



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

## **ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Χρήση ειδικών ενζύμων-πηκτινασών σε  
σταφυλομάζα για την αύξηση του εκχυλιζόμενου  
γλεύκους με παράλληλη μείωση εκχύλισης  
φαινολικών ουσιών**

**Μπρίλη Ελβίρα**

**ΑΜ: os171064**

**Επιβλέπων/-ουσα  
Ονοματεπώνυμο:**

**Ευάγγελος Μπερής**



**UNIVERSITY OF WEST  
ATTICA, SCHOOL OF  
FOODSCIENCE  
DEPARTMENT OF WINE, VINE AND BEVERAGE SCIENCES**

## **BACHELOR THESIS**

**Use of special pectinases in grape mash to  
increase the pressing yield with minimum extraction  
of phenolic compounds**

**Brili Elvira**

**Registration Number: os171064**

**Supervisor  
name and surname: Evangelos Beris.**



**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:

**«Χρήση ειδικών ενζύμων-πηκτινασών σε  
σταφυλομάζα για την αύξηση του  
εκχυλιζόμενου γλεύκους με παράλληλη μείωση  
εκχύλισης φαινολικών ουσιών»**

και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

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

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο/η κάτωθι υπογράφων/-ουσα Μπρίλη Ελβίρα, του Γεωργίου, με αριθμό μητρώου os171064 φοιτητής/τρια 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».

*Επιθυμώ την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μου μέχρι ..... και έπειτα από αίτηση μου στη Βιβλιοθήκη και έγκριση του επιβλέποντα καθηγητή\**

Ο/Η Δηλών/ούσα

(Ονοματεπώνυμο & Υπογραφή)

**\*Ονοματεπώνυμο Επιβλέποντα Καθηγητή**

### Ψηφιακή Υπογραφή

*\* Σε εξαιρετικές περιπτώσεις και μετά από αιτιολόγηση και έγκριση του επιβλέποντα, προβλέπεται χρονικός περιορισμός πρόσβασης (embargo) 6-12 μήνες. Στην περίπτωση αυτή θα πρέπει να υπογράψει ψηφιακά ο/η επιβλέπων/ουσα καθηγητής/τρια, για να γνωστοποιεί ότι είναι ενημερωμένος/η και συναινεί. Οι λόγοι χρονικού αποκλεισμού πρόσβασης περιγράφονται αναλυτικά στις πολιτικές του Ι.Α. (σελ. 6):*

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες πληθώρα ερευνών έχει διεξαχθεί στον τομέα των πηκτινολυτικών ενζύμων. Τα εν λόγω ένζυμα αποικοδομούν την πηκτίνη με σκοπό την διευκόλυνση της εκχύλισης, την αύξηση της απόδοσης μειώνοντας το ιξώδες, την ενίσχυση αρωμάτων και χρώματος και άλλα, με κύριο στόχο την ευκολότερη διαχείριση της σταφυλομάζας, αλλά κυρίως ένα πιο πλούσιο τελικό προϊόν εμπλουτισμένο με τα εκάστοτε επιθυμητά χαρακτηριστικά. Στο βιβλιογραφικό μέρος της εργασίας αναλύονται εκτενώς οι φαινολικές ενώσεις, οι πηκτίνες, οι πηκτινάσες όπως και γίνεται αναφορά σε ενζυμικά εμπορικά σκευάσματα που έχουν χρησιμοποιηθεί σε αντίστοιχες έρευνες. Στο τρίτο μέρος της εργασίας αναφέρονται τα υλικά και οι ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν αλλά και οι μέθοδοι και τα πειράματα που διεξήχθησαν. Έπειτα παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα σε μορφή πινάκων ή γραφημάτων και στο τέλος της εργασίας συζητήθηκαν αναλυτικά. Ο στόχος της παρούσας έρευνας είναι η εκτίμηση της επίδρασης δύο ενζύμων πηκτινασών στο γλεύκος. Πιο συγκεκριμένα επιδιώχθηκε η αύξηση της απόδοσης πίεσης με ταυτόχρονη μείωση της συγκέντρωσης φαινολικών και κυρίως ταννινών στον τελικό οίνο. Το πρώτο ένζυμο ήταν μία ασθενώς εκχυλιστική πηκτινάση και το δεύτερο μία ισχυρά εκχυλιστική πηκτινάση. Τρεις ξεχωριστές οινοποιήσεις έλαβαν χώρα. Η πρώτη χωρίς προσθήκη ενζύμου, η δεύτερη με την χρήση του πρώτου ασθενώς εκχυλιστικού ενζύμου και η τρίτη με την προσθήκη του ισχυρά εκχυλιστικού. Το παραπάνω μοτίβο ακολουθήθηκε σε τρεις προσπάθειες. Η πρώτη προσπάθεια με την ποικιλία Pinot noir και η δεύτερη και η τρίτη με μείγμα των ποικιλιών Grenache, Cabernet Franc, Syrah. Έλεγχοι δοκιμές και τεστ πραγματοποιούνταν σε όλη τη διάρκεια της οινοποιητικής διαδικασίας. Σε γενικές γραμμές, το ισχυρά εκχυλιστικό ένζυμο παρουσίασε τα ιδανικότερα αποτελέσματα αν και σε ορισμένες μεταβλητές δεν παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά.

**Λέξεις κλειδιά:** πολυφαινόλες, πηκτίνες, ένζυμα, πηκτινάσες, εκχύλιση

## ABSTRACT

In the last decades a wealth of research has been carried out in the field of pectolytic enzymes. These enzymes degrade pectin in order to facilitate extraction, increase yield by reducing viscosity, enhance flavour and colour, etc., with the main aim of facilitating grape pulp management, but above all to obtain a richer end product with the desired characteristics. In the bibliographical part of the paper, phenolic compounds, pectins, pectinases are extensively discussed as well as reference is made to commercial enzyme preparations that have been used in corresponding researches. In the third part of the paper, the materials and varieties used, as well as the methods and experiments carried out, are mentioned. The results were then presented in the form of tables or graphs and finally discussed in detail. The aim of the present research is to evaluate the effect of two pectinase enzymes on grape must. More precisely, the aim was to increase the pressure yield while reducing the concentration of phenolics, mainly tannins, in the final wine. The first enzyme was a weakly extractive pectinase and the second a strongly extractive pectinase. Three separate vinifications took place. The first without addition of enzyme, the second using the first weakly extractive enzyme and the third with the addition of the strongly extractive enzyme. The above pattern was followed in three attempts. The first attempt with the Pinot noir variety and the second and third with a blend of Grenache, Cabernet Franc and Syrah varieties. Trials and test controls were carried out throughout the winemaking process. In general terms, the strongly extractive enzyme showed the most ideal results. However, in some variables, no significant statistical difference was indicated.

**Keywords:** polyphenols, pectins, enzymes, pectinases, extraction

## Πίνακας περιεχομένων

|   |           |
|---|-----------|
| <b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....   | <b>5</b>  |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | <b>6</b>  |
| <b>Κατάλογος Πινάκων</b> .....  | <b>9</b>  |
| <b>Κατάλογος Γραφημάτων</b> .....   | <b>10</b> |
| <b>Κατάλογος Εικόνων</b> .....  | <b>11</b> |
| <b>1 Εισαγωγή</b> .....   | <b>12</b> |
| <b>2 Βιβλιογραφική Επισκόπηση</b> .....   | <b>14</b> |
| 2.1 Φαινολικές ενώσεις.....   | 14        |
| 2.1.1 Ανθοκυάνες .....  | 16        |
| 2.1.2 Ταννίνες.....   | 16        |
| 2.2 Πηκτίνες.....   | 18        |
| 2.2.1 Δομή και αποικοδόμηση πηκτίνης .....  | 19        |
| 2.3 Πηκτινάσες.....   | 21        |
| 2.3.1 Κατηγορίες και δράση των πηκτινασών.....  | 22        |
| 2.3.2 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της χρήσης των πηκτινασών στην<br>οινοποίηση.....                       | 22        |
| 2.3.3 Έρευνες επάνω σε παρόμοια ενζυμικά σκευάσματα.....  | 25        |
| 2.4 Επιρροή της αυξημένης περιεκτικότητας σε i)φαινόλες και ii)πηκτίνες στους<br>λευκούς και ροζέ οίνους..... | 27        |
| <b>3 Υλικά και Μέθοδοι</b> .....  | <b>28</b> |
| 3.1 Πειραματική διάταξη .....   | 28        |
| 3.2 Ποικιλίες σταφυλιών.....  | 32        |
| 3.2.1 Pinot Noir .....  | 32        |
| 3.2.2 Grenache.....   | 33        |
| 3.2.3 Cabernet Franc.....   | 34        |
| 3.2.4 Syrah.....  | 36        |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 3.3      | Τα ένζυμα που χρησιμοποιήθηκαν .....                          | 37        |
| 3.4      | Ζύμωση .....  | 38        |
| 3.5      | Αναλύσεις .....   | 38        |
| 3.5.1    | Προετοιμασία δειγμάτων.....                                   | 38        |
| 3.5.2    | Προσδιορισμός της ολικής οξύτητας και του pH.....             | 39        |
| 3.5.3    | Προσδιορισμός της πυκνότητας και του αφομοιώσιμου αζώτου..... | 39        |
| 3.5.4    | Προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου.....         | 39        |
| 3.5.5    | Προσδιορισμός των τιμών θολερότητας .....                     | 40        |
| <b>4</b> | <b>Αποτελέσματα.....</b>                                      | <b>41</b> |
| 4.1      | Απόδοση... ..   | 41        |
| 4.2      | Ίζημα Οινολάσπης .....  | 43        |
| 4.3      | Θολερότητα.....   | 44        |
| 4.4      | Ολικές φαινόλες.....  | 45        |
| 4.5      | Υγρασία φλοιών.....   | 47        |
| 4.6      | Αφομοιώσιμο άζωτο .....                                       | 48        |
| 4.7      | Οξέα .....  | 50        |
| <b>5</b> | <b>Συμπεράσματα.....</b>                                      | <b>51</b> |
| <b>6</b> | <b>Βιβλιογραφία .....</b>                                     | <b>54</b> |



## Κατάλογος Πινάκων

|  |    |
|--|----|
| Πίνακας 1. Παραδείγματα εμπορικών ενζύμων για εξαγωγή και σταθεροποίηση του χρώματος (Van Rensberg & Pretorius, 2000).....           | 26 |
| Πίνακας 2. Σύνθεση παρασκευασμάτων πηκτινάσης ασθενούς και ισχυρής εκχύλισης.....  | 37 |
| Πίνακας 3. Αποτελέσματα μετρήσεων ιζήματος οινολάσπης εκφρασμένο τοις εκατό κατά βάρος %w/w... ..                                    | 43 |
| Πίνακας 4. Αποτελέσματα μετρήσεων θολερότητας πριν από φυγοκέντρηση εκφρασμένο σε NTU.....   | 44 |
| Πίνακας 5. Αποτελέσματα μετρήσεων θολερότητας μετά από φυγοκέντρηση εκφρασμένο σε NTU .....  | 44 |
| Πίνακας 6. Αποτελέσματα μετρήσεων pH, Ολικών οξέων [g/L], Τρυγικού οξέος [g/L] Πτητικής οξύτητας [g/L] και Μηλικού οξέος [g/L] ..... | 50 |

## Κατάλογος Γραφημάτων

|   |    |
|---|----|
| Γράφημα 1. Αποτελέσματα μετρήσεων απόδοσης εκφρασμένο τοις εκατό βάρος<br>κατά βάρος % w/w .....                        | 42 |
| Γράφημα 2. Αποτελέσματα μετρήσεων ολικών φαινολών εκφρασμένο σε mg/l.....   | 46 |
| Γράφημα 3. Αποτελέσματα μετρήσεων Υγρασίας φλοιών (60°C, 16h).....  | 47 |
| Γράφημα 4. Αποτελέσματα μετρήσεων του αφομοιώσιμου αζώτου εκφρασμένου ως<br>τιμή NOPA (άζωτο με ορθοφθαλμαλδεΰδη) ..... | 49 |

## Κατάλογος Εικόνων

|  |    |
|--|----|
| Εικόνα 1. Εμφάνιση πηκτίνης στο κυτταρικό τοίχωμα και στο μεσαίο έλασμα (Khan, S. F.2021).....   | 19 |
| Εικόνα 2. Ακολουθία της αποικοδόμησης της πηκτίνης (Hobbs et al., 2016).....   | 20 |
| Εικόνα 3. Σημεία δράσης πηκτινασών στην αλυσίδα της πηκτίνης ( Bucher, 2020).....  | 20 |
| Εικόνα 4. Αναλυτική απεικόνιση αποικοδόμησης πηκτίνης από τρεις διαφορετικές πηκτινάσες (Bucher, 2020).....                              | 22 |
| Εικόνα 5. Απεικόνιση των τριών δοχείων που περιείχαν τα 200kg η κάθε μια .....   | 28 |
| Εικόνα 6. Απεικόνιση της μεταφοράς των στεμφύλων στα πιεστήρια.....  | 30 |
| Εικόνα 7. Απεικόνιση του χώρου των τριών πιεστηρίων .....  | 30 |
| Εικόνα 8. Απεικόνιση των δειγμάτων των κλασμάτων στα δοχεία και στους κυλίνδρους και των πιεσμένων ραγών στα αλουμινένια κεσεδάκια ..... | 31 |
| Εικόνα 9. Σταφύλι από την ποικιλία Pinot noir .....  | 33 |
| Εικόνα 10. Σταφύλι από την ποικιλία Grenache.....  | 34 |
| Εικόνα 11. Σταφύλι από την ποικιλία Cabernet Franc .....   | 35 |
| Εικόνα 12. Σταφύλι από την ποικιλία Syrah. ....  | 36 |
| Εικόνα 13. Δείγματα των κλασμάτων κατά τη διάρκεια χημικών αναλύσεων.....  | 40 |

## 1. Εισαγωγή

---

Η ποσότητα γλεύκους που μπορεί να συμπιεστεί από μια καθορισμένη ποσότητα σταφυλιών αλλά και η περιεκτικότητά του σε φαινολικές ουσίες είναι περιορισμένη και εξαρτάται, μεταξύ άλλων, από την τεχνική και το βαθμό πίεσης. Πιο αναλυτικά, αυξανόμενου του βαθμού εφαρμογής πίεσης αυξάνεται αναλογικά και ο βαθμός εκχύλισης φαινολικών όπως και άλλων φυσικά εκχυλίσιμων ουσιών, γεγονός σπάνια επιθυμητό σε λευκούς και ροζέ οίνους, εξαιτίας του στυπτικού και πικρού γευστικού αποτελέσματος (Freund, 2004). Ακριβώς με την ίδια λογική λειτουργεί και ο χρόνος εκχύλισης. Όσο περισσότερος είναι ο χρόνος επαφής των φλοιών με τον χυμό, τόσο περισσότερο εκχύλισμα θα προκύψει.

Εκχύλιση ονομάζεται η μεταφορά μιας ουσίας από μια φάση στην οποία βρίσκεται σε μια άλλη υγρή φάση. Η μεταφορά αυτή είναι δυνατή, επειδή η ουσία κατανέμεται στις δύο φάσεις με ορισμένη αναλογία. Η εκχύλιση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το διαχωρισμό μίγματος υγρών ή στερεών ουσιών. Εκχύλισμα είναι αυτό που προκύπτει από τη διαδικασία της εκχύλισης. Κλασική περίπτωση εκχυλίματος, εκτός από αυτή της ερυθρής οινοποίησης, είναι ο καφές και το τσάι.

