



4.1. Εισαγωγή

Οι αμίνες χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός ατόμου αζώτου με ένα μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων. Είναι ενώσεις που προέρχονται από την αμμωνία (NH_3) με αντικατάσταση ενός, δύο ή τριών υδρογόνων και τον σχηματισμό αντίστοιχα πρωτοταγών, δευτεροταγών και τριτοταγών αμινών. Επιπρόσθετη υποκατάσταση του αμινο-αζώτου με μια υδροκαρβυλική ομάδα¹ αποδίδει ένα τεταρτοταγές κατιόν αμμωνίου, ενώ η πρωτονίωση του αμινο-αζώτου δίνει κατιόν αμινίου. Οι αμίνες μπορούν επίσης να συνυπάρχουν σε μόρια με επιπρόσθετες λειτουργικές ομάδες (π.χ. καρβοξύλιο, καρβονύλιο, θειόλη, κ.λπ.). Στη σταφυλή, τα κυριότερα μόρια που περιέχουν την αμινομάδα είναι τα αμινοξέα και τα πολυμερή τους (π.χ. πρωτεΐνες).

4.2 Χημεία των αμινών

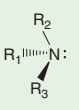
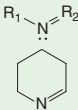
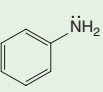
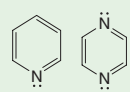
Η παρουσία μονήρους ζεύγους ηλεκτρονίων έχει ως αποτέλεσμα οι αμίνες και άλλες ενώσεις που περιέχουν αμίνη να συμπεριφέρονται ως ασθενείς βάσεις. Σε αναλογία με τα οξέα (Κεφάλαιο 3), η προτίμηση των βάσεων προς πρωτονίωση μπορεί να περιγραφεί από μια σταθερά ισορροπίας. Είθισται να αναφέρονται οι τιμές της $\text{p}K_a$ του συζευγμένου οξέος, όπου υψηλή τιμή $\text{p}K_a$ υποδεικνύει ασθενές συζυγές οξύ και ισχυρή βάση αμίνης. Οι τιμές της $\text{p}K_a$ για τις διάφορες κατηγορίες αμινών συνοψίζονται στον Πίνακα 5.1.

Το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου των αμινοξέων, όπως και πολλών άλλων αμινών, είναι πρωτονιομένο στο pH του οίνου. Γι' αυτόν τον λόγο, πολλές γνωστές αντιδράσεις της χημείας τροφίμων που περιλαμβάνουν ομάδες αμινών, και δρουν ως πυρηνόφιλα, αναμένεται να λάβουν χώρα σε πολύ αργό ρυθμό. Για παράδειγμα, η αντίδραση των αμινοξέων με τα σάκχαρα όπως συμβαίνει στις αντιδράσεις Maillard. Επίσης, αμίνες με χαμηλές τιμές $\text{p}K_a$ έχουν χαμηλή πτητικότητα και επομένως δεν έχουν οσμή στον οίνο.

¹ Μετάφρ. hydrocarbonyl group, μονοσθενείς ομάδες που σχηματίζονται με απομάκρυνση ενός ατόμου υδρογόνου από έναν υδρογονάνθρακα, π.χ. αιθύλιο, φαινύλιο.

Τα αμινοξέα και τα πολυπεπτίδια έχουν πολλαπλές ιονιζόμενες ομάδες στο pH του γλεύκους και του οίνου. Για παράδειγμα, απλά αμινοξέα με πλευρικές αλυσίδες ουδέτερου υδρογονάνθρακα (π.χ. λευκίνη, γλυκίνη) έχουν δύο ιονίζουσες ομάδες: την καρβοξυλική ($pK_{a1} \sim 2$) και την αμίνη ($pK_{a2} = 9-10$ για το συζευγμένο οξύ $-NH_3^+$). Εφαρμογή της εξίσωσης Henderson-Hasselbalch (Κεφάλαιο 3) αποκαλύπτει ότι η πλειονότητα των αμινοξέων και πρωτεϊνών, σε γλεύκος και οίνο, εμφανίζονται ως αμφιτεριόν (μόριο με θετικό και αρνητικό ηλεκτρικό φορτίο).

Πίνακας 4.1. Αντιπροσωπευτικές δομές και σταθερές οξύτητας για ασθενείς βασικές αζωτούχες ενώσεις.

Ομάδα ενώσεων				
	Αμίνη	Ιμίνη	Αρυλαμίνη	Ετεροαρωματική αμίνη
Τυπικό pK_a του αντίστοιχου ασθενούς οξέος	9–11	5–7	2–6	Πυριδίνη (αριστερά): 5 Πυραζίνη (δεξιά): 0,6
Παραδείγματα σε οίνο	Αμινική ομάδα α-αμινοξέων	2-Ακετυλο-3,4,5,6-τετραϋδροπυριδίνη	Ανθρανιλικό μεθύλιο	3-Ισοβουτυλο-2-μεθοξυ-πυραζίνη

Το φορτίο ενός αμφιτεριόν σε δεδομένο pH μπορεί να προσδιοριστεί από το ισοηλεκτρικό σημείο του (pI). Αν το:

- $pH < pI$ - η πρωτεΐνη (ή το αμινοξύ) έχει θετικό φορτίο.
- $pH = pI$ - η πρωτεΐνη δεν έχει φορτίο.
- $pH > pI$ - η πρωτεΐνη έχει αρνητικό φορτίο.

