

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ
ΑΜΑΥΡΩΣΗ ΟΙΝΟΥ ΤΣΑΟΥΣΙ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

ΤΣΙΚΡΙΤΣΑΚΗΣ ΕΛΕΝΗΣ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων
Σχολή Περιβάλλοντος
ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

12/04/22

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ
ΑΜΑΥΡΩΣΗ ΟΙΝΟΥ ΤΣΑΟΥΣΙ

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

Το όνομα του επιβλέποντος εδώ

ΙΩΑΝΝΗ ΣΑΜΑΡΑ

Το όνομα του μέλους της επιτροπής εδώ

ΓΕΩΡΓΙΑ ΛΙΟΣΑΤΟΥ

Το όνομα του μέλους της επιτροπής εδώ:

ΑΘΗΝΑΪΔΑ ΜΟΥΡΕΛΑΤΟΥ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο οίνος αποτελεί ένα ευρέως διαδεδομένο ποτό που μπορεί να συνδυαστεί με διάφορες γεύσεις παγκόσμιας κλίμακας, απαρτίζει σπουδαίο γεωργικό προϊόν που δείχνει τη ποιότητα ενός εδάφους και το κλίμα ενός τόπου.

Η οξείδωση των λευκών οίνων αποτελεί κύριο παράγοντα για την μελέτη του καφετίσματος στο κρασί. Το καφετίσμα συνιστά σοβαρό πρόβλημα τόσο σε σχέση με τα ποιοτικά όσο και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του λευκού κρασιού. Τα φαινολικά υπόκεινται σε ενζυματική οξείδωση που συνήθως επιφέρουν τροποποιήσεις στην αντιοξειδωτική ικανότητα. Στόχος της συγκεκριμένης εργασίας είναι η διερεύνηση και μελέτη των παραπάνω φαινομένων μέσω εργαστηριακών πειραμάτων που διεξήχθησαν στο ιόνιο πανεπιστήμιο Αργοστολίου κατά το έτος 2022.

Ερευνήθηκε ο ρυθμός οξείδωσης του οίνου με τη μέθοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης στην ποικιλία Τσαούσι. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα κρασιού σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 55°C για 12 ημέρες, προκειμένου να γίνει πιο σύντομο το πείραμα. Για τη μελέτη της αμαύρωσης χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο μετρώοντας την απορρόφηση των δειγμάτων στα 420nm. Η μέτρηση γινόταν σε καθημερινή βάση ανά 24 ώρες, αφού τα δείγματα είχαν αφεθεί για 20min σε θερμοκρασία δωματίου. Η καταγραφή έγινε υπό τη μορφή διαγραμμάτων. Στη συνέχεια, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε μια διαδικασία παρατήρησης της συγκέντρωσης των φαινολικών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω των μεθόδων Folin-Ciocalteu και DPPH αντίστοιχα. Τα σημαντικότερα πολυφαινολικά συστατικά στα λευκά κρασιά είναι οι υδροξυκιναμικές ενώσεις και οι φλαβονόλες που οδηγούν στο σχηματισμό κίτρινων ή καφέ προϊόντων.

Τέλος όπως προαναφέρθηκε, για την πραγματοποίηση της μελέτης έγινε έρευνα πάνω στο κρασί Τσαούσι. Το Τσαούσι είναι μια λευκή ποικιλία του Ιονίου Πελάγους και λιγότερο στη Βόρεια Ελλάδα. Το οινοποιείο Σαρρή στη Κεφαλονιά παράγει Τσαούσι. Γευστικά δίνει την αίσθηση τροπικών φρούτων, λουλουδιών, βοτάνων και ορυκτότητας, ενώ παράλληλα αφήνει μια αίσθηση λιπαρότητας και δροσιάς στο στόμα.

ABSTRACT

Wine is a widespread drink that can be combined with various tastes on a global scale, it is a great agricultural product that shows the variety of a soil and the climate of a place.

The white wine oxidation is a major factor in the study of browning in wine. Browning is a serious problem in relation to the quality and organoleptic characteristics of white wine. Phenolics are subject to enzymatic oxidation that usually result in modifications to the antioxidant capacity. The aim of this work is to investigate and study the above phenomena through laboratory experiments conducted at the Ionian University of Argostoli in the year 2022.

The rate of wine oxidation was investigated by the accelerated oxidation method in the Tsaousi's variety. More specifically, wine samples were used in a water bath at a temperature of 55°C for 12 days, in order to make the experiment shorter. To study the darkening, a spectrophotometer was used, measuring the absorbance of the samples at 420nm. The measurement was done on a daily basis every 24 hours and after the samples had been left for 20 min at room temperature. The recording was done in the form of diagrams. Then, the samples were subjected to a procedure to observe the concentration of phenolics and the antioxidant capacity through the Folin-Ciocalteu and DPPH methods respectively. The most important polyphenolic components in white wines are hydroxycinnamic compounds and flavanols that lead to the formation of yellow or brown products.

Finally, as mentioned above, in order to carry out the study, the research was done on Tsaousi wine. Tsaousi is a white variety of the Ionian Sea and less so in Northern Greece. The Sarri winery in Kefalonia produces Tsaousi. Tastewise, it gives the sensation of tropical fruits, flowers, herbs and minerality, while at the same time it leaves a feeling of oiliness and freshness in the mouth.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Κεφάλαιο	Σελίδα
Περίληψη	3
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
II. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΟΙΝΟΥ	8
2.1.Ορισμός οίνου-έννοια καφετιάσματος	8
2.2. Ιδιομορφίες την αμπέλου Κεφαλονιάς.....	9
2.3. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.....	9
III. ΣΥΣΤΑΣΗ ΟΙΝΟΥ	10
3.1. Κύρια συστατικά κρασιού	10
3.2. Νερό.....	11
3.3. Αλκοόλη.....	12
3.4. Σάκχαρα	13
3.5. Οργανικά οξέα	14
3.6. Αζωτούχες ενώσεις	15
3.7. Βιταμίνες.....	16
3.8. Ένζυμα	16
3.9. Ανόργανα συστατικά.....	16
3.10. Άλλες κατηγορίες ενώσεων	17
3.11. Ελεύθερες ρίζες.....	18
IV. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΟΙΝΟ	19
4.1 Φαινόλες	19
4.2 Μη φλαβονοειδή.....	21
4.3 Φλαβονοειδή.....	22
4.4 Οι φλαβονόλες	23
4.5 Φλαβαν-3-όλες(κατεχίνες) και προκυανιδίνες.....	24
4.6 Οι ανθοκυάνες.....	25
4.7 Ταννίνες.....	27
4.7.1 Συμπυκνωμένες ταννίνες.....	28
4.7.2 Υδρολύσιμες ταννίνες.....	29
4.7.3 Μικτές ταννίνες.....	29
V.ΛΕΥΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ	30
5.1 Η οξείδωση στους λευκούς οίνους	31
5.2 Μηχανισμοί οξειδωτικής αμαύρωσης.....	31
5.3 Ενζυματική οξείδωση και παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση.....	32
5.4 Μη ενζυμικές οξειδώσεις και παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση	34
5.5 Συμμετοχή Ιόντων Σιδήρου και Χαλκού κατά την χημική οξείδωση του οίνου....	35
VI. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ.....	36
6.1 Προστασία οίνου απο τις οξειδώσεις (προσθήκη ασκορβικού οξέος ,θειώση, γλουτα- θειόνη)	37
VII. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
7.1 Σκοπός εργασίας	38
7.2 Οινοποιείο Σαρρή	38
7.3 Τσαούσι.....	39
VIII. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	39
8.1 Μελέτη του Τσαούσι.....	40
8.2 Μέθοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης.....	40

8.3 Μέθοδος FOLIN-CIOCALTEU.....	41
8.3.1.Αντιδραστήρια FOLIN-CIOCALTEU	42
8.4 Διαδικασία πορείας (FOLIN-CIOCALTEU)	43
8.5 Μέθοδος DPPH.....	44
8.6 Υλικά και οργανολογία	45
8.7 Αντιδραστήρια DPPH	45
8.8 Διαδικασία πορείας (DPPH)	46
IX. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	47
9.1 Κινητική μελέτη της έντασης της οξειδωτικής αμάρωσης.....	47
9.2 Ολικά φαινολικά (μέθοδος FOLIN-CIOCALTEU).....	53
9.3 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας(μέθοδος DPPH)	58
X. Συμπεράσματα	64
Ανασκόπηση βιβλιογραφίας.....	66

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η προέλευση του κρασιού μπορεί να εντοπιστεί σε διάφορους αρχαίους πολιτισμούς, με τα πρώτα στοιχεία που βρέθηκαν στη σημερινή Γεωργία να χρονολογούνται από το 6000-5800 π.Χ. Η περιοχή του Νότιου Καυκάσου, που περιλαμβάνει την Αρμενία, τη Γεωργία και το Αζερμπαϊτζάν, και η περιοχή της Δυτικής Ασίας μεταξύ της Ανατολικής Τουρκίας και του βόρειου Ιράν φαίνεται να είναι οι πρώτοι κόμβοι για την παραγωγή κρασιού. Με την πάροδο του χρόνου, η κουλτούρα του κρασιού εξαπλώθηκε σε όλο τον κόσμο, κυρίως λόγω της επέκτασης των Φοινίκων από τις μεσογειακές πόλεις-κράτη με επίκεντρο τον σημερινό Λίβανο, μαζί με μια ισχυρή παράδοση κρασιού στον πολιτισμό Nuragic της Σαρδηνίας. Ωστόσο, η διάδοση του κρασιού δεν ήταν μόνο για την απόλαυση των μεθυστικών επιδράσεών του. Είχε επίσης ουσιαστικό ρόλο στην υγεία και τη διατροφή.

Σύμφωνα με την ελληνική παράδοση, ο Οινέας, ο ηγεμόνας «άνακτας» της Καλυδώνας, λέγεται ότι εισήγαγε το αμπέλι πριν από τον Διόνυσο, τον Έλληνα θεό του κρασιού. Οι αρχαίοι Έλληνες είχαν μια εύρωστη οινική κουλτούρα, αραιώνοντας το κρασί με νερό (ένα μέρος κρασί σε τρία μέρη νερό) για τακτική κατανάλωση και σερβίροντάς το με ειδικά σκεύη για ανάμειξη, γνωστά ως «κρατήρες». Η κατανάλωση αδιάλυτου κρασιού (άκρατος οίνος) θεωρήθηκε βάρβαρη, προοριζόμενη μόνο για τους άρρωστους ή τους ταξιδιώτες που χρειάζονταν διεγερτικό. Είχαν επίσης πρακτικές ενίσχυσης του κρασιού με μέλι, βότανα, ακόμη και ασπίνθου, φτιάχνοντας ένα ποτό γνωστό ως «Ιπποκράτειος Οίνος», μια πρακτική που εγκρίθηκε από τον Ιπποκράτη.

Οι αρχαίοι Έλληνες γνώριζαν επίσης πώς να παλαιώνουν το κρασί, μια διαδικασία αξιοσημείωτα παρόμοια με τις σημερινές πρακτικές. Το κρασί παλαιωνόταν σε θαμμένα πιθάκια, σφραγιζόταν με γύψο και ρετσίνι και στη συνέχεια εμφιαλωνόταν σε σάκους ή σφραγισμένους πήλινους αμφορείς, οι οποίοι ήταν επικαλυμμένοι με πίσσα για στεγανοποίηση. Το εμπόριο των ελληνικών κρασιών ήταν εκτεταμένο, φτάνοντας μέχρι την Ιβηρική χερσόνησο και τον Εύξεινο Πόντο. Ειδικοί νόμοι θεσπίστηκαν ακόμη και σε αρκετές πόλεις για τη διατήρηση της ποιότητας του κρασιού και την προστασία των τοπικών βιομηχανιών από τον ανταγωνισμό και τις εισαγωγές. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η νομοθεσία της Θάσου, η οποία υπαγόρευε τη δήμευση των πλοίων που μετέφεραν ξένο κρασί.

Η ελληνική μυθολογία διηγείται ότι ο Κέφαλος, γιος του Ερμή και της Έρσης, μετέφερε το αμπέλι στο νησί της Κεφαλονιάς, που ονομάστηκε προς τιμήν του μετά την εκδίωξή του από την πατρίδα του. Αυτό σηματοδοτεί την αρχή της οινικής ιστορίας της Κεφαλονιάς, που σήμερα είναι σημαντικός παραγωγός της ποικιλίας σταφυλιών Τσαούσι αιγυπτιακής

προέλευσης. Καλλιεργημένο σε διάφορες περιοχές της Μακεδονίας και της Θράκης, και κυρίως στα νησιά του Ιονίου, το Τσαούσι συμβάλλει κατά 8,3% στην αμπελουργία της Κεφαλονιάς. Πολύ ζωνή ποικιλία και μέτρια παραγωγική. Ο καρπός είναι μετρίου προς μεγάλου μεγέθους και σφαιρικός, κιτρινοπράσινου χρωματισμού με ανθηρότητα. Η ποικιλία συμμετέχει στην παραγωγή λευκού Τοπικού κρασιού «Πλαγιές του Αίνου» (Σταύρακας, 2010).

Η ορεινή περιοχή της Πάλλης Μοναμπέλες καλλιεργεί έναν κλώνο ζαχαροστάφυλου της τοπικής ποικιλίας Τσαούσι σε αυτόριζους αμπελώνες ηλικίας άνω των 70 ετών. Τα αμπέλια αποδίδουν το πολύ 250 kg/στρέμμα, με τη συγκομιδή να πραγματοποιείται συνήθως μεταξύ 15-20 Αυγούστου. Το αποτέλεσμα αυτής της βιοδυναμικής διαδικασίας οινοποίησης είναι ένα αρωματικό κρασί με ισορροπημένη οξύτητα, δροσιστική ορυκτότητα και πλήρη επίγευση, διαθέσιμο σε περιορισμένο αριθμό φιαλών. Το κρασί φέρει πιστοποίηση Demeter, που δείχνει ότι παράγεται βιολογικά.

II. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΟΙΝΟΥ

2.1. Ορισμός οίνου-έννοια καφετιάσματος

Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία, ο οίνος προέρχεται αποκλειστικά από την ολική ή μερική αλκοολική ζύμωση νωπών σταφυλιών ή γλεύκους νωπών σταφυλιών (Τσακίρης Ν.Α., 1998). Η Ευρωπαϊκή Ένωση απηχεί αυτόν τον ορισμό με μικρές παραλλαγές, ορίζοντας ότι ο οίνος είναι το προϊόν που λαμβάνεται αποκλειστικά με αλκοολική ζύμωση, ολική ή μερική, νωπών, σπασμένων ή άθραυστων σταφυλιών ή γλεύκους σταφυλιών.

Το κρασί, ένα πολύπλοκο σύστημα, υφίσταται πολλές αλλαγές στη σύνθεση κατά την αποθήκευση. Αν και η αποθήκευση μέσω φιαλών ενισχύει τα χαρακτηριστικά των ερυθρών κρασιών (Somers & Pocock, 1990), μπορεί να οδηγήσει σε ελαττώματα ποιότητας, όπως το καφέτιασμα στα λευκά κρασιά, μειώνοντας τη συνολική ποιότητα και εμπορευσιμότητά τους. Ωστόσο, ορισμένα λευκά κρασιά μπορεί να αποκομίσουν βραχυπρόθεσμα οφέλη από την αποθήκευση στην φιάλη (Marais & Pool, 1980). Οι αντιδράσεις μετά τη ζύμωση στους λευκούς οίνους περιλαμβάνουν κυρίως μη ενζυματική οξειδωτική αμαύρωση (Ribéreau-Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdier, 2000). Το καφέτιασμα είναι το αποτέλεσμα μιας πολύπλευρης σειράς αντιδράσεων που κλιμακώνουν την ένταση του χρώματος, μειώνουν την ελαφρότητα και αυξάνουν τον καφέ δείκτη (Gonzales Cartagena, Pérez-Zúñiga, and Abad, 1994, Singleton and Kramling, 1976). Οι ενώσεις υδροξυκινναμικού οξέος και οι φλαβονόλες είναι τα βασικά συστατικά πολυφαινόλων στο λευκό κρασί λόγω της ποσότητας και της τάσης τους για οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις.

2.2. Ιδιομορφίες της αμπέλου Κεφαλονιάς

Στην Κεφαλονιά, οι αμπελώνες απλώνονται ανάμεσα σε πεύκα, κυπαρίσσια και ελιές, κατοικώντας τα δύο τρίτα των ορεινών και ημιορεινών περιοχών του νησιού. Αυτοί οι αμπελώνες χαρακτηρίζονται κυρίως από ασβεστολιθικά εδάφη, κυρίως ανεπαρκή σε οργανική ύλη. Το κλίμα είναι ήπιο, με συχνές βροχοπτώσεις και την ευεργετική επίδραση του Αίνου, του μαύρου βουνού. Αυτές οι συνθήκες, σε συνδυασμό με τις χαμηλές στρεμματικές αποδόσεις και τα μικρά μεγέθη αμπελοτεμαχίων (περίπου 4,5 στρέμματα ανά παραγωγό κατά μέσο όρο), διαμορφώνουν εδώ τη μοναδική μορφή αμπελοκαλλιέργειας.

2.3. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αποτελούν τη βάση για την εκτίμηση και αξιολόγηση του κρασιού. Αυτά περιλαμβάνουν τη γεύση, το χρώμα, το άρωμα και την πυκνότητα (Tseturas, 2003).

2.3.1. Γεύση

Η γεύση του κρασιού εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ των συστατικών γλυκιάς γεύσης (αλκοόλ, γλυκερίνη) και των ξινών, αλμυρών, πικρών συστατικών (οξέα, άλατα, τανίνες) (Belitz et al, 2006). Όταν οι γεύσεις εναρμονίζονται, το κρασί θεωρείται «μαλακό», ενώ η αφθονία οξέων και τανινών δίνει έναν «σκληρό» χαρακτηρισμό. Ένα κακής ποιότητας κρασί, που χαρακτηρίζεται από ξινή πικρή γεύση, στερείται της στιβαρής γεύσης που συνεπάγεται ποιότητα και ισορροπία. Αντίθετα, η απουσία γεύσης υποδηλώνει ένα κρασί με έλλειψη συστατικών (Τσέτουρας, 2003).

2.3.2. Χρώμα

Το χρώμα του κρασιού συσχετίζεται με τη σύσταση του σε φαινολικές ουσίες (ανθοκυάνες, χρωστικές και τανίνες). Οι επιρροές περιλαμβάνουν την ποικιλία σταφυλιών, το στάδιο ωρίμανσης, το κλίμα, την τοποθεσία, το έτος παραγωγής, την ηλικία του κρασιού και τη μέθοδο οινοποίησης. Για τα ερυθρά κρασιά, το χρώμα δηλώνει την ηλικία, ενώ στα λευκά κρασιά, η κιτρινάδα υποδηλώνει ωριμότητα (Lourdes et al., 2007). Τα λευκά κρασιά παρουσιάζουν ιδανικά χρώματα από χρυσό έως κεχριμπαρί, ενώ θαμπό κίτρινο με καφέ αποχρώσεις και σκούρο κίτρινο θεωρούνται ανεπιθύμητα (Cerdan et al., 2003).

2.3.3. Άρωμα

Το άρωμα, μια ευχάριστη μυρωδιά νέου κρασιού, ενισχύει την ποιότητά του. Το κρασί παλαίωσης αναπτύσσει μια σύνθεση αρωμάτων, που ονομάζεται "μπουκέτο", η οποία εντείνεται απουσία επιρροής οξυγόνου. Ένα κρασί είναι «αρωματικό» όταν εκπέμπει τα χαρακτηριστικά αρώματα σταφυλιών και τις μυρωδιές που αναπτύσσονται κατά τη ζύμωση και την παλαίωση (Τσακίρης, 1994).

2.3.4. Πυκνότητα

Η πυκνότητα του οίνου είναι ο λόγος μεταξύ ενός ορισμένου όγκου οίνου και ενός ίσου όγκου απεσταγμένου νερού στους 4°C, μετρούμενος στους 15°C χρησιμοποιώντας αραιόμετρα ακριβείας. Η πυκνότητα εξαρτάται από την περιεκτικότητα σε αλκοόλη του κρασιού και την περιεκτικότητα σε στερεά υπολείμματα, τα οποία είναι βαρύτερα από το νερό. Ένα κρασί με υψηλή περιεκτικότητα σε στερεά υπολείμματα (ξηρό εκχύλισμα) έχει υψηλή πυκνότητα. Το ξηρό εκχύλισμα, ανάλογα με τα σταφύλια και τη μέθοδο οινοποίησης, παίζει καθοριστικό ρόλο στην ποιότητα, τη γεύση και τη διατήρηση του κρασιού. Αντίθετα, ένα κρασί πλούσιο σε αλκοόλ παρουσιάζει χαμηλότερη πυκνότητα (Τσετούρας, 2003).

III. ΣΥΣΤΑΣΗ ΟΙΝΟΥ

3.1. Κύρια συστατικά κρασιού

Ο οίνος, ένα αλκοολούχο ποτό, παράγεται με αλκοολική ζύμωση γλεύκους που λαμβάνεται από φρέσκα σταφύλια. Είναι ένα σύνθετο υδροαλκοολικό διάλυμα που περιέχει περίπου 800-1000 ενώσεις. Αυτές οι ενώσεις από μόνες τους δεν καθορίζουν το γευστικό προφίλ ενός κρασιού, αλλά συμβάλλουν στη συνολική γεύση. Υπάρχουν σε ποικίλες συγκεντρώσεις, που κυμαίνονται από 10-1 έως 10-6 χιλιοστόγραμμα ανά λίτρο (mg / L).

Τα κύρια συστατικά του κρασιού είναι το νερό και η αιθανόλη, τα οποία αποτελούν περίπου το 97% της σύνθεσής του. Άλλα συστατικά όπως σάκχαρα, οξέα, άλλες αλκοόλες και φαινόλες υπάρχουν σε μικρότερες συγκεντρώσεις, συνήθως εντός του εύρους 0,1 έως 10 g / L.

Παρά τη σχετικά μικρότερη παρουσία τους, τα συστατικά αυτά επηρεάζουν σημαντικά τη γλυκύτητα, την οξύτητα, το χρώμα και το συνολικό οργανοληπτικό προφίλ των κρασιών.

Τα φαινολικά συστατικά, για παράδειγμα, άλλες αλκοόλες και φαινόλες, συμβάλλουν συνήθως περίπου 1 έως 2 g / L και 0,2 έως 0,8 g / L αντίστοιχα. Τα φαινολικά συστατικά έχουν ιδιαίτερη σημασία λόγω της επίδρασής τους στις φυσιολογικές και οργανοληπτικές ιδιότητες του οίνου. Οι πολυφαινόλες, μια υποκατηγορία των φαινολών, τραβούν ιδιαίτερη προσοχή

λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης και των βιολογικών τους επιδράσεων στον ανθρώπινο οργανισμό.