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η αύξηση της απόδοσης της πίεσης με ταυτόχρονη μείωση των φαινολικών ουσιών, με τη χρήση δύο ενζυμικών παρασκευασμάτων. Πρόκειται για ένα ασθενώς εκχυλιστικό και ένα ισχυρά εκχυλιστικό ενζυμικό παρασκεύασμα. Οι ποικιλίες αμπέλου που επιλέχθηκαν για το πείραμα είναι Pinot Noir, Grenache, Cabernet Franc και Syrah από τις οποίες παρήχθησαν ξηροί ροζέ οίνοι.

Η διαδικασία και για τις τρεις ποικιλίες είναι πανομοιότυπη. Τα σταφύλια συλλέγονται, μοιράζονται εξίσου σε τρία μεγάλα ανοξείδωτα δοχεία, συνθλίβονται και αφήνονται για εκχύλιση σε επαφή με τους φλοιούς τους για δύο ώρες. Το πρώτο δοχείο σε κάθε μια από τις προσπάθειες είναι το δοχείο ελέγχου χωρίς προσθήκη παρασκευάσματος, στο δεύτερο προστίθεται το ενζυμικό παρασκεύασμα "ασθενώς εκχυλιστικό" και στο τρίτο το ενζυμικό παρασκεύασμα "ισχυρά εκχυλιστικό". Κατά την πίεση των σταφυλιών η οποία πραγματοποιείται παράλληλα και για τα τρία

δοχεία σε τρία διαφορετικά πιεστήρια, το γλεύκος κλασματοποιείται. Η ποσότητα του γλεύκους ζυγίζεται σε κάθε περίπτωση και λαμβάνονται δείγματα προς επεξεργασία. Η πρώτη προσπάθεια έγινε με τη χρήση της ποικιλίας Pinot noir ενώ η δεύτερη και η τρίτη με ομογενοποιημένο μείγμα των ποικιλιών Grenache, Cabernet Franc, Syrah.

Τόσο κατά την προετοιμασία όσο και κατά την εκπόνηση του πειράματος όλα έβησαν καλώς. Πολλαπλά δείγματα λήφθηκαν από κάθε φάση της διαδικασίας, με σκοπό την λεπτομερή και πιο στοχευμένη μελέτη του προϊόντος. Βάσει αυστηρών πρωτοκόλλων και με όσο το δυνατόν περισσότερη ακρίβεια, για την αποφυγή σφαλμάτων, πραγματοποιήθηκαν οι χημικές αναλύσεις των δειγμάτων στο εργαστήριο του Πανεπιστημίου. Προσδιορίστηκε η ολική οξύτητα και το pH, η πυκνότητα, η υγρασία στεμφύλων και η απόδοση μετά την πίεση, η ποσότητα αφομοιώσιμου αζώτου, το σύνολο του φαινολικού περιεχομένου, η θολερότητα. Αξίζει να σημειωθεί πως και στις τρεις ζυμώσεις το γλεύκος αποξημώθηκε πλήρως χωρίς την ανάγκη δεύτερου εμβολιασμού.

Κρίνεται αναγκαίο να αναφερθεί πως η παρούσα μελέτη για τη δημιουργία ενός ενζύμου που μηχανισμός του εστιάζει στη μείωση της συγκέντρωσης φαινολικών με ταυτόχρονη αύξηση της απόδοσης πίεσης, κάλυψε ορισμένα κενά της μέχρι τώρα έρευνας στη βιομηχανία των ενζυμικών σκευασμάτων, αφήνοντας παρόλα αυτά και αναπάντητα ερωτήματα, όπως η επιρροή του σκευάσματος αυτού στο αφομοιώσιμο άζωτο του γλεύκους. Σίγουρα χρειάζεται πιο εκτενής μελέτη και ίσως πιο στοχευμένα πειράματα πάνω στις ακόμη άγνωστες παραμέτρους δράσης των ενζύμων αυτών, ώστε να μπορούν με ασφάλεια και σιγουριά να διοχετευτούν στην αγορά.

## 2. Βιβλιογραφική Επισκόπηση

---

### 2.1. Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις, είναι οργανικές ενώσεις με μοριακό τύπο  $C_6H_6O$  οι οποίες περιέχουν τουλάχιστον έναν βενζολικό δακτύλιο. Τείνουν να είναι υδατοδιαλυτές, δεδομένου ότι εμφανίζονται πολύ συχνά συνδεδεμένες με σάκχαρα ως γλυκοζίτες (Caccetta et al., 2000). Ταξινομούνται σε φλαβονοειδείς και μη φλαβονοειδείς φαινόλες. Οι μη φλαβονοειδείς φαινόλες είναι φαινολικά οξέα και θεωρούνται μη αντιδραστικά στην οινοποίηση. Διακρίνονται σε βενζοϊκά οξέα (C6-C1), με κύριο εκπρόσωπο το γαλλικό οξύ και σε υδροξυκιναμωμικά οξέα (C6-C3) και στιλβένια (C6-C2- C6) (Crozier et al., 2009). Τα υδροξυκιναμωμικά οξέα αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των φαινολικών της σάρκας των καρπών, τα οποία μεταφέροντα αυτομάτως στο γλεύκος με την πίεση των σταφυλιών χωρίς περαιτέρω εκχύλιση. Οι περοσσότερες όμως φαινολικές ενώσεις είναι φλαβοδοειδείς και εντοπίζονται στα στερεά μέρη του σταφυλιού και εξάγονται με εκχύλιση στο γλεύκος. Είναι εξαιρετικά ασταθείς και υφίστανται διάφορες ενζυματικές και χημικές αντιδράσεις κατά την παρασκευή και την παλαίωση του οίνου (Cheynier et al., 2006).

Οι φλαβονοειδείς φαινόλες προέρχονται από την ίδια μητρική ένωση που είναι η φλαβόνη, είναι ισχυρά αντιδραστικές και, ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού τους, συμβάλλουν στην στυφή ή πικρή γεύση του κρασιού. Η γενική δομή τους είναι C6-C3-C6, με δύο αρωματικούς δακτυλίους A και B στα άκρα οι οποίοι ενώνονται με τρία άτομα άνθρακα προς έναν οξυγονωμένο ετεροκυκλικό δακτύλιο C (Ζαχαριουδάκη & Μανωλάκης, 2018). Αξίζει να σημειωθεί πως συγκεκριμένα οι φλαβονόλες έχουν θετική επίδραση στη σταθερότητα του χρώματος των ερυθρών οίνων. Εξού και η σύνθεσή τους προωθείται στις ερυθρές ποικιλίες.

Δύο είναι οι ομάδες φλαβονοειδών : οι ανθοκυανίνες και οι φλαβανόλες και είναι ιδιαίτερα σημαντικές για την ποιότητα κυρίως των ερυθρών οίνων. Οι φλαβανόλες υπάρχουν ως μονομερή κατεχίνης και ως ολιγομερή και πολυμερή, που ονομάζονται επίσης συμπυκνωμένες ταννίνες ή προανθοκυανιδίνες. Οι

ανθοκυανίνες είναι οι κόκκινες χρωστικές του σταφυλιού. Άλλα φλαβονοειδή είναι επίσης παρόντα σε μικρές ποσότητες, όπως οι φλαβονόλες (π.χ. κερκετίνη) και οι διυδροφλαβονόλες (π.χ. αστιλβίνη). Η σύνθεση των φαινολών του οίνου εξαρτάται από το σταφύλι και από τις διαδικασίες οινοποίησης που καθορίζουν την εξαγωγή τους στο γλεύκος και τις επακόλουθες αντιδράσεις.

## 2.1.1 Ανθοκυάνες

Είναι γλυκοζυλιωμένα παράγωγα πέντε αγλυκονών ή ανθοκυανιδινών: κυανιδίνη, πεονιδίνη, πετουνιδίνη, δελφινιδίνη και μαλβιδίνη. Τα προφίλ των ανθοκυανών αποτελούν χαρακτηριστικά των ποικιλιών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάκρισή τους.

## 2.1.2 Ταννίνες

Οι ταννίνες αποτελούν σημαντική κατηγορία πολυφαινολικών ενώσεων οι οποίες έχουν χαρακτηριστική στυπτική γεύση που σημαίνουν ότι προκαλούν συστολή διάφορων σωματικών ιστών. Το σάλιο μας είναι γεμάτο πρωτεϊνικές αλυσίδες και όταν οι ταννίνες έρχονται σε επαφή με τις πρωτεΐνες αυτές, σπάει το σάλιο που λιπαίνει το στόμα μας. Αυτή η αίσθηση ξήρανσης σπάνια είναι επιθυμητή και γι 'αυτό συνήθως οι ταννικοί οίνοι συνδυάζονται με λιπαρά τρόφιμα. Υπάρχουν τρεις πηγές ταννινών στην παραγωγή οίνου:

### 1. Φλοιός

Οι ταννίνες του φλοιού είναι επιθυμητές στο τελικό αποτέλεσμα. Εν αρχή είναι πιο έντονες με πολύ περισσότερο στυπτικό χαρακτήρα. Εν συνεχεία όμως με την πάροδο του χρόνου και την παλαίωση του οίνου μαλακώνουν και στρογγυλεύουν το τελικό γευστικό αποτέλεσμα.

### 2. Γίγαρτα

Οι ταννίνες των κουκουτσιών είναι επιθετικές και άγριες και δεν μαλακώνουν με την παλαίωση. Για αυτό το λόγο τα σταφύλια πιέζονται μαλακά, ώστε να μην συνθλίβονται τα κουκούτσια και εκχυλιστούν οι ταννίνες αυτές στο γλεύκος



### 3. Βαρέλι

Οι ταννίνες του ξύλου είναι παραπάνω και από επιθυμητές ειδικότερα στην ερυθρή οινοποίηση. Η εκχύλιση τους είναι ταχεία, ειδικά εάν το βαρέλι είναι καινούριο, και είναι συνηθώς και αυτές που εκφράζονται σε μεγαλύτερο βαθμό στο τελικό γευστικό αποτέλεσμα.

Η περιεκτικότητα των φαιολικών στους καρπούς είναι άκρως συνυφασμένη με τις κλιματικές συνθήκες που επικρατούν κατά την ωρίμανσή τους. Είναι λογικό βέβαια πως οι λευκές ποικιλίες σταφυλιών περιέχουν λιγότερες φαινόλες από τις ερυθρές λόγω της απουσίας των ανθοκυανών, φαιολικών ουσιών υπεύθυνων για το ερυθρό χρώμα στους οίνους. Συνοπτικά σε ένα λευκό οίνο η περιεκτικότητα κυμαίνεται μεταξύ 150-250 mg/l, ενώ σε έναν ερυθρό μπορεί να υπερβαίνει τα 2 g/l ή ακόμη και τα 4,5 g/l (Würdig & Woller,1989)

## 2.2. Πηκτίνες

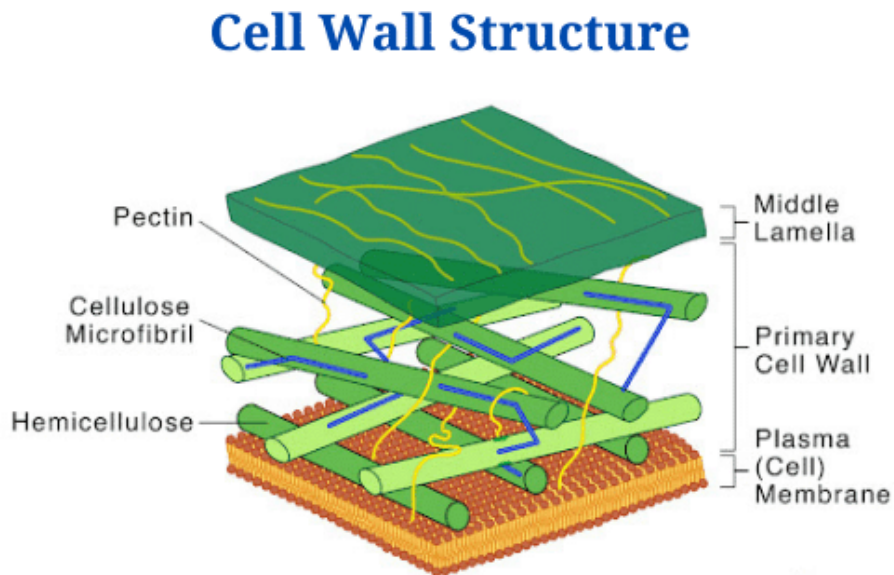
Οι πηκτινικές ουσίες είναι φυτικοί πολυσακχαρίτες που χρησιμεύουν ως δομικό συστατικό στην κατασκευή του μεσαίου ελάσματος και του πρωτογενούς τοιχώματος του κυττάρου. Χρησιμοποιούνται βιομηχανικά στην παραγωγή μαρμελάδων ή ζελέ, διότι παρουσία σακχάρων και οξέων σχηματίζουν πηκτές ουσίες οι οποίες στερεοποιούν το προϊόν (Beyer et al., 1998).

Τα σταφύλια έχουν περιεκτικότητα σε πηκτίνη 1-3 g/kg σταφυλιών (Seifert & Vogt, 1945). Σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες πληροφορίες, η περιεκτικότητα σε πηκτίνη στο γλεύκος σταφυλιών είναι 0,1 έως 0,15% (Kunz, 2016).

Όσο τα σταφύλια είναι άγουρα η περιεκτικότητα σε σκληρές και μη διαλυτές στο νερό πηκτίνες είναι μεγάλη κυρίως στην περιοχή των γιγάρτων και των βόστρυχων (Arthold, 1950). Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, τα ίδια τα ένζυμα του σταφυλιού διασπούν τις ουσίες πηκτίνης στα μεσαία ελάσματα, με αποτέλεσμα το μαλάκωμα του καρπού.

Επιπροσθέτως, η περιεκτικότητα εξαρτάται εκτός από το επίπεδο ωρίμανσης και από την ποικιλία, καθώς οι ερυθρές ποικιλίες διαθέτουν πολύ υψηλότερα ποσοστά από τις λευκές.

### 2.2.1. Δομή και αποικοδόμηση πηκτίνης

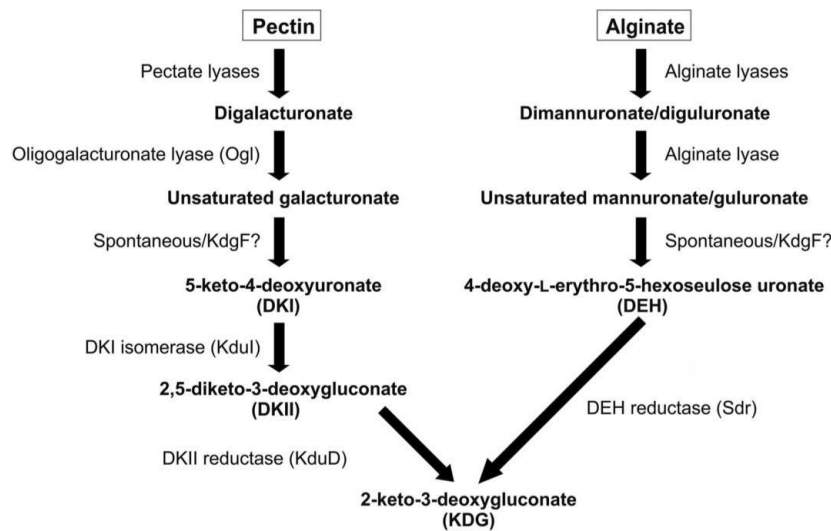


**Εικόνα 1.** Εμφάνιση πηκτίνης στο κυτταρικό τοίχωμα και στο μεσαίο έλασμα (Khan, 2021)

Στην Εικόνα 1 παρουσιάζονται το μεσαίο έλασμα, το πρωτογενές τοίχωμα και η πλασματική μεμβράνη ενός κυττάρου. Οι κίτρινες κλωστές αντιπροσωπεύουν την πηκτίνη, η οποία βρίσκεται στο μεσαίο έλασμα και στο πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα. Η πηκτίνη υπάρχει μεταξύ των ημικυτταρινών και του "πλέγματος" των μικροϊνιδίων κυτταρίνης το οποίο προκαλεί την "προσκόλληση" του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος στο μεσαίο έλασμα. Η "συγκόλληση" πραγματοποιείται μέσω των συνδέσεων μεταξύ της πηκτίνης και των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος (ημικυτταρίνη, κυτταρίνη).

