τελευταίο κεφάλαιο αναγράφονται τα συμπεράσματα που προκύπτουν από το συνδυασμό του θεωρητικού και του πειραματικού μέρους. Τέλος, αναφέρεται η βιβλιογραφία, απ' την οποία αντλήθηκαν οι πηγές.

Λέξεις Κλειδιά: μικροοξυγόνωση, οίνος, Merlot, οξυγόνο, στυπτικότητα, αντιδράσεις, φαινολικά, χρωματική ένταση, απόχρωση.

Abstract

This paper discusses the effect of micro-oxygenation on the analytical and organoleptic characteristics of Merlot wines during maturation. The theoretical approach is made in this field and in the procedures, and moreover it includes an experimental part. The thesis consists of five (5) chapters. The first chapter recapitulates the points of the work, as well as mentions its research hypothesis. In the second chapter, the theoretical approach and bibliographic overview of the studied subject is made. Then, in the third chapter is included the analysis of micro-oxygenation in red wines, emphasizing to the wines of the Merlot variety. In addition, the fourth chapter includes the experimental part of the paper and discusses the results regarding chemical analyses, color intensity and shade. Also, in the fifth chapter, which is and the last one, are listed the conclusions resulting from the combination of the theoretical and the experimental part. Finally, the bibliography, from which the sources were drawn, is mentioned.

Key words: micro-oxygenation, phenolic compounds, Merlot, tannins, astringency, color intensity, color shade

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κο. Αντνάν Σεχάντε για την ανάθεση της εργασίας, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, καθώς και την αδιάλειπτη καθοδήγησή του σε όλη την πορεία της εργασίας.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κο. Σπύρο Λαφαζάνη και την εταιρεία «Νέστωρ Οινοποιητική», με έδρα τους Γαργαλιάνους Τριφυλίας, που με τη θετική και πρόθυμη διάθεσή του, παραχώρησε τον οίνο που χρησιμοποιήθηκε για την υλοποίηση του πειραματικού μέρους της εργασίας μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω εκ βάθους καρδιάς την οικογένειά μου, αλλά και τους φίλους μου, που μου στάθηκαν μέχρι τέλους, σ' αυτό το σημαντικό κομμάτι της φοιτητικής μου πορείας.

Πίνακας Περιεχομένων

Δήλωση συγγραφέα πτυχιακής εργασίας.....	1
Περίληψη.....	2
Abstract.....	3
Ευχαριστίες.....	4
Κεφάλαιο 1^ο	7
Εισαγωγή.....	7
Κεφάλαιο 2^ο - Μικροοξυγόνωση	8
Εισαγωγή Μικροοξυγόνωσης.....	8
2.1 Ιστορική Αναδρομή & Έννοια Μορκοοξυγόνωσης.....	8
2.1.1 Ιστορική Αναδρομή.....	9
2.1.2 Έννοια Μικροοξυγόνωσης.....	9
2.2 Εφαρμογή και Εξοπλισμός Μικροοξυγόνωσης.....	10
2.2.1 Εφαρμογή της Μικροοξυγόνωσης.....	10
2.2.2 Εξοπλισμός Μικροοξυγόνωσης.....	11
2.3 Οφέλη.....	13
2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τη Μικροοξυγόνωση.....	14
2.4.1 Θολερότητα.....	14
2.4.2 Ποσότητα φαινολικών.....	14
2.4.3 Θερμοκρασία.....	15
2.4.4 Ελεύθερο διοξείδιο του θείου (SO ₂).....	15
2.4.5 Διαλυμένο οξυγόνο (DO).....	15
2.4.6 Κατάλληλη στιγμή και Ρυθμός για Μικροοξυγόνωση....	16
2.4.7 Οργανοληπτικός έλεγχος.....	17
2.5 Φάσεις μικρο-οξυγόνωσης.....	18
2.5.1 Φάση δόμησης (structural phase).....	18
2.5.2 Φάση εξισορρόπησης (harmonization phase).....	18

2.5.3 Φάση υπεροξυγόνωσης (over oxygenation phase).....	18
Κεφάλαιο 3^ο – Μικροοξυγόνωση και ερυθροί οίνοι.....	20
3.1 Μικροοξυγόνωση και Χρώμα Κόκκινου Κρασιού.....	20
3.2 Παραγωγή Αλδεΐδης και Μικροοξυγόνωση.....	20
3.3 Επίδραση της αλδεΐδης στο ερυθρό χρώμα του κρασιού.....	21
3.4 Επίδραση pH στις φαινολικές ενώσεις και στο χρώμα.....	23
3.5 Παραγωγή Πυρανοανθοκυανίνης.....	25
3.6 Μικροοξυγόνωση και Τανίνες.....	27
3.7 Διοξειδίο του Θείου (SO ₂) και Μικροοξυγόνωση.....	29
3.8 Μικροβιακές αλλαγές που συμβαίνουν κατά τη Μικροοξυγόνωση.....	31
3.9 Οίνοι Merlot.....	32
3.10 Ωρίμαση σε βαρέλι ή Μικροοξυγόνωση.....	34
3.11 Φιλτράρισμα και Μικροοξυγόνωση.....	36
Κεφάλαιο 4^ο – Πειραματικό Σκέλος.....	38
4.1 Υλικά και Μέθοδοι.....	38
4.1.1 Υλικά.....	38
4.1.2 Όργανα και Σκεύη.....	39
4.1.3 Μέτρηση Χρωματικής Έντασης- Απόχρωσης & Δ.Φ.Ο.....	39
4.2 Μετρήσεις και Αποτελέσματα.....	41
4.2.1 Σχολιασμός Αναλύσεων.....	41
4.2.2 Οργανοληπτική δοκιμή & Σχολιασμός.....	43
Κεφάλαιο 5^ο – Συμπεράσματα.....	48
Βιβλιογραφία.....	50

Κεφάλαιο 1^ο

Εισαγωγή

Η παραγωγή οίνων, απαιτεί σε όλα τα στάδια της, καθώς και στην εξέλιξη τους, την ύπαρξη οξυγόνου, διότι με τη παρουσία του λαμβάνουν χώρα πολλές χημικές αντιδράσεις (π.χ. οξυδοαναγωγικές) όπου συμβάλλουν και τα φαινολικά συστατικά αυτών. Πιο συγκεκριμένα, στους ερυθρούς οίνους, το οξυγόνο συμβάλλει θετικά στον πολυμερισμό των ανθοκυανών με τις τανίνες, έχοντας ως αποτέλεσμα τη δημιουργία έγχρωμων και πιο σταθερών ανθοκυανών.

Η παροχή οξυγόνου μπορεί να εισαχθεί φυσικά από το περιβάλλον, αλλά και ελεγχόμενα με τη βοήθεια μηχανημάτων, και ανάλογα με το στάδιο της οξυγόνωσης παρατηρούνται δύο είδη. Η πρώτη ορίζεται ως μακρο-οξυγόνωση, η οποία πραγματοποιείται κατά την αλκοολική ζύμωση (AF) και στοχεύει στον μεταβολισμό των ζυμών. Αντίθετα η δεύτερη, η οποία ονομάζεται μικρο - οξυγόνωση (MOX), συμβαίνει μετά το πέρας της (AF) και πριν ή μετά την μηλογαλακτική ζύμωση (MLF).

Αναλυτικότερα, ως μικροοξυγόνωση (MOX) θεωρείται η τεχνική στην οποία εισέρχονται μικρές και σταθερές ποσότητες αέριου οξυγόνου στον οίνο, στοχεύοντας στον εμπλουτισμό των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, καθώς επίσης και στην βελτίωση της δομής και της πολυπλοκότητας του οίνου, με πιο γοργούς ρυθμούς απ' ότι αν συνέβαιναν με τον παραδοσιακό τρόπο της ωρίμασης σε δρύινα βαρέλια

Κεφάλαιο 2^ο

Μικροοξυγόνωση

2. Εισαγωγή Μικροοξυγόνωσης

Το οξυγόνο έχει μία από τις πιο σημαντικές θέσεις στις μικροβιολογικές και βιοχημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την διαδικασία της οινοποίησης, έχοντας ως συνέπεια την μεταβολή των οργανοληπτικών και αναλυτικών χαρακτηριστικών του οίνου. Δεδομένου αυτού, γίνεται αντιληπτό ότι το οξυγόνο ανάλογα την ποσότητα και τη διάρκεια εισροής, μπορεί να έχει θετική, αλλά και αρνητική επίδραση στο προϊόν. Η μεγάλη και συνεχή παροχή αυτού, μπορεί να επιφέρει οξείδωση των φαινολικών και πτητικών ενώσεων, έχοντας ως αποτέλεσμα οξειδωμένα αρώματα, στεγνές τανίνες, και αύξηση αλδεϋδης. Επιπλέον, τα φρέσκα και φρουτώδη χαρακτηριστικά εξαφανίζονται, και πιθανή γίνεται η ανάπτυξη ανεπιθύμητων βακτηρίων, παράγοντας έτσι ένα κρασί χαμηλής ποιότητας. Αντίθετα, η επιθυμητή δράση του οξυγόνου, συμβάλλει στις αντιδράσεις συμπύκνωσης και πολυμερισμού μεταξύ των ανθοκυανών και των τανινών, προσδίδοντας μαζί με άλλους παράγοντες, υψηλότερη χρωματική ένταση και σταθερότητα, καθώς και μειωμένη στυπτικότητα.

Αναπόφευκτα, καθ' όλη την οινοποίηση, το κρασί έρχεται σε επαφή με το οξυγόνο. Κατά την ωρίμαση του οίνου στα δρύινα βαρέλια, διαβεβαιώνεται η προσέλευση μικρών και συνεχών ποσοτήτων οξυγόνου, οι οποίες ίσως και να επιδρούν στην ποιοτική βελτιστοποίηση του κρασιού. Στο στάδιο αυτό, το οξυγόνο ενεργοποιεί τις αντιδράσεις πολυμερισμού και συμπύκνωσης των πολυφαινολών, δημιουργώντας σταθερές μορφές ανθοκυανών με μεγαλύτερη αντίσταση στον αποχρωματισμό από το θειώδες και τις αλλαγές του pH, και με πιο έντονο χρώμα. Παρόλα αυτά, το οξυγόνο κατά την ωρίμαση μπορεί να επιφέρει και τη δημιουργία πολυμερών μεγάλου μοριακού βάρους, τα οποία έχουν ως αποτέλεσμα, οίνο με χαμηλή χρωματική ένταση.

Γι' αυτόν το λόγο λοιπόν, η εισροή του οξυγόνου θα πρέπει να ελέγχεται και γίνει κατανοητό, πότε μία συγκεκριμένη ποσότητα οξυγόνου μπορεί να βλάψει, ή να βελτιώσει αντίστοιχα το κρασί. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, κρίθηκε απαραίτητη η ανάπτυξη μιας τεχνικής στην οποία η παροχή του οξυγόνου θα είναι ελεγχόμενη.

2.1 Ιστορική Αναδρομή & Έννοια Μικροοξυγόνωσης

2.1.1 Ιστορική Αναδρομή

Η τεχνική την οποία μελετά και η συγκεκριμένη εργασία λέγεται μικροοξυγόνωση και ανακαλύφθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1990 στην περιοχή του Madiran, στη Νότιο Δυτική Γαλλία. Αφορμή, ήταν η παραγωγή ενός ερυθρού οίνου από τις ποικιλίες Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon και Tannat, όπου η μίξη αυτών έδινε ως αποτέλεσμα, έναν οίνο με πολύ υψηλή στυπτικότητα και τανικότητα, το οποίο χρειαζόταν να παραμείνει για μεγάλο χρονικό διάστημα σε δρύινα βαρέλια, πριν βγει στην αγορά. Έτσι, μετά από πολλές μελέτες, ο Patrick Ducournau κατάφερε να κατασκευάσει ένα μηχάνημα, το οποίο θα ήταν ικανό να παρέχει μικρές ποσότητες οξυγόνου, με σκοπό να αναπαραστήσει στην εισροή του οξυγόνου, όπως συμβαίνει και στη διαδικασία την ωρίμασης μέσα από τα βαρέλια. Το 1995 οι Ducournau and Lemaire ίδρυσαν την εταιρεία OenoDev, έχοντας σκοπό την εκπαίδευση και την παροχή εξοπλισμού για την χρήση της μικροοξυγόνωσης. Πολύ σύντομα, η τεχνική της MOX έγινε ευρέως γνωστή στην υφήλιο, και σήμερα αποτελεί μία από τις βασικές τεχνικές οινοποίησης (Ana Isabel Camacho de Freitas 2017).

2.1.2 Έννοια Μικροοξυγόνωσης

Ουσιαστικά, η μικρο-οξυγόνωση είναι μία νέα τεχνική οινοποίησης, με τη βοήθεια της οποίας συγκεκριμένες ποσότητες οξυγόνου εισέρχονται στον οίνο, σκοπεύοντας στην αλλαγή της δομής και στον αρωμάτων, που δεν μπορούν να πραγματοποιηθούν σύντομα μέσω των κλασικών μεθόδων ωρίμασης (M. Parish et al. 2000).

Πιστεύεται ότι πρόκειται για μία νέα τεχνική οινοποίησης, ωστόσο στην πραγματικότητα είναι μία ενίσχυση της διαδικασίας ωρίμασης του δρύινου βαρελιού, η οποία μάλιστα διαφέρει ως προς τον τρόπο λειτουργίας. Και οι δύο ενέργειες επιτρέπουν τη διάχυση οξυγόνου στο κρασί, παρόλα αυτά, η ποσοτικοποίηση του είναι δυνατή μόνο στην περίπτωση της μικρο-οξυγόνωσης.

Για τον προσδιορισμό της έννοιας της μικροοξυγόνωσης, παίζει σημαντικό ρόλο η κατανόηση στο πότε πρέπει να εφαρμοστεί, σε ποια δοσολογία και για πόση διάρκεια. Ο λόγος είναι διότι, αρκετοί είναι αυτοί όπου συγχέουν τις έννοιες μικρο-οξυγόνωση και μακρο-οξυγόνωση. Στην

περίπτωση της μακρο-οξυγόνωσης η μεταφορά οξυγόνου γίνεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Σε αυτό το στάδιο, κρίνεται απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου καθώς συμβάλλει στον πολλαπλασιασμό των ζυμών, στοχεύοντας στην παραγωγή αλυσίδων ακόρεστων λιπαρών οξέων και στερολών, τα οποία βελτιώνουν την υγεία των ζυμών και τα κινητικά δεδομένα της ζύμωσης (Enartis USA, 2019). Όσο αφορά την μικρο-οξυγόνωση, η διάχυση οξυγόνου γίνεται μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης και πριν ή μετά τη μηλογαλακτική ζύμωσης, σε πολύ μικρότερες ποσότητες οξυγόνου. Στις περιπτώσεις αυτές, παρατηρούνται:

- Βελτίωση δομής και πολυπλοκότητας
- Σταθεροποίηση χρωστικών ενώσεων
- Μείωση πιθανοτήτων οξείδωσης
- Αύξηση της ακεταλδεΐδης λόγω οξείδωσης αιθανόλης, η οποία με τη σειρά της, συμβάλλει στις αντιδράσεις πολυμερισμού ανθοκυανών και τανινών, μειώνοντας την συγκέντρωση των ελεύθερων ανθοκυανών και αυξάνοντας τον αριθμό των συμπυκνωμένων ανθοκυανών, οι οποίες είναι έγχρωμες και πιο σταθερές στις μεταβολές του pH.

2.2 Εφαρμογή και Εξοπλισμός Μικροοξυγόνωσης

2.2.1 Εφαρμογή της Μικροοξυγόνωσης

Η ωρίμαση του οίνου μέσα στα δρύινα βαρέλια συντείνει στον εμπλουτισμό του, με πιο πολύπλοκα αρώματα, πιο σταθερό σώμα και λιγότερη στυπτικότητα, με την απαίτηση ωστόσο της παραμονής του για αρκετό χρονικό διάστημα. Συνεπώς, η αρχική ιδέα της μικροοξυγόνωσης ήταν να αποτελεί μία εναλλακτική, ή και ακόμα, μία συμπληρωματική τεχνική της ωρίμασης στα βαρέλια, με τα ίδια χαρακτηριστικά, σε λιγότερο χρόνο και με χαμηλότερο κόστος.

Όπως και με την χρήση βαρελιών, στην οποία μικρές και σταθερές ποσότητες οξυγόνου εισάγονται στο κρασί μέσω των ξύλινων πόρων, έτσι και στη μικροοξυγόνωση, μέσω ενός διαχύτη πραγματοποιείται η μεταφορά φυσαλίδων αέριου οξυγόνου. Ο λόγος που προτιμάται η εισαγωγή οξυγόνου με τη μορφή φυσαλίδων, είναι ότι διαλύονται πιο γρήγορα στο κρασί. Ωστόσο, για να είναι πιο εύκολη η διάλυση των φυσαλίδων, θα πρέπει να δοθεί προσοχή στο μέγεθος τους καθώς και στο ύψος των δεξαμενών. Δεν είναι επιθυμητές δεξαμενές μικρότερες των 2 μέτρων, διότι σε αυτές, μπορούν να συσσωρευτούν οι φυσαλίδες οξυγόνου την κορυφή

της δεξαμενής και να προκαλέσουν συνθήκες οξείδωσης. Όπως επίσης, ούτε και δεξαμενές άνω των 2.5 μέτρων, στις οποίες σε συνδυασμό με φυσαλίδες μικρών διαμέτρων, δε θα μπορέσουν να εξαπλωθούν σε όλη την έκταση των δεξαμενών, λόγω των πιέσεων που υπάρχουν από το κρασί (R. Ertan Anli & Ö. Algan Cavulcak 2012; L. M. Schmidtke et al., 2011). Πρόσθετα με τα υπόλοιπα, προτού εφαρμοστεί η μικροοξυγόνωση, πρέπει να ληφθεί υπόψη σε ποια κρασιά είναι δυνατή η εφαρμογή του. Αυτό στηρίζεται στο γεγονός ότι το οξυγόνο

εξαρτάται ακράδαντα από την παρουσία φαινολικών, καθώς συμμετέχει στις αντιδράσεις πολυμερισμού των ανθοκυανών. Βασισμένοι σ' αυτό, σε κρασιά που δεν είναι πλούσια σε φαινολικά, προτιμάται, αν επιθυμεί ο οινοπαραγωγός να εφαρμόσει τη μικροοξυγόνωση, να το κάνει μετά την μηλογαλακτική ζύμωση και με μικρές ποσότητες οξυγόνου.