Τα κρασιά περιέχουν επίσης εστέρες, ακετάλες και ίχνη διαφόρων άλλων μορίων, συμπεριλαμβανομένων μετάλλων, βιταμινών και ενώσεων που περιέχουν άζωτο και θείο.

Το μοναδικό προφίλ αρώματος και γεύσης ενός κρασιού εξαρτάται από τουλάχιστον 20 επιπλέον ενώσεις. Μικρές οργανοληπτικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών κρασιού συχνά αποδίδονται σε παραλλαγές σε αυτές τις ενώσεις (Jackson, 1998).

Οι κύριες κατηγορίες συστατικών του κρασιού, όπως προτείνονται από τους (Παλιογιάννη, 2007) και (Βράκας, 2012), είναι:

1. Νερό: Το κύριο συστατικό του κρασιού, το οποίο διευκολύνει την αλληλεπίδραση και τις αντιδράσεις μεταξύ διαφόρων ενώσεων.
2. Μέταλλα: Μέταλλα όπως το κάλιο, το ασβέστιο και το μαγνήσιο υπάρχουν σε ιχνοστοιχεία, συμβάλλοντας στη γεύση και τη σταθερότητα του κρασιού.
3. Οργανικά συστατικά: Αυτά περιλαμβάνουν μεμονωμένα συστατικά όπως αιθανόλη, σάκχαρα, οξέα, άλλες αλκοόλες, φαινόλες, εστέρες και ακετάλες. Συμβάλλουν σημαντικά στη συνολική γεύση, το άρωμα, το χρώμα και την υφή των κρασιών.

3.2. Το νερό

Η περιεκτικότητα του κρασιού σε νερό συμβάλλει σημαντικά στην πυκνότητα του κρασιού. Συμμετέχει σε χημικές αντιδράσεις κατά την ωρίμανση των σταφυλιών, τη ζύμωση του μούστου και την παλαίωση του κρασιού. Πολλές ενώσεις υπεύθυνες για τη γεύση και το άρωμα του κρασιού είναι υδατοδιαλυτές λόγω των μοναδικών διαμοριακών χημικών ιδιοτήτων του νερού. (Grosch W, 2011). Το νερό παίζει βασικό ρόλο στον καθορισμό των βασικών χαρακτηριστικών ροής και δρα ως το κύριο χημικό συστατικό του κρασιού. Η ισορροπία μεταξύ της χαμηλής πυκνότητας αλκοόλης και της πυκνότητας των βαρύτερων συστατικών του οίνου έχει ως αποτέλεσμα ο οίνος να έχει πυκνότητα συγκρίσιμη με το νερό. Η περιεκτικότητα του οίνου σε νερό μπορεί να προσδιοριστεί με εξάτμιση του νερού στους 100°C και μέτρηση του στερεού υπολείμματος. (Σουφλέρος, 1997)

3.3. Αλκοόλη

Η αιθανόλη, το κύριο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης, είναι η πιο σημαντική αλκοόλη στο κρασί. Υπό τυπικές συνθήκες οινοποίησης, τα επίπεδα αιθανόλης φτάνουν το 14-15% vol., ενώ υψηλότερες συγκεντρώσεις μπορούν να επιτευχθούν με την προσθήκη σακχάρων ή τη συμπύκνωση χυμού σταφυλιών, μια διαδικασία γνωστή ως ενίσχυση του κρασιού. Οι βασικοί παράγοντες που ελέγχουν την παραγωγή αιθανόλης είναι η περιεκτικότητα σε ζάχαρα, η θερμοκρασία οινοποίησης και το γένος της ζύμης που χρησιμοποιείται.

Η αύξηση της συγκέντρωσης αιθανόλης ενισχύει γενικά την πικρία και τη γλυκύτητα του κρασιού, καταστέλλει την ένταση άλλων γεύσεων και αναστέλλει την ανάπτυξη μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Η ανθεκτικότητα του στελέχους ζύμης *S. cerevisiae* στην αιθανόλη αποτελεί απόδειξη της ευρείας χρήσης του στη βιομηχανία. Η παρουσία αιθανόλης είναι ζωτικής σημασίας για τη σταθερότητα, την παλαίωση και τις οργανοληπτικές ιδιότητες των κρασιών. Ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου της αιθανόλης την καθιστά αποτελεσματικό παράγοντα αφυδάτωσης. Με την πάροδο του χρόνου, αντιδρά αργά με οργανικά οξέα για να σχηματίσει εστέρες και με αλδεΐδες για να σχηματίσει ακετάλες.

Επιπλέον, η επίδραση της αιθανόλης στη μεταβολική δραστηριότητα των ζυμομυκήτων καθορίζει τον τύπο και την ποσότητα των αρωματικών ενώσεων που παράγονται. Χρησιμοποιείται επίσης ως αντιδραστήριο για το σχηματισμό σημαντικών πτητικών ουσιών. Η αιθανόλη λειτουργεί σε συνδυασμό με το νερό για την εξαγωγή συστατικών από σταφύλια, ιδιαίτερα φαινολικών συστατικών, και διαλύει μη πολικές αρωματικές ενώσεις. Βοηθά στη διάλυση πτητικών ενώσεων που παράγονται κατά τη ζύμωση και τη παλαίωση σε ξύλινα βαρέλια, ενώ αποτρέπει την αποβολή διοξειδίου του άνθρακα μαζί με αρωματικές ενώσεις κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.

Μεταξύ όλων των ποτών που έχουν υποστεί ζύμωση, το κρασί έχει τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις μεθανόλης, γεγονός που δεν επηρεάζει άμεσα την αισθητηριακή εμπειρία. Άλλες σημαντικές αλκοόλες, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλοπροπανόλης, της βουτανόλης και των φαινολών, είναι υποπροϊόντα του μεταβολισμού των αμινοξέων ζύμης και συμβάλλουν στο άρωμα του κρασιού. Η μεθανόλη υπάρχει στο κρασί σε χαμηλές συγκεντρώσεις (30-35 mg/L) και δεν είναι ανιχνεύσιμη από τις αισθήσεις. Μεταβολίζεται σε τοξική φορμαλδεΐδη και μυρμηκικό οξύ, οπότε η συγκέντρωσή του στο κρασί παραμένει πάντα πολύ κάτω από το επιτρεπόμενο όριο. Παράγεται κυρίως μέσω διάσπασης πηκτίνης. Με εξαίρεση την εξανόλη, οι ανώτερες αλκοόλες είναι συνήθως παρούσες σε μικρές ποσότητες. Είναι συνήθως υποπροϊόντα της ζύμωσης και μπορούν να συμβάλουν έως και στο 50% του αρώματος του

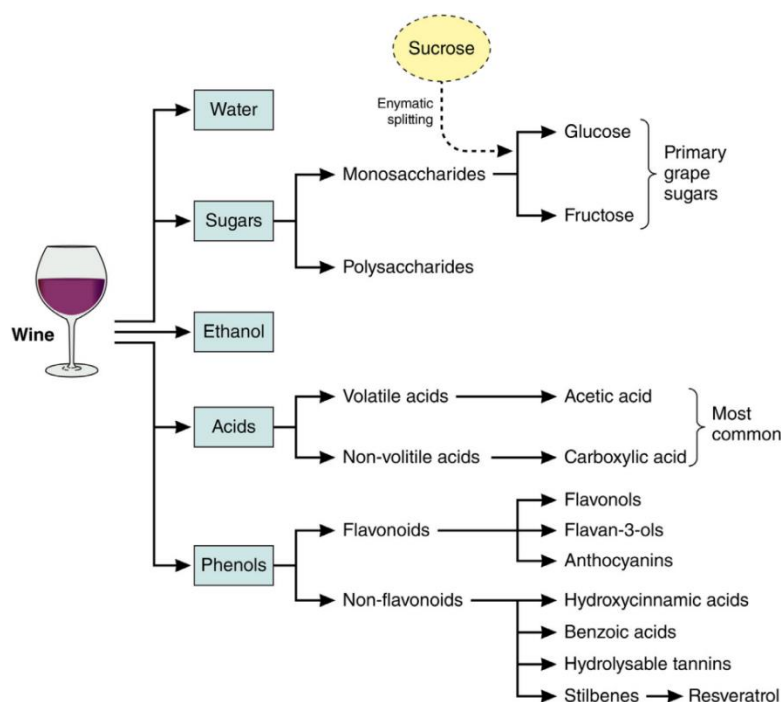
κρασιού. Το κρασί περιέχει επίσης μερικές διόλες και πολυόλες (ή πολυαλκοόλες), η πιο σημαντική από τις οποίες είναι η γλυκερίνη ή αλλιώς γλυκερόλη. Η γλυκερόλη, συνήθως η ουσία με την υψηλότερη συγκέντρωση μετά το νερό και την αιθανόλη, επηρεάζει το ιξώδες του κρασιού και προσδίδει γλυκιά γεύση στους ξηρούς οίνους όταν η συγκέντρωσή της υπερβαίνει το όριο ανίχνευσης (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

3.4. Σάκχαρα

Τα σάκχαρα είναι το κύριο υπόστρωμα για την παραγωγή αιθανόλης κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Τα υπολειμματικά σάκχαρα, τα οποία προκύπτουν από ατελή ζύμωση ή μη ζυμώσιμα σάκχαρα, συμβάλλουν στη γλυκύτητα του κρασιού. Στα σταφύλια, τα κυρίαρχα σάκχαρα είναι εξόζες: φρουκτόζη και γλυκόζη, που συνήθως απαντώνται σε συγκεντρώσεις 0,2-4,0 και 0,5-1,0 g / L αντίστοιχα. Η σακχαρόζη διασπάται ενζυματικά σε φρουκτόζη και γλυκόζη και συνήθως βρίσκεται σε συγκεντρώσεις 0-0,2 g / L, καθιστώντας την δευτερεύον και λιγότερο κοινό συστατικό του κρασιού (Waterhouse AL, Sacks GL, Jeffery DW, 2016).

Αυτά τα σάκχαρα σταφυλιών παρέχουν μεταβολική ενέργεια για την κύρια μαγιά κρασιού, *Saccharomyces cerevisiae*, η οποία μετατρέπει τα σάκχαρα σε αιθανόλη και CO₂, αφήνοντας κάποια υπολειμματικά σάκχαρα. Οι ξηροί επιτραπέζιοι οίνοι έχουν περιεκτικότητα σε υπολειμματικά σάκχαρα 1–4 g/L, το κατώτατο όριο για την ταξινόμηση των οίνων ως «ξηρών» (Vasanth Rupasinghe HP, Joshi VK, Smith A, Parmar I, 2016). Τα σάκχαρα μπορούν επίσης να μεταβολιστούν σε υψηλότερες αλκοόλες, αλδεΐδες και εστέρες λιπαρών οξέων.

Τα υπολειμματικά σάκχαρα είναι εκείνα που δεν έχουν υποστεί ζύμωση. Στα ξηρά κρασιά, τα υπολειμματικά σάκχαρα αποτελούνται κυρίως από πεντόζες, όπως αραβινόζη και ξυλόζη, καθώς και μικρά ποσοστά γλυκόζης και φρουκτόζης που δεν έχουν υποστεί ζύμωση. Η περιεκτικότητα σε υπολειμματικά σάκχαρα στα ξηρά κρασιά είναι συνήθως μικρότερη από 1,5 g / L και μπορεί να αυξηθεί ελαφρώς κατά τη διάρκεια της παλαίωσης σε δρύινα βαρέλι λόγω της διάλυσης των γλυκοζιδίων από το ξύλο και της επακόλουθης διάσπασής τους. (Ribéreau-Gayon κ.ά., 2006, Moreno-Arribas, 2009).



Εικόνα 1: Σύσταση οίνου

3.5. Οργανικά Οξέα

Τα οργανικά οξέα, γνωστά ως οι ενώσεις που φέρουν μία ή περισσότερες ομάδες καρβοξυλικού οξέος, έχουν σημαντικό αντίκτυπο στη σύνθεση, τη σταθερότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των κρασιών. Αυτό είναι ιδιαίτερα ευδιάκριτο στα λευκά κρασιά, όπου τα οξέα βοηθούν στην ενίσχυση της μικροβιολογικής και φυσικοχημικής σταθερότητας. Η υψηλή οξύτητα στα λευκά κρασιά συχνά ισοδυναμεί με μεγαλύτερη δυνατότητα παλαίωσης. Αντίθετα, τα κόκκινα κρασιά μπορούν να επιτύχουν σταθερότητα με λιγότερη οξύτητα, κυρίως λόγω των φαινολικών ενώσεων που ενισχύουν την οξύτητα και εξασφαλίζουν τη σταθερότητα του κρασιού κατά την παλαίωση.

Ένα πρωτογενές οξύ που βρίσκεται τόσο στα άγουρα σταφύλια όσο και στο γλεύκος είναι το τρυγικό οξύ. Ενώ η παρουσία του στη φύση είναι περιορισμένη, είναι ιδιαίτερα άφθονο στα σταφύλια, οδηγώντας στην εναλλακτική του ονομασία, «οξύ του κρασιού». Πριν από τη φάση ωρίμανσης, η συγκέντρωση τρυγικού οξέος στα σταφύλια μπορεί να φτάσει έως και 15 g/L. Σε γλεύκος από τους αμπελώνες του βορρά συχνά ξεπερνά τα 6 g/L σε συγκέντρωση τρυγικού οξέος, ενώ στους αμπελώνες του νότου συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 2-3 g/L. Τα

παράγωγα του τρυγικού οξέος, όπως οι εστέρες και τα άλατα από την οينوποίηση, ικανοποιούν τις ανάγκες ολόκληρης της βιομηχανίας τροφίμων και ποτών, συμπεριλαμβανομένων προϊόντων όπως τα αναψυκτικά και οι σοκολάτες (Ribereau-Gayon et al., 2006). Επειδή το τρυγικό οξύ μεταβολίζεται από ένα περιορισμένο σύνολο μικροοργανισμών, είναι συχνά η προτιμώμενη επιλογή για την αύξηση της οξύτητας σε κρασιά με υψηλό pH. Με την παλαίωση, τα διαλυτά παράγωγα τρυγικού οξέος έχουν την τάση να κρυσταλλώνονται και να καθιζάνουν. Τα κρασιά συνήθως ψύχονται στο τέλος της διαδικασίας οينوποίησης για να επιταχυνθεί αυτό και να διευκολυνθεί η πρώιμη καθίζηση, αποτρέποντας την κρυστάλλωση μέσα στη φιάλη (Jackson, 1998).

Το μηλικό οξύ αντιπροσωπεύει ένα άλλο απαραίτητο οξύ σταφυλιού. Φτάνει στο αποκορύφωμά του σε άγουρα σταφύλια έως και 25 g/L, αν και η συγκέντρωσή του μειώνεται κατά το ήμισυ κατά τη διάρκεια της περιόδου περκασμού των δύο εβδομάδων. Κατά την ωρίμανση του σταφυλιού, η συγκέντρωση κυμαίνεται μεταξύ 4-6,5 g/L στις βόρειες περιοχές, ενώ οι νότιες περιοχές παρουσιάζουν έντονη μείωση στα 1-2 g/L. Περίπου το ήμισυ της συνολικής οξύτητας τόσο του σταφυλιού όσο και του κρασιού αποδίδεται στο μηλικό οξύ, το οποίο προσδίδει μια ξινή γεύση. Η περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ χρησιμεύει ως ζωτικός παράγοντας για την έναρξη της συγκομιδής. Τα σταφύλια περιέχουν επίσης μικρότερες ποσότητες κιτρικού οξέος (0,5-1 g/L) και ασκορβικού οξέος. Ωστόσο, οι ζύμες καταναλώνουν ασκορβικό οξύ και αυτό απουσιάζει από το τελικό προϊόν. Ο μούστος περιλαμβάνει επίσης ουρονικά οξέα (γαλακτουρονικό οξύ και γλυκουρονικό οξύ) και φαινολικά οξέα της κινναμωμικής ομάδας (κουμαρικό οξύ) που είναι εστεροποιημένα με παράγωγα τρυγικού οξέος. Η πλειονότητα των οργανικών οξέων στο γλεύκος και το κρασί είναι πολυλειτουργικά μόρια, με πολλά να είναι υδροξυοξέα. Αυτές οι λειτουργικές ομάδες καθιστούν τα οξέα πολικά και υδρόφιλα, καθιστώντας τα διαλυτά στο νερό και αραιά διαλύματα αλκοόλης, όπως το κρασί. Αυτή η προσαρμόσιμη ιδιότητα είναι που επιτρέπει τη χημική τους δραστηριότητα, επιτρέποντάς τους να αναπτυχθούν κατά την ωρίμανση (Jackson, 1998, Σουφλερός, 1998).

3.6. Αζωτούχες ενώσεις

Οι αζωτούχες ενώσεις στο κρασί αποτελούν περίπου το 20% των ξηρών υπολειμμάτων. Από αυτό, η περιεκτικότητα σε καθαρό άζωτο είναι περίπου 16%. Οι αζωτούχες ενώσεις μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο τύπους: οργανικές και ανόργανες. Οι ανόργανες αζωτούχες ενώσεις βρίσκονται συνήθως στο κρασί με τη μορφή αμμωνιακών αλάτων. Αντίθετα, οι

οργανικές αζωτούχες ενώσεις περιλαμβάνουν κυρίως πρωτεΐνες, πολυπεπτίδια, αμινοξέα και αμίδια (Νακοπούλου, 2005).

3.7. Βιταμίνες

Το κρασί περιέχει μια σειρά βιταμινών, συμπεριλαμβανομένων των B1, B2, B3, B4, B5, B6, B12.1, H, C, P. Αυτές οι βιταμίνες επηρεάζονται σημαντικά από διάφορες φάσεις του μεταβολισμού της ζύμης. Για παράδειγμα, κατά τη διάρκεια της φάσης ανάπτυξης της ζύμης, καταναλώνονται γρήγορα βιταμίνες όπως η θειαμίνη (B1) και η πυριδοξίνη (B6), οι οποίες είναι απαραίτητες για τον πολλαπλασιασμό της ζύμης. Κατά τη διάρκεια της φάσης ζύμωσης, ο μεταβολισμός της μαγιάς μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή και ενίσχυση ορισμένων βιταμινών όπως το παντοθενικό οξύ (B5) και η βιοτίνη (H), συμβάλλοντας στη συνολική θρεπτική αξία του κρασιού.

3.8. Ένζυμα

Ένζυμα που προέρχονται από σταφύλια και παράγονται από μικροοργανισμούς υπάρχουν στο κρασί. Τα κύρια ένζυμα περιλαμβάνουν καταλάσες, οξειδάσες, ιμπερτάσες, πρωτεάσες, πηκτινάσες, εστεράσες και ταννάσες. Οι καταλάσες και οι οξειδάσες είναι υπεύθυνες για την οξειδωτική σταθερότητα του κρασιού, επηρεάζοντας το χρώμα και το άρωμα. Οι ιμπερτάσες παίζουν ρόλο στη μετατροπή της σακχαρόζης σε γλυκόζη και φρουκτόζη, επηρεάζοντας τη γλυκύτητα του κρασιού. Οι πρωτεάσες συμβάλλουν στη σταθερότητα των πρωτεϊνών, επηρεάζοντας τη διαύγεια του κρασιού. Οι πηκτινάσες εμπλέκονται στη διαδικασία διαύγασης και στην εκχύλιση χυμού κατά τη διάρκεια της οινοποίησης. Οι εστεράσες επηρεάζουν το άρωμα και τα γευστικά προφίλ του κρασιού μέσω της υδρόλυσης των εστέρων και οι ταννάσες μπορούν να επηρεάσουν τη στυπτικότητα του κρασιού διασπώντας τις τανίνες (Σουφλερός, 1997).

3.9. Ανόργανα συστατικά

Η περιεκτικότητα σε ανόργανα άλατα του κρασιού αποτελείται κυρίως από ανόργανα οξέα, συμπεριλαμβανομένων αρκετών ανιόντων όπως SO_4 , Cl^- , PO_4 και κατιόντων όπως Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Fe^{++} , Cu^{++} , μεταξύ άλλων μετάλλων. Αυτά τα μέταλλα μπορούν να επηρεάσουν διάφορες ιδιότητες του κρασιού. Για παράδειγμα, το κάλιο (K^+) και το ασβέστιο (Ca^{++}) μπορούν να επηρεάσουν τη σταθερότητα και τη διαύγεια του κρασιού. Το μαγνήσιο (Mg^{++}) είναι απαραίτητο για την υγεία της ζύμης και έτσι επηρεάζει τη διαδικασία ζύμωσης. Το νάτριο (Na^+) και το χλώριο (Cl^-) μπορεί να επηρεάσουν τη γεύση του κρασιού. Ίχνη

σιδήρου (Fe^{++}) και χαλκού (Cu^{++}) μπορούν να επηρεάσουν την οξειδωτική σταθερότητα και το χρώμα του κρασιού (Belitz et al., 2006).

3.10. Άλλες κατηγορίες ενώσεων

Οι εστέρες, οι οποίες είναι χημικές ενώσεις που σχηματίζονται από τη συμπύκνωση ενός οξέος και μιας αλκοόλης, έχουν διπλή προέλευση στην παραγωγή κρασιού. Μπορούν να σχηματιστούν είτε μέσω ενζυματικής εστεροποίησης κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης είτε μέσω χημικής εστεροποίησης κατά τη διάρκεια μακροχρόνιας παλαίωσης. Ως αποτέλεσμα, η περιεκτικότητα σε εστέρα αυξάνεται σταδιακά κατά τη διάρκεια της παλαίωσης και οι παλαιωμένοι οίνοι περιέχουν 2-3 φορές περισσότερους εστέρες από τους νεαρούς οίνους. Συγκεκριμένα, οι εστέρες επηρεάζουν σημαντικά τις οργανοληπτικές ιδιότητες του κρασιού. Ο οξικός αιθυλεστέρας, ο οποίος αποτελείται κατά 80% από πτητικούς εστέρες, προσδίδει δυσάρεστη οσμή στο κρασί. Ωστόσο, οξικοί εστέρες 2- μεθυλοπροπυλίου, του 3-μεθυλοβουτυλίου, του 2-φαινυλοαιθυλίου και αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων με ζυγό αριθμό ατόμων άνθρακα αποτελούν αναπόσπαστα συστατικά του αρώματος του οίνου (Ribereau-Gayon et al. 2006, Σουφλερός 1997).

Τα σταφύλια περιέχουν μικρή ποσότητα κετονών, οι περισσότερες από τις οποίες διατηρούνται μετά από αλκοολική ζύμωση. Τα έντονα αρώματα εξωτικών λουλουδιών ή τριαντάφυλλων από β-δαμασκηνόνη, μαζί με το χαμηλό όριο οργανοληπτικής ανίχνευσης, υποδηλώνουν το σημαντικό ρόλο της στο άρωμα πολλών λευκών ποικιλιών, συμπεριλαμβανομένων των Chardonnay (Simpson and Miller, 1984) και Riesling (Strauss, 1984, Wilson, Anderson et al., 1993). Επιπλέον, στις ερυθρές ποικιλίες, η β-ιονίνη παράγει χαρακτηριστικά αρώματα βιολέτας και σμέουρου (Ferreira et al., 1993). Ενώ πολλές κετόνες παράγονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, μόνο λίγες έχουν αξιοσημείωτη οργανοληπτική σημασία (Jackson, 1998).