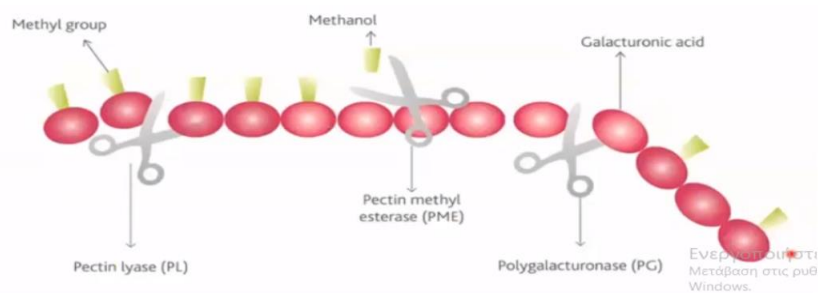
Η αποικοδόμηση των μεγάλων μορίων πηκτίνης απαιτεί μια μεγάλη ποικιλία ενζύμων, όπως πηκτινάσες, κυτταρινάσες, αλλά και πρωτεάσες (Vogt, 1970).

Το ακόλουθο διάγραμμα δείχνει την αποδόμηση της πηκτίνης.



**Εικόνα 2.** Ακολουθία της αποικοδόμησης της πηκτίνης (Hobbs et al., 2016)

Το μέρος της πηκτίνης που είναι διαλυτό στο νερό ονομάζεται υδροτεκτοπεντίνη. Αυτή αποτελείται από αραβάνες (πλευρική αλυσίδα δομικών στοιχείων αραβινόζης), οι οποίες αποικοδομούνται σε αραβινόζες, και από άλατα ασβεστίου και μαγνησίου του πηκτικού οξέος. Το αδιάλυτο στο νερό πηκτικό οξύ που προέρχεται από τα άλατα αποικοδομείται σε τετραγαλακτουρονικό οξύ β' με διάσπαση μεθανόλης, οξικού οξέος, αραβινόζης και γαλακτόζης μέσω ενός ενδιάμεσου σταδίου. Το τελικό στάδιο είναι η διάσπαση σε μεμονωμένα μόρια γαλακτουρονικού οξέος. Το γαλακτουρονικό οξύ εμφανίζεται στους λευκούς/ροζέ οίνους σε ποσότητες 150 έως 500 mg/l και αυξάνεται με την αύξηση του βάρους του γλεύκους ή του βαθμού ωριμότητας του σταφυλιού (Dittrich & Großmann, 2010). Για να επιτευχθεί αποικοδόμηση της πηκτίνης εκτός από τα ίδια τα ένζυμα του σταφυλιού, μπορεί να γίνει προσθήκη πηκτινασών ως τεχνικό παρασκεύασμα, όπως και στο πείραμα που ακολουθεί, για εξαιρετικά γρηγορότερα αποτελέσματα (Augenstein, 2015).



**Εικόνα 3.** Σημεία δράσης πηκτινασών στην αλυσίδα της πηκτίνης (Bucher, 2020)

## 2.3. Πηκτινάσες

Οι πηκτινάσες είναι μικροοργανισμοί οι οποίοι μπορούν να μεταβολίσουν τις ουσίες πηκτίνης, λόγω των ενζύμων που παράγουν. Είναι ειδικά ένζυμα για τη δράση τους, πράγμα που σημαίνει ότι μπορούν να εκτελέσουν ένα και μοναδικό στάδιο μίας ακολουθίας αντιδράσεων.

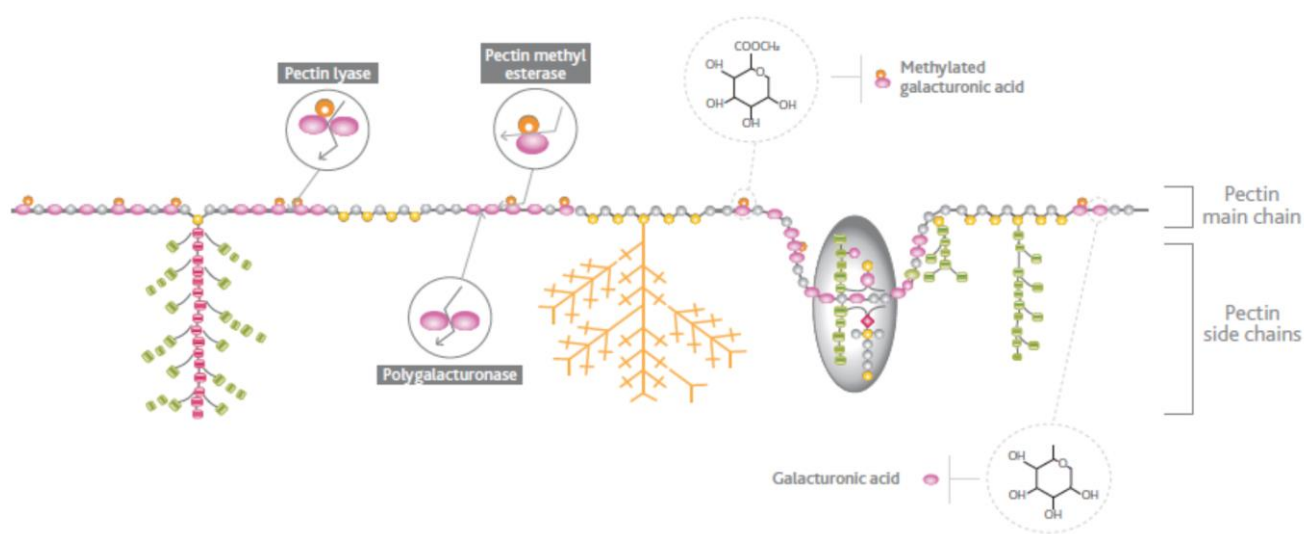
Πιο αναλυτικά, τα ένζυμα είναι βιοκαταλύτες που μειώνουν την ενέργεια ενεργοποίησης των βιοχημικών διεργασιών, ώστε αυτές να μπορούν να λειτουργούν με μειωμένη ενέργεια ενεργοποίησης. Αποτελούνται από πρωτεΐνες με μια μη πρωτεϊνική αποτελεσματική ομάδα συνενζύμου (Richter, 1982).

Η ειδικότητα υποστρώματος, σημαίνει ότι μόνο η συγκεκριμένη αντίδραση του ενζύμου πραγματοποιείται όταν το αντίστοιχο υπόστρωμα δεσμεύεται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Για να είναι αποτελεσματικά, είναι αναγκαίο να ικανοποιούνται οι βέλτιστες συνθήκες δράσης θερμοκρασίας και pH, στους 15°C-50°C και 5-8 κλίμακας pH αντίστοιχα. Βέβαια τα ένζυμα είναι ευπροσάρμοστα και είναι ικανά να λειτουργήσουν αποτελεσματικά και σε πιο όξινο pH όπως αυτό του γλεύκους και του κρασιού. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες οι αντιδράσεις εξελίσσονται πολύ αργά και σε υψηλότερες παρατηρείται μετουσίωση των περισσότερων ενζυμικών πρωτεϊνών (Augenstein, 2015). Εννοείται πως υπάρχουν και εξαιρέσεις ενζύμων με διαφορετικές ιδανικές συνθήκες δράσης. Η περιεκτικότητα σε οξέα δείχνει να επηρεάζει αντιστρόφως ανάλογα τη δράση των ενζύμων καθώς υψηλή περιεκτικότητα σε οξέα μειώνει τη δραστηριότητά τους.

Οι πηκτινάσες βρίσκονται τόσο στα πράσινα μέρη των φυτών όσο και στους καρπούς τους σε ειδικούς κυτταρικούς ιστούς και χρησιμεύουν στην αποικοδόμηση των δομών πηκτίνης, έτσι ώστε να μαλακώσει ο ιστός και εν συνεχεία να επέλθει η πλήρης διάλυση του με τελικό στόχο την αποικοδόμηση της οργανικής ύλης. Τα τεχνικά παρασκευάσματα ενζύμων λαμβάνονται από μύκητες όπως *Botrytis cinerea*, *Penicillium spp*, *Aspergillus niger* (Kunz, 2016).

### 2.3.1. Κατηγορίες και δράση των πηκτινινασών

Οι πηκτινάσες χωρίζονται σε δύο ομάδες: Εστεράσες και Αποπολυμεράσες. Οι εστεράσες χρησιμεύουν στη διάσπαση της μεθανόλης από τις καρβοξυλομάδες του εστεροποιημένου πολυγαλακτουρονικού οξέος, ενώ οι αποπολυμεράσες προκαλούν τη διάλυση του δεσμού μεταξύ των μεμονωμένων μορίων γαλακτουρονικού οξέος. Οι δύο μηχανισμοί δράσης που προσδιορίζουν το σημείο δράσης του ενζύμου στο μόριο υποδεικνύονται με τα προθέματα "Εξω" και "Ενδο". Ο μηχανισμός "Εξω" αποκόπτει μεμονωμένα τμήματα από το άκρο της αλυσίδας ενός "πολυμορίου", ενώ ο μηχανισμός "Ενδο" μπορεί επίσης να διαχωρίσει τους δεσμούς στο εσωτερικό του "πολυμορίου" έχοντας έτσι περισσότερα σημεία δράσης (Kunz, 2016).



Εικόνα 4. Αναλυτική απεικόνιση αποικοδόμησης πηκτίνης από τρεις διαφορετικές πηκτινάσες

(Bucher, 2020)

### 2.3.2. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της χρήσης των πηκτινινασών στη νοικοποίηση

Τα τεχνικά παρασκευάσματα πηκτινάσης είναι ένα σύμπλεγμα διαφορετικών πηκτινινασών με διαφορετική σύνθεση. Συνήθως έχουν δευτερεύουσες ιδιότητες κυτταρινάσης, ημικυτταρινάσης, β-γλυκοσιδάσης, καθώς και β-γλυκανάσης (Carle, 2000). Κατά τη χρήση ενζυμικών παρασκευασμάτων στην οίνοποίηση, πρέπει να

τηρείται ο αντίστοιχος χρόνος έκθεσης του προϊόντος με το σκεύασμα, το εύρος θερμοκρασίας και pH, ώστε να διασφαλίζεται η αποτελεσματικότητα του παρασκευάσματος. Μετά το τέλος της αντίδρασης, ο οίνος θα πρέπει να διαυγαστεί, με σκοπό την παράλληλη κατακρήμνιση των ενζύμων μαζί με τις πρωτεΐνες.

Η χρήση των ενζύμων αυτών κατά την οινοποίηση συνεπάγεται τόσο την χαμηλότερη εκχύλιση φαινολών με ευκολότερη συμπίεση σε μικρότερο χρόνο πίεσης όσο και καλύτερη διαυγαστική συμπεριφορά. Επομένως έχει ως αποτέλεσμα ένα γλεύκος με υψηλότερη απόδοση πίεσης (Steidl, 2015).

Η πηκτίνη δρα επίσης ως προστατευτικό κολλοειδές στο γλεύκος, σχηματίζοντας ενυδατικά περιβλήματα γύρω από χονδροειδή διασκορπισμένα σωματίδια καθιστώντας τα υδρόφοβα και διατηρώντας τα σε αιώρηση (Vogt, 1970), (Freund, 2004).

Η ενζυματική αποικοδόμηση που συμβαίνει φυσικά κατά τη ζύμωση είναι πολύ σημαντική καθώς η περιεκτικότητα των διαλυτών κολλοειδών του γλεύκους σε πηκτίνη είναι 40-50%, τα οποία κολλοειδή αποτελούν μια ένωση ουσιών και σωματιδίων με φάσμα διαμέτρου 1-1000nm (Würdig & Woller, 1989).

Οι αρωματικές ουσίες εντοπίζονται κυρίως στη φλούδα των καρπών δεν μπορούν να εκφραστούν αρωματικά καθώς είναι ενωμένα με γλυκοζιτικούς δεσμούς με τα σάκχαρα (Carle, 2000). Αυτό αναιρείται με τη χρήση β-γλυκοσιδασών (Augenstein, 2015).

Κατά τη διάρκεια της εκχύλισης βέβαια αφήνοντας για λίγες ώρες το γλεύκος να είναι σε επαφή με τους φλοιούς πραγματοποιείται αυτός ο διαχωρισμός και επιτυγχάνεται η έκφραση των αρωμάτων. Σε λευκούς και ροζέ οίνους όμως δεν είναι θεμιτή η εκχύλιση πολυφαινολών και κυρίως ταννινών, η οποία είναι αναπόφευκτη με την παραπάνω διαδικασία. Έτσι με τη χρήση ενζύμων ο χρόνος εκχύλισης μειώνεται κατά πολύ και η ποσότητα εκφρασμένων αρωμάτων αυξάνεται με ταυτόχρονη εκχύλιση λιγότερων ταννινών. Με τον ίδιο ακριβώς τρόπο σημειώνεται και αύξηση της έντασης του χρώματος καθώς το χρώμα εξάγεται γρηγορότερα από τα κύτταρα του φλοιού των καρπών (Steidl, 2015).

Με τη χρήση των σκευασμάτων είναι δυνατή η αύξηση της περιεκτικότητας σε αρωματικά κατά 10-40 % (Freund, 2004), ανάλογα με την ποικιλία, τις κλιματολογικές συνθήκες που μεγαλώνει το φυτό και το στάδιο ωρίμανσης του πριν τη συγκομιδή.

Επίσης αυξάνεται και η απόδοση του γλεύκους. Με τη διάσπαση των ουσιών πηκτινής, περισσότερο υγρό μπορεί να εξέλθει από τα κύτταρα, καθώς οι πηκτινάσες διαλύουν το πολυγαλακτουρονικό οξύ και έτσι αποσταθεροποιούν τον ιστό. Επομένως λιγότερη πίεση χρειάζεται να αυξηθεί για να εξαχθεί περισσότερη ποσότητα γλεύκους, Ταυτόχρονα μειώνεται και το ιξώδες γεγονός το οποίο βοηθάει στην καλύτερη αποστράγγιση του γλεύκους (Augenstein, 2015).

Η χρήση πηκτινών για την αποσταθεροποίηση των πηκτινικών ουσιών της κολλοειδούς οινολάσπης εκτός από τα πλεονεκτήματα που έχουν προαναφερθεί ενέχει κινδύνους και προβλήματα κυρίως στην περίπτωση μη υγιών και ανώριμων σταφυλιών, τα οποία θα αναλυθούν παρακάτω.

Υπάρχουν βέβαια και ορισμένες ανεπιθύμητες παρενέργειες των παρασκευασμάτων όπως για παράδειγμα οι ντεψιδάσες. Τα ντεψιδία είναι αρωματικοί εστέρες, υδροξυ/φαινολικά καρβοξυλικά οξέα, που χαρακτηρίζουν τη φρουτώδη γεύση και τη φρεσκάδα ενός οίνου. Αυτά τα ένζυμα προκαλούν ταχύτερη παλαίωση του κρασιού καθώς και απελευθερώνουν προϊόντα που μπορούν να μετατραπούν από ζύμες και βακτήρια σε πτητικές φαινόλες, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται αρνητικά αρώματα όπως η νότα φαρμάκου ή ιδρώτα (Carle, 2000).

Επιπλέον παρενέργεια είναι η δράση των ανθοκυανάσων, οι οποίες διασπών τις ανθοκυανίνες και με αποτέλεσμα την απώλεια χρώματος. Τα παρασκευάσματα που διατίθενται στο εμπόριο καθαρίζονται αρκετές φορές, αλλά αυτό δεν αποτελεί εκατό τοις εκατό εγγύηση ότι δεν υπάρχουν ανεπιθύμητες παρενέργειες (Augenstein, 2015).



