



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΔΥΤΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ

ΤΕΙ ΔΥΤΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ – ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΛΩΡΙΝΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ

ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΟΙ ΖΥΜΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ

ΟΝΟΜΑ ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑΣ: ΒΛΑΧΟΥ ΕΥΑΝΘΙΑ, FG31508

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΙΩΑΝΝΗΣ Ν. ΤΣΑΚΙΡΗΣ

Φλώρινα, 2023

Δηλώνω ότι είμαι ο συγγραφέας της παρούσας εργασίας με τίτλο

<<Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΟΙ ΖΥΜΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ>>

που συντάχθηκε στα πλαίσια της πτυχιακής μου εργασίας και παραδόθηκε το μήνα Σεπτέμβριο του 2023. Η αναφερόμενη εργασία δεν αποτελεί αντιγραφή ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται σαφώς στη βιβλιογραφία και στο κείμενο ενώ κάθε εξωτερική βοήθεια, αν υπήρξε, αναγνωρίζεται ρητά.

Όνομα (κεφαλαία)

ΑΜ

Υπογραφή:

ΒΛΑΧΟΥ ΕΥΑΝΘΙΑ

FG31508

ΒΛΑΧΟΥ ΕΥΑΝΘΙΑ

Ημερομηνία:

10/9/2023

*Στους ανθρώπους μου,
που με στήριξαν όλα αυτά τα χρόνια.*

Περίληψη

Η μικροβιολογία του κρασιού περιγράφει το σύνολο των μικροοργανισμών που συμβάλλουν στο μετασχηματισμό του μυρωδικού και γευστικού προφίλ του σταφυλιού σε ποιοτικά αποδεκτό κρασί. Οι οργανισμοί αυτοί είναι τα μικρόβια οι οποίοι βρίσκονται στους αμπελώνες και μπορούν να εισχωρήσουν στον οίνο κατά την διάρκεια της ζύμωσης και μετά την ολοκλήρωση του κύκλου της. Η μικροβιολογία του κρασιού είναι ένας σημαντικός τομέας τεχνολογίας καθώς οι μύκητες, τα βακτήρια και οι ζυμώσεις έχουν καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή και την ποιότητα του. Η παρουσία μικροβίων στο κρασί είναι σημαντική και απαραίτητη για το μετασχηματισμό του σταφυλιού σε κρασί αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσει σε αρνητικά αποτελέσματα όπως την υπεροξειδωση του κρασιού, την μείωση της ποιότητας και της ασφάλειας του. Η μικροβιακή βιολογία συμπεριλαμβάνει την ανάλυση των παθογόνων μικροοργανισμών που μπορεί να είναι επικίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία, την μελέτη των ζυμώσεων, των βακτηριακών μικροοργανισμών του κρασιού όπως και την ανάλυση της παραγωγής ενζύμων και αμινοξέων που συμβάλλουν στη γεύση και την μυρωδιά του. Στόχος είναι η αντιμετώπιση των μικροβιακών προβλημάτων που μπορούν να εμφανιστούν κατά τη διάρκεια της παραγωγής και αποθήκευσης του κρασιού. Η επιλογή της σωστής ποικιλίας ζυμών, η αποφυγή της υπεροξειδάσης και η παρακολούθηση της θερμοκρασίας κατά τη ζύμωση είναι μερικά από τα βήματα που απαιτούνται για τη διατήρηση της ποιότητας του οίνου. Η διαδικασία της οινοποίησης απαιτεί σταθερή, στενή παρακολούθηση και έλεγχο καθώς οι μικροοργανισμοί μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά την φυσική και χημική σύνθεση του κρασιού, όπως είναι η ποιότητα και η ασφάλεια του προϊόντος. Αποτελεί σημαντικό πεδίο ερευνών και απαιτεί την προσοχή και την επαγρύπνηση των οινοπαραγωγών. Τέλος το κρασί είναι ένας σύνθετος τομέας που απαιτεί πολλές γνώσεις και εμπειρία, η επιτυχής παραγωγή κρασιού απαιτεί την κατανόηση διαφόρων ειδών μυκήτων, βακτηρίων, ζυμώσεων και των αντιδράσεων τους. Η σωστή διαχείριση και ο έλεγχος των μικροβίων είναι κρίσιμης σημασίας για το τελικό αποτέλεσμα και την ποιότητα του.

Λέξεις κλειδιά: Μικροβιολογία, Κρασί, Μικροοργανισμοί, Βακτήρια, Μύκητες, Ζυμώσεις.

Abstract

The microbiology of wine describes the collection of microorganisms that contribute to the transformation of the aroma and taste profile of grapes into qualitatively acceptable

wine. These organisms are the microorganisms that are found in vineyards and can penetrate wine during fermentation and after completion of the cycle. Wine microbiology is an important area of technology as fungi, bacteria and fermentation have a decisive role in production and quality. The presence of microorganisms in wine is important and necessary for the transformation of grapes into wine, but in some cases, it can lead to negative results such as wine oxidation and a reduction in quality and safety. Microbial biology includes the analysis of pathogenic microorganisms which can be harmful to human health, the study of fermentation, bacterial microorganisms in wine, and the analysis of enzyme and amino acid production that contribute to taste and aroma. The goal is to address microbial problems that may arise during wine production and storage. Choosing the right yeast strain, avoiding oxidation and monitoring temperature during fermentation are some of the steps required to maintain wine quality. Wine making requires stable, close monitoring and control as microorganisms can negatively impact the physical and chemical composition of wine, such as product quality and safety. It is an important field of research and requires the attention and vigilance of wine producers. Knowledge and experience are crucial for a successful wine production due to the fact that it requires understanding different types of fungi, bacteria, fermentations and their reactions. Proper management and control of microorganisms are critical to the final outcome and quality.

Keywords: Microbiology, Wine, Microorganisms, Bacteria, Fungi, Fermentations.

Πίνακας Περιεχομένων

Δήλωση περί μη λογοκλοπής	ii
Ευχαριστίες	iii
Περίληψη	iv

Abstract	v
Περιεχόμενα	vi
Εισαγωγή	viii
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ	
1.1 Μικροοργανισμοί	1
1.2 Μύκητες	1
1.3 Ζυμομύκητες	2
1.3.1 Εμπορικοί ζυμομύκητες	3
1.3.2 Τοπικοί ζυμομύκητες	3
1.4 Βακτήρια	3
1.4.1 Θετικά και αρνητικά κατά Gram	5
1.4.2 Ενδοσπόρια	5
1.4.3 Παθογόνα βακτήρια	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΟΞΕΑ ΖΥΜΩΣΕΩΝ	
2.1 Μηλικό οξύ	6
2.2 Γαλακτικό οξύ	7
2.3 Πυρροβικό οξύ	11
2.4 Ταρταρικό οξύ	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΖΥΜΕΣ	
3.1 Ζύμες	15
3.1.1 Προέλευση	15
3.1.2 Ταξινόμηση	16
3.1.3 Φυσιολογικά χαρακτηριστικά	17
3.2 Σπόρια ζυμών	19
3.2.1 Άσπορες ζυμώσεις	19
3.2.2 Σπορογόνες ζυμώσεις	20
3.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά	20
3.3.1 Χαρακτηριστικά καλλιιεργειών	20
3.4 Φυσιολογία ζυμών	21
3.5 Διατροφή ζυμών	24
3.6 Οικολογία ζυμών	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ	
4.1 Αλκοολική ζύμωση	31
4.1.1 Στάδια αλκοολικής ζύμωσης	32
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΗΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ	
5.1 Γαλακτικά βακτήρια	33
5.2 Γαλακτικά βακτήρια και κρασί	33
5.2.1 Ομοζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια	34
5.2.2 Ετεροζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια	34
5.3 Ασθένειες γαλακτικών βακτηρίων	35
5.4 Γαλακτοβακτηρίδια είδη και γένη	35
5.5 Μεταβολισμός γαλακτοβακτηριδίων	38
5.6 Ασθένειες γαλακτικού οξέος	39
5.7 Μηλογαλακτική ζύμωση	42
5.8 Βακτήρια μηλογαλακτικής ζύμωσης	43
5.8.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων της μηλογαλακτικής ζύμωσης	44
5.9 Μηλογαλακτική ζύμωση στο κρασί	45
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ	
6.1 Γαλακτική ζύμωση	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΟΞΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ	
7.1 Οξικά βακτήρια	50

7.2	Είδη οξικών βακτηρίων	50
7.3	Οξική ζύμωση	51
7.4	Τοξικά βακτήρια	51
7.5	Φαινόμενο Killer	53
7.6	Θειωμένα γλεύκη	55
7.7	Ζύμες γλεύκους	56
7.8	Επαναζυμώσεις	59
7.9	Επιμολυσματικές ζύμες	60
7.10	Υγρή και ξηρή καλλιέργεια	61
7.11	Επιλεγμένες καλλιέργειες	61
7.12	Οι ασθένειες της αμπέλου	62
	Συμπεράσματα	63
	Βιβλιογραφία	64
	Ιστοσελίδες	65
	Εικόνες	65

Εισαγωγή

Κατά τη διάρκεια της φοίτησης μου (2018-2023) στη σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας και συγκεκριμένα στο τμήμα Ποιοτικού Ελέγχου Αγροτικών Προϊόντων και Τροφίμων της Φλώρινας, μέσω των μαθημάτων που παρακολούθησα, ανακάλυψα καινούργιες πτυχές του εαυτού μου που δεν γνώριζα πριν. Τα μαθήματα της Οινολογίας και της

Μικροβιολογίας είναι τα δύο βασικά που μου κέντρισαν το ενδιαφέρον και με κάνανε να θέλω να ασχοληθώ περαιτέρω μαζί τους και στο μέλλον. Οι ενδιαφέρουσες έρευνες και οι αμέτρητες πληροφορίες είναι και ο βασικός λόγος εκπόνησης αυτής της εργασίας με τίτλο, Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΟΙ ΖΥΜΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ.

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η μελέτη και η έρευνα μικροοργανισμών, βακτηρίων και μυκητών, οργανισμών που είναι αδύνατον να εντοπιστούν με γυμνό μάτι, οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν μεγάλη ζημιά σε προϊόντα όπως το κρασί, τα σταφύλια, το γάλα και την μύρα αλλά και στον άνθρωπο από απλές ασθένειες μέχρι και θάνατο. Επιπλέον σκοπός αυτής της εργασίας είναι να αναδείξει το πόσο λεπτή δουλειά είναι οινοποίηση, η πιο μικρή μεταφορά ενός βακτηρίου μπορεί να προκαλέσει ζημιά χρόνου, χρημάτων και προϊόντων. Επιπλέον, δύσκολη έρευνα αποτελεί η ταξινόμηση των ζυμών και τα χαρακτηριστικά τους. Πολλοί μελετητές και μεγάλοι επιστήμονες έχουν προσπαθήσει και έχουν καταφέρει να ταξινομήσουν τις περισσότερες ζύμες που υπάρχουν είτε ανήκουν στο κρασί είτε όχι.

Στη μελέτη αυτού του θέματος γίνεται αρχικά αναφορά στους οργανισμούς, μύκητες, βακτήρια οι οποίοι είναι βασικοί για τις διάφορες διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την οινοποίηση. Αναφέρονται τα οξέα των ζυμώσεων και οι ζυμώσεις που προκύπτουν από αυτά. Επιπλέον, οι ζύμες, η προέλευσή τους τα χαρακτηριστικά τους όπως και σημαντικά βακτήρια που βοηθούν στην ολοκλήρωσή τους. Μελετώνται οι ζύμες οινοποίησης και πολλές από τις ασθένειες που προκαλούνται από τα βακτήρια τους. Μερικές από αυτές τις ζύμες είναι οι αλκοολική, η γαλακτική, η μηλογαλακτική και η οξική. Γίνεται αναφορά στις θετικές και τις αρνητικές επιπτώσεις της μηλογαλακτικής ζύμωσης αλλά και σε παράγοντες που την αναστέλλουν. Ακολουθούν έρευνες και μελέτες επιστημόνων που το όνομα τους έχει μείνει χαραγμένο στην ιστορία, μερικοί από αυτούς ο Pasteur και ο Barrett, όπως και ιστορικές αναδρομές με αποτελέσματα ερευνών τότε και τώρα. Επιπλέον, πολλές έρευνες αφορούν τον *S. Cerevisiae*. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι πολλά είδη μπορούν να αναπαραχθούν από μόνα τους γιατί είναι ικανά να δημιουργήσουν αμινοξέα και πρωτεΐνες. Τέλος, γίνεται αναφορά στα θειωμένα γλεύκη και στις καλλιέργειες.



1. ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

1.1 Μικροοργανισμοί

Τα μικρόβια είναι μονοκύτταροι οργανισμοί οι οποίοι είναι αδύνατον να εντοπιστούν καθώς το μέγεθός τους είναι μικρότερο από 0,1 mm. Παρά μόνο με την χρήση μικροσκοπίου γίνεται αντιληπτή η σύσταση και τα χαρακτηριστικά τους.

Στους μικροοργανισμούς ανήκουν

- Οι μύκητες
- Τα βακτήρια
- Τα φύκη
- Τα πρωτόζωα

Από αυτούς τους τέσσερις οι ευκαρυωτικοί, δηλαδή αυτοί που έχουν οργανωμένο πυρήνα είναι οι μύκητες, τα πρωτόζωα και τα φύκη ενώ τα βακτήρια ονομάζονται προκαρυωτικά.



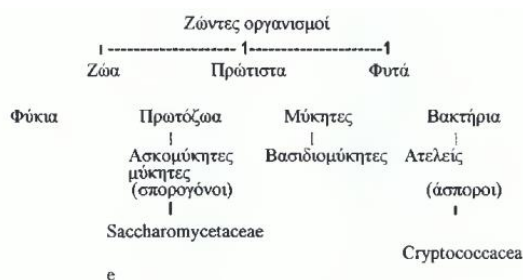
Εικόνα 1. Μικρόβια.

<https://www.dailythess.gr/o-simantikos-rolos-ton-mikrovion-ke-ton-mikroorganismon-stin-ygia-ke-sto-perivallon/>

1.2 Μύκητες

Οι ζύμες είναι αποτελούμενες από μύκητες οι οποίοι είναι ευκαρυωτικοί, ετερότροφοι, μονοκύτταροι οργανισμοί. Δεν ανήκουν στο ζωικό ή στο φυτικό κόσμο αλλά σε αυτόν των πρωτίστων. Τα φύκια, οι μύκητες, τα βακτήρια αλλά και τα πρωτόζωα, χωρίζονται σε ασκομύκητες, βασιδιομύκητες και σε ατελείς οι οποίοι δεν μπορούν να παράξουν σπόρια. Στους πρωτοασκομύκητες ανήκει ο *Sacharomycetaceae*, μύκητας ο οποίος

ανήκει στο είδος *Sacharomyces* όπως και το *Sacharomyces Cerevisiae* (μούχλα ζάχαρης της μύρας).

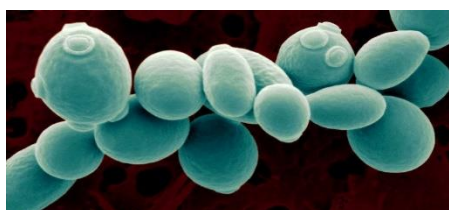


Εικόνα 2. Διαχωρισμός ζωντανών οργανισμών.

http://nestor.teipel.gr/xmlui/bitstream/handle/123456789/14355/STEG_TEGEP_00165_Medium.pdf?sequence=1

1.3 Ζυμομύκητες

Οι μύκητες είναι γνωστό ότι χρησιμοποιούνταν από την αρχαιότητα για την δημιουργία άρτου, μύρας και κρασιού. Εντοπίζονται στο έδαφος, στο νερό και σε διάφορα μέρη των φυτών. Οι ζυμομύκητες είναι υπεύθυνοι ώστε τα σάκχαρα να γίνουν αλκοόλη και η γέυση του κρασιού να αλλάξει καθώς μπορούν να την μετατρέψουν ακόμη και σε καυτερή, ενώ επηρεάζουν και την υφή κάνοντας την πιο κρεμώδη. Τα κρασιά εξαιτίας των μυκήτων μπορεί να έχουν γέυση που να μοιάζει με αγγούρι, λάχανο, βούτυρο και προζύμι ψωμιού. Έχουν καταγραφεί μέχρι και 250.000 είδη μυκήτων από τα οποία μόνο τα 300 προκαλούν ασθένεια στον οργανισμό. Μπορούν να βρεθούν έως και 50.000 ζυμομύκητες σε μια ρώγα σταφυλιού.



Εικόνα 3. Ζυμομύκητας.

<https://www.krasiagr.com/pws-oi-zymes-epireazoun-to-krasi/>

Η ζύμωση εμφανίζεται από τη στιγμή που τα σταφύλια βρίσκονται στο βαρέλι και οι οινοποιοί ξεκινούν την διαδικασία σύνθλιψης, Σε περίπτωση που υπάρχουν μύκητες οι οποίοι είναι ανθεκτικοί στην αλκοόλη υπάρχει πιθανότητα η ζύμωση να μην

τελειοποιηθεί και για αυτόν τον λόγο χρησιμοποιούνται οι εμπορικοί ζυμομύκητες.

1.3.1. Εμπορικοί ζυμομύκητες

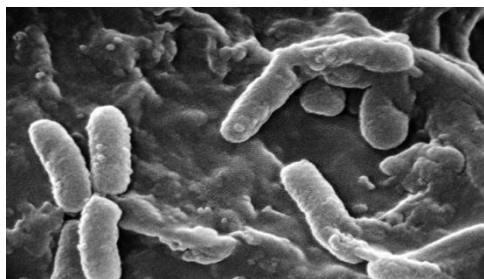
Εξαιτίας πολλών προβλημάτων με τις ζυμώσεις ξεκίνησε η παραγωγή εμπορικών ζυμομυκήτων, ως λύση σε αυτό το πρόβλημα. Η παραγωγή τους βελτιώνεται συνεχώς με εκπληκτικά αποτελέσματα καθώς οι αναλύσεις γίνονται όλο και πιο ακριβής.

1.3.2. Τοπικοί ζυμομύκητες

Το μυστικό για ένα καλό κρασί δεν είναι τα κελάρια αλλά οι ζυμομύκητες οι οποίοι βρίσκονται στον εξοπλισμό και στα μηχανήματα παραγωγής κρασιού για αρκετό χρονικό διάστημα. Έρευνες έχουν δείξει ότι τα κόκκινα κρασιά τα οποία παρασκευάζονται τοπικά είναι πλουσιότερα σε πολυφαινόλες και αντιοξειδωτικά και όσοι τα έχουν δοκιμάσει μπορούν να καταλάβουν την διαφορά στην οσμή και την γεύση.

1.4 Βακτήρια

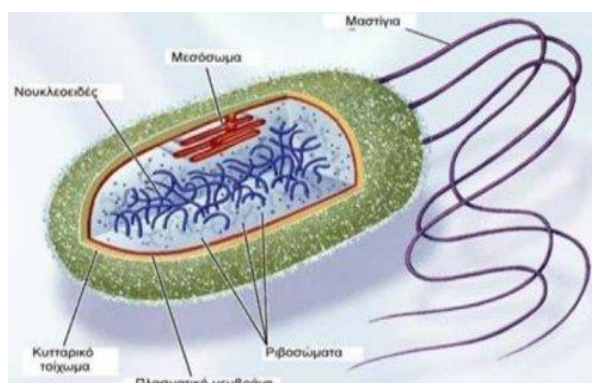
Η ονομασία βακτήρια, βακτηριόφυτα, σχιζομύκητες ή βακτηρίδια προέρχεται από την αρχαία Ελληνική λέξη <<βακτηρία>> δηλαδή μαστούνι ή ραβδί, εξαιτίας του σχήματος των πρώτων μικροοργανισμών που μελετήθηκαν. Είναι μικροσκοπικοί μονοκύτταροι (υπάρχουν και πολυκύτταροι αλλά δεν συναντώνται τόσο συχνά), προκαρυωτικοί οργανισμοί που σημαίνει ότι δεν έχουν πυρήνα. Είναι ετερότροφοι και ζουν ως σαπρόφυτα ή σαπρότροφα, δηλαδή λαμβάνουν την τροφή τους από νεκρές ύλες, από παράσιτα ή από ζωντανές ύλες. Μπορούν να σχηματίσουν αποικίες και το σχήμα τους μπορεί να είναι *Spirilla* (σπειροειδές), *Cocci* (σφαιρικό), *Bacilli* (ραβδοειδές).



Εικόνα 4. Βακτήρια.

<https://el.wikipedia.org/wiki/Βακτήριο>

Είναι αποτελούμενα από την κάψα ή αλλιώς έλυτρο που βοηθάει στο να προκαλέσουν ασθένεια στον άνθρωπο (μόλυνση) και διαθέτουν μαστίγια και βλεφαρίδες για την κίνηση τους. Το γενετικό τους υλικό βρίσκεται στην πυρηνική περιοχή που ονομάζεται πυρηνοειδές, δίχως πυρηνική μεμβράνη και δίχως οργανωμένο σε χρωμοσώματα. Το DNA βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα, είναι δίκλωνο και αποτελούμενο από τα πλασμίδια τα οποία είναι μικρά αυτόνομα, κυκλικά μόρια DNA. Τα πλασμίδια μεταφέρονται από το ένα βακτήριο στο άλλο κάνοντας το όλο και πιο ανθεκτικό. Η πλασματική τους μεμβράνη καλυπτόμενη από το κυτταρικό τοίχωμα απαραίτητο για την προστασία του κυττάρου, έχει ένα επιπλέον περίβλημα που ονομάζεται κάψα αλλά και ελεύθερα ριβοσώματα όπου εκεί γίνεται η σύνθεση των πρωτεϊνών.