Το κρασί περιέχει επίσης μια σειρά από πηκτινικές ουσίες, όπως πηκτίνες και οζάνες στα οποία ανήκουν και τα κόμμεα. Είναι συνήθως πολυμερή ζαχαρούχων οξέων, διακλαδισμένες αλυσίδες (πολυσακχαρίτες) και δρουν ως προστατευτικά κολλοειδή που εμποδίζουν τη διάγνωση. Για το λόγο αυτό, χρησιμοποιούνται πηκτινολυτικά ένζυμα για την αποικοδόμησή τους. (Τσακίρης, 1998). Επιπλέον, μια άλλη κατηγορία ενώσεων που περιέχονται στο κρασί είναι τα τερπένια. Είναι οργανικές ενώσεις με 10 άτομα άνθρακα και είναι αρωματικές ενώσεις υπεύθυνες για το κύριο άρωμα ορισμένων έντονα αρωματικών ποικιλιών όπως το

Moscato και το Riesling. Τυπικές ενώσεις τερπενίων είναι η λιναλοόλη, η (cis) γερανιόλη, η (trans) νερόλη και η α-τερπινεόλη (Andreas Bimpilas, 2017).

3.11. Ελεύθερες ρίζες

Οι ελεύθερες ρίζες είναι εξαιρετικά δραστικά μόρια που μπορούν να αλληλεπιδράσουν με βασικά συστατικά του κυττάρου, οξειδώνοντας εύκολα και τροποποιώντας ζωτικά βιολογικά μόρια όπως υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες, DNA και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα ενσωματωμένα στις κυτταρικές μεμβράνες, τα οποία είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην οξείδωση. Ένα άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα μη συζευγμένα ηλεκτρόνια και ανεξάρτητη παρουσία θεωρείται ελεύθερη ρίζα και αυτές μπορούν εύκολα να συμμετάσχουν σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις με γειτονικά μόρια (Rosen et al., 1999).

Υπάρχουν επίσης διρίζες, όπου δύο μη ζευγαρωμένα ηλεκτρόνια βρίσκονται σε κάποια απόσταση μεταξύ τους αλλά μέσα στο ίδιο μόριο (Schlesier et al., 2002). Κατά τη διάρκεια των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων, όχι μόνο τα γειτονικά μόρια-στόχοι αλλάζουν σημαντικά, αλλά τα μη ζευγαρωμένα ηλεκτρόνια μπορούν επίσης να μεταφερθούν από τον ένα στόχο στον άλλο, δημιουργώντας έτσι μια αλυσιδωτή αντίδραση ελεύθερων ριζών. Οι βλαβερές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών ενισχύονται λόγω της διάδοσης των αλλαγών που προκαλούνται από αυτή την αλυσιδωτή αντίδραση (Schlesier et al., 2002).

Μια ποικιλία ελεύθερων ριζών σχηματίζεται καθημερινά στο σώμα μας λόγω της υψηλής συγκέντρωσης οξυγόνου, της έκθεσης σε ουσίες όπως το όζον, η αιθαλομίχλη, οι χημικές ουσίες και τα φάρμακα, καθώς και κατά τη διάρκεια φυσιολογικών λειτουργιών (Γαλάρης, 2001). Οι πιο σημαντικές ελεύθερες ρίζες είναι μοριακά είδη που επικεντρώνονται στο οξυγόνο, μερικές φορές άζωτο ή άνθρακα. Το οξυγόνο που αναπνέουμε είναι μια ελεύθερη ρίζα, καθώς περιέχει δύο μη ζευγαρωμένα ηλεκτρόνια που βρίσκονται σε διαφορετικά τροχιακά. Συλλογικά, όλα τα μοριακά είδη που περιέχουν οξυγόνο, είτε ελεύθερες ρίζες είτε όχι, αναφέρονται ως αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ΔΕΟ) (Βαλαβανίδης, 2006).

Στο πλαίσιο του κρασιού, οι ελεύθερες ρίζες είναι σημαντικές επειδή μπορούν να επηρεάσουν τη σταθερότητα, την ποιότητα και τη μακροζωία του προϊόντος. Τα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στο κρασί, όπως οι πολυφαινόλες, βοηθούν στην εξουδετέρωση αυτών των ριζών, διατηρώντας έτσι την ακεραιότητα του κρασιού και συμβάλλοντας στα οφέλη του για την υγεία.

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκύψουν από μια ποικιλία πηγών, συμπεριλαμβανομένης της υπεριώδους και ιονίζουσας ακτινοβολίας, της ραδιόλυσης του H₂O, της

φαγοκυττάρωσης, των αντιδράσεων που καταλύονται από την οξειδάση της ξανθίνης, της αναπνευστικής αλυσίδας στα μιτοχόνδρια, του μεταβολισμού των κατεχολαμινών, της οξείδωσης της αιμοσφαιρίνης, της οξειδοαναγωγικής ανακύκλωσης, της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων στο ενδοπλασματικό δίκτυο και πυρήνα και του μεταβολισμού των εικοσανοειδών (Groff and Gropper, 2000).

IV. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΟΙΝΟ

4.1. Φαινόλες

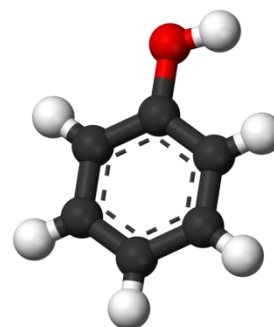
Οι φαινόλες και οι φαινολικές ουσίες περιλαμβάνουν όλες τις ενώσεις με υδροξυλομάδες συνδεδεμένες με αρωματικούς δακτυλίους. Οι απλούστερες φαινόλες διαθέτουν έναν μόνο αρωματικό δακτύλιο με μία ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου. Η γουαϊακόλη και το καφεϊκό οξύ είναι παραδείγματα τέτοιων φαινολών. Αντίθετα, οι πολυφαινόλες είναι μια κατηγορία ενώσεων που διαθέτουν πολλαπλούς δακτυλίους φαινόλης στη δομή τους, η οποία περιλαμβάνει την πλειοψηφία των φαινολικών ουσιών στο κρασί, όπως η επικατεχίνη και η ρεσβερατρόλη (Waterhouse, Sacks & Jeffery, 2016). Οι φαινόλες παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση, το άρωμα, τη γεύση και τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του κρασιού, ιδιαίτερα στο κόκκινο κρασί (Soares, Brandão, Mateus, & Freitas, 2017). Είναι αξιοσημείωτο ότι τα κόκκινα κρασιά περιέχουν σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινόλες από τα λευκά κρασιά (2 g / L έναντι 200mg / L) (Waterhouse, Sacks & Jeffery, 2016).

Οι φαινολικές ουσίες είναι ζωτικής σημασίας για το κρασί λόγω των αντιβιοτικών και αντισηπτικών ιδιοτήτων τους (όπως το βενζοϊκό οξύ, το σαλικυλικό οξύ), οι οποίες είναι ευεργετικές για τη συντήρηση των τροφίμων. Αυτά τα οξέα μπορούν να διαδραματίσουν ρόλο στη διατήρηση της μικροβιολογικής κατάστασης του κρασιού, ιδιαίτερα κατά των βακτηρίων (Σουφλερός, 1997). Ορισμένα φαινολικά, ειδικά εκείνα που έχουν δύο φαινολικά -OH στην ορθο-θέση (όπως η καφεΐνη και το γαλλικό), οξειδώνονται εύκολα, οδηγώντας στη θέση κινόνης. Οι κινόνες, που έχουν γκρίζα απόχρωση, υποτίθεται ότι παίζουν ρόλο στην οξειδωτική μετατροπή του χρώματος των λευκών γλεύκους και κρασιών σε καφέ. Κατά τη διάρκεια της παλαίωσης, τα φαινολικά οξέα υδρολύονται και περνούν σε ελεύθερη μορφή.

Τα φαινολικά κρασιού μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο τύπους: φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή. Τα φλαβονοειδή, που αποτελούν την πλειοψηφία των πολυφαινολικών συστατικών στο κόκκινο κρασί (> 85%, ≥ 1 g / L), περιλαμβάνουν ενώσεις όπως φλαβονόλες, φλαβαν-3-όλες και ανθοκυανίνες. Η κατηγορία των μη φλαβονοειδών περιλαμβάνει παράγωγα

καρβοξυλικών οξέων, υδροξυκιναμικά, υδρολυμένες τανίνες και, κυρίως, ρεσβερατρόλη, ένα παράγωγο στιλβενίου (Artero, Artero, Tarín, & Cano, 2015). Τα φλαβονοειδή εξάγονται από το δέρμα σταφυλιών, τους σπόρους και το στέλεχος. Οι ανθοκυανίνες συμβάλλουν στο χρώμα του κόκκινου κρασιού. Τα μη φλαβονοειδή, όπως οι τανίνες, μπορούν να βρεθούν σε δρύινα βαρέλια και μπορεί να εμφανιστούν στο κρασί κατά την αποθήκευση, ενισχύοντας τη στυφότητα του κρασιού. Η ρεσβερατρόλη βιοσυντίθεται σε όλο το σταφύλι αποκρίνοντας σε τραυματισμούς, μηχανικά τραύματα, μυκητιασικές λοιμώξεις ή υπεριώδη ακτινοβολία (Lekli, Ray, & Das, 2010).

Διάφορες φαινολικές ουσίες σταφυλιών υφίστανται μεταβολές στις δομές τους λόγω αντιδράσεων ζύμωσης και επακόλουθων χημικών αντιδράσεων κατά την αποθήκευση, συμπεριλαμβανομένης της υδρόλυσης γλυκοσιδίων, των αναδιατάξεων που καταλύονται από οξύ, των αντιδράσεων οξείδωσης και των αντιδράσεων με προϊόντα οξείδωσης. Όλες οι φαινολικές ενώσεις είναι ευάλωτες σε αντιδράσεις οξείδωσης, αντιδρώντας με οξυγόνο παρουσία σιδήρου για την παραγωγή κινόνης και υπεροξειδίου του υδρογόνου. Και οι δύο συνεχίζουν τη διαδικασία οξείδωσης. Η αντιδραστικότητά τους στα προϊόντα οξείδωσης συμβάλλει στον πολύπλοκο ρόλο τους τόσο ως προοξειδωτικό όσο και ως αντιοξειδωτικό. Ενώ η παρουσία τους επιταχύνει την κατανάλωση οξυγόνου και το σχηματισμό ορισμένων προϊόντων οξείδωσης, μπορούν ταυτόχρονα να μειώσουν την εμφάνιση ορισμένων (συχνά ανεπιθύμητων) οξειδωτικών αλλαγών (Waterhouse, Sacks & Jeffery, 2016).



Εικ.2: Φαινόλη

Η συνολική περιεκτικότητα των οίνων σε φαινόλες ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό, αλλά είναι γενικά ισοδύναμη με περίπου 200 mg/L ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE) στους λευκούς οίνους και 2000 mg/L στους ερυθρούς οίνους που είναι έτοιμοι για κατανάλωση. Τα κόκκινα που προορίζονται για μακρά παλαίωση μπορεί να έχουν έως και 3500 mg/L ή περισσότερο, αλλά τέτοιες υψηλές σειρές καθιστούν τους οίνους εξαιρετικά στυπτικούς έως ότου η αντιληπτή τανίνη μειωθεί με την παλαίωση. Αν και οι χρωματογραφικές αναλύσεις είναι δυνατές, η μέθοδος Folin-Ciocalteu χρησιμοποιείται συνήθως για την ανάλυση ολικών φαινολικών. Αυτή η μέθοδος δίνει ποσοτικά αποτελέσματα που αντικατοπτρίζουν καλύτερα τις πραγματικές συγκεντρώσεις φαινόλης και είναι πιο χρήσιμη για συγκρίσεις μεταξύ κρασιών (Waterhouse, Sacks & Jeffery, 2016).

4.2. Μη φλαβονοειδή

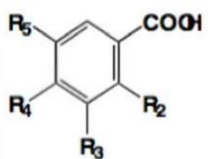
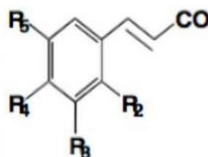
Οι υδροξυκιναμικές ενώσεις, οι κύριες φαινόλες στο χυμό σταφυλιών και μια βασική κατηγορία φαινολικών στο λευκό κρασί, υπάρχουν σε παρόμοια επίπεδα τόσο στα κόκκινα όσο και στα λευκά κρασιά. Συγκεκριμένα, αυτές οι ενώσεις, ειδικά το καφεϊκό οξύ, είναι οι πρώτες που υποβάλλονται σε ενζυματική οξείδωση κατά τη σύνθλιψη, ξεκινώντας τη διαδικασία αμαύρωσης του μούστου. Τρία διαδεδομένα υδροξυκιναμικά βρίσκονται στα σταφύλια και το κρασί: αυτά που προέρχονται από κουμαρικό οξύ (4- υδροξυκιναμικό οξύ), καφεϊκό οξύ (με υποκατάσταση κατεχόλης) και φερουλικό οξύ (μέσω υποκατάστασης γουαϊακόλης).

Όσον αφορά την ποσότητα, τα υδροξυκιναμικά οξέα και τα παράγωγά τους αποτελούν μεγαλύτερο ποσοστό. Εμφανίζονται κυρίως ως εστέρες που προκύπτουν από αντιδράσεις με τρυγικό οξύ, αν και μπορούν επίσης να αντιδράσουν με σάκχαρα, διάφορες αλκοόλες και άλλα οργανικά οξέα. Η εστεροποίηση του τρυγικού οξέος με καφεϊκό, p-κουμαρικό και φερουλικό οξύ σχηματίζει τους αντίστοιχους εστέρες: καφαρικό, κουτταρικό και φερταρικό οξύ. Αυτοί οι εστέρες διασπώνται στα μονομερή τους παρουσία πηκτίνο-μεθυλο-εστεράσης και συνεχίζουν να υδρολύονται αργά κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Επιπλέον, όταν τα κιναμικά οξέα συνδυάζονται με ανθοκυανικούς μονοσακχαρίτες, σχηματίζουν ακυλιωμένες ανθοκυανίνες μέσω της εστεροποίησης καφεϊκού και p-κουμαρικού οξέος με γλυκοζίτη (Ribéreau-Gayon et al., 2006, Rentzsch et al., 2009).

Τα βενζοϊκά οξέα, ενώ αποτελούν δευτερεύον συστατικό στα περισσότερα κρασιά που έχουν υποστεί πρόσφατα ζύμωση, μπορούν να αυξηθούν κατά την αποθήκευση μέσω της εκχύλισης δρυός ή της υδρόλυσης των τανινών. Τέτοιες τανίνες θα μπορούσαν να υδρολυθούν είτε από προανθοκυανιδίνες δρυός είτε από σταφύλι κατά τη διάρκεια της γήρανσης. Αν και δεν βρίσκονται ελεύθερα στα σταφύλια, τα βενζοϊκά οξέα συμμετέχουν σε ενώσεις που εμπλέκονται με ανθοκυανίνες και αναδύονται σε ελεύθερη κατάσταση κατά τη διάρκεια της παλαίωσης του κρασιού, αυξάνοντας την περιεκτικότητά τους. Είναι σημαντικό ότι τα βενζοϊκά οξέα αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της δομής των τανινών.

Οι μη φλαβονοειδής φαινόλες περιλαμβάνουν επίσης στιλβένια, τα οποία είναι πολύπλοκες πολυφαινολικές ενώσεις που διαθέτουν δύο δακτυλίους βενζολίου που συνδέονται με μια αλυσίδα αιθανίου ή αιθυλενίου. Τα στιλβένια βρίσκονται σε σταφύλια, κρασιά και βαρέλια από ξύλο βελανιδιάς. Μεταξύ των στιλβενίων, η πιο γνωστή μοναδική φαινολική ένωση

κρασιού είναι η ρεσβερατρόλη. Ως αντίδραση σε μυκητιασική λοίμωξη και άλλες πιέσεις, η ρεσβερατρόλη, που βρίσκεται σε όλο το αμπέλι και στη φλούδα του σταφυλιού, παράγεται ως γλυκοζίτης και η μορφή αγλυκόνης φαίνεται να ολιγομερίζεται σε δραστικές αντιμυκητιασικές βινιφερίνες (Andrew L. Waterhouse, Gavin L. Sacks και David W. Jeffery, 2016). Η ρεσβερατρόλη (3,5,4-τρι-υδροξυ-στιλβένιο) βρίσκεται στη μορφή trans και ως παράγωγο γλυκόζης. Αυτή η ένωση, που αποδίδεται με θεραπευτικές, αντικαρκινικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες, φαίνεται επίσης να ενισχύει την αντίσταση των σταφυλίων σε κρυπτογαμικές ασθένειες. Δεδομένου ότι βρίσκεται μόνο στις φλούδες, η ρεσβερατρόλη είναι ανιχνεύσιμη μόνο στα κόκκινα κρασιά, όπου εξάγεται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ερυθρής οиноποίησης. Η περιεκτικότητά του, ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία και κυμαίνεται μεταξύ 1-3 mg/l (Κοτσερίδης, 2005/b, Ribereau-Gayon, 2000).

Βασικό οξύ	Βασικός τύπος	Ονομασία φαινολοξέων	Θέση πρόσθετων ομάδων	
			-OH	-OCH ₃
Βενζοϊκό		Σαλυκιλικό οξύ	2	
		π-υδρόξυβενζοϊκό	4	
		Γαλλικό οξύ	3,4,5	
		Πρωτοκατεχινικό οξύ	3,4	
		Βανιλλικό οξύ	4	3
		Συριγγικό οξύ	4	3,5
		Γεντισικό οξύ	2,5	
Κινναμωμικό		π-κουμαρικό οξύ	4	
		Καφεϊκό οξύ	3,4	
		Χλωρογενικό οξύ	3,4	
		Φερουλικό οξύ	4	3

Εικόνα 3: Τα κυριότερα φαινολοξέα των σταφυλών (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982)

4.3. Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή, μια σημαντική ομάδα φυσικών μεταβολικών προϊόντων, είναι ευρέως διαδεδομένα σε ανώτερα φυτά και βρύα. Εκπληρώνουν διάφορους βιολογικούς ρόλους στα φυτά, συμπεριλαμβανομένης της προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία, της διαμόρφωσης των ενζύμων και της άμυνας έναντι μολυσματικών παραγόντων. Στο πλαίσιο της

ανθρώπινης διατροφής, είναι γνωστό ότι συμβάλλουν στην υγεία κυρίως μέσω αντιοξειδωτικών δράσεων και εξουδετέρωσης των ελεύθερων ριζών.

Τα φλαβονοειδή περιέχουν πολλαπλούς αρωματικούς δακτυλίους με υδροξυλομάδες, καθιστώντας τα πολυφαινόλες. Χαρακτηριζόμενα από δομή τριών δακτυλίων, τα φλαβονοειδή έχουν έναν κεντρικό δακτύλιο που περιέχει οξυγόνο (δακτύλιος C) με ποικίλες καταστάσεις οξείδωσης, καθορίζοντας την κατηγορία τους. Αυτός ο κεντρικός δακτύλιος συνδέεται με έναν αρωματικό δακτύλιο (δακτύλιος A) στη μία πλευρά και συνδέεται με έναν άλλο αρωματικό δακτύλιο (δακτύλιος B) με έναν μόνο δεσμό. Όλα τα φλαβονοειδή που υπάρχουν στα σταφύλια και στο κρασί μοιράζονται τις ίδιες ομάδες υποκατάστασης υδροξυλίου στον δακτύλιο A, στις θέσεις 5 και 7. Ωστόσο, οι διαφορές στην κατάσταση οξείδωσης και η υποκατάσταση στον δακτύλιο C καθορίζουν τις ξεχωριστές κατηγορίες φλαβονοειδών.

Οι φλαβανό-3-όλες αντιπροσωπεύουν την πιο άφθονη κατηγορία φλαβονοειδών. Ο όρος "flavan" σημαίνει κορεσμένο δακτύλιο C και το επίθημα "-3-όλη" υποδηλώνει ομάδα υδροξυλίου στη θέση C3. Οι φλαβαν-3-όλες περιλαμβάνουν μονομερείς κατεχίνες, αν και οι περισσότερες υπάρχουν στις ολιγομερείς και πολυμερείς μορφές της προανθοκυανιδίνης που βρίσκονται σε φλοιούς σταφυλιών και σπόρους. Στους ερυθρούς οίνους, αυτές οι μεγαλύτερες ενώσεις αποτελούν περίπου το ήμισυ των φαινολικών ουσιών, αλλά οι συγκεντρώσεις τους στα λευκά κρασιά είναι σχετικά ασήμαντες.

Οι φλαβανόλες διαθέτουν μια κετονική ομάδα στη θέση C4 και έναν ακόρεστο δεσμό μεταξύ C2 και C3 (ένα "flavan") καθώς και μια ομάδα υδροξυλίου στο C3. Οι ανθοκυανίνες, που χαρακτηρίζονται από έναν πλήρως αρωματικό, θετικά φορτισμένο δακτύλιο, είναι πολυφαινόλες κόκκινου χρώματος. Η άμεση επίδρασή τους στη γεύση είναι ελάχιστη, αλλά τα υψηλής ποιότητας κόκκινα κρασιά έχουν συχνά αυξημένα επίπεδα ανθοκυανίνης. Οι ανθοκυανίνες αντιδρούν με συμπυκνωμένες τανίνες για να δημιουργήσουν σταθερές χρωστικές ουσίες κόκκινου κρασιού. Το μέλος της κλάσης ορίζεται από το μοτίβο υποκατάστασης στον δακτύλιο B. Οι τυπικές υποκαταστάσεις περιλαμβάνουν ένα άλφα-υδροξύλιο στη θέση 4', με πρόσθετη υποκατάσταση οξυγόνου στα 3' και/ή 5'. Αυτά τα οξυγόνα μπορεί να είναι υδροξύλια ή μεθοξύλια (Andrew L. Waterhouse, Gavin L. Sacks και David W. Jeffery, 2016).