### 2.3.3. Έρευνες επάνω σε παρόμοια ενζυμικά σκευάσματα

Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες έχει διεξαχθεί σημαντικός όγκος ερευνών για να καταδειχθεί το πλεονέκτημα της χρήσης αυτών των εμπορικών ενζύμων στην οινοποίηση (Van Rensberg & Pretorius, 2000).

Η χρήση πηκτινινασών στη διαδικασία οινοποίησης είναι μια πολύ συνηθισμένη πρακτική. Τα ένζυμα αυτά αποικοδομούν τις πηκτίνες, οι οποίες αποτελούν ένα από τα κύρια συστατικά του φυτικού κυτταρικού τοιχώματος. Τέτοια κοκτέιλ ενζύμων αποτελούνται κυρίως από δραστηριότητες ενδο-πολυγαλακτουρονάσης, μεθυλεστεράσης της πηκτίνης και πηκτινιολιτάσης, καθώς και δραστηριότητες κυτταρινάσης και ημικυτταρινάσης. Ανάλογα με το στάδιο της οινοπαραγωγικής διαδικασίας που θα προστεθούν, έχουν και διαφορετικό αντίκτυπο. Εάν προστεθούν κατά το στάδιο της εκχύλισης του ερυθρού οίνου, ευνοεί την εκχύλιση ενώσεων ενδιαφέροντος από το εσωτερικό των κυττάρων του σταφυλιού, όπως χρώμα αρώματα και άλλα. Εάν προστεθούν πριν τις πιέσεις, βοηθάνε στην μεγαλύτερη απόδοση πίεσης με μεγιστοποίηση του προρώγου (Osete et al., 2022).

Η ενζυματική αποικοδόμηση της πηκτίνης αποδίδει λεπτό χυμό ελεύθερης ροής και πολτό με καλά χαρακτηριστικά συμπίεσης. Τα παρασκευάσματα πηκτινολυτικών ενζύμων για τη λεγόμενη υγροποίηση περιλαμβάνουν ένα μείγμα πηκτινάσες με κυτταρινάσες. Κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, η αποικοδόμηση της πηκτίνης επηρεάζει μόνο την πηκτίνη του μεσαίου ελάσματος και ο οργανωμένος ιστός μετατρέπεται σε εναιώρημα άθικτων κυττάρων. Όταν χρησιμοποιούνται πηκτινάσες σε συγκέντρωση 2-4 g/hl, μπορεί να ληφθεί 15% περισσότερος χυμός κατά τη διάρκεια περιόδου καθίζησης 4-10 ωρών (Van Rensberg & Pretorius, 2000), όπως και ο χρόνος διήθησης ήταν τρεις φορές μικρότερος, συγκριτικά με μία συμβατική οινοποίηση (Mojsos, 2013).

Είναι επίσης και αιτία χαμηλής εκχύλισης φαινολικών από τα σταφύλια στον οίνο, όπως και στο κάτωθι πείραμα, εξαιτίας της αλληλεπίδρασης μεταξύ των εκχυλισμένων φαινολικών ενώσεων, των κυτταρικών τοιχωμάτων του φλοιού και του πολτού που αιωρούνται στο γλεύκος. Τα συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων παρουσιάζουν υψηλή συγγένεια με τις φαινολικές ενώσεις και τις προσροφούν στη δομή τους. Επομένως, μετά τη σύνθλιψη των σταφυλιών, οι φαινολικές ενώσεις εκχυλίζονται, αλλά παράγεται επίσης μεγάλη ποσότητα αιωρούμενου υλικού κυτταρικού τοιχώματος. Οι μελέτες έδειξαν ότι οι φαινολικές ενώσεις δεσμεύονται στο αιωρούμενο κυτταρικό υλικό και καθιζάνουν σαν συσσωματώματα στο επόμενο στάδιο της οινοποίησης. Από τη στιγμή που έχει πραγματοποιηθεί αυτή η δέσμευση, οι αλληλεπιδράσεις αυτές είναι δύσκολο να αντιστραφούν μειώνοντας έτσι τη συγκέντρωση φαινολικών στο γλεύκος και στον τελικό οίνο (Osete et al., 2022).

Το πλεονέκτημα της ενζυμικής επεξεργασίας κατά τους Van Rensberg & Pretorius, είναι η ταχύτερη εκχύλιση του χρώματος που θα επιτρέψει την έκθλιψη του γλεύκους έως και 24 ώρες νωρίτερα. Αυτός ο τόσο συντομότερος χρόνος επαφής με τους φλοιούς έχει ως αποτέλεσμα οίνους εντονότερου χρώματος, αλλά χαμηλότερης περιεκτικότητας σε ταννίνες. Στην παρακάτω εικόνα παρατίθενται μερικά παραδείγματα εμπορικών ενζύμων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εξαγωγή και τη σταθεροποίηση του χρώματος (Van Rensberg & Pretorius, 2000).

**Πίνακας 1.** Παραδείγματα εμπορικών ενζύμων για εξαγωγή και σταθεροποίηση του χρώματος (Van Rensberg & Pretorius, 2000)

| <b>Enzyme</b>                 | <b>Company</b>             | <b>Activities</b>                    | <b>Time of addition</b>                     |
|-------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|---|
| Enzym'Colour Plus             | Darleon                    | Pectolytic + Proteolytic             | To juice or must                            |
| Endozyme Conatct Pelliculaire | AEB Africa                 | Pectolytic                           | To juice or must                            |
| Endozyme Rouge                | AEB Africa                 | Pectolytic + side activities         | During maceration (before SO <sub>2</sub> ) |
| Vinozym EC                    | Novo Nordisk               | Pectolytic, arabinase and cellulases | Into crusher or mash tank                   |
| Rapidase Ex Color             | Gist-brocades/Anchor Yeast | Pectolytic + side activities         | Before maceration                           |

## 2.4. Επιρροή της αυξημένης περιεκτικότητας σε i)φαινόλες και ii)πηκτίνες στους λευκούς και ροζέ οίνους

i) Υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά είναι εξαιρετικά σπάνια επιθυμητή σε λευκούς και ροζέ οίνους, καθώς προσδίδει μια δυσάρεστα πικρική γεύση μειώνοντας τον φρέσκο και φρουτώδη χαρακτήρα τους. Ο βαθμός πολυμερισμού, ο βαθμός δηλαδή στον οποίο οι φαινόλες συνδυάζονται μεταξύ τους δημιουργώντας μεγαλύτερα μόρια, επηρεάζει την πικράδα ενός κρασιού. Όσο μεγαλύτερος ο βαθμός πολυμερισμού, όσο μεγαλύτερο δηλαδή είναι το μόριο, τόσο πιο στρογγυλή και βελούδινη γεύση έχει. Αυτά τα μόρια τα συναντάμε στους ερυθρούς οίνους ενώ τα πιο μικρά τα συναντάμε κατά κύριο λόγο στους λευκούς. Όσο πιο μικρό είναι το μόριο τόσο πιο πικρή και επιθετική αντίληψη δίνει στο γευστικό αποτέλεσμα (Steidl, 2015).

Ο πιο διαδεδομένος τρόπος απομάκρυνσης φαινολικών από το γλεύκος είναι η χρήση κολλοειδών συστημάτων. Η κόλλα, που συνηθέστερα είναι πρωτεϊνικής φύσεως συσσωματώνεται με τις πολυφαινόλες και κατακρημνίζονται στον πυθμένα του περιέκτη, από όπου και αφαιρούνται με συγκεκριμένη διαδικασία.

ii) Παρατηρείται πως η περιεκτικότητα σε πηκτίνες και η πλήρης ωρίμανση είναι αντιστρόφως ανάλογες παράμετροι. Αναλυτικότερα εξαιτίας των υψηλών θερμοκρασιών και της έλλειψης νερού που παρατηρούνται σε ξηρές χρονικές περιόδους, η ωρίμανση είναι ελλιπής ενώ η συγκέντρωση πηκτινών εξαιρετικά υψηλή, εν αντιθέσει των τιμών μίας πλήρους ωρίμανσης (Steidl, 2015).

Σαν αποτέλεσμα προκύπτει μία μεγάλη ποσότητα αδιάλυτης πηκτίνης στο γλεύκος καθώς οι πηκτίνες, όπως προαναφέρθηκε, διασπώνται από τα ίδια τα ένζυμα του σταφυλιού κατά την ωρίμανση.

Η υψηλή περιεκτικότητα σε πηκτίνη εκτός από κακή απόδοση και ατελή έκθλιψη του σταφυλοπολτού, εξαιτίας της ύπαρξης σκληρής πηκτίνης στη σάρκα, οδηγεί και σε αρκετά μεγάλη δυσκολία στη διαύγαση, εξαιτίας της ύπαρξης κολλοειδών συστημάτων με πυκνότητα σχεδόν ίδια με αυτή του γλεύκους (Freund, 2004).

### 3. Υλικά και μέθοδοι

---

#### 3.1. Πειραματική διάταξη

Η πειραματική διαδικασία ξεκίνησε με τη συλλογή και τον εκραγισμό των σταφυλιών. Έπειτα συγκέντρωση 600 κιλών και ισομοίρασμα σε 3 μεταλλικές ανοξείδωτες δεξαμενές των 200 κιλών η κάθε μια. Η πρώτη δεξαμενή αντιπροσωπεύει τον έλεγχο (Kontrolle), η δεύτερη δεξαμενή εφοδιάζεται με ένζυμο-πηκτινάση ασθενούς εκχύλισης (Pektinase-swach) και η τρίτη εφοδιάζεται με ένζυμο-πηκτινάση ισχυρής εκχύλισης (Pektinase-stark).



**Εικόνα 5.** Απεικόνιση των τριών δοχείων που περιείχαν τα 200kg η κάθε μια

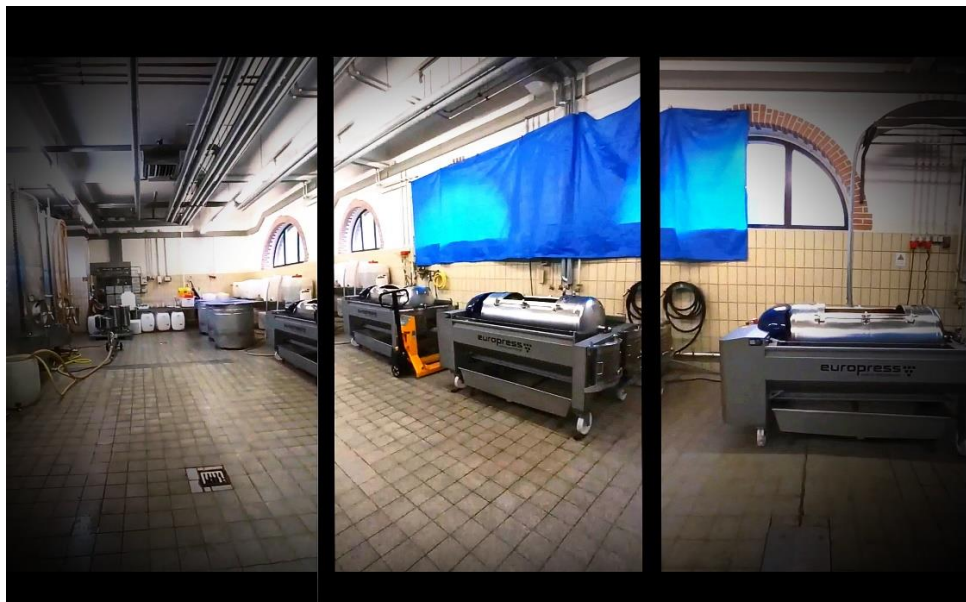
Η δοσολογία των σκευασμάτων ήταν πάντα 8 ml ανά 100 kg πολτού. Η προσθήκη έγινε με χρονική καθυστέρηση πέντε λεπτών, έτσι ώστε να μπορεί να τηρηθεί ο χρόνος παραμονής του πολτού των δύο ωρών, ακόμη και αν οι δεξαμενές με τα σταφύλια χύνονταν στα πιεστήρια η μία μετά την άλλη. Και οι τρεις δεξαμενές αναμιγνύονται έτσι ώστε το ένζυμο να κατανέμεται ομοιόμορφα μέσα στη δεξαμενή. Μετά από δύο ώρες εκχύλισης, αδειάζουμε το περιεχόμενο των δεξαμενών σε τρία δοκιμαστικά πιεστήρια ταυτόχρονα και ξεκινάει πρόγραμμα πίεσης και για τα τρία

ταυτόχρονα. Εν αρχή περιμένουμε χωρίς εφαρμογή πίεσης να εξαχθεί ο πρόρωγος από τα πιεστήρια τα οποία αφού γέμισαν και έκλεισαν, στράφηκαν κατά 180° και αφέθηκαν σε αυτή τη θέση για δέκα λεπτά. Το γλεύκος που έτρεχε ελεύθερα ως αποτέλεσμα αντιπροσώπευε την πρόρωγο (1ο κλάσμα πρέσας). Μετά την πάροδο των δέκα λεπτών, η δεξαμενή γλεύκους αδειάζει, ζυγίζεται ο σταφυλοχυμός και από τα τρία πιεστήρια και μέσω αντλίας το τοποθετείται σε τρία ξεχωριστά πλαστικά δοχεία, αφού πρώτα έχει ληφθεί δείγμα χυμού σε γυάλινο κύλινδρο και δείγμα συμπιεσμένων σταφυλιών μέσα από το πιεστήριο. Εν συνεχεία γίνεται εφαρμογή προγράμματος πίεσης από 0.2-0.8 bar. Όταν ολοκληρωθεί, όπως προηγουμένως, πραγματοποιείται λήψη του βάρους και των δειγμάτων για κάθε πιεστήριο και τοποθέτηση στο αντίστοιχο δοχείο που πλέον περιέχει τον πρόρωγο. Τέλος γίνεται εφαρμογή προγράμματος πίεσης 0.8-2.0 bar και επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία με τη ζύγιση, τη δειγματοληψία και την άντληση του χυμού στα δοχεία. Τέλος λαμβάνεται και το τελικόκαθαρό βάρος ολόκληρου του δοχείου όπως επίσης δείγμα υγρού σε γυάλινο κύλινδρο που αντιπροσωπεύει τη συνολική ποσότητα. Έτσι με το πέρας της διαδικασίας έχουν συγκεντρωθεί 12 δείγματα σε γυάλινους σωλήνες και 9 δείγματα συμπιεσμένων σταφυλιών. Το γλεύκος μεταφέρεται από τα δοχεία σε μικρές ανοξειδωτες δεξαμενές και ξεκινάει με τον εμβολιασμό η φάση της αλκοολικής ζύμωσης. Για προστασία του γλεύκους από την ανεπιθύμητη δραστηριότητα ζυμομυκήτων και βακτηρίων γίνεται χρήση διοξειδίου του θείου με τη μορφή υγρού υδροθειώδους καλίου. Το παρασκεύασμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το "Solution sulphureuse P15". Η δοσολογία του παρασκευάσματος επιλέχθηκε έτσι ώστε η περιεκτικότητα σε καθαρό διοξείδιο τουθειού (SO<sub>2</sub>) να είναι 45 mg/l.



Εικόνα 6. Απεικόνιση της μεταφοράς των στεμφύλων στα πιεστήρια

Όλη η παραπάνω διαδικασία των τριών πιεστηρίων διενεργήθηκε τρεις φορές. Η πρώτη προσπάθεια έγινε με τη χρήση της ποικιλίας Pinot noir ενώ η δεύτερη και η τρίτη με ομογενοποιημένο μείγμα των ποικιλιών Grenache, Cabernet Franc, Syrah. Επομένως μπορεί να θεωρηθεί πως θα πραγματοποιηθούν εννέα μικρές οινοποιήσεις.