Η σημασία του pI στον οίνο, όπως και σε άλλα τρόφιμα, είναι ότι ορίζει το pH στο οποίο μια πρωτεΐνη έχει την ελάχιστη διαλυτότητα². Οι περισσότερες πρωτεΐνες του οίνου έχουν τιμές pI ελάχιστα πάνω από το pH του οίνου, μεταξύ 4-6 [1], και συνεπώς θετικό φορτίο. Ως αποτέλεσμα, οι πρωτεΐνες μπορούν να δεσμευτούν από μη ομοιοπολικές ενώσεις που έχουν αρνητικό φορτίο ή είναι δέκτες δεσμού-Η, όπως μπεντονίτης και πολυφαινόλες. Οι παραπάνω ιδιότητες θα συζητηθούν περαιτέρω στο Κεφάλαιο 9.2.

² Το πρώτο βήμα των περισσότερων διαδικασιών παρασκευής τυριού είναι ο σχηματισμός πρωτεϊνικού ιζήματος καζεΐνης («τυρόπηγμα») στο γάλα, είτε με μείωση του pH του γάλακτος μέσω οξίνισης, είτε με αύξηση του pI της καζεΐνης με τη δράση μιας πρωτεάσης. Και οι δύο προσεγγίσεις φέρνουν το pI της καζεΐνης πιο κοντά στο pH του γάλακτος.

4.3. Αμινοξέα και συναφείς κύριες αζωτούχες ενώσεις στον οίνο

Τα κύρια αζωτούχα συστατικά της σταφυλής και του οίνου συνοψίζονται στον Πίνακα 5.2 και περιλαμβάνουν [2]:

- Αμμώνιο (NH_4^+), μια σημαντική πηγή αζώτου κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.
- Αμινοξέα, που χαρακτηρίζονται από την παρουσία ομάδας καρβοξυλικού οξέος (R-COOH) και αμίνης (R-NH_2 ή R-NH-R').
- Πρωτεΐνες, οι οποίες είναι πολυμερή αμινοξέων (δηλαδή, μεγάλα πολυπεπτίδια) συνδεδεμένα με αμιδικές ομάδες (R-CONH-R') που συνήθως περιέχουν >100 μονομερή αμινοξέα.
- Ολιγοπεπτίδια, πολυμερή που περιέχουν 2 έως 20 μονομερή αμινοξέων, συνδεδεμένα με αμιδικούς δεσμούς.

4.3.1. Αμινοξέα και αμμωνία

Στο γλεύκος, οι κύριες διαλυτές μορφές αζώτου υπάρχουν ως αμμώνιο και ελεύθερα αμινοξέα. Οι ζυμομύκητες απαιτούν άζωτο για αρκετές διεργασίες, πρωτίστως ως συστατικό πρωτεϊνών, κυτταρικών τοιχωμάτων και νουκλεϊνικών οξέων³. Το αμμώνιο και τα ελεύθερα αμινοξέα χρησιμεύουν ως κύρια πηγή αζώτου κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Οι δομές κάποιων αντιπροσωπευτικών αμινοξέων της σταφυλής παρουσιάζονται στο Σχήμα 5.1.

Η πλειοψηφία των αμινοξέων της σταφυλής και του οίνου είναι πρωτοταγή α-αμινοξέα, δηλαδή η ομάδα αμίνης συνδέεται μόνο με έναν άνθρακα (R-NH_2), και οι ομάδες οξέος και αμίνης σχηματίζουν δεσμούς στον ίδιο άνθρακα. Επίσης, τα περισσότερα αμινοξέα της σταφυλής και του οίνου είναι πρωτεϊνογενετικά, δηλαδή έχουν ένα συνδεδεμένο κωδικόνιο που τα χρησιμοποιεί στη σύνθεση πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της μεταγραφής. Κάποια μη πρωτεϊνογενετικά αμινοξέα μπορούν επίσης να βρεθούν σε γλεύκη, ειδικά το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), που μπορεί να ανιχνευθεί σε συγκεντρώσεις μέχρι και 580 mg/L [7]⁴.

→

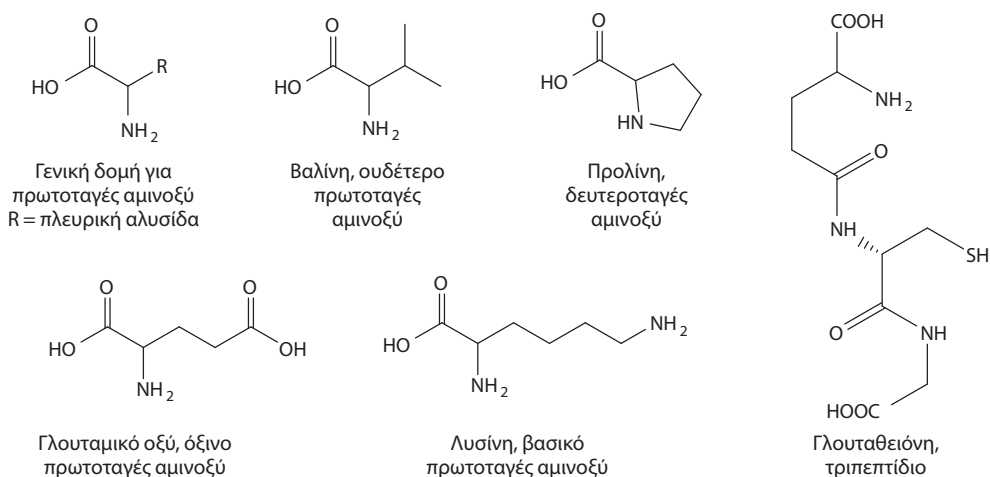
³ Από τα δεδομένα των θρεπτικών στοιχείων σε πακέτο ζύμης ψωμιού αποκαλύπτεται ότι οι ζυμομύκητες αποτελούνται περίπου από 50% πρωτεΐνη κατά ξηρό βάρος. Περίπου το ένα έκτο του βάρους της πρωτεΐνης οφείλεται στο άζωτο.