Εικόνα 5. Δομή Βακτηρίου.

<https://www.healthyliving.gr/2015/11/08/vakthria-5/>

1.4.1. Θετικά και αρνητικά κατά Gram

Η αναπαραγωγή των βακτηρίων κρατάει μικρό χρονικό διάστημα και γίνεται με δύο τρόπους, είτε μονογονικά (αναπαραγωγή χωρίς ζευγάρωμα), είτε με διχοτόμηση (αναπαραγωγή φυλετικά με κυτταρική διαίρεση). Τα βακτήρια περνάνε από μία κατεργασία κατά την οποία στο πρώτο στάδιο βάφονται με χρωστική κρυσταλλικών ιώδης και στο δεύτερο με διάλυμα ιωδίου. Τελευταίο στάδιο αποτελεί η πλύση τους με

αλκοόλ η οποία καθορίζει τις υποδιαιρέσεις. Σημαντικό ρόλο έχει το εάν βάφονται ή όχι κατά *Gram* (αρνητικά ή θετικά), στην συνέχεια εάν είναι αυτότροφοι ή ετερότροφοι και έπειτα άμα μπορούν να σχηματίσουν σπόρια. Το κυτταρικό τοίχωμα έχει πολύ μεγάλο ρόλο σε αυτή την κατεργασία καθώς τα βακτήρια που κρατούν το χρώμα ονομάζονται θετικά, ενώ τα βακτήρια που χάνουν το χρώμα είναι αρνητικά κατά *Gram*.

1.4.2. Ενδοσπόρια

Πολλά βακτήρια μετατρέπονται σε ενδοσπόρια, αυτό συμβαίνει εξαιτίας των αντίξωων συνθηκών, υψηλές θερμοκρασίες και εκτεταμένη έκθεση σε ακτινοβολία. Τα ενδοσπόρια έχουν τοιχώματα ανθεκτικά και χαμηλούς μεταβολικούς ρυθμούς, όμως, μόλις οι συνθήκες γίνουν πάλι ευνοϊκές τα ενδοσπόρια δίνουνε το καθένα από ένα βακτήριο (βλαστική κατάσταση). Σπόρια μπορούν να σχηματίσουν τα είδη *Bacillus* τα οποία έχουν σχήμα ραβδοειδές, είναι αερόβια ή αναερόβια και διανέμονται στο περιβάλλον εύκολα. Τα είδη *Clostridium*, είναι αναερόβια βακτήρια θετικά προς *Gram* και επιβλαβείς για την υγεία.

1.4.3. Παθογόνα βακτήρια

Τα παθογόνα βακτήρια μπορούν να προκαλέσουν πολύ σοβαρές ασθένειες στον άνθρωπο, μερικά από αυτά είναι το *Vibrio Cholera* υπεύθυνο για τη χολέρα και το *Treponema pallidum* υπεύθυνο για τη σύφιλη. Τα βακτήρια χωρίζονται σε υποδιαιρέσεις. Για αυτόν το λόγο η καταστροφή των βακτηρίων απαιτεί πολύ υψηλές θερμοκρασίες 120°C που επιτυγχάνεται με βρασμό υπό πίεση σε κλίβανο.

2. ΟΞΕΑ ΖΥΜΩΣΕΩΝ

2.1 Μηλικό οξύ

Το μηλικό οξύ ή μαλικό οξύ ανήκει στην ομάδα των α-υδροξυ-καρβοξυλικών, βρίσκεται σε μορφή κρυστάλλων ή σκόνης, με χρώμα λευκό ή προς μπεζ. Βρίσκεται σε πολλά φρούτα και είναι υπεύθυνο για την ξινή γεύση, το άρωμα και το χρώμα σε χυμούς γκρέιπφρουτ και σε μήλα.



Εικόνα 6. Μηλικό οξύ σε σκόνη.

<https://scienceshop.gr/product.php?id=5036>

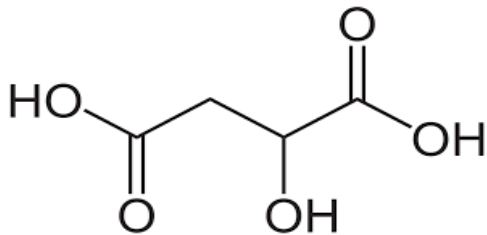
Τα μήλα (στη Λατινική γλώσσα *malum*) είναι εμπλουτισμένα με αυτό το οξύ και πιο συγκεκριμένα τα πράσινα από τα οποία πήρε και την ονομασία του. Το μυλικό οξύ L+ μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ L- και σε CO₂. Το 1gr μηλικού οξέος μετατρέπεται σε 0,67gr γαλακτικού οξέος και 0,33gr CO₂. Τα δύο αυτά οξέα είναι καθοριστικά για το κρασί καθώς συμπληρώνουν περισσότερο από το 90% των ολικών οξέων. Με την μετατροπή του από μηλικό οξύ που είναι δικαρβονικό σε γαλακτικό οξύ που είναι μονοκαρβονικό η γεύση του αλλάζει και γίνεται πιο απαλή (πχ. τα γαλακτοκομικά που έχουν ζυμωθεί). Λόγω αυτής της διαδικασίας το κρασί είναι κορεσμένο με CO₂. Επιπλέον, το μηλικό οξύ βρίσκεται και στα σταφύλια 0-4 g/l ως τρυγικό οξύ. Το μηλικό οξύ είναι πολύ πιθανόν να μετατραπεί σε υδατάνθρακες καθώς είναι ασταθές και έτσι καταφέρνει να μειώσει την οξύτητα του σταφυλιού.

Κατά τη διάρκεια ωρίμανσης το μηλικό οξύ μεταβολίζεται και εξαιτίας της θερμοκρασίας και του χρόνου αυξάνεται. Έτσι, τα σταφύλια σε δροσερά κλίματα έχουν αρκετά υψηλή συγκέντρωση οξέος που μπορεί να φτάσει ως και τα 9 g/l το οποίο φανερώνει πως πρέπει σύντομα η τιμή αυτή να μειωθεί.

Το μηλικό οξύ

- Μπορεί να δημιουργήσει ένα ξινό κρασί, όμως, εάν τα φρούτα του κρασιού είναι πολύ ώριμα μπορεί να μειωθεί η ποσότητα του οξέος.
- Η διαδικασία αυτή μετατρέπει το μηλικό οξύ σε πιο ήπιο γαλακτικό οξύ μέσω της μηλογαλακτικής ζύμωσης (Malo-Lactic).

- Είναι ασθενές οξύ σε σχέση με το τρυγικό άρα δεν μειώνει τις τιμές του χυμού και το pH στον οίνο.
- Δεν χρησιμοποιείται για όξινες προσθήκες.
- Το τρυγικό οξύ χρειάζεται δύο μόρια NaOH ώστε να αντιδράσει μόνο με ένα μόριο μηλικού οξέος.
- Όταν εντοπίζεται αναγραφμένη στα τρόφιμα η ονομασία E296 σημαίνει ότι έχει προστεθεί στο συγκεκριμένο προϊόν.



Εικόνα 7. Χημική ένωση μηλικού οξέος.

https://el.wikipedia.org/wiki/Μηλικό_οξύ

2.2 Γαλακτικό οξύ

Το γαλακτικό οξύ (*lactic acid*) είναι γνωστό ως 2 υδροξυ-προπανικό οξύ και η συγκεκριμένη χημική ένωση είναι πολύ σημαντική σε διάφορες διεργασίες. Ανήκει στα α-υδροξυ-καρβοξυλικά οξέα όπως και το μηλικό οξύ. Παρατηρήθηκε για πρώτη φορά το 1780 από τον χημικό Σουηδικής καταγωγής *Carl Wilhelm Scheelle*, από το ξινόγαλο εκ του οποίου προήλθε και το όνομα γαλακτικό οξύ. Το 1873 ξεκίνησε η παραγωγή του από τη γερμανική φαρμακευτική εταιρεία *Boehringer Ingelheim*.

Το καθαρό γαλακτικό οξύ είναι άοσμο. Έχει λευκό χρώμα και είναι στερεό, όμως, όταν διαλύεται σε νερό γίνεται διαφανές και μερικές φορές έχει κιτρινωπή χροιά. Επειδή απορροφά την υγρασία πολύ εύκολα πωλείται σε υγρή μορφή με περιεκτικότητα σε νερό από 22-90%. Το υδροξύλιο και το καρβοξύλιο ενώνονται με τον ίδιο άνθρακα για αυτό το λόγο το γαλακτικό οξύ βρίσκεται σε στερεοϊσομερή και ρακεμική μορφή. Επηρεάζεται από τον χώρο και το φως και έτσι προκύπτει το D(-)- γαλακτικό οξύ και το L(+)- γαλακτικό οξύ. Πιο συχνά στο εμπόριο συναντάται η ρακεμική μορφή DL που είναι ανάμειξη αυτών των δύο, ένα προς ένα. Σε συσκευασίες στις οποίες έχει προστεθεί αναγράφεται με τον κωδικό E270.



Εικόνα 8. Γαλακτικό οξύ σε υγρή μορφή.

https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ

Το γαλακτικό οξύ έχει άλατα τα οποία πολλές εταιρείες τα χρησιμοποιούν ως συντηρητικά για να δρουν εναντίον των μυκήτων και των ζυμών. Χρησιμοποιείται κυρίως για να μετατρέψει τους υδατάνθρακες στο γιαούρτι και σε άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα ώστε να γίνουν ασφαλή για κατανάλωση για άτομα που έχουν δυσανεξία. Το γαλακτικό οξύ δίνει τη χαρακτηριστική μυρωδιά στο γιαούρτι και την ξινή γεύση. Αποτρέπει τα παθογόνα μικρόβια από το να αναπτυχθούν στο γιαούρτι και το προστατεύει από άλλες μολύνσεις, από την αρχή της παραγωγής του μέχρι την στιγμή που θα λήξει. Χρησιμοποιείται ως καταλύτης σε χημικές διεργασίες στη βυρσοδεψία. Δημιουργεί επίσης το πολυγαλακτικό οξύ που είναι βιοδιασπώμενος πολυεστέρας με πολλές θρεπτικές ιδιότητες καθώς δύο άτομα γαλακτικού οξέος αντιδρούν και δημιουργούν μία κυκλική λακτόνη όπου σε συνεργασία με τους καταλύτες διαμελίζεται.

Το φυσικό γαλακτικό οξύ δεν είναι επικίνδυνο για κατανάλωση από ενήλικες όμως δεν πρέπει να χορηγείται σε μικρά παιδιά ή βρέφη καθώς δεν έχει αναπτυχθεί ακόμη το συκώτι τους. Χρησιμοποιείται σε διάφορα προϊόντα τροφίμων για να ρυθμίσει την οξύτητα τους. Ζυμώνετε από τη λακτόζη και στο εμπόριο χρησιμοποιούνται βακτήρια όπως ο *Bascillus Acidilacti*, *Lactobaccillus Delbueckii* ή *Lactobaccillus Bulgaricuswhey* για να ζυμώσουν τους υδατάνθρακες από την μελάσα, την πατάτα, και το καλαμπόκι καθώς πολλές εταιρίες το χρησιμοποιούν ως συστατικό σε προϊόντα τους.

Στις βιομηχανίες το ρακεμικό γαλακτικό οξύ δημιουργείται από ζύμωση της γλυκόζης με άλλα σάκχαρα διάφορων μικροοργανισμών στους 50°C με προσθήκη αλβουμίνης και ανθρακικού ασβεστίου. Σε αναερόβιες συνθήκες η γλυκόζη με έξι άτομα άνθρακα χωρίζεται σε δύο μόρια με τρία άτομα άνθρακα τα οποία αποτελούν γαλακτικό οξύ το καθένα ξεχωριστά.

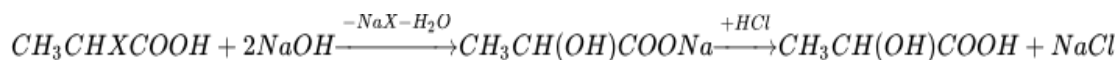


Εικόνα 9. Χημική ένωση γαλακτικού οξέος.

<https://newlife.com.cy/ti-prepei-na-kserete-gia-to-galaktiko-oksy/>

Το γαλακτικό οξύ παρασκευάζεται

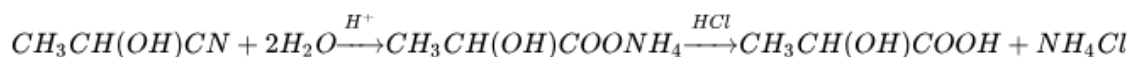
- Με υδρολύση 2-αλλοοπροπανικού οξέος από αραιό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου.



Εικόνα 10. Μέθοδος παρασκευής γαλακτικού οξέος.

https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ

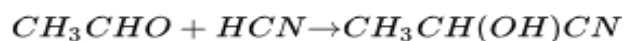
- Με υδρόλυση 2 υδροξυπροπανονιτριλίου.



Εικόνα 11. Μέθοδος παρασκευής γαλακτικού οξέος.

https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ

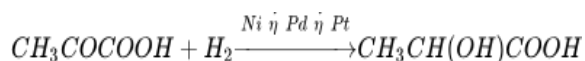
- Το 2-υδροξυπροπανονιτρίλιο παράγεται με προσθήκη υδροκυανίου σε αιθανόλη.



Εικόνα 12. Μέθοδος παρασκευής γαλακτικού οξέος.

https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ

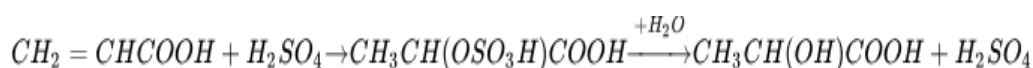
- Με αναγωγή οξοπροπανικού οξέος.



Εικόνα 13. Μέθοδος παρασκευής γαλακτικού οξέος.

https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ

- Με ενυδάτωση προπιονικού οξέος δηλαδή την επίδραση θειικού οξέος νερού σε προπανικό οξύ.



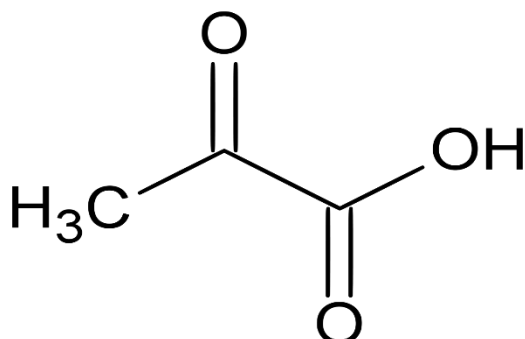
Εικόνα 14. Μέθοδος παρασκευής γαλακτικού οξέος.

https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ

2.3 Πυρουβικό οξύ.

Το πυρουβικό οξύ (*Pyruvate* ή *Pyruvic*) ή αλλιώς πυροσταφυλικό οξύ (CH_3COCO_2H) έχει σημαντικό ρόλο στις βιοχημικές διαδικασίες και ειδικά στην αναπνοή. Είναι ένα άχρωμο υγρό και η μυρωδιά του μοιάζει σαν αυτή του οξικού οξέος. Το σημείο βρασμού του φτάνει τους $165^\circ C$. Παίρνει μέρος σε διάφορες βασικές μεταβολικές διαδικασίες, όπως, το ότι μεταβολίζεται και το αποτέλεσμα είναι το πυροσταφυλικό οξύ. Ένα μόριο της γλυκόζης χωρίζεται σε δύο μόρια πυροβικού οξέος που χρησιμοποιούνται για αυτήν την διαδικασία. Μπορεί να αναμιχθεί με το νερό και με τη διαλυμένη ουσία σε αιθανόλη και διεθυλικό αιθέρα, εάν υπάρχει επαρκές οξυγόνο το οξύ μετατρέπεται σε ακετυλικό συνένζυμο Α. Ξεκινώντας αυτήν την διαδικασία

ακολουθεί ο κύκλος *Krebs* που στην συνέχεια μετατρέπεται σε *Oxaloacetate* και διασπάται σε διοξειδίο του άνθρακα (*Hans Adolf Krebs*).



Εικόνα 15. Χημική ένωση Πυρουβικού οξέος.

https://el.wikipedia.org/wiki/Πυροσταφυλικό_οξύ

Εάν δεν υπάρχει επαρκές οξυγόνο διασπάται αναερόβια δημιουργώντας γαλακτικό οξύ στα ζώα, στην αιθανόλη και στα φυτά. Έτσι, παράγεται πυρουβικό οξύ από τη γλυκόλυση και μετατρέπεται σε γαλακτικό μέσω της αερόβιας αναπνοής, χρησιμοποιώντας δύο ένζυμα, την γαλακτική διυδρογενάση και το ένζυμο NADH αλλά μετατρέπεται και σε αιθανόλη εξαιτίας της αλκοολικής ζύμωσης. Όταν μεταβάλλεται μετατρέπεται σε υδατάνθρακες εξαιτίας της γλυκονεογένεσης, σε λιπαρά οξέα, σε ενέργεια εξαιτίας του ακετελικού CoA και σε αιθανόλη. Αυτή η διαδικασία δείχνει ότι γίνονται ποικίλες βασικές μεταβολικές διαδικασίες. Το πυρουβικό οξύ έχει ως παράγωγο του φαινυλοπυροσταφυλικό οξύ.

2.4. Τρυγικό οξύ

Το τρυγικό οξύ ή αλλιώς ταρταρικό οξύ είναι φυσικό καρβοξυλικό οξύ με χημικό τύπο C₄H₆O₆. Είναι στερεό, άοσμο, άχρωμο και βρίσκεται σε μορφή σκόνης ή κρυσταλλική. Είναι δι-καρβοξυλικό οξύ και διαλύεται εύκολα στο νερό και στις αλκοόλες. Αποτελείται από δύο ασύμμετρα άτομα άνθρακα τα οποία δημιουργούν τέσσερις στερεές ίδιες μορφές δηλαδή, δύο οπτικούς αντίποδες L-(+)- τρυγικό οξύ και D-(-)- τρυγικό οξύ, ρακεμική μορφή (DL) που είναι συνδυασμός των δύο αυτών με αναλογία ένα προς ένα, σταφυλικό οξύ και το μεσοτρυγικό οξύ. Είναι πολύ κοινό οξύ

στα φρούτα άρα από την στιγμή που εντοπίζεται στα σταφύλια υπάρχει και στο κρασί ως ελεύθερο οξύ με μορφή αλάτων, καλίου, μαγνησίου και ασβεστίου.



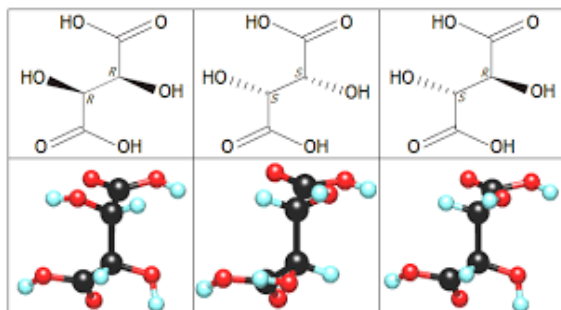
Εικόνα 16. Ταρταρικό οξύ σε σκόνη.

<https://www.scienceshop.gr/product.php?id=2112>

Στα τρόφιμα αναγράφεται με αριθμό ΕΕ334 και έχει πολλές εφαρμογές στις βιομηχανίες. Οι κυριότερες είναι ότι:

- Ρυθμίζει την οξύτητα αλλά δρα και ως αντιοξειδωτικό.
- Ενεργεί και ως συντηρητικό καθώς ρίχνει σε τέτοιο επίπεδο το pH της ζύμωσης όπου τα ανεπιθύμητα βακτήρια τα οποία μπορούν να καταστρέψουν το κρασί αδυνατούν να επιβιώσουν.
- Είναι χημική ένωση η οποία λειτουργεί με το φως, αναλόγως τη δομή του στο χώρο αλλάζει το επίπεδο του φωτός σε συγκεκριμένη γωνία.
- Τα άλατα του, κάλιο και νάτριο χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα στα τρόφιμα.
- Ρυθμίζει την οξύτητα και βελτιώνει τη γεύση σε μαρμελάδες, σοκολάτες, χυμούς και σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής.
- Χρησιμοποιείται σε ανθρακούχα ποτά και σε χυμούς φρούτων στα οποία έχουν αναμειχθεί αρώματα φυσικά και τεχνικά.
- Μαζί με το μηλικό οξύ είναι τα πιο σημαντικά οξέα που συναντώνται στο κρασί.
- Χρησιμοποιείται σε εκτυπώσεις και στον καθαρισμό από μεταλλικές επιφάνειες γιατί σχηματίζει μεταλλικά ιόντα.