Εικόνα 7. Απεικόνιση του χώρου των τριών πιεστηρίων

Τα δείγματα σταφυλιών ελήφθησαν για προσδιορισμό της υπολειπόμενης υγρασίας. Αυτό θα επιτευχθεί με ζύγιση των δειγμάτων, έπειτα τοποθέτησή τους σε θάλαμο ξήρανσης και επαναζύγισή τους. Η διαφορά στην τιμή είναι η υπολειπόμενη υγρασία, το υγρό δηλαδή που δεν πιάστηκε κατά το πρόγραμμα πίεσης.

Το άθροισμα του καθαρού βάρους των κλασμάτων αν διαιρεθεί με το αρχικό βάρος των σταφυλιών, 200 kg, και πολλαπλασιαστεί με το 100 θα προκύψει η απόδοση της πίεσης σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά βάρος (% κ.β.).

Οι κύλινδροι θα παραμείνουν για 16 ώρες σε ψυχόμενο περιβάλλον. Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα παρατηρείται ίζημα στον πυθμένα των κυλίνδρων. Από το υπερκείμενο και πλέον διαυγές υγρό θα πραγματοποιηθεί προσδιορισμός των ολικών φαινολών, της πυκνότητας, της θολρότητας, της ολικής οξύτητας και της τιμής του pH και του αφομοιώσιμου αζώτου εκφρασμένου ως τιμή NOPA (άζωτο με ορθοφθαλμαλδεΰδη).

Η στατιστική ανάλυση με τη σύγκριση μέσω One-Way ANOVA έλαβε χώρα με τη χρήση του Microsoft Excel και του στατιστικού προγράμματος SPSS 17.0.



**Εικόνα 8.** Απεικόνιση των δειγμάτων των κλασμάτων στα δοχεία και στους κυλίνδρους και των πιεσμένων ραγών στα αλουμινένια κεσεδάκια

## 3.2. Ποικιλίες σταφυλιών

Όπως προειπώθηκε η πρώτη προσπάθεια έγινε με τη χρήση της ποικιλίας Pinot noir ενώ η δεύτερη και η Τρίτη με ομογενοποιημένο μείγμα των ποικιλιών Grenache, Cabernet Franc, Syrah.

### 3.2.1. Pinot Noir

Το Pinot noir είναι από τις πιο σημαντικές ποικιλίες για το παγκόσμιο κρασί. Αποτελεί αρχαία ποικιλία με ευρεία κλωνική παραλλατικότητα, ευτυχές γεγονός για έναν οινοποιό καθώς δίνεται η δυνατότητα με σωστό χειρισμό και συνδυασμό διαφορετικών κλώνων να επιτευχθεί το επιθυμητό τελικό προϊόν.

Θεωρείται ότι έχει τις ρίζες του στη βορειοανατολική Γαλλία ή στα νοτιοδυτικά της Γερμανίας και είναι μια φυσική διασταύρωση του Pinot Meunier με την ποικιλία Traminer. Στη Βουργουνδία γίνονται τα πιο μεγαλοπρεπή και πολυδιάστατα μονοποικιλιακά Pinot noir ωστόσο έχει δώσει εξαιρετικά αποτελέσματα σε πολλές περιοχές του παγκόσμιου αμπελώνα. Κάποιες από αυτές είναι η Γερμανία, όπου το Pinot noir έχει το συνώνυμο Spätburgunder, η Βόρεια Αλπική Ιταλία όπου εκεί ονομάζεται και Pinot nero, η Santa Elena της Καλιφόρνια, το Oregon στην Αμερική, η Ταζμανία στην Αυστραλία, ο Καναδάς και η Νέα Ζηλανδία.

Αν και το Pinot Noir κερδίζει το μεγαλύτερο μέρος της φήμης του από τα κόκκινα κρασιά του, δεν πρέπει να ξεχνάμε πώς είναι ένα ζωτικό συστατικό της Σαμπάνιας αλλά και πολλών άλλων αφρώδων λευκών και ροζέ κρασιών. Χρησιμοποιείται για την παραγωγή blanc de noir τα οποία τείνουν να είναι πλούσια και ανθεκτικά, με την εκχύλιση των ταννινών να περιορίζεται στο ελάχιστο.

Είναι πρόγονος ενός τεράστιου αριθμού ποικιλιών σταφυλιών γνωστών σήμερα. Μαζί με το Gouais Blanc, είναι γονέας των ποικιλιών Gamay Noir και Aligoté. Έχει μικρή και πυκνή σταφυλή, ράγα μέτρια με σχετικά λεπτό φλοιό. Χαρακτηρίζεται για την ανισορραγία που παρουσιάζει σε μερικούς κλώνους. Το φυτό είναι μέτριας παραγωγικότητας και μικρής ζωηρότητας. Ευδοκίμει σε βαθιά ασβεστούχα εδάφη μέσης μηχανικής σύστασης και διαμορφώνεται σε γραμμικά



συστήματα καρποφορίας. Είναι μία ποικιλία αρκετά ευαίσθητη σε περονόσπορο, βοτρυτή, ανθόρροια και γενετικές μεταλλάξεις.

Ένα κρασί από Pinot noir θα έχει μέτριο προς υψηλό αλκοολικό τίτλο, υψηλή οξύτητα, απαλό ανοιστό χρώμα, καθαρά γεμάτα αρώματα κόκκινων φρούτων και χαμηλά έως μέτρια επίπεδα μαλακών τανινών.



**Εικόνα 9.** Σταφύλι από την ποικιλία Pinot noir

### **3.2.2. Grenache**

Το Grenache είναι μια ποικιλία ερυθρού κρασιού που καλλιεργείται εκτενώς σε Γαλλία, Γερμανία, Ισπανία, Ελλάδα, Αυστραλία και τις Ηνωμένες Πολιτείες. Πιθανότατα προήλθε από την περιοχή της Aragon στη βόρεια Ισπανία, εξού και το πρώτο όνομα του ήταν το Tinto Aragonés που σημαίνει κόκκινο της Αραγονίας. Έγινε βέβαια γνωστό από το Ροδανό και συγκεκριμένα από το Chateauneuf du Pape. Στην Ισπανία δίνει σπουδαία αποτελέσματα ειδικότερα στα σχιστολιθικά εδάφη του Priorat. Εκτός από Grenache Rouge ονομάζεται και Grenache noir στη Γαλλία, Garnacha στην Ισπανία και Cannonau στη Σαρδηνία.

Είναι ιδιαίτερα ευέλικτο τόσο στον αμπελώνα όσο και στο οινοποιείο και αποτελεί ένα σφριγηλό και ανθεκτικό αμπέλι με ισχυρό ξύλινο σκελετό, το οποίο καλλιεργείται συχνά ως αυτοφυές φυτό. Είναι ανθεκτικό στον άνεμο και την ξηρασία, καθιστώντας το κατάλληλο για ξηρά θερμά κλίματα. Τα φτωχότερα και καλά στραγγιζόμενα (σχιστολιθικά- ασβεστολιθικά) εδάφη δίνουν τα καλύτερα αποτελέσματα. Παρόλα αυτά αποτελεί μία αρκετά ευπροσάρμοστη ποικιλία στο

κλίμα και στο terroir. Τα σταφύλια Grenache έχουν μέτριο φλοιό και μέτρια προς μεγάλη ράγα. Ωριμάζουν όψιμα την καλλιεργητική περίοδο και είναι ευαίσθητα σε Περονόσπορο και Βοτρυτή.

Η διατήρηση χαμηλών αποδόσεων με σωστά κλαδέματα σε συνδυασμό με υδατικό στρες χαρίζουν αποτελέσματα οίνων κορυφαίου επιπέδου. Ζυμώνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες και παράγει οίνους με σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ, πλήρες σώμα, μέτρια προς υψηλή οξύτητα και μέτριες ταννίνες με αρώματα και γεύσεις κόκκινων φρούτων με μια λεπτή νότα μπαχαρικών.



**Εικόνα 10.** Σταφύλι από την ποικιλία Grenache

### **3.2.3. Cabernet Franc**

Το Cabernet Franc είναι μια γαλλική ποικιλία κρασιού που καλλιεργείται στις περισσότερες οινοπαραγωγικές χώρες. Η ποικιλία είναι πιο γνωστή ως το τρίτο σταφύλι του Μπορντώ μετέχοντας έτσι σε πολλά κορυφαία πολυποικιλιακά γαλλικά κρασιά παγκόσμιας κλάσης. Το Cabernet Franc πιστεύεται ότι γεννήθηκε στην περιοχή Libournais της νοτιοδυτικής Γαλλίας τον 17ο αιώνα, όταν ο καρδινάλιος Richelieu μετέφερε μοσχεύματα αμπέλου στην κοιλάδα του Λίγηρα. Φυτεύτηκαν στο Αβαείο του Bourgueil υπό τη φροντίδα ενός ηγούμενου ονόματι Breton, του οποίου το όνομα συνδέθηκε με το σταφύλι. Το 1997, εμφανίστηκαν στοιχεία DNA που έδειχναν ότι η Cabernet Franc είχε διασταυρωθεί με τη Sauvignon Blanc για να παραχθεί το Cabernet Sauvignon. Η σταφυλή του Cabernet Franc είναι μικρή όμως ομοιόμορφη και συμπαγής. Η ράγα έχει σκούρο χρωματισμό με λεπτό σχετικά

φλοιό.

Η ποικιλία ωριμάζει σχετικά νωρίς στην καλλιεργητική περίοδο, καθιστώντας το ένα ανθεκτικό φυτό σε καιρικές αντιξοότητες. Εάν διαχειριστεί σωστά παράγει καλές αποδόσεις. Φαίνεται να ευδοκίμει σε κιμωλιακά, αμμώδη εδάφη, παράγοντας βαρύτερα και με πιο γεμάτο σώμα κρασιά, όμως είναι αρκετά ευπροσάρμοστη. Ανάλογα βέβαια του terroir δίνει και αντίστοιχα αποτελέσματα.

Το κρασί από Cabernet Franc είναι λεπτό και αρωματικό ιδιαίτερα όταν είναι νεαρό και διακρίνεται από την έντονη πράσινη, φυτική του νότα. Σε πιο κρύες αμπελουργικές περιοχές, η ποικιλία εμφανίζει νότες γραφίτη και κόκκινης γλυκόριζας ενώ σε θερμότερα κλίματα εκφράζονται περισσότερα γήινα και δέρματος αρώματα. Από το Cabernet Franc στον Καναδά παρασκευάζεται και ice wine ή αλλιώς παγωμένο κρασί. Ως συστατικό πολυποικιλιακών οίνων συμβάλλει σε μια πιο απαλή και στρογγυλή αίσθηση στο στόμα.



**Εικόνα 11.** Σταφύλι και φύλλο από την ποικιλία Cabernet Franc

### 3.2.4. Syrah

Το Syrah είναι μια από τις πιο πολυφυτεμένες ερυθρές ποικιλίες του κόσμου. Η προέλευσή του έχει συζητηθεί ευρέως, αλλά το σύγχρονο αμπελουργικό του σπίτι είναι αναμφισβήτητα η βόρεια κοιλάδα του Ροδανού της ανατολικής Γαλλίας, όπου δημιουργεί πολυδιάστατους με έντονα αρώματα μπαχαρικών οίνους. Το προφίλ του DNA έδειξε ότι το Syrah είναι μια διασταύρωση δύο μικρότερων ποικιλιών, του Dureza, το οποίο είναι ερυθρή ποικιλία, με τη λευκή Mondeuse Blanche. Στην Αυστραλία ονομάζεται Syraz και δημιουργεί πιο γεμάτα σε σώμα κρασιά με περισσότερο κόκκινο φρούτο τόσο στη μύτη όσο και στο στόμα. Είναι ένα εξαιρετικά χρήσιμο σταφύλι ανάμειξης. Η υψηλή περιεκτικότητα του σε πολυφαινόλες συμβάλει σε μία βαθιά απόχρωση στο τελικό χρωματικό αποτέλεσμα. Γενικότερα δημιουργεί κρασιά με υψηλό αλκοολικό τίτλο λόγω της καλής ωρίμανσης του.

Έχει ράγα μέτρια σκούρου κυανομελανού χρωματισμού με παχύ σχετικά φλοιό. Είναι ένα φυτό με υψηλή ζωρότητα και παραγωγικότητα, το οποίο φύεται καλά και εξαιρετικά σπάνια παρουσιάζει ανωμαλίες. Διαμορφώνεται σε γραμμικά συστήματα τόσο με βραχύ όσο και με μακρύ κλάδεμα καρποφορίας. Ευδοκίμει σε βαθιά εδάφη μέτριας υγρασίας. Δεν ταιριάζει σε ασβεστόχα εδάφη, ειδικά αν συνδυαστεί με το R110 υποκείμενου αμπέλου, όπου εμφανίζει χλώρωση σιδήρου.



**Εικόνα 12.** Σταφύλι και φύλλο από την ποικιλία Syrah

### 3.3. Τα ένζυμα που χρησιμοποιήθηκαν

Τα παρασκευάσματα που παρέχονται από την εταιρεία Erbslöh από το Geisenheim χαρακτηρίζονται ως "Enzyme weakly extracting" και "Enzyme strongly extracting". Δεδομένου ότι τα παρασκευάσματα είναι πηκτινάσες, το ασθενώς εκχυλιστικό παρασκεύασμα θα αναφέρεται εφεξής ως "ασθενής πηκτινάση" και το ισχυρά εκχυλιστικό παρασκεύασμα ως "ισχυρή πηκτινάση". Και τα δύο παρασκευάσματα προέρχονται από το μύκητα *Aspergillus niger*.

Η σύνθεση των παρασκευασμάτων είναι διαφορετική και παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:

**Πίνακας 2.** Σύνθεση παρασκευασμάτων πηκτινάσης ασθενούς και ισχυρής εκχύλισης

|                               | <b>Pektinase schwach</b> | <b>Pektinase stark</b> |
|-------------------------------|--------------------------|------------------------|
| <b>Endo-Polygalacturonase</b> | 40 endo-PG-U/ml          | 900 endo-PG-U/ml       |
| <b>Pektinlyase</b>            | 14000 PL-U/ml            | 5000 PL-U/ml           |
| <b>Pektin-Methylesterase</b>  | 1400 PME-U/ml            | 800 PME-U/ml           |

Η αποθήκευση και των δύο σκευασμάτων έγινε σε ψυχόμενα φιαλίδια του οινοποιείου του Πανεπιστημίου Εφαρμοσμένων Επιστημών του Geisenheim.

### 3.4. Ζύμωση

Η ζύμωση ξεκίνησε για κάθε προσπάθεια την ίδια ημέρα της πίεσης του γλεύκους. Ο εμβολιασμός πραγματοποιήθηκε με καθαρή καλλιέργεια ζύμης της εταιρείας Erbslöh και ονομάζονται "Oenoferm XThiol". Η δοσολογία είναι 20 g/hl, και ανάμειξη με δεκαπλάσια ποσότητα υγρού, 50 % νερό-50 % γλεύκος από την δεξαμενή ελέγχου χωρίς προσθήκη πηκτινάσης. Η ζύμωση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου 17°C. Η ζύμωση παρακολουθείτο καθημερινώς μετρώντας βαθμούς °Oe. Αναλυτικότερα η κλίμακα Oechsle είναι μια υδρομετρική κλίμακα που μετρά την πυκνότητα του γλεύκους σταφυλιών η οποία είναι ένδειξη της ωρίμανσης των σταφυλιών και της περιεκτικότητας σε σάκχαρα. Στην κλίμακα Oechsle, ένας βαθμός Oechsle (°Oe) αντιστοιχεί σε ένα γραμμάριο της διαφοράς μεταξύ της μάζας ενός λίτρου γλεύκους στους 20 °C και του 1 kg (η μάζα 1 λίτρου νερού). Για παράδειγμα, μούστος με ειδική μάζα 1084 γραμμάρια ανά λίτρο έχει 84 °Oe. Ο στόχος της ζύμωσης ήταν να ζυμωθούν όλα τα σάκχαρα με τελικό αποτέλεσμα ένα ξηρό οίνο. Για να επιτευχθεί αυτό, η πυκνότητα πρέπει να παρει μία τιμή περίπου 0,995g/cm<sup>3</sup>, η οποία αντιστοιχεί σε -5 °Oe.