⁴ Το GABA μπορεί να μεταβολιστεί σε γ-βουτυρολακτόνη (GBL), που αναφέρεται ως φάρμακο «date-rape». Οι συγκεντρώσεις του GABA που απαντώνται φυσικά στον οίνο είναι συνήθως πολύ μικρότερες από τις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιούνται για τη νόθευση των ποτών (2000 mg/L ή περισσότερο).

Πίνακας 4.2. Συγκεντρώσεις κύριων αζωτούχων ειδών σε γλεύκος και οίνο.

Αζωτούχες ενώσεις	Συγκέντρωση σε γλεύκος [3-5]			Συγκέντρωση σε οίνο (mg/L)
	mg/L	mg/L ως N	Συμβάλλει στο αφομοιώσιμο από τις ζύμες άζωτο (YAN);	
Αμμώνιο	100±45	79±35	Ναι	Χαμηλότερη απ' ό,τι σε γλεύκος
α-Αμινοξέα (εκτός προλίνης)	843±51	135±51	Ναι	Δ.Α. – 27 [5]
Προλίνη	Μέχρι 4000	Μέχρι 500	Όχι	Παρόμοιες με γλεύκος
Γλουταθειόνη (κύριο ολιγοπεπτίδιο)	15–100	3–15	Ναι	Δ.Α. ^α -27 [5]
Πρωτεΐνες	20–250	3–15	Όχι	30-275 [4,6]

^α Δ.Α., δεν ανιχνεύθηκε.



Σχήμα 4.1. Δομές κύριων αζωτούχων ειδών σε γλεύκος: προλίνη, πρωτοταγή α-αμινοξέα και γλουταθειόνη (τριπεπτίδιο).

Το κυρίαρχο αμινοξύ στο γλεύκος είναι η προλίνη, η οποία μπορεί να βρεθεί σε συγκεντρώσεις μέχρι 4000 mg/L, και ακολουθεί η αργινίνη, η βαλίνη και η αλανίνη [2, 8]. Δεν είναι όλες οι μορφές αμινοξέων εξίσου χρήσιμες για τους ζυμομύκητες ως πηγή αζώτου, και ιδιαίτερα τα δευτεροταγή αμινοξέα (προλίνη και υδροξυπρολίνη) δεν χρησιμοποιούνται εύκολα από τους ζυμομύκητες υπό αναερόβιες συνθήκες. Το κλάσμα «αφομοιώσιμο από τις ζύμες άζωτο» (YAN) ορίζεται ως [3]:

$$\text{YAN (mg/L ως N)} = \text{Αμμωνία (mg/L ως N)} + \text{Πρωτογενή αμινοξέα (mg/L ως N)} \quad (5.1)$$

Η σημασία του YAN για τον μεταβολισμό του αζώτου περιγράφεται λεπτομερέστερα παρακάτω. Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις αμμωνίου, αμινοξέος και YAN στο γλεύκος και περιλαμβάνουν καλλιεργητικές φροντίδες, όπως εφαρμογή αζώτου στον αμπελώνα [2], καθώς και προ-ζυμωτικές προσθήκες όξινου φωσφορικού διαμμωνίου (DAP) ή άλλων συμπληρωμάτων.

Οι συγκεντρώσεις αμμωνίου και α-αμινοξέων στους οίνους είναι συνήθως χαμηλότερες απ' ό,τι στο γλεύκος λόγω κατανάλωσής τους από τους ζυμομύκητες [9]. Έρευνα σε 128 εμπορικούς οίνους έδειξε ότι οι συγκεντρώσεις του YAN κυμαίνονται από 11 έως 586 mg/L ως N. Υψηλότερες συγκεντρώσεις YAN μπορούν να προκύψουν από την υπερβολικά υψηλή προσθήκη αζώτου στο γλεύκος [10], πρακτική που δεν συνιστάται δεδομένου ότι μπορεί να προκαλέσει μικροβιακή αστάθεια [11]. Στον οίνο, τα περισσότερα αμινοξέα υπάρχουν σε συγκεντρώσεις 1-2 τάξεων μεγέθους κάτω από τα όρια ανίχνευσης της γεύσης τους [12]. Τα μόνα αμινοξέα που προσεγγίζουν τα κατώτερα γευστικά όρια ανίχνευσής τους είναι η προλίνη (γλυκό) και το γλουταμικό οξύ (ουμάμι) σε μοντέλο οίνου. Όμως, μελέτες ανασύστασης οίνου, με χρήση μοντέλων οίνων, έδειξαν ότι η παράλειψη όλων των αμινοξέων δεν είχε καμία επίδραση στη γεύση, σε σύγκριση με μοντέλα οίνου που περιέχουν αμινοξέα στις συνήθεις συγκεντρώσεις που εντοπίζονται στους οίνους [12]. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι η προλίνη συσχετίζεται με την αντίληψη του «σώματος» στους ξηρούς λευκούς οίνους [13], αν και αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι χρησιμεύει ως δείκτης ωρίμανσης.