- Χρησιμοποιείται ως πρόσθετο στα τρόφιμα και είναι ασφαλές σε φυσιολογικές όμως δόσεις.



Εικόνα 17. Χημική ένωση Ταρταρικού οξέος.

http://195.134.76.37/chemicals/chem_tartaricacid.htm

Το τρυγικό οξύ στο ανθρώπινο σώμα δεν μεταβολίζεται, αποβάλλεται και δεν έχει αρνητικές επιπτώσεις σε φυσιολογικές δόσεις. Εάν ξεπεραστεί το όριο των δόσεων μόνο τότε μπορεί να προκαλέσει πόνο στο στομάχι, στην κοιλιακή χώρα, εμετό μέχρι και θάνατο.

Το όξινο τρυγικό κάλιο είναι γνωστό από την αρχαιότητα στους Έλληνες και στους Ρωμαίους με την ονομασία τρυγία. Το φυσικό τρυγικό οξύ παρασκευάζεται από την τρυγία δηλαδή από το όξινο τρυγικό κάλιο. Το γλεύκος θερμαίνεται με υδροχλωρικό οξύ και καταστρέφεται με υδροξείδιο του ασβεστίου. Έτσι δημιουργείται τρυγικό ασβέστιο και θειικό οξύ τα οποία λαμβάνονται ως ελεύθερο τρυγικό οξύ που στρέφει το φως σε δεξιά κατεύθυνση.

Μία νέα μέθοδος που χρησιμοποιούν οι οινοποιοί είναι ότι αφήνουν τα σταφύλια στον άμπελο εωσότου αυτά να γίνουν σταφίδες, έτσι καταφέρνουν να μειώσουν την γεύση του τρυγικού οξέος. Η διαδικασία αυτήν έχει ως αποτέλεσμα η γεύση του οίνου να γίνεται όλο και πιο απαλή, όμως ως συνέπεια επηρεάζεται ο συνδυασμός του κρασιού με το φαγητό εξαιτίας της αλλαγής των γεύσεων.

Οι γευσιγνώστες χαρακτηρίζουν το τρυγικό οξύ ως “πηγή διαμαντιών” καθώς οι κρύσταλλοι του καλίου συγκεντρώνονται στο φελλό. Αυτοί οι κρύσταλλοι είναι ακίνδunami και μπορούν απομακρυνθούν με σταθεροποίηση.

3. ΖΥΜΕΣ

3.1 Ζύμες

Οι ζύμες είναι οργανισμοί μονοκύτταροι και έχουν μικρό μέγεθος. Το κύτταρο τους είναι δομημένο από την κυτταρική μεμβράνη, τον πυρήνα, το κυττόπλασμα, τα μιτοχόνδρια και άλλα. Το γεγονός ότι είναι μονοκύτταροι σημαίνει ότι ανήκουν σε μία ομάδα που ονομάζεται πρώτιστα στην οποία ανήκουν βακτήρια και άλλοι οργανισμοί. Στις ζύμες της οινοποιίας ανήκουν οι ασκομύκητες και οι ατελείς μύκητες (*Fungi Imperfecti*). Οι μύκητες παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά το 1680' από τον *Anthony Leeuwenhoek* ο οποίος εμπορευόταν ξηρούς καρπούς και ήταν θυρωρός στο δημαρχείο της *Delf* της Ολλανδίας, παρόλα αυτά κατάφερε και μπήκε στον κλάδο της μικροβιολογίας και το όνομα του άφησε ιστορία.

Οι μεγεθυντικοί φακοί και τα σύγχρονα για εκείνον τον καιρό μικροσκόπια βοήθησαν στην έρευνα των ζυμών οι οποίες δεν μπορούν να εντοπιστούν με γυμνό μάτι. Ο Παστέρ τον 19ο αιώνα ανέφερε ότι η αλκοολική ζύμωση γίνεται εξαιτίας των ζυμών. Όμως το 1897 ο *Buchner* ανέφερε ότι για να γίνει η αλκοολική ζύμωση χρειάζονται τα

ένζυμα και δεν χρειάζεται να δράσουν τα κύτταρα των ζυμών για να ολοκληρωθεί η διαδικασία. Στις επόμενες έρευνες αποδείχθηκε ότι και οι δύο μελετητές είχαν δίκιο καθώς τα ένζυμα βοηθούν στην αλκοολική ζύμωση αλλά και η δράση τους εξαρτάται από τα κύτταρα των ζυμών, γιατί τα ζάχαρα του γλεύκους εισχωρούν στα κύτταρα μέσω της μεμβράνης τους.

3.1.1. Προέλευση

Στα ώριμα σταφύλια εντοπίζεται μία κηρώδης ουσία που καλύπτει τις ράγες, από εκεί δημιουργείται η ζυμογλωρίδα του γλεύκους. Ο Παστέρ χρησιμοποίησε χυμό από σταφύλι τον οποίο εξήγαγε με σιφόνιο και ονομάστηκε από τον ίδιο. Ο σταφυλοχυμός δεν ήταν ζυμώσιμος που αποδεικνύει ότι για την ζύμωση οφείλονται τα κύτταρα των ζυμών που εντοπίζονται στη ράγα. Εγκαθίστανται στην επιφάνεια μόνο όταν είναι ώριμα και αυτό ανακαλύφθηκε καθώς ο Παστέρ τοποθέτησε μία πράσινη ράγα σταφυλιού σε μία φιάλη. Η διαδικασία προχωρούσε και το γλεύκος δεν ήταν ζυμώσιμο.

Οι ζύμες μετακινούνται με τα έντομα, αυτό το γεγονός έχει αποδειχθεί με νέα πειράματα και για αυτόν τον λόγο τα αμπέλια καλύπτονται με πλέγμα καθώς ο αέρας και οι σκόνες τα διαπερνούν αλλά τα έντομα όχι. Ξεχωριστή μελέτη έχει αποδείξει ότι οι ζυμομύκητες βρίσκονται στο έδαφος των αμπελώνων και μεταφέρονται καθώς οι ράγες πέφτουν, έπειτα όταν η θερμοκρασία ανέβει οι μύκητες μεταφέρονται από τα έντομα στο τσαμπί.

3.1.2. Ταξινόμηση

Μέχρι να οριστικοποιηθεί η ταξινόμηση των ζυμών προηγήθηκαν πολλές μελέτες και έρευνες. Ο *Hansen* ταξινόμησε πρώτος τις ζυμώσεις σε δύο κατηγορίες, τις σποριογόνες (*Saccharomycetaceae family*) και τις ασποριογόνες (*Spermophthoraceae family*). Μελέτησε ο ίδιος και πολλοί ακόμη τα κύτταρα των ζυμών (σχήμα, μέγεθος, σπόριο, νιτρικά άλατα, και αυξητικό παράγοντα). Η έρευνα έχει εξελιχθεί ακόμα περισσότερο δημιουργώντας την ταξινόμηση ζυμών που υπερिशύει σήμερα. Στο σύνολο οι ζύμες κατατάσσονται σε 81 γένη και 590 είδη στις οποίες συμπεριλαμβάνονται ασκομύκητες, δευτερομύκητες και βασιδιομύκητες και βασίζεται στο DNA των μικροοργανισμών.

Οι αρχικές ταξινομήσεις των ζυμών σχετικά με τον οίνο συμπεριλάμβαναν δύο κατηγορίες που ονομάζονταν ελλειπτικές και οξυκόρυφες. Αυτές οι δύο διέφεραν σχηματικά και σε μέγεθος. Η πρώτη ονομαζόταν *Saccharomyces Cerevisiae* ή *Ellipsoideus* δηλαδή ελλειψοειδή ζαχαρομύκητας, ενώ η δεύτερη κατηγορία ονομαζόταν *Saccharomyces Apiculata* ή οξυκόρυφος ζαχαρομύκητας. Όμως όσο περνούσε ο καιρός οι ερευνητές εντόπιζαν ότι υπάρχουν πολύ περισσότερα είδη στο κρασί. Το 52' δύο μικροβιολόγοι με καταγωγή από την Ολλανδία, *Kreger Van Rij* και *Lodder* έκδοσαν μία επιστημονική μελέτη η οποία περιείχε την ταξινόμηση των ζυμών, 15 είδη ζυμώνσεων είναι υπεύθυνα για της αλλοιώσεις στον οίνο.

Το κρασί δημιουργείται χάρη στις ζύμες οινοποίησης καθώς μεταβάλλουν το γλεύκος σε αιθανόλη, διοξείδιο του άνθρακα και άλλα προϊόντα. Η ποιότητα ενός κρασιού εξαρτάται από τις τεχνικές που συμπεριλήφθηκαν, τις ζύμες που χρησιμοποιούνται αλλά και την σωστή διαχείριση του αμπέλου. Οι μικροοργανισμοί επηρεάζουν τα σταφύλια σε όλη τη διαδικασία από τη συγκομιδή μέχρι και τη συντήρηση του. Μόνο με τη χρήση μικροσκοπίου μπορούν οι μελετητές να καταλάβουν την ανάπτυξη των κυττάρων.

- i) Οι ζύμες τοποθετούνται σε κατηγορίες σύμφωνα με τις ομοιότητες και την συγγένεια τους με έναν κοινό πρόγονο.
- ii) Το γένος αποτελείται από είδη τα οποία μοιράζονται μορφολογικά, γενετικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά.
- iii) Μερικά από τα είδη εμφανίζουν εμπορικό ή ερευνητικό ενδιαφέρον και έχουν κωδικές ονομασίες.
- iv) Η ταυτοποίηση είναι η έρευνα ενός άγνωστου οργανισμού και η κατηγοριοποίησή του σε ομάδες άλλων παρόμοιων οργανισμών με παρόμοια κριτήρια και χαρακτηριστικά.
- v) Ο μόνος τρόπος που μπορούν οι μελετητές να καταλάβουν την ανάπτυξη των κυττάρων είναι με μικροσκόπιο.

Για να ταυτιστούν στελέχη μεταξύ τους, η οποία είναι βασική διαδικασία όπως και η ταξινόμηση ειδών και γένους, πρέπει να διαθέτουν κάποια συγκεκριμένα βασικά χαρακτηριστικά:

- Να μπορούν να ζυμώνουν από 170-240 g/l ζάχαρης.
- Να είναι γρήγορη η ζύμωση.

- Να μπορούν να τελειοποιήσουν την αλκοολική ζύμωση ενώ υπάρχει μεγάλη ποσότητα 10-14% vol% αλκοόλη.
- Να έχουν σωστά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.
- Καλές συνθήκες κατά τη διαδικασία παρασκευής οίνου.
- Σωστά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.
- Ο *Killer K* βοήθα καθώς είναι ανθεκτικός όπως και οι *Neutral N*.

3.1.3. Φυσιολογικά χαρακτηριστικά

Ο Barnett το 1990 ανέφερε ότι τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά αποκαλύπτουν την διαφορά του σταφυλιού και της ζύμης. Μέχρι και σήμερα υπάρχουν αυτά τα χαρακτηριστικά στα είδη αλλά αδυνατούν να δώσουν ένα είδος κατά τη διαδικασία αύξησης πληθυσμού και της βλάστησης. Δημιουργήθηκε έτσι η οριοθέτηση η οποία διαχωρίζει τα είδη σε βιολογικά και γενετικά. Υπάρχουν είδη τα οποία παρεμποδίζουν και το καθένα τους ξεχωριστά μπορεί δώσει γόνιμα σπόρια το οποίο αποτελεί μεγάλο πρόβλημα για τις ζύμες.

Ορισμένα είδη στις ζύμες δεν μπορούν να δημιουργήσουν σπόρια και έτσι δυσκολεύουν την αναπαραγωγή του είδους τους. Για αυτόν τον λόγο έχουν δημιουργηθεί διάφορα τεστ DNA. Όπως

- Τεστ ομοιότητας ενζύμων
- Τεστ σύστασης
- Τεστ ανασυνδυασμού
- Τεστ σύστασης κυτταρικού τοιχώματος

Τα τεστ αποδείχτηκαν ότι είναι εξαιρετικά ακριβή. Το ποσοστό 80 - 100% δείχνει ότι είναι το ίδιο είδος, ενώ λιγότερο από 20% δείχνει ότι δεν ανήκει στο ίδιο είδος.

Ο *S. Cerevisiae* συμμετέχει στη ζύμωση του κρασιού και έχει πολλά είδη. Τα είδη των ζυμών επηρεάζουν τον χρόνο που φτιάχνεται το κρασί καθώς αυτά καθορίζουν το πόσο γρήγορα ή αργά γίνεται η ζύμωση. Είναι υπεύθυνα επίσης για το άρωμα του κρασιού όπως επίσης και για τα υπόλοιπα προϊόντα που προκύπτουν εξαιτίας της αλκοολικής ζύμωσης.

Τις διαφορές του *S. Cerevisiae* μελέτησε ο Bouix. Το 1981' προσπάθησε να διατάξει τα είδη με ηλεκτρική ανάλυση των πρωτεϊνών εξωτερικά του κυττάρου και έξι χρόνια αργότερα προσπάθησε να ξεχωρίσει τις εσωτερικές πρωτεΐνες ενώ άλλοι μελετητές πρότειναν να χρησιμοποιηθεί η αέρια χρωματογραφία για αυτήν την ανάλυση.

Το 1980 ενώ αναπτυσσόταν η γενετική κατάφεραν επιτυχώς να χαρακτηριστούν τα είδη των ζυμών του οίνου. Η ανάλυση του πολυμορφικού κλώνου των μιτοχονδρίων αλλά και του DNA οδήγησε στην ολοκλήρωση της κατηγοριοποίησής. Αυτή η μέθοδος επηρεάζεται από τη φυσιολογική κατάσταση των ζυμών ενώ προγενέστερες τεχνικές στηρίζονταν μόνο στον μεταβολισμό των υποπροϊόντων τους.

Οι τεχνικές αυτές περιλαμβάνουν

- Την ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA η οποία οδηγεί στην αναγνώριση των μελών των ζυμών και την προέλευσή τους.
- Την ανάλυση καρυοτύπου η οποία περιλαμβάνει τον εντοπισμό τυχών αλλαγών στη δομή χρωμοσωμάτων.
- Συνεχής αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης δηλαδή ο πολλαπλασιασμός DNA για ανάλυση.

3.2. Σπόρια ζυμών

Για τα σπόρια των ζυμών χρειάζεται περιβάλλον υγρό, με οξυγόνο, σε θερμοκρασία 25°C, σε τέτοιο περιβάλλον όταν βρίσκονται τα σπόρια δημιουργούν νέο κύτταρο. Το θρεπτικό υλικό βοηθά σε όλη αυτή τη διαδικασία και από αυτό εξαρτάται αν οι ζύμες θα δώσουν σπόρια ή όχι. Υπάρχει επιπλέον η πιθανότητα στα άσπορα είδη άμα βρεθούν σε περιβάλλον ευνοϊκό να δώσουν σπόρια όπως π.χ. μερικά είδη από τις οξυκόρυφες ζύμες (*Khloeckera*) οι οποίες μέχρι το 70' θεωρούνταν άσπορες. Οι συγκεκριμένες ζύμες όταν βρέθηκαν υπό ευνοϊκές συνθήκες έδωσαν σπόρια και έτσι κατατάχθηκαν στο γένος *Hanseniaspora*.

Άρα, στερεό θρεπτικό υπόστρωμα ==> σποροποίηση

Μέχρι το 75' οι ζύμες από σταφύλια, γλεύκη και οίνους ταξινομούνται σε 36 σπορογόνα τα οποία ανήκουν σε 8 γένη και σε 31 άσπορα ταξινομημένα σε 7 γένη.

3.2.1 .Άσπορες ζυμώσεις

Πολλαπλασιάζονται εγγενώς (με εκβλαστίσεις), η αναπαραγωγή τους γίνεται με σχάση, με εκβλάστηση ή και με τα δύο. Δηλαδή γίνεται αναδιπλασιασμός του κυττάρου και αυτό που προκύπτει είναι θυγατρικά κύτταρα που αναπτύσσονται φυσιολογικά και το κάθε ένα από αυτά ξανά κάνει όλη τη διαδικασία από την αρχή. Αυτή η διαδικασία γίνεται στους *Endomycetaceae* και *Schizosaccharomy Coideae*. Η διαδικασία ξεκίνα με την εμφάνιση ενός οφθαλμού στην επιφάνεια του κυττάρου. Στην εκβλάστηση το αρχικό κύτταρο είναι ίδιο σε μέγεθος ενώ το εκβλάστημα μεγενθύνεται ώστε να δημιουργηθεί ένα καινούργιο με τα ίδια ακριβώς χαρακτηριστικά, δηλαδή ίδιο σε μέγεθος προς το αρχικό το οποίο τελικά θα αποκοπεί. Η εκβλάστηση είναι είτε μονοπολική, διπολική είτε πολύπλευρη, αυτό εξαρτάται από το εάν τα κύτταρα είναι ένα, δύο ή παραπάνω και αν εμφανίζονται στις δύο άκρες ή σε ολόκληρη την επιφάνεια.

3.2.2. Σπορογόνες ζυμώσεις

Οι σπορογόνες αναπαράγονται εγγενώς (σπόρια) ή και με εκβλαστίσεις. Ο πολλαπλασιασμός των ζυμών είναι δυνατόν να σταματήσει με εκβλάστηση και οι ζύμες να γίνουν ασκοί με ασκοπόρια. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας των συνθηκών που επικρατούσαν κατά την δημιουργία των ζυμών. Τα κύτταρα έχουν πυρήνα ο οποίος διαιρείται στην κυτταρική μεμβράνη και ο σχηματισμός κάθε νέου πυρήνα είναι κλεισμένος από κυτταρόπλασμα δημιουργώντας ένα νέο κύτταρο στην ήδη υπάρχουσα μεμβράνη. Η μεμβράνη γίνεται όλο και πιο ανθεκτική καθώς μέσα σε αυτήν βρίσκονται ασκοσπόρια 1-4, αυτός είναι ο τρόπος επιβίωσης των κυττάρων.

3.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Τα κύτταρα έχουν διάφορα σχήματα στρόγγυλα, κυλινδρικά και ελλειψοειδή. Όταν το σχήμα αδυνατεί να δώσει περαιτέρω πληροφορίες τότε μόνο συμπεριλαμβάνεται το μέγεθος. Η μελέτη αυτών των δύο γίνεται σε υγρό περιβάλλον ενώ τα ασκοσπόρια σε στερεό υπόστρωμα.

3.3.1. Χαρακτηριστικά καλλιιεργειών

Οι ζύμες δημιουργούνται σε υγρό και σε στερεό υπόστρωμα όμως η έρευνα των καλλιιεργειών τους δεν δίνει πάντα αληθή αποτελέσματα Σε υγρό περιβάλλον δημιουργείται ένα πηχτό ίζημα που ονομάζεται υμένιο, το οποίο δείχνει ότι οι ζύμες για να αναπαραχθούν απαραίτητη προϋπόθεση είναι το οξυγόνο π.χ. δημιουργία μυκηλίου προερχόμενο από την ζύμη *Hansula Anomala*. Σε στερεό υπόστρωμα έχουν υφή βουτυροειδή και η επιφάνεια τους αλλάζει. Έχουν χρώματα όπως άσπρο ή ανοιχτό καφέ, μερικά γένη έχουν κίτρινο ή μουσταρδί *Rhodotorula* και άλλα μπορντό ή κόκκινο *Metschnikowia Pulcherrima*.

3.4 Φυσιολογία ζυμών

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά χρησιμεύουν στις μεγάλες ταξινομήσεις, όμως δεν είναι πάντα αληθή. Αποτελεσματικά είναι τα χαρακτηριστικά σχετικά με

- Άνθρακα και άζωτο
- Ευαίσθησθητα σε αερισμό και θερμοκρασία
- Ανάγκη για αυξητικούς παράγοντες
- Ανθεκτικότητα σε παρεμποδιστικές ουσίες

1) Ενώσεις άνθρακα

Οι ζύμες δημιουργούν ζάχαρα για να καταλαναλώσουν οξειδωτικά, η λεγόμενη αφομοίωση. Μη οξειδωτική διαδικασία είναι η αλκοολική ζύμωση και λαμβάνει χώρα μέσα στα κύτταρα σε αναερόβιες συνθήκες.

Εξίσωση ζύμωσης



Η αλκοολική ζύμωση δεν χρησιμοποιείται για πολλαπλασιασμό κυττάρων καθώς η ενέργεια η οποία έχει δημιουργηθεί αναστέλλει την συνέχιση ανάπτυξης των ζυμών. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι δεν υπήρχε πάντα αυτό το φαινόμενο πχ. το *Brettanomyces* με τη βοήθεια οξυγόνου ζυμώνεται.

Για να ελεγχθεί η παρουσία ενζύμων οξειδώνονται τα ζάχαρα. Αυτή η διαδικασία είναι πιο εύθικτη από την αλκοολική ζύμωση. Οι ερευνητές *Barnett, Kornberg, Halvorson* και *Macquilan* αναφέρουν ότι η οξείδωση των ενώσεων άνθρακα επηρεάζονται από δύο παράγοντες, αρχικά από τα ένζυμα και έπειτα από την κυτταρική μεμβράνη.