2.2.2 Εξοπλισμός Μικροοξυγόνωσης

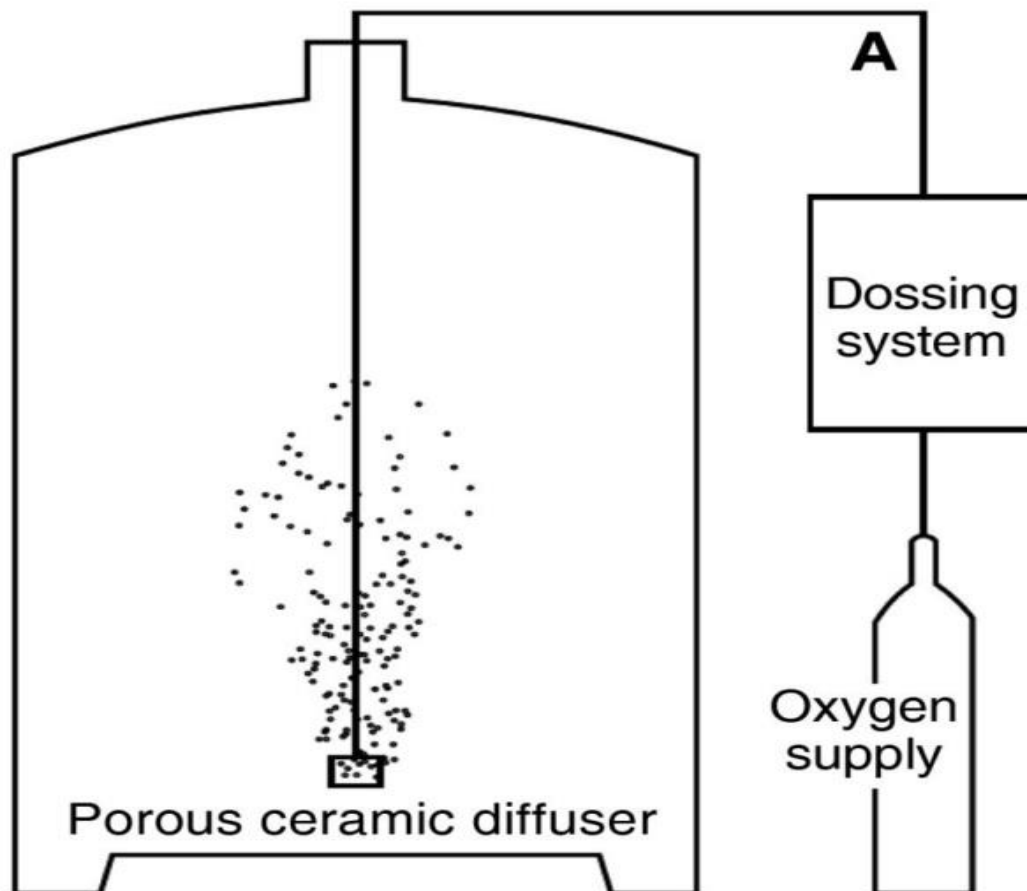
Το αρχικό μηχάνημα της μικρο-οξυγόνωσης σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε από την OenoDev, και αποτελείται από τρία (3) μέρη: την παροχή οξυγόνου, ένα σύστημα δοσομέτρησης και τέλος ένα διαχύτη, όπου μεταφέρει το οξυγόνο με τη μορφή αέριων φυσαλίδων. Κατά τη διεργασία της μικροοξυγόνωσης είναι σημαντικό η δοσολογία του οξυγόνου να μετράται σε mg/l και όχι σε όγκους οξυγόνου, καθώς ο όγκος ενός αερίου είναι αμετάβλητος και εξαρτάται από τη θερμοκρασία και την πίεση. Επίσης, το μηχάνημα θα πρέπει να συμφέρει τους οινοπαραγωγούς και είναι εφικτή η χρήση του τόσο και κατά τη μικρο-οξυγόνωση, όσο και στην μακρο-οξυγόνωση, καθώς επίσης και να δίνει τα ίδια αποτελέσματα σε δεξαμενές μικρού και μεγάλου όγκου (Π. Θαμνίδης-Α. Κυριάκου). Επιπροσθέτως, ακόμα ένα σημείο στο οποίο θα πρέπει να δοθεί η κατάλληλη προσοχή, είναι να μην εισαχθεί περισσότερο οξυγόνο απ' ότι μπορεί να διαλυθεί στον οίνο. Αυτό μπορεί να επιφέρει τα αντίθετα αποτελέσματα από αυτά που αναμένοντα, όπως οξείδωση του κρασιού, και συνεπώς, την πτώση αντί της ανόδου της ποιότητας του τελικού προϊόντος (Dykes and Kilmartin, 2007; Mc. Ginnis and Little, 2002).

Δύο είναι τα κύρια είδη μηχανημάτων για τη μικροοξυγόνωση, ανάλογα το αποτέλεσμα που θέλει ο παραγωγός, αλλά και το μέγεθος του οινοποιείου. Η πρώτη προσέγγιση, αποτελείται από έναν κεραμικό διαχύτη, μέσω του οποίου πραγματοποιείται η εισαγωγή του οξυγόνου με τη μορφή φυσαλίδων. Πρόκειται για περιοδική μεταφορά οξυγόνου, η οποία διακόπτεται όταν ο θάλαμος δοσολογίας γεμίσει. Αντιθέτως, το δεύτερο σύστημα περιλαμβάνει τη χρήση μίας

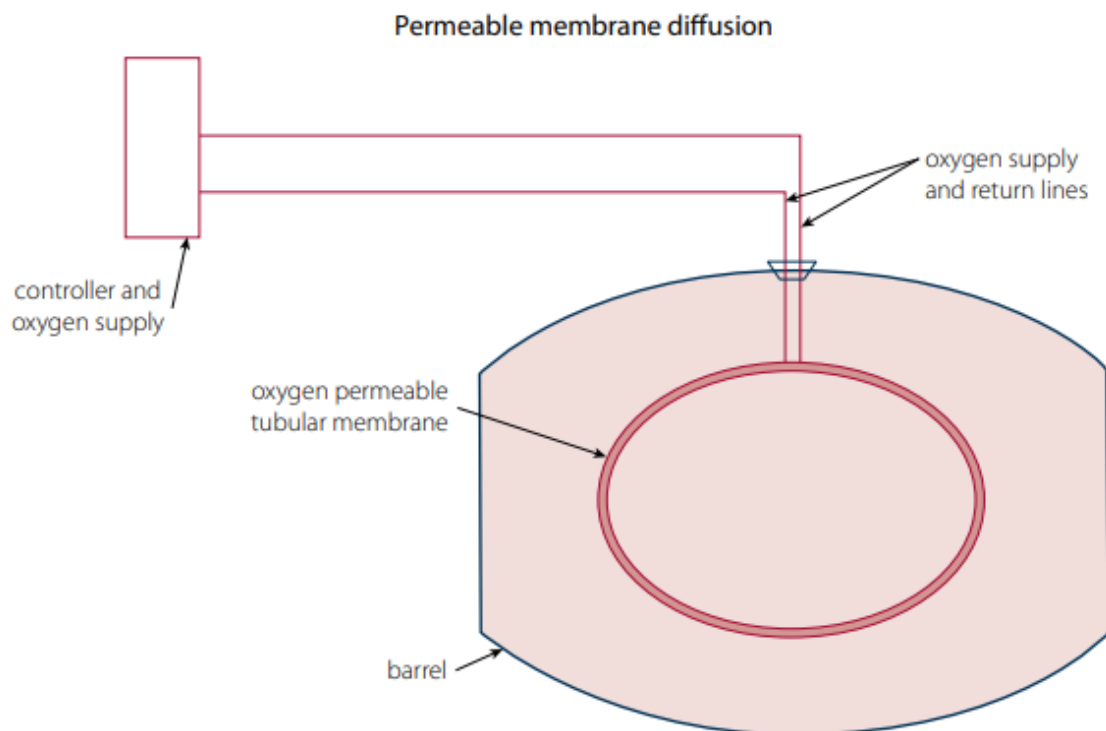
ημιπερατής μεμβράνης, στην οποία ασκείται πίεση και έτσι το οξυγόνο που εισάγεται μέσα στη μεμβράνη, διαχέεται στο κρασί. Μέσω αυτού του συστήματος, λαμβάνει χώρα μία συνεχής παροχή οξυγόνου (Kelly & Wollan, 2002). Το κάθε ένα από αυτά τα συστήματα έχει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματά του, τα οποία αναφέρονται και στον παρακάτω πίνακα 1.

	Διάχυση μέσω κεραμικού διαχύτη	Διάχυση μέσω ημιπερατής μεμβράνης
Ρυθμός παροχής οξυγόνου	Περιοδική	συνεχής
Φάση μετάβασης οξυγόνου	απευθείας στον οίνο	μέσα στη μεμβράνη
Μορφή εισαγόμενου οξυγόνου	γίνεται εισαγωγή αερίου οξυγόνου, ώστε να διαλυθεί	το οξυγόνο όταν διαχέεται στο κρασί είναι ήδη διαλυμένο
Πίεση αερίου	Μεταβλητή	σταθερή
Μεγέθη δεξαμενών	χρησιμοποιείται μόνο σε δεξαμενές άνω των 2.5 μέτρων	μπορεί να εφαρμοστεί σε μικρές, αλλά και σε μεγάλες δεξαμενές

Πίνακας 1 Χαρακτηριστικά των δύο προσεγγίσεων της Μικροοξυγόνωσης



Εικόνα 1: Σύστημα Μικροοξυγόνωση. Εισαγωγή αέριου οξυγόνου μέσω του κεραμικού διαχύτη, με τη μορφή φυσαλίδων (περιοδική παροχή οξυγόνου)



Εικόνα 2: Σύστημα Μικροοξυγόνωση. Εισαγωγή αέριου οξυγόνου μέσω του κεραμικού διαχύτη, με τη μορφή φυσαλίδων (περιοδική παροχή οξυγόνου)

2.3 Οφέλη

Η αιτία που οδήγησε στην σύντομη παγκόσμια εξάπλωση και χρήση της μικρο-οξυγόνωσης, είναι οι θετικές επιδράσεις που έχουν ως αποτέλεσμα έναν ποιοτικό οίνο. Πιο αναλυτικά, μερικά από τα πιο γνωστά οφέλη, τα οποία κάποια προαναφέρθηκαν και στο υποκεφάλαιο 2.1.2 ως παρατηρήσεις μετά την μικροοξυγόνωση, είναι η σταθεροποίηση του χρώματος όπως και η ενίσχυση της δομή του οίνου. Και στις δύο αυτές μεταποιήσεις, κυρίαρχο ρόλο παίζουν οι ανθοκυάνες και οι φαινολικές ενώσεις, όπου με τη συμβολή του οξυγόνου ενεργοποιούνται οι αντίστοιχες αντιδράσεις πολυμερισμού, δίνοντας ως προϊόντα, σταθερά έγχρωμα σύμπλοκα μεγάλου μοριακού βάρους, οι οποίες καταβυθίζονται μειώνοντας την στυπτικότητα του κρασιού. Προσθετικά στις παραπάνω επιδράσεις, είναι αξιοσημείωτο να αναφερθεί και ο ανασχηματισμός γεύσεων και αρωμάτων. Η εισαγωγή του οξυγόνου έχει την ικανότητα να επιφέρει οξειδωση σε ορισμένες ενώσεις που υπάρχουν ήδη στον οίνο, όπως πυραζίνες και

θειόλες, που είναι γνωστές για τα πράσινα – φυτικά χαρακτηριστικά, μειώνοντας και την παρουσία τους στο τελικό κρασί. Ακόμη ένα σοβαρό θέμα που χρήζει λύσης, και η μικρο-οξυγόνωση βοηθάει σ' αυτό, είναι οι αναγωγικές οσμές που μπορεί να υπάρχουν. Τα αναγωγικά χαρακτηριστικά μπορούν να δημιουργηθούν, σε συνθήκες χαμηλού οξειδοαναγωγικού δυναμικού, καθώς επίσης ενώσεις που είναι υπεύθυνες για τις αναγωγικές οσμές, μπορούν να δημιουργηθούν φυσικά μετά τη λήξη της αλκοολικής ζύμωσης. Συνεπώς, η προσθήκη οξυγόνου, επιτυγχάνει αυτόματα την αύξηση οξειδοαναγωγικού δυναμικού και μείωση των αναγωγικών οσμών κάτω από το κατώφλι αντίληψης, μιας και δεν είναι εφικτή η εξάλειψη τους. Τέλος, η εφαρμογή της μικροοξυγόνωσης τη σωστή στιγμή της αλκοολικής ζύμωσης, επιδρά θετικά στον οίνο, διότι σε αυτό το στάδιο, λόγω του οξυγόνου, γίνεται περισσότερη αφομοίωση αζώτου από τις ζύμες, αποτρέποντας την συσσώρευση λιπαρών οξέων, που αποτελούν παράγοντα για την διακοπή της ζύμωσης (Paul R. 2002).

2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία της Μικροοξυγόνωσης

Η μικρο-οξυγόνωση είναι βέβαιο ότι μπορεί να προσδώσει πολλά θετικά χαρακτηριστικά στην παραγωγή του οίνου, ωστόσο πολλές φορές χωρίς την κατάλληλη παρακολούθηση, μπορεί να επιφέρει δυσμενή αποτελέσματα. Το πρόβλημα εντοπίζεται κυρίως στο ρυθμό και στη διάρκεια παροχής του οξυγόνου. Σε μεγάλες ποσότητες οξυγόνου και για περισσότερη ώρα απ' όση είναι απαραίτητη, μπορεί να εμφανιστεί το φαινόμενο της οξείδωσης. Αυτό με τη σειρά του θα επιφέρει αύξηση στυπτικότητας, συν άνοδο στην παραγωγή της ακεταλδεΐδης, η οποία όταν βρίσκεται πάνω από το κατώφλι αντίληψης, προσδίδει τους καταναλωτές την αίσθηση ενός προβληματικού κρασιού, σε συνδυασμό με την χαμηλή χρωματική ένταση και τα οξειδωμένα αρώματα (Blaauw DA, 2009). Κατά συνέπεια, εν λειτουργία της μικρο-οξυγόνωσης θα πρέπει να ελέγχονται ορισμένοι παράγοντες, όπου μπορούν να δράσουν και να αλλάξουν τα αναμενόμενα αποτελέσματα των παραγωγών. Ονομαστικά, αυτοί οι παράμετροι είναι οι εξής: θερμοκρασία, θολερότητα, ελεύθερο διοξείδιο του θείου, διαλυμένο οξυγόνο, κατάλληλη στιγμή και ρυθμός εισαγωγής οξυγόνου.

2.4.1 Θολερότητα

Η θολερότητα έχει σπουδαίο ρόλο κατά την μικροοξυγόνωση, καθώς σε ένα θολό κρασί, το οξυγόνο που εισάγεται, αντί να συνδεθεί με τις ενώσεις του οίνου, καταναλώνεται από τις οινολάσπες. Σε μικρότερο βαθμό ακόμα και τα ιόντα σιδήρου και χαλκού συμβάλλουν

αρνητικά, διότι αποτελούν καταλύτες για τις αντιδράσεις οξείδωσης. Η τιμή της θολερότητας ιδανικά, θα πρέπει να είναι κάτω των 100 NTU (Blaauw DA, 2009).

2.4.2 Ποσότητα φαινολικών

Η συγκέντρωση των φαινολικών, που υπάρχει στο αρχικό κρασί, και πιο συγκεκριμένα των τανινών και των ανθοκυανών, (μιας και αποτελούν δύο από τα κύρια φαινολικά που καθορίζουν τη διαδικασία της μικρο-οξυγόνωσης), μπορεί να καθοδηγήσει τον οινοπαραγωγό για το αν, πως και πόσο, μπορεί να εφαρμοστεί η μικροοξυγόνωση. Ο λόγος είναι διότι, το χρώμα του ερυθρού οίνου οφείλεται σε αυτά. Ωστόσο εκτός από την ποσότητα των φαινολικών ενώσεων σημασία έχει και το είδος τους. Η μικρο-οξυγόνωση συνήθως ενδείκνυται για ερυθρά κρασιά με μεγάλη τανικότητα και αναλογία τανινών - ανθοκυανών (M. Moutounet et al.,2001).

2.4.3 Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία διαδραματίζει καταλυτικό ρόλο στη διάλυση του οξυγόνου στο κρασί. Οι θερμοκρασίες κάτω των 13°C, επιταχύνουν τη διάλυση οξυγόνου και συνεπώς και την συσσώρευση του, καθώς μειώνεται η ταχύτητα με την οποία το κρασί καταναλώνει το οξυγόνο. Αντίθετα, σε θερμοκρασίες άνω των 20°C, μπορούν να λάβουν χώρα πιο γρήγορα οι αντιδράσεις οξείδωσης. Γενικά, έχει αποδειχθεί ότι οι θερμοκρασίες μεταξύ 15°C - 20°C είναι οι ιδανικές για την δράση της μικρο-οξυγόνωσης (Enartis USA, 2019).

2.4.4 Ελεύθερο διοξείδιο του θείου (SO₂)

Το διοξείδιο του θείου στο κρασί έχει πολλές λειτουργίες, με μία από αυτές τον αντιοξειδωτικό του χαρακτήρα, ο οποίος αντιδρά με δύο βασικές ενώσεις για την έναρξη των αντιδράσεων συμπύκνωσης και πολυμερισμού, τις ακεταλδεΐδες και το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Για το βέλτιστο αποτέλεσμα, η μικροοξυγόνωση θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί σε κρασιά μετά την ολοκλήρωση της μηλογαλακτικής ζύμωσης, όπου θα έχει ήδη προστεθεί το θειώδες. Προσοχή πρέπει να δοθεί στη συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδους, καθώς θα πρέπει να είναι άνω των 20 mg/lit. Επιπλέον πρέπει να παρατηρείται ο κενός χώρος που πιθανώς να υπάρχει στη δεξαμενή. Το δεύτερο βασίζεται στο γεγονός ότι το ελεύθερο θειώδες μπορεί να αντιδράσει με το οξυγόνο που υπάρχει στην κορυφή της δεξαμενής, εξουδετερώνοντας το με ταχύτερο ρυθμό. Οι μετρήσεις του θειώδους, υποστηρίζεται τέλος, ότι μπορούν να έχουν και ένα βοηθητικό ρόλο για το πότε μπορεί να εφαρμοστεί η διαδικασία της μικρο-οξυγόνωσης (A. I. Camacho de Freitas, 2017).