4.4. Οι φλαβονόλες

Οι φλαβόνες, μια υποκατηγορία πολυ-υδροξυφλαβονοειδών, βασίζονται στη δομή της φλαβόνης (2-φαινυλοχρωμόνη). Όταν οι φλαβόνες έχουν 3-υδροξυ υποκαταστάση, αναφέρονται ως φλαβονόλες (Buckingham et al., 2015). Ως κίτρινες χρωστικές ουσίες στις φλούδες

σταφυλιών, υπάρχουν είτε ως 3-γλυκοσίδες κουερσετίνης, καμφερόλης, μυρικετίνης και ισοραμνετίνης είτε ως αγλυκονικά παράγωγα που παράγονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Αν και οι τέσσερις φλαβόνες έχουν εντοπιστεί σε ερυθρούς οίνους, μόνο η κερκετίνη και η καμφερόλη έχουν ανιχνευθεί σε λευκούς οίνους. Στο κρασί, οι φλαβόνες μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα ("copigments") με ανθοκυανίνες, ο πρωταρχικός ρόλος τους είναι να προστατεύουν τη σάρκα από την υπεριώδη ακτινοβολία (Cheynier 2006, Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Οι φλαβονόλες αποτελούν τη λιγότερο άφθονη ομάδα φλαβονοειδών οίνου, που κυμαίνονται από 1-10% της συνολικής φαινολικής περιεκτικότητας και υπόκεινται σε διακυμάνσεις ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης. Οι τυπικές συγκεντρώσεις είναι περίπου 100 mg/l στους ερυθρούς οίνους και 1-3 mg/l στους λευκούς οίνους χωρίς εκχύλιση (Jackson, 1998).

4.5. Φλαβαν-3-όλες (κατεχίνες) και προκυανιδίνες

Οι φλαβαν-3-όλες, που προέρχονται κατά τη διάσπαση των φλαβανονών σε φλαβάνες, χαρακτηρίζονται από την υδρογόνωση του κεντρικού ετερόκυκλου δακτυλίου της φλαβονόλης (Buckingham et al., 2015). Το πιο κοινό flavan-3-ol, κατεχίνη, είναι το επώνυμο για την ομάδα. Οι κατεχίνες εμφανίζονται ως μονομερή, oligομερή και πολυμερή στο κρασί και βρίσκονται κυρίως σε φλούδες σταφυλιών και μίσχους με ίχνη στα γίγαρτα (Terrier et al., 2009). Η (+)-κατεχίνη, η (-)-επικατεχίνη και ο (-)-3-γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης (epicatechin-3-gallate) αποτελούν τα βασικά μονομερή, ενώ πρόσθετα μονομερή βρίσκονται σε σταφύλια εκτός του γένους *Vinifera* και γαλλο-κατεχίνη έχει εντοπιστεί στα σταφύλια *V. vinifera* (Cheynier, 2006).

Οι προανθοκυανιδίνες είναι μια κατηγορία oligομερών φλαβαν-3-ολών που παράγονται από έντονα οξειδωμένες κατεχίνες. Το όνομά τους προέρχεται από την ιδιότητά τους να αποσυντίθενται σε έγχρωμες ανθοκυανιδίνες παρουσία θερμότητας και ανόργανων οξέων. Επιπλέον, μπορούν να συνδεθούν με πρωτεΐνες. Οι προκυανιδίνες είναι οι πιο αναγνωρισμένες προανθοκυανιδίνες, που αποτελούνται από μονομερή κατεχίνης και επικατεχίνης. Όταν θερμαίνονται παρουσία ανόργανων οξέων, αποσυντίθενται σε κυανιδίνη. Οι προδελφινίδες συμπεριφέρονται παρόμοια, αποδίδοντας δελφινιδίνη υπό πανομοιότυπες συνθήκες (Buckingham et al., 2015).

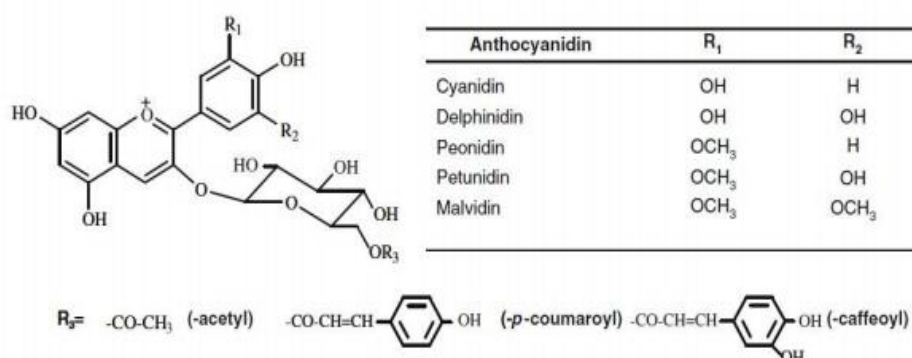
Οι προανθοκυανίνες, σημαντικοί δείκτες ποιότητας σε δείγματα σταφυλιών και κρασιών, διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο:

- Μπορούν να αντιδράσουν με τις ανθοκυανίνες για να δημιουργήσουν τις σταθερές χρωστικές ουσίες που βρίσκονται στο παλαιωμένο κόκκινο κρασί.
- Ως ισχυρές φαινολικές ενώσεις, επιταχύνουν το ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου και αντιδρούν με υποπροϊόντα οξείδωσης. Οι ομάδες κατεχόλης στον δακτύλιο Β παράγουν προϊόντα ο-κινόνης κατά την οξείδωση, τα οποία αντιδρούν περαιτέρω με άλλες φαινόλες για να σχηματίσουν νέους δεσμούς.
- Αλληλεπιδρούν με διάφορα υποπροϊόντα οξείδωσης, όπως κινόνες και αλδεϋδες, ουσιαστικά καθαρίζοντάς τα και εμποδίζοντας τη συσσώρευσή τους.
- Έχουν ισχυρή συσχέτιση με την αντιληπτή στυφότητα στα κόκκινα κρασιά (δηλαδή, μια αντιληπτή απώλεια λίπανσης στο στόμα).

4.6. Οι ανθοκυανίνες

Οι ανθοκυανίνες, ή ανθοκυανιδίνες, είναι γλυκοζυλιωμένα παράγωγα που παρέχουν στα σταφύλια την κόκκινη χρωστική ουσία τους. Βρίσκονται κυρίως στη φλούδα των σταφυλιών και σχεδόν πάντα εμφανίζονται στο κρασί ως γλυκοζυλιωμένες μορφές. Αυτές οι ενώσεις έχουν έναν ετεροκυκλικό οξυγονωμένο δακτύλιο πυρόλιου, επιτρέποντας το σχηματισμό αλάτων με ανιόντα. Τα διάφορα ανθοκυανιούχα σταφύλια προέρχονται από το μόριο φαινυλο-2-βενζοπυριλίου. Οι ανθοκυανιδίνες αποτελούνται από δύο δακτυλίους βενζολίου (Α και Β) που συνδέονται με δακτύλιο πυρυλίου. Ο δακτύλιος Α διαθέτει πάντα δύο φαινολικά υδροξύλια στις θέσεις -5 και -7, ενώ ο δακτύλιος Β φέρει ένα φαινολικό υδροξύλιο στη θέση -4'. Οι ανθοκυανίνες είναι ετεροσίδες ανθοκυανιδινών με αλδόσεις, κυρίως γλυκόζη. Η γλυκοζυλιωμένη μορφή των ανθοκυανινών είναι πιο σταθερή από την αγλυκονική μορφή των ανθοκυανιδινών, καθιστώντας την πρώτη πιο διαδεδομένη στη φύση.

Οι ανθοκυανίνες ταξινομούνται με βάση τη θέση των υδροξυλίων και των μεθυλίων στον δακτύλιο Β των ανθοκυανιδινών. Από τις εννέα γνωστές ανθοκυανιδίνες, πέντε (Κυανιδίνη, Πεονιδίνη, Δελφινιδίνη, Πετουνιδίνη και Μαλβιδίνη) αποτελούν τα δομικά στοιχεία των ανθοκυανινών που βρίσκονται στα σταφύλια και το κρασί (Κουράκου-Δραγώνα, 1998; Ribereau-Gayon, 2006).



Εικόνα 4: Δομή μορίου ανθοκυανιδινών

Η μαλβιδίνη είναι η πιο ζωτική χρωστική ουσία στα κόκκινα σταφύλια, εξ ου και το εναλλακτικό της όνομα, οινιδίνη. Ωστόσο, η πελαργονιδίνη απουσιάζει από αυτά. Οι χρωστικές ουσίες που βρίσκονται φυσικά δεν είναι ανθοκυανιδίνες, αλλά ενώσεις τους με ένα ή δύο μόρια σακχάρου, που ονομάζονται ανθοκυανίνες (ή ανθοκυάνες). Στις ανθοκυανίνες σταφυλιών, η γλυκόζη σχηματίζει το μόριο τους. Ανάλογα με τη θέση όπου η γλυκόζη προσκολλάται στο μόριο της ανθοκυανιδίνης, σχηματίζονται μονογλυκοζίτες και διγλυκοζίτες (Σουφλερός, 1997).

Μεταξύ των ανθοκυανιδινών σταφυλιών, η κυανιδίνη είναι πιο άφθονη μετά τον περκασμό των σταφυλιών, με τη συγκέντρωσή της να αυξάνεται για 2 εβδομάδες κατά τη διάρκεια της περιόδου ωρίμανσης. Ωστόσο, λόγω της αστάθειας της σε συνδυασμό με τη δελφινιδίνη, μεταμορφώνονται και τελικά κυριαρχεί η μαλβιδίνη, η θεμελιώδης ανθοκυανιδίνη σε όλα σχεδόν τα σταφύλια και τα κρασιά. Σε ορισμένες ποικιλίες, αποτελεί το 90% της περιεκτικότητας σε ανθοκυάνες, όπως στην ποικιλία Grenache (Cheynier, 2006). Η σύνθεση και η συγκέντρωση της ανθοκυανιδίνης ποικίλλουν ανάλογα με την ποικιλία σταφυλιών, την ωριμότητα, τις κλιματολογικές συνθήκες, την τοποθεσία, την απόδοση ανά στρέμμα και τις συνθήκες καλλιέργειας. Εξαρτώνται επίσης από τις συνθήκες εκχύλισης και οινοποίησης. Η εκχύλιση ανθοκυανών και άλλων φαινολικών ουσιών από στέμφυλα μπορεί να συμβεί πριν από τη ζύμωση ή κατά τη διάρκεια αλκοολικής ζύμωσης με θρυμματισμένα σταφύλια (κλασική οινοποίηση) ή ολόκληρα σταφύλια (ανθρακική διαβροχή). Μετά την επίτευξη ενός μέγιστου, η συγκέντρωση ανθοκυανών αρχίζει να μειώνεται λόγω της ρόφησης στα τοιχώματα των κυττάρων ζύμης, της καθίζησης με τρυγικά άλατα και των διαδικασιών σταθεροποίησης και διήθησης. Οι αντιδράσεις υδρόλυσης και οι αντιδράσεις συμπύκνωσης με άλλα φαινολικά

στατικά κατά τη διάρκεια της οινοποίησης επηρεάζουν επίσης την ανθοκυανική σύσταση (Μπιμπίλας, 2017).

4.7. Ταννίνες

Οι ταννίνες είναι ενώσεις που βρίσκονται κυρίως στα στερεά μέρη του σταφυλιού. Υπάρχουν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις σε διάφορες δομές - έως 65% σε σπόρους σταφυλιών, έως 22% σε βοστρύχους, έως 12% στο φλοιό και μόλις περίπου 1% στη σάρκα. Μέσα στα σταφύλια, οι ταννίνες ταξινομούνται με βάση τη θέση τους - είτε στους σπόρους των σταφυλιών είτε στο φλοιό. Στο φλοιό (χυμοτόπια), οι ταννίνες εντοπίζονται μέσα σε συγκεκριμένες κυτταρικές δομές, σχηματίζοντας πυκνά σύμπλοκα κοντά στην επιδερμίδα, δεσμεύοντας σφιχτά μεμβράνες πρωτεΐνο-φωσφολιπιδίων ή προσκολλώνται στο κυτταρικό τοίχωμα. Στους σπόρους βρίσκονται στην εφυμενίδα και στον κερατοειδή ιστό του κελύφους και αποδεσμεύονται μόνο όταν η επιδερμίδα διαλυθεί (Κουράκου, 1998, Ribéreau-Gayon et al., 2000, Castañeda et al., 2009).

Χημικά, οι ταννίνες είναι μεγάλα μόρια που χαρακτηρίζονται από φαινολικό δακτύλιο, που προκύπτει από τον πολυμερισμό μικρότερων μορίων που φέρουν φαινολικές ομάδες. Παρουσιάζουν τη μοναδική ικανότητα να σχηματίζουν σταθερές ενώσεις με πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Οι ταννίνες είναι μια ευρεία κατηγορία φαινολικών ενώσεων υψηλού μοριακού βάρους και δεν υπάρχει αυστηρός ορισμός γι' αυτές. Περιλαμβάνουν τόσο φλαβονοειδή όσο και μη φλαβονοειδή μονομερή. Με βάση τις ιδιότητές τους, οι ταννίνες μπορούν να χωριστούν σε συμπυκνωμένους και υδρολύσιμους τύπους. Αυτή η κατηγοριοποίηση σχετίζεται με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που προσδίδουν και όχι με τη χημική δομή, την προέλευση ή την εξέλιξή τους. Υπάρχει επίσης μια τρίτη ομάδα που ονομάζεται μικτές ή σύνθετες ταννίνες, που σχηματίζονται από το συνδυασμό των δύο παραπάνω ομάδων (Κουράκου, 1998).

Οι συμπυκνωμένες ταννίνες αναφέρονται σε μακρομόρια που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του κρασιού με συνδυασμό προανθοκυανιδινών και άλλων μορίων, σχηματίζοντας πολυμερή 8 έως 14 μονομερών με μοριακό βάρος 2000 έως 5000. Αντίθετα, οι υδρολυμένες ταννίνες ανήκουν στα μη φλαβονοειδή και αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου (γλυκόζη ή πολυσακχαρίτη) εστεροποιημένο με διάφορα φαινολικά οξέα, κυρίως γαλλικό (γαλλοταννίνες) ή ελλαγικό οξύ (ελλαγιταννίνες). Δεν υπάρχουν στα σταφύλια, αλλά μπορούν να βρεθούν στα κρασιά, καθώς είναι οι κύριες εμπορικές ταννίνες που χρησιμοποιούνται σε διάφορες διαδικασίες οινοποίησης (Jackson, 1998).

4.7.1. Συμπυκνωμένες ταννίνες

Γενικά, οι συμπυκνωμένες ταννίνες είναι πολυμερή κατεχινών. Αυτές οι ταννίνες μπορούν να βρεθούν σε διάφορα μέρη του σταφυλιού, συμπεριλαμβανομένου του φλοιού και των σπόρων. Αυτές οι ταννίνες μπορούν να χωριστούν περαιτέρω σε τρεις υποκατηγορίες:

1. Ταννίνες σε χυμοτόπια σταφυλιών, οι οποίες σχηματίζουν πυκνά σύμπλοκα σε κύτταρα κοντά στην επιδερμίδα. Η συγκέντρωση τανίνης αυξάνεται ακτινικά προς τα εξωτερικά στρώματα του φλοιού.
2. Ταννίνες ισχυρά συνδεδεμένες με την πρωτεΐνο-φωσφολιπιδική μεμβράνη (τονοπλάστης) και είναι ευαίσθητες στους υπέρηχους.
3. Ταννίνες προσκολλημένες στο κυτταρικό τοίχωμα κυτταρίνης πηκτίνης (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Οι ιδιότητες των ταννινών σταφυλιών εξαρτώνται από τον βαθμό πολυμερισμού. Οι ταννίνες σπόρων είναι προκυανιδίνες με σχετικά χαμηλό βαθμό πολυμερισμού, ενώ οι ταννίνες φλοιού έχουν πιο σύνθετες δομές με σχετικά σταθερούς βαθμούς πολυμερισμού. Ο φλοιός είναι πλούσιος σε επιγαλλοκατεχίνες, ενώ οι σπόροι έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης (Cheynier, 2006).

Στο κρασί, οι προκυανιδίνες οξειδώνονται, παράγοντας σχετικά χαμηλού μοριακού βάρους ολιγομερή (1000-2000), τα οποία χαρακτηρίζονται ως ταννίνες. Ωστόσο, όταν υποβάλλονται σε μη οξειδωτική συγκέντρωση, σχηματίζονται συμπυκνωμένες ταννίνες με βαθμό πολυμερισμού περίπου 10 και μοριακό βάρος 2000-3000. Αυτές οι συμπυκνωμένες ταννίνες αντιπροσωπεύουν το 30-60% των συνολικών φαινολικών παραγώγων και το ποσοστό τους αυξάνεται με την παλαίωση του κρασιού (Κουράκου, 1998). Κατά τη διάρκεια της γήρανσης, οι προκυανιδίνες πολυμερίζονται περαιτέρω σε μοριακές ταννίνες βάρους από 2000 έως πάνω από 5000, οι οποίες δεσμεύονται με άλλα μόρια και σταδιακά χάνουν την πρωτεϊνική τους δραστηριότητα.

Η ανάλυση των διαφορετικών μορίων των συμπυκνωμένων ταννινών είναι δύσκολη λόγω των ποικίλων δομών τους, οι οποίες προέρχονται από τον αριθμό των υποκατεστημένων υδροξυλίων, τη θέση τους στον δακτύλιο, τη στερεοχημεία των ασύμμετρων ανθράκων στον δακτύλιο πυρανίου και τον αριθμό και τον τύπο των δεσμών των βασικών ομάδων. Αυτή η ποικιλομορφία μπορεί να εξηγήσει την ύπαρξη ταννινών με διαφορετικά χαρακτηριστικά, ειδικά όσον αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

4.7.2.Υδρολύσιμες ταννίνες

Οι υδρολύσιμες ταννίνες, ένα παράγωγο των μη φλαβονοειδών, αποτελούνται από ένα σάκχαρο, κυρίως γλυκόζη, ή ένα μόριο πολυσακχαρίτη με πολυάριθμα υδροξύλια εστεροποιημένα με διάφορα φαινολικά οξέα όπως το γαλλικό (γαλλοταννίνες) και το διγαλλικό και το ελλαγικό (ελλαγιταννίνες) (Κουράκου, 1998). Ο ρόλος τους στη διαδικασία παλαίωσης των λευκών και ερυθρών κρασιών είναι σημαντικός, γεγονός που αποδίδεται στην οξειδωτική τους ικανότητα (Vivas & Glories, 1996) και στις ξεχωριστές γευστικές τους ιδιότητες (Pocock et al., 1994).

Αυτές οι ταννίνες δεν υπάρχουν στα σταφύλια, αλλά μπορούν να βρεθούν στο ξύλο ορισμένων δέντρων, όπως η βελανιδιά, οπότε μόνο τα υδρολυμένα παράγωγά τους, κυρίως ελλαγικό και γαλλικό οξύ, βρίσκονται στα κρασιά. Οι εμπορικές ταννίνες που επιτρέπονται ως πρόσθετα στον οίνο αποτελούνται κυρίως από υδρολυμένες ταννίνες και ενδέχεται να υπάρχουν στον οίνο σε μικρές συγκεντρώσεις εάν έχει προστεθεί οινολογική ταννίνη κατά τη διάρκεια του κολλαρίσματος.

Τα βασικά ισομερή της ελλαγιταννίνης της βελανιδιάς είναι η βεσκαλαγίνη και η κασταλαγίνη, με μοριακό βάρος 934. Η γρανδανίνη και η ρομπουρίνη είναι δευτερεύουσας σημασίας. Η μερική υδρόλυση κασταλαγίνης και βεσκαλαγίνης με απώλεια εξα-υδροξυδιφενικού οξέος δίνει βεσκαλίνη και κασταλίνη. Αυτά τα μόρια, αν και υδατοδιαλυτά, διαλύονται επίσης εύκολα σε αραιά αλκοολικά διαλύματα όπως το κρασί. Η σύνθεση των ελλαγιταννικών εκχυλισμάτων εξαρτάται από τον τύπο της βελανιδιάς. Τα ευρωπαϊκά είδη περιέχουν τέσσερα μονομερή και τέσσερα διμερή ελλαγιταννίνες, ενώ τα αμερικανικά είδη βελανιδιάς στερούνται ελλαγιταννινών διμερών (Jackson, 1998, Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Οι μη φλαβονοειδή υδρολυμένες ταννίνες αποσυντίθενται εύκολα στα μονομερή τους υπό όξινες συνθήκες. Το χαμηλό pH αποδυναμώνει τον δεσμό υδρογόνου-οξυγόνου του μακρομορίου. Από την άλλη, συμπυκνωμένες ταννίνες, που προέρχονται από φλαβονοειδή, είναι πιο όξινα σταθερές λόγω των ομοιοπολικών δεσμών τους.

4.7.3.Μικτές ταννίνες

Ο όρος "μικτές" ή "σύνθετες" ταννίνες αναφέρεται στην κατηγορία των πολυφαινολών όπου ένα μονομερές κατεχίνης, ένα δομικό συστατικό συμπυκνωμένων ταννινών, προσκολλάται σε μια υδρολυμένη γαλλο- ή ελλαγιταννίνη μέσω ενός δεσμού άνθρακα-άνθρακα. Αυτές οι ουσίες έχουν αναφερθεί σε σημαντικούς αριθμούς από την αρχική ανακάλυψή τους (Ferreira et al., 2006). Ένα τυπικό παράδειγμα είναι η Α ακουτισιμίνη (Acutissimin A), μια

ένωση που απομονώνεται από το ξυλώδες τμήμα του φυτού *Castanea sativa*. Είναι ένα ομοιοπολικό σύμπλεγμα κατεχίνης με κασταλαγίνη ή βεσκαλαγίνη. Σε συνδυασμό με σύμπλοκα κασταλαγίνης-μαλβιδίνης, τέτοιες ενώσεις βρίσκονται σε μικρές συγκεντρώσεις σε οίνους που ωριμάζουν σε ξύλινα βαρέλια. Οι οργανοληπτικές τους ιδιότητες, ωστόσο, δεν έχουν ακόμη αναλυθεί (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

V. ΛΕΥΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Η παραγωγή λευκού κρασιού περιλαμβάνει συνήθως τη ζύμωση γλεύκους χωρίς στέμφυλα. Κατά συνέπεια, πριν από την αλκοολική ζύμωση, η παραλαβή, ο διαχωρισμός του γλεύκους από τα στερεά μέρη («στράγγιση» και «πίεση») και η «απολάσπωση» (απομάκρυνση στερεών ή «διαύγαση») καθίστανται κρίσιμης σημασίας. Αυτές οι διαδικασίες προζύμωσης καθορίζουν τελικά την περιεκτικότητα του γλεύκους σε ουσίες που διαμορφώνουν τα οργανοληπτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά του λευκού κρασιού (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Τα καθοριστικά χαρακτηριστικά της λευκής οινοποίησης περιλαμβάνουν την έλλειψη εκχύλισης και τον διαχωρισμό του γλεύκους σε κλάσματα. Τα αρωματικά συστατικά του σταφυλιού στεγάζονται μέσα στο δέρμα και τα κύτταρα ακριβώς κάτω από αυτό. Επομένως, στη λευκή οινοποίηση, είναι σημαντικό τα σταφύλια να είναι υγιή και ο μούστος να θειώνεται περισσότερο από ό, τι στην ερυθρή οινοποίηση. Αυτό συμβαίνει επειδή ο λευκός μούστος στερείται ταννινών, οι οποίες τον προστατεύουν από την οξείδωση. Είναι σημαντικό ο διαχωρισμός του μούστου και των στεμφύλων να γίνεται πριν από τη ζύμωση για να ελαχιστοποιηθεί η εκχύλιση. Αναπόσπαστο κομμάτι της λευκής οινοποίησης είναι η προζυμωτική απομάκρυνση των στερεών συστατικών του μούστου και η διατήρηση χαμηλών θερμοκρασιών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Οι χαμηλές θερμοκρασίες διευκολύνουν την εκχύλιση των αρωματικών συστατικών ενώ αναστέλλουν την πρόσληψη φαινολικών ενώσεων. (Σάββας, 2016)

Ωστόσο, είναι ζωτικής σημασίας να σημειωθεί ότι αυτά τα μέτρα θα πρέπει να εφαρμόζονται εντός των ορίων που θέτει η ισχύουσα νομοθεσία. Συχνά, προστίθενται κύτταρα ζύμης για να παρέχουν καλύτερο έλεγχο της αλκοολικής ζύμωσης. Είναι επίσης σημαντικό να παρακολουθείτε την περιεκτικότητα σε σάκχαρα για τη διαχείριση της προόδου της ζύμωσης και να παρεμβαίνεται, εάν χρειάζεται, για να σταματήσει. Η μηλογαλακτική ζύμωση, δηλαδή η μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ από βακτήρια, συνήθως αποφεύγεται στα λευκά κρασιά. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι οργανοληπτικές ιδιότητες των λευκών οίνων επωφελούνται από τη σχετική οξύτητα. Επιπλέον, η εκτέλεσή του απαιτεί χαμηλή περιεκτικότητα

σε θειώδη ανυδρίτη, γεγονός που έρχεται σε αντίθεση με την ανάγκη θείωσης για την πρόληψη της οξείδωσης (Α. Τσακίρης, Οινολογία, 1988, σελ. 47, 48).