2) Αζωτούχες ενώσεις

Για να καταταχθούν οι ζύμες βοηθούν το άζωτο και τα νιτρικά άλατα έτσι προκύπτουν γένη όπως το *Hansenula* που δεσμεύει τα νιτρικά άλατα και το *Pichia* που δεν τα δεσμεύει.

3) Αιθανόλη

Η χρήση της δεν είναι τόσο συχνή στην ταξινόμηση ζυμών.

4) Αυξητικοί παράγοντες

Θεωρούνται οι βιταμίνες, η βιοτίνη κα. όσες ζύμες ανταποκρίνονται σε αυτούς έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση τους. Η διαδικασία που χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό της επίδρασης τους είναι η νεφελομετρία κατά την οποία μελετάται ο αριθμός των κυττάρων. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργούνται δύο κατηγορίες οι εξώτροφες οι οποίες δεν αναπτύσσονται χωρίς τους αυξητικούς παράγοντες και οι αυτότροφες.

5) Ακτιδιόνη

Η ανθεκτικότητα των ζυμών σε αυτήν εξαρτάται από το είδος τους. Με αυτόν τον τρόπο ταξινομούνται τα είδη του *Saccharomyces*.

6) Θειώδης ανυδρίτης

Πολλές ζήμες είναι ανθεκτικές στο θειώδη ανυδρίτη, έτσι κατατάσσονται σε τρεις ομάδες.

1) Αυτές που είναι ανθεκτικές έως και 100mg/l θειωδη ανυδριτη. Οι ζύμες αυτές είναι *Kloeckera*, *Hanseniaspora* και *Saccharomyces Rosei*.

2) Αυτές που παραμένουν άθικτες έως 150 mg/l SO₂. Οι ζύμες αυτές είναι *Saccharomyces Ellipsoideus* και *Torulopsis Stellata*.

3) Αυτές που αυξάνονται σε αυξημένες δόσεις SO₂. Οι ζύμες αυτές είναι *Saccharomyces Oniformis* *Saccharomyces Ludwigii* και *Saccharomyces Bailii*.

7) Οσμωτική πίεση

Χρησιμοποιείται ώστε να ταξινομηθούν είδη του *Saccharomyces* πχ. *Saccharomyces Heterogenicus* και *Saccharomyces Rouxii*. Τοποθετούνται πάνω σε υπόστρωμα υψηλής οσμωτικής πίεσης που είναι 60% κατά βάρος γλυκόζη και το αποτέλεσμα είναι μόνο ο δεύτερος να αναπτυχθεί.

8) Επιπλέον δοκιμές

Ωστε να διαχωριστεί ο *Saccharomyces Rosei* από τον *Saccharomyces Capensis* ζυμώνετε ινουλίνη και για να διαχωριστούν τα είδη του *Torulopsis* τα οποία είναι *Torulopsis Apicola*, *Torulopsis Lactis-Condensis* και *Torulopsis Stellata*.

Επιπλέον φυσιολογικά χαρακτηριστικά που έχουν μεγάλη σημασία στον διαχωρισμό των ζυμών.

- Εάν αναπτύσσονται σε υψηλές θερμοκρασίες.
- Εάν δημιουργούν οξέα.
- Εάν δημιουργούν εξωτερικά του κυττάρου ενώσεις.
- Εάν υδρολύεται η ουρία.
- Εάν διασπώνται τα λίπη.
- Εάν καταστρέφονται τα λίπη.
- Εάν δημιουργούν χρωστικές.

- Εάν δημιουργούνται εστέρες.
- Εάν η ζελατίνη γίνεται πιο ρευστή.

Ωστε να χρησιμοποιηθούν αυτές οι εφαρμογές πρέπει πρώτα να περάσουν από κάποια στάδια.

Αρχικά η δειγματοληψία του υποστρώματος λαμβάνει χώρα στον αμπελώνα ή στο οινοποιείο καθώς πρέπει να ελεγχθούν οι ζύμες, το κρασί, το σταφύλι και το γλεύκος.

Έπειτα ακολουθεί η απομόνωση και η συντήρηση από διάφορα στελέχη ώστε να δημιουργηθούν καλλιέργειες οι οποίες είναι καθαρές και αυτό επιτυγχάνεται με συγκεκριμένα υποστρώματα.

Τέλος, πρέπει να γίνει η ανασύσταση των καλλιεργειών οι οποίες είναι άψογες, με πιο νέες καλλιέργειες το οποίο επιτυγχάνεται με εμβολιασμό.

3.5 Διατροφή ζυμών

Οι ζύμες λαμβάνουν όλα τα θρεπτικά συστατικά που χρειάζονται από το γλεύκος. Παρόλα αυτά, επειδή στο τέλος της διαδικασίας μερικά θρεπτικά στοιχεία απαραίτητα για την ολοκλήρωση χάνονται, προστίθενται.

Άνθρακας

Χαρακτηριστικό των ζυμών είναι ότι είναι ετερότροφοι οργανισμοί άρα δεν μεταβολίζουν το οξυγόνο όπως κάνουν τα φυτά. Αυτό που γίνεται στο γλεύκος είναι ότι τα ζάχαρα εκλαμβάνονται από τον άνθρακα και οι ανάγκες των ζυμών εξαρτώνται από το εάν υπάρχει αέρας ή όχι.

Υπάρχουν δύο περιβάλλον στα οποία ζουν οι ζύμες το αερόβιο και το αναερόβιο. Στο πρώτο, η ζύμη κάνει διάφορες ενέργειες, αρχικά αναπνέει και χρησιμοποιεί ενέργεια από μόρια όπως π.χ. από τα ζάχαρα. Η αναπνοή είναι η διαδικασία κατά την οποία τα μόρια δίνουν οξυγόνο και H₂O αλλά όχι αλκοόλη. Στο δεύτερο, η ζύμη καταναλώνει ζάχαρα και εξώζες όπως η D γλυκόζη, D φρουκτόζη, D μαννόζη και D γαλακτόζη. Συμβαίνει αλκοολική ζύμωση καθώς οι ζύμες εξαιτίας του άνθρακα δημιουργούν αλκοόλη και οξυγόνο.

Άζωτο

Το άζωτο χρησιμοποιείται από τις ζύμες για να δημιουργήσουν αμινοξέα από τα οποία δημιουργούν πρωτεΐνες. Προκειμένου να αυξηθούν καταλαμβάνουν άζωτο από το γλεύκος.

Το αμμωνιακό άζωτο χρησιμοποιείται για την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης άρα αυτό σημαίνει ότι όσο πιο αυξημένος ο αριθμός αζώτου τόσο μεγαλύτερη είναι και η ζύμωση. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα ώριμα σταφύλια δεν έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε αμμωνιακό άζωτο.

Στα λευκά κρασιά δεν υπάρχει μεγάλη ποσότητα αζώτου καθώς η ζύμωση ολοκληρώνεται χωρίς στέμφυλα.

Το άζωτο καθώς είναι υπεύθυνο για την αύξηση των ζυμών προστίθεται πριν την έναρξη της ζύμωσης. Γιατί εάν προστεθεί αργότερα υπάρχει πιθανότητα να δημιουργηθούν βακτήρια.

Η ελληνική οινική νομοθεσία (Ν. 396/1976) ορίζει ότι τα φωσφορικά, τρυγικά και θειικά άλατα του αμμωνίου δεν πρέπει να ξεπερνούν την ποσότητα των 25 g/hl.

Το φωσφορικό αμμώνιο δημιουργεί λευκό θόλωμα στα κρασιά εξαιτίας του φωσφορικού σιδήρου, για αυτόν τον λόγο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται αλλά να χρησιμοποιούνται τα άλλα δύο άλατα, το θειικό και το τρυγικό.

Ανόργανα συστατικά

Η καλλιέργεια των ζυμών σε θρεπτικό υπόστρωμα γίνεται από τον Παστέρ με την σχέση:

- Νερό 100ml
- Ζάχαρα 100g
- Τρυγικό αμμώνιο 1g
- Τέφρα ζύμης 10g

Στην τέφρα υπάρχουν ιχνοστοιχεία Mn, Zn, Br κα. τα οποία χρειάζονται αλλά δεν εντοπίζονται με οργανοληπτική ανάλυση.

Ανάπτυξη ζυμών

Δεν αρκεί η εμφάνιση ιχνοστοιχείων ή ανόργανων συστατικών για την ομαλή αύξηση των ζυμών, οι αυξητικοί παράγοντες είναι ακόρεστα λιπαρά οξέα τα οποία χρησιμεύουν μαζί με άλλα συστατικά ώστε τα κύτταρα των ζυμών να τονωθούν. Βίος ονομάζονται οι βιταμίνες που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία των ενζύμων.

Το γλεύκος είναι εμπλουτισμένο με βιταμίνες αλλά όχι με θειαμίνη, η έλλειψη αυτή εντοπίζεται στην αλκοολική ζύμωση και για να αποφευχθεί χρησιμοποιείται η ίδια βιταμίνη από 0,5-1 mg/l. Επίσης η βιταμίνη αυτή βοηθάει στο να δημιουργηθούν επιπλέον προϊόντα. Τέλος, βοηθά στο να δημιουργηθούν ουσίες οι οποίες είναι λίγες σε αριθμό και δεν μπορούν να δεσμεύσουν τον θειώδη ανυδρίτη, μία τέτοια ουσία είναι τα κετονικά οξέα.

Εάν υπάρχει μεγάλη ποσότητα θειώδη ανυδρίτη ελεύθερη στο περιβάλλον του κρασιού βοηθά στην σταθεροποίηση του. Εάν εντοπιστεί αυξημένος ο ολικός θειώδης ανυδρίτης μπορεί να προκαλέσει σοβαρά προβλήματα στην υγεία καθώς και να μειώσει την ποιότητα του οίνου. Όταν δεν χρησιμοποιείται για τους παραπάνω δύο λόγους τότε το κρασί είναι αποτελούμενο από πιο μικρή ποσότητα διοξειδίου του θείου και αυτό το κάνει πιο επιρρεπή στην αλλοίωση των οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών. Η θειαμίνη προστίθεται αμέσως μετά την αρχή της ζύμωσης.

Επιπλέον παράγοντες

Συμβαίνει μια αλληλουχία διαδικασιών ώστε τα κύτταρα των ζυμών να πολλαπλασιαστούν, να αναπτυχθούν και να δημιουργηθούν, σε αυτό βοηθούν και άλλοι παράγοντες όπως είναι η θερμοκρασία, το περιβάλλον, το pH και άλλα.

- Οξυγόνο

Η ζύμωση γίνεται σε περιβάλλον αναερόβιο και χρειάζεται να υπάρχουν ζυμομύκητες οι οποίοι δημιουργούνται σε αερόβιο περιβάλλον. Τα κύτταρα αυξάνονται με το συνδυασμό οξυγόνου και άλλων παραγόντων. Άρα και στους ζυμομύκητες έχει μεγάλο ρόλο το οξυγόνο καθώς έτσι μπορεί να συμβούν δύο διαδικασίες, η αναπνοή και η ζύμωση.

Κατά την ζύμωση ενώ υπάρχει οξυγόνο, τα ζάχαρα μετατρέπεται σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό και εκπέμπουν θερμοκρασία 686 Kcal. Ενώ στη ζύμωση η οποία γίνεται σε αναερόβιο περιβάλλον τα ζάχαρα μετατρέπονται σε αλκοόλη με θερμότητα 40 Kcal. Οι διαδικασίες αυτές έχουν ως αποτέλεσμα όταν η ζύμωση είναι υψηλή, η αναπνοή να είναι χαμηλή και όταν η αναπνοή είναι υψηλή, η ένταση να είναι χαμηλή αντίστοιχα.

- Θερμοκρασία

Στους ζυμομύκητες αρέσει το ψυχρό περιβάλλον άρα αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες και χαμηλότερες των 20°C αλλά κυρίως από 20-45°C. Όταν η θερμοκρασία είναι μεγάλη η ζύμωση γίνεται όλο και πιο σύντομα, η πιο σωστή θερμοκρασία της ζύμωσης είναι 30-39°C και εξαρτάται από το είδος στο οποίο ανήκουν. Η μεγάλη θερμοκρασία επηρεάζει τη ζύμωση καθώς εξαιτίας της ζυμώνετε μικρή ποσότητα ζαχάρων άρα δημιουργείται και πιο μικρή ποσότητα αλκοόλης. Για αυτό το λόγο η θερμοκρασία είναι σημαντική καθώς έχει μεγάλο ρόλο στο άρωμα του κρασιού και αυτό πετυχαίνετε στους 20°C.

- pH

Το ιδανικό pH για την αύξηση των τιμών είναι από 4-6. Για την ανάπτυξη γλεύκους το ιδανικό είναι από 2,8 έως 3,8. Συμπερασματικά για να αναπτυχθεί σωστά μία ζύμη πρέπει το pH του γλεύκους να είναι σε μεγάλη ποσοστά. Η αρνητική πλευρά είναι ότι όταν το pH είναι αυξημένο μπορούν πολύ εύκολα να εμφανιστούν βακτήρια, όμως υπάρχουν τρόποι οι οποίοι μπορούν να τα αποτρέψουν.

- pH και θερμοκρασία

Οι ανώτερες αλκοόλες πολλαπλασιάζονται έως και 35%, ενώ οι εστέρες μπορούν να αυξηθούν έως και 100% όταν η θερμοκρασία βρίσκεται στους 20°C και το pH είναι στο 3,4.

- Ζάχαρα

Τα ζάχαρα δεν ευνοούν τον πολλαπλασιασμό των ζυμών κι ούτε τον χρόνο που γίνεται η ζύμωση αλλά σταματούν την διαδικασία.

3.6 Οικολογία ζυμών

Μέχρι και σήμερα πολλές έρευνες είχαν τα ίδια κοινά ερωτήματα, αρχικά το πως θα κατανεμηθούν οι ζύμες, πως θα περιγράφουν όπως επίσης και η οικολογία των ζυμών.

Η έρευνα στο σταφύλι αφορούσε τα είδη που βρέθηκαν στη ρώγα του και το κρασί μελετήθηκε σε δυο καταστάσεις, αρχικά κατά την διάρκεια των ζυμώσεων και έπειτα στη συντήρηση του.

Ο *De Rossi* το 1930 ερεύνησε την οικολογική μελέτη των σταφυλιών και των ζυμών. Ο *Casteli* συνέχισε την έρευνα για τις ζύμες στην Ιταλία και στην συνέχεια ο *Domercq* και ο *Peynaud* έφεραν στο φως τα αποτελέσματα στη Γαλλία. Η έρευνα αποτελούνταν από τα είδη των ζυμών, τις αρρώστιες τους, την διαδικασία αλκοολικής ζύμωσης και το πως αυτή επηρεάζει το σταφύλι. Υπήρξαν πολλές μελέτες που δημοσιεύθηκαν με την ίδια θεματική καθόλη τη διάρκεια του 60' και μερικά από αυτά ανήκαν στους *Soufleros*, στην *Belinda*, *Park* κλπ.

Οι ζύμες βρίσκονται παντού στη φύση, στο χώμα, στα λαχανικά και στα ζώα. Στο σταφύλι βρίσκονται στα φυλλώματα, στο μίσχο και στα άγουρα σταφύλια, στο να βρεθεί η ακριβής τοποθεσία των ζυμών στο σταφύλι έχει βοηθήσει το μικροσκόπιο. Πριν την συγκομιδή οι ζύμες στο σταφύλι είναι 10^3 και 10^5 . Ο αριθμός αυτός επηρεάζεται από το μέρος που βρίσκεται το αμπέλι, τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής, τον τρόπο μεταχείρισης και τα φάρμακα. Αφού γίνει η συγκομιδή τα κύτταρα μπορεί να δημιουργήσουν αποικίες και ο αριθμός να φτάσει 10^6 κυτ./ml μούστου. Ζύμες από το είδος *Rhodotorula* έχουν βρεθεί στο σταφύλι όπως και το *Apiculated* το οποίο είναι ευαίσθητο στις αλκοόλες.

Σε μικρότερη ποσότητα εντοπίστηκαν τα

- *Metschikowia Pulcherrima*,
- *Candida Stellata*
- *Candida Famata*
- *Hensenula Anomania*
- *Pichia Fermentans*

Συμπέρασμα αυτής της έρευνας είναι ότι ο *S. Cerevisiae* σπανίζει και έχει απομονωμένες ζύμες.

Ο *S. Bayanus* δεν έχει εντοπιστεί σε ζυμώσεις στα εργαστήρια αλλά σε δοκιμές που χρησιμοποιήθηκε σε σταφύλια από την *Loire* αποδείχθηκε να είναι το κυριότερο κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, όμως, μόνο αυτό το πείραμα δεν αρκεί για να αποδείξει την ύπαρξη του στα αμπέλια.

Ο *S. Cerevisiae* ακόμα ερευνάται το αν μπορεί να επιβιώσει ανάμεσα σε σοδειές. Πολλοί μελετητές θεωρούν ότι μπορεί επειδή οι ανεξάρτητες ζυμώσεις δύσκολα ενεργούν σε νέα δοχεία επειδή σε αυτά επικρατούν οι ζύμες του *M. Pulcherrima*. Ο *S. Cerevisiae* συνήθως ενεργεί σε επαναχρησιμοποιημένα δοχεία τα οποία δεν έχουν αποστειρωθεί σωστά. Όταν η πυκνότητα του μούστου στα κόκκινα κρασιά μειωθεί από 1.070 σε 1.060 τότε η διαδικασία περιλαμβάνει το αραίωμα του και έτσι απομονώνεται ο *S. Cerevisiae* σε 10^7 - 10^8 κυτ/μλ. Ο σακχαρομύκητας αυτός είναι υπεύθυνος για τη διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης και επηρεάζεται από την θερμοκρασία. Στο λευκό κρασί τα στέμφυλα διαχωρίζονται και έτσι μειώνονται οι ζύμες. Ο *S. Cerevisiae* μολύνει τον εξοπλισμό παρασκευής κρασιού όπως και ότι άλλο ακουμπήσει. Στα τελευταία στάδια της αλκοολικής ζύμωσης ο *S. Cerevisiae* εξασθενεί όλο και περισσότερο καθώς τα ζάχαρα του μειώνονται. Συχνά το κρασί μολύνεται με τον *Brettanomyces Intermedius* που δημιουργεί μεγάλο πρόβλημα με την μυρωδιά του κρασιού. Όσο περνάει ο καιρός ο *Saccharomyces Cerevisiae* μειώνεται όλο και περισσότερο σε λίγες χιλιάδες κυτ/ml. Παρόλα αυτά μπορούν να αναπτυχθούν άλλες ζύμες κατά την αποθήκευση του οίνου.

Άλλοι μεταβολίζονται στην αιθανόλη και στο κρασί, μοιάζουν με πέπλο, μερικοί από αυτούς είναι ο *Pichia*, ο *Candida* και μερικά είδη του *S. Cerevisiae*. Άλλοι αναπτύσσονται αναερόβια και περιέχουν ίχνη ζάχαρης την οποία άφησε πίσω του ο *Saccharomyces Cerevisiae*. Συνολικά βρίσκονται από 10^4 με 10^5 κυτ/ml σε μολυσμένο ερυθρό κρασί και τέτοια αποτελέσματα μπορούν να συμβούν και κατά την αποθήκευση του κρασιού.

Ζύμες που έχουν ζυμωθεί μπορούν να ξαναζυμωθούν σε κρασιά με γλυκιά γεύση και με βοτρυτή κατά την αποθήκευση. Μερικά από τα είδη που μολύνουν είναι είδη του *S. Cerevisiae*, *Saccharomycodes Ludwigii* και *Zygosaccharomycodes Bailii* τα οποία δεν επηρεάζονται από την αιθανόλη.

Οι *Benan* και *Makower* το 63' παρατήρησαν ότι μερικές ζύμες ανήκουν στα είδη *Killer K* οι οποίες απομακρύνουν τοξίνες με πρωτεΐνες και εξοντώνουν άλλα είδη τα οποία είναι πιο ευπρόσβλητα.

4. ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

4.1 Αλκοολική ζύμωση

Οι ζύμες οινοποίησης βρίσκονται στα σταφύλια και στο γλεύκος και είναι αυτές οι οποίες βοηθούν να γίνει η ζύμωση των ζαχάρων. Οι βασικότερες ζύμες της οινοποίησης ανήκουν στο γένος *Hanseniaspora* ή *Kloeckera Torulopsis* το οποίο αναπτύσσεται σε κρύα, βροχερά καλοκαίρια και ο *Saccharomyces Cerevisiae*. Συνολικά αυτοί οι τρεις συγκροτούν το 90% της ζυμοχλωρίδας.

Η αλκοολική ζύμωση εντοπίστηκε πρώτη φορά στο γλεύκος του κρασιού το οποίο παρουσίασε μία αντίδραση αναβρασμού. Πολλαπλασιάστηκε δηλαδή η ζύμη (βιολογικό φαινόμενο) και τα ζάχαρα της μετατράπηκαν σε αλκοόλη (χημικό φαινόμενο), όπου σε αυτήν την διαδικασία συνέβαλαν και τα ένζυμα των κυττάρων της.