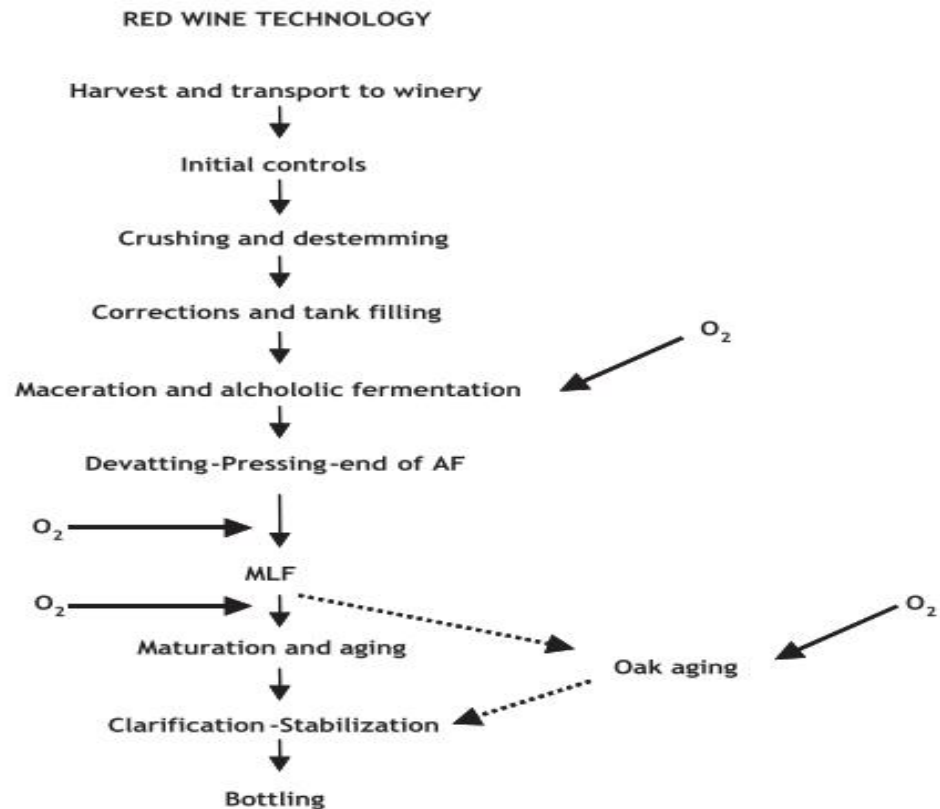
2.4.5 Διαλυμένο οξυγόνο (DO)

Το οξυγόνο από μόνο του, αποτελεί τον μεγαλύτερο παράγοντα για την ομαλή διεξαγωγή της μικρο-οξυγόνωσης. Συνεπώς, είναι αναγκαίο να παρακολουθείται η συγκέντρωση του και κυρίως της διαλυμένης μορφής του, ώστε να μην προκληθεί συσσωμάτωμα και κατά συνέπεια, οξείδωση. Για να αποφευχθεί αυτό λοιπόν, και από τη στιγμή που μέχρι και σήμερα, δεν υπάρχει κάποια αποδεδειγμένη δοσολογία ώστε να ακολουθήσουν οι οινολόγοι, κρίνεται απαραίτητη η μέτρηση του διαλυμένου οξυγόνου, τουλάχιστον δύο φορές την εβδομάδα. Οι συχνές αυτές μετρήσεις, μπορούν να συμβάλλουν στη εύρεση των σωστών δοσολογιών οξυγόνου, για τον κάθε οίνο.

2.4.6 Ποια είναι η κατάλληλη στιγμή και με ποιο ρυθμό για την Μικροοξυγόνωση

Μέχρι και σήμερα, δεν υπάρχει κάποια έρευνα που να είναι σίγουρη για τη σωστή χρονική στιγμή της μικρο-οξυγόνωσης. Το κάθε κρασί διαφέρει ανάλογα με τα φαινοτικά του, την ποσότητα του οξυγόνου που μπορεί να καταναλώσει και τη διαμόρφωση που επιθυμεί ο κάθε οινοπαραγωγός. Δύο είναι οι κύριες φάσεις στις οποίες μπορεί να εισαχθεί το οξυγόνο, πριν ή μετά τη μηλογαλακτική ζύμωση. Το στάδιο πριν τη μηλογαλακτική ζύμωση, θεωρείται ότι είναι το ιδανικό για τη εφαρμογή της μικρο-οξυγόνωσης, καθώς μειώνεται ο φυτικός χαρακτήρας του οίνου, δημιουργούνται πιο σταθερά και μεγαλύτερης χρωματικής έντασης σύμπλοκα, ενώ την ίδια στιγμή διαμορφώνεται και η στυπτικότητα, που σχετίζεται με τα πολυμερισμένα φλαβανοειδή. Αντίθετα, μετά τη μηλογαλακτική και την προσθήκη θειώδους, η μικροοξυγόνωση χρησιμοποιείται ως μέσω προσομοίωσης της ωρίμασης στα δρύινα βαρέλια, και επιπλέον, αυτή η ποσότητα θειώδους που θα προστεθεί, μπορεί να δράσει ως κατασταλτικός παράγον, διότι υπάρχει η πιθανότητα να συνδεθεί με την ακεταλδεΐδη και να εξουδετερώσει με αυτόν τον τρόπο το υπάρχον οξυγόνο.

Εικόνα 3: Αναγράφονται στα βήματα της ερυθρής οινοποίησης, καθώς και τα στάδια στα οποία είναι δυνατή η προσθήκη οξυγόνου (E. Gómez-Plaza, M. Cano-López, 2011).



Εφόσον ο οινοπαραγωγός καταλήξει σε ποιο στάδιο επιθυμεί να κάνει έναρξη της μικροοξυγόνωσης, το επόμενο βήμα που επίσης θα πρέπει να προσέξει είναι ο ρυθμός της παροχής οξυγόνου. Η θεμελιώδης αρχή που οποιοσδήποτε οινολόγος θα πρέπει να έχει στο νου του, για την ορθή εφαρμογή της μικροοξυγόνωσης, είναι, ο ρυθμός της παροχής οξυγόνου να μην ξεπερνά την ικανότητα κατανάλωσης του από τον οίνο. Με βάση την αρχή αυτή, αλλά και τον ρόλο του οξυγόνου, συμπεραίνεται ότι, υψηλός ρυθμός εισαγωγής οξυγόνου, μπορεί να προκαλέσει μη αναστρέψιμα οξειδωμένα χαρακτηριστικά, και επίσης συσσώρευση διαλυμένου οξυγόνου στην κορυφή της δεξαμενής, οδηγώντας στην ανάπτυξη αερόβιων μικροοργανισμών που θα προκαλέσουν αλλοιώσεις (L. M. Schmidtke et al., 2011).

2.4.7 Οργανοληπτικός έλεγχος

Μέσω του οργανοληπτικού ελέγχου, ο οποίος γίνεται από εξειδικευμένους δοκιμαστές, μπορεί να γίνει αντιληπτή η ύπαρξη ενώσεων, όπου δεν μπορούν να ανιχνευτούν μέσω των χημικών αναλύσεων. Πέρα αυτού, ο δοκιμαστής μπορεί να αισθανθεί πως αντικατοπτρίζονται σαν σύνολο τα χαρακτηριστικά στο κρασί και να καταλήξει στο ποια είναι η καλύτερη δοσολογία οξυγόνου που πρέπει να ακολουθήσει.

2.5 Φάσεις μικρο-οξυγόνωσης

Καθ' όλη τη διαδικασία της μικροοξυγόνωσης, οι φαινολικές ενώσεις του οίνου επιβάλλονται σε μία σειρά αλλαγών, οι οποίες έχουν αντίκτυπο και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Οι αλλαγές αυτές, ώστε να είναι πιο κατανοητές και να αποτελούν έναν οδηγό για τους οινοπαραγωγούς, διαχωρίστηκαν σε τρεις (3) φάσεις (Εικ.4) (Vinovation 2016):

- Φάση δόμησης
- Φάση εξισορρόπησης
- Φάση υπεροξυγόνωσης

2.5.1 Φάση δόμησης (structure phase)

Σε αυτή τη φάση παρατηρείται αρχικά μια αντίθεση, με τις τανίνες να είναι πιο επιθετικές και με μεγαλύτερη ένταση και τα ποσοστά της χρωματικής έντασης και της πολυπλοκότητας του οίνου να είναι χαμηλά. Οδεύοντας ωστόσο προς το τέλος της πρώτης φάσης, γίνεται μία ξαφνική αντιστροφή των αναλογιών αυτών. Οι κύριες παράμετροι που εμπλέκονται είναι πρώτον, το φαινολικό δυναμικό του οίνου, και επακολουθούν, το εισερχόμενο οξυγόνο, η θερμοκρασία και η ποσότητα του θειώδους.

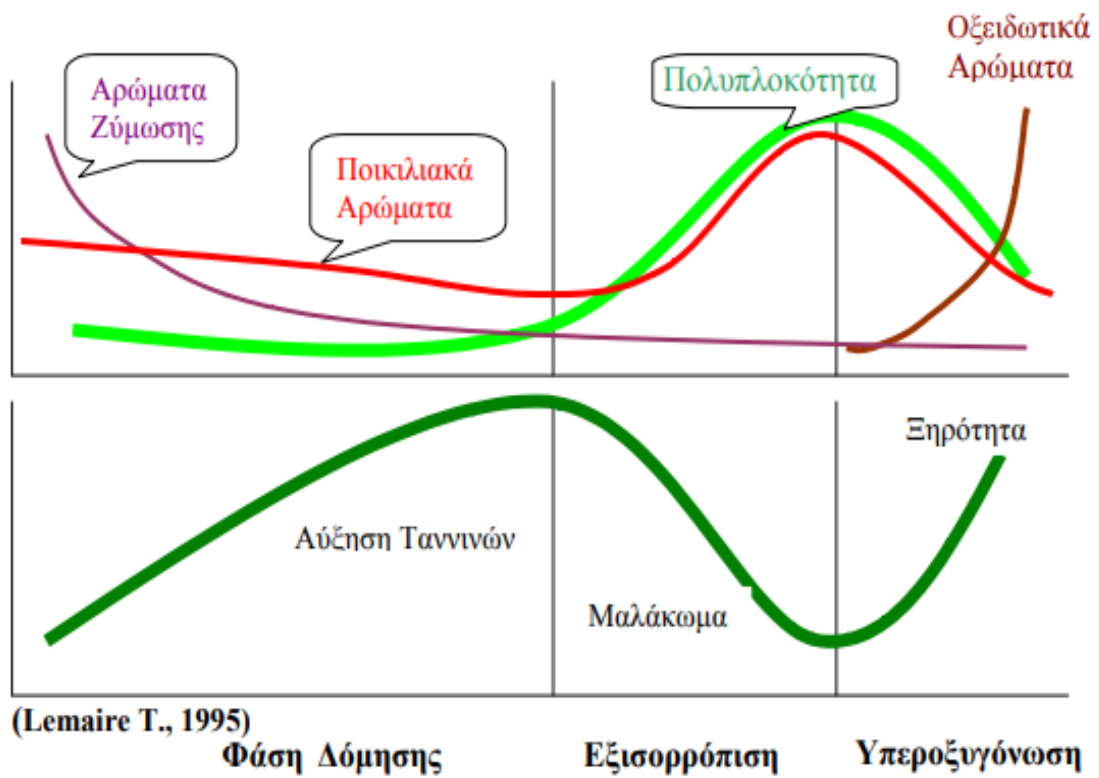
2.5.2 Φάση εξισορρόπησης (harmonization phase)

Μετά το τέλος της φάσης δόμησης, οι αλλαγές συνεχίζουν να πραγματοποιούνται, οδηγώντας στη φάση εξισορρόπησης. Στη συγκεκριμένη φάση, κάνουν αισθητή την παρουσία τους οι στρογγυλεμένες τανίνες, συγκριτικά με την πρώτη φάση, μειωμένα φυτικά και βοτανικά χαρακτηριστικά, καθώς και βελτίωση στην δομή, στην πολυπλοκότητα, στην αρωματική και χρωματική ένταση. Αυτό το στάδιο αλλαγών είναι και το πιο κρίσιμο. Οι οργανοληπτικοί έλεγχοι θα πρέπει να γίνονται ανά τακτά χρονικά διαστήματα, ώστε να καταλήξουν οι παραγωγοί στο πότε πρέπει να σταματήσει η διαδικασία της μικρο-οξυγόνωσης.

2.5.3 Φάση υπεροξυγόνωσης (over oxygenation phase)

Στην περίπτωση που δεν παρθεί έγκαιρα η απόφαση για διακοπή της μικρο-οξυγόνωσης κατά την φάση εξισορρόπησης, αυτόματα η διαδικασία μεταβαίνει στη φάση της υπεροξυγόνωσης. Αποτέλεσμα αυτής της φάσης είναι οι στεγνές τανίνες, λόγω εκτεταμένων πολυμερισμών,

αύξηση αλδεϋδικών αρωμάτων και αισθητή μείωση της αρωματικής έντασης. Τρόπος πρόληψης, είναι ο τακτικός οργανοληπτικός έλεγχος.



Εικόνα 4: Αναπαράσταση των τριών φάσεων κατά την μικροοξυγόνωση, και οι αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στην κάθε μία. 1.Φάση δόμησης 2. Φάση εξισορρόπισης 3. Φάση υπεροξυγόνωσης

Κεφάλαιο 3^ο

Μικροοξυγόνωση και ερυθροί οίνοι

Αναφορές από οινοποιεία υποδηλώνουν ότι η μικροοξυγόνωση του οίνου, μπορεί να είναι αποτελεσματική στη μείωση των επιπέδων MP (methoxypyrazines). Περιορισμένες μελέτες με γευσιγνώστες προσθέτουν σε αυτές τις παρατηρήσεις, όπως οι Saenz-Navajas et al. (2018), ερεύνησαν την επίδραση της μικροοξυγόνωσης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων Merlot, ενώ την ίδια στιγμή παρακολουθούσαν τα επίπεδα θειώδους και τον πληθυσμό των ζυμών. Παρόλο που κατά τη διάρκεια της μικροοξυγόνωσης, δεν μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις των μεθοξυ-πυραζινών, διαπίστωσαν ότι η μικροοξυγόνωση οδήγησε σε μείωση των πράσινων αρωμάτων που συνήθως συνοδεύονται από αυτές τις ενώσεις.

3.1 Μικροοξυγόνωση και Χρώμα Κόκκινου Κρασιού

Ένας από τους βασικότερους και επιδιωκόμενους στόχους κατά την προσθήκη οξυγόνου σε ερυθρού οίνους, είναι η αύξηση χρωματικής έντασης, αλλά και η σταθεροποίηση του χρώματος (T-A & T-A-T). Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω σε αυτήν την εργασία, υπεύθυνα για το χρώμα των ερυθρών οίνων είναι τα φαινολικά συστατικά. Κατά την αλκοολική ζύμωση προκαλείται αναγωγή των συστατικών του γλεύκους. Με τη βοήθεια του συνενζύμου NADH₂, μεταφέρεται το υδρογόνο στις ανθοκυάνες, οι οποίες ανάγονται και αποχρωματίζονται. Μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης και την προσθήκη του οξυγόνου, οι ανθοκυάνες ξαναπαίρνουν το χρώμα τους. Πέρα από τη μετάβαση των ανθοκυανών στην έγχρωμη μορφή τους, μεγάλη σημασία έχει και η σταθερότητα του χρώματος στον χρόνο. Το οξυγόνο ευνοεί τους δεσμούς μεταξύ τανινών και ανθοκυανών. Στην περίπτωση που οι ανθοκυάνες δεν ενωθούν με τις τανίνες, τείνουν να εξαφανισθούν.

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί πάνω στους ειδικούς μηχανισμούς της μη ενζυματικής οξείδωσης των φαινολικών ενώσεων, επικεντρώνοντας στα αποτελέσματα της μικροοξυγόνωσης, όπως της χημικές αλλαγές που συμβαίνουν, και οι οποίες επηρεάζουν το άρωμα, το χρώμα και τη γεύση του οίνου.

3.2 Παραγωγή Αλδεϋδης και Μικροοξυγόνωση

Οι άμεσες αντιδράσεις μεταξύ των φαινολικών ενώσεων και του μοριακού οξυγόνου, είναι αδύνατον να πραγματοποιηθούν χωρίς την ενεργοποίηση κάποιων πολύ δραστικών (χημικά)

μορφών οξυγόνου. Λόγω της τριπλής μορφής που έχει το οξυγόνο στη φυσική του κατάσταση, οι απευθείας αντιδράσεις με τις απλές φαινολικές ενώσεις είναι αδύνατες (Danilewicz, 2003). Ωστόσο, όσο αδύνατη και αν θεωρείται η πραγματοποίηση αυτών των αντιδράσεων, μπορούν κάλλιστα να συμβούν με την παρουσία καταλυτών, όπως ιόντων μετάλλων ή ορισμένων φαινολικών ενώσεων, οδηγώντας σε μια σειρά ενεργών ειδών οξυγόνου (L.M. Schmidtke et al., 2011). Οι αντιδράσεις αυτές μπορούν να έχουν ως αποτέλεσμα άλλες ενώσεις, οι οποίες αντιδρούν με την αιθανόλη, όπου είναι και η κυρίαρχη αλκοόλη στο κρασί, και κατά συνέπεια, την παραγωγή αλδεϋδης και πιο συγκεκριμένα της ακεταλδεϋδης.

Κατά την μικρο-οξυγόνωση, αν το οξυγόνο εισαχθεί με ταχύ ρυθμό, μπορεί να προκαλέσει οξείδωση των αρωμάτων, καθώς και εμφάνιση ιζημάτων (T. Cottrell, 2004; P. Ribereau-Gayon et al., 2000). Επιπλέον, όταν γίνει υπερβολική παροχή οξυγόνου, παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης ακεταλδεϋδης, το οποίο αντικατοπτρίζεται στον τελικό οίνο μέσω της αλλαγής των γεύσεων και των αρωμάτων. Μέχρι και σήμερα, ο υπολογισμός της ακεταλδεϋδης δεν είναι εφικτός μέσω χρωματογραφίας, εξαιτίας του σύντομου χρόνου συγκράτησης της ουσίας. Η αδυναμία αυτή, έχει ως αποτέλεσμα, τον κατά προσέγγιση υπολογισμό της ακεταλδεϋδης, μέσω άλλων παραμέτρων, όπως τη θολερότητα, το διαλυμένο οξυγόνο, την οργανοληπτική δοκιμή και την φασματοφωτομετρία (M. Parish, 2000).