5.1. Η οξείδωση στους λευκούς οίνους

Οι οίνοι μπορούν να εκτίθενται, εκούσια ή ακούσια, σε οξυγόνο κατά την οινοποίηση και την παλαίωση. Στα κόκκινα κρασιά, η ελεγχόμενη έκθεση σε οξυγόνο κατά τη διάρκεια της παλαίωσης ή της αποθήκευσης πιστεύεται ότι βελτιώνει ορισμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά, όπως το χρώμα και η στυπτικότητα. Ωστόσο, για τους λευκούς οίνους, η έκθεση σε οξυγόνο μπορεί να τροποποιήσει ή να καταστρέψει τα αρωματικά συστατικά του κρασιού και να οδηγήσει στο σχηματισμό ακεταλδεΐδης, ενός χημικού προϊόντος οξείδωσης της αλκοόλης, το οποίο προσδίδει μια ξεχωριστή οσμή στους οξειδωμένους οίνους. Η εκτεταμένη οξείδωση κορυφώνεται με τη μη αναστρέψιμη οξείδωση των συστατικών του κρασιού και την εμφάνιση ενός χαρακτηριστικού αρώματος γνωστού ως άρωμα οξείδωσης, το οποίο σημαίνει το κρασί ως οξειδωμένο (Chinnici, et.al). Επίσης, η οξείδωση των φαινολικών ουσιών στους λευκούς οίνους συμβάλλει στο σχηματισμό πολυμερισμένων ενώσεων με χαρακτηριστικό καφέ χρωματισμό. Η παρουσία αυτών των ενώσεων υποβαθμίζει το τελικό προϊόν επηρεάζοντας τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των λευκών οίνων. Αυτή η διαδικασία αναφέρεται ως οξειδωτική αμαύρωση του κρασιού (φαινόμενο browning), η οποία θα συζητηθεί λεπτομερώς στη συνέχεια

5.2. Μηχανισμοί οξειδωτικής αμαύρωσης

Η αμαύρωση που παρατηρείται στους οίνους είναι αποτέλεσμα μιας πολύπλευρης σειράς αντιδράσεων οξείδωσης που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια των σταδίων επεξεργασίας, παλαίωσης και αποθήκευσης. Αυτές οι αντιδράσεις, οι οποίες είναι ικανές να αυξήσουν την ένταση του χρώματος, να μειώσουν τη φωτεινότητα και να ενισχύσουν τον καφέ χρωματικό δείκτη, μπορεί να είναι είτε ενζυματικές (Nagel & Graber, 1988) είτε μη ενζυματικές (Cilliers & Singleton, 1990). Οι μη ενζυματικές οξειδώσεις μπορούν να προχωρήσουν ακόμη και απουσία ενεργής οξειδάσης πολυφαινόλης, με αποτέλεσμα διάφορους βαθμούς καφέ χρωματισμού και ξυλώδες άρωμα. Ενώ αυτό το αποτέλεσμα είναι περιζήτητο στα επιδόρπια κρασιά, είναι γενικά ανεπιθύμητο στα νεαρά επιτραπέζια κρασιά, τα αφρώδη κρασιά και τα ώριμα κόκκινα κρασιά.

Η παραγωγή λευκών οίνων απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή για την ελαχιστοποίηση της επαφής με το οξυγόνο, καθώς η έκθεση σε οξυγόνο μπορεί να οδηγήσει σε αλλοίωση του χρώματος

(αμαύρωση) και θα μπορούσε ενδεχομένως να θέσει σε κίνδυνο τη συνολική ποιότητα και εμπορευσιμότητα του κρασιού. Μελέτες δείχνουν ότι οι αντιδράσεις που οδηγούν στο μαύρισμα των λευκών οίνων επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από την πολυφαινολική τους σύνθεση (Rossi & Singleton, 1966; Gonzales Cartagena κ.ά., 1994).

Ενζυματική οξείδωση και παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση

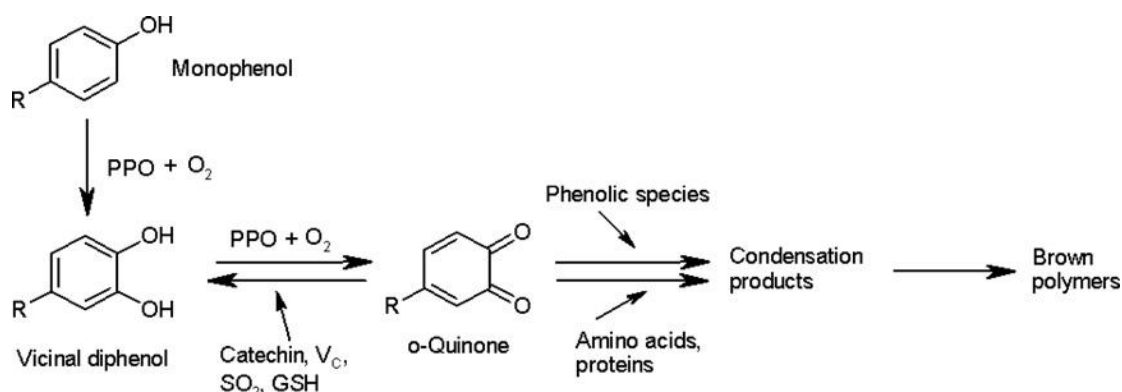
Η ενζυματική οξείδωση των φαινολών, ιδιαίτερα παρουσία ατμοσφαιρικού οξυγόνου και πολυφαινολοοξειδάσης (PPO), είναι μια ευρέως αναγνωρισμένη αιτία αμαύρωσης στα τρόφιμα και συμβαίνει κυρίως κατά τα αρχικά στάδια της επεξεργασίας (Wang, 1990). Σε άθικτα κύτταρα ιστών φρέσκων φρούτων ή λαχανικών, οι φαινόλες που βρίσκονται κυρίως στο κενοτόπιο και τις οξειδοδουκτάσες που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα διατηρούνται χωριστά λόγω διακριτών συστημάτων κυτταρικής μεμβράνης. Ωστόσο, εάν τα κύτταρα είναι μελανιασμένα ή εκτίθενται στον αέρα, εμφανίζεται ενζυματική αμαύρωση (Wang, 1990).

Οι προεξέχουσες οξειδοαναγωγάσες που συμβάλλουν στην αμαύρωση κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας σταφυλιών είναι η PPO και η υπεροξειδάση (POD) (Li et al., 2005). Το PPO είναι ένα ένζυμο που περιέχει χαλκό ικανό να οξειδώνει υποστρώματα τυπικά για τυροσινάση και λακκάση. Η τυροσινάση (ή κατεχολάση) είναι φυσικά παρούσα στα μούρα σταφυλιών και καταλύει την οξείδωση των μονοφαινολών και των διφαινολών (Singleton, 1987). Η λακκάση, αντίθετα, υπάρχει σε υπερώριμα σταφύλια και καταλύει την οξείδωση διαφόρων υποστρωμάτων, κυρίως 1,2- και 1,4-διυδροξυφαινείου (Li, 2000; Main, 1992· Toit κ.ά., 2006).

Το POD, ένα ένζυμο που περιέχει σίδηρο, έχει μια δραστηριότητα που βασίζεται στο διαθέσιμο υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) στο μέσο. Παρ'όλα αυτά, η αμαύρωση που προκαλείται από POD φαίνεται να είναι ήσσονος σημασίας, με λίγες εξαιρέσεις όπως το λίτσι και ο ανανάς (Robards et al., 1999). Παρ'όλα αυτά, μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι μπορεί να διευκολύνει την αποικοδόμηση της φαινόλης όταν συνυπάρχει με PPO (Robards et al., 1999).

Στο γλεύκος σταφυλιών, η ενζυματική αμαύρωση συνδέεται στενά με την περιεκτικότητα σε υδροξυλοκινημικά, όπως το καφεϋλοτρυγικό οξύ (καφταρικό οξύ) και το π-κουμαροϋλοτρυγικό οξύ (κου-τρυγικό οξύ), και διεγείρεται περαιτέρω από τις φλαβανόλες (Cheynier et al., 1989; 1990; Oszmianski et al., 1996· Rigaud et al., 1991). Κατά τη διάρκεια της ενζυματικής οξείδωσης, παράγονται κινόνες, οι οποίες στη συνέχεια προχωρούν σε μεταγενέστερες αντιδράσεις με βάση τις οξειδοαναγωγικές τους ιδιότητες και τις ηλεκτρονικές συγγένειες:

- Οι μονοφαινόλες υδροξυλιώνονται σε διφαινόλες, οι οποίες οξειδώνονται περαιτέρω σε κινόνες. Η ταχεία σύζευξη κινονών με ένα άλλο μόριο φαινόλης οδηγεί στο σχηματισμό διμερών ή στην αναγέννηση των αρχικών φαινολών (Wang, 1990).
- Οι κινόνες που παράγονται μπορούν επίσης να πολυμεριστούν και να συμπυκνωθούν με μια ποικιλία άλλων ενώσεων, φαινολικών και μη φαινολικών, σχηματίζοντας τελικά καφέ χρωστικές ουσίες, μια διαδικασία που επιταχύνεται με υψηλότερο pH (Robards et al., 1999; Wang, 1990).



Εικόνα 5: Διαδικασία ενζυμικού μαυρίσματος στο γλεύκος σταφυλιών

Η γλουταθειόνη (GSH) στο γλεύκος σταφυλιών μπορεί να αλληλεπιδράσει με κινόνες που παράγονται κατά τη διάρκεια της ενζυματικής οξείδωσης, μειώνοντας την έκταση αμαύρωσης (Rigaud et al., 1991; Singleton & Cilliers, 1995; Singleton κ.ά., 1985· Toit κ.ά., 2006). Ωστόσο, η αλληλεπίδραση μεταξύ κατεχολάσης και SO₂ μπορεί να αναστείλει την παραγωγή GRP, διατηρώντας περισσότερα ελεύθερα καφταρικά και π-κουταρικά οξέα με υψηλό δυναμικό μαυρίσματος. Ο χαλκός ανταγωνίζεται το CTAQ για να αντιδράσει με το GSH, το οποίο σε κάποιο βαθμό, μειώνει την αποτελεσματική περιεκτικότητα σε GSH και εντείνει το μαύρισμα του γλεύκους σταφυλιών (Cheynier et al., 1989; Rigaud et al., 1991).

Γενικά, δεν είναι όλες οι ενζυματικές οξειδώσεις επιζήμιες για το τελικό προϊόν. Για παράδειγμα, η υπεροξυγόνωση του λευκού μούστου μειώνει το δυναμικό αμαύρωσης του κρασιού με δύο τρόπους: προκαλώντας την εξαφάνιση της τυροσινάσης και την εξάντληση των οξειδωτικών φαινολικών υποστρωμάτων κατά τη διάρκεια αντιδράσεων οξείδωσης (Ribe'reau-Gayon, Dubourdieu, et al., 2006) και σχηματίζοντας GRP που είναι ανθεκτικό στην περαιτέρω αμαύρωση (Main, 1992).

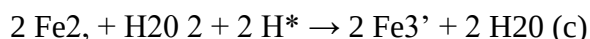
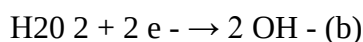
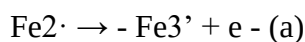
Ωστόσο, η επίδραση της ενζυματικής οξείδωσης κατά την επεξεργασία του κόκκινου κρασιού είναι περιορισμένη. Εν τω μεταξύ, η μη ενζυματική οξείδωση επηρεάζει σημαντικά τη διαδικασία ωρίμανσης του κρασιού (Cheynier et al., 2000). Παρά τη σταδιακή μείωση της συγκέντρωσης και της δραστηριότητας του PPO κατά τη διάρκεια της οξείδωσης (Li, 2000), περαιτέρω στάδια επεξεργασίας όπως το φινίρισμα, η επεξεργασία SO₂ και η παραγωγή αιθανόλης εξαλείφουν το PPO από το κρασί (Cheynier et al., 1989; Ri-be'reau-Gayon, Dubourdieu, et al., 2006). Ως αποτέλεσμα ολοκληρωμένων μελετών και επιτυχημένων μέτρων ελέγχου που εφαρμόστηκαν στην οινοποίηση, η εστίαση έχει πλέον μετατοπιστεί προς τη μη ενζυματική αμαύρωση, ιδίως στους λευκούς οίνους (Labrousche et al., 2005).

5.4.Μη ενζυμικές οξειδώσεις και παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση

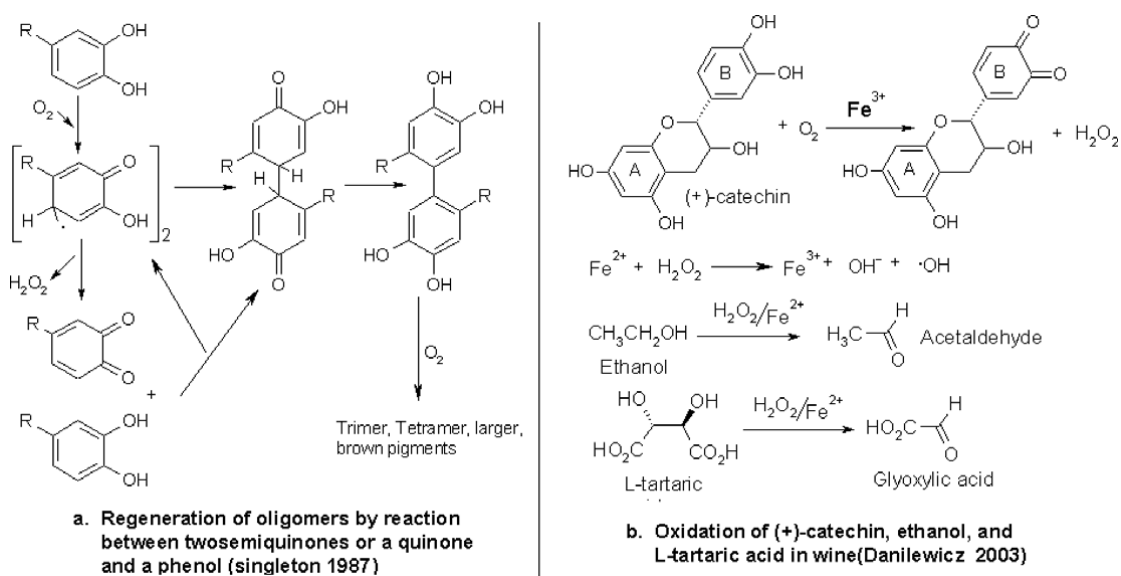
Η μη ενζυματική οξείδωση ή χημική οξείδωση είναι μια διαδεδομένη διαδικασία στο κρασί, που διακρίνεται από τις ιδιότητες της αναγέννησης και της αυτοκατάλυσης. Αυτή η διαδικασία μπορεί επίσης να προκύψει μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης με το φως (Main, 1992). Οι ο-διφαινόλες, κυρίως συμπεριλαμβανομένου του καφεϊκού οξέος και των εστέρων του, της κατεχίνης, της επικατεχίνης, των ανθοκυανινών και των παραγώγων τους και του γαλλικού οξέος, θεωρούνται ως οι πιο ευαίσθητες στην οξείδωση, στη διαδικασία μη ενζυμικού μαυρίσματος και τα επίπεδα των φλαβαν-3-ολών συσχετίζονται με το βαθμό αμαύρωσης στα περισσότερα λευκά κρασιά (Fernández-Zurbano et al., 1995, 1998; Lopez-Toledano, Mayen, Merida, & Μεδίνα, 2002; Oszmianski κ.ά., 1996· Saucier & Waterhouse, 1999).

Εν συντομία, η μη ενζυματική οξείδωση μπορεί να συμβεί στο κρασί μέσω πολλαπλών οδών που σχετίζονται με φαινόλες. Μια τέτοια οδός είναι η οξείδωση των φαινολών, η οποία, ακολουθούμενη από τον πολυμερισμό οξειδωμένων προϊόντων, καταλύεται κυρίως από χαλκό και σίδηρο. Άλλες οδοί περιλαμβάνουν αντιδράσεις πολυμερισμού μεταξύ φαινολών και άλλων υπαρχουσών ενώσεων.

Η οξείδωση είναι μια διαδικασία όπου η μεταφορά ηλεκτρονίων λαμβάνει χώρα μεταξύ αναγωγικού και οξειδωτικού μορίου. Ένα ηλεκτρόνιο απομακρύνεται από ένα άτομο ή μια ομάδα ατόμων και μεταφέρεται σε ένα άτομο που λαμβάνει. Στο κρασί το οξυγόνο είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας οξείδωσης. Παρακάτω φαίνεται το Οξειδοαναγωγικό σύστημα: (α) οξείδωση του δισθενούς σιδήρου προς ιόν τρισθενούς σιδήρου (β) μείωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε υδροξείδιο και (γ) η συνολική οξειδοαναγωγική αντίδραση. **Γνωστή και ως αντίδραση Fenton.**



Υπάρχουν αναφορές που υποδηλώνουν τη συμπύκνωση ακεταλδεΐδης ως μοναδική αντίδραση, κυρίως παρούσα στους οίνους Sherry, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης ακεταλδεΐδης (φτάνοντας τα 300 mg / L) που παράγεται από ζυμομύκητες flor κατά τη διάρκεια της βιολογικής γήρανσης (Merida et al., 2005; Palma & Garcia-Barroso, 2002). Ωστόσο, η οξείδωση της αιθανόλης - που καταλύεται από μέταλλα μετάπτωσης ή μέσω συζευγμένης οξείδωσης φαινολών - μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή ιχνών ακεταλδεΐδης στο κρασί (Sullivan, 2002; Wildenradt & Singleton, 1974).



Εικόνα 6: Μη ενζυματική αντίδραση οξείδωσης στο κρασί

5.5. Συμμετοχή των Ιόντων Σιδήρου και Χαλκού κατά την χημική οξείδωση του οίνου

Στο κρασί, οι υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων σιδήρου και χαλκού οφείλονται στη μόλυνση που προκύπτει κυρίως από μηχανήματα που εμπλέκονται στην οινοποίηση. Ωστόσο, η χρήση εξοπλισμού από ανοξείδωτο χάλυβα έχει μειώσει σημαντικά τα επίπεδα ιόντων τους. Οι μέσες συγκεντρώσεις συνήθως δεν υπερβαίνουν τα 0-5 mg / L και 0,1-0,3 mg / L για το σίδηρο και το χαλκό αντίστοιχα. Ωστόσο, ακόμη και σε αυτές τις χαμηλές συγκεντρώσεις, μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτική αλλοίωση. Πέρα από τις συγκεντρώσεις τους, οι μορφές και οι

προδιαγραφές του χαλκού και του σιδήρου που υπάρχουν στο κρασί συμβάλλουν σημαντικά στην αμάρωσή του (Scollary, 2002).

Στο κρασί, ο τρισθενής σίδηρος (Fe^{3+}) δεν υπάρχει σε ελεύθερη μορφή. Συνδέεται με άλλες ενώσεις. Αντίθετα, ο δισθενής σίδηρος μπορεί επίσης να σχηματίσει σύμπλοκα, αλλά είναι πιο επιρρεπής στον ιονισμό (HuaLi, et al., 2008). Το γεγονός ότι το μεγαλύτερο μέρος του σιδήρου δεσμεύεται επηρεάζει σημαντικά την κατανομή του. Η σύμπλοκη μειώνει το pH του συστήματος λόγω της απελευθέρωσης ιόντων υδρογόνου (H^+), μια διαδικασία που ευνοείται σε υψηλό pH, μειώνοντας έτσι το δυναμικό αναγωγής του ζεύγους Fe^{3+} - Fe^{2+} (Yang, et al., 2003).

Υπό κανονικές συνθήκες, οι φαινόλες είναι ασταθείς και επιρρεπείς σε οξείδωση, σχηματίζοντας κινόνες και χάνοντας υποκατάστατο υδροξυβενζοϊκού-υποκαταστάτη. Ταυτόχρονα, τα ιόντα σιδήρου σχηματίζουν ένα σημαντικό ποσοστό τρισθενούς υδροξειδίου μέσω αντιδράσεων υδρόλυσης, σπάζοντας τη σύνδεσή τους με το σύμπλοκο. Οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις συμβαίνουν επίσης ως φαινόλες σύμπλοκο τρισθενή σίδηρο. Οι φαινόλες οξειδώνονται στις αντίστοιχες κινόνες και ο τρισθενής σίδηρος μετατρέπεται σε δισθενή σίδηρο. Η χαμηλότερη τιμή pH του συστήματος οδηγεί σε αυξημένη αναγωγική δύναμη των φαινολών (Danilewicz, 2003, Moran et al., 1997, Yang et al., 2003).

Έτσι, η σύμπλοκη μειώνει κάπως το δυναμικό των ιόντων σιδήρου, σταθεροποιεί την κατάσταση οξείδωσης του Fe^{3+} και αυξάνει την αναγωγική ισχύ του Fe^{2+} , υπονοώντας ότι τα οργανικά υποκατάστατα που υπάρχουν στο κρασί διευκολύνουν την ταχεία οξείδωση του Fe^{2+} . Κατά συνέπεια, παρουσία οξυγόνου, το Fe^{2+} μετατρέπεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου, προωθώντας έτσι την ευκινησία του σιδήρου στη διαδικασία οξείδωσης.