4.3.2. Ολιγοπεπτίδια

Το καλύτερα μελετημένο ολιγοπεπτίδιο σε σταφυλές και οίνους είναι η γλουταθειόνη (GSH, Σχήμα 5.1). Η GSH είναι ένα τριπεπτίδιο που σχηματίζεται από γλυκίνη, κυστεΐνη και γλουταμίνη. Η GSH παράγεται από ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών, φυτών και ζώων, με σημαντικό ρόλο στην πρόληψη οξειδωτικών βλαβών και στον μεταβολισμό τοξικών ενώσεων.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη GSH σε σταφυλές και σε οίνους έχουν μελετηθεί διεξοδικά [14]. Η GSH που υπάρχει στις σταφυλές (Πίνακας 5.2) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηγή αζώτου από τους ζυμομύκητες κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Επίσης, οι ζυμομύκητες μπορούν να συνθέσουν σημαντικές ποσότητες GSH κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, με κάποια από την παραγόμενη ποσότητα να εκκρίνεται. Η ενδοκυτταρική περιεκτικότητα GSH του *S. cerevisiae* μπορεί να είναι μέχρι και 1% του ξηρού βάρους [15]. Αν και ως πηγή αζώτου η GSH είναι ασήμαντη, ως νουκλεόφιλο που αντιδρά με ο-κινόνες διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για την αναστολή της αμαύρωσης όπως και άλλων οξειδωτικών αντιδράσεων. Επίσης, με (E)-2-εξενάλη ή άλλες ακόρεστες αλδεύδες σχηματίζουν συζυγή S-γλουταθειόνη.

Η αυτολύση των ζυμομυκήτων είναι γνωστό ότι απελευθερώνει και άλλα ολιγο-

πεπτίδια στον οίνο, αλλά η συμβολή τους δεν έχει μελετηθεί σε βάθος. Πρόσφατα, ένα ολιγοπεπτίδιο (MW <3kDa) που σχηματίστηκε από την αποικοδόμηση πρωτεΐνης μέσω θερμικού σοκ κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης αποδείχθηκε ότι έχει γλυκιά γεύση [16]. Η παρουσία των παραπάνω ολιγοπεπτιδίων ίσως να εξηγεί γιατί οι οίνοι που είναι παλαιωμένοι με τις οινολάσπες έχουν χαμηλότερη στυπτικότητα ή οξύτητα («μαλακότεροι οίνοι») παρόλο που έχουν συγκεντρώσεις σακχάρων κάτω από το όριο ανίχνευσής τους.

4.3.3. Πρωτεΐνες

Η συγκέντρωση πρωτεϊνών σε γλεύκη και οίνους λευκών ποικιλιών κυμαίνεται αντίστοιχα μεταξύ 20-250 mg/L [4] και 30-275 mg/L [4, 6]. Οι προαναφερθείσες τιμές παρουσιάζονται με προσοχή επειδή οι συνήθεις μέθοδοι ανάλυσης πρωτεϊνών στον οίνο μπορεί να επηρεαστούν από παρεμβολές [1]. Τα πεπτίδια του οίνου με MW > 3 kDa, όπου ανήκουν όλες οι πρωτεΐνες, δεν έχουν γεύση στις συγκεντρώσεις που βρίσκονται στον οίνο [16]. Ωστόσο, οι κύριες διαλυτές πρωτεΐνες είναι ασταθείς στη θερμότητα και μπορούν να μετουσιωθούν και να προκαλέσουν θόλωμα. Οι δύο κύριες κατηγορίες πρωτεϊνών των σταφυλών με μοριακά βάρη μεταξύ 21-32 kDa εμπλέκονται στη δημιουργία θολώματος σε λευκούς οίνους [17].

- Χιτινάσες, γλυκανάσες και άλλες πρωτεΐνες που σχετίζονται με παθογένεση στις σταφυλές (PR proteins, pathogenesis related proteins), οι οποίες αυξάνονται σε απόκριση σε προσβολές από παθογόνα.
- Οι πρωτεΐνες που ομοιάζουν με τη θαυματίνη (thaumatin like proteins), οι οποίες σχετίζονται με την ωρίμανση των σταφυλών και το μαλάκωμα των ραγών.

Ο *S. cerevisiae* στερείται ισχυρής πρωτεολυτικής δραστηριότητας και έτσι οι πρωτεΐνες των σταφυλών δεν χρησιμοποιούνται ως πηγή αζώτου. Επίσης, οι περισσότερες πρωτεΐνες εκχυλίζονται ελάχιστα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και δεσμεύονται από τα στέμφυλα ή τις οινολάσπες. Οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών σε λευκούς οίνους μειώνονται περαιτέρω με τη χρήση προϊόντων διαύγασης, με κυριότερο τον μπεντονίτη. Οι προερχόμενες από ζυμομύκητες πρωτεΐνες δεν συνεισφέρουν σημαντικά στη συγκέντρωση των πρωτεϊνών των λευκών οίνων [4]. Ωστόσο, οι μαννοπρωτεΐνες (συνήθεις συγκεντρώσεις 100-150 mg/L, 30% πρωτεΐνη) μπορούν να συνεισφέρουν ιδιαίτερα όταν προστίθενται εξωγενώς για να αναστείλλουν τον σχηματισμό κρυστάλλων όξινου τρυγικού καλίου.