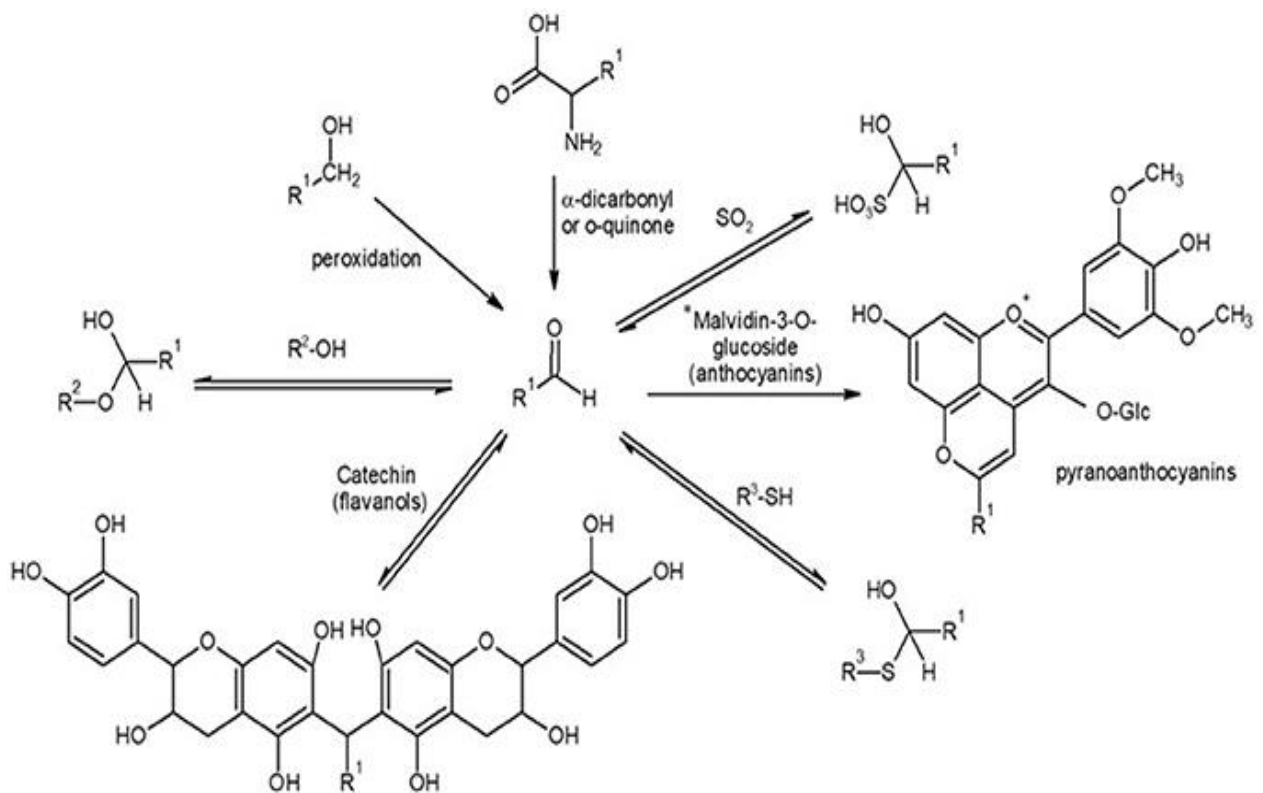
3.3 Επίδραση της αλδεϋδης στο ερυθρό χρώμα του κρασιού

Οι πιο σημαντικές ενώσεις που υπάρχουν στο κρασί είναι οι ανθοκυανίνες και οι συμπυκνωμένες τανίνες (προκυανιδίνες), αποτελώντας δύο από τις ενώσεις που υπάρχουν φυσικά στο σταφύλι. Η κάθε μία από τις προαναφερθέντες ενώσεις, έχει το δικό της ρόλο στην διαδικασία της οινοποίησης, με τις ανθοκυανίνες να έχουν κυρίαρχη θέση στην διαμόρφωση του χρώματος, και τις τανίνες στη γεύση. Πιο διευκρινιστικά, οι προκυανιδίνες είναι μόρια που αποτελούνται από (-)-επικατεχίνες και (+)-κατεχίνες (Prieur et al., 1994).

Διάφορα φλαβανοειδή, όπως (+)-κατεχίνη, (-)-επικατεχίνη και η μαλβιδίνη-3γλυκοσιδάση, η οποία ανήκει στις ανθοκυανίνες, έχουν παρατηρηθεί ότι αντιδρούν με την ακεταλδεϋδη προς παραγωγή πολυμερών με αλυσίδες διαφορετικών μεγεθών (Timberlake & Bridle, 1976). Κατόπιν διαφόρων ερευνών, φαίνεται πως η αντίδραση μεταξύ (-)-επικατεχίνης και ακεταλδεϋδης, διενεργούνται πιο γρήγορα απ' ό,τι με τη (+)-κατεχίνη ή τη μαλβιδίνη-3-γλυκοσιδάση, με το μήκος της αλυσίδας να επεκτείνεται και κατά C6 ή C8, όταν φλαβανόλες ενσωματώνονται στο πολυμερές (Timberlake & Bridle, 1976).

Ο ρυθμός μιας αντίδρασης συμπύκνωσης (+)-κατεχίνης και μαλβιδίνης-3-γλυκοσιδάσης με την συνεισφορά της ακεταλδεϋδης, εξαρτάται άμεσα από το pH. Η αιτία αυτού είναι η απαιτούμενη πρωτονίωση της αλδεϋδης, και των τύπο των φαινολικών και της αλδεϋδης, ενώ η έκταση του πολυμερισμού εξαρτάται από τη συγκέντρωση των αντιδραστηρίων (Atanasova et al., 2002; Cano-Lopez et al., 2006; Perez-Magarino et al., 2007).

Την ενσωμάτωση της ανθοκυανίνης στο πολυμερές επιφέρει μία μετατόπιση μεταξύ 10-25 nm, το μέγεθος της οποίας είναι ανάλογο με το μήκος της αλυσίδας (Cheynier, 2006; Es-Safi et al., 2002). Το χρώμα του οίνου μεταβάλλεται από τη χρωματική μετατόπιση της απορρόφησης του μονομερούς μαλβιδίνης-3-γλυκοσίδης από ερυθρό (520–525 nm), σε μια πιο κυανή απόχρωση με μέγιστο απορρόφησης γύρω στα 540 nm (Cheynier et al., 2002; Pissarra et al., 2004).



Εικόνα 5: Παραγωγή ακεταλδεϋδης και οι αντιδράσεις στις οποίες συμμετέχει (Grant-Preece et al., 2013; Waterhouse et al., 2016).

3.4 Επίδραση του pH, στις φαινολικές ενώσεις και στο χρώμα

Όπως έχει προαναφερθεί, οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν θεμελιώδη παράγοντα για την ποιοτική κατάσταση του κρασιού, με πρωταγωνιστή τις ανθοκυανίνες, έχοντας την κυρίαρχη θέση για τη διαμόρφωση του τελικού χρώματος και τις προανθοκυανιδίνες συντελώντας στην αίσθηση της στυπτικότητας. Κατά τη διάρκεια της οινοποίησης και τα ωρίμασης στα δρύινα βαρέλια, οι φαινολικές ενώσεις υπάγονται σε μια σειρά βιοχημικών αντιδράσεων, αλλάζοντας τη διαμόρφωσή τους στο χώρο και παράγοντας νέες πιο σταθερές χρωστικές. Ωστόσο, για την έναρξη και ομαλή λειτουργία αυτών των αντιδράσεων, είναι απαραίτητα και τα σωστά επίπεδα του θειώδους, της εισερχόμενης ποσότητας οξυγόνου, του pH και της θερμοκρασίας. Για τη θερμοκρασία, το θειώδες και την ποσότητα οξυγόνου έχουν γίνει κατά καιρούς διάφορες μελέτες, παραγκωνίζοντας την σημαντικότητα της επίδρασης του pH.

Με αφορμή αυτό, το 2010 οι N. Kontoudakis et al, συνέκριναν δύο οίνους της ποικιλίας Cabernet Sauvignon του 2008, στους οποίους το πρώτο κρασί είχε μικρή συγκέντρωση φαινολικών, ενώ το δεύτερο μεγάλη. Αρχικά και τα δύο κρασιά είχαν τιμή pH ίση με 3.5. Στην πορεία τα δύο αυτά κρασιά τα χώρισαν σε τρεις δεξαμενές, όπου στην πρώτη έγινε προσθήκη καυστικού νατρίου (NaOH), μέχρις ότου το pH να φτάσει την τιμή του 3.9, στη δεύτερη προστέθηκε θειικό οξύ (H₂SO₂), με σκοπό τη μείωση του pH στο 3.1 και στην τρίτη πρόσθεσαν ανάλογο όγκο αποσταγμένου νερού, ώστε να αραιωθεί το δείγμα χωρίς να μεταβληθεί το pH. Αφού πραγματοποιήθηκαν οι επιθυμητές αλλαγές στο pH, γίνεται εφαρμογή της μικροοξυγόνωσης, με παροχή οξυγόνου ίση με 15mg/l/μήνα, σε σταθερές θερμοκρασίες (16°C), για τρεις μήνες. Στο τέλος της μικροοξυγόνωσης, μια ποσότητα εξετάζεται, ενώ μία άλλη μικρή ποσότητα εμφιαλώνεται και παλαιώνεται για περίπου 8 μήνες. Αφού τελειώσει και η περίοδος παλαίωσης, τα κρασιά αναλύονται και συγκρίνονται με τους μάρτυρες και τους οίνους που δέχτηκαν μόνο μικροοξυγόνωση.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το δεύτερο κρασί είχε μεγαλύτερη χρωματική ένταση από αυτήν του πρώτου κρασιού, λόγω της υψηλότερης φαινολικής ποσότητας που εξ' αρχής είχε. Όσο αφορά το pH, βρέθηκε ότι σε χαμηλές τιμές, στο δεύτερο κρασί, υπάρχει άνοδος για τη χρωματική ένταση, το χρώμα και τις χρωματικές ανταύγειες του οίνου, ενώ η φωτεινότητα τείνει να μειώνεται, συγκριτικά με το πρώτο κρασί. Κατά γενικό κανόνα, στις όξινες περιοχές του pH παρατηρείται αύξηση των κατιόντων φλαβυλίου και αντίστοιχα των ερυθρωπών ανθοκυανών. Επιπλέον, η χρωματική ένταση σε όλα τα δείγματα δείχνει να μειώνεται ανεξαρτήτως pH, ωστόσο οι τιμές της χρωματικής έντασης στα μικροοξυγονωμένα κρασιά

μετά τους 8 μήνες παλαίωσης, αν και μειωμένες με το πέρασμα των ημερών, ήταν διακριτά πιο υψηλές από αυτές των μαρτύρων. Από την άλλη, η φωτεινότητα των μαρτύρων με την πάροδο του χρόνου δείχνει να αυξάνεται, ενώ για τα μικροοξυγονωμένα, δεν υπάρχει σαφές αποτέλεσμα μετά την τρίμηνη εφαρμογή της μικροοξυγόνωσης, όσο μετά την παλαίωση, όπου τότε η φωτεινότητα μειώνεται περισσότερο από τους αντίστοιχους μάρτυρες και ειδικά σε χαμηλό pH. Από φαινολικής πλευράς, οι ανθοκυανίνες, σε όλες τις περιπτώσεις ελαττώνονται με διαφορετικά μοτίβα ωστόσο. Μετά τους τρεις μήνες μικροοξυγόνωσης, οι ανθοκυανίνες μειώνονται περισσότερο συγκριτικά με τους μάρτυρές τους. Μείωση επίσης φαίνεται να υπάρχει και στα παλιωμένα κρασιά με τη μικρότερη συγκέντρωση φαινολικών, ενώ τα παλαιωμένα που είναι πλούσια σε φαινολικά, αντιδρούν διαφορετικά ανάλογα το pH. Λαμβάνοντας υπόψη και τους μάρτυρες των συγκεκριμένων κρασιών, στην τιμή 3.1 οι ανθοκυανίνες αυξάνονται, στο 3.5 η ποσότητα παραμένει σταθερή, ενώ σε υψηλότερη τιμή pH (3.9) οι ανθοκυανίνες τείνουν να μειώνονται. Μια επιπλέον αλλαγή σημειώθηκε και στις συγκεντρώσεις πυρανοανθοκυανών. Πιο συγκεκριμένα, σε όλους στους οίνους εντοπίστηκε παρουσία δύο τύπων πυρανοανθοκυανών, η βιστίνη A και η βιστίνη B. Σε όλα τα δείγματα μετά την εφαρμογή της μικροοξυγόνωσης και χωρίς την επιρροή του pH, έγινε μία πολύ μικρή αύξηση των μορίων της βιστίνης A, η οποία και παρέμεινε σταθερή και μετά τους 8 μήνες παραμονής στη φιάλη, μόνο για τα πλούσια σε φαινολικά κρασιά. Αύξηση επίσης παρατηρήθηκε και για τα μόρια της βιστίνης B, τόσο στους μάρτυρες όσο και στο τέλος των 3 μηνών της μικροοξυγόνωσης. Εξίσου σημαντικό, ήταν και το γεγονός ότι και στα δύο μικροοξυγονωμένα κρασιά στην περιοχή pH 3.1, έγινε προκλήθηκε ασυνήθιστη αύξηση της βιστίνης B, σε σχέση με τους μάρτυρες, κάτι το οποίο δεν έγινε στις άλλες τιμές του pH.

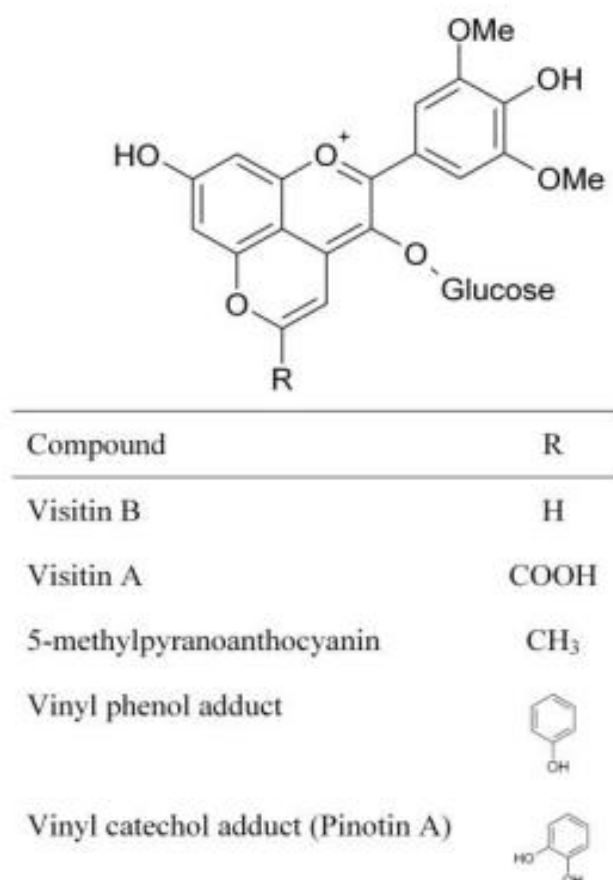
Σε γενικές γραμμές, βλέποντας συνολικά και τα αποτελέσματα, διαπιστώνεται ότι οι αλλαγές που γίνονται λόγω του pH κατά τη μικροοξυγόνωση, είναι πιο έντονες στις όξινες περιοχές, με μεταβολές όπως την αισθητή αύξηση του χρώματος, των χρωστικών που είναι συνδεδεμένα με μόρια αιθυλίου, της βιστίνης B και των πολυμερών χρωστικών. Αντίθετα, σε μεγάλες τιμές pH, η συνολική μεταβολή του κρασιού είναι πρακτικά σταθερή. Εν κατακλείδι, διαπιστώνεται ότι οι χαμηλές τιμές του pH λειτουργούν σαν καταλύτες για την κυκλοπροσθήκη με αιθανάλη και για τη δημιουργία συνδέσεων αιθυλίου μεταξύ φλαβονολών και φλαβονολών – ανθοκυανών (N. Kontoudakis et al., 2010).

3.5 Παραγωγή Πυρανοανθοκυανίνης

Δύο είναι οι προσεγγίσεις που αναφέρονται στην παραγωγή της πυρανοανθοκυανίνης. Η πρώτη, υποστηρίζει ότι η ιστορία της ξεκίνησε το 1996, από μία ομάδα ερευνητών που ανακάλυψαν μία άγνωστη κατηγορία χρωστικών. Ωστόσο, μόνο δύο από τις χρωστικές της κατηγορίας, κατάφεραν να απομονώσουν, όπου και διαπίστωσαν ότι μπορούν να αναλυθούν στο φάσμα του ορατού και του υπεριώδους (UV-Dis) και παρατήρησαν ότι είχαν μικρότερο χρωματικό δυναμικό από τις ανθοκυανίνες. Μέσα από μία συνεχή σειρά αναλύσεων, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για μία δομή που αποτελείται από ένα μόριο πυρανίου μεταξύ των θέσεων C4 και στον C-5 στον πυρήνα της μαλβιδίνης που φέρει ένα τμήμα φαινόλης (Κ.Μ Μακρή, 2020; Fulcrand et al., 1996). Όσο αφορά τη δεύτερη, βασίζεται στη δομή της ακεταλδεΐδης. Αν και η ένωση της ακεταλδεΐδης θεωρείται απλή επειδή αποτελείται μόνο από δύο μόρια άνθρακα, αυτό δε φαίνεται να την εμποδίζει από το να συμμετάσχει και σε μία δεύτερη διεύθυνση αντιδράσεων με τις ανθοκυανίνες. Η ακεταλδεΐδη, με σκοπό να παράξει αιθενόλη, μετασχηματίζεται σε μια μορφή αλδο-ενόλης και στη συνέχεια αντιδράει μέσω ενός μηχανισμού κυκλοπροσθήκης με τις ανθοκυανίνες, σχηματίζοντας έναν πυρανικό δακτύλιο μεταξύ του C4 και C5 της ανθοκυανίνης. Το προϊόν λοιπόν της αντίδρασης μεταξύ ανθοκυανινών και της ακεταλδεΐδης με τη βοήθεια του παραπάνω μηχανισμού, ονομάζεται πυρανοανθοκυανίνη (Εικ.5) (L.M. Schmidtke et al., 2011; Atanasova et al., 2002), και άλλη μία ομάδα πυρανοανθοκυανών που είναι αποτέλεσμα της αντίδρασης μεταξύ της μαλβιδινο-3-γλυκοσίδης και της αιθενόλης, ονομάζεται βιστίνη-B (Bakker and Timberlake, 1997). Εν ολίγοις, οι πυρανοανθοκυανίνες δεν αποτελούν κάποιες από τις ενώσεις του σταφυλιού, αλλά σχηματίζονται κατά την παραγωγή του οίνου, μέσω αντιδράσεων συμπύκνωσης (Morata et al., 2006).

Τα προϊόντα των ζυμομυκήτων που λαμβάνουν μέρος στη ζύμωση, συνδέονται με ενώσεις όπως το πυροσταφυλικό οξύ, τη βινυλοφαινόλη και την ακεταλδεΐδη, και έρχονται αντιμέτωπες με μία σειρά αντιδράσεων με τις ανθοκυανίνες, δημιουργώντας παράγωγα όπως, καρβοξυπυρανοανθοκυανίνες, φαινυλοπυρανοανθοκυανίνες, καθώς και πυρανοανθοκυανίνες (Cheynier, 2006). Γενικά, οι πυρανοανθοκυανίνες, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν, ανάλογα το μόριο που ενώνεται με τον C4 του μορίου της ανθοκυανίνης (Rentzsch et al., 2007). Έχει παρατηρηθεί ότι οι πυρανοανθοκυανίνες αυξάνονται με την ηλικία του κρασιού, όπως επίσης, ότι έχουν μεγαλύτερη χημική σταθερότητα, συγκριτικά με άλλα πολυμερή, καθώς επίσης

φαίνεται να έχουν και υψηλότερη αντίσταση στον αποχρωματισμό τους από το θειώδες (Bakker and Timberlake, 1997; L.M. Schmidtke et al., 2011).