VI. Αντιοξειδωτικά

Τα αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις που χρησιμοποιούνται συχνά για να επιβραδύνουν ή να εμποδίσουν οξειδωτικές διεργασίες που συμβαίνουν παρουσία ατμοσφαιρικού οξυγόνου ή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και αντιδραστικών ειδών αζώτου (RNS) (P. Aurelia-Magdalena, N. Gheorghe Petre, 2012). Χημικά, ο όρος «αντιοξειδωτικό» αναφέρεται στην τάση ενός μορίου να δωρίζει ένα ηλεκτρόνιο (e^-) σε έναν οξειδωτικό παράγοντα, συνήθως μια ελεύθερη ρίζα, προστατεύοντας έτσι άλλα μόρια από τις επιδράσεις αυτού του παράγοντα (Γαλάρης και Δούλιας, 2001).

Τα αντιοξειδωτικά χρησιμεύουν κυρίως για την απενεργοποίηση των ελεύθερων ριζών και των υδροξυλιωμένων ελεύθερων ριζών, προστατεύοντας έτσι τα κυτταρικά συστατικά από βλάβες λόγω αντιδράσεων ελεύθερων ριζών. Μια ουσία πρέπει να πληροί δύο κριτήρια για να χαρακτηριστεί ως αντιοξειδωτικό:

1. Θα πρέπει να είναι σε θέση να καθυστερήσει ή να αποτρέψει την αυτοοξείδωση ή την οξείδωση που προκαλείται από ελεύθερες ρίζες ακόμη και σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με το οξειδωμένο υπόστρωμα.
2. Η μετα-αντιοξειδωτική δράση που παράγεται από τις ελεύθερες ρίζες θα πρέπει να παρουσιάζει σταθερότητα στην περαιτέρω οξείδωση, συνήθως μέσω ενός ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου (Vinson, 1998).

Τα οργανικά συστατικά του κρασιού περιλαμβάνουν φαινολικά στοιχεία, τα οποία δρουν επίσης ως αντιοξειδωτικά του. Αυτές οι ουσίες όχι μόνο επηρεάζουν το χρώμα του κρασιού αλλά συμβάλλουν επίσης στη στυφάδα, την τραχύτητα και άλλα χαρακτηριστικά του. Επιπλέον, παρέχουν στους οίνους αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή προστασία και διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην παλαίωση και σε διάφορες τεχνολογικές διαδικασίες όπως το κολάρισμα. Η φαινολική περιεκτικότητα αποτελείται από ανθοκυαννίνες, φλαβονόλες, παράγωγα υδροξυκιναμικού οξέος και μονομερή φλαβαν-3-όλης. Το σύνολο των φαινολικών οξέων, είτε σε ελεύθερη είτε σε σύνθετη μορφή, κυμαίνεται μεταξύ 100 και 150 ιτ⁺/Τ στους ερυθρούς οίνους και 10 έως 15 ιτ⁺/Τ στους λευκούς οίνους. Η ρεσβερατρόλη, η κερσετίνη, η κατεχίνη και η ταννίνη είναι οι τέσσερις κύριες αντιοξειδωτικές ενώσεις στο κρασί.

6.1. Προστασία οίνου από τις οξειδώσεις (προσθήκη ασκροβικού οξέος, θείου, γλουταθειόνη)

Η ευαισθησία του λευκού κρασιού στην έκθεση σε οξυγόνο, η οποία μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του χρώματος και του αρώματος, έχει τεκμηριωθεί εκτενώς (Singleton, V. L., 1987, Ferreira, A. C. S.; Hogg, T.; de Pinho, P. Γ., 2003). Μετά την εμφιάλωση, το οξυγόνο παγιδεύεται στο χώρο πάνω από το κρασί και μπορεί να εισέλθει μέσω του καπακιού κατά τη διάρκεια της παλαίωσης (O'Brien, V.; Colby, Γ.; Nygaard, M., 2009, Lopes, Π.; Saucier, Γ.; Teissedre, P.-Λ.; Δόξες, Υ, 2007). Το διοξείδιο του θείου (SO₂), που συχνά προστίθεται σε υψηλές δόσεις (6-12 g / hl), χρησιμεύει ως το κύριο συντηρητικό στο λευκό κρασί κατά της οξειδωτικής φθοράς (Chinnici, et al., 2012). Αυτά τα είδη θείου δεν συλλαμβάνουν άμεσα οξυγόνο · αντ' αυτού, αντιδρούν με τα προϊόντα

οξειδωσης οξυγόνου και φαινολικών ενώσεων, όπως ενώσεις υπεροξειδίου του υδρογόνου και ο-κινόνης (Danilewicz, J. C.; Seccombe, J. T.; Whelan, J. ,2008). Το ασκορβικό οξύ χρησιμοποιείται συχνά παράλληλα με το διοξείδιο του θείου για την αποτελεσματική εξουδετέρωση του οξυγόνου πριν αντιδράσει με φαινολικές ενώσεις (Bradshaw, M. P.; Barril, Γ.; Clark, A. Γ.; Prenzler, Π. Δ.;. 2011).

Αν και το διοξείδιο του θείου είναι αποτελεσματικό στην προστασία του λευκού κρασιού από την οξείδωση, ορισμένοι καταναλωτές είναι ευαίσθητοι σε αυτό το αντιοξειδωτικό (Jackson, R. S., 2008). Ως εκ τούτου, το τριπεπτίδιο γλουταθειόνη έχει δείξει ορθό ως εναλλακτικό αντιοξειδωτικό, ικανό να εκτελεί τις ίδιες αντιδράσεις με το διοξείδιο του θείου, αν και όχι πάντα σε ένα πλαίσιο που σχετίζεται με το κρασί (Makhotkina, O.; Kilmartin, P. A., 2009, Cilliers, J. J. L.; Singleton, B. A., 1990).

Πρόσφατα εγκρίθηκαν δύο ψηφίσματα του OIV (OENO 445-2015 και OENO 446-2015), τα οποία ρυθμίζουν τη χρήση γλουταθειόνης (GSH) στο γλεύκος και το κρασί μέχρι το μέγιστο επίπεδο των 20 mg/L. Διάφορες μελέτες δείχνουν τα οφέλη από την προσθήκη GSH, ειδικά μετά τη γήρανση ζύμης, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει την αυξημένη προστασία έναντι της οξείδωσης κατά την επακόλουθη αποθήκευση. Η οργανοληπτική ανάλυση μετά την εμφιάλωση αποκάλυψε έναν ενισχυμένο φρουτώδη χαρακτήρα στο Riesling και το Sauvignon Blanc με μέτρια προσθήκη GSH. Ωστόσο, η υπερβολική χρήση της GSH σε γλεύκη χαμηλά σε φαινολικά θα μπορούσε να οδηγήσει σε αντιληπτές γεύσεις στα προκύπτοντα κρασιά (Pascal Wegmann-Herra, Sebastian Ullrich, Hans-Georg Schmarr και Dominik Durner, 2016).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

7.1.Σκοπός εργασίας

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι ο προσδιορισμός των ποιοτικών χαρακτηριστικών του οίνου Τσαούσι με βάση τόσο την αντιοξειδωτική του δράση όσο και του ολικού φαινολικού περιεχομένου του.

Μελετήθηκε η κινητική του φαινομένου οξειδωτικής αμαύρωσης .Η έρευνα βασίστηκε στην εφαρμογή της μεθόδου της επιταχυνόμενης οξείδωσης στον λευκό οίνο Τσαούσι του οινοποιείου Σαρρή.

7.2.Οινοποιείο Σαρρής

Το Sarris Winery ιδρύθηκε το 2016 από τον Πάνο Σαρρή, ο οποίος κληρονόμησε το πάθος του για την οινοποίηση από τη μεγάλη του εμπειρία ως σομελιέ. Το οινοποιείο ξεκίνησε με έναν μικρό αμπελώνα και λίγα βαρέλια κρασί, αλλά γρήγορα εξελίχθηκε σε οινοποιείο στην Κεφαλονιά. Σήμερα, το Οινοποιείο Σαρρής παράγει μια σειρά από κόκκινα, λευκά και ροζέ κρασιά, όλα φτιαγμένα με τοπικά σταφύλια και παραδοσιακές τεχνικές οινοποίησης. Η φιλοσοφία του Οινοποιείου Σαρρής είναι απλή: να παράγει κρασιά εξαιρετικής ποιότητας που αντικατοπτρίζουν το μοναδικό *terroir* της Κεφαλονιάς. Το οινοποιείο χρησιμοποιεί βιώσιμες πρακτικές στους αμπελώνες και τη διαδικασία οινοποίησης και παράγει κρασιά μόνο σε μικρές παρτίδες για να εξασφαλίσει το υψηλότερο επίπεδο ποιότητας. Κάθε κρασί είναι προσεκτικά κατασκευασμένο για να αναδεικνύει τα καλύτερα χαρακτηριστικά των σταφυλιών και της γης, με αποτέλεσμα κρασιά που είναι πολύπλοκα, κομψά και γεμάτα γεύση. Το Οινοποιείο Σαρρής βρίσκεται στο νοτιοδυτικό τμήμα της Κεφαλονιάς, πολύ κοντά στην παραλία της Άβυθου στο χωριό Σβορώνατα, Λειβαθό.



Εικόνα 7: Τα Κρασιά του οινοποιείου Σαρρή

7.3.Τσαούσι

Το κρασί τσαούσι είναι ένας λευκός ξηρός οίνος προρώγου. Προστατευόμενη Γεωγραφική ένδειξη Πλαγιές Αίνου Κεφαλληνίας. Πρόκειται για ένα νέο κρασί. Οινοποιήθηκε αρχικά το 2013 και για δεύτερη φορά το 2016.

Πραγματοποιείται ψυχρή εκχύλιση πριν από τη ζύμωση για 8-10 ώρες σε ελεγχόμενη χαμηλή θερμοκρασία, παραλαβή αυστηρώς του προωγού, ζύμωση σε ελεγχόμενη θερμοκρασία, παραμονή του κρασιού με τις λεπτές οινολάσπες για περίπου ένα μήνα, φιλτράρισμα και εμφιάλωση.

Το χρώμα του κρασιού είναι χρυσοπράσινο με πρασινωπές ανταύγειες. Κομψά αρώματα λευκόσαρκων φρούτων με διακριτικές νότες εσπεριδοειδών. Δροσερή και φρουτώδης επίγευση.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

8.1.Μελέτη του Τσαούσι

Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στον εργαστηριακό χώρο του Ιονίου Πανεπιστημίου Κεφαλονιάς το έτος 2022 μελετήσαμε το δείγμα Τσαούσι. Η μέθοδος που χρησιμοποιήσαμε στο εργαστήριο ήταν: 1. η μέθοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης, 2. η μέθοδος Folin-Ciocalteu και 3. η μέθοδος DPPH.

8.2.Μέθοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης



Εικόνα 8: Τα στάδια οξειδωτικής αμαύρωσης

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη της αμαύρωσης του οίνου (Sioumis, Kallithraka, Makris, & Kefalas, 2006) ήταν μια τροποποίηση αυτής που περιεγράφηκε από τους Singleton and Kramling (1976).

Η εκτίμηση της σταθερότητας του οίνου στην οξείδωση μπορεί να επιτευχθεί με χρήση μεθόδων που βασίζονται σε φασματοσκοπικές και άλλες ενόργανες τεχνικές. Με αυτές τις πρακτικές μελετώνται οι αλλαγές στο χρώμα του, στη σύστασή του (Singleton, 1999) και στο

αντιοξειδωτικό δυναμικό του. Οι οργανοληπτικοί μέθοδοι μπορούν να ανιχνεύσουν τις αλλαγές στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Η μέτρηση της πρόσληψης οξυγόνου από τον οίνο σε συνθήκες αποθήκευσης δεν είναι δυνατή διότι οι αντιδράσεις οξείδωσης πραγματοποιούνται με αργό ρυθμό. Σε ένα κρασί κορεσμένο με οξυγόνο, πρέπει να περάσουν μία με δύο εβδομάδες πριν η οξείδωση των επιμέρους συστατικών του καταναλώσει 8-9 mg/L οξυγόνου. Υπολογίζεται ότι το λευκό κρασί μπορεί να κορεσθεί με οξυγόνο έως και 10 φορές πριν από την οξείδωση (Singleton, 1987). Αυτό το γεγονός καθιστά ιδιαίτερα χρονοβόρα την παρακολούθηση της οξείδωσης κατά την αποθήκευση .

Ωστόσο, το μεγάλο ενδιαφέρον για την εκτίμηση της έκτασης του αποχρωματισμού στα λευκά κρασιά οδήγησε στην ανάπτυξη πρωτοκόλλων δοκιμών ταχείας οξείδωσης, η εφαρμογή των οποίων μπορεί να οδηγήσει σε συμπεράσματα σε σύντομο χρονικό διάστημα. Σε αυτές τις δοκιμές, κάθε δείγμα λευκού κρασιού εκτίθεται σε παράγοντες που ευνοούν τον επιταχυνόμενο σχηματισμό καφέ (έκθεση σε θερμοκρασίες πάνω από τις κανονικές θερμοκρασίες αποθήκευσης, έκθεση στο ηλιακό φως, πιο έντονη πρόσληψη οξυγόνου, αυξημένο pH)(Μαρία Δ.Αϊδιρινη,2017).

Αρχικά, γίνεται αντιστοιχία του κρασιού σε φιαλίδια(vials) των 6ml.Σε κάθε φιαλίδιο τοποθετούνται 4ml οίνου με τη βοήθεια πιπέτας, προκειμένου να μείνει ένας κενός χώρος για να εισχωρήσει το οξυγόνο. Στη συνέχεια, παρασκευάζονται stock διαλύματα Ascorbic acid (α-σκορβικού οξέως) δυο συγκεντρώσεων (10mg/ml και 20mg/ml) και stock διάλυμα glutathione (γλουταθειώνης) δυο συγκεντρώσεων (50mg/ml και 100mg/ml).

Πιο συγκεκριμένα, τα σωληνάρια χωρίζονται σε 3 κατηγορίες. Στην πρώτη κατηγορία κατατάσσονται τα φιαλίδια με το τυφλό δείγμα(1,2,3,...).Στη δεύτερη κατηγορία,τα δείγματα με προσθήκη αντιοξειδωτικού ασκορβικού οξέως (A1,A2,A1',A2'....).Στην τρίτη κατηγορία, τα δείγματα με προσθήκη αντιοξειδωτικού γλουταθειώνης (G1,G2,G1',G2'...).

Αφού σημειωθούν οι αριθμοί στα δείγματα με τις μέρες και την ποσότητα που τους αναλογούσαν, η διαδικασία ξεκινάει. Την μέρα 0 η μέτρηση έγινε σε θερμοκρασία δωματίου .Απο τη μέρα 1-12 τα δείγματα εκτίθενται για διάστημα 12 ημερών σε σταθερή θερμοκρασία $55^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ μέσα σε ειδικό υδατόλουτρο υπό συνθήκες σκότους. Τα φιαλίδια απομακρύνονται από το υδατόλουτρο ανά 24 ώρες και αφήνονται για διάστημα περίπου 15 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου. Η μέτρηση της απορρόφησης ολοκληρώνεται με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου στα 420nm .Ο μηδενισμός του φασματοφωτόμετρου γίνεται με τη χρήση απιονισμένου νερού. Οι μετρήσεις γίνονται σε πλαστικές κυψελίδες.Το περιεχόμενο επανατοποθετείται πίσω στα φιαλίδια για να διατηρηθεί ο αρχικός όγκος. Η ίδια διαδικασία επαναδιατυπώνεται για 12 ημέρες.

8.3.Μέθοδος FOLIN-CIOCALTEU

Το αντιδραστήριο Folin–Ciocalteu (FCR) ή το αντιδραστήριο φαινόλης Folin ή το αντιδραστήριο Folin–Denis είναι ένα μείγμα απο φωσφορομολυβδενικό ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) και φωσφοροβολφραμικό ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) που χρησιμοποιείται για τους *in vitro* χρωματομετρικούς προσδιορισμούς αντιοξειδωτικών φαινόλης και πολυφαινόλης. Γνωστή και ως Μέθοδος Ισοδύναμου Γαλλικού Οξέος (GAE) (Singleton, Vernon L.; Orthofer, Rudolf; Lamuela-Raventós, Rosa M. ,1999). Τα οξέα ανάγονται από τις φαινολικές ενώσεις σε ένα μείγμα κυανών οξειδίων και η ένταση του κυανού χρώματος είναι ανάλογη της ποσότητας και του είδους των φαινολικών ενώσεων που περιέχει το κρασί(Αργύρης τσακίρης,2020). Οι φαινόλες, ανάγονται σε ένα μείγμα μπλε οξειδίων του βολφραμίου, W_8O_{23} και μολυβδαινίου, Mo_8O_{23} . Ο μπλε χρωματισμός που σχηματίζεται έχει μέγιστη απορρόφηση στην περιοχή των 750 nm, και είναι ανάλογη με τη συνολική ποσότητα φαινολικών ενώσεων που υπήρχαν αρχικά. Το αντιδραστήριο δεν μετρά μόνο τις φαινόλες, αλλά θα αντιδράσει με οποιαδήποτε αναγωγική ουσία. Επομένως, μετρά τη συνολική αναγωγική ικανότητα ενός δείγματος, όχι μόνο των φαινολικών ενώσεων. Αυτό το αντιδραστήριο αποτελεί μέρος της δοκιμασίας πρωτεΐνης Lowry και θα αντιδράσει επίσης με ορισμένες ενώσεις που περιέχουν άζωτο όπως η υδροξυλαμίνη και η γουανιδίνη (Ikawa M, Schaper TD, Dollard CA, Sasner JJ ,2003). Το αντιδραστήριο έχει επίσης αποδειχθεί ότι αντιδρά προς θειόλες, πολλές βιταμίνες, τη νουκλεοτιδική βάση γουανίνη, τις τριόζες γλυκεραλδεΐδη και διυδροξυακετόνη και ορισμένα ανόργανα ιόντα. Η συμπλοκοποίηση του χαλκού αυξάνει την αντιδραστικότητα των φαινολών προς αυτό το αντιδραστήριο(Everette, Jace D.; Bryant, Quinton M.; Green, Ashlee M.; Abbey, Yvonne A.; Wangila, Grant W.; Walker, Richard B. ,2010).Αυτό το αντιδραστήριο διαφέρει από το αντιδραστήριο Folin, το οποίο χρησιμοποιείται για την ανίχνευση αμινών και ενώσεων που περιέχουν θείο. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα Na_2CO_3 .

Υλικά και οργανολογία	Αντιδραστήρια
a) Ζυγός	a) Folin–Ciocalteu (προετοιμασμένο)
b) Αναδευτήρας	b) Διάλυμα (Na_2CO_3) 20% w/v
c) Ποτήρια ζέσεως	c) Πρότυπο διάλυμα γαλλικού οξέως
d) Ογκομετρικές φιάλες	
e) Κυψελίδες	
f) Πιπέτες	

g) Αντιδραστήριο F.cioaltea	
h) Stock gallic acid / καμπύλη	
i) Ανθρακικό Νάτριο (Na_2CO_3) 20%w/v	
j) Νερό	
k) Φασματοφωτόμετρο	

8.3.1.Αντιδραστήρια μεθόδου FOLIN-CIOCALTEU

Διαλύματα :

A. Διάλυμα Na_2CO_3 (ανθρακικό νάτριο) 20% w/v:

Αρχικά μηδενίζεται ο ζυγός μαζί με το ποτήρι ζέσεως και προστίθεται μέσα σε αυτό 10 gr άνυδρου Na_2CO_3 . Στη συνέχεια, το ποτήρι ζέσεως τοποθετείται στον αναδευτήρα, αφού έχει συμπληρωθεί με μια κατάλληλη ποσότητα απιονισμένου νερού και τοποθετείται ο μαγνήτης, όπου σε χαμηλές στροφές αφήνεται το διάλυμα να ομογενοποιηθεί. Για καλύτερο αποτέλεσμα χρησιμοποιήθηκε θέρμανση γύρω στους 60-65°C. Όταν το διάλυμα είναι έτοιμο μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml και συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό μέχρι χαραγής. Το διάλυμα διατηρείται εκτός ψυγείου και για δυο εβδομάδες.

B. Διάλυμα γαλλικού οξέος συγκέντρωσης 1mg/L:

Για την παρασκευή γαλλικού οξέος συγκέντρωσης 1mg/L, 10 mg γαλλικού οξέος διαλύονται σε 10ml αιθανόλης 12% σε ογκομετρική φιάλη των 10mL. Η ογκομετρική φιάλη συμπληρώνεται με νερό μέχρι τη χαραγή.

8.4.Διαδικασία πορείας (FOLIN-CIOCALTEU):

Για τη συγκεκριμένη μέθοδο κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης γαλλικού οξέος με 5 σημεία (πρότυπα) τα οποία παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Eppendorf	Σημείο 0	Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Σημείο 4	Σημείο 5
μL H_2O	1000	950	900	750	500	0
μL γαλλικού οξέος	0	50	100	250	500	1000
Τελική C(mg/L)	0	50	100	250	500	1000
V τελικό σε μL	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Πίνακας 1: Ποσοτική προσθήκη διαλυμάτων για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Στον όγκο του νερού σύμφωνα με το πρωτόκολλο ,γίνεται αναφορά για χρήση αιθανόλης όμως λόγω αποχρωματισμού σε κυανό αντικαταστάθηκε με νερό. Έστερα, ετοιμάζονται τα δείγματα ,το πρότυπο και τέλος το control. Γίνεται αναφορά στον παρακάτω πίνακα:

H ₂ O		Folin Ciocalteu	Na ₂ CO ₃ 20% w/v
1580 μ L	Control 20 μ L (προσθήκη H ₂ O)	100 μ L	300 μ L
1580 μ L	Πρότυπο (καμπύλη) 20 μ L	100 μ L	300 μ L
1580 μ L	Δείγματα 20 μ L	100 μ L	300 μ L

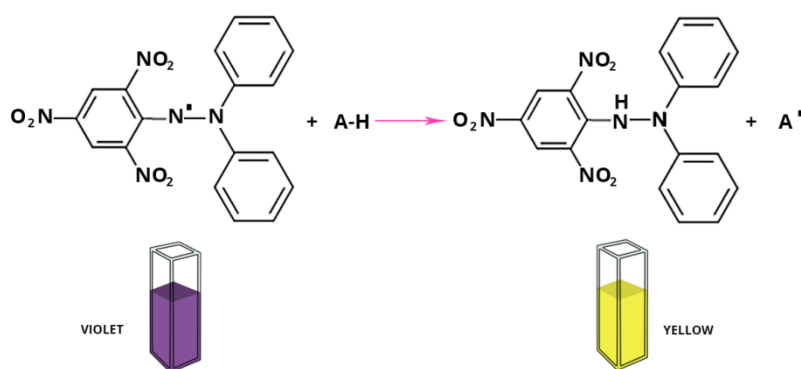
Πίνακας 2: Ποσοτική προσθήκη διαλυμάτων μεθόδου FOLIN-CIOCALTEU για την μέτρηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών

Αφού γίνει η προσθήκη Folin γίνεται vortex και αναμένονται 3 λεπτά .Μετά προστίθενται Na₂CO₃ και τοποθετείται το πώμα από το φιαλίδιο. Υπό συνθήκες σκότους, φυλάσσονται και μετά από 1 ώρα (στο πρωτόκολλο αναγράφονταν 2 ώρες αναμονής ,παρόλα αυτά διεξήχθη στη 1 ώρα διότι δεν υπήρξε αριθμητική διαφορά) γίνεται η μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο στα A750nm.Ο μηδενισμός των δειγμάτων έγινε με απιονισμένο νερό (H₂O). Πραγματοποιήθηκαν 2 επαναλήψεις για όλα τα δείγματα. Μόλις ολοκληρώθηκε η πρώτη δοκιμή σε όλα τα δείγματα έγινε και το επαναληπτικό .

Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων κατασκευάζεται γραφικά η πρότυπη καμπύλη μέσω της οποίας υπολογίζεται η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των δειγμάτων εκφρασμένη σε ισοδύναμα του γαλλικού οξέος (Gallic Acid Equivalents,GAE).

8.5.Μέθοδος DPPH

Η δοκιμασία καθαρισμού ριζών DPPH είναι από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μεθόδους και προσφέρει την πρώτη προσέγγιση για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας. Είναι μια μέθοδος ET-Based με τον μηχανισμό HAT να είναι μόνο μια οριακή οδός αντίδρασης στον προσδιορισμό (Prior et al., 2005). Η DPPH είναι μια σταθερή ρίζα χρωμογόνου με βαθύ μωβ χρώμα. Ο προσδιορισμός σάρωσης DPPH βασίζεται στη δωρεά ηλεκτρονίων αντιοξειδωτικών για την εξουδετέρωση της ρίζας DPPH. Η αντίδραση συνοδεύεται από αλλαγή χρώματος της DPPH που μετράται στα 517 nm και ο αποχρωματισμός δρα ως δείκτης της αντιοξειδωτικής αποτελεσματικότητας. Όταν προστεθεί ένα άτομο H από μία αντιοξειδωτική ένωση ανάγεται από 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο DPPH σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη DPPH₂, το οποίο οδηγεί στην αλλαγή χρώματος από μωβ σε κίτρινο και συγχρόνως μειώνεται η απορρόφηση στα 515 nm.



Εικόνα 9: Γίνεται αναπαράσταση της χημικής δομής της ρίζας 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH) σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη (DPPH₂).

Γίνεται χρήση φασματοφωτόμετρου. Η μέθοδος αυτή διεκπεραιώνεται κάπου στα 20-30 min, χωρίς να ολοκληρώνεται η αντίδραση οξειδοαναγωγής. Έχει υποστηριχθεί ότι η σάρωση της DPPH δεν μιμείται τον μηχανισμό δέσμευσης ριζών των αντιοξειδωτικών σε πραγματικά τρόφιμα ή βιολογικά συστήματα λόγω έλλειψης ρίζας οξυγόνου στην ανάλυση (Benzie & Strain, 1999). Κατά συνέπεια, αυτή η μέθοδος βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στο ότι η αντιοξειδωτική δράση είναι ίση με την ικανότητα δωρεάς ηλεκτρονίων ή τη λεγόμενη αναγωγική

ισχύ της. Ο υπολογισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Arnous et al. (2001) για τη μέθοδο

8.7.Αντιδραστήρια μεθόδου DPPH

a) Διάλυμα DPPH:Ο ζυγός μηδενίζεται με το ποτήρι ζέσεως που θα χρησιμοποιηθεί και προστίθεται σε αυτό 12,5 mg DPPH με τη βοήθεια ειδικής σπάτουλας. Ταυτόχρονα, διαλύονται 25ml μεθανόλης στο ποτήρι ζέσεως με ταυτόχρονη ανάδευση μέχρι διάλυσης των κόκκων DPPH.Γίνεται μεταφορά του δείγματος σε ογκομετρική φιάλη και συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη. Αυτό είναι το stock διάλυμα. Εφαρμόζεται αραίωση 2:50 για να παρασκευαστεί το διάλυμα μέτρησης. Δηλαδή σε 2 ml διαλύματος προσθέτω 48ml

b) Πρότυπο διάλυμα trolox 2mM:Ο ζυγός μηδενίζεται με το ποτήρι ζέσεως που θα χρησιμοποιηθεί και προστίθεται σε αυτό 12,5mg trolox διαλύονται σε 25mL 96%EtOH.

Υλικά και οργανολογία
a) Πιπέτες, tips, plate
b) Ποτήρια ζέσεως
c) Ζυγός
d) Ογκομετρικός κύλινδρος
e) Ογκομετρική φιάλη
f) Φασματοφωτόμετρο (Elisa)
g) Eppendorf
h) Vortex
i) DPPH (Κόκκοι, κάλυψη με αλουμινόχαρτο λόγω φωτός. Συντήρηση στο ψυγείο)
j) Μεθανόλη
k) Αιθανόλη

Διαδικασία πορείας (DPPH)

Δείγματα Οίνου

Σε μικρούς γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούνται 50μL αραιωμένου δείγματος οίνου (αραίωση με MEON 1:1 ,δηλαδή 25μL MEON με 25μL οίνου)και 1950μL διαλύματος DPPH .Για το τυφλό χρησιμοποιείται 50μL μεθανόλης και 1950μL διαλύματος DPPH .

Ακολουθεί ανάδευση σε Vortex και μετρίεται η απορρόφηση στα 515nm.Το δείγμα επιστρέφεται στο σωλήνα και μετρίεται η απορρόφηση ξανά μετά από 30 min(t=30min). Ο μηδενισμός των δειγμάτων γίνεται με τη χρήση απιονισμένου νερού (H₂O).

Από τις δύο απορροφήσεις υπολογίζεται η % διαφορά στην απορρόφηση.

$$\% \Delta A_{515} = (A_{515}(t=0) - A_{515}(t=30)) / A_{515}(t=0) * 100$$

Καμπύλη αναφοράς σε trolox (πρότυπα δείγματα)

Μέσω της καμπύλης αναφοράς σε trolox εκφράζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα σε mM trolox. Για την πρότυπη καμπύλη αναφοράς παρασκευάζεται διάλυμα trolox με συγκεντρώσεις 2mM. Η καμπύλη αναφοράς γίνεται για τις συγκεντρώσεις που αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα. Γίνεται χρήση Eppendorf σε τελικό όγκο 1mL.

Τελική συγκέντρωση Trolox (mM)	Πρότυπο διάλυμα Trolox (μL)	Αιθανόλη 96%(μL)
0	0 (μάρτυρας)	1000
0,08	40	960
0,16	80	920
0,20	100	900
0,40	200	800
0,60	300	700
0,80	400	600
1,00	500	500

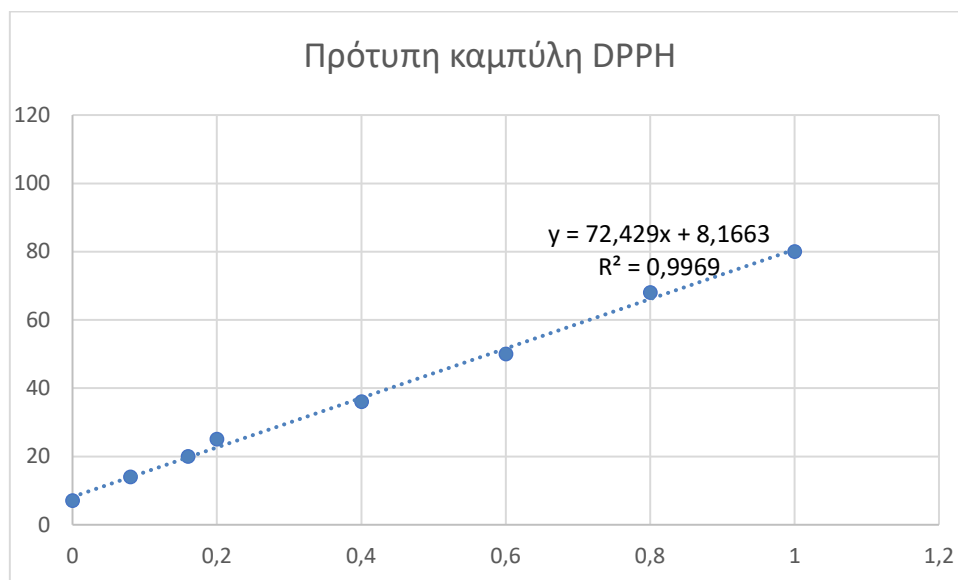
Πίνακας 3: Συγκέντρωση trolox και διαλύματος αιθανόλης 96% για τη δημιουργία πρότυπης καμπύλης

Σε μικρούς γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούνται 50μL πρότυπου δείγματος και 1950μL διαλύματος DPPH. Το τυφλό δείγμα είναι και ο μάρτυρας. Ακολουθεί ανάδευση σε Vortex και μετριέται η απορρόφηση στα 515nm. Το δείγμα επιστρέφεται στο σωλήνα και μετριέται ξανά η απορρόφηση μετά από 30 min (t=30min). Ο μηδενισμός των δειγμάτων γίνεται με νερό (H₂O).

Αντιστοιχίζοντας τις πρότυπες συγκεντρώσεις με τις αντίστοιχες %ΔA₅₁₅ κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη και από την ευθεία που την περιγράφει υπολογίζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος σε ισοδύναμα trolox.

$$\% \Delta A_{515} = (A_{515}(t=0) - A_{515}(t=30)) / A_{515}(t=0) * 100$$

ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ



Εικόνα 10: Πρότυπη καμπύλης DPPH

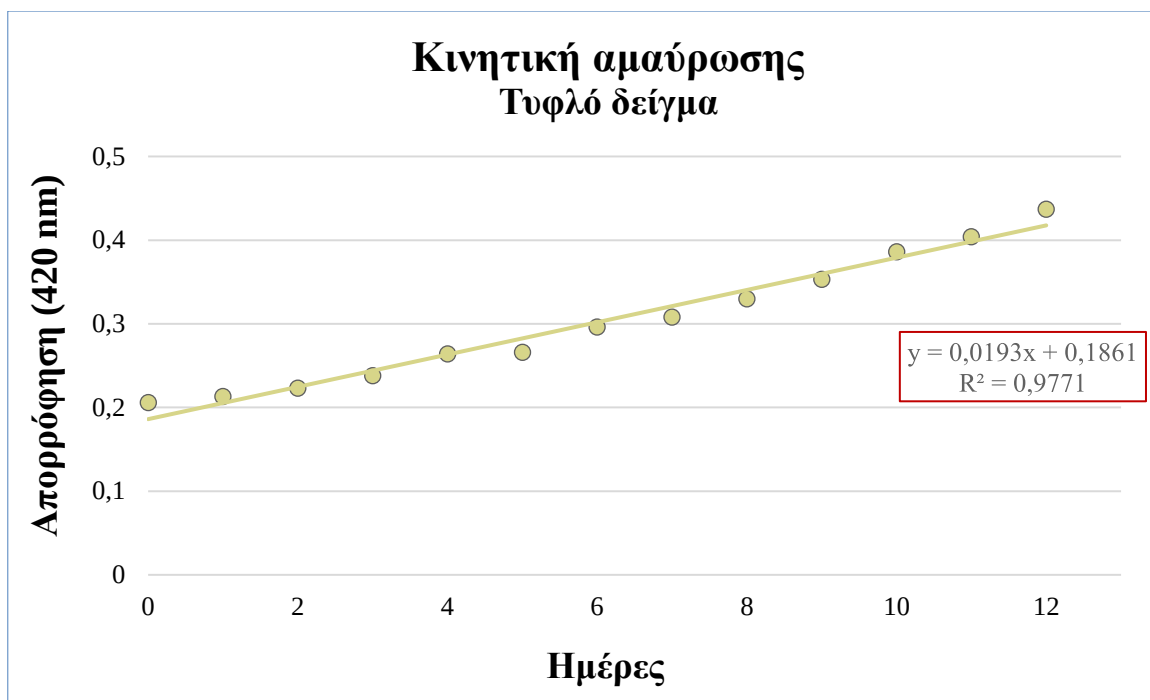
ΙΧ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα, οι τιμές των δειγμάτων δηλαδή, που μετρήθηκαν ύστερα από την επεξεργασία αυτών με τις προαναφερθέντες μεθόδους. Η παρουσίαση πραγματοποιείται με την βοήθεια διαγραμμάτων.

9.1.Κινητική μελέτη της έντασης της οξειδωτικής αμαύρωσης

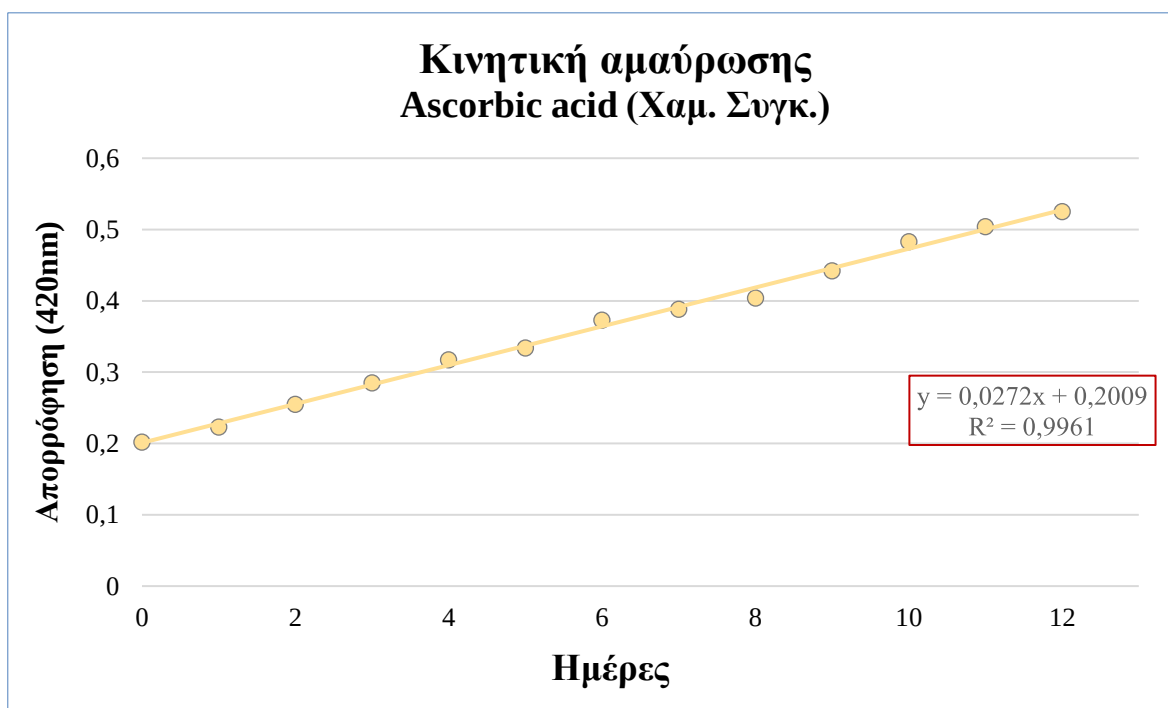
Για την μελέτη της οξειδωτικής αμαύρωσης, όπως προαναφέρθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο, τα δείγματα των ποικιλιών παρέμειναν καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος υπό συνθήκες σκότους μέσα σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία στους $55^{\circ}\text{C} \pm 0,2$. Με την βοήθεια του φασματοφωτόμετρου γινόταν καταγραφή της απορρόφησης των δειγμάτων κάθε 24 ώρες (συγκεκριμένα πρωινές ώρες) στα 420nm(A420). Για τον μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό, ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με χρήση λάμπας αλογόνου.

Στα παρακάτω διαγράμματα παρατηρούμε την καμπύλη κινητικής της αμαύρωσης. Οι τιμές προκύπτουν από τα δείγματα στο διάστημα των δώδεκα ημερών μελέτης στο εργαστήριο.



Εικόνα 11: Κινητική μελέτη αμαύρωσης οίνου Δείγματος τυφλού (Απορρόφηση/μέρα)

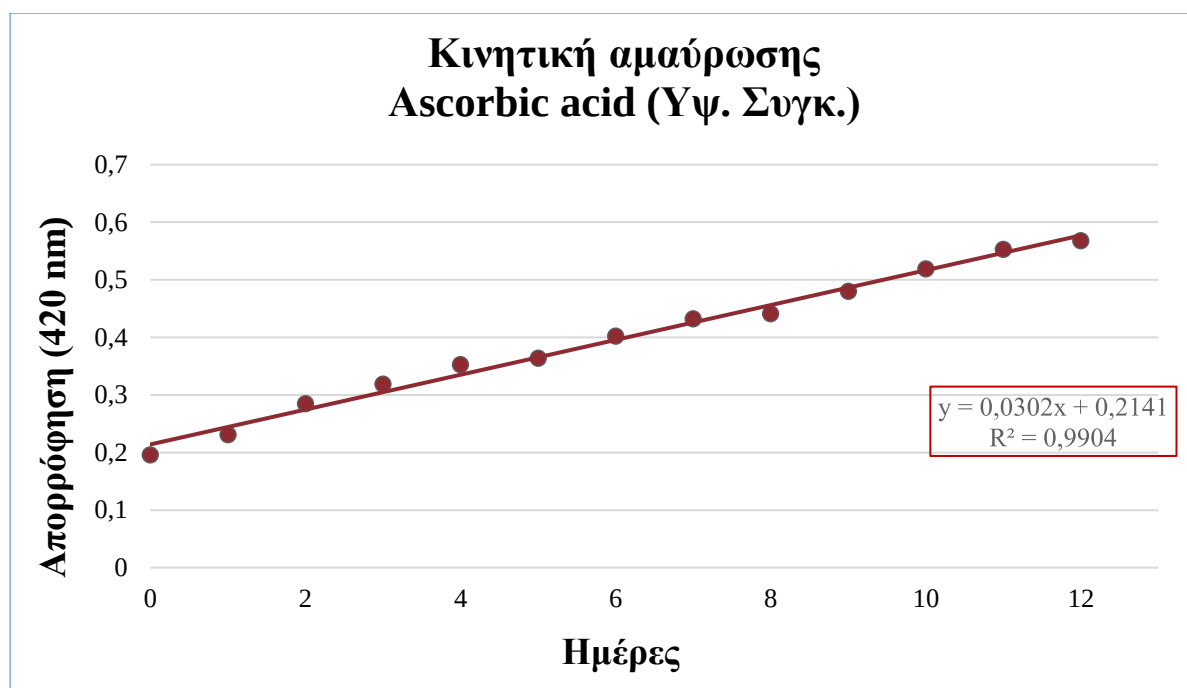
Στην εικόνα 11 παρουσιάζεται η μελέτη κινητικής αμαύρωσης σε διάστημα 12 ημερών του τυφλού δείγματος. Η απορρόφηση την πρώτη μέρα είναι (0,206) και αυξάνεται γραμμικά μέχρι την δωδέκατη ημέρα(0,437).



Εικόνα 12: Κινητική μελέτη αμαύρωσης οίνου Δείγματος Asc.Acid χαμηλής συγκέντρωσης (Απορρόφηση/μέρα).

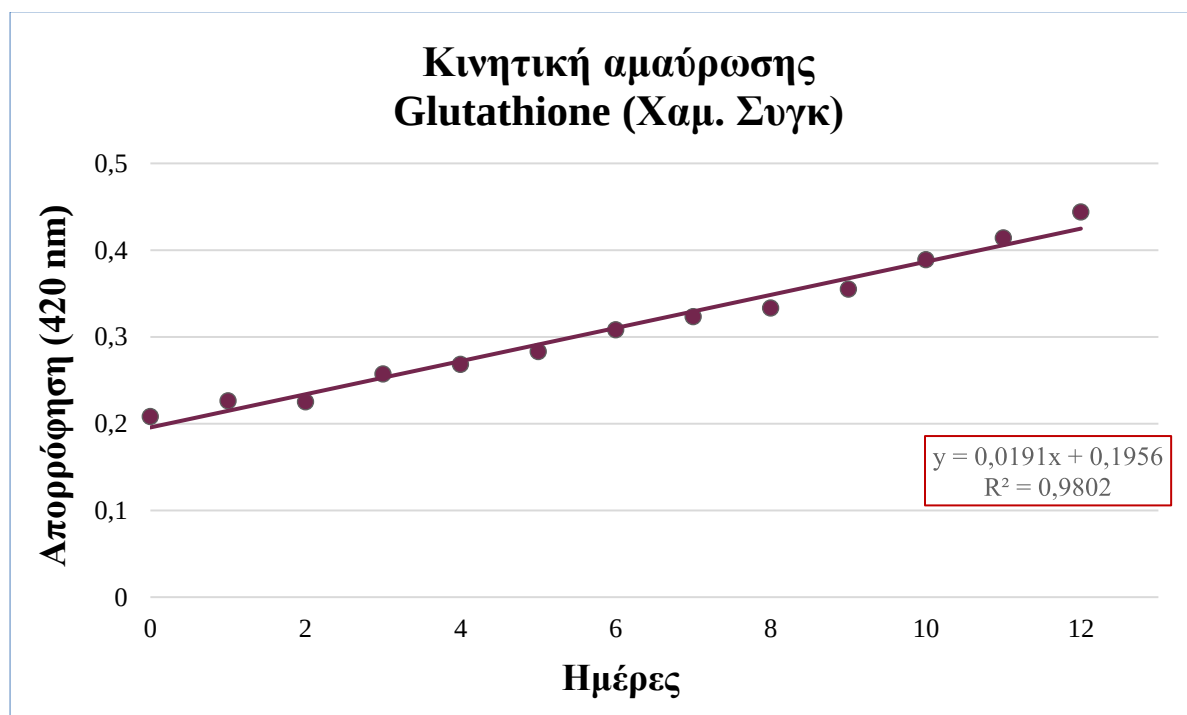
Στην εικόνα 12 παρουσιάζεται η μελέτη κινητικής αμαύρωσης σε διάστημα 12 ημερών του

δείγματος Asc .Acid χαμηλής συγκέντρωσης. Η απορρόφηση την πρώτη μέρα είναι (0,202) και αυξάνεται γραμμικά μέχρι την δωδέκατη ημέρα(0,525).