### 3.5. Χημικές αναλύσεις

#### 3.5.1. Προετοιμασία δειγμάτων

Τα δείγματα διατηρήθηκαν σε ψυχόμενο περιβάλλον για το χρονικό διάστημα μεταξύ της δειγματοληψίας και της ανάλυσης.

Με την έναρξη της διαδικασίας της ανάλυσης τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά. Μετά τη φυγοκέντρηση, τα φιαλίδια μεταφέρθηκαν αργά το καθένα σε ένα ποτήρι ζέσεως, ώστε να μην ομογενοποιηθούν οι 2 φάσεις υγρών που προέκυψαν από τη φυγοκέντρηση.

### 3.5.2. Προσδιορισμός της ολικής οξύτητας και του pH

25 ml των διηθημένων δειγμάτων διοχετεύθηκαν με σιφόνιο σε κωνική φιάλη και στη συνέχεια τιτλοδοτήθηκαν. Η ένδειξη της συνολικής οξύτητας εκφράζεται σε γραμμάρια ανά λίτρο τρυγικού οξέος. Η ενεργός οξύτητα (pH) μετρήθηκε με ειδικό όργανο μέτρησης pH.

### 3.5.3. Προσδιορισμός της πυκνότητας και του αφομοιώσιμου αζώτου

Η μέτρηση της πυκνότητας πραγματοποιήθηκε με ειδικό Πυκνόμετρο, κατασκευασμένο από ειδικό γυαλί, χωρητικότητας περίπου 100 ml, που φέρει πλευρικό σωλήνα μήκους 25 mm και εσωτερικής διαμέτρου όχι μεγαλύτερης από 1 mm, με κωνικό εσφύρισμα και κινητό θερμομέτρο σμυρισμένο στο σημείο σύνδεσης και βαθμολογημένο ανά δέκατο του βαθμού από 10 °C έως 30 °C.

Η πυκνότητα μπορεί επίσης να επαληθευτεί με τη μέτρηση του βάρους του υγρού και του όγκου που καταλαμβάνει χρησιμοποιώντας τον τύπο :  $d=m/v$ .

Το αξιοποιήσιμο από τη ζύμη άζωτο εξετάστηκε στη συνολική ποσότητα κάθε προσπάθειας και το αποτέλεσμα δόθηκε με τη μορφή μιας αθροιστικής παραμέτρου, της τιμής NOPA. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε φωτομετρικά και είναι εκφρασμένη σε mg/L.

### 3.5.4. Προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου

Για όλα τα δείγματα, ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε προσθέτοντας πρώτα 75 ml απεσταγμένου νερού σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Στη συνέχεια προστέθηκε 1 ml δείγματος με πιπέτα. Εάν το δείγμα περιέχει διοξείδιο του θείου, αυτό πρέπει πρώτα να εξαλειφθεί με υπεροξείδιο του υδρογόνου. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 5 ml αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu σε κάθε ογκομετρική φιάλη, αναμείχθηκαν καλά και αφέθηκαν να παραμείνουν για 3 λεπτά. Το επόμενο βήμα ήταν να προστεθούν 10 ml κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου σε κάθε φιάλη και στη συνέχεια να συμπληρωθούν μέχρι τη χαραγή των 100 ml με απεσταγμένο νερό. Οι φιάλες αναμείχθηκαν καλά και αφέθηκαν σε ηρεμία για 60



λεπτά. Λίγο πριν από το τέλος αυτού του χρόνου, 3 ml υγρού διοχετεύθηκαν με σιφόνιο από κάθε φιάλη σε κυψελίδα, η απορρόφηση της οποίας μετρήθηκε στα 720 νανόμετρα (nm). Η σημειωθείσα τιμή απορρόφησης εισήχθη στον πίνακα της εφαρμογής Excel "FGesamtphenole.xls", η οποία υπολόγισε την ολική περιεκτικότητα σε φαινόλες.



Εικόνα 13. Δείγματα των κλασμάτων κατά τη διάρκεια χημικών αναλύσεων

### 3.5.5. Προσδιορισμός των τιμών θολερότητας

Οι τιμές θολότητας μετρήθηκαν από όλα τα συμπιεσμένα κλάσματα όλων των προσπαθειών. Για το σκοπό αυτό, 10 ml του φυγοκεντρημένου δείγματος διοχετεύθηκαν με σιφόνιο σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα και μετρήθηκαν με φωτόμετρο Steulicht. Το αποτέλεσμα εκφράστηκε σε μονάδα νεφελομετρικής θολότητας (NTU).

## 4. Αποτελέσματα

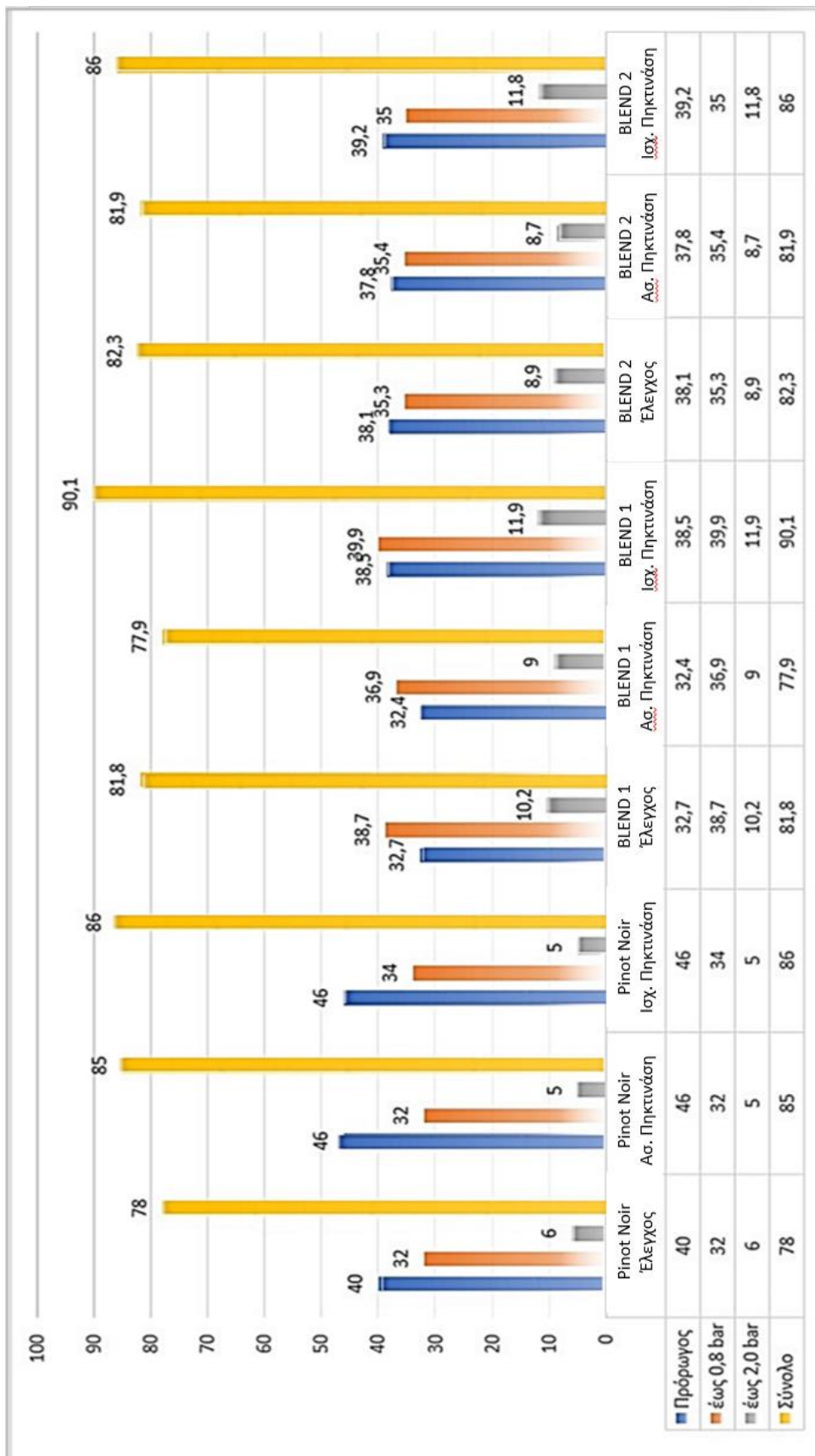
---

### 4.1. Απόδοση

Όσον αφορά την απόδοση του γλεύκους κατά την πρώτη προσπάθεια τόσο στο σύνολο όσο και στο κάθε κλάσμα ξεχωριστά η προσθήκη ενζύμου είναι αισθητή. Και στις τρεις περιπτώσεις ο πρόωγος έχει αυξηθεί σημαντικά, γεγονός το οποίο είναι παραπάνω και από επιθυμητό, διότι είναι το πιο “πλούσιο” κλάσμα σε όλα τα θετικά οργανοληπτικά στοιχεία, με την ισχυρή πηκτινάση να σημειώνει μία διαφορά τάξης 16%.

Κατά τη δεύτερη και τρίτη προσπάθεια ενώ η ασθενής πηκτινάση κυμαίνεται στις ίδιες τιμές, η ισχυρή σημειώνει αύξηση 11% και 6% αντίστοιχα.

Στα ακόλουθα διαγράμματα, όπου BLEND 1 ισχύει μείγμα των ποικιλιών Grenache, Cabernet Franc και Syrah, με μεγαλύτερο ποσοστό στο Pinot Noir και όπου BLEND 2 μείγμα των ποικιλιών Grenache, Cabernet Franc και Syrah με μεγαλύτερο ποσοστό στην ποικιλία Syrah.



**Γράφημα 1.** Αποτελέσματα μετρήσεων απόδοσης εκφρασμένο τοις εκατό βάρος κατά βάρος % w/w, σύμφωνα με τη One-way ANOVA δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ( $P = 1.000$ ,  $F = 0.0099$ ,  $df = 8, 27$ )"

## 4.2. Ίζημα Οινολάσσης

Στην πρώτη προσπάθεια τόσο η ασθενής πηκτινάση όσο και η ισχυρή σημείωσαν τεράστια αύξηση στην ποσότητα ιζήματος στους γυάλινους κυλίνδρους στο πρώτο κλάσμα του προρώγου συγκριτικά με τον έλεγχο ύψους 130-160%. Τα υπόλοιπα κλάσματα έχουν πανομοιότυπες τιμές.

Στη δεύτερη προσπάθεια η ασθενής πηκτινάση σημείωσε μείωση 50% στο πρώτο κλάσμα του προρώγου ενώ η ισχυρή πηκτινάση σημαντική αύξηση ύψους 20%.

Στην τρίτη προσπάθεια η ασθενής πηκτινάση είναι εκείνη που σημείωσε αύξηση 24% ενώ η ισχυρή μείωση τάξης 26% στον πρόρωγο ενώ στο συνολικό δείγμα σημείωσε μείωση τάξης 42,8% η ασθενής και 19,01% η ισχυρή.

**Πίνακας 3.** Αποτελέσματα μετρήσεων ιζήματος οινολάσσης εκφρασμένο τοις εκατό κατά βάρος % w/w, σύμφωνα με τη One-Way ANOVA δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά (P=1.000, F=0.0099, df=8,27)

| Στήλη1                    | Πρόρωγο | έως 0,8 βα | έως 2,0 βα | Σύνολο |
|---------------------------|---------|------------|------------|--------|
| Pinot Noir Έλεγχος        | 1,09    | 0,72       | 0,97       | 1,09   |
| Pinot Noir Ασ. Πηκτινάση  | 2,54    | 0,85       | 0,89       | 1,17   |
| Pinot Noir Ισχ. Πηκτινάση | 2,9     | 0,97       | 0,89       | 1,61   |
| BLEND 1 Έλεγχος           | 1,86    | 0,43       | 0,39       | 0,43   |
| BLEND 1 Ασ. Πηκτινάση     | 0,93    | 0,36       | 0,18       | 0,39   |
| BLEND 1 Ισχ. Πηκτινάση    | 2,25    | 0,46       | 0,54       | 0,54   |
| BLEND 2 Έλεγχος           | 1,81    | 0,44       | 0,32       | 1,05   |
| BLEND 2 Ασ. Πηκτινάση     | 2,26    | 0,52       | 0,6        | 0,6    |
| BLEND 2 Ισχ. Πηκτινάση    | 1,33    | 0,52       | 0,16       | 0,85   |

### 4.3. Θολερότητα

Στην πρώτη προσπάθεια ενώ χωρίς τη φυγοκέντρωση των δειγμάτων, τα δείγματα των ηηκτινασών έχουν μεγαλύτερες τιμές θολερότητας, μετά τη φυγοκέντρωση παρουσιάζουν εξαιρετικά μεγάλη μείωση τάξης 80% τόσο στον πρόρωγο όσο και στο συνολικό δείγμα και στις δύο περιπτώσεις ηηκτινασών.

Στη δεύτερη και τρίτη προσπάθεια τόσο πριν τη φυγοκέντρωση όσο και μετά οι τιμές μειώνονται δραματικά με τη χρήση των ενζύμων με πολύ μεγαλύτερη διαφορά να σημειώνεται στην ισχυρή ηηκτινάση.