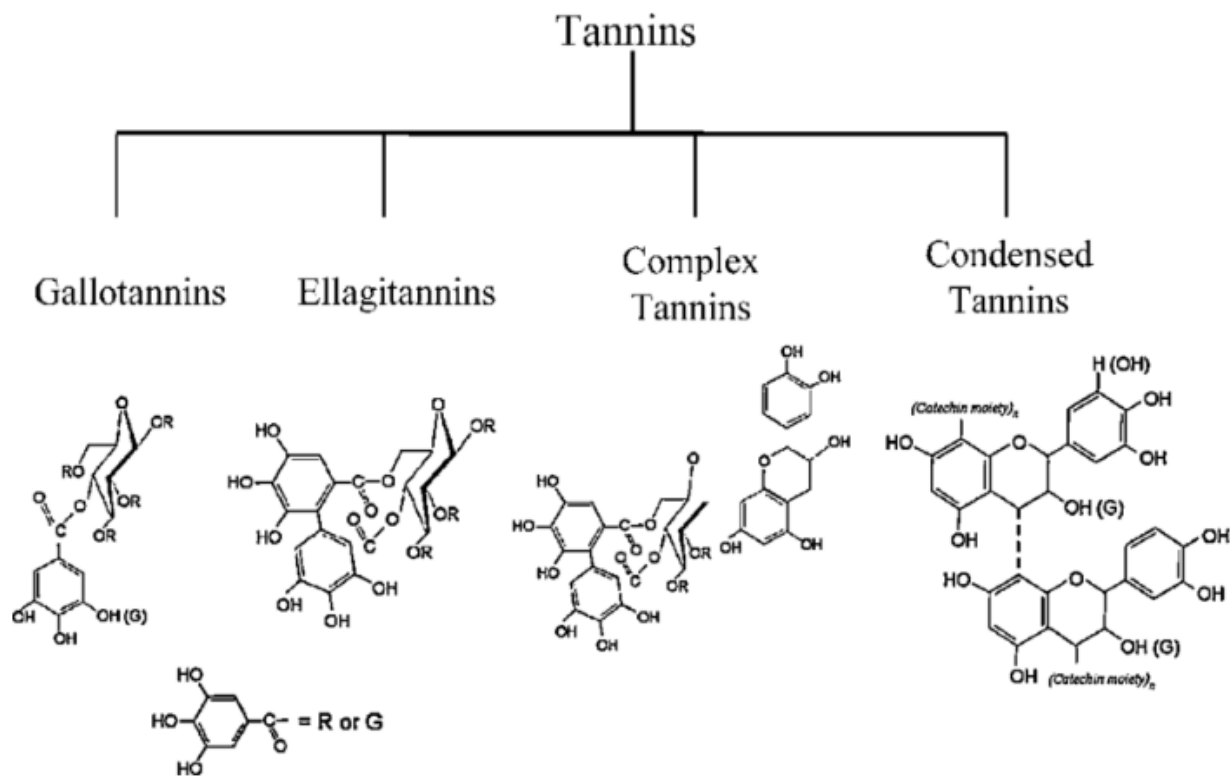


Εικόνα 6: Αναπαριστάται η χημική δομή ενός μορίου πυρανοανθοκυανίνης, που υπάρχει στο κρασί (Rentsch et al., 2007; L.M. Schmidtke et al., 2011).

Η ακεταλδεΰδη, η οποία παράγεται κατά τη μικροοξυγόνωση, δίνει τη δυνατότητα στις αντιδράσεις κυκλοπροσθήκης, μέσω των οποίων παράγεται βιστίνη-B, να ολοκληρωθούν πιο γρήγορα, απ' ό τι με την κλασική μέθοδο ωρίμασης. Επιπλέον, ένα ζήτημα που τελευταία ελκύει όλο και περισσότερους ερευνητές να το μελετήσουν, είναι η αντίδραση άλλων αλδευδών, εκτός της ακεταλδεΰδης, με τα φλαβονοειδή. Επιπρόσθετα, οι αλδεΰδες μέσω μηχανισμών, παράγουν νέες χρωστικές ενώσεις, απαιτώντας ωστόσο την παρουσία των αρχικών φλαβονοειδών και αλδευδών, όπως και τουλάχιστον ένα στάδιο οξείδωσης (Mateus et al., 2002; Mateus et al., 2001).

από τις πολυφαινόλες, όπως και την αντίδραση της αιθανόλης για την παραγωγή ακεταλδεΐδης (Es-Safi et al., 2002). Επειδή είναι ακόμα αβέβαιο, αν η ποσότητα τανινών που εκχυλίζεται από τη δρυ είναι επαρκής για τη διαμόρφωση του τελικού κρασιού, αποπειράθηκε η προσθήκη εξωγενών τανινών δρυός. Τα αποτελέσματα μετά την προσθήκη εξωγενών τανινών προερχόμενων από δρυ (300 – 1000 mg / L), υψηλότερης συγκέντρωσης από αυτή που λαμβάνεται από τη φυσική εκχύλιση μέσω του ξύλου, έδειξαν ότι υπήρξε πράγματι μία επίδραση στο τελικό χρώμα του προϊόντος, κατά την ωρίμαση στο δρύινο βαρέλι (Vivas and Glories, 1996; L.M. Schmidtke et al., 2011; Ribereau-Gayon et al., 2006b). Αναφέρεται ότι όταν η αναλογία τανινών – ανθοκυανών είναι 1:4, υπάρχουν καλύτερα αποτελέσματα στη μικροοξυγόνωση (L.M. Schmidtke et al., 2011). Η διαδικασία της μικροοξυγόνωσης συνήθως λαμβάνει χώρα μέσα σε ανοξείδωτες δεξαμενές. Ωστόσο, αντ’ αυτού μπορεί να πραγματοποιηθεί κάλλιστα μέσα σε δρύινα βαρέλια, τα οποία μειώνουν τον βοτανικό/φυτικό χαρακτήρα του οίνου και τον εμπλουτίζουν με τον ξύλινο χαρακτήρα (Loch, 2002).

Η ιδανική ποσότητα εξωγενών τανινών, δεν έχει βρεθεί ακόμα, καθώς εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η ποικιλία και την προέλευση τους, και διότι αποτελεί ένα θέμα το οποίο δεν έχει ερευνηθεί αρκετά, πέραν κάποιων ελάχιστων ερευνών που έχουν πραγματοποιηθεί.



Εικόνα 8: Οι βασικές χημικές δομές των τανινών (C. N. Aguilar et al., 2007)

3.7 Διοξείδιο του Θείου (SO₂) και Μικροοξυγόνωση

Το διοξείδιο του θείου είναι μια πολύ γνωστή ένωση και ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο πρόσθετο κατά την οινοποίηση. Χρησιμοποιείται σε ελάχιστες συγκεντρώσεις για την καταστολή ανάπτυξης μικροοργανισμών, που μπορούν να βλάψουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, καθώς το προστατεύει και από το οξυγόνο (P. Arapitsas, 2018; Α. Τσακίρης, 2017).

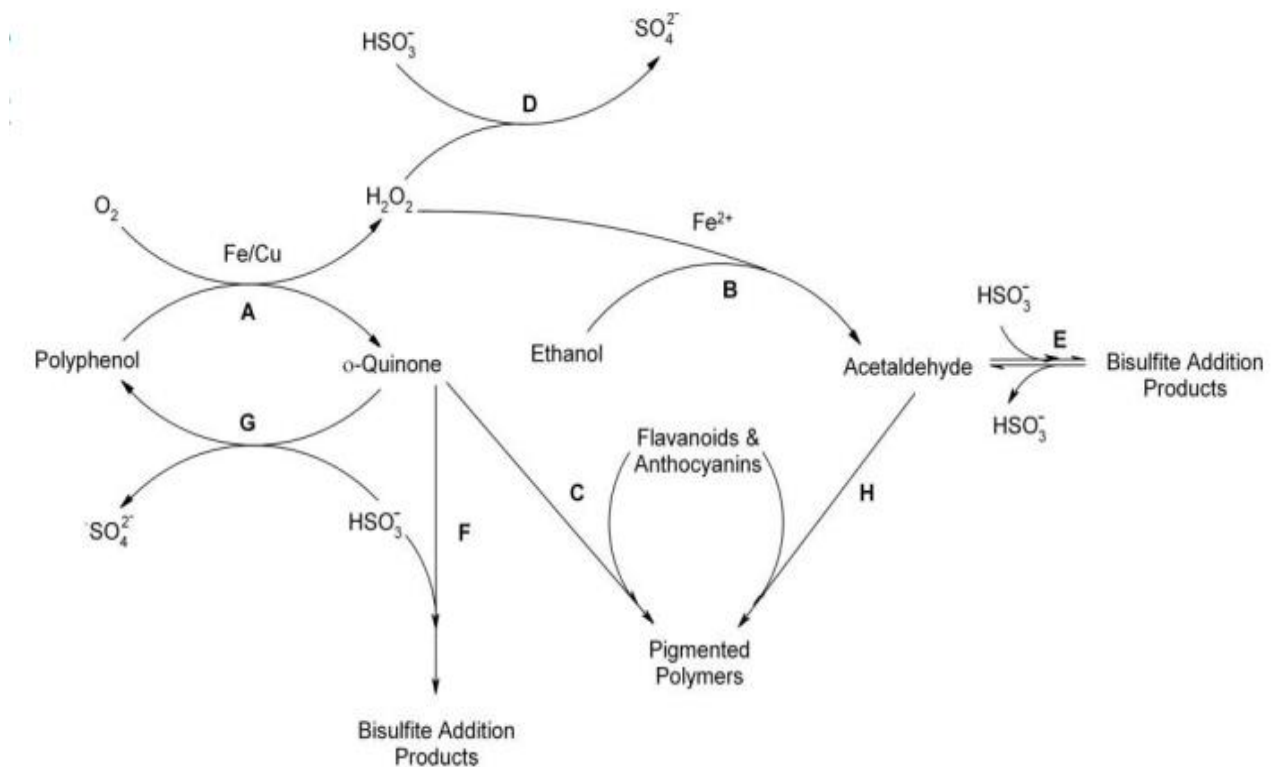
Πρόκειται για μία ουσία, όπου ένας από τους βασικούς της ρόλους, είναι ο αντιοξειδωτικός της χαρακτήρας. Συμμετέχει σε αρκετές αντιδράσεις οξείδωσης, αντιδρώντας με τις ανθοκυανίνες και με το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂), όπου είναι σημαντικά για τις αντιδράσεις συμπύκνωσης, όπως και να συνδεθεί με τις ανθοκυανίνες, προς αναστολή σχηματισμού πολυμερών χρωστικών. Επιπλέον, το θειώδες έχει την ικανότητα να μειώνει τις οξειδωμένες πολυφαινόλες πίσω στις ανηγμένες τους μορφές, καταλήγοντας έτσι στο συμπέρασμα ότι η μικροοξυγόνωση για να λειτουργήσει, χρειάζεται μικρές ποσότητες διοξειδίου του θείου (E. Gómez-Plaza, M. Cano-López, 2011).

Η πραγματοποίηση της μικρο-οξυγόνωσης έπειτα από την προσθήκη θειώδους, οδηγεί σε πιο χρονοβόρες και λιγότερο αποδοτικές αντιδράσεις, όπως επίσης θα επηρεάσει τις αντιδράσεις συμπίκνωσης των φαινολών και την παραγωγή της ακεταλδεΐδης.

Μία από τις δοκιμές που έγιναν, ώστε να υπολογιστεί κατά πόσο επιδρά το θειώδες, ήταν η προσθήκη του σε οίνο, με σκοπό να παρατηρηθεί η διαφορά ανάπτυξης πολυφαινολών, με και χωρίς προσθήκη οξυγόνου. Αυτό που εν τέλει αποδείχθηκε, είναι η προφανής επιρροή του θειώδους, στον πολυμερισμό της προανθοκυανιδίνης και στον σχηματισμό σταθερών χρωστικών ουσιών. Πιο συγκεκριμένα, μέσα ένα διάστημα έξι (6) εβδομάδων ο βαθμός πολυμερισμού έδειξε καθοδική τάση, ανεξαρτήτως παρουσίας οξυγόνου, εν παρουσία διοξειδίου του θείου. Αντίθετα, στην περίπτωση που δεν είχε προστεθεί, έγινε αύξηση του βαθμού. Παρόμοια αποτελέσματα φάνηκαν να έχουν και τα ποσοστά ανάπτυξης των πολυφαινολών, με επιβράδυνση της παραγωγής τους με την προσθήκη SO₂ (Dykes, 2007).

Γενικά, έχει αναφερθεί ότι με τον καιρό η συγκέντρωση ελεύθερου και ολικού θειώδους μειώνεται. Η μείωση αυτή είναι αντιστρόφως ανάλογη με την παραγωγή ανθεκτικών χρωστικών στον αποχρωματισμό από το διοξείδιο του θείου, έως ότου η συγκέντρωση των θειωδών φτάσει τα 10 και 40 mg / L αντίστοιχα. Αυτό αποδεικνύει, ότι ακόμα και εν παρουσία θειώδους σε συγκεντρώσεις εντός των ορίων, αντιδράσεις όπως: αιθανόλης για παραγωγή ακεταλδεΐδης και ακεταλδεΐδης προς σχηματισμό πολυμερών χρωστικών, μπορούν να συμβούν έστω και σε μικρό βαθμό (Tao et al., 2007; McCord, 2002).

Εικόνα 9: Συνολικά οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται, με εφαρμογή της Μικροοξυγόνωσης (L.M. Schmidtke et al., 2011).



3.8 Μικροβιακές αλλαγές που συμβαίνουν κατά τη Μικροοξυγόνωση

Στη διαδικασία της οινοποίησης, εκτός από τις ενώσεις που υπάρχουν στον οίνο και τον διαμορφώνουν, υπάρχουν και μικροοργανισμοί όπου επιδρούν αρνητικά στην τελική του ποιοτική κατάσταση. Δύο από τους πιο γνωστούς μικροοργανισμούς, όπου συντελούν στην αλλοίωση του οίνου, είναι: τα βακτήρια των οξικών οξέων και οι Βρετανομύκητες. Τα βακτήρια των οξικών οξέων, όπως είναι επόμενο, έχουν την ικανότητα να αυξήσουν τα επίπεδα των οξικών οξέων μέσω του οξειδωτικού μεταβολισμού της αιθανόλης. Από την άλλη, οι Βρετανομύκητες, συμμετέχουν στον σχηματισμό των πτητικών φαινολών, έχοντας ως αποτέλεσμα ένα από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, να είναι η αίσθηση της φαρμακίλας. Και στους δύο μικροοργανισμούς έχει αποδειχθεί άνοδος των συγκεντρώσεων τους, με την εισαγωγή περισσότερου οξυγόνου (Du Toit et al., 2005).

Για να διαπιστωθεί λοιπόν, ποια είναι η σχέση της μικροοξυγόνωσης με τους συγκεκριμένους μικροοργανισμούς, εφαρμόστηκε ένα πείραμα, στο οποίο εισήχθησαν μικρές ποσότητες οξυγόνου, ξεκινώντας από τα 1,5 mg/L και καταλήγοντας στα 3 mg/L, μέσα σε ένα διάστημα των 20 εβδομάδων. Σχετικά με τα βακτήρια των οξικών οξέων, παρατηρήθηκε απλά, ότι οι συγκεντρώσεις τους ήταν μεγαλύτερες συγκριτικά με το αρχικό δείγμα. Αυτό που τράβηξε το ενδιαφέρον ωστόσο, ήταν η αντίδραση του Βρετανομύκητα. Στις πρώτες δεκατέσσερις (14) εβδομάδες παρατηρείται αύξηση στην ποσότητα του Βρετανομύκητα και ταυτόχρονη πτώση της συγκέντρωσης του θειώδους στα 18 mg/L (Boulton et al., 1996). Μετά από προσθήκη θειώδους μέχρι να φτάσει την τιμή των 35 mg/L, η συγκέντρωση των Βρετανομυκητών μειώνεται. Ύστερα από την εισαγωγή της δεύτερης δόσολογίας οξυγόνου, το θειώδες ξανά μειώνεται, και αντίστοιχα οι Βρετανομύκητες αυξάνονται. Το τελικό στάδιο, είναι να ξανά αυξηθεί η ποσότητα του θειώδους πάλι στην τιμή των 35 mg/L, όπου και πλέον διατηρείται σταθερή. Σε αυτήν την περίπτωση δεν έδειξαν ιδιαίτερες αλλαγές οι τιμές των συγκεντρώσεων των Βρετανομυκητών. Έτσι συμπεραίνεται, ότι τελικά η μικροοξυγόνωση δεν επηρεάζει την αναπαραγωγή των μικροοργανισμών, παρά μόνο επιτρέπει την επιβίωση τους (Vivas et al., 2003). Εν κατακλείδι, κατά τη μικρο-οξυγόνωση θα πρέπει να ελέγχονται τα επίπεδα θειώσεως και οξυγόνου, ώστε να επιτευχθεί μία ισορροπία μεταξύ τους, η οποία θα δρα κατασταλτικά για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

3.9 Οίνοι Merlot

Η ποικιλία Merlot έγινε γνωστή από την περιοχή του Μπορντό της Γαλλίας. Η ονομασία του προέρχεται από τη γαλλική λέξη “merle” που σημαίνει κότσυφας και η ιστορία του θεωρείται αρκετά πολύπλοκη, καθώς το 1956, διάφορες ασθένειες και φυσικά αίτια, προκάλεσαν σχεδόν ολοκληρωτική εξάλειψη νέων κλιμάτων της ποικιλίας. Έκτοτε, η γαλλική κυβέρνηση απαγόρευσε την καλλιέργεια της συγκεκριμένης ποικιλίας, ειδικά μετά από την καταστροφή πολλών αμπελώνων λόγω σήψης. Εν τέλει, το 1975 καταργήθηκε η απαγόρευση της φύτευσης Merlot, και η καλλιέργεια της συνεχίστηκε. Αρχικά θεωρούταν ως μία υποδεέστερη ποικιλία, όπου την χρησιμοποιούσαν για να αφαιρεί την έντονη στυφότητα του Cabernet Sauvignon. Μετά από πολλά χρόνια και αφότου το Merlot είχε καλλιεργηθεί και σε άλλες οινοπαραγωγικές περιοχές της Γαλλίας, εμφανίστηκε ένα διαφορετικό προφίλ της ποικιλίας με γεμάτη και ισορροπημένη δομή και γεύση. Έτσι με την πάροδο των χρόνων, η ποικιλία αυτή κατέληξε δικαίως, να είναι μία από τις πιο καλλιεργούμενες παγκοσμίως καθώς και τα κρασιά που προέρχονται από αυτήν, να κατακτούν μία από τις πρώτες θέσεις ζήτησης και κατανάλωσης.