Σχηματίζονται δύο μόρια ATP και προκύπτουν 25,4 Kcal αυξάνοντας τη θερμοκρασία του γλεύκους του κρασιού και 38 μόρια ATP σχηματίζονται για όλα τα μόρια του σακχάρου, σε αυτή τη διαδικασία παίρνει μέρος το οξυγόνο, το πυροσταφυλικό οξύ, ο κύκλος του *Krebs* και το NADH₂.

Αρχικά ζυμώνεται το γλεύκος και αρχίζει να αυξάνεται ο *Saccharomyces Cerevisiae* καθώς παράγεται αλκοόλη 3-4 % vol. Στη συνέχεια η αλκοολική ζύμωση ξεκινά με τις ζύμες *Hanseniaspora* ή *Kloeckera* και *Torulopsis* και αυτές φτάνουν τον αλκοολικό βαθμό σε 6-8%. Τέλος την αλκοολική ζύμωση ολοκληρώνει ο *Saccharomyces Cerevisiae* ο οποίος φτάνει τον αλκοολικό βαθμό στο 13-14% και η προέλευσή αυτής της ζύμης είναι το οινοποιείο. Συμμετέχουν και άλλα είδη ζυμών κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης όπως οι *S. Chevalieri*, *S. Roses* και *S. Pretoriensis*. Στο τέλος της διαδικασίας εμφανίζονται στο γλεύκος αυξημένα ζάχαρα. Ο *Saccharomyces Bayanus* ο οποίος είναι ανθεκτικός, φτάνει τον αλκοολικό αριθμό σε 16-18% vol. Εξαιτίας των μυκήτων χρησιμοποιείται μετά την μεταποίηση θειώδης ανυδρίτης ώστε να ανασταλούν οι ζύμες.

4.1.1. Σταδια αλκοολικής ζύμωσης

- I. Εξόζες σε τριόζες.

Η διαδικασία ξεκίνα με την φωσφορυλίωση των εξόζων ώστε να σχηματιστούν και άλλες πηγές ενέργειας για τα κύτταρα, στην προκειμένη περίπτωση φωσφορικοί εστέρες. Έτσι προκύπτουν η διυδροξυακετόνη-P και η γλυκεραλδεύδη-3-P. Για το πυροσταφυλικό οξύ χρησιμοποιείται φωσφογλυκεραλδεύδη και για την δημιουργία γλυκερόλης φωσφορική διυδροξυακετόνη.

II. Φωσφοτριόζη σε πυροσταφυλικό οξύ.

Περιλαμβάνει την οξείδωση της 3-φωσφογλυκεραλδεύδης, την ισομερίωση του φωσφογλυκερικού οξέος, την αφυδάτωση αλκοολικής ομάδας σε αλκένιο και την αποφωσφοριλίωση, διαδικασία ώστε να δημιουργηθεί το πυροβικό οξύ.

III. Αποκαρβοξυλίωση πυροβικού οξέος σε ακεταλδεύδη.

Η διαδικασία γίνεται με ένζυμα αποκαρβοξυλάσης.

IV. Αναγωγή ακεταλδεύδης σε αιθυλική αλκοόλη.

Πραγματοποιείται με NADH₂ εξαιτίας της δημιουργίας φωσφορογλυκερικού οξέος. Στην περίπτωση που το NADH₂ δεν οξειδωθεί σε NAD δημιουργείται γλυκερόλη.

Στην αλκοολική ζύμωση σχηματίζονται πολλά δευτερογενή προϊόντα όπως είναι οι ανώτερες αλκοόλες οι οποίες επηρεάζουν το άρωμα του κρασιού και εξαρτώνται από:

- Την πρώτη ύλη
- Τις ζύμες
- Τις συνθήκες περιβάλλοντος
- Τον τρόπο οινοποίησης

5. ΜΥΛΟΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

5.1 Γαλακτικά βακτήρια

Τα γαλακτικά βακτήρια ή αλλιώς γαλακτοβάκιλλοι ανήκουν στην ομάδα *Gram +* και μπορούν να παράξουν γαλακτικό οξύ από την αποικοδόμηση των σακχάρων. Αυτά τα βακτήρια του γλεύκους κατατάσσονται στα γένη *Pediococcus* (ομοζυμωτικά), *Leuconostoc* (ετεροζυμωτικά), *Lactobacillus* (βάκιλλοι). Μορφολογικά έχουν σχήμα που μοιάζει με κόκκους (σφαιρικά) και με βάκιλλους (ραβδόμορφα). Οι κόκκοι έχουν διάμετρο 0,4-1μ ενώ οι βάκιλλοι 2-5μ και πάχος 0,5 μ. (ΤΣΑΚΙΡΗΣ 1998). Η λέξη *Cocci* έχει ρίζες από την Λατινική λέξη <<*Kokkus*>> ονομάστηκε έτσι εξαιτίας της μορφής των βακτηριδίων. Οι κόκκοι διαμορφώνονται σε *Diplococcus* δηλαδή ζεύγη, στρεπτόκοκκους σαν χοντρή αλυσίδα, σε σταφυλόκοκκους που μοιάζει σαν μούρα και τέλος σε ομάδες των οκτώ.

5.2 Γαλακτικά βακτήρια και κρασί

Τα γαλακτικά βακτήρια του κρασιού διαφοροποιούνται με βάση το σχήμα και τις ιδιότητές τους, έχουν κέλυφη στρόγγυλα ή ελλειψοειδή εξαιτίας των βάκιλων. Έτσι χωρίζονται στα ομοζυμωτικά που δημιουργούν γαλακτικό οξύ από τα σάκχαρα και στα ετεροζυμωτικά που σε συνδυασμό με το γαλακτικό οξύ μπορούν να δημιουργήσουν προϊόντα ζύμωσης σαν την γλυκερόλη και την αλκοόλη. Για να μελετηθούν τα βακτήρια του κρασιού πρέπει να θανατωθούν όλοι οι μικροοργανισμοί. Για αυτόν τον λόγο προστίθεται η πιμαρσίνη, για να σκοτώσει όλες τις ζύμες, όπως και διοξείδιο του άνθρακα ώστε να εξολοθρεύσει τα οξικά βακτήρια.



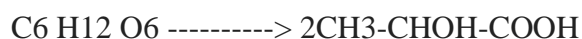
Εικόνα 18. Γαλακτικά βακτήρια.

<https://www.krasiagr.com/prepei-na-anisixoume-gia-ta-baktiria-sto-krasi/>

5.2.1. Ομοζυμωτικά

Τα γαλακτοβακτήρια χωρίζονται στα ομοζυμοτικά και τα ετεροζυμοτικά. Τα ομοζυμοτικά διασπούν τις εξόζες και σχηματίζουν γαλακτικό οξύ. Ομοζυμοτικά είναι τα *Streptococcus*, *Pediococcus* αλλά και τα *Lactobaccillus*, *Thermobacterium* και *Streptobacterium*. Ορισμένα βακτήρια που ανήκουν στα γαλακτοβακτήρια διασπούν το μηλικό οξύ και έτσι βοηθούν στη βελτίωση της γεύσης αλλά και του αρώματος, όμως, η διαδικασία είναι δυνατόν να πάει λάθος και το κρασί να παραζυμωθεί. Τα πιο επικίνδυνα γαλακτικά βακτήρια είναι αυτά που διασπούν το τρυγικό οξύ και τη γλυκερίνη.

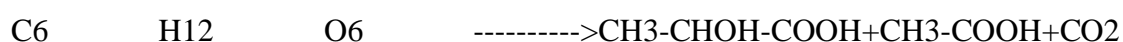
Χημική αντίδραση ομοζυμοτικών γαλακτοβακτηρίων:



5.2.2. Ετεροζυμοτικά

Είναι τα γαλακτοβακτήρια τα οποία αποτελούνται από 50% γαλακτικό οξύ εξαιτίας των ζυμώσεων και της γλυκόζης, επίσης αποτελούνται από οξικό οξύ, αιθανόλη και οξυγόνο. Τα συγκεκριμένα βακτήρια παράγουν από την φρουκτόζη μανιτόλη και σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα *L. Fermentum* και *L. Brevis*.

Χημική αντίδραση ετεροζυμοτικών γαλακτοβακτηρίων:



5.3 Ασθένειες γαλακτικών βακτηρίων

Οι ασθένειες στο κρασί δημιουργούνται από αναερόβια ή μικροαερόφιλα βακτήρια τα οποία ερεύνησε ο Παστέρ. Μερικές ασθένειες είναι το θόλωμα, η εκτροπή, η πίκραση, η πάχυνση και η μαννητική ζύμωση. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται από τα

γαλακτικά βακτήρια ως άνθρακας είναι το κιτρικό, το τρυγικό και το μυλικό οξύ, η γλυκερίνη, η φρουκτόζη και η γλυκόζη εκτός της αλκοόλης. Έτσι σχηματίζονται κάποια προϊόντα που εξαιτίας του βακτηρίου διαφοροποιούνται ανάλογα με την προέλευση του. Μερικά από αυτά μπορεί να είναι το γαλακτικό οξύ υπεύθυνο για την γαλακτική ζύμωση, ο μαννήτης υπεύθυνος για την μαννητική ζύμωση, το οξικό οξύ που δημιουργεί την πικρή γεύση, ο πολυσακχαρίτης υπεύθυνος για την πάχυνση, το μηλικό οξύ, το γαλακτικό οξύ και το διοξείδιο του άνθρακα το οποίο δεν προκαλεί ασθένειες στο κρασί αλλά βοηθάει στην καλύτερη γεύση και του αρώματος.

Οι ασθένειες του γαλακτικού οξέος επηρεάζουν το κρασί ασχέτως της φροντίδας που του παρείχαν οι οινοποιοί και την διατήρηση του σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου. Για αυτό το λόγο τοποθετούνται στην κατηγορία των ξηρών κρασιών και δεν έχουν ιδιαίτερη γεύση ή άρωμα αλλά έχουν αυξημένη οξύτητα. Σε πολλά κρασιά χάνεται η γεύση τους ενώ άλλα γίνονται ξανά αφρώδη έχοντας άρωμα χαλασμένου κρασιού αλλά και καθόλου γεύση. Το χειρότερο που μπορεί να συμβεί σε ένα κρασί είναι να γίνει θολό και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά να είναι μειωμένα.

5.4 Γαλακτοβακτηρίδια είδη και γένη

- *Streptococcus*:

Οι κόκκοι του δεν έχουν κάψα και το σχήμα τους είναι αλυσοειδές.

- *Leuconostoc*:

Οι κόκκοι του βρίσκονται στην κάψα και μοιάζουν με μικρές αλυσίδες.

- *Pediococcus*:

Οι κόκκοι του είναι σε τετράδες.

- *Lactobacillus*:

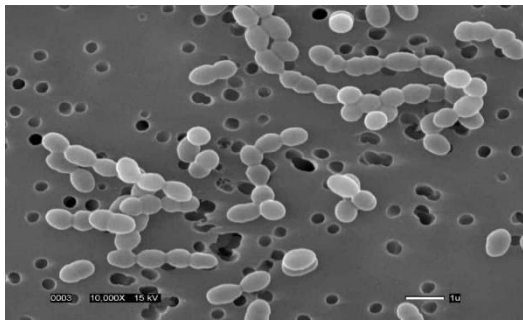
Τα κύτταρα έχουν ποικίλα μεγέθη και σχήματα μπορούν να είναι μόνα τους ή σε ζευγάρια σε μικρές είτε μεγάλες αλυσίδες και το γένος αυτό διαιρείται σε άλλα τρία. Το *Thermobacterium*, *Streptobacterium* και *Betabacterium*.

Leuconostoc oenos

Το *Leuconostoc Oenos* ή αλλιώς *Oenococcus Oeni* ανήκει στην οικογένεια *Streptocaccaceae* και ταξινομήθηκε στο γένος *Leuconostoc* το 1967 από τον Garvie, είναι ομοζυμωτικό βακτήριο και αποτελείται από αναερόβιους κόκκους οι οποίοι μπορεί να είναι σφαιρικοί, ζευγάρια ή αλυσίδες και αναπτύσσονται με παρουσία υδατανθράκων. Είναι από τα βασικότερα βακτήρια για την ολοκλήρωση της μηλογαλακτικής ζύμωσης, έχει θερμοκρασία από 20-30°C και pH 4,8 - 4,2.

Είδη *Leuconostoc*:

- *L. Carnosum*
- *L. Citreum*
- *L. Durionis*
- *L. Lactis*
- *L. Mesenteroides*
- *L. Garlicum*



Εικόνα 19. Γαλακτικό βακτήριο *Leuconostoc*.

<https://www.chungvisinh.com/leuconostoc-oeni-nbrc-100497.html/>

Lactobaccillus

Τα βακτήρια αυτού το γένος έχουν σχήμα κυλίνδρου, είναι μακριά και λεπτά ή κοκκοβάκιλοι που σχηματίζουν αλυσίδες. Τα συγκεκριμένα βακτήρια δεν κινούνται, είναι ασπρογόνα και είναι θετικά κατά *Gram* που μετατρέπονται σε αρνητικά κατά *Gram*, σε όξινες και αρκετά παλιές καλλιέργειες. Είναι αναερόβια και μερικά όταν απομονωθούν γίνονται απόλυτα αναερόβια. Έχουν μεταβολισμό ζυμωτικό και

συναντώνται σε πάρα πολλά προϊόντα όπως π.χ. σε γαλακτοκομικά, δημητριακά, κρέας, νερό, σε υπονόμους, στο κρασί, στα φρούτα, στους χυμούς, στον ζύθο και στα τουρσιά. Χρειάζονται πεπτίδια ζύμωσης, ζάχαρα, βιταμίνες και λιπαρά οξέα. Έχουν pH 5,5-5,8 και αναπτύσσονται κυρίως σε pH 5, αλλά αναπτύσσονται και σε χαμηλότερο και ελάχιστα σε ουδέτερο ή αλκαλικό pH. Η τέλεια θερμοκρασία για αυτά είναι 30-40°C.

Είδη *Lactobacillus*

- *Lactobacillus Delbrueckii*
- *Lactobacillus Lactis*
- *Lactobaccillus Helveticus*
- *Lactobacillus Fermentum*
- *Lactobaccillus Brevis*
- *Lactobaccillus Plantarum*
- *Lactobaccillus Casei*



Εικόνα 20. Γαλακτικά βακτήρια *Lactobacillus*.

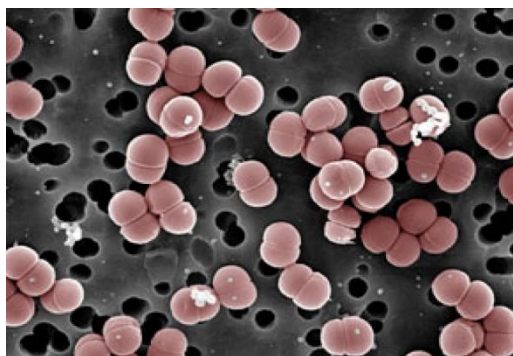
<https://www.sanzymebiologics.com/food-supplement/lactobacillus-sporogenes/>

Pediococcus

Η κόκκοι αυτού του γένους δεν κινούνται, είναι σε ζεύγη και σε τετράδες. Αναπτύσσονται στην επιφάνεια και είναι θετικοί κατά *Gram*, είναι ομοζημωτικοί και βρίσκονται στο ζύθο, στα γαλακτοκομικά προϊόντα και πιο σπάνια σε υλικά που έχουν υποστεί ζύμωση. Είναι κόκκοι γαλακτικού οξέος.

Είδη *Pediococcus*

- *Pediococcus Damnosus*
- *Pediococcus Pentoseus*
- *Pediococcus Acidilactici*
- *Pediococcus Cerevisiae*



Εικόνα 21. Γαλακτικά βακτήρια *Pediococcus*.

<https://www.brewersjournal.info/pediococcus-friend-and-foe/>

5.5 Μεταβολισμός γαλακτοβακτηρίων

Οι κόκκοι *Leuconostoc* είναι ετεροζυμωτικοί και ζυμώνουν την γλυκόζη σε D-γαλακτικό οξύ, αιθανόλη και CO₂. Αρκετά στελέχη όμως μπορούν να παράξουν οξικό οξύ αντί για αιθανόλη. Έχει αρνητικές βιοχημικές αντιδράσεις όπως είναι η ινδόλη, η καταλάση, η πρωτεόλυση και η νιτρική αναγωγή όμως δεν αντιδρά με αργινίνη και έτσι μερικές φορές το γάλα ξινίζει και πήζει. Αυτό σημαίνει ότι έχει επιρροή στα τρόφιμα. Άλλες φορές τα επηρεάζει θετικά και άλλες αρνητικά επειδή έχει το διακετύλιο και τις αρωματικές ενώσεις που βοηθούν τους γαλακτικούς στρεπτόκοκκους και τους χρησιμοποιούν για τη δημιουργία βουτύρου και τυριού. Το είδος αυτών των κόκκων *L. Mesenteroides* βοήθα στο πρώτο στάδιο γαλακτικής ζύμωσης συγκεκριμένα στα τουρσιά επειδή έχει αντοχή στα άλατα και στα σάκχαρα όμως αλλοιώνει τα γλυκά, τα παγωτά και τα σιρόπια. Στα φυτικά προϊόντα ξεκινούν πολύ γρήγορα τη ζύμωση και για αυτόν το λόγο τα υπόλοιπα βακτήρια δεν μπορούν να αναπτυχθούν και να αλλοιώσουν ένα προϊόν. Οι αντιδράσεις αυτών των βακτηρίων δείχνουν τη ζυμωτική τους δραστηριότητα. Διαλύουν τα ζάχαρα ενώ όταν ζυμώνουν

τους υδατάνθρακες δημιουργείται γαλακτικό, μυρμηκικό και πυρροβικό οξύ. Μετατρέπουν το μηλικό σε γαλακτικό οξύ και σε διοξείδιο του άνθρακα. Η ζύμωση αυτή στον οίνο είναι πολύ σημαντική και ονομάζεται μηλικογαλακτική ή αλλιώς μηλογαλακτική. Όταν οι γαλακτοβάκιλλοι δημιουργούν γαλακτικό οξύ είναι ωφέλιμο στα τρόφιμα καθώς έχουν ως επίπτωση τη μείωση του pH που βοηθά τα τρόφιμα να μην σαπίζουν. Δίνει τη σωστή γεύση και το σωστό άρωμα σε προϊόντα γάλακτος και δημιουργεί ένζυμα τα οποία βοηθούν το κρασί όπως για παράδειγμα το μηλικό και το τρυγικό οξύ.

Οι κόκκοι του *Pediococcus* μεταβολίζουν τους υδατάνθρακες και παράγεται έτσι DL-γαλακτικό οξύ που σημαίνει ότι είναι ομοζυμωτικά βακτήρια χωρίς να παράγουν αέρια. Είναι αρνητικά με την καταλάση (ασχέτως που μπορεί να υπάρξει καταλασική δραστηριότητα από ένζυμο χωρίς αίμη) την ζελατίνη και την νιτρική αναγωγή. Είδη του *Pediococcus* είναι ο *P. Acidilactici* και ο *P. Cerevisiae* οι οποίοι αναπτύσσονται στη ζυθοποιία, σε φυτικά υλικά τα οποία έχουν ζυμωθεί και σε αλλοιωμένο ζύθο.

5.6 Ασθένειες γαλακτικού οξέος

- Μηλογαλακτική ζύμωση.
- Εκτροπή, δηλαδή την ζύμωση του τρυγικού οξέος.
- Πίκραση, δηλαδή την ζύμωση της γλυκερίνης και της ακρολεΐνης.
- Γαλακτική ζύμωση με γεύση γαλακτικού οξέος, εξαιτίας της μεγάλης ποσότητας σακχάρων.
- Γαλακτική ζύμωση με λίγα σάκχαρα και τις πεντόζες.
- Πάχυνση του κρασιού.

Πίκραση και γλυκερόλη

Η ζύμωση της γλυκερόλης είναι σοβαρή ασθένεια του κρασιού που δημιουργείται εξαιτίας της δράσης των βακτηρίων όπου παράγεται γαλακτικό οξύ, οξικό και ακρολεΐνη. Έτσι αυξάνεται η οξύτητα και το κρασί αποκτά άσχημη οσμή και πικρή γεύση κάνοντας το άνοστο. Η πίκραση είναι αρρώστια που εμφανίζεται στα σκούρα, μαύρα κρασιά δηλαδή στα παλαιωμένα, ορισμένες φορές στα λευκά κρασιά, σε κρασιά πιεστηρίων αλλά και σε κρασιά από οινολάσπη. Όσο περνάει ο καιρός το κρασί θολώνει όλο και περισσότερο και η πικρή γεύση γίνεται όλο και πιο ισχυρή.