**Πίνακας 4.** Αποτελέσματα μετρήσεων θολερότητας πριν από φυγοκέντρωση εκφρασμένο σε NTU, σύμφωνα με τη One-Way ANOVA δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά (P=0.9377, F=0.3496, df=8,27)

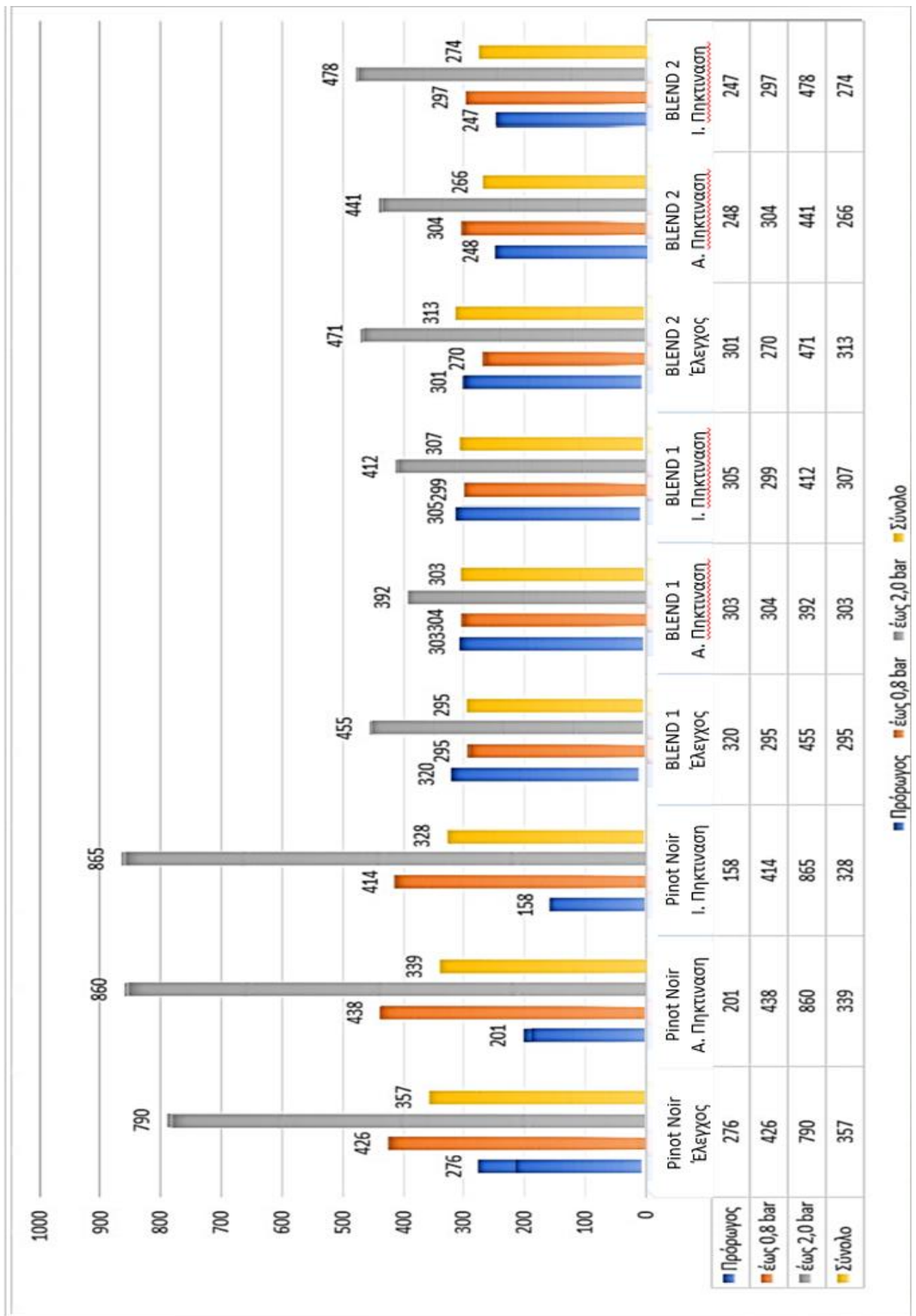
| Στήλη1                    | Πρόρωγος | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο |
|---------------------------|----------|-------------|-------------|--------|
| Pinot Noir Έλεγχος        | 718      | 305         | 536         | 402    |
| Pinot Noir Ασ. Πηκτινάση  | 952      | 321         | > 1300      | 361    |
| Pinot Noir Ισχ. Πηκτινάση | 897      | 261         | 1051        | 411    |
| BLEND 1 Έλεγχος           | >1300    | 181         | 177         | 211    |
| BLEND 1 Ασ. Πηκτινάση     | >1300    | 195         | 272         | 172    |
| BLEND 1 Ισχ. Πηκτινάση    | 548      | 166         | 92          | 146    |
| BLEND 2 Έλεγχος           | > 1300   | 149         | 152         | 383    |
| BLEND 2 Ασ. Πηκτινάση     | > 1300   | 158         | 188         | 172    |
| BLEND 2 Ισχ. Πηκτινάση    | > 1300   | 147         | 189         | 49     |

**Πίνακας 5.** Αποτελέσματα μετρήσεων θολερότητας μετά από φυγοκέντρωση εκφρασμένο σε NTU, σύμφωνα με τη One-Way ANOVA υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά (P=0.0155, F=2.9907, df=8,27)

| Στήλη1                    | Πρόρωγος | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο |
|---------------------------|----------|-------------|-------------|--------|
| Pinot Noir Έλεγχος        | 135      | 149         | 150         | 158    |
| Pinot Noir Ασ. Πηκτινάση  | 32       | 134         | 149         | 64     |
| Pinot Noir Ισχ. Πηκτινάση | 24       | 21          | 107         | 26     |
| BLEND 1 Έλεγχος           | 67       | 72          | 135         | 90     |
| BLEND 1 Ασ. Πηκτινάση     | 14       | 50          | 136         | 35     |
| BLEND 1 Ισχ. Πηκτινάση    | 14       | 6           | 51          | 8      |
| BLEND 2 Έλεγχος           | 80       | 55          | 131         | 89     |
| BLEND 2 Ασ. Πηκτινάση     | 25       | 81          | 134         | 50     |
| BLEND 2 Ισχ. Πηκτινάση    | 12       | 59          | 143         | 16     |

#### 4.4. Ολικές φαινόλες

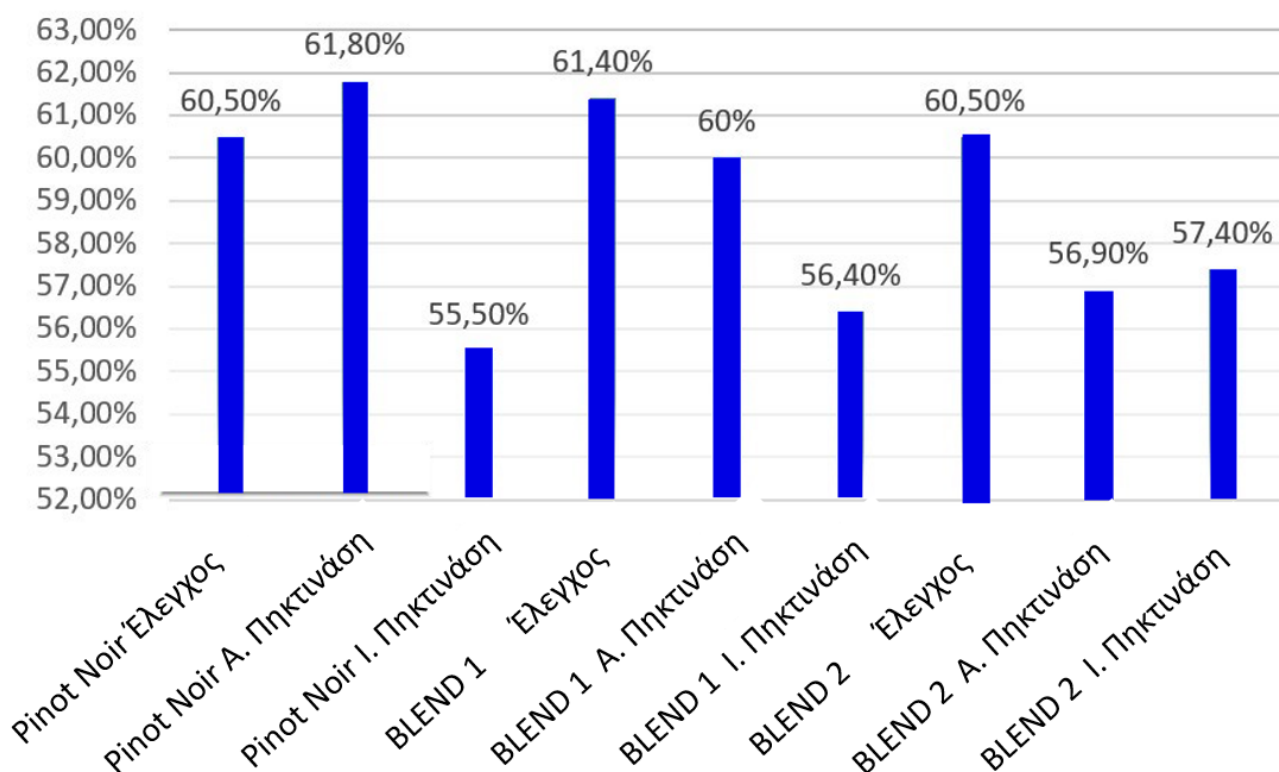
Όπως και ήταν επιθυμητό οι τιμές των ολικών φαινολών τόσο σε όλα τα κλάσματα όσο και στο σύνολο εμφανίζουν μείωση με μεγαλύτερη διαφορά να σημειώνεται στην τρίτη προσπάθεια με την ισχυρή πηκτινάση.



**Γράφημα 2.** Αποτελέσματα μετρήσεων ολικών φαινολών εκφρασμένο σε mg/l, σύμφωνα με τη One-Way ANOVA δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ( $P=0.8057$ ,  $F=0.5535$ ,  $df=8,27$ )

## 4.5. Υγρασία φλοιών

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε μετά από δεκαέξι ώρες ξήρανσης των φλοιών που συλλέχθηκαν μέσα από τον κάδο του πιεστηρίου στο τέλος κάθε κλάσματος. Μετά την ολοκλήρωση του προγράμματος πίεσης οι φλοιοί όλων των κλασμάτων ενώθηκαν και ομογενοποιήθηκαν σε ένα δοχείο στο οποίο και αποξηράθηκαν.

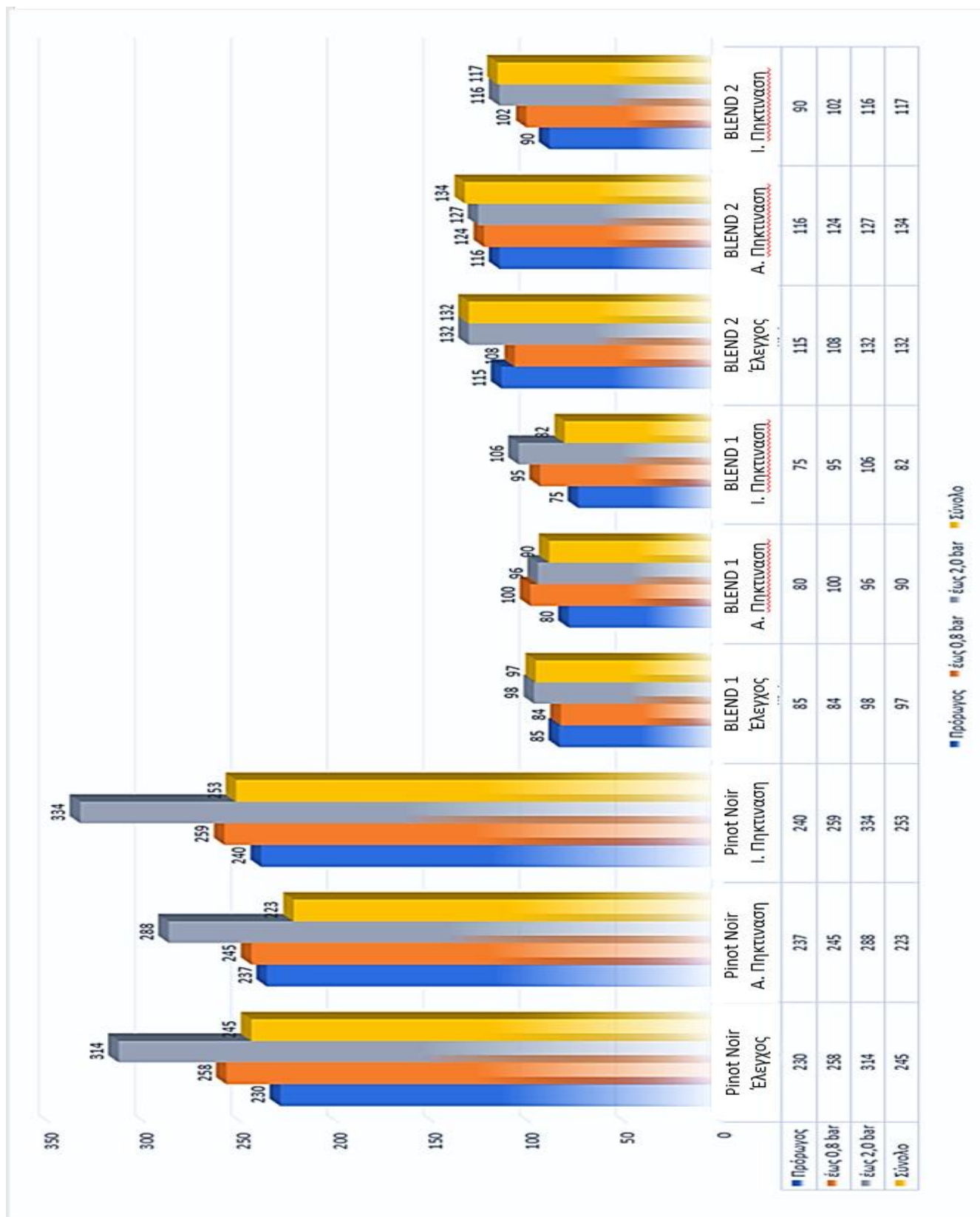


Γράφημα 3. Αποτελέσματα μετρήσεων Υγρασίας φλοιών (60°C, 16h)



#### **4.6. Αφομοιώσιμο άζωτο**

Και στις τρεις προσπάθειες σημειώνεται μείωση στην περιεκτικότητα αφομοιώσιμου αζώτου άλλοτε μικρότερη (ασθενής πηκτινάση κατά τη δεύτερη προσπάθεια) και άλλοτε μεγαλύτερη (ισχυρή πηκτινάση κατά την τρίτη προσπάθεια), με μόνες εξαιρέσεις την μικρή αύξηση τάξης 3,2% στο συνολικό δείγμα της πρώτης προσπάθειας και την εξίσου αμελητέα αύξηση τάξης 1,5% στο συνολικό δείγμα της τρίτης προσπάθειας.



**Γράφημα 4.** Αποτελέσματα μετρήσεων του αφομοιώσιμου αζώτου εκφρασμένου ως τιμή NOPA (άζωτο μεορθοφθαλμαλδεΐδη), σύμφωνα με τη One-Way ANOVA υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $P=4.1522e-14$ ,  $F=49.1424$ ,  $df=8,27$ )

## 4.7. Οξέα

Και στις τρεις προσπάθειες η συγκέντρωση οξέων παραμένει σχεδόν αμετάβλητη με πολύμικρές διαφορές των πηκτιναισών με τον έλεγχο.