Οι πρωτεΐνες που προέρχονται από σταφυλές και ζυμομύκητες στους ερυθρούς οίνους δεν έχουν μελετηθεί τόσο διεξοδικά όσο στους λευκούς οίνους. Οι κύριοι λόγοι είναι η μεγαλύτερη οικονομική σημασία του πρωτεϊνικού θολώματος στους λευκούς οίνους και το ότι οι χρωματομετρικές μέθοδοι προσδιορισμού πρωτεϊνών απαιτούν τροποποιήσεις για εφαρμογή σε ερυθρούς οίνους. Οι συγκεντρώσεις πρωτεϊνών σε ερυθρούς οίνους έχουν βρεθεί να κυμαίνονται από 50 έως 100 mg/L [18]. Οι πρωτεΐνες είναι γνωστό ότι δεσμεύονται από τις ταννίνες των σταφυλών ή του οίνου,

μια ιδιότητα που εκμεταλλεύονται οι οινοποιοί για τη μείωση των ταννινών κατά τη διάρκεια των οινολογικών διεργασιών. Η χαμηλότερη συγκέντρωση πρωτεϊνών στους ερυθρούς οίνους πιθανόν να προκύπτει από τη δέσμευσή τους από τις ταννίνες κατά τη διάρκεια της οινοποίησης. Αντιστρόφως, πολύ υψηλές συγκεντρώσεις πρωτεϊνών έχουν συσχετιστεί με χαμηλότερες συγκεντρώσεις ταννινών στους οίνους [19].

4.4. Συσσώρευση αζώτου στις σταφυλές – παραδείγματα ελληνικών ποικιλιών

Όπως έχει αναφερθεί στο παρόν κεφάλαιο, το γλεύκος αποτελεί την κύρια πηγή αζώτου, το οποίο αποτελεί και τον σημαντικότερο παράγοντα στην ομαλή ανάπτυξη των ζυμομυκήτων και την ομαλή δραστηριότητα και κινητική της ζύμωσης ενώ μπορεί να επηρεάσει και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού οίνου.

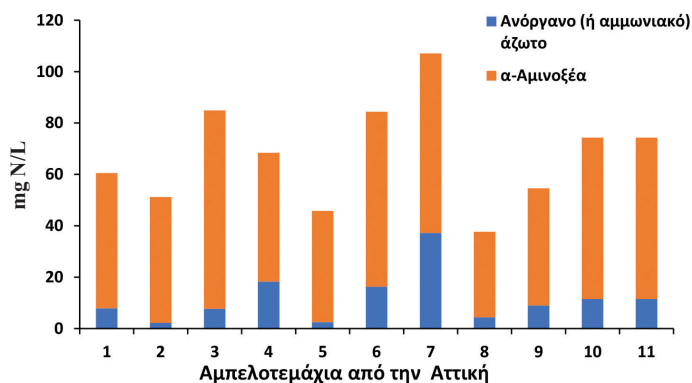
Μια τιμή αφομοιώσιμου από τους ζυμομύκητες άζωτου (YAN) που κυμαίνεται από 150-200 mg/L αζώτου θεωρείται ικανοποιητική για τη διενέργεια της αλκοολικής ζύμωσης, ωστόσο η ποσότητα αυτή είναι ανάλογη και της συγκέντρωσης των σακχάρων του γλεύκους αλλά και των συνθηκών της οινοποίησης. Θα πρέπει πάντα να λαμβάνεται υπόψιν και η γενετική ποικιλομορφία των ζυμομυκήτων όσον αφορά τις ανάγκες σε άζωτο, με ορισμένα στελέχη να καταναλώνουν το άζωτο με πολύ μεγαλύτερο ρυθμό από άλλα.

Σε γενικές γραμμές, οι ελάχιστες ανάγκες σε YAN κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης είναι 100 mg/L αζώτου για τις ερυθρές οινοποιήσεις και 150 mg/L αζώτου για τις λευκές οινοποιήσεις. Σε περίπτωση πενίας αζώτου, δημιουργούνται προβλήματα στην ανάπτυξη του πληθυσμού του ζυμομύκητα, εξαιτίας της μείωσης του ρυθμού της γλυκόλυσης. Το αποτέλεσμα είναι ατελείς ζυμώσεις, καθώς επέρχεται επιβράδυνση στο ρυθμό της ζύμωσης. Επίσης, παρατηρείται αυξημένη παραγωγή σουλφιδίων (π.χ. υδρόθειο) που προκαλούν στους οίνους αναγωγικές οσμές, αλλά και παραγωγή υψηλών συγκεντρώσεων ανώτερων αλκοολών, χαμηλή παραγωγή εστέρων και πτητικών λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας. Για την παραγωγή αρωματικών φρουτώδων οίνων στις λευκές ποικιλίες έχει αναφερθεί ότι είναι αναγκαίο το YAN να κυμαίνεται από 250-350 mg/L αζώτου και γενικότερα να μην υπερβαίνει τα 400 mg/L αζώτου [20]. Υψηλές συγκεντρώσεις YAN μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα να παραμείνει υπολειμματικό άζωτο μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης το οποίο δυνητικά μπορεί να αποτελέσει πηγή μικροβιακής αστάθειας. Επίσης, μπορεί να αποτελέσει πηγή οξικού αιθυλεστέρα αλλά και του καρκινογόνου καρβαμιδικού αιθυλεστέρα.

Η σύνθεση σε άζωτο του γλεύκους εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων όπως η ποικιλία και το υποκείμενο, οι εδαφοκλιματικές συνθήκες του αμπελώνα, οι αμπελοκομικές πρακτικές, το στάδιο ωρίμανσης των ραγών και σαφέστατα από τις προσθήκες που γίνονται κατά την διάρκεια της οινοποίησης.