Η γλυκερίνη διασπάται ελαφρώς μέσα σε βαρέλια κατά την παλαίωση του κρασιού. Το κρασί, κατά αυτή τη διαδικασία γίνεται όλο και πιο ξηρό, όξινο όμως η γεύση του γίνεται όλο και πιο απαλή. Εξαιτίας του οξικού οξέος αυξάνεται η πτητική οξύτητα και εξαιτίας του γαλακτικού οξέος αυξάνεται η σταθερή. Μπορεί αυτή η διαδικασία να υποβαθμίζει το κρασί αλλά δεν είναι τόσο σοβαρή ασθένεια. Άλλες φορές τα βακτήρια διασπούν την γλυκερίνη και σχηματίζουν ακρολεΐνη σε συνδυασμό με άλλα, χαρακτηριστικό παράδειγμα το *Bacillus Amaracrylus*. Σύγχρονες έρευνες έδειξαν ότι τα ανταλλακτήρια διασπούν την γλυκερίνη και σχηματίζουν την ακρολεΐνη, β- υδροξύ-προπιονικό οξύ. Για να μην εμφανιστεί αυτή η ασθένεια γίνεται παστερίωση στους 65°C. Υπάρχει θεραπεία με προσθήκη ενεργού άνθρακα για την ξεπύκρωση όμως δεν υπάρχει αλλαγή ή βελτίωση όταν η ασθένεια έχει προχωρήσει.

Εκτροπή

Η εκτροπή ή εκτροπίαση ανήκει στις πρώτες κύριες σοβαρές ασθένειες των κρασιών. Αλλιώς, ονομάζεται θόλωμα, τάγγισμα ή συννέφιασμα. Είναι ασθένεια που προέρχεται από μολυσμένα σταφύλια των οποίων η συγκομιδή πραγματοποιήθηκε κάτω από βροχερές συνθήκες και έτσι τα κράτησε την λάσπη. Η μεταφορά των σταφυλιών με τη λάσπη στα βαρέλια οδηγεί το κρασί σε ασθένειες καθώς εμποδίζει την παλαίωση του. Το παθογόνο αυτό βακτήριο ανήκει στα γαλακτικά βακτήρια. Διασπά το τρυγικό οξύ σε οξικό οξύ, μερικές φορές σε γαλακτικό ή σε διοξείδιο του άνθρακα και ανήκει στο είδος *Lactobaccillus Plantarum*.

Το σχήμα του είναι ραβδοειδές μακρύ και παχύ. Αφού το βακτήριο μολύνει όλο και περισσότερο, τα βακτήρια αρχίζουν να μοιάζουν ελικοειδή. Η συγκεκριμένη ασθένεια εντοπίζεται μόνο με μικροσκόπιο εξαιτίας του θολώματος που προκαλεί. Όταν ένα μολυσμένο κρασί τοποθετηθεί σε ποτήρι και ξεκινήσει η εμφάνιση κυματισμού και φυσαλίδων, οφείλεται στο τρυγικό οξύ, στα τρυγικά άλατα και στο διοξείδιο του άνθρακα. Τα λευκά κρασιά η εκτροπή τα μαυρίζει ενώ τα ερυθρά τα κάνει βιολετή ή κάστανα. Λύση για αυτήν την αλλοίωση είναι η διαύγαση.

Συνέπειες της εκτροπής είναι οι αλλοιώσεις στη γεύση και στο άρωμα του κρασιού. Αρχικά μειώνεται η σταθερή οξύτητα του τρυγικού και του μηλικού οξέος και αυξάνεται η πτητική οξύτητα όπως επίσης αυξάνεται το βουτυρικό, το βαλεριανικό και το γαλακτικό οξύ. Τα συγκεκριμένα οξέα σχηματίζονται όταν μαζί με το τρυγικό διασπάνε την γλυκερίνη από τα ίδια βακτήρια ή από άλλα. Κατά αυτή τη διαδικασία

είναι πολύ πιθανό να δημιουργούνται και άλλα καινούργια βακτήρια εξαιτίας των νέων συνθηκών.

Τελικά, το κρασί χάνει το άρωμα του, τη γεύση του και γίνεται άγευστο και άτονο. Όσο περνάει όμως ο καιρός η ασθένεια αλλοιώνει όλο και περισσότερο το κρασί κάνοντας το να αποκτήσει πολύ άσχημη οσμή όπως και πολύ άσχημη γεύση. Έτσι, το κρασί, δεν είναι κατάλληλο για κατανάλωση και είναι οργανοληπτικά απαράδεκτο. Η συγκεκριμένη ασθένεια μπορεί να αποφευχθεί με προσθήκη SO₂ και πολύ καλή καθαριότητα. Η θεραπεία είναι παστερίωση στους 65°C μαζί με προσθήκη θειώδη ανυδρίτη και τρυγικό οξύ.

Πάχυνση

Η πάχυνση δημιουργείται εξαιτίας της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Στην ασθένεια αυτή το είδος *Leuconostoc Mesenteroides* μεταβάλουν το μηλικό οξύ αλλά και το αζύμωτο ζάχαρο σε γλοιώδη μάζα. Η ασθένεια αυτή εμφανίζεται στα γλυκά κρασιά κάνοντας τα να έχουν βλενώδη σύσταση, να είναι πολύ πηχτά και να θυμίζουν λάδι.

Αυτό οφείλεται στα ετεροζυμωτικά γαλακτωβακτήρια *Leuconostoc* που δημιουργούν κάψουλα στα οποία εγκλωβίζονται. Εξαιτίας της βλενώδης σύστασης η μετάγγιση χύνεται αθόρυβα σαν έλαιο. Παρόλα αυτά η ασθένεια αυτή δεν είναι σοβαρή και πρόκειται να εξαλειφθεί. Κυρίως προσβάλλει τα άσπρα κρασιά και μερικές φορές τα κόκκινα κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και έπειτα. Όμως, δεν εμφανίζεται εάν στο κρασί δεν υπάρχει αζύμωτο ζάχαρο και δεν έχει προηγηθεί θείωση. Τα κρασιά αυτά χάνουν τη γεύση τους αλλά η πτητική τους οξύτητα δεν αυξάνεται, το θειικό οξύ φτάνει το 0,4% και το άρωμα του δεν κατεβαίνει ποιοτικά.

Η πάχυνση είναι ακίνδυνη μπορεί να προληφθεί και θεραπεύεται. Προσβάλλει κρασιά με μικρή οξύτητα και τανίνες και εάν έχουν αζύμωτο ζάχαρο. Όμως, τις συναντάμε και σε εμφιαλωμένα κρασιά όταν δεν έχει ολοκληρωθεί η ωρίμανση και το εμπόρευμα τους γίνεται πρόωρα.

Η πρόληψη της γίνεται με θείωση, ώστε να μην μπορεί να πραγματοποιηθεί η μηλιογαλακτική ζύμωση και να σχηματιστεί η βλέννα. Ένας ακόμη τρόπος αποφυγής αυτής της ασθένειας είναι η σωστή οινοποίηση. Άμα δεν έχει γίνει γαλακτική ή οξική ζύμωση η θεραπεία της ασθένειας είναι εύκολη και πραγματοποιήσιμη. Έτσι, προστίθεται τανίνη 20-30 gr. κατά εκατόλιτρο και θειώδες οξύ 6-8 gr. κατά εκατόλιτρο.

Στο τελευταίο στάδιο μηχανικά γίνεται η εξόντωση της βλέννας και στην συνέχεια η διαύγαση, η μετάγγιση και η μεταφορά του στην κατανάλωση. Σε περίπτωση που υπάρχει αζύμωτο ζάχαρο γίνεται η ζύμωση του αλλιώς το κρασί είναι επιρρεπής στην αναζήμωση. Όμως σε περίπτωση που η ασθένεια έχει προχωρήσει πρέπει να διορθωθούν τα συστατικά του μολυσμένου κρασιού πριν την εμπορία του για κατανάλωση.

5.7 Μηλογαλακτική ζύμωση

Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι πολύ ωφέλιμη όσον αφορά το κρασί. Η μηλογαλακτική ζύμωση τροποποιεί το μηλικό οξύ σε γαλακτικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα. Τα βακτήρια αυτής της ζύμωσης ανήκουν στην ομάδα των γαλάκτοβακτηρίων. Είναι το τελευταίο στάδιο της βιολογικής διεργασίας και συμβαίνει μετά την αλκοολική ζύμωση των κόκκινων κρασιών. Η συγκεκριμένη ζύμωση βοηθά στην βελτίωση του αρώματος, του χρώματος αλλά και της γεύσης του κρασιού.

Σε περίπτωση που το οξύ αυτής της ζύμωσης δεν έχει ζυμωθεί μειώνει ποιοτικά το κρασί επειδή η μηλογαλακτική ζύμωση το θολώνει και πάλι από την αρχή. Στα λευκά κρασιά το γαλακτικό οξύ δεν βοηθά στη βελτίωση της ποιότητας και για αυτό το λόγο εμποδίζεται με θείωση του γλεύκους όπως και του αποζυμωμένου κρασιού. Στα γλυκά κρασιά γίνεται ακριβώς το ίδιο, εμποδίζεται και πάλι με θείωση ενώ στα ροζέ άλλες φορές χρησιμοποιείται και άλλες όχι. Τα λευκά και τα ροζέ κρασιά παρόλη αυτή τη διαδικασία κρατάνε το φρουτώδες άρωμα και τη δροσερή τους γεύση. Τα βακτήρια αυτής της ζύμωσης επηρεάζουν το μηλικό οξύ αλλά δεν αντιδρούν με τα ζάχαρα σε χαμηλό pH, όμως, σχηματίζουν φυτικά οξέα σε μικρές ποσότητες. Συνήθως, τα βακτήρια στις αρρώστιες του οίνου αυξάνουν το pH, τα ζάχαρα αλλά και τα βασικά συστατικά του κρασιού όπως και την πτητική οξύτητα.

Η μηλογαλακτική ζύμωση έχει δύο τύπους βακτηρίων τους κόκκους και τους βάκιλλους. Οι κόκκοι ζυμώνονται περισσότερο από τους βάκιλλους γιατί διαχωρίζουν το μηλικό οξύ με pH πιο χαμηλό από τα ζάχαρα. Έτσι επιτυγχάνεται η ζύμωση του μηλικού οξέος καθώς και η άμυνα του ζαχάρου. Στην μηλογαλακτική ζύμωση το οξικό οξύ σημειώνει αύξηση, συγκεκριμένα όταν ζυμώνονται οι πεντόζες, όπως επίσης αύξηση σημειώνεται διπλά και τριπλά στο διακετύλιο και στην ακετοΐνη τα οποία συνδέονται με το μεταβολισμό και του κιτρικού οξέος και του κρασιού με βακτήρια αυτής της ζύμωσης.

Επιπλέον, όταν το διακετύλιο έχει αυξημένη συγκέντρωση δίνει γεύση βουτύρου, άσχημη και ποιοτικά μειώνει το κρασί.

5.8 Βακτήρια μηλογαλακτικής ζύμωσης

- *Pediococcus cerevisiae*
- *Leuconostoc gracile*
- *Leuconostoc oenos*
- *Lactobaccillus plantarum*
- *Lactobaccillus casei*
- *Lactobaccillus fructivorans*
- *Lactobaccillus desidiosus*
- *Lactobaccillus hilgardii*
- *Lactobaccillus brevis*

Τα σημαντικότερα είναι *Leuconostoc Gracile* και *Leuconostoc Oenos*.

Leuconostoc Oenos

Τα κύτταρα είναι σφαιρικά ή έχουν σχήμα φακής, είναι σε ζεύγη ή σε αλυσίδες και έχουν διαστάσεις 0,5-1 X 0,7-1,5 mm. Η ανάπτυξη του γίνεται με pH 4,2-4,8 και το βοηθάνε θρεπτικά υλικά τα οποία έχουν τοματοχυμό και αναπτύσσονται αργά. Όλα τα βακτήρια ζυμώνουν τη γλυκόζη, τη φρουκτόζη και την τρεαλόζη. Επίσης, έχει την ικανότητα να ζυμώνει μονοσακχαρίτες ή δισακχαρίτες αλλά αυτό εξαρτάται από το τι στέλεχος είναι. Αδυνατεί να ζυμώσει την ζαχαρώδη αλλά μπορεί να ζυμώσει το μηλικό οξύ του οποίου οι ανάγκες είναι τα αμινοξέα και οι αυξητικοί παράγοντες. Αυτά τα βακτήρια αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες 10-30°C, είναι εταιροζημοτικό είδος και παράγει από την γλυκόζη D-γαλακτικό οξύ.

Pediococcus Cerevisiae

Τα κύτταρα του είναι σφαιρικά σε ζεύγη ή τετράδες με διάμετρο 0,6-1 mm, σχηματίζει αποικίες σε αναερόβιες συνθήκες με διάμετρο 2-3 mm, έχει χρώμα λευκό αλλά μπορεί και να κιτρινίσει. Ζυμώνει την γλυκόζη και τη φρουκτόζη όμως όχι τις πεντόζες και τη

σακχαρόζη. Το είδος του είναι ομοζυμωτικό, παράγει DL-γαλακτικό οξύ και αναπτύσσεται σε pH 3,5-6,2 με θερμοκρασία 25°C.

5.8.1. Παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη των βακτηρίων της μηλικογαλακτικής ζύμωσης στο κρασί.

- Το pH
- Η ποσότητα του θειώδους οξέος
- Η θερμοκρασία
- Ο αερισμός του γλεύκους
- Η περιεκτικότητα σε αμινοξέα, βιταμίνες, σε σύμπλοκο Β και τα ανόργανα άλατα.

pH

Έχει πολύ σημαντικό ρόλο στα βακτήρια της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Το pH πρέπει να είναι σε τιμές 3,4-4 για τα γαλακτικά βακτήρια και 3-3,5 για το *Leuconostoc*. Εάν το pH είναι κάτω από 2,9 η μηλικογαλακτική ζύμωση δεν ολοκληρώνεται, όμως σε τιμές υψηλότερες γίνεται με πιο αργό ρυθμό. Είναι ασφαλής γιατί τα βακτήρια ζυμώνουν το μηλικό οξύ αλλά όχι τα ζάχαρα.

Θερμοκρασία

Η ζύμωση επηρεάζεται όταν η θερμοκρασία είναι ανάμεσα σε 15-30 °C. Εάν είναι πάνω από 30°C η διαδικασία της ζύμωσης δεν προχωράει. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες είναι ακίνδυνη ενώ σε υψηλότερες θερμοκρασίες αυξάνεται η πτητική οξύτητα και αλλοιώνεται το κρασί.

Αερισμός

Όταν ο αερισμός γίνεται σε φυσιολογικά πλαίσια ευνοεί τη ζύμωση ενώ το οξυγόνο παρεμποδίζει τα θρεπτικά στοιχεία. Τα βακτήρια αυτής της ζύμωσης δεν είναι δυνατόν να συνθέσουν από μόνα τους αμινοξέα. Το κρασί είναι εμπλουτισμένο με αμινοξέα και αζωτούχα συστατικά.

Εμβολιασμός

Η σωστή καλλιέργεια βακτηρίων βοηθούν τις ζύμες και τα βακτήρια να εισέρχονται στο γλεύκος και έτσι η μηλογαλακτική ζύμωση ευνοείται. Άμα ο εμβολιασμός αυτών των δύο γίνει ταυτόχρονα τα βακτήρια κάνουν την δουλειά τους χωρίς να πάθει κάτι το ζάχαρο. Χρησιμοποιούνται κόκκοι που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην αλκοόλη αλλά και στα οξέα οι οποίοι δεν επιδρούν σε άλλα συστατικά. Ο εμβολιασμός έχει δώσει θετικά αποτελέσματα για την καλλιέργεια ζυμών.

5.9 Μηλογαλακτική ζύμωση στο κρασί

- Αυξάνεται η πτητική οξύτητα σε 0,1-0,2gr/l.
- Η μυρωδιά του κρασιού αλλάζει όταν στο κρασί καθώς μένουν ζωντανά βακτήρια για αρκετό χρονικό διάστημα.
- Στα λευκά κρασιά δεν συνιστάται αυτή η ζύμωση καθώς εξαιτίας της το άρωμά τους εξαφανίζεται.
- Εξαιτίας της ζύμωσης δημιουργείται άρωμα βουτύρου το οποίο εξαρτάται εάν θα είναι θετικό ή αρνητικό.
- Γίνεται σχηματισμός ακεταδεύλδης, ακετόνης και ισοβουτανόλης εξαιτίας των ομοζυμωτικών βακτηρίων.
- Γίνεται σχηματισμός προπανόλης, εξανόλης και ισοβοτανόλης εξαιτίας των ετεροζυμωτικών.

Η παρακολούθηση και ο έλεγχος αυτής της ζύμωσης μπορεί να οδηγήσει σε θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα όπως

- Πτώση ολικής οξύτητας.
- Αύξηση του pH.
- Αύξηση διοξειδίου του άνθρακα με αποτέλεσμα τον σχηματισμό αφρού.
- Δημιουργία θολώματος.
- Εμφάνιση γαλακτικού οξέος μηλικού οξέος δημιουργία οξικού οξέος και εστέρων.

Δύο πράγματα αλλάζουν μετά το πέρας της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Το άρωμα και η γεύση. Η ποιότητα μερικές φορές καλυτερεύει αλλά άλλες μπορεί να μειωθεί.

6. ΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

6.1 Γαλακτική ζύμωση

Η συγκεκριμένη ζύμωση είναι αποτέλεσμα ζύμωσης του γαλακτικού οξέως και είναι αποτελούμενη από ποικίλα είδη κατά τα οποία ζυμώνονται διαφορετικά βακτήρια.

Γαλακτική ζύμωση ζαχάρων Pique Lactique

Η γαλακτική ζύμωση κάνει φανερή τη μόλυνση της με άσχημη μυρωδιά και ξινή γεύση η οποία προκαλείται από τα αζύμωτα ζάχαρα και το οξικό οξύ.

Αμα η αλκοολική ζύμωση σταματήσει για αρκετό καιρό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας καθώς τα γαλακτικά βακτήρια προσβάλλουν τα ζάχαρα με αποτέλεσμα την δημιουργία γαλακτικού οξέος, οξικού οξέος και διοξειδίου του άνθρακα. Για την δημιουργία αυτή ευθύνονται τα βακτήρια. Τα βακτήρια αυτά

χωρίζονται σε δύο κατηγορίες τα ομοζημοτικά και τα ετεροζημοτικά.

Ζύμωση εξόζων από ομογαλακτικά βακτήρια

Οι εξόζες μετατρέπονται από τα γαλακτικά βακτήρια σε γαλακτικό οξύ, γλυκόζη και φρουκτόζη. Η ζύμωση αυτή είναι παρόμοια με την αρχή της αλκοολικής ζύμωσης. Η εξόζες δημιουργούν πυρουβικό οξύ αλλά δεν αποκαρβιοξυλιώνεται σε ακεταλδεϋδη όπως συμβαίνει με τη γαλακτική αφυδρογονάση. Η αφυδρογονάση χωρίζεται σε L+ και D- από τις οποίες προκύπτουν και άλλες δύο ενώσεις γαλακτικού οξέος.

Ζύμωση εξόζων από ετερογαλακτικά βακτήρια, γαλακτικό ξύνισμα

Αρχικά το γαλακτικό οξύ δημιουργείται από σάκχαρα. Η γλυκόζη και η φρουκτόζη δεν ζυμώνονται, η πρώτη δημιουργεί οξικό οξύ, διοξείδιο του άνθρακα και γλυκερόλη, ενώ η δεύτερη δημιουργεί μαννιτόλη.

Ζύμωση πεντόζων

Οι πεντόζες που βρίσκονται στο γλεύκος μεταβολίζονται παρόμοια με την ετερογαλακτική ζύμωση. Αφού ολοκληρωθεί η μηλογαλακτική ζύμωση τότε ζυμώνονται οι πεντόζες. Για την αποφυγή της γαλακτικής και της μαγνητικής ζύμωσης βοηθούν η αυξημένη οξύτητα, τα σάκχαρα, ο θειώδης ανυδρίτης και η αλκοολική ζύμωση. Για να ανασταλεί αυτή η διαδικασία πρέπει να καταστραφούν τα βακτήρια με θείωση σε δύο φάσεις. Αρχικά την αποζήμωση των σακχάρων, την διαύγαση του κρασιού και την παστερίωση στους 65°C.

Ζύμωση της γλυκερόλης, πίκραση, *Amerume*

Η ζύμωση αυτή έχει τρία βασικά χαρακτηριστικά δύο οξέα το γαλακτικό και το οξικό και την ακρολεΐνη η οποία έχει μια χαρακτηριστική παράξενη μυρωδιά. Επιπλέον, ενώνεται με τανίνες και δημιουργεί άσχημη γεύση, εμφανίζεται στα κόκκινα κρασιά ενώ στα λευκά όχι τόσο συχνά. Δεν συναντάται εύκολα πλέον παρά μόνο σε κρασιά με

χαμηλή αλκοόλη και χαμηλή οξύτητα. Η ασθένεια αυτή αποφεύγεται με παστερίωση στους 65C° ενώ προστίθεται ενεργός άνθρακας ώστε να επανέλθει η αρχική σύσταση του κρασιού.

Ζύμωση κιτρικού οξέος

Τα γαλακτοβακτηρίδια μεταβολίζουν το κιτρικό οξύ και έτσι δημιουργούνται, για αυτόν τον λόγο η πτητική οξύτητα μεγαλώνει. Κατά την διάρκεια του μεταβολισμού δημιουργούνται ουσίες που επηρεάζουν την ανάλυση του κρασιού. Το κιτρικό οξύ πρέπει να προστίθεται σε συγκεκριμένη ποσότητα 1g/l. καθώς μπορεί να επηρεάσει την οξύτητα και την δέσμευση του σιδήρου.