**Πίνακας 6.** Αποτελέσματα μετρήσεων pH, Ολικών οξέων [g/L], Τρυγικού οξέος [g/L], Πτητικής οξύτητας [g/L] και Μηλικού οξέος [g/L], σύμφωνα με τη One-Way ANOVA δεν υπάρχει στατιστική σημαντική διαφορά (P=0.9544, F=0.3128, df=8,27)

|                       | Pinot noir Έλεγχος                      |             |             |        | Pinot noir Ασθενής πηκτινάση                      |             |             |        | Pinot noir Ισχυρή πηκτινάση                      |             |             |        |
|-----------------------|---|-------------|-------------|--------|---|-------------|-------------|--------|--|-------------|-------------|--------|
| <b>1η Προσπάθεια</b>  | Πρόρωγος                                | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο | Πρόρωγος  | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο | Πρόρωγος   | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο |
| pH                    | 3,4                                     | 3,5         | 4           | 3,5    | 3,4   | 3,6         | 4           | 3,6    | 3,4  | 3,7         | 4           | 3,5    |
| Ολικά οξέα [g/L]      | 11,5                                    | 9,6         | 6,5         | 10     | 11,4  | 9           | 6,7         | 9,7    | 11,4   | 8,9         | 6,8         | 9,9    |
| Τρυγικό οξύ [g/L]     | 5,8                                     | 5,7         | 3,8         | 5,4    | 6,2   | 5,2         | 4           | 5,3    | 6  | 5           | 3,9         | 5,3    |
| Πτυτική οξύτητα [g/L] | < 0,1                                   | < 0,1       | < 0,1       | < 0,1  | < 0,1   | < 0,1       | < 0,1       | < 0,1  | < 0,1  | < 0,1       | < 0,1       | < 0,1  |
| Μηλικό οξύ [g/L]      | 6                                       | 4,9         | 4,3         | 5,5    | 5,8   | 4,7         | 4,5         | 5,3    | 5,8  | 4,9         | 4,7         | 5,3    |
|                       | Grenache, Cabernet Franc, Syrah Έλεγχος |             |             |        | Grenache, Cabernet Franc, Syrah Ασθενής πηκτινάση |             |             |        | Grenache, Cabernet Franc, Syrah Ισχυρή πηκτινάση |             |             |        |
| <b>2η Προσπάθεια</b>  | Πρόρωγος                                | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο | Πρόρωγος  | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο | Πρόρωγος   | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο |
| pH                    | 3,6                                     | 3,5         | 3,4         | 3,4    | 3,7   | 3,5         | 3,4         | 3,5    | 3,4  | 3,4         | 3,6         | 3,4    |
| Ολικά οξέα [g/L]      | 8,2                                     | 9,1         | 9           | 9      | 8,2   | 9,2         | 9,1         | 8,9    | 8,7  | 9,1         | 8,5         | 8,9    |
| Τρυγικό οξύ [g/L]     | 5,6                                     | 6           | 5,7         | 5,8    | 5,6   | 6           | 5,8         | 5,8    | 5,5  | 5,9         | 5,6         | 5,7    |
| Πτυτική οξύτητα [g/L] | < 0,2                                   | < 0,2       | < 0,2       | < 0,2  | < 0,2   | < 0,2       | < 0,2       | < 0,2  | < 0,2  | < 0,2       | < 0,2       | < 0,2  |
| Μηλικό οξύ [g/L]      | 4,4                                     | 4,6         | 4,6         | 4,6    | 4,4   | 4,6         | 4,5         | 4,6    | 4,6  | 4,6         | 4,6         | 4,6    |
|                       | Grenache, Cabernet Franc, Syrah Έλεγχος |             |             |        | Grenache, Cabernet Franc, Syrah Ασθενής πηκτινάση |             |             |        | Grenache, Cabernet Franc, Syrah Ισχυρή πηκτινάση |             |             |        |
| <b>3η Προσπάθεια</b>  | Πρόρωγος                                | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο | Πρόρωγος  | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο | Πρόρωγος   | έως 0,8 bar | έως 2,0 bar | Σύνολο |
| pH                    | 3,46                                    | 3,4         | 3,7         | 3,4    | 3,3   | 3,4         | 3,6         | 3,4    | 3,3  | 3,4         | 3,6         | 3,4    |
| Ολικά οξέα [g/L]      | 8,93                                    | 8,5         | 8,6         | 8,7    | 8,4   | 8,6         | 8,2         | 8,7    | 8,4  | 8,7         | 8,4         | 8,5    |
| Τρυγικό οξύ [g/L]     | 5,3                                     | 4,7         | 4,9         | 4,8    | 4,8   | 5,1         | 4,9         | 5,1    | 4,7  | 5,1         | 4,9         | 4,9    |
| Πτυτική οξύτητα [g/L] | < 0,2                                   | < 0,2       | < 0,2       | < 0,2  | < 0,2   | < 0,2       | < 0,2       | < 0,2  | < 0,2  | < 0,2       | < 0,2       | < 0,2  |
| Μηλικό οξύ [g/L]      | 5                                       | 4,8         | 5,1         | 4,9    | 4,5   | 4,5         | 4,6         | 4,6    | 4,5  | 4,7         | 4,8         | 4,5    |

## 5. Συμπεράσματα

---

Στόχος του πειράματος ήταν η παραγωγή ροζέ οίνων με μείωση της εκχύλισης των φαινολικών. Αύξησε ικανοποιητικά την απόδοση του γλεύκους με κύρια διαφορά την αύξηση του προρώγου, του πιο πλούσιου κλάσματος. Επομένως όλα τα θετικά χαρακτηριστικά του βρίσκονται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα στον οίνο. Επετεύχθη η μείωση των φαινολικών και κυρίως των ταννινών. Δημιουργήθηκε λοιπόν ένας πλούσιος σε σώμα οίνος χωρίς να συνοδεύεται από τη δυσάρεστη αίσθηση της στυφάδας στο γευστικό αποτέλεσμα. Λόγω της μείωσης του ιξώδους αλλά και του μικρότερου αριθμού στερεών, επιτυγχάνεται ευκολότερη και αποτελεσματικότερη διαύγαση. Στη μέτρηση της υγρασίας των στεμφύλων σημειώθηκε μείωση συγκριτικά με το δείγμα χωρίς ένζυμο, γεγονός το οποίο σημαίνει την καλύτερη πίεση και αποστράγγιση του γλεύκους.

Με μία πιο αναλυτική ματιά όσον αφορά την απόδοση, παρατηρείται σαφής αύξηση του εκχυλίσματος και στις τρεις προσπάθειες και στις δύο περιπτώσεις ενζύμων, με την ισχυρά εκχυλιστική πηκτινάση όμως να δίνει τα καλύτερα νούμερα, τόσο στο κλάσμα του προρώγου, όσο και στο σύνολο των πιέσεων. Συγκριτικά με τον έλεγχο, εμφάνισε αύξηση 10,26% κατά την πρώτη προσπάθεια και 10,15% τη δεύτερη ενώ στην τρίτη μόλις 4,5%. Στην τρίτη προσπάθεια το τρίτο κλάσμα (έως 2bar) εμφανίζει σαφή αύξηση τάξης 32% ενώ στις δυο προηγούμενες αυξήθηκε 20%. Φαινομενικά η ισχυρή πηκτινάση έδωσε καλύτερα αποτελέσματα κατά την πρώτη προσπάθεια με την ποικιλία Pinot noir, όπου όλα τα νούμερα είναι βελτιωμένα.

Στη μέτρηση ιζήματος οινολάσπης παρατηρήθηκε μεγάλη ανομοιομορφία στα αποτελέσματα. Κατά την πρώτη προσπάθεια το ίζημα στο κλάσμα του προρώγου αυξήθηκε ραγδαία τόσο στην ασθενή όσο και στην ισχυρή πηκτινάση σε ποσοστό 133% και 166% αντίστοιχα, ενώ στο συνολικό κλάσμα 7,34% και 47,71% αντίστοιχα. Κατά τη δεύτερη προσπάθεια η ασθενής πηκτινάση σημείωσε μείωση τόσο στον πρόρωγο (-50%) όσο και στο σύνολο των κλασμάτων (-9,5%). Η ισχυρή από την άλλη μεριά αύξησε το ίζημα στον πρόρωγο 20% και 25% στο σύνολο. Στη μέτρηση της τρίτης προσπάθειας τα αποτελέσματα έρχονται σε μια μικρή αντιδιαστολή με αυτά της δεύτερης, με τη μοναδική αύξηση στον πρόρωγο με το ασθενώς εκχυλιστικό ένζυμο (24%) ενώ το ισχυρά εκχυλιστικό μείωσε το ίζημα

26%. Στο σύνολο και τα δύο ένζυμα προκάλεσαν μείωση του ιζήματος με την ασθενή πηκτινάση να σημειώνει 42% διαφορά και την ισχυρή 19,1%. Αν υποθέταμε πως το κάθε ένζυμο δρα διαφορετικά με τις ποικιλίες είναι αναμενόμενο να υπάρχει διαφορά στα αποτελέσματα της πρώτης από τη δεύτερη ή την τρίτη προσπάθεια. Όμως η δεύτερη και η τρίτη προσπάθεια έχουν ακριβώς την ίδια σύνθεση ποικιλιών και οινοποιήθηκαν υπό ίδιες ακριβώς συνθήκες. Εκεί μένει λοιπόν αναπάντητο το ερώτημα, πως επηρεάζουν τα ένζυμα το ίζημα οινολάσσης και θα χρειαστούν σίγουρα περαιτέρω έρευνες για να καλύψουν το κενό αυτό.

Από τις αναλύσεις στις τιμές θολερότητας και εστιάζοντας περισσότερο στις τιμές συνόλου μετά από φυγοκέντρηση, καθώς ο συνδυασμός αυτός παραπέμπει περισσότερο στο τελικό προϊόν, προκύπτει πως και τα δύο δείγματα με τα ένζυμα έχουν σημαντικά χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με τον έλεγχο. Πιο συγκεκριμένα η ασθενής πηκτινάση σημείωσε 60%, 61% και 43,8% μείωση στην πρώτη, δεύτερη και τρίτη προσπάθεια αντίστοιχα και η ισχυρή 84%, 90% και 80%. Το ισχυρά εκχυλιστικό ένζυμο επομένως έδωσε άριστα αποτελέσματα, διευκολύνοντας έτσι κατά πολύ μία περίπλοκη σχετικά διαδικασία της οινοποίησης, τη διαύγαση.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ο βασικός σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η αύξηση του εκχυλιζόμενου γλεύκους με παράλληλη μείωση της εκχύλισης φαινολικών ουσιών. Τα καλύτερα αποτελέσματα σημειώθηκαν στην πρώτη προσπάθεια με την ποικιλία Pinot noir. Ο πρόρωγος είχε 27% λιγότερα φαινολικά με το ασθενώς εκχυλιστικό ένζυμο και 42,7% με το ισχυρό. Στο σύνολο των κλασμάτων υπήρχε μείωση 5% και 8% αντίστοιχα.

Στη δεύτερη προσπάθεια δεν σημειώθηκαν ιδιαίτερες μεταπτώσεις σε κανένα από τα κλάσματα και στην τρίτη προσπάθεια σημειώθηκε μείωση 15% τόσο στον πρόρωγο όσο και στο σύνολο των κλασμάτων. Η δράση τους επομένως σε αυτό το κομμάτι της εργασίας αποδείχθηκε επιτυχής και αποτελεσματική. Σίγουρα, παρόλα αυτά, θα χρειαστούν περισσότερες εφαρμογές και πειράματα για να διασταυρωθεί η επιτυχία της δράσης τους.

Αναφορικά με τη μέτρηση ποσοστού υγρασίας φλοιών μετά τις πιέσεις στην πρώτη και στη δεύτερη προσπάθεια διαφορά σημείωσε η ισχυρή πηκτινάση με μείωση της υγρασίας 8% ενώ στην τρίτη προσπάθεια και με τα δύο ένζυμα σημειώθηκε πτώση της υγρασίας 5% συγκριτικά με τον έλεγχο. Μόνο ευνοϊκό μπορεί να είναι το αποτέλεσμα αυτό καθώς σημαίνει πως αυξήθηκε η ποσότητα του χυμού που εξήχθη από τους καρπούς.

Σχετικά με το ποσοστό αφομοιώσιμου αζώτου τα αποτελέσματα ήταν ασαφή για να οδηγηθούμε σε ένα απόλυτο συμπέρασμα. Αναλυτικότερα και μιλώντας για το σύνολο των κλασμάτων, στην πρώτη προσπάθεια σημειώθηκε μείωση 9% με την ασθενή πηκτινάση και αύξηση 3,2% με την ισχυρή. Στη δεύτερη προσπάθεια μείωση προκάλεσαν και τα δύο ένζυμα με το ισχυρό να σημειώνει τη μεγαλύτερη, ύψους 15,4%. Τέλος στην τρίτη προσπάθεια μικρή αύξηση, μόλις 1,5%, προκάλεσε το ασθενώς εκχυλιστικό ένζυμο και μείωση της τάξης του 11,4% το ισχυρό. Φαινομενικά ταυτόσημα είναι τα αποτελέσματα της ισχυρής πηκτινάσης τόσο στη δεύτερη όσο και στην τρίτη προσπάθεια, όπως και ήταν αναμενόμενο καθώς είναι πανομοιότυπες, ενώ αντίθετη δράση είχαν τα ένζυμα με το Pinot noir.

Εν κατακλείδι από τη μία ο στόχος επετεύχθη με ορισμένα αναπάντητα ερωτήματα, από την άλλη με πολλά περισσότερα θετικά αποτελέσματα από το αναμενόμενο παρόλο τον κίνδυνο για παρενέργειες και ανεπιθύμητες δράσεις για τις οποίες είναι υπεύθυνα τέτοιου είδους σκευάσματα.

## 6. Βιβλιογραφία

---

Arthold, M. (1950). *Handbuch der Kellerwirtschaft*. 5. Aufl. Wien: Scholle Verlag. S.10.

Augenstein, S. (2015). *Kellerwirtschaft im Detail: Problemlöser Enzym*. *Der Deutsche Weinbau* (Nr). 28–30.

Beyer, H., Walter, W., & Francke, W. (1998). *Lehrbuch der Organischen Chemie* (23rd ed.). Hirzel, S., Verlag.

Bucher Vaslin North, A. [@BucherVaslinNorthAmerica]. (2020, July 30). *Enzymes In Winemaking: Activities, Actions, Applications*. Youtube.  
<https://www.youtube.com/watch?v=4CZ1cNfoGYw>

Caccetta, M. L. W., Puddey, R. A., & Croft, I. B. (2000). Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clin Exper Pharm Phys*, 27, 152–159.

Carle, R. (2000). *Enzyme in der Lebensmitteltechnologie*. (K. Lösche, Hrsg.) Hamburg: Behr's Verlag GmbH & Co.; S. 83–87.

Cheyrier, V., Dueñas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sarni-Manchado, P., & Fulcrand, H. (2006). Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 298.  
<http://www.ajevonline.org/content/57/3/298.abstract>

Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8), 1001–1043. <https://doi.org/10.1039/b802662a>

- Dittrich, H. H., & Großmann, M. (2010). *Mikrobiologie des Weines*. 4. Aufl. *Eugen Ulmer KG*. S.
- Freund, M. (2004). Moderne Mostvorklärung - Theoretische Grundlagen der Mostvorklärung ausSicht der Weißweinbereitung. *S*, 32–36.
- Hobbs, J. K., Lee, S. M., Robb, M., Hof, F., Barr, C., Abe, K. T., Hehemann, J.-H., McLean, R., Abbott, D. W., & Boraston, A. B. (2016). KdgF, the missing link in the microbial metabolism of uronate sugars from pectin and alginate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *113*(22), 6188–6193. <https://doi.org/10.1073/pnas.1524214113>
- Khan, S. F. (2021, September 1). Cell wall: Definition, diagram, structure and functions. *PhD Nest*.<https://www.phdnest.com/cell-wall/>
- Kunz, B. (2016). *Lebensmittelbiotechnologie*. 2.Aufl. Hamburg: *B. Behr`s Verlag GmbH & Co. KG*. 256, 114–116.
- Mojsov, K. (2013). Use of enzymes in wine making: A review. *International Journal of Marketing and Technology (IJMT)*, *3*(9), 112–127. <http://eprints.ugd.edu.mk/7168/>
- Osete-Alcaraz, A., Gómez-Plaza, E., Pérez-Porras, P., & Bautista-Ortín, A. B. (2022). Revisiting the use of pectinases in enology: A role beyond facilitating phenolic grape extraction. *Food Chemistry*, *372*(131282), 131282. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131282>
- Richter, G. (1982). *Stoffwechselphysiologie der Pflanzen - Physiologie und Biochemie des Primär-und Sekundärstoffwechsels*. 4. Aufl. Georg Thieme Verlag.
- Seifert, W., & Vogt, E. (1945). *Weinchemie und Weinbereitung*. 2. Aufl. Mainz, Wiesbaden: *Verlag der Deutschen Weinzeitung* (J. DiemerRud. Bechtold, Ed.).
- Steidl, R. (2015). *Kellerwirtschaft*. 9. Aufl. Schwarzenbek: *avBuch Cadmos Verlag*. S, 12.



Van Rensburg, P., & Pretorius, I. S. (2000). Enzymes in winemaking: Harnessing natural catalysts for efficient biotransformations - A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21(1).

Vogt, E. (1970). *Weinchemie und Weinanalyse*. 3. Aufl. Stuttgart: Eugen Ulmer. S. 39, 68–73.

Würdig, G., & Woller, R. (1989). *Chemie des Weines* (Eugen Ulmer GmbH, Ed.; Vol. 73).

Ζαχαριουδάκη, Ε., & Μανωλάκης, Β. (2018). Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με την χρήση νανοσωματιδίων Αργύρου.