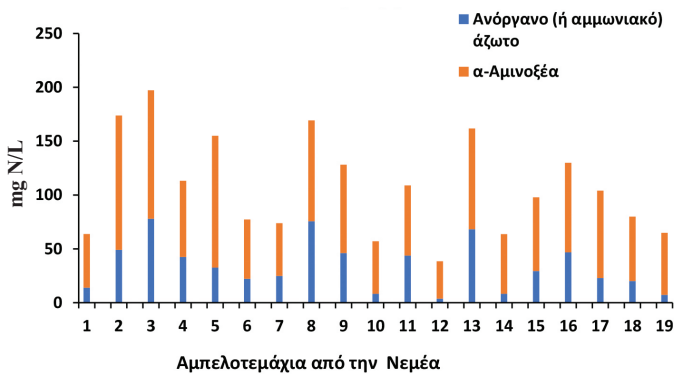
Σε ότι αφορά την περιεκτικότητα σε άζωτο σε γλεύκη από ελληνικές ποικιλίες δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα. Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρ-

Ποικιλίας Σαββατιανό



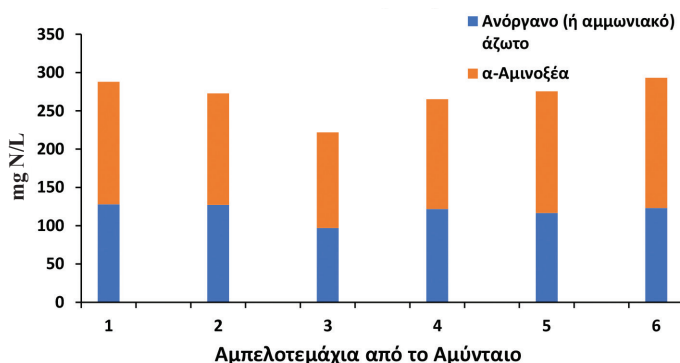
Σχήμα 4.2. Συγκεντρώσεις ανόργανου (ή αμμωνιακού) αζώτου και α-αμινοξέων εκφρασμένα σε mg N/L σε γλεύκη της ποικιλίας Σαββατιανό από διαφορετικά αμπελοτεμάχια της Αττικής.

Ποικιλίας Αγιωργίτικο



Σχήμα 4.3. Συγκεντρώσεις ανόργανου (ή αμμωνιακού) αζώτου και α-αμινοξέων εκφρασμένα σε mg N/L σε γλεύκη της ποικιλίας Αγιωργίτικο από διαφορετικά αμπελοτεμάχια της Νεμέας.

Ποικιλίας Ξινόμαυρο



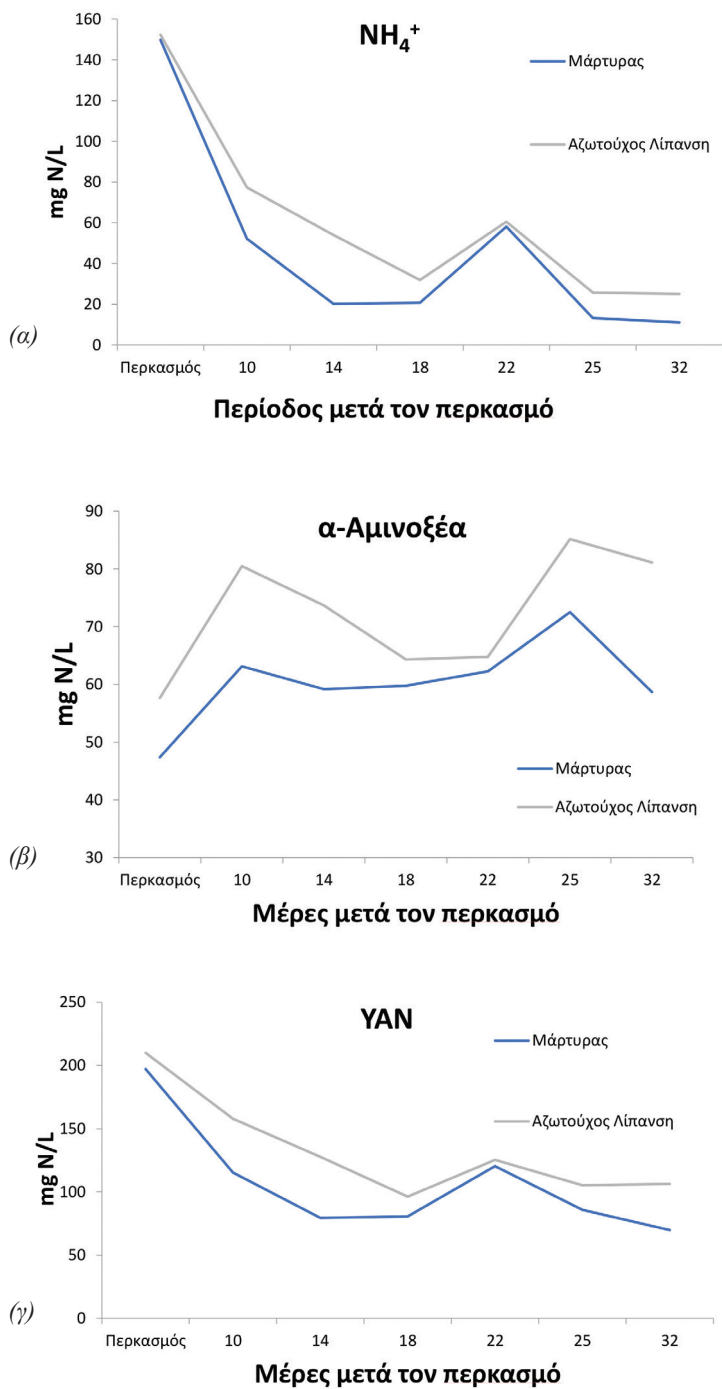
Σχήμα 4.4. Συγκεντρώσεις ανόργανου (ή αμμωνιακού) αζώτου και α-αμινοξέων εκφρασμένα σε mg N/L σε γλεύκη της ποικιλίας Ξινόμαυρο από διαφορετικά αμπελοτεμάχια του Αμύνταιο.