Ζύμωση τρυγικού οξέος, εκτροπίαση, *Tourne*

Στα παλαιότερα χρόνια ήταν συχνή ασθένεια όμως πλέον δεν είναι τόσο συχνή και στο μέλλον επρόκειτο να εξαφανιστεί. Εντοπίζεται κατά την διάλυσή του τρυγικού οξέος από γαλακτικά βακτήρια όπου κατά αυτήν την διαδικασία μεταβάλει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, δηλαδή η οξύτητα μειώνεται ενώ η πτητική μεγαλώνει. Το χρώμα του κρασιού μαυρίζει και γίνεται άγευστο. Η μυρωδιά του αρχικά είναι κανονική αλλά στη συνέχεια μοιάζει με αυτήν της ακεταμίδης. Για την αποφυγή αυτών των ζυμώσεων χρησιμοποιείται μικρή ποσότητα SO4 μαζί με κανόνες υγιεινής, ενώ άμα το κρασί έχει μολυνθεί γίνεται παστερίωση σε 65° C και προστίθεται θειώδης ανυδρίτης.

7. ΟΞΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

7.1 Οξικά βακτήρια

Τα βακτήρια αυτά αναπαράγονται στο γλεύκος του κρασιού στο ίδιο το κρασί αλλά και στο τελικό προϊόν. Δύο βασικά βακτήρια τα οποία είναι εξαιρετικά επικίνδυνα για το κρασί και το γλεύκος είναι *Gluconobacter* και *Acetobacter*. Η εμφάνιση αυτών των βακτηρίων γίνεται σε μέρη τα οποία φυλάσσονται και αποθηκεύονται τα κρασιά, Βρίσκονται μέσα στα βαρέλια και στο έδαφος που βρίσκεται το φυτό.

Τα βακτήρια αυτά μπορούν να εντοπιστούν μόνο με μικροσκόπιο καθώς είναι πολύ μικρά σε μέγεθος. Η διάμετρος τους είναι 0,5-1 και το μήκος είναι 1-1,5, είναι αλυσίδες και μοιάζουν με κύλινδρο, είναι αρνητικά κατά *Gram* και αναπαράγονται όταν το κρασί έρθει σε επαφή με το οξυγόνο με αποτέλεσμα στην επιφάνεια να δημιουργείται μία λεπτή στρώση

Με πειράματα που έχουν γίνει σε ξινό κρασί εντοπίστηκαν τα είδη *A. Paradoxis*, *A. Mesoxydans*, *A. Xylinum*, *A. Ascendens*.

Η στρώση που σχηματίζεται έχει διάφορες μορφές ανάλογα με το είδος που το δημιούργησε, μπορεί να δημιουργείται γρήγορα και να υπάρχει εσωτερικά σε

ολόκληρο το δοχείο ενώ άλλες φορές μπορεί να δημιουργείται πιο αργά και το πάχος του να διαφέρει. Αρχικά εντοπίζεται στην επιφάνεια του κρασιού εξαιτίας των παραπάνω ειδών ενώ στο τέλος στο βαρέλι.

7.2 Τα είδη οξικών βακτηρίων

Χωρίζονται σε τέσσερις ομάδες αποτελούμενες συνολικά από 10 είδη.

- 1) Υπεροξειδοτικά στην οποία ανήκουν τα *A. Paradoxum* και *A. Peroxydans*. (*Acetobacter*).
- 2) Οξειδωτικά στην οποία ανήκουν τα *A. Lovaniense*, *A. Ascendens* και *A. Ranges*. (*Acetobacter*).
- 3) Μεσοοξειδωτικά στην οποία ανήκουν *A. Acetic*, *A. Xylinum*, *A. Mesoxydans*. (*Acetobacter*).
- 4) Υποοξειδωτικά στην οποία ανήκουν τα *A. Suboxydans*, *A. Melanogenum*. (*Gluconobacter*).

7.3 Οξική ζύμωση

Το βασικό χαρακτηριστικό αυτής της ζύμωσης είναι ότι γίνεται η οξείδωση της αιθυλικής αλκοόλης σε οξικό οξύ. Τα συγκεκριμένα βακτήρια αναπαράγονται μόνο με την παρουσία οξυγόνου, εξίσου σημαντικό είναι ότι τα είδη αυτών των βακτηρίων συνεχίζουν την οξείδωση προς CO₂ και νερό.

Δεν είναι κατάλληλα για την βιομηχανία του ξυδιού συγκεκριμένα για το κρασί και είναι υπεύθυνα για την άσχημη γεύση που δίνουν στο κρασί. Εάν η πτητική τους οξύτητα είναι αυξημένη περισσότερο από 2gr οξικού οξέος σε ένα λίτρο είναι μειωμένη οργανοληπτικά, σε αυτή την περίπτωση γίνεται η διαδικασία της απόσταξης που είναι μετατροπή σε ξύδι. Όμως δεν μπορεί να μετατραπεί σε ξύδι από την στιγμή που υπάρχει μεταμπισουλφίτ

Η δημιουργία των τοξικών βακτηρίων γίνεται και σε άλλες ζυμώσεις την γαλακτική και την μηλογαλακτική.

7.4 Τοξικά βακτήρια

Τα βακτήρια αυτά και είναι τοξικά και είναι και πάρα πολύ συχνά, για αυτό τον λόγο είναι σημαντικό να λαμβάνονται τα κατάλληλα μέτρα για την αποφυγή ανάπτυξης του. Αυτό το καταφέρει η αλκοολική ζύμωση λόγω των μη αερόβιων συνθηκών.

- Ο οίνος δεν πρέπει να έρχεται σε επαφή με το οξυγόνο.
- Σωστός καθαρισμός των βαρελιών εξοπλισμό και του χώρου.
- Άδειασμα των βαρελιών και των δεξαμενών αφού ολοκληρωθεί η ζύμωση.
- Κλείσιμο των βαρελιών και των δεξαμενών με αεροστεγές τρόπο.
- Ψεκαστήρες ώστε να υπάρχει θειώδες οξύ.
- Έλεγχος του pH καθώς είναι σημαντικό για τη δημιουργία αυτών των βακτηρίων, το ιδανικό pH ώστε να μην αναπτυχθούν αυτά είναι 3 ενώ αν το pH είναι 3,4 τοξικά βακτήρια θα αναπτυχθούν.
- Συνεχόμενη θερμοκρασία στους 20°C για να αποφευχθεί η ανάπτυξη τους.

Το κρασί το οποίο έχει μολυνθεί με αυτά τα βακτήρια πρέπει να απομακρύνεται από τους υπόλοιπους οίνους οι οποίοι είναι καθαροί. Δυστυχώς θεραπεία για τη μόλυνση με οξικά βακτήρια δεν έχει βρεθεί όμως μπορεί να σταματήσει η αναπαραγωγή αυτών των βακτηρίων με παστερίωση σε θερμοκρασία 60°C, ενώ το ξύδιασμα διακόπτεται με τρεις τρόπους τη διαύγαση, τη διήθηση και τη θείωση.

Σε αναερόβιες συνθήκες το κρασί δεν είναι ευάλωτο σε οξικά βακτήρια και αυτή η διαδικασία υπό βοήθατε από την παστερίωση και τη σωστή τοποθέτηση των κρασιών σε φιάλες. Δεν έχουν σπόρια και εξαιτίας του ότι τα θρεπτικά συστατικά είναι απαραίτητα για αυτά είναι και ο λόγος που εξοντώνονται γρήγορα και ο καθαρισμός των δεξαμενών που έχουν μολυνθεί είναι εύκολος. Ένας ακόμα τρόπος αποφυγής αυτών των βακτηρίων είναι τα βαρέλια και δεξαμενές να μην έχουν καθόλου νερό και καθόλου υγρασία για αρκετές μέρες ώστε να μην μπορούν να αναπτυχθούν.

Υπάρχουν ποικίλα γένη και είδη των οξικών βακτηρίων, μερικά από αυτά είναι το *Gluconobacter* το οποίο εντοπίζεται στα σταφύλια αλλά είναι πολύ εύθικτο στην αιθανόλη. Σπάνια εμφανίζεται στα σταφύλια ο *Acetobacter Aceti* το οποίο έχει μολυνθεί με τον *Botrytis Cinerea*. Ο *Acetobacter Aceti* όπως και ο *Acetobacter Pasteurianus* είναι τα δύο βασικά οξικά βακτήρια. Για να ανασταλεί η ανάπτυξη των βακτηρίων αυτών πρέπει να γίνει θείωση κατά τη διάρκεια της οινοποίησης και της μεταφοράς των κρασιών.

Λευκό κρασί σε ζύμωση	Κύτταρα οξοβακτηρίων κατά ml (x 1000)	Είδη οξοβακτηρίων	%
Γλεύκος	2000	G. oxydans	80%
		A. pasteurianus	20%
5 ημέρες	80	G. oxydans	70%
		A. pasteurianus	30%
12 ημέρες	100	A. pasteurianus	50%
		A. aceti	50%
20 ημέρες	0,6	A. pasteurianus	50%
		A. aceti	50%
Έγχομο γλεύκος (κρασί)	16	G. oxydans	100%
3ημέρες	3	G. oxydans	75%
		A. pasteurianus	25%
	0,1	G. oxydans	55%
7ημέρες		A. pasteurianus	45%
	0,02	G. oxydans	30%
10 ημέρες πριν την μετάγγιση		A. pasteurianus	70%
Μετά την μετάγγιση	30	A. pasteurianus	70%

Εικόνα 22. Κατάσταση οξικών βακτηρίων κατά την παραγωγή οίνου.

http://nestor.teipel.gr/xmlui/bitstream/handle/123456789/14355/STEG_TEGEP_00165_Medium.pdf?sequence=1

Στην αρχή της ζύμωσης το βασικό οξικό βακτήριο είναι το *Gluconobacter Oxydans* και έπειτα το *Acetobacter Aceti*.

Το pH θερμοκρασία και ο αλκοολικός βαθμός έχουν πολύ μεγάλο ρόλο στην πορεία των οξικών βακτηρίων άρα όσο λιγότερο ή περισσότερο αλκοόλη περιέχουν τόσο μικρότερη ή μεγαλύτερη η ευαισθησία που έχουν. Επιπλέον το pH μαζί με τον αλκοολικό βαθμό λειτουργούν ως παρεμποδιστικοί παράγοντες ενώ η θερμοκρασία των 5°C βοηθά στην ανάπτυξη των συγκεκριμένων βακτηρίων αλλά όταν είναι 10 °C εμποδίζει την οξική ζύμωση.

7.5 Φαινόμενο *Killer*

Υπάρχουν τέσσερις ομάδες *Killer*

1. *Killer K*, εκπέμπουν μοιραίες τοξίνες για τις υπόλοιπες ζύμες.
2. *Sensitive S*, δεν εκκρίνουν τοξίνες και δεν είναι ευπαθείς.
3. *Neutral N*, δεν εκκρίνουν τοξίνες και δεν είναι ευπαθείς.
4. *Killer K - Sensitive S*, εκκρίνουν τοξίνες και είναι ευπαθής σε τοξίνες από άλλες ζύμες που ανήκουν στα είδη *Killer*.

Τα ουδέτερα είδη Ν δεν εκκρίνουν τοξίνες και είναι αμετάβλητα.

Για να αποδειχθεί ότι ένα είδος *Killer* μπορεί να δράσει ενάντια σε ένα εύθικτο είδος το πείραμα πραγματοποιείται στο εργαστήριο με άγαρ με pH 4,2-4,7 στους 20°C. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται *Killer* και εφευρέθηκε σαν τον *S. Cerevisiae* αλλά υπάρχει και στον *Hansula*, *Kluyveromyces* και *Debaryomyces*.

Έχουν καταταχτεί σε 11 ομάδες με ονομασίες K1-K11 αναλόγως την ενέργεια τους στη φύση και στα είδη. Η K2 και η K3 είναι τοξικές. Ο συντελεστής είναι κύτταρο αποτελούμενο από τοξίνες πρωτεϊνών.

Η διαδικασία της ζύμωσης του οίνου και οι επιπτώσεις τους έχουν μελετηθεί και δημοσιευθεί σε άρθρα και περιοδικά. Μερικά από αυτά *Barre* και *Raddler*.

Ο *Killer* δρα όταν τα είδη απομονώνονται στα σταφύλια στις ρώγες και στο ζυμωμένο μούστο. Ο *Barre* το 78' εξήγαγε μελέτη η οποία αφορούσε 908 άγρια είδη, τα 504 ήταν καθαρά και δεν περιείχαν K2 *Killer*, τα 299 έδειξαν ευαισθησία και τα 95 ουδετερότητα. Στη Μεσόγειο αποδείχτηκε από τους *Gros* και *Cuinier* το 83' ότι υπάρχει σε υψηλή συχνότητα ο K2 σε 65-90%. Ο *Beaujolais* απέδειξε ότι υπάρχει ο K2 σε περιοχές με αμπέλια, όπως επίσης ερευνήθηκε και η περιοχή του *Bordeaux* και βρέθηκε σε μεγάλες ποσότητες ο K2.

Σε άλλη έρευνα που διεξήχθη το 89' και το 90' σχετική με την οικολογία, μελετήθηκαν είδη του *S. Cerevisiae* και αποδείχτηκε η ύπαρξη του K2 *Killer* σε πολλά είδη σε διάφορες χώρες όπως η Νότια Αφρική, η Βραζιλία αλλά και άλλα είδη στην Ιαπωνία τα οποία όμως αποδείχθηκαν ότι μοιάζουν με τον K1. Οι έρευνες *Killer* συνήθως αποτελούνται από τον *S Cerevisiae*.

Το 87' ο *Fleet* και ο *Heard* απέδειξαν ότι ο *Barre* ήταν σωστός αλλά και ότι ο *Killer* δεν επιδρά στις *Turolaspora*, *Hanseniaspora*, *Candida* και *Hensula*.

Ο *Zorg* etc al το 88' αναγνώρισε διάφορα είδη των *Hanseniaspora Uvarum* και *Pichia Kluyveri*.

Ο *Barre* το 92' ερεύνησε τα χαρακτηριστικά του K2 και τον τρόπο δράσης τους στο κρασί και εντόπισε ότι η τοξίνη δρα στα κύτταρα κατά την ενεργητική φάση ενώ στην σταθερή δεν αντιδρά. Η αιθανόλη ή ο SO₂ δεν επηρεάζουν την τοξίνη του *Killer*. Η καταστροφή τους γίνεται στους 32°C για διάρκεια 30 λεπτών. Οι αντιδράσεις αναστέλλονται με τις φαινολικές ενώσεις και απορροφάται από τον μπετονίτη. Ο *Barre* επίσης ανέφερε ότι τα κύτταρα *Killer* που είναι εμβολιασμένα 2% αντικαθιστούν τα

είδη που είναι πιο ευπαθή κατά την αλκοολική ζύμωση του μούστου, δηλαδή, επηρεάζουν την διαδικασία παραγωγής του κρασιού από 1/1.000 και 100/1 καθώς αυτή διαδικασία επηρεάζεται και από το πόσο γρήγορα ζυμώνονται τα είδη.

Υπάρχουν και άλλα φαινόμενα *Killer* εκ των οποίων το πιο σημαντικό είναι ότι το μικροβιακό στέλεχος *Killer* δρα από μόνο του σε γρήγορο χρονικό διάστημα ενώ το ευπαθές πιο αργά. Η τοξίνη βρίσκεται σε ένα περιβάλλον το οποίο δημιουργεί πίεση στον οίνο και αυτή η διαδικασία αναστέλλεται από σταθερές παραλλαγές. Διάφορες επιστήμες όπως η βιοτεχνολογία δίνουν πλέον την δυνατότητα να κατασκευαστούν τροποποιημένα οινολογικά είδη με χαρακτήρες ενός ή περισσότερων *Killer*. Η διαδικασία αυτή είναι δυνατόν να γίνει από απύρηντα κύτταρα καθώς υπάρχουν πολλές διαφορές στα μιτοχόνδρια και στα πλασμίδια. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε από τον *Seki* για να δημιουργήσει το είδος *K2 Killer* με την ονομασία 522 M.

Ένας ακόμη τρόπος δημιουργίας αυτής της ζύμης είναι η δημιουργία τοξικών γονιδίων στα χρωμοσώματα τους. Ένας από αυτούς που το κατάφεραν ήταν ο *Booue* δηλαδή την εισαγωγή του K1 και του K2.

Τα είδη τα οποία είναι ευπαθή εμφυτεύονται εύκολα. Τα νέα είδη *Killer* καθώς αναπαράγονται στη φύση είναι επικίνδυνα καθώς επιδρούν στην μορφολογία των άγριων ζυμών. Το ότι πλέον υπάρχουν τροποποιημένα είδη ζυμών δεν πρέπει να επηρεάζει την επιλογή χρήσης άγριων ζυμών.

7.6 Θειωμένα γλεύκη

Το κάθε γένος και το κάθε είδος έχει διαφορετική αντοχή στο θειώδη ανυδρίτη, φτάνει από 100 mg/l μέχρι 500 mg/l SO₂.

Την λιγότερη αντοχή στο SO₂ την έχει το γένος *Kloeckera*, ενώ την μεγαλύτερη το γένος *Saccharomyces*.

Εάν προστεθεί θειώδης ανυδρίτης σε υψηλές δόσεις δηλαδή άνω των 500 mg/l οι ζύμες είναι αμφίβολες. Για αυτόν τον λόγο δημιουργήθηκαν τα θειωμένα γλεύκη.

Η ελληνική οινική νομοθεσία (Νόμος 396/1976 άρθρο 1, παράγραφος 3 και άρθρο 7, παράγραφος 17) προβλέπει ότι η προσθήκη θειώδη ανυδρίτη πρέπει να είναι μέχρι 200 g/h. ώστε να αποφευχθεί η αλκοολική ζύμωση των γλεύκων για την παραγωγή των θειωμένων γλεύκων.

Όμως έχουν υπάρξει φορές που δεξαμενές με γλεύκος έχουν σπάσει εξαιτίας της ζύμωσης παρόλο που περιείχε 200 g/hl SO₂. Αυτό συμβαίνει γιατί τα κρασιά που είναι εμπλουτισμένα με ζάχαρα δεν έχουν ζυμωθεί. Το ότι δεν ολοκληρώθηκε η αλκοολική ζύμωση ευθύνεται στην αλκοόλη η οποία αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων και μειώνει την ζυμωτική δράση τους αλλά και την προσθήκη του SO₂.

Στις ζυμώσεις των θειωμένων γλεύκων έγινε η απομόνωση ζυμών που κατατάσσονται σε ένα είδος και γένος το *Schizosaccharomyces Pombe* το οποίο έχει πολύ μεγάλη ανθεκτικότητα στον θειώδη ανυδρίτη και πολλαπλασιάζεται με σχάση, δηλαδή κυτταρική διαίρεση. Το να αντιμετωπιστεί αυτή η δυσκολία είναι σχεδόν απίθανο προστίθεται μεγάλη ποσότητα SO₂ όμως αυτή η διαδικασία δεν συμφωνεί με την νομοθεσία των κρασιών καθώς προσδίδει μειωμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως και πλέον δεν είναι δυνατή και η επαναζύμωση. Αυτός είναι και ο βασικός λόγος που η συγκεκριμένη ζύμη κατατάσσεται ως ασθένεια και μπορεί να αποφευχθεί με την αποστείρωση συσκευών από τη δημιουργία του μέχρι και τη μεταφορά αυτού του γλεύκους.

7.7 Ζύμες γλεύκους

Schizosaccharomyces Pombe

Συναντάται σε ορισμένα γλεύκη όχι σε όλα, άλλα σε αυτά τα οποία έχουν θερμανθεί καθώς αυτή η ζύμη έχει μεγάλη ανθεκτικότητα στη θέρμανση. Έχει επίσης μεγάλη ανθεκτικότητα στο θειώδη ανυδρίτη καθώς ευθύνεται για την ζύμωση των θειωμένων γλεύκων. Τέλος, ζυμώνει το μηλικό οξύ σε αργούς ρυθμούς κατά την αλκοολική ζύμωση.

Saccharomyces Cerevisiae

Πολλαπλασιάζεται σε γρήγορους ρυθμούς και ζυμώνει από 12-14%vol. Είναι ευαίσθητη στην ακτιδιόνη καθώς και επικίνδυνη μόνο αν ο θειώδης ανυδρίτης μετατραπεί σε θειικά ιόντα. Δεν ζυμώνει τη λακτόζη και η πτητική οξύτητα αυξάνεται εξαιτίας της.

Saccharomyces Chevalieri

Δρα όπως ο *Cerevisiae* και επιπλέον δεν ζυμώνει την μαλτόζη.

Saccharomyces Bayamis (oviformis)

Βρίσκεται στο σταφύλι σε μικρό αριθμό και είναι μεταβλητή στο θειώδη ανυδρίτη. Ακολουθεί τον *Cerevisiae* στη ζύμωση και φτάνει ως 18%vol. Τέλος, είναι υπεύθυνη για τις μισές αναζυμώσεις.

Saccharomyces Baili

Δεν είναι τόσο συχνή στο σταφύλι, οι ειδικοί την συνιστούν για τα γλυκά κρασιά και εξαιτίας αυτής γίνονται οι αναζυμώσεις.