Η σύσταση ενός τελικού κρασιού επηρεάζεται από την κατάσταση της πρώτης ύλης (το σταφύλι) και από τις κλιματολογικές συνθήκες (θερμοκρασία, υγρασία, βροχοπτώσεις κ.α.). Τα ερυθρά κρασιά γενικά, πέραν του ότι έχουν όλο και περισσότερη ζήτηση, θεωρούνται ότι έχουν και υψηλότερη βιολογική αξία, λόγω των μεγαλύτερων συγκεντρώσεων ανθοκυανών, φαινολικών ενώσεων, φλαβανο-3-ολων (κατεχίνες και επικατεχίνες) και φλαβονολών (Motilva et al., 2016). Για τα περισσότερα κρασιά που προέρχονται από την ποικιλία Merlot, φαίνεται ότι σε μεγαλύτερα υψόμετρα αυξάνεται η συγκέντρωση των ανθοκυανών, των φαινολικών ενώσεων και των φλαβονοειδών. Επίσης, άλλες παράμετροι που επηρεάζουν τη σύσταση του κρασιού είναι, η περιεκτικότητα σε σάκχαρα (συνήθης μονάδα μέτρησης: Brix), το pH και το σύνολο του τρυγικού, μηλικού, κιτρικού και γαλακτικού οξέως, των οποίων η σύστασή τους επηρεάζεται από της συνθήκες του τρύγου (Casassa et al., 2019).

Το 2019 πραγματοποιήθηκε μία μελέτη σε ερυθρούς οίνους, από τους C. Raducu et al.. Για τη συγκεκριμένη μελέτη, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν οίνους από την ποικιλία Merlot, προερχόμενο από το οινοποιείο Asconi της Μολδαβίας. Για τα κρασιά αυτά, επιλέχθηκαν σταφύλια από συγκεκριμένα έτη συγκομιδής, όπου οι συνθήκες ήταν οι ιδανικές για την ωρίμαση της αμπέλου. Επίσης, ο τρύγος έγινε μόνο σε ώριμες ρώγες και χειρονακτικά, ώστε να είναι σίγουροι ότι η συλλογή τους αποτελείται καθαρά και μόνο από ρώγες και όχι από φύλλα ή άλλα μέρη της αμπέλου. Οι αναλύσεις των οίνων έδειξαν ότι πέρα από μεγάλη συγκέντρωση αλκοόλης, υπάρχει και υψηλή ποσότητα οξέων, με κυρίαρχες το οξικό και μηλικό οξύ, που δημιουργούνται ως αποτέλεσμα της αλκοολικής ζύμωσης (Tardea et al., 2007). Σε παρόμοια μελέτη που έγινε από τους συγγραφείς (Casassa et al., 2019; Peres et al., 2009), υπολογίστηκαν οι μέσες ποσότητες των κυρίων οξέων, σε οίνους Merlot, υψηλής ποιότητας ανά έτος παραγωγής. Ενδεικτικά οι μέσες τιμές των βασικών οξέων για τους τρύγους από το 2013 μέχρι το 2017 είναι: για το τρυγικό οξύ από (2.51 έως 2.82 mg/l), για το κιτρικό (0.19 έως 0.24 mg/l), για το μηλικό (1.01 έως 1.57 mg/l), ενώ για το γαλακτικό είναι (0.30 mg/l) και φτάνουν (0.39 mg/l). Ωστόσο, σε συνδυασμό και με άλλες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, υπολογίστηκαν και άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τον οίνο όπως, τη χρωματική ένταση, το pH και την ολική οξύτητα, οι τιμές των οποίων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 2 (Casassa et al., 2013; Jin et al., 2017; Jiang et al., 2012; Casassa et al., 2019).

Έτος τρύγου	pH	Χρωμ. Ένταση	Ολ. Οξύτητα(g/l)
2013	3,44	0,25	5,5
2014	3,41	0,78	6,4
2015	3,56	1,25	5,7
2016	3,55	2,17	5,3
2017	3,49	2,01	6,1

Η οργανοληπτική σύσταση ενός οίνου Merlot εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την περιοχή που καλλιεργείται, όπως και από τον τρόπο οινοποίησης. Σε πιο θερμά κλίματα εμφανίζονται πιο πολλά φρουτώδη χαρακτηριστικά, όπως δαμάσκηνα και black cherries και πιο απαλές τανίνες. Στην περίπτωση που ο οίνος έχει ωριμάσει σε δρύινα βαρέλια, κάτι το οποίο είναι πολύ συνηθισμένο, σε συνδυασμό με τα φρούτα υπάρχουν και νότες όπως βανίλια, κακάο και φουντούκι. Αντίθετα σε πιο ψυχρές περιοχές, οι οίνοι αυτοί φημίζονται για τις πιο σταθερές και έντονες τανίνες, και τα αρώματα της πράσινης πιπεριάς και του βοτανικού χαρακτήρα, λόγω μεγαλύτερων συγκεντρώσεων πυραζινών και των αρωματικών οργανικών ενώσεων. Γενικά ωστόσο, η ποικιλία αυτή δίνει κρασιά με μέτριο προς γεμάτο σώμα, μέτρια οξύτητα, μέτρια προς υψηλή αλκοόλη και στρογγυλές τανίνες, κάνοντας το ευκολόπιτο.

Προηγούμενες μελέτες που έχουν γίνει, δείχνουν ότι οίνοι οι Merlot μετά τη μηλογαλακτική ζύμωση, τη μικροοξυγόνωση και την προσθήκη τριμμάτων βελανιδιάς, τείνουν να συνεισφέρουν λιγότερες κίτρινες και ερυθρές αποχρώσεις. Κάτι τέτοιο πιθανολογείται ότι οφείλεται στη μείωση των φαινολικών που επηρεάζουν το χρώμα, μετά την έναρξη της μικροοξυγόνωσης, ωστόσο αξιοσημείωτη ήταν η θετική επίδραση που είχε στο σύνολο των αρωμάτων, σε σχέση με τα κρασιά όπου η μικροοξυγόνωση έγινε πριν τη μηλογαλακτική ζύμωση. Όταν η μικροοξυγόνωση λάμβανε χώρα πριν τη μηλογαλακτική, σημειώθηκαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε πολλές βενζολικές ενώσεις και εστέρες λιπαρών οξέων, καθώς και αλλαγές στις συγκεντρώσεις ορισμένων πτητικών ενώσεων. Τέλος, οι αλκοόλες και η ακεταλδεϋδη που συνδέονται με τα αρώματα είχαν ως αποτελέσματα χαμηλότερες συγκεντρώσεις στους οίνους Merlot που έχουν υποστεί μικροοξυγόνωση (M.J. Cejudo-Bastante et al., 2011).

3.10 Ωρίμαση σε βαρέλι ή Μικροοξυγόνωση;

Η χρήση των δρύινων βαρελιών είναι μία κοινή και παλιά μέθοδος, με έναν από τους στόχους της τη σταθεροποίηση των ερυθρών οίνων. Διάφορες χημικές ενώσεις που υπάρχουν στο ξύλο

όπως γαλλικό οξύ, ελλαγιτανίνες, φερουλικό οξύ κ.τ.λ., οι οποίες μεταβαίνουν από το ξύλο στο κρασί και σε συνεργασία με τις ανθοκυανίνες του οίνου, διαμορφώνουν τις τελικές χρωματικές ενώσεις (Jackson, 2008). Παρόλα αυτά, επιπλέον φαινολικές ενώσεις στο κρασί, εκτός από αυτών που λαμβάνονται μέσω του ξύλου, μπορούν να παραχθούν και μέσω των αντιδράσεων οξειδωσης που λαμβάνουν χώρα κατά την εισροή οξυγόνου δια του βαρελιού.

Το οξυγόνο κατά τη διαδικασία ωρίμασης έχει τρεις διόδους για να εισαχθεί στο εσωτερικό του βαρελιού. Η πρώτη περιλαμβάνει τις δόγες του βαρελιού (τα κομμάτια από τα οποία αποτελείται), σε ποσοστό μόλις 16 %, η δεύτερη είναι το πώμα του βαρελιού, όπου στην περίπτωση χρήσης πώματος από σιλικόνη, το ποσοστό εισροής οξυγόνου αγγίζει το ποσοστό του 21 %, ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό του 63 % διέρχεται από τα κενά μεταξύ των δογών. Βάση μιας έρευνας από τους (Ribereau-Gayon et al., 2006), υπολογίστηκε ότι η κατά προσέγγιση ποσότητα οξυγόνου που εισέρχεται μέσω του βαρελιού είναι 4 mg / L / μήνα. Η ακριβής ποσότητα είναι δύσκολο να προσδιοριστεί, καθώς επηρεάζεται από την υγρασία στον περιβάλλοντα χώρο του κελαριού, τη θερμοκρασία και την κυκλοφορία του αέρα (Vivas 1997).

Για να εντοπιστούν οι διαφορές μεταξύ της φυσικής ωρίμασης του οίνου μέσω του βαρελιού και της εφαρμογής της μικροοξυγόνωσης, διεξάχθηκε ένα πείραμα στο οποίο οι M. Cano-Lopez et al. (2009), πήραν έναν ερυθρό οίνο από την ποικιλία Monastrell, και μετά τη μηλογαλακτική ζύμωση, χώρισαν το κρασί σε τέσσερα τμήματα, όπου το πρώτο παρέμεινε στη δεξαμενή ως μάρτυρας, για τρεις μήνες, στο δεύτερο εφάρμοσαν την πρακτική της μικροοξυγόνωσης με την παροχή του οξυγόνου να ισούται με 3 mg/L/μήνα, για τρεις μήνες, επίσης το τρίτο το εισήγαγαν σε νέο δρύινο βαρέλι, ενώ το τέταρτο το έβαλαν σε παλιό δρύινο βαρέλι για το ίδιο χρονικό διάστημα με τα προηγούμενα.

Μετά το πέρας των τριών μηνών, μέσω των χρωματογραφικών αναλύσεων, παρατηρήθηκε ότι πράγματι το μικροοξυγονωμένο κρασί μοιάζει αρκετά με τα παλαιωμένα και ειδικά με αυτό που ωρίμασε στο νέο βαρέλι. Σε αντίθεση με τον μάρτυρα, όπου οι μονογλυκοσιδάσες των ανθοκυανών δεν μεταβλήθηκαν ιδιαίτερα, στα δείγματα της μικροοξυγόνωσης και της ωρίμασης στα δύο βαρέλια, φάνηκε πως η ποσότητα αυτή μειώθηκε, με υψηλότερη μείωση στο μικροοξυγονωμένο οίνο και σε αυτό που ωρίμασε στο καινούριο βαρέλι. Επίσης, μέσα σε αυτό το διάστημα παρατηρήθηκε αύξηση της χρωματικής έντασης, συμπεραίνοντας ότι η μείωση των ανθοκυανών δεν οφείλεται στην υποβάθμιση των χρωστικών ενώσεων, αλλά στις αντιδράσεις συμπύκνωσης που συμβαίνουν. Στην περίπτωση των ενώσεων που είναι συνδεδεμένες με μόρια αιθυλίου, πραγματοποιείται μία αύξηση τους στον μάρτυρα και στο κρασί

που ωρίμασε στα νέα βαρέλια, ενώ μείωση στο μικροοξυγονωμένο και στο δείγμα του παλιού βαρελιού. Αλλαγές συνεχίζουν να παρατηρούνται σε ομάδες καρβοξυ-πυρανοανθοκυανών, με τη συγκέντρωσή τους να αυξάνεται σε όλα τα δείγματα, και ακόμα περισσότερο στο μικροοξυγονωμένο και σε αυτό του παλαιού βαρελιού.

Στο πλαίσιο των χρωματικών μεταβολών, η κύρια διαφορά που διαπιστώθηκε ήταν στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Όπως στον μάρτυρα, έτσι και στο κρασί της μικροοξυγόνωσης, η ποσότητα των φαινολικών μειώθηκε, ενώ στα ωριμασμένα κρασιά αυξήθηκε λόγω της εκχύλισης φαινολικών από το ξύλο.

Το συμπέρασμα της έρευνας, ειδικά μετά την παραμονή των οίνων μέσα σε γυάλινες φιάλες, ήταν ότι η μικροοξυγόνωση μπορεί όντως να δώσει κρασιά παρόμοια με αυτά της ωρίμασης με την κλασική μέθοδο. Ωστόσο, υπήρχε η διαφορά κατά την αποθήκευση στα μπουκάλια, όπου εκεί τα δύο κρασιά δεν ακολουθούσαν την ίδια διαδρομή παλαίωσης, με τα φαινολικά του μικροοξυγονωμένου οίνου να μειώνονται και του άλλου να παραμένουν πρακτικά σταθερά. Συνεπώς, το βαρέλι πέραν της ικανότητάς του να σταθεροποιεί και να εμπλουτίζει το χρώμα, έχει και προστατευτικό χαρακτήρα, με τη βοήθεια αντιδράσεων που πραγματοποιούνται μεταξύ των αλδεϋδών του ξύλου και των φαινολικών ενώσεων του κρασιού (C. Sousa et al., 2005).

3.11 Φιλτράρισμα και Μικροοξυγόνωση

Ένας οίνος για να κατατάσσεται στην κατηγορία των ποιοτικών κρασιών, πέραν της καλής οσμής και γεύσης θα πρέπει να είναι και απαλλαγμένος από οποιαδήποτε μορφή θολώματος ή ιζημάτων. Για το λόγο αυτό, ο κάθε οινοπαραγωγός θα πρέπει να δώσει προσοχή πριν τη στιγμή της εμφιάλωσης, καθώς είναι μία μη αναστρέψιμη διαδικασία (Α. Τσακίρης, 2014). Ωστόσο, εκτός από άποψη αισθητικής, τα σωματίδια που μπορεί να βρίσκονται μέσα στον οίνο μπορούν να μεταβάλλουν και ολόκληρη τη σύσταση του κρασιού, μέσω ποικίλων αντιδράσεων που συμβαίνουν γενικά.

Έτσι λοιπόν, μια ομάδα ερευνητών (M.-P. Saenz-Navajas et al., 2017), προσπάθησαν να κατανοήσουν και να αποδείξουν πως η διαύγεια του οίνου επηρεάζει την τελική σύνθεση του, και κυρίως πως επηρεάζει την ποσότητα του θειώδους, των ζυμών και του διαλυμένου οξυγόνου. Όστε να το επιτύχουν αυτό, χρησιμοποίησαν 500 λίτρα οίνου από σταφύλια της ποικιλίας Merlot, της εσοδείας 2015, μετά τη μηλογαλακτική του ζύμωση, αποθηκεύοντας το σε 16 ανοξείδωτες δεξαμενές των 23 λίτρων. Στην πορεία, αυτές τις δεξαμενές τις χώρισαν

κατά το ήμισυ, με τις 8 να υποβάλλονται στη διαδικασία της μικροοξυγόνωσης με μία παροχή οξυγόνου των 15 mg/l/μήνα για 48 ημέρες, και τις υπόλοιπες 8 τις διατήρησαν ως είχαν, αποτελώντας τον μάρτυρα. Οι υποδιαιρέσεις των δεξαμενών συνεχίστηκαν, με τις τέσσερις από τις δεξαμενές να φιλτράρονται, με φιλτράχαρτο των 0,22 μm, και με τον οίνο των άλλων 4 δεξαμενών να παραμένει θολό. Στην πορεία σε κάθε μία από τις περιπτώσεις, προστέθηκαν και δύο διαφορετικές ποσότητες διοξειδίου του θείου, μία μικρή (22,3) mg/l και μία πιο μεγάλη (40,2 mg/l).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στις 32 – 35 ημέρες, στα μη φιλτραρισμένα κρασιά υπήρξε μείωση του διαλυμένου οξυγόνου, ξεπερνώντας το κατώφλι ανίχνευσης. Επίσης μετά το τέλος του πειράματος, παρατηρήθηκε αύξηση των ζυμών του στελέχους *Saccharomyces cerevisiae*, η οποία συνοδεύεται με αύξηση της ακεταλδεϋδης. Αυτό φαίνεται να συμβαίνει μετά περίπου τις 12-19 ημέρες, όπου το η συγκέντρωση του θειώδους ήταν κάτω των 5 mg/l, κάτι το οποίο σημαίνει ότι δεν υπήρχε η κατάλληλη προστασία ενάντια στην ανάπτυξη βακτηρίων και ζυμών, καθώς και για την έναρξη αντιδράσεων οξειδωσης. Αντίθετα, τα φιλτραρισμένα κρασιά τείνουν να συμβάλλουν στη συσσώρευση και αντίστοιχα στη μικρή άνοδο του διαλυμένου οξυγόνου, διότι το κρασί σε αυτήν την περίπτωση δεν έχει την ικανότητα να αντιδράσει με όλο το οξυγόνο. Επιπρόσθετα, παρατηρείται πως δεν υπάρχει περαιτέρω μικροβιακή ανάπτυξη, ή άνοδος της ακεταλδεϋδης, με τη συγκέντρωσή της να παραμένει πρακτικά σταθερή και αρκετά μικρότερη από αυτή στα μη φιλτραρισμένα κρασιά, ανεξαρτήτως της απώλειας του θειώδους. Με αφορμή την ανάπτυξη των ζυμών, ελέγχθηκε αν επηρεάζεται και το χρώμα του οίνου. Ωστόσο, τα αποτελέσματα φανέρωσαν ότι οι αλλαγές στο χρώμα οφείλονται κυρίως στη μικροοξυγόνωση, που επηρεάζεται άμεσα από την αρχική συγκέντρωση του θειώδους, καθώς η αυξημένη ποσότητα των ζυμών, αλλά και της ακεταλδεϋδης, με μεγάλη ή μικρή περιεκτικότητα θειώδους, δεν επιφέρει τρομερά μεγάλες αλλαγές στις χρωστικές και στο δείκτη των φαινολικών ουσιών. Συνεπώς, κατά τη διάρκεια της μικροοξυγόνωσης εκτός από την παρακολούθηση του οξυγόνου, είναι εξίσου σημαντικό να ελέγχεται και η μικροβιακή δραστηριότητα του οίνου, για την επίτευξη των επιθυμητών αποτελεσμάτων.

Κεφάλαιο 4^ο

Πειραματικό Μέρος

4.1 Υλικά και Μέθοδοι

4.1.1 Υλικά

Για την υλοποίηση του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε μία ανοξειδωτή δεξαμενή των 250 lt η οποία απογεμίστηκε με οίνο προερχόμενο από σταφύλια της ποικιλίας Merlot, από τα αμπέλια του οινοποιείου «ΝΕΣΤΩΡ ΑΕ», στην περιοχή του Πύργου Τριφυλίας, στο νομό Μεσσηνίας και πιο συγκεκριμένα στο τοπωνύμιο Φιλιατρά.