κεια του τρύγου 2019 στο Εργαστήριο Οινολογίας και Αλκοολούχων Ποτών (ΕΟΑΠ) του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών συγκομίστηκαν σταφυλές από τις λευκές ποικιλίες Σαββατιανό και από τις ερυθρές ποικιλίες Αγιωργίτικο και Ξινόμαυρο από αμπελώνες στις κύριες ζώνες καλλιέργειας τους.

Από τα Σχήματα 4.2.-4.4. είναι εμφανές ότι τα γλεύκη της ποικιλίας Σαββατιανό από την περιοχή της Αττικής έχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε YAN (αμμώνιο + α-αμινοξέα) συγκριτικά με τις άλλες δυο ποικιλίες. Αυτό πιθανόν αιτιολογεί και το χαμηλό αρωματικό προφίλ της συγκεκριμένης ποικιλίας και την ανάγκη προσθήκης αζώτου κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης για την επιτυχή ολοκλήρωση της ζύμωσης και για την ενίσχυση του αρώματος των παραγόμενων οίνων. Για τα γλεύκη της ποικιλίας Αγιωργίτικο από την περιοχή της Νεμέας υπάρχουν αρκετές διακυμάνσεις ως προς την συνολική συγκέντρωση του YAN, αλλά αρκετά γλεύκη έχουν χαμηλές τιμές. Τόσο στο Αγιωργίτικο όσο και στο Σαββατιανό η συγκέντρωση του ανόργανου ή αμμωνιακού αζώτου σε αρκετές περιπτώσεις είναι σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Σε ότι αφορά την ποικιλία Ξινόμαυρο, τα γλεύκη είναι πλούσια σε YAN (220-290 mg N/L) κάτι το οποίο συσχετίζεται με το αυξημένο αρωματικό δυναμικό των οίνων από την συγκεκριμένη περιοχή. Επίσης, οι συγκεντρώσεις ανόργανου αζώτου και α-αμινοξέων είναι σε αναλογία σχεδόν 1:1.

Δεν υπάρχουν δεδομένα για τις συγκεκριμένες ποικιλίες ώστε να βγει ένα ασφαλές συμπέρασμα για την επίδραση της ποικιλίας στις συγκεντρώσεις των αμινοξέων στο γλεύκος. Αυτό το οποίο έχει παρατηρηθεί σε άλλες μελέτες είναι ότι η ποικιλία μπορεί να επηρεάσει την αναλογία της συσσώρευσης αργινίνης (αφομοιώσιμο άζωτο από τον ζυμομύκητα) ως προς την προλίνη (μη αφομοιώσιμο άζωτο) [21].

Για παράδειγμα οι ποικιλίες Cabernet Sauvignon, Merlot, Riesling και Syrah έχουν υψηλό λόγο προλίνης προς αργινίνη, ενώ οι ποικιλίες Grenache, Gewürztraminer, Pinot Noir και Sauvignon Blanc έχουν χαμηλό λόγο προλίνης προς αργινίνη. Ωστό-



Σχήμα 4.5. Συγκεντρώσεις (α) ανόργανου (ή αμμωνιακού) αζώτου, (β) α-αμινοξέων και (γ) YAN εκφρασμένα σε mg N/L σε γλεύκη της ποικιλίας Σαββατιανό από αμπελοτεμάχιο της περιοχής των Σπατών Αττικής. Στο πείραμα έγινε θρέψη με αζωτούχα λίπανση.

σο, αυτή η σχέση επηρεάζεται από το επίπεδο ωριμότητας των σταφυλών, τις αμπελουργικές πρακτικές που διεξάγονται στον αμπελώνα και από τις εδαφοκλιματικές συνθήκες κάθε περιοχής [21].

Οι κλιματολογικές συνθήκες του αμπελώνα μπορούν να επηρεάσουν τη διαδικασία σχηματισμού του αζώτου στο έδαφος από την αποσύνθεση της οργανικής ύλης και τη σύνθεση των αμινοξέων στις σταφυλές [22]. Τα πρέμνα που αναπτύσσονται σε τοποθεσίες με χαμηλές μέσες θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια του πιο θερμού μήνα όπως και χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της νύχτας μπορούν να παρατείνουν τον χρόνο ωρίμανσής τους προωθώντας τη σύνθεση των αμινοξέων στις σταφυλές [23]. Στην ίδια μελέτη έχει αποδειχθεί ότι η σύνθεση πολλών αμινοξέων στις σταφυλές όπως Asp, Arg, Gaba, Glu, Ile, Leu, Met, Le, Phe, Trp, Tyr και Val ευνοείται από τη μείωση των ελάχιστων θερμοκρασιών κατά τη διάρκεια του μήνα πριν από τη συγκομιδή [23]. Αντίθετα, παρατήρησαν ότι σε θερμά κλίματα οι σταφυλές είχαν υψηλότερη περιεκτικότητά σε προλίνη από ότι σε αργινίνη σε σχέση με τις πιο ψυχρές οινολογικές περιοχές. Συνεπώς, υπάρχει το ενδεχόμενο η αυξημένη συγκέντρωση YAN που παρατηρείται στα γλεύκη της ποικιλίας Ξινόμαυρο από την περιοχή του Αμύνταιου (Φλώρινα) να οφείλεται στο πιο ψυχρό κλίμα της συγκεκριμένης περιοχής σε σχέση με την Αττική και την Νεμέα. Αντίθετα, στην ποικιλία Σαββατιανό η χαμηλή συγκέντρωση του YAN πιθανόν να οφείλεται στο πιο θερμό κλίμα της Αττικής.