Pichia Etchellsii

Δεν είναι επιθυμητή ζύμη καθώς δημιουργεί τα ψευδομυκήλια και εμφανίζεται στην επιφάνεια του οίνου ως μένιο. Η ικανότητα της να ζυμώνει είναι μικρή όμως αυξάνει την πτητική οξύτητα όπως και τον οξικό αιθυλεστέρα.

Hansemula anomala

Δεν είναι επιθυμητή καθώς δημιουργεί αλυσίδες ενώνοντας τα κύτταρα και το μένιο στην επιφάνεια του οίνου. Αυτό που την ξεχωρίζει από την *Pichia* είναι ότι αυξάνεται με νιτρικά ιόντα. Αυξάνει την πτητική οξύτητα όπως και τον οξικό αιθυλεστέρα.

Debaryomyces Phaffii

Αναπτύσσεται με νιτρικά ιόντα και έχει χαμηλή ζυμωτική ικανότητα.

Hanseniaspora Uvarum και Kloeckera Apiculata

Είναι εξαιρετικά ανεπιθύμητη, συγκροτεί το 90% των ζυμών στο σταφύλι και έχει μειωμένη ικανότητα ζύμωσης 2-4% vol. Αυξάνει την πτητική οξύτητα και τον οξικό

αιθυλεστέρα. Η δράση της δεν είναι γρήγορη καθώς είναι εύθικτη στο θειώδη ανυδρίτη, συγκεκριμένα στα λευκά κρασιά.

Saccharomyces Ludwigii

Είναι εξαιρετικά ανεπιθύμητη καθώς μοιάζει με λεμόνι έχει δηλαδή μεγάλο μέγεθος και έχει ισχυρή αντίσταση στο θειώδη ανυδρίτη. Προκαλεί νιφάδες καθώς ζυμώνει μέχρι και 17% vol. αλλά δημιουργεί και αναζυμώσεις σε εμφιαλωμένα μπουκάλια.

Metschnikowia Pulcherrima

Εντοπίζεται πάνω στο σταφύλι αλλά καταστρέφεται κατά την αλκοολική ζύμωση.

Toryloopsis Stellata ή Bacillaris

Ζυμώνει την γλυκόζη αλλά περισσότερο την φρουκτόζη, φτάνει μέχρι και 12% vol. και σημειώνει ανθεκτικότητα στο θειώδη ανυδρίτη.

Brettanomyces

Δημιουργεί αλυσίδες και υμένιο. Σε ορισμένα κρασιά η αύξηση του είναι επιθυμητή. Συγκροτεί οξικό αιθυλεστέρα όπως και ακεταμίδιο.

Candida

Εντοπίζεται στο σταφύλι, δημιουργώντας υμένιο και άνθηση σε κρασιά τα οποία δεν έχουν συντηρηθεί σωστά. Κατά την διάρκεια ανάπτυξης του αξιοποιεί την αιθανόλη.

Rhodotorula

Εντοπίζεται στο σταφύλι όπου δημιουργεί ροζ αποικίες και δεν μπορεί να παράξει ούτε αιθανόλη ούτε να δημιουργήσει ψευδομυκήλιο.

Στους σακχαρομύκητες επικρατεί ο *Saccharomyces Cerevisiae* και ο *Saccharomyces Bayanus* που τελειοποιεί τη ζύμωση.

Στους ζυμομύκητες αρέσει το ψυχρό περιβάλλον και είναι μεσόφιλοι. Αναπαράγονται σε θερμοκρασίες μικρότερες των 20°C και σε θερμοκρασίες 20-45°C η οποία εξαρτάται από την κατηγορία που ανήκει. Στους 30-39°C η ζύμωση είναι άριστη καθώς αναπτύσσονται οι ζύμες γρηγορότερα επειδή η θερμοκρασία είναι θερμότερη. Άρα όσο πιο θερμό το περιβάλλον τόσο πιο περιορισμένη η ζύμωση που σημαίνει ότι τα ζάχαρα είναι πιο λίγα άρα και η αλκοόλη βρίσκεται σε χαμηλότερες ποσότητες.

Κατά τη διαδικασία διατήρησης των κρασιών με ζάχαρα τα οποία δεν έχουν ζυμωθεί, αυξάνονται οι ζύμες και έτσι το κρασί θολώνει, δημιουργείται διοξείδιο του άνθρακα και ίζημα και αυτό συνήθως μπορεί να εμφανιστεί σε βαρέλια, φιάλες και δεξαμενές.

7.8 Επαναζυμώσεις

Οι επαναζυμώσεις προκύπτουν εξαιτίας των πιο ανθεκτικών ειδών που επιβιώνουν. Αυτά τα είδη είναι

Saccharomyces Oviformis και *Saccharomyces Bayanus*

Σε τέτοιες φιάλες παρατηρούνται συχνότερα αυτοί οι δύο και είναι υπεύθυνοι για τις ζυμώσεις. Συνήθως βρίσκονται στην επιφάνεια του κρασιού και βοηθάνε στο να δημιουργηθεί μυκοδερμικό υμένιο στα κρασιά *Xeres* και *Jura*.

Saccharomyces Bailii

Είναι ο επόμενος πιο συχνός καθώς συμμετέχει κατά 26% στη διαδικασία και παρουσιάζει μεγάλη αντίσταση στο θειώδη ανυδρίτη.

Saccharomyces Ellipsoideus ή *Saccharomyces Cerevisiae*

Συναντάται σε τέτοιες περιπτώσεις με συχνότητα 15%.

Saccharomyces Ludwigii

Συναντάται σε τέτοιες περιπτώσεις με συχνότητα 15%, όμως ο συγκεκριμένος είναι ο δεύτερος πιο ανθεκτικός στο θειώδη ανυδρίτη, πρώτο είναι το *Schizosaccharomyces*.

S. Chevalieri, S. Uvarum, S. Heterogenicus, S. Intermedius.

Με ακόμα πιο μικρό ποσοστό παίρνουν μέρος αυτά τα είδη.

Συμπερασματικά οι ζυμώσεις μπορούν να υποβιβάσουν την ποιότητα του κρασιού όπως π.χ. στα γλυκά κρασιά αλλά και μερικά βακτήρια μπορούν να βοηθήσουν το κρασί όπως η μηλογαλακτική ζύμωση.

7.9 Επιμολυσματικές ζύμες

Είναι οι ζύμες που βρίσκονται στα οινοποιεία, στα μηχανήματα, στα βαρέλια και μπορούν να μολύνουν το κρασί το οποίο συναντούν. Τέτοιες ζύμες ονομάζονται μυκοδερμικές και ως αποτέλεσμα τους έχουν την άνθηση των κρασιών, δημιουργούνται σε βαρέλια και σε σωλίνες

Αυτές οι ζύμες αλλοιώνουν το κρασί καθώς δημιουργούν μυκήλιο δηλαδή μία στρώση η οποία ξεκινά από πιο λεπτή σε πιο παχιά, έχει χρώμα λευκό ή μπεζ και μετά από ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα η στρώση αυτή γίνεται ένα χοντρό στρώμα η λεγόμενη άνθηση.

Άνθηση

Η ζύμες ταξινομούνται σε είδη που αναπαράγονται με την εκβλάστιση όπως είναι το *Candida Mycoderma*. Το είδος αυτό έχει κύτταρα τα οποία σχηματικά είναι μακρουλά και αυτό που τα ξεχωρίζει είναι πρώτον, το ψευδομυκήλιο και δεύτερον οι σταγόνες που έχει στις δύο κορυφές του οι οποίες βοηθάνε στο να εντοπιστούν με μικροσκόπιο. Για να πολλαπλασιαστεί δεσμεύει την αλκοόλη και τα οξέα.

Εξαιτίας του είδους αυτού μειώνονται τρία βασικά χαρακτηριστικά, η αλκοόλη, η ολική οξύτητα και η πτητική οξύτητα. Εξαιτίας αυτής της μείωσης δημιουργείται ένα στρώμα το οποίο βρίσκεται στο βυθό του κρασιού με αποτέλεσμα να το κάνει θαμπό.

Το είδος αυτό τις περισσότερες φορές προσβάλλει καινούργια κρασιά ενώ ελάχιστες είναι οι φορές που προσβάλλει πιο παλιά κρασιά. Άρα αυτό δείχνει ότι αυτό το είδος προσβάλλει οίνους οι οποίοι δεν έχουν δεχτεί σωστή φροντίδα και είναι τοποθετημένοι σε βαρέλια τα οποία δεν είναι γεμάτα όσο πρέπει. Συνήθως προσβάλλει τα κρασιά τα οποία έχουν έρθει σε επαφή με το οξυγόνο και η αλκοόλη τους είναι σε ποσοστά 9-10% vol. Ωστε να μη συμβεί αυτή η ασθένεια χρησιμοποιούνται 30mg/l διοξειδίου του θείου και άλλες ενέργειες όπως παστερίωση στους 65°C.

Συμπερασματικά όσες από τις ζύμες υπάρχουν στα μηχανήματα είναι επικίνδυνες και υπερβολικά μολυσματικές.

7.10 Υγρή και ξηρή καλλιέργεια

Υπάρχουν δύο καλλιέργειες οι οποίες μπορούν να επιλεγθούν, η υγρή και η ξηρή. Στην πρώτη οι αποικίες έχουν αξιολογηθεί και πρέπει να έχουν τα εξής χαρακτηριστικά.

- Στέρεο υπόστρωμα
- Θερμοκρασία πολύ χαμηλή ξεκινώντας από 0C μέχρι και -180C

Ενώ η δεύτερη έχει στάδια στα οποία γίνεται

- Πολλαπλασιασμός ο οποίος γίνεται σε στρώματα με ζάχαρη, ανόργανα άλατα και άλλα ώστε να δημιουργηθούν πολλά κύτταρα.
- Φυγοκέντρηση καθώς βοηθά ώστε η υγρασία να φτάσει το 70%.
- Διήθηση καθώς βοηθά ώστε η υγρασία να φτάσει το 70%.
- Μορφοποίηση καθώς οι μικροοργανισμοί πρέπει να έχουν πάχος μόνο 2-4 mm.
- Αποξήρανση η οποία προβλέπει η θερμοκρασία να είναι μέχρι 40°C, σε χρονικό περιθώριο τρεις με πέντε ώρες ώστε η ποσότητα του νερού που περισσέψει να είναι 4-8%,
- Αποθήκευση η οποία πρέπει να γίνεται σε μειωμένες θερμοκρασίες, σε μη αερόβιο περιβάλλον και σε συσκευασίες που δεν μένει μέσα αέρας.

7.11 Επιλεγμένες καλλιέργειες

Οι επιλεγμένες καλλιέργειες τοποθετούνται στο γλεύκος, έτσι ξεκινά η διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης χωρίς μεγάλη αύξηση της θερμοκρασίας και το κρασί δεν παρουσιάζει άφρισμα. Η αναλογία είναι 10gr ξηρής καλλιέργειας ή 50gr. Για να ξεκινήσει η διαδικασία χρησιμοποιούνται 25 με 50gr, ξηρής καλλιέργειας τα οποία αναμιγνύονται σε 100 λίτρα γλεύκους,

Επειδή είναι πολύ πιθανόν να γίνουν εκ νέου μολύνσεις η διαδικασία αυτή γίνεται ξανά από την αρχή κάθε εβδομάδα με σωστή αποστείρωση και καθαριότητα των σκευών και των μηχανημάτων.

Ο εμβολιασμός στα γλεύκη με αυτές τις καλλιέργειες μπορεί να γίνει αφού πρώτα καταστραφεί ο ήδη υπάρχων πληθυσμός με τους εξής τρόπους.

- Παστερίωση
- Μετάγγιση
- Διήθηση
- Προσθήκη διοξειδίου του θείου

Οι συγκεκριμένες καλλιέργειες είναι σημαντικές καθώς μπορούν να

- Επαναφέρουν τις ζύμες οι οποίες έχουν σταματήσει να αναπαράγονται,
- Μετατρέπουν το μηλικό οξύ σε αλκοόλη.
- Δημιουργούν άφρισμα και ίζημα τα οποία χρησιμεύουν στις σαμπάνιες και στα αφρώδη παρασκευάσματα που δημιουργούνται σύμφωνα με το σύστημα της Καμπανίας.
- Επιτρέπει στις ζύμες να κάνουν δεύτερη αλκοολική ζύμωση με ποσοστό 11-11,5% vol.
- Δημιουργεί σχετικά αφρώδης κρασιά.
- Δημιουργεί παράγωγα κρασιού.

7.12 Οι ασθένειες της αμπέλου αναφορικά

- Περονόσπορος: Προσβάλλει τα φύλλα της ταξιανθίες, τους Βότρυες και τους βλαστούς.
- Ωίδιο: Προσβάλλει τα φύλλα τους βλαστούς και τα σταφύλια.

- Φόμοψη: Προσβάλλει τους βλαστούς, τις κληματίδες και τα φύλλα.
- Ίσκα : Προσβάλλει τα πρεμνά.
- Τέφρα ή σήψη: Προσβάλλει τους βλαστούς τα φύλλα.
- Ευτυπίωση: Η νέκρωση βραχιόνων προσβάλλει τους βραχίονες.
- Σηψιρριζίες: Προσβάλλει τα φύλλα και τους βραχίονες.
- Βερτισιλλίωση: Προσβάλλει τα θηλώματα και τον κορμό.
- Καρκίνος: Προσβάλλει τον κορμό, τους βραχίονες, τις κεφαλές και τις κληματίδες.
- Μολυσματικός εκφυλισμός: Προσβάλλει τα πρεμνά και τις ρίζες.
- Βοθροίωση: Προσβάλλει τον κορμό.

Συμπεράσματα

Οι επιστήμες μικροβιολογία, οινολογία και βιολογία είναι πολύ σημαντικές. Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι,

1. Τα βακτήρια έχουν και θετικά και αρνητικά αποτελέσματα.
2. Οι ζύμες βρίσκονται παντού.
3. Η οινοποίηση πρέπει να γίνεται με εξαιρετική σχολαστικότητα.
4. Τα μηχανήματα και τα σκεύη οινοποίησης πρέπει να ελέγχονται συνεχώς για τυχόν μολύνσεις.
5. Τα σκεύη και τα μηχανήματα όταν εντοπιστεί μόλυνση πρέπει να καθαριστούν σχολαστικά.
6. Οι ζύμες επηρεάζουν το χρώμα, την γεύση και την υφή του κρασιού.
7. Μερικά βακτήρια βοηθούν στη συντήρηση του κρασιού άρα υπάρχουν και ακίνδυνα για τον άνθρωπο βακτήρια.
8. Η ταξινόμηση των ειδών είναι σημαντική και για τον καταναλωτή καθώς τον βοηθά να επιλέξει κρασιά της προτίμησής του.

Βιβλιογραφία

- 1) Σουφλερός, Ηρ., Ευάγγελος, 2015, Οινολογία Επιστήμη και Τεχνογνωσία, ΣΟΥΦΛΕΡΟΣ ΗΡ.
- 2) Τσακίρης, Αργύρης Ν., Δεκέμβριος 2017, Ψύχαλου Μαριάννα, Οινολογία από το Σταφύλι στο Κρασί, ΨΥΧΑΛΟΣ.
- 3) Μπαλατσούρας, Δ. Γεώργιος, 2006 Βασιλειάδης Στυλιανός, Μικροβιολογία Τροφίμων, ΕΜΒΡΥΟ.
- 4) Pascal Ribèreau-Gayon, Denis Dubourdieu, Bernard Donèche, Aline Lonvaud, 2006, Handbook of Enology Volume 1 The Microbiology of Wine and Vinifications 2nd Edition, John Wiley & Sons, Ltd.
- 5) Pascal Ribèreau-Gayon, 1993, Sciences et techniques du vin Tome 4: Clarification et Stabilisation, Matériels et Installations, Bordas Editions, Paris.
- 6) James A. Barnett, Margaret A. Delaney, Eryl Jones, Anne B. Magson & Brenda Winch, 1972, The numbers of yeasts associated with wine grapes of Bordeaux. Archiv. Microbiol. 83, 52-55.
- 7) Barnett, J.A, Paine, R.W and Warrow, D, Characteristics and Identification, University press, Cambridge 89-91, 1990.
- 8) P. Barre, February 1978, Identification of Thermobacteria and Homofermentative, Thermopolis, Pentose-utilizing Lactobaccilli from High Temperature Fermenting Grape Musts, 125-129.
- 9) O. Bendova, V. Richter, B. Janderová & J. Häusler, 1991, Identification of industrial yeast strains of Saccharomyces Cerevisiae by fatty acid profiles, Applied Microbiology and Biotechnology, 35, 810-812.
- 10) W. Olive, J. Kok, June 1979, Analysis of growth of Gluconobacter oxydans in glucose containing media, Archives of Microbiology, 121, 283-290.
- 11) Καραγκούνη- Κύρτσου, Αμαλία, 1999 Μικροβιολογία, Σταμούλη.
- 12) Soufleros E., 1978. Les levures de la région viticole de Naoussa (Grèce). Identification et classification, étude des produits volatils formés au cours de la fermentation (Thèse de Docteur-ingénieur Oenologie, Université de Bordeaux II)
- 13) Ribereau- Gayon J., Peynaud E., Ribereau- Gayonp et Sudraud P., 1975. Sciences et Technics du Vin, Dunod ed, Paris tome IV.

- 14) Ribereau-Gayon J., Peynaud E., Ribereau- Gayo., Susraud P, 1975, Traits d' Enologie, Sciences et techniques du Vin, Vol2, Dunod Paris.
- 15) Barre P., 1992, Le facteur Killer, In Les acquisitions recentes de la Microbiologie du Vin, 63-69, Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Ιστοσελίδες

- <https://el.wikipedia.org/wiki/Μικροοργανισμός>
- https://www.enologylab.gr/2012/01/blog-post_4039.html
- <https://www.alphaprolipsis.gr/en/node/5614>
- <https://el.wikipedia.org/wiki/Ζύμωση>
- <https://slideplayer.gr/slide/12323612/>
- http://nestor.teipel.gr/xmlui/bitstream/handle/123456789/14252/STEG_TEGEP_0006_1_Medium.pdf?sequence=1
- https://books.google.gr/books?hl=el&lr=&id=vd_0mtnc10QC&oi=fnd&pg=PR7&dq=wines+microbiology&ots=IJncyGxCrY&sig=zrYCPsDplB1KZ9efCBq1Ehni-aA&redir_esc=y#v=onepage&q=wines%20microbiology&f=false
- http://nestor.teipel.gr/xmlui/bitstream/handle/123456789/14252/STEG_TEGEP_0006_1_Medium.pdf?sequence=1
- <https://el.wikipedia.org/wiki/Κρασί>
- https://el.wikipedia.org/wiki/Μηλικό_οξύ
- https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ
- https://el.wikipedia.org/wiki/Πυροσταφυλικό_οξύ
- <https://el.strephonsays.com/pyruvate-and-vs-pyruvic-acid-593>
- https://el.wikipedia.org/wiki/Τρυγικό_οξύ

Εικόνες

- Εικόνα 1 <https://www.dailythess.gr/o-simantikos-rolos-ton-mikrovion-ke-ton-mikroorganismon-stin-ygia-ke-sto-perivallon/>
- Εικόνα 2 http://nestor.teipel.gr/xmlui/bitstream/handle/123456789/14355/STEG_TEGEP_0016_5_Medium.pdf?sequence=1
- Εικόνα 3 <https://www.krasiagr.com/pws-oi-zymes-epirezoun-to-krasi/>
- Εικόνα 4 <https://el.wikipedia.org/wiki/Βακτήριο>
- Εικόνα 5 <https://www.healthyliving.gr/2015/11/08/vakthria-5/>
- Εικόνα 6 <https://scienceshop.gr/product.php?id=5036>

- Εικόνα 7 https://el.wikipedia.org/wiki/Μηλικό_οξύ
- Εικόνα 8 https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ
- Εικόνα 9 <https://newlife.com.cy/ti-prepei-na-kserete-gia-to-galaktiko-oksy/>
- Εικόνα 10 https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ
- Εικόνα 11 https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ
- Εικόνα 12 https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ
- Εικόνα 13 https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ
- Εικόνα 14 https://el.wikipedia.org/wiki/Γαλακτικό_οξύ
- Εικόνα 15 https://el.wikipedia.org/wiki/Πυροσταφυλικό_οξύ
- Εικόνα 16 <https://www.scienceshop.gr/product.php?id=2112>
- Εικόνα 17 http://195.134.76.37/chemicals/chem_tartaricacid.htm
- Εικόνα 18 <https://www.krasiagr.com/prepei-na-anisixoume-gia-ta-baktiria-sto-krasi/>
- Εικόνα 19 <https://www.chungvisinh.com/leuconostoc-oeni-nbrc-100497.html/>
- Εικόνα 20 <https://www.sanzymebiologics.com/food-supplement/lactobacillus-sporogenes/>
- Εικόνα 21 <https://www.brewersjournal.info/pediococcus-friend-and-foe/>
- Εικόνα 22 http://nestor.teipel.gr/xmlui/bitstream/handle/123456789/14355/STEG_TEGEP_00165_Medium.pdf?sequence=1