Για την παραγωγή του οίνου ακολουθείται η πορεία της ερυθρής οινοποίησης. Αρχικά γίνεται ο απορραγισμός (διαχωρισμός ραγών από τα τσάμπουρα) και έπειτα η έκθλιψη των ραγών για την απελευθέρωση του χυμού. Στην πορεία το μείγμα στέμφυλων και χυμού μεταφέρεται στην δεξαμενή για την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης σε θερμοκρασία 21°C - 22°C. Κατά την αλκοολική ζύμωση, γίνεται διαβροχή των στέμφυλων ανά μία (1) ώρα για πέντε (5) λεπτά, ώστε να αποφευχθεί η οξείδωση του καπέλου που έχει σχηματιστεί στην επιφάνεια της δεξαμενής, λόγω της άνωσης των φλοιών από το διοξείδιο του άνθρακα και για την καλύτερη και πιο ήπια εκχύλιση φαινολικών και χρώματος στο κρασί, για περίπου οκτώ (8) με εννέα (9) ημέρες. Μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης, και αφού γίνει διαχωρισμός των στέμφυλων, το κρασί υποβάλλεται και σε μία δεύτερη ζύμωση, τη μηλογαλακτική, με σκοπό τη μείωση οξύτητας και τη βιολογική σταθερότητά του.

Μετά το πέρας των δύο ζυμώσεων, και πριν τεθεί σε εφαρμογή το σύστημα της μικροοξυγόνωσης, λαμβάνεται ένα πρώτο δείγμα, όπου αποτελεί τον μάρτυρα, ο οποίος αναλύεται, ώστε να ελεγχθεί η κατάσταση του οίνου στη συγκεκριμένη φάση και για να γίνει αντιληπτή η εξέλιξη του οίνου, από την αρχή έως το τέλος του πειράματος. Εφόσον πραγματοποιηθεί λοιπόν η ανάλυση του αρχικού δείγματος, γίνεται σύνδεση του παροχέα οξυγόνου με τη δεξαμενή. Σκοπός της εφαρμογής αυτής, είναι η δυνατότητα συγκεκριμένης δοσολογίας οξυγόνου με σταθερή ροή, η οποία να αγγίζει τα 4 mg οξυγόνου/l οίνου/μήνα, όσο περίπου καταναλώνεται και στο βαρέλι κατά την ωρίμαση, για το χρονικό διάστημα των έξι (6) εβδομάδων. Για τον σωστό έλεγχο του πειράματος, εντός αυτών των 6 εβδομάδων γίνεται δειγματοληψία, χημική και οργανοληπτική ανάλυση του οίνου ανά 10 ημέρες, στοχεύοντας στην παραγωγή οίνου παρόμοιου, με έναν οίνο ωρίμασης σε δρύινο βαρέλι, τόσο ως προς τη

χημική του σύσταση, όσο και ως προς την οργανοληπτική του διαμόρφωση, χωρίς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που αντλεί από ξύλο.

Όλη η διαδικασία του πειράματος, συμπεριλαμβανομένου της μικροοξυγόνωσης, τις γενικές μετρήσεις που περιλαμβάνουν τους υπολογισμούς αλκοόλης, θειώδους, pH, ολικής και πτητικής οξύτητας, τις μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο, αλλά και τις οργανοληπτικές δοκιμές, έλαβαν χώρα στις εγκαταστάσεις του Ιδρύματος.

- Στις 13/4: Έγινε η πρώτη δειγματοληψία του οίνου και η ανάλυση αυτού προς μικροοξυγόνωση.
- Στις 14/4: Γίνεται θείωση λόγω χαμηλού επιπέδου του ελεύθερου θειώδους (κάτω από 20mg/L) και έναρξη της μικροοξυγόνωσης.
- Στις 21/4: Λαμβάνονται οι πρώτες αναλύσεις.
- Στις 26/4: Ανάλυση και γευστική δοκιμή του οίνου. Σύγκριση, του μάρτυρα με το με την πρώτη φάση αλλαγής.
- Στις 5/5 – 10/5 -20/5 & 2/6: Συνεχίζονται κανονικά οι διαδικασίες ανάλυσης και οργανοληπτικού ελέγχου.

4.1.2 Όργανα και Σκεύη

- Μηχάνημα μικροοξυγόνωσης
- Σιφόνια πληρώσεως
- Φασματοφωτόμετρο UV-VIS
- Γυάλινες κυψελίδες πάχους 10mm
- Κυψελίδες χαλαζία πάχους 10mm
- Ογκομετρικές φιάλες των 200ml

4.1.3 Μέτρηση Χρωματικής Έντασης – Απόχρωσης & Δ.Φ.Ο

✓ Χρωματική Ένταση & Χρωματική Απόχρωση

Για να είναι εφικτός ο υπολογισμός της χρωματικής έντασης στον οίνο, θα πρέπει να προηγηθεί μία αραιώση στο κάθε δείγμα οίνου της αναλογίας 1:5, δηλαδή στα 20 ml οίνου, προστίθεται 80 ml νερού. Στην πορεία, το κάθε αραιωμένο δείγμα, εισάγεται στο φασματοφωτόμετρο και υπολογίζεται η απορρόφηση του σε τρία (3) μήκη κύματος: 420 nm, 520 nm και 620nm.

Η περιοχή των 420 nm αντιστοιχεί στην απορρόφηση του κίτρινου φωτός, σε αντίθεση με τις περιοχές των 520 nm και 620 nm, όπου βρίσκονται οι περιοχές του ερυθρού και του κυανού αντίστοιχα.

Ως χρωματική ένταση (I) ενός ερυθρού οίνου ονομάζεται το άθροισμα των απορροφήσεων σε αυτά τα τρία (3) μήκη κύματος. Το εύρος τιμών της έντασης, συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 4-20. Όσο υψηλότερη είναι η τιμή της έντασης, τόσο πιο σκουρόχρωμος είναι ο οίνος.

Ως χρωματική απόχρωση (S) ενός ερυθρού οίνου, θεωρείται το πηλίκο της απορρόφησης στα 420 nm προς αυτήν στα 520 nm. Το εύρος τιμών σε αυτήν την περίπτωση κυμαίνεται από 0,5 – 1,5. Όσο υψηλότερη είναι η τιμή απόχρωσης, τόσο πιο καφέ (και συνεπώς πιο χρωματικά εξελιγμένος) εμφανίζεται ο οίνος.

$$I = (O.D420nm *5) + (O.D520nm *5) + (O.D620nm *5)$$

✓ Δείκτης Ολικών Φαινολικών (Δ.Φ.Ο)

Μέσω της μέτρησης του Δ.Φ.Ο γίνεται παρακολούθηση εξέλιξης της εκχύλισης κατά τη διάρκεια της ερυθρής οινοποίησης, όπου ανάλογα τις μετρήσεις λαμβάνεται η απόφαση για τη διακοπή ή την συνέχιση της εκχύλισης.

Η μέτρηση του Δ.Φ.Ο είναι εφικτό να προσδιοριστεί με 3 μεθόδους:

1. Φασματοφωτομετρία VIS (750nm) – Μέθοδος Folin Clocalteau
2. Φασματοφωτομετρία UV (280nm)
3. Μέθοδος υπερμαγγανικού Καλίου (KMnO₄)

Στο πείραμα της εργασίας χρησιμοποιήθηκε η μέτρηση σε φασματοφωτόμετρο στα 280 nm με αραιώση του δείγματος 1:100.

Φασματοφωτομετρία 280nm:

Η μέθοδος στηρίζεται στην απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) από τους βενζολικούς δακτυλίους των πολυφαινολών. Κάθε μόριο πολυφαινόλης περιέχει έναν τέτοιο δακτύλιο, κατά συνέπεια η απορρόφηση της ακτινοβολίας UV σε έναν ερυθρό οίνο είναι ανάλογη με την περιεκτικότητά του σε πολυφαινόλες.

• **Πλεονεκτήματα μεθόδου**

- I. Είναι γρήγορη
- II. Δεν απαιτεί αντιδραστήριο
- III. Είναι ακριβής

• **Μειονεκτήματα μεθόδου**

- I. Δεν εφαρμόζεται σε λευκούς οίνους

$\Delta.Φ.Ο (280nm) = n * 100$, όπου n η απορρόφηση (Ειδικές τεχνικές οινοποίησης, παρουσιάσεις e-class)

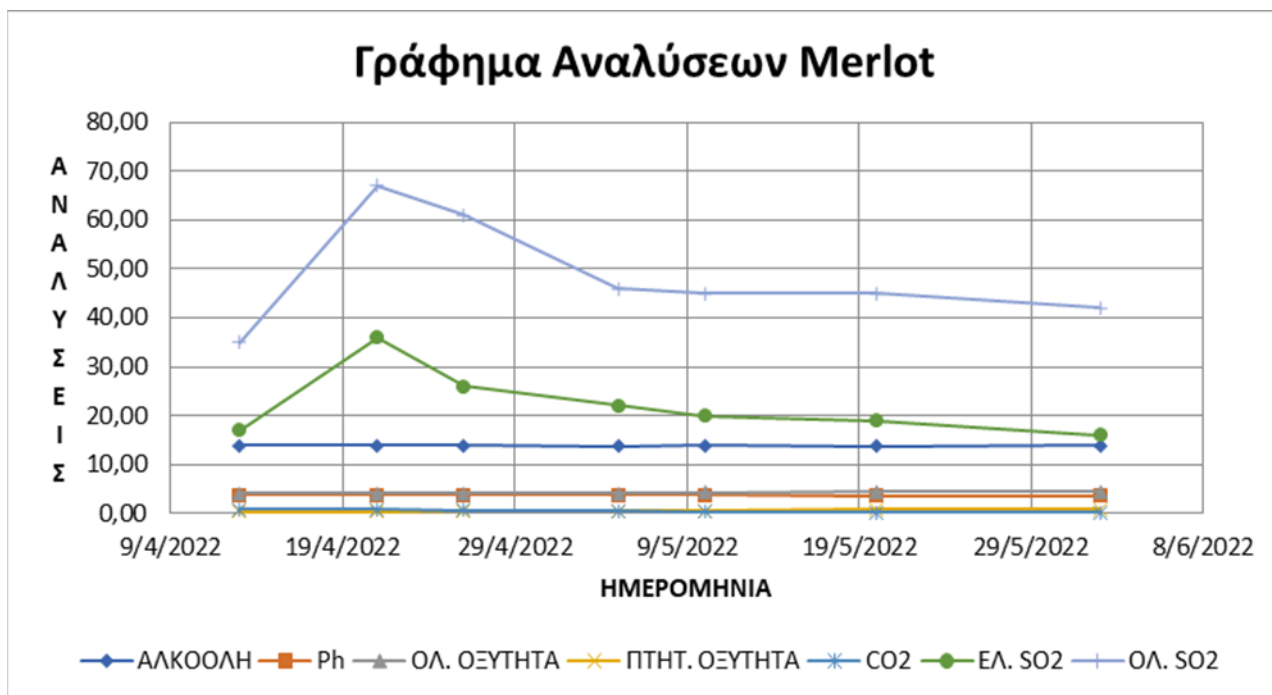
4.2 Μετρήσεις και Αποτελέσματα

4.2.1 Σχολιασμός Αναλύσεων

Για την παρασκευή ενός οίνου, είναι απαραίτητη η ανάλυση του σε κάθε στάδιο της οινοποίησης, είτε αυτές γίνονται με τις κλασικές μεθόδους, είτε με αυτόματους αναλυτές, στοχεύοντας κατ' αυτόν τον τρόπο, στη μέγιστη δυνατή ποιοτική παραγωγή οίνου. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των χημικών αναλύσεων στο κάθε δείγμα.

MERLOT								
	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ	ΑΛΚΟΟΛΗ (% ABV)	pH	ΟΛ. ΟΞΥΤΗΤΑ (g τρυγ. οξ./ltr)	ΠΤΗΤ. ΟΞΥΤΗΤΑ (g οξ. οξ./ltr)	CO2 (g/ltr)	ΕΛ. SO2 (mg/ltr)	ΟΛ. SO2 (mg/ltr)
Μάρτυρας	13/4/2022	13,9	3,7	4,05	0,4	0,8	17	35
1ο δείγμα	21/4/2022	13,9	3,7	4,05	0,4	0,8	36	67
2ο δείγμα	26/4/2022	13,9	3,7	4,1	0,45	0,6	26	61
3ο δείγμα	5/5/2022	13,8	3,72	4,13	0,47	0,5	22	46
4ο δείγμα	10/5/2022	13,85	3,72	4,2	0,5	0,3	20	45
5ο δείγμα	20/5/2022	13,82	3,6	4,4	0,75	0,22	19	45
6ο δείγμα	2/6/2022	13,85	3,67	4,35	0,75	0,2	16	42

Πίνακας 2 Μέτρηση αναλύσεων οίνου Merlot, ανά περίπου δέκα ημέρες. *14/4/2022 προσθήκη 20 mg/ltr SO2



Πίνακας 3 Γράφημα αναλύσεων οίνου Merlot

Παρατηρώντας τους παραπάνω πίνακες 3 & 4 διαπιστώνεται ότι η αλκοόλη, το pH και η ολική οξύτητα, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, παραμένει σχετικά σταθερή με πολύ μικρές αλλαγές στις τιμές οι οποίες μπορεί και να ευθύνονται σε σφάλμα μετρήσεων. Επίσης, παρατηρείται και μία μικρή αύξηση της πτητικής οξύτητας. Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε πάλι σε σφάλμα μετρήσεων, είτε στην οξείδωση της αλκοόλης, πράγμα που συμβαίνει κατά τη διάρκεια της ωρίμασης στο βαρέλι.

Όσο αφορά το CO₂, υπάρχει μία σταδιακή πτώση η οποία σε ένα μεγάλο ποσοστό οφείλεται στην προσθήκη οξυγόνου, όπου με την εισροή του απομακρύνει το διοξείδιο του άνθρακα.

Το θειώδες αρχικά είναι αρκετά χαμηλό ώστε να προστατέψει τον οίνο από την οξείδωση, συνεπώς προσθέτουμε 25gr/tn SO₂. Αφού φτάσουμε σε ένα επιθυμητό επίπεδο θειώσης και ξεκινήσει η μικροοξυγόνωση, ακολουθεί μία αργή πτώση του θειώδους, κάτι το οποίο ήταν και αναμενόμενο, μιας και ο σκοπός του θειώδους είναι να συνδεθεί με την ακεταλδεΐδη και τις ανθοκυάνες, ώστε να προστατέψει τον οίνο από το οξυγόνο.

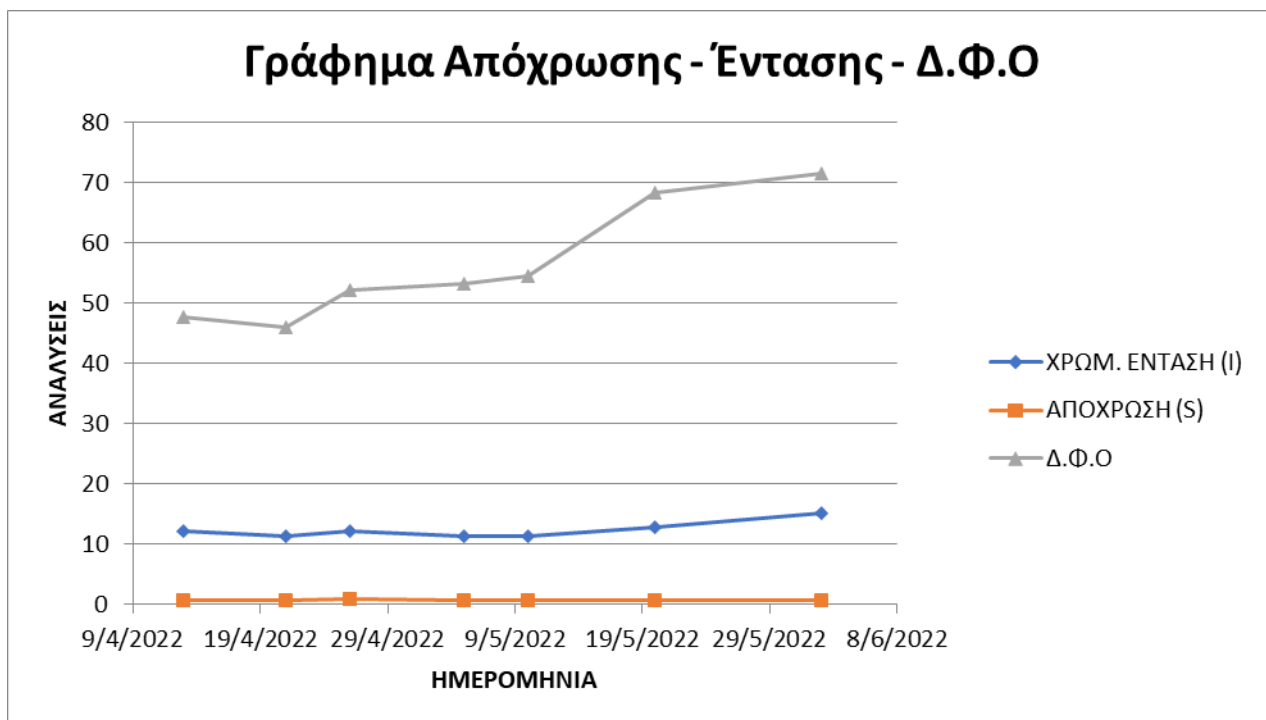
Όσο αφορά την ένταση, την απόχρωση και το δείκτη φαινολικών ουσιών (Δ.Φ.Ο), αυτό που αναμένεται είναι μία άνοδος στις τιμές τους, όπως και γίνεται. Τη δεύτερη μέρα των μετρήσεων παρατηρείται μία ξαφνική μείωση των τιμών, η οποία όμως, μπορεί να βασιστεί πάνω στο γεγονός ότι έγινε προσθήκη θειώδους, έχοντας ως αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του στη φάση αυτήν.

Γενικά όπως φαίνεται και στους πίνακες 4 & 5, υπάρχει αύξηση της έντασης, της απόχρωσης και του Δ.Φ.Ο, αλλά όχι ραγδαία. Το γεγονός αυτό, πολύ πιθανό να οφείλεται στο ότι η μικροοξυγόνωση έγινε μετά το πέρας της μηλογαλακτικής ζύμωσης και μετά από προσθήκη SO₂. Κατ' αυτόν τον τρόπο, οι αντιδράσεις πραγματοποιούνται πιο αργά, καθώς και η προσθήκη θειώδους μπορεί να αποτελέσει μία αιτία ανεξάρτητη, διότι το διοξείδιο του θείου συνδέεται με την ακεταλδεΐδη και δεσμεύει το οξυγόνο, έχοντας σαν αποτέλεσμα να μην εξελίσσονται τα φαινοτικά με ταχύτερους ρυθμούς.