Στα Σχήματα 4.5 (α-γ) βλέπουμε τα αποτελέσματα από την θρέψη με άζωτο σε αμπελώνα που έγινε στα πλαίσια πειράματος του εργαστηρίου Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας του ΓΠΑ. Η θρέψη έγινε με ριζοπότισμα με θευκή αμμωνία λίγο πριν την ανθοφορία, με δόση 50 gr N/πρέμνο (10 kg N/στρέμμα) και παρατηρούμε ότι η θρέψη με άζωτο αύξησε την συσσώρευση NH_4^+ στις ράγες των σταφυλών όπως και των α-αμινοξέων και του συνολικού YAN.

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Marchal, R. and Waters, E.J. (2011) New directions in stabilization, clarification, and fining of white wines, in *Managing wine quality*, Vol. 2, Oenology and wine quality (ed. Reynolds, A.G.), Woodhead Publishing and CRC Press, Oxford and Boca Raton, FL.
2. Bell, S.J. and Henschke, P.A. (2005) Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **11** (3), 242–295.
3. Dukes, B.C. and Butzke, C.E. (1998) Rapid determination of primary amino acids in grape juice using an *o*-phthalaldehyde/*n*-acetyl-L-cysteine spectrophotometric assay. *American Journal of Enology and Viticulture*, **49** (2), 125–134.
4. Bayly, F.C. and Berg, H.W. (1967) Grape and wine proteins of white wine varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, **18** (1), 18–32.
5. Fracassetti, D., Lawrence, N., Tredoux, A.G.J., et al. (2011) Quantification of glutathione, catechin and caffeic acid in grape juice and wine by a novel ultra-performance liquid chromatography method. *Food Chemistry*, **128** (4), 1136–1142.

6. Santoro, M. (1995) Fractionation and characterization of must and wine proteins. *American Journal of Enology and Viticulture*, **46** (2), 250–254.
7. Wurz, R.E.M., Kepner, R.E., Webb, A.D. (1988) The biosynthesis of certain gamma-lactones from glutamic acid by film yeast activity on the surface of flor sherry. *American Journal of Enology and Viticulture*, **39** (3), 234–238.
8. Spayd, S.E. and Andersen-Bagge, J. (1996) Free amino acid composition of grape juice from 12 *Vitis vinifera* cultivars in Washington. *American Journal of Enology and Viticulture*, **47** (4), 389–402.
9. Huang, Z. and Ough, C.S. (1991) Amino-acid profiles of commercial grape juices and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, **42** (3), 261–267.
10. Jiranek, V., Langridge, P., Henschke, P.A. (1995) Amino acid and ammonium utilization by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts from a chemically defined medium. *American Journal of Enology and Viticulture*, **46** (1), 75–83.
11. Fugelsang, K.C. and Edwards, C.G. (2007) *Wine microbiology practical applications and procedures*, Springer, New York.
12. Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. (2008) Quantitative reconstruction of the nonvolatile sensometabolome of a red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56** (19), 9190–9199.
13. Skogerson, K., Runnebaum, R., Wohlgemuth, G., *et al.* (2009) Comparison of gas chromatography-coupled time-of-flight mass spectrometry and ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy metabolite identification in white wines from a sensory study investigating wine body. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57** (15), 6899–6907.
14. Kritzinger, E.C., Bauer, F.F., du Toit, W.J. (2012) Role of glutathione in winemaking: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61** (2), 269–277.
15. Bachhawat, A., Ganguli, D., Kaur, J., *et al.* (2009) Glutathione production in yeast, in *Yeast biotechnology: diversity and applications* (eds Satyanarayana, T. and Kunze, G.), Springer, Netherlands, pp. 259–280.
16. Marchal, A., Marullo, P., Moine, V., Dubourdieu, D. (2011) Influence of yeast macromolecules on sweetness in dry wines: role of the *Saccharomyces cerevisiae* protein Hsp12. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59** (5), 2004–2010.
17. Waters, E.J., Shirley, N.J., Williams, P.J. (1996) Nuisance proteins of wine are grape pathogenesis-related proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44** (1), 3–5.
18. Smith, M.R., Penner, M.H., Bennett, S.E., Bakalinsky, A.T. (2011) Quantitative colorimetric assay for total protein applied to the red wine Pinot Noir. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59** (13), 6871–6876.
19. Springer, L.F. and Sacks, G.L. (2014) Limits on red wine tannin extraction and additions: the role of pathogenesis-related proteins. *65th ASEV National Conference*, **62** (3), 390A–391A.
20. https://www.awri.com.au/industry_support/winemaking_resources/wine_fermentation/yan/
21. Bell, S.-J., &Henschke, P. A. (2005). Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentationand wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **11**(3), 242–295.
22. Gutiérrez-Gamboa, G., Alañón-Sánchez, N., Mateluna-Cuadra, R., Verdugo-Vásquez, N. (2020) An overview about the impacts of agricultural practices on grape nitrogen composition: Current research approaches. *Food Research International* **136**, 109477
23. Gutiérrez-Gamboa, G., Carrasco-Quiroz, M., Martínez-Gil, A. M., Pérez-Álvarez, E. P., Garde-Cerdán, T., & Moreno-Simunovic, Y. (2018). Grape and wine amino acid composition