4.2.2 Οργανοληπτική δοκιμή & Σχολιασμός

Merlot				
	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ	ΧΡΩΜ. ΕΝΤΑΣΗ (I)	ΑΠΟΧΡΩΣΗ (S)	Δ.Φ.Ο
Μάρτυρας	13/4/2022	12,1	0,67	47,7
1ο δείγμα	21/4/2022	11,33	0,7	46
2ο δείγμα	26/4/2022	12,07	0,79	52,2
3ο δείγμα	5/5/2022	11,215	0,72	53,20
4ο δείγμα	10/5/2022	11,29	0,70	54,5
5ο δείγμα	20/5/2022	12,73	0,68	68,4
6ο δείγμα	2/6/2022	15,185	0,72	71,6

Πίνακας 4: Αποτελέσματα Έντασης, Απόχρωσης και Δ.Φ.Ο σε οίνο Merlot



Πίνακας 5: Γράφημα Απόχρωσης, Έντασης και Δ.Φ.Ο σε οίνο Merlot

Σε αντίθεση με το κομμάτι των αναλύσεων, ο οργανοληπτικός έλεγχος εξαρτάται αποκλειστικά από τις ανθρώπινες αισθήσεις (όραση, οσμή, γεύση) . Με τη χρήση του οργανοληπτικού, ο δοκιμαστής μπορεί αρκετές φορές να αντιληφθεί την παρουσία ενώσεων που δεν μπορούν να προσδιοριστούν χημικά. Σκοπός μέσα από τη διαδικασία αυτή, είναι η επεξήγηση της οσμής και της γεύσης του οίνου.

Οργανοληπτικός έλεγχος του κρασιού έγινε από ειδικά καταρτισμένους δοκιμαστές του τμήματος.

Λαμβάνοντας υπόψη τους πίνακες 5 και 6, παρατηρείται ότι η μεταβολή των τιμών της χρωματικής έντασης και απόχρωσης καθώς και του δείκτη φαινολικών, δεν είναι μεγάλη. Αυτό γίνεται αντιληπτό και στη οργανοληπτική δοκιμή, καθώς εξ' αρχής υπήρχε ένα σκούρο σε ένταση κρασί που στο τέλος του πειράματος εμφανίζει μία ελάχιστα μεγαλύτερη ένταση κάνοντας το ακόμα πιο σκουρόχρωμο. Από την άλλη, η απόχρωση του κρασιού είναι γενικά σταθερή.



Εικόνα 10: Σύγκριση του αρχικού δείγματος Merlot (μάρτυρας) με το δείγμα στις 26/04/2022.

Αρχικά έχουμε ένα κρασί διαυγές, το οποίο παραμένει έτσι καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, με εμφανή τα ζωικά του χαρακτηριστικά και τα φρέσκα κόκκινα φρούτα με κυρίαρχα το δαμάσκηνο και το βατόμουρο, τις έντονες ζωηρές τανίνες, καθώς και η οξύτητα του στην αρχή φαίνεται να είναι να πιο επιθετική, δίνοντας την εικόνα ενός τριγωνικού κρασιού.

Κατά την διαδικασία της μικροοξυγόνωσης, τα αρώματα και οι γεύσεις εμπλουτίζονται με το ζωικό στοιχείο της ποικιλίας, το φρέσκο φρούτο εξασθενεί και τη θέση του παίρνουν ώριμα κόκκινα φρούτα με γλυκές νότες και μαρμελάδα. Οι τανίνες σε συνδυασμό με την οξύτητα, από τα μέσα του πειράματος και μετά στρογγυλεύουν ακόμα περισσότερο, δημιουργώντας μία ισορροπία στη δομή και στην πολυπλοκότητα του οίνου.

Μέχρι και το τέλος του πειράματος, ο οίνος δε δείχνει σημάδια κούρασης. Αντιθέτως, σε όλα τα δείγματα η οξείδωση δεν καλύπτει τα χαρακτηριστικά που έχουν δημιουργηθεί, καθώς επίσης και το γεγονός ότι δεν υπάρχουν ίχνη αλεϋδικού αρώματος, δηλώνει την ύπαρξη ενός κρασιού το οποίο επιδέχεται ακόμα μικροοξυγόνωση.

Συγκριτικά, από τα πέντε δείγματα που αναλύθηκαν, πιστεύεται ότι στα 2 τελευταία, η μικροοξυγόνωση έχει δώσει πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα σε σχέση με τα αρχικά, δίνοντας έναν οίνο πιο ολοκληρωμένο:

- Χρωματικά: μικρή αλλαγή έντασης ωστόσο
- Αρωματικά: το κρασί σε αυτό το στάδιο έχει πιο στρογγυλεμένα, σταθερά, έντονα και πλούσια αρώματα
- Γευστικά: υπάρχει μεγαλύτερη ισορροπία, πιο στιβαρές και όμορφα διαμορφωμένες τανίνες, ωραία πολυπλοκότητα και δομή σώματος. Η αρμονία μεταξύ της αλκοόλης, της οξύτητας, των τανινών και των γεύσεων, προσδίδουν έναν οίνο που καταναλώνεται ευχάριστα και ο οποίος αφήνει πίσω του μία μέτρια χρονικά, αλλά έντονη επίγευση, δίνοντας επίσης στον δοκιμαστή να καταλάβει ότι πλέον το κρασί είναι πιο σταθερό.

ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΛΛΑΓΗ ΑΠΟ ΤΟ 1 – 5 ΣΤΟ ΤΕΛΙΚΟ ΟΙΝΟ
Διαύγεια	0
Χρωματική Ένταση	2
Χρωματική Απόχρωση	2
Αρωματικό Προφίλ	4
Γευστικός Χαρακτήρας	5
Τανίνες	4
Οξύτητα	3
Αλκοόλη	2

Πίνακας 6: Αλλαγή από την αρχική έως την τελική οργανοληπτική διαμόρφωση του οίνου



Εικόνα 11 Οργανοληπτικός έλεγχος στους οίνους Αγιωργίτικο, Merlot & Cab. Sauvignon, στο τέλος του πειράματος

Κεφάλαιο 5^ο

Συμπεράσματα

Η μικροοξυγόνωση είναι ένας τρόπος να βελτιώσει τη δομή των ερυθρών κρασιών και ειδικά αυτών που έχουν υψηλά ποσοστά τανινών. Πρόκειται για μία μέθοδο παρασκευής οίνων, η οποία έχει ως στόχο την επιτάχυνση της ωρίμασης του προϊόντος, συγκριτικά με την παραμονή του στο βαρέλι. Ωστόσο, στην πορεία αποδείχθηκε ότι πρόκειται για ένα πιο οικονομικό μέσο παρασκευής ερυθρών οίνων, όπου εκτός της εξοικονόμησης χρόνου, οι οινοπαραγωγοί έχουν τη δυνατότητα να δημιουργήσουν ένα κρασί, με τα επιθυμητά σε αυτούς οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, ανάλογα με την ποσότητα και την διάρκεια εισροής οξυγόνου.

Ερυθρός οίνος προερχόμενος, από μία ευρέως γνωστή ποικιλία (Merlot), επιλέχθηκε για να μελετηθεί κατά πόσο το οξυγόνο επηρεάζει την εξέλιξη του οίνου μετά την μηλογαλακτική ζύμωση (MLF).

Η παροχή του οξυγόνου καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος ήταν σταθερή, αγγίζοντας την ποσότητα των 4 mg/lit οίνου/μήνα, για περίπου έξι (6) εβδομάδες, προσπαθώντας να προσομοιαστεί η ίδια διαδικασία της ωρίμασης στα δρύινα βαρέλια.

Η σταθερή εισαγωγή του οξυγόνου στον οίνο Merlot μετά τη μηλογαλακτική ζύμωση δεν έδειξε να προκαλεί μεγάλες αλλαγές στην διαμόρφωση των οινολογικών παραμέτρων:

- Με την αλκοόλη, το pH και την ολική οξύτητα να παραμένουν ουσιαστικά αμετάβλητες.
- Να παρατηρείται μία αύξηση στην πτητική οξύτητα (πάνω του 85%), όπου πιθανότητα να βασίζεται στην οξείδωση της αλκοόλης, καθώς και μείωση του διοξειδίου του άνθρακα (πάνω του 70%), η οποία οφείλεται στην απομάκρυνσή του από την εισροή του οξυγόνου.
- Η σύνδεση του θειώδους με την ακεταλδεΐδη και τις ανθοκυάνες οδηγούν στην αργή μείωση του, προστατεύοντας το έτσι από την παρουσία οξυγόνου.
- Επιπλέον, αξιοσημείωτη είναι και η αύξηση των φαινολικών σε ποσοστό περίπου 50%, όπου ήταν και ένας από τους στόχους της εργασίας.

Ωστόσο, όσο αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, εκεί παρατηρείται μια πιο αισθητή επίδραση του οξυγόνου, πιο αναλυτικά:

- Υπάρχουν μικρές, αλλά διακριτές μεταβολές στη χρωματική ένταση, καθώς επίσης και στην απόχρωση.
- Μετατροπή των φρέσκων φρουτώδη αρωμάτων και γεύσεων σε πιο συμπυκνωμένα, με πιο στιβαρές και πλούσιες τανίνες, μεγαλύτερη πολυπλοκότητα και πιο γεμάτο σώμα.

Καθώς η μικροοξυγόνωση, αποτελεί πλέον ένα χρήσιμο εργαλείο στην οινοπαραγωγή, είναι σημαντικό να γίνουν περαιτέρω έρευνες σχετικά με:

- Τον τρόπο που αλληλεπιδρούν το οξυγόνο με τις χημικές αλλαγές, που είναι απαραίτητες για τα επιθυμητά αποτελέσματα.
- Την εφαρμογή και αντίστοιχα την απόδοση της σε μεγαλύτερες δεξαμενές, ώστε να μπορέσει να πραγματοποιηθεί και σε βιομηχανικής κλίμακας οινοποιεία.
- Τα κινητικά δεδομένα, και την κατανόηση στο πως είναι δυνατή η ύπαρξη ακεταλδεΐδης με την παρουσία του ελεύθερου θειώδους.

Βιβλιογραφία

1. A. I. Camacho de Freitas (2017) *Micro-oxygenation in Madeira Wine* – University of Madeira
2. A. Tudo et al. (2015) Effect of acetaldehyde addition on the phenolic substances and volatile compounds of red Tempranillo wines - *Australian Journal of Grape and Wine Research* 22, 205–214, 2016
3. Atanasova et al. (2001) Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making - *Analytical Chemical Acta* 458 (2002) 15–27
4. B. Jiang and Z. W. Zhang (2012) Comparison on Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Cabernet Sauvignon and Merlot Wines from Four Wine Grape-Growing Regions in China - *Molecules*, 17 (8), 8804–8821.
5. Bakker, J. and Timberlake, C. F. (1997) Isolation, identification and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *J. Agric. Food Chem.* 45: 35–43.
6. Blaauw DA. *Micro-oxygenation in contemporary winemaking*. Cape Wine Academy; 2009.
7. C. Raducu et al., (2019) Characterization of Merlot dry red wine composition according to the year of production - *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, Vol. XXIII, 2019
8. C. Saucier et al. (1997) Characterization of (+)-Catechin-Acetaldehyde Polymers: A Model for Colloidal State of Wine Polyphenols - *J. Agric. Food Chem.*,
9. C. Sousa et al., (2005) Preliminary study of oaklins, a new class of brick-red catechinpyrylium pigments resulting from the reaction between catechin and wood aldehydes - *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9249–9256.
10. Dykes, S. and Kilmartin, P. (2007) Micro-oxygenation: Optimising the maturation process. *Aust. Wine Ind. J.* 22: 31–41.
11. E. Gómez-Plaza and M. Cano-López (2010) A review on micro-oxygenation of red wines: Claims, benefits and the underlying chemistry - *Food Chemistry* 125 (2011) 1131–1140
12. Felipe Laurie et al. (2014) Periodic Aeration of Red Wine Compared to Microoxygenation at Production Scale - *Am. J. Enol. Vitic.* 65:2 (2014)
13. G. Han et al. - Yeast alter micro-oxygenation of wine: Oxygen consumption and aldehyde production
14. H. Fulcrand et al. (1996) Study of the acetaldehyde induced polymerisation of flavan-3-ols by liquid chromatography-ion spray mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 752: 85–91.
15. K. Chira et al., (2010) Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age - *Food Chemistry* 126 (2011) 1971–1977
16. Kelly, M. and Wollan, D. (2002). *Method and apparatus for oxygenating wine* - World Intellectual Property Organisation, Australia.
17. L. F. Casassa et al., (2013) Effect of extended maceration and ethanol concentration on the extraction and evolution of phenolics, colour components and sensory attributes of Merlot wines - *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19, 25–39
18. L. F. Casassa et al., (2013) Influence of Fruit Maturity, Maceration Length, and Ethanol Amount on Chemical and Sensory Properties of Merlot Wines - *Am. J. Enol. Vitic.*, 64, 437–449.

19. L. F. Casassa et al., (2019). Microwave-Assisted Extraction Applied to Merlot Grapes with Contrasting Maturity Levels: Effects on Phenolic Chemistry and Wine Color. *Fermentation*, 5(1), 15
20. L. Picariello et al. (2017) Enological tannins affect acetaldehyde evolution, colour stability and tannin reactivity during forced oxidation of red wine - *International Journal of Food Science and Technology* 2017
21. L.M.Schmidtke et al. (2011) Micro-Oxygenation of Red Wine: Techniques, Applications, and Outcomes - *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:115–131 (2011)
22. Loch, R. (2002) Micro-oxygenation: A large winery case study. In: ASVO Proceedings of Seminar “Use of gases in winemaking.” pp. 45–53. Allen, M., Ed., Australian Society for Viticulture and Oenology, Adelaide.
23. M. A. Joslyn and C. L. Comar (1941) Role of Acetaldehyde in Red Wines -Division of Fruit Products, University of California, Berkeley, Calif, *Industrial and Engineering Chemistry*
24. M. Cano-López et al., (2009) Oak barrel maturation vs. micro-oxygenation: Effect on the formation of anthocyanin-derived pigments and wine colour - *Food Chemistry* 119 (2010) 191 - 195
25. M. Cano-Lopez, (2008) Effect of micro-oxygenation on color and anthocyanin-related compounds of wines with different phenolic contents. *J. Agric. Food Chem.* 56: 5932–5941.
26. M. J. Motilva et al., (2016) Human bioavailability and metabolism of phenolic compounds from red wine enriched with free or nano-encapsulated phenolic extract - *Journal of Functional Foods*, 25, 80–93.
27. M. Lesica and T. Kosmerl (2009) Microoxygenation of red wines - *Acta agriculturae Slovenica*, 93 - 3, september 2009 str. 327 – 336
28. M. Moutounet et al. (2001) Wine microoxygenation Principles and technological applications. *Ind Bevande*. 2001;30:253-8.
29. M. Parish et al. Micro-oxygenation – a review - *Wine Network Australia Pty Ltd*
30. M.J. Cejudo-Bastante et al. (2011) Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part II: Merlot wines - *Food Chemistry* 124 (2011) 738–748
31. M.-P. Sáenz-Navajas et al. (2017) Understanding microoxygenation: Effect of viable yeasts and sulfur dioxide levels on the sensory properties of a Merlot red wine - *Food Research International* 108 (2018) 505–515
32. McGinnis, D. F. and Little, J. C. (2002). Predicting diffused - bubble oxygen transfer rate using the discrete-bubble model. *Water Res.* 36: 4627–4635.
33. N. .E. Es-Safi, (1999) Competition between (+)-Catechin and (-)-Epicatechin in Acetaldehyde-Induced Polymerization of Flavanols. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2088–2095.
34. N. Kontoudakis et al., (2010) Influence of Wine pH on Changes in Color and Polyphenol Composition Induced by Micro-oxygenation - *Journal of Agricultural and Food Chemistry*
35. P. Arapitsas et al. (2011) A Metabolomic Approach to the Study of Wine Micro-Oxygenation
36. P.Arapitsas et al. (2017) The impact of SO₂ on wine favanol and indoles in relation to wine style and age – *Scientific Reports* 2018
37. Paul, R. (2002). Micro-oxygenation – where now? In: Proceedings of the ASVO Seminar “Use of gases in winemaking.” pp. 18–22. Allen, M., Bell, S., Rowe, N., and Wall, G., Eds., Australian Society for Viticulture and Oenology, Adelaide.

38. R. E. Anli and Ö.A. Cavuldak (2012) A review of microoxygenation application in wine - J. Inst. Brew. 2012; 118: 368–385
39. R. G. Peres et al., (2009) Rapid method for the determination of organic acids
40. T. Tarko et al. (2020) The Impact of Oxygen at Various Stages of Vinification on the Chemical Composition and the Antioxidant and Sensory Properties of White and Red Wines - International Journal of Food Science
41. W.J. du Toit et al. (2006) The Effect of Micro-oxygenation on the Phenolic Composition, Quality and Aerobic Wine-Spoilage Microorganisms of Different South African Red Wines - S. Afr. J. Enol. Vitic., Vol. 27, No. 1, 2006
42. Waterhouse, A., et al. (1998) Characterization and Measurement of Aldehydes in Wine - American Chemical Society
43. Wildenradt, H. L. and Singleton, V. L. (1974) The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolic compounds and its relation to wine aging. Am. J. Enol. Vitic. 25: 119–126.
44. William K. Carlton et al. (2007) Monitoring Acetaldehyde Concentrations during Micro-oxygenation of Red Wine by Headspace Solid-Phase Microextraction with On-Fiber Derivatization - J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 5620–5625
45. X. D. Jin et al., (2017) Phenolic characteristics and antioxidant activity of Merlot and Cabernet Sauvignon wines increase with vineyard altitude in a high-altitude region - S. Afr. J. Enol. Vitic., 38(2), 132–143
46. Y. Liu et al. (2018) Reaction kinetics of the acetaldehyde-mediated condensation between (–)-epicatechin and anthocyanins and their effects on the color in model wine solutions - Food Chemistry 283 (2019) 315–323
47. Y. Yang et al. (2021) Effect of microoxygenation on acetaldehyde, yeast and colour before and after malolactic fermentation on Pinot Noir wine - Australian Journal of Grape and Wine Research 2021
48. Becca (2013) Quality and Consumer Preferences – The academic wino / <https://www.academicwino.com/author/becca/>
49. J. Kennedy (2013) - Red wine color management/ https://www.youtube.com/watch?v=9VKmfhGxbQ0&ab_channel=Vinventions
50. How much oxygen enters through a barrel? (2021) – Agrovin/ <https://www.agrovin.com/en/how-much-oxygen-enters-through-a-barrel/>
51. Enartis USA – Micro-oxygenation Principles (2019)/ www.enartis.com
52. National Wine and Grape Industry Centre - Micro-oxygenation of red wine - National Wine and Grape Industry Centre
53. The Effect of Micro-Oxygenation on Wine
54. Α. Τσακίρης (2014) Από το σταφύλι στο κρασί, εκδ. 4^η
55. Κ. Μ. Μακρή (2020) Μελέτη Εκχύλισης Χρωστικών, από καρπό Αρώνιας και φύλλα Υσσώπου- Μεταπτυχιακή Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
56. Παναγιώτης Θαμνίδης-Αφροδίτη Κυριάκου – Μικροοξυγόνωση (MOX) στους Ερυθρούς Οίνους – Οινολογικό Εργαστήριο «Οινοανάλυση», Νεμέα
57. Σ. Ανθής – Micro ή Macro –Οξυγόνωση? - Technovin Καρδάτου