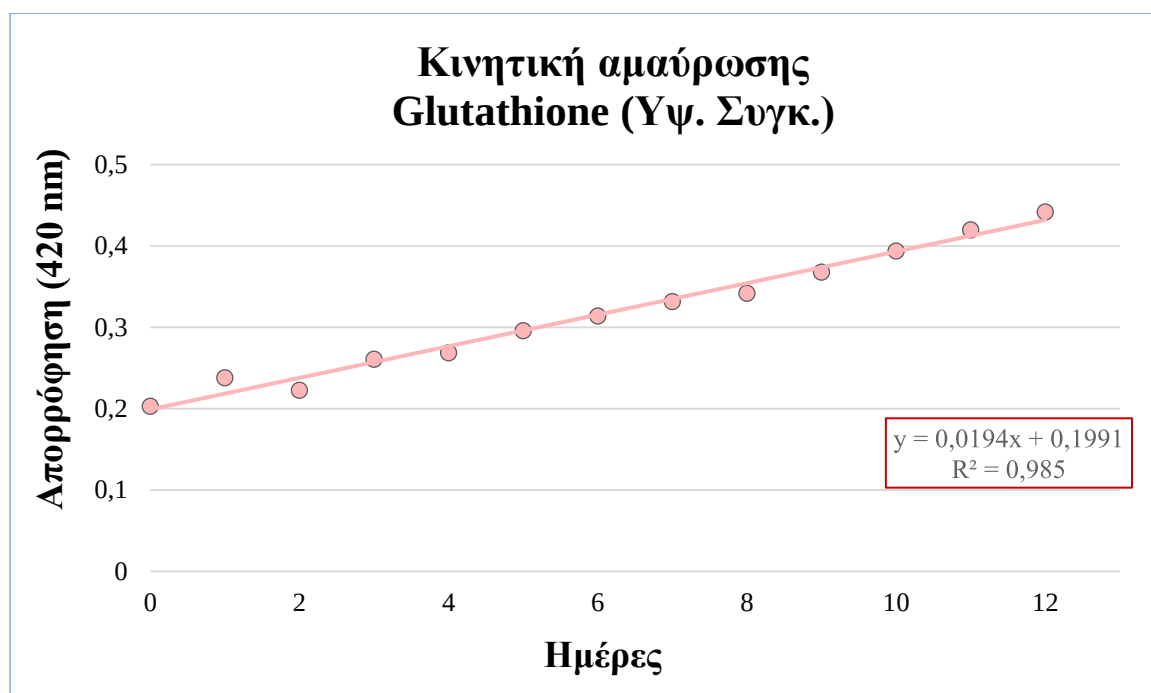
Εικόνα 13: Κινητική μελέτη αμαύρωσης οίνου Δείγματος Asc. Acid υψηλής συγκέντρωσης (Απορρόφηση/μέρα).

Στην εικόνα 13 παρουσιάζεται η μελέτη κινητικής αμαύρωσης σε διάστημα 12 ημερών του δείγματος Asc.Acid υψηλής συγκέντρωσης. Η απορρόφηση την πρώτη μέρα είναι (0,196) και αυξάνεται γραμμικά μέχρι την δωδέκατη ημέρα(0,568).



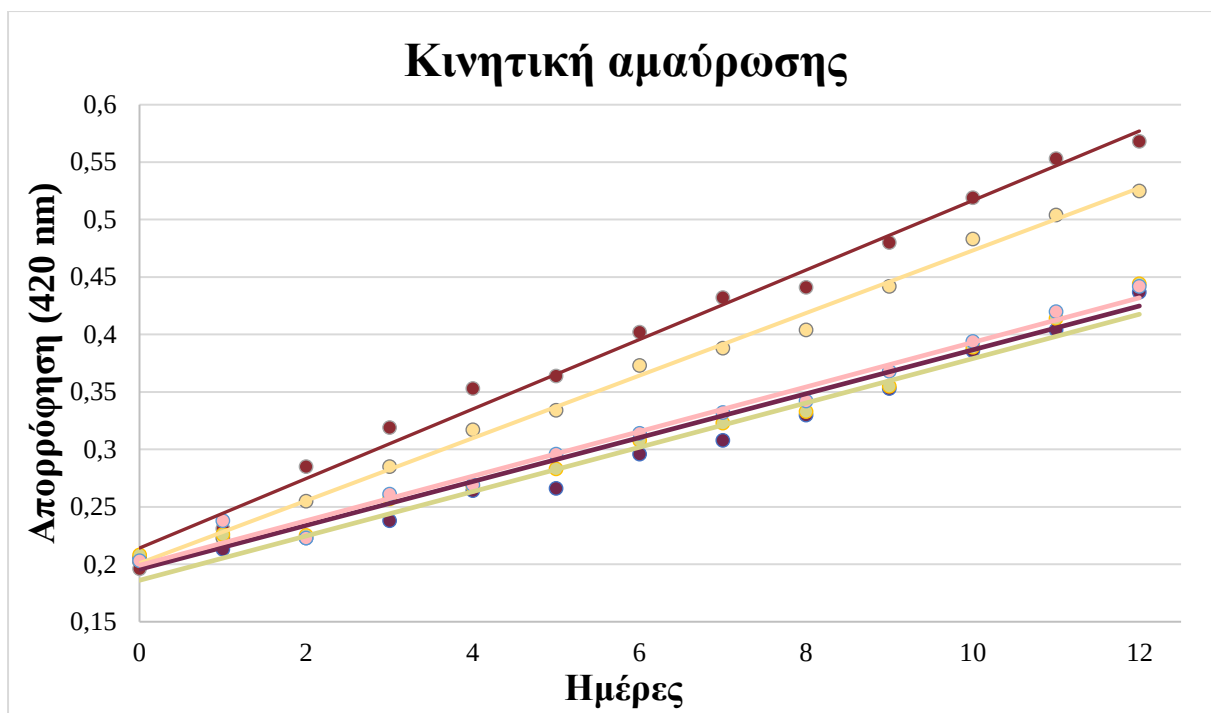
Εικόνα 14: Κινητική μελέτη αμαύρωσης οίνου Δείγματος glutathione χαμηλής συγκέντρωσης (Απορρόφηση/μέρα).

Στην εικόνα 14 παρουσιάζεται η μελέτη κινητικής αμαύρωσης σε διάστημα 12 ημερών του δείγματος glutathione χαμηλής συγκέντρωσης. Η απορρόφηση την πρώτη μέρα είναι (0,208) και αυξάνεται γραμμικά μέχρι την δωδέκατη ημέρα (0,444).



Εικόνα 15: Κινητική μελέτη αμαύρωσης οίνου Δείγματος glutathione υψηλής συγκέντρωσης (Απορρόφηση/μέρα).

Στην εικόνα 15 παρουσιάζεται η μελέτη κινητικής αμαύρωσης σε διάστημα 12 ημερών του δείγματος glutathione υψηλής συγκέντρωσης. Η απορρόφηση την πρώτη μέρα είναι (0,203) και αυξάνεται γραμμικά μέχρι την δωδέκατη ημέρα (0,442).



Εικόνα 16: Κινητική μελέτη αμαύρωσης οίνου όλων των δειγμάτων (Απορρόφηση/μέρα).

Στην εικόνα 16 παρουσιάζεται η κινητική μελέτη αμαύρωσης όλων των δειγμάτων.

Όπως φαίνεται τις μεγαλύτερες τιμές απορρόφησης στα 420nm παρουσιάζει το δείγμα στη σειρά 3 με μικρή διαφορά από τη σειρά 2 και αρκετή διαφορά από τις άλλες 3 σειρές. Τις μικρότερες τιμές εμφανίζουν οι σειρές 1,4 και 5.

Στα παραπάνω διαγράμματα βλέπουμε ότι η εξίσωση που περιγράφει την οξείδωση είναι ευθεία γραμμή της μορφής $y=ax+b$. Όπως είναι γνωστό ο όρος (a) ονομάζεται κλίση της ευθείας και εκφράζει τον ρυθμό μεταβολής του υπό μελέτη παράγοντα. Οι τιμές των σταθερών αμαύρωσης (k) υπολογίστηκαν γραφικά από την κλίση των παραπάνω ευθειών ($k=a \cdot 10^3$) και παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Δείγμα	($k=a \cdot 10^3$)	R^2	Εξίσωση
Τυφλό	19,3	0,9771	$Y=0,0193x+0,1861$
Δείγμα asc. Acid χαμηλής συγκέντρωσης	27,2	0,9961	$Y=0,0272x+0,2009$
Δείγμα asc. Acid υψηλής συγκέντρωσης	30,2	0,9904	$Y=0,0302x+0,2141$
Δείγμα glutathione χαμηλής συγκέντρωσης	19,1	0,9802	$Y=0,0191x+0,1956$
Δείγμα glutathione υψηλής συγκέντρωσης	19,4	0,985	$Y=0,0194x+0,1991$

Πίνακας 4: Τιμές σταθερών αμαύρωσης (k)όπως υπολογίστηκαν απο την κλίση των ευθειών

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η τιμή της απορρόφησης στα 420 nm αυξήθηκε σε σημαντικό βαθμό κατά τη διάρκεια της επιταχυνόμενης οξείδωσης ,με τις σταθερές αμαύρωσης να ποικίλουν έχοντας εύρος τιμών από 19,1 έως 30,2 ,εύρος το οποίο συμπίπτει με αυτό που καταγράφηκε στη μελέτη των Sioumis et al.,(2006) (k από 15,3-74,5).Τα δείγματα που παρουσίασαν μικρότερο ρυθμό μεταβολής απορρόφησης στα 420nm είναι αυτοί με τη μικρότερη τιμή k.Το δείγμα glutathione μικρής συγκέντρωσης (σειρά 4) με k=19,1 παρουσίασε τη χαμηλότερη τιμή k, ενώ ακολουθούν οι τιμές του τυφλού δείγματος (σειρά 1) k=19,3 και των δειγμάτων glutathione υψηλής συγκέντρωσης(σειρά 5) με k=19,4 και δείγματος ascorbic acid μικρής συγκέντρωσης(σειρά 2) με k=27,2.Ο μεγαλύτερος ρυθμός μεταβολής της απορρόφησης στα 420nm αποτυπώθηκε στο δείγμα asc.acid μεγάλης συγκέντρωσης (σειρά 3)με k=30,2. Από τα παραπάνω παρατηρούμε ότι η τιμή της σταθεράς αμαύρωσης διαφέρει από δείγμα σε δείγμα. Η χρήση αντιοξειδωτικών καθυστερεί το καφέτιασμα του κρασιού,όμως η χρήση θερμοκρασίας αλλάζει τα δεδομένα. Επίσης οι Sioumis et al., διαπίστωσαν ότι η επικατεχίνη φαίνεται να εμπλέκεται σε μεγάλο βαθμό στις αντιδράσεις αμαύρωσης, όπως υποδεικνύεται από την ιδιαίτερα υψηλή συσχέτιση της συγκέντρωσης του με τιμές τις τιμές του k.

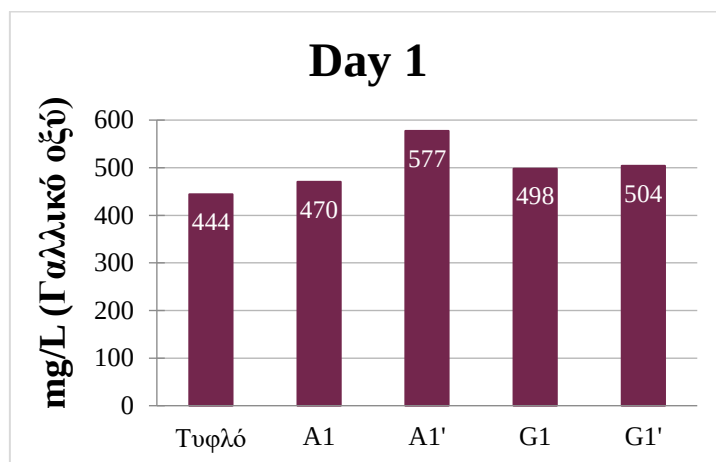
Εν κατακλείδι,η αύξηση της θερμοκρασίας επιταχύνει την αμαύρωση όλων των δειγμάτων και περισσότερο των δειγμάτων του ασκορβικού οξέος.Τα δείγματα γλουταθειώνης παρουσίασαν πιο αργό ρυθμό στην οξειδωτική αμαύρωση του οίνου σύμφωνα με τη μέθοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης.Τέλος, το τυφλό δείγμα παρουσίασε τη μικρότερη άνοδο στην οξειδωτική αμαύρωση.

Οι τιμές του συντελεστή k χρησιμοποιούνται για να αξιολογηθεί ο βαθμός οξείδωσης του συγκεκριμένου δείγματος στα 420nm, με τις υψηλότερες τιμές να υποδεικνύουν την πιο ταχεία οξείδωση.Η ταχύτερη οξείδωση συνεπάγεται και με εντονότερο καφέτιασμα των δειγμάτων.

9.2.Ολικά φαινολικά (μέθοδος FOLIN-CIOCALTEU)

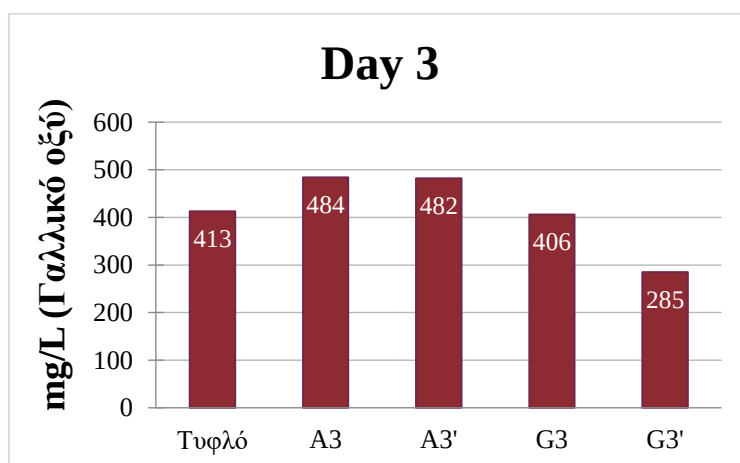
Είναι εμφανές ότι υψηλότερο βαθμό καφετιάσματος παρουσίασαν οι οίνοι με μεγάλες διαφορές στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο κατά το διάστημα της επιταχυνόμενης οξείδωσης στους 55°C.Αυτό μπορεί να εξηγηθεί διότι οι ortho-κινόνες που σχηματίστηκαν από τις ortho-διϋδροξυφαινολικές ενώσεις (κατεχίνη, επικατεχίνη, καφεϊκό οξύ και άλλα υδροξυκιναμμωμικά οξέα) έχουν αυξηθεί.Ακόμη,οι ortho-κινόνες που προέρχονται από τις ortho-

διϋδροξυφαινολικές ενώσεις είναι απίθανο να ελαττώσουν το ολικό φαινολικό περιεχόμενο που προσδιορίζεται με την μέθοδο Folin-ciocalteu (Kotseridis et al.,2013).



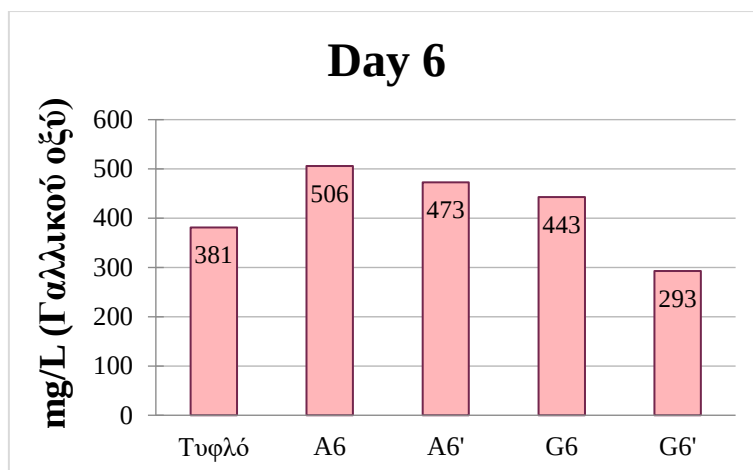
Εικόνα 17: Δείκτης φαινολικών ουσιών οίνου την ημέρα 1

Στην Εικόνα φαίνονται οι τιμές των ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu για Day 1, με το δείγμα A1'(577) να παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Την χαμηλότερη τιμή ολικών φαινολικών εκφρασμένη σε mg/Lγαλλικού οξέος εμφανίζει το δείγμα 1(444). Τα δείγματα A1,G1,G1' δεν έχουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους.



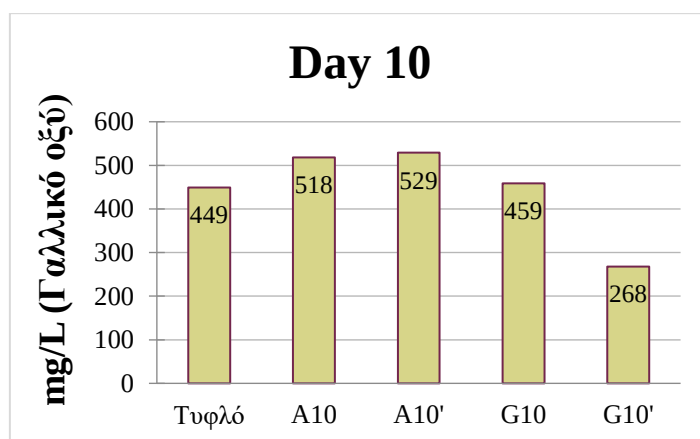
Εικόνα 18: Δείκτης φαινολικών ουσιών οίνου την ημέρα 3

Στην Εικόνα 18 φαίνονται οι τιμές των ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu για Day 3, με το δείγμα A3(484) να παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Την χαμηλότερη τιμή ολικών φαινολικών εκφρασμένη σε mg/Lγαλλικού οξέος εμφανίζει το δείγμα G3'(285). Τα δείγματα 3,A3',G3 δεν έχουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους.



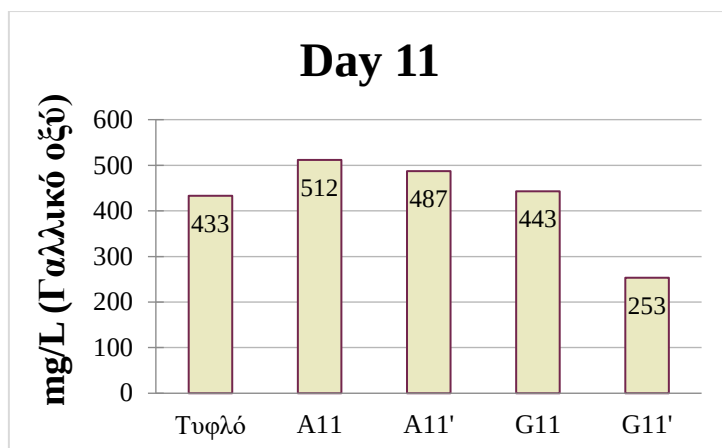
Εικόνα 19: Δείκτης φαινολικών ουσιών οίνου την ημέρα 6

Στην Εικόνα φαίνονται οι τιμές των ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu για Day 6, με το δείγμα A6(506) να παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Την χαμηλότερη τιμή ολικών φαινολικών εκφρασμένη σε mg/Lγαλλικού οξέος εμφανίζει το δείγμα G6'(293). Τα δείγματα 6,A6',G6 δεν έχουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους.



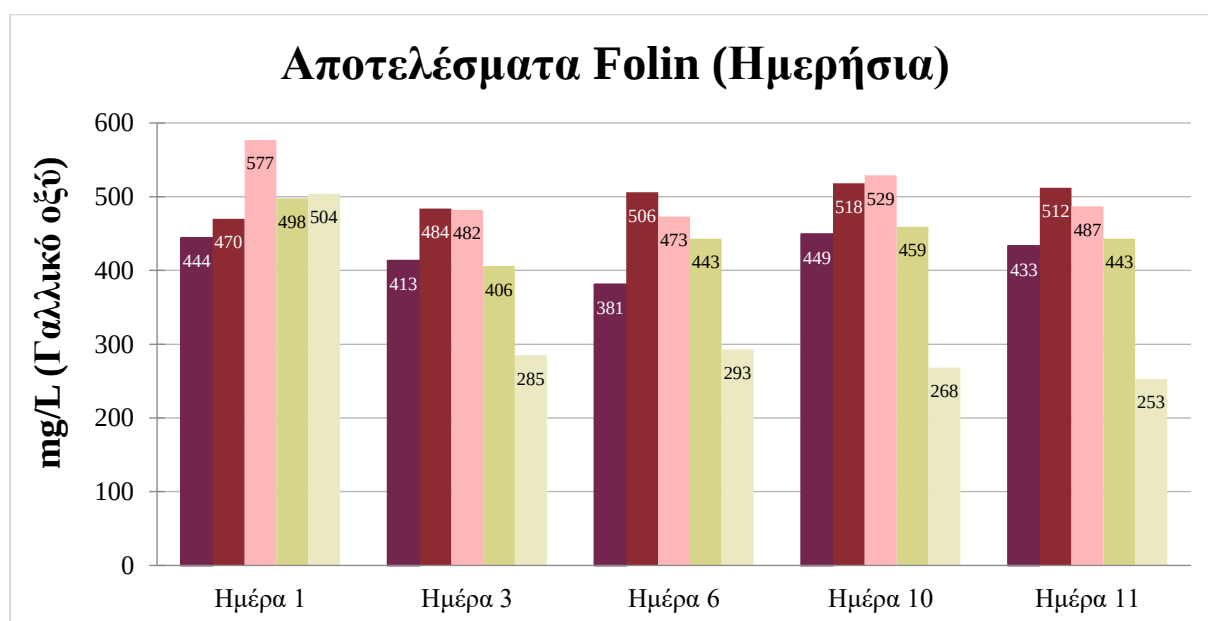
Εικόνα 20: Δείκτης φαινολικών ουσιών οίνου την ημέρα 10

Στην Εικόνα φαίνονται οι τιμές των ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu για Day 10, με το δείγμα A10'(529) να παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Την χαμηλότερη τιμή ολικών φαινολικών εκφρασμένη σε mg/Lγαλλικού οξέος εμφανίζει το δείγμα G10'(268). Τα δείγματα 10,A10,G10 δεν έχουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους.



Εικόνα 21: Δείκτης φαινολικών ουσιών οίνου την ημέρα 11

Στην Εικόνα φαίνονται οι τιμές των ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu για Day 11, με το δείγμα A11(512) να παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Την χαμηλότερη τιμή ολικών φαινολικών εκφρασμένη σε mg/Lγαλλικού οξέος εμφανίζει το δείγμα G11'(253).Τα δείγματα 11,A11',G11 δεν έχουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους.



Εικόνα 22. Δείκτης φαινολικών ουσιών την πρώτη μέρα σε σχέση με τις υπόλοιπες μέρες
 Στον οίνο περιέχονται φαινολικές ενώσεις που έχουν μεταξύ τους μια οξειδοαναγωγική ισορροπία και αλληλομετατρέπονται σε διαφορετικές μορφές. Οι φαινολικές ενώσεις σύμφωνα με τους Sioumis et al., (2005); Vlahou et al. (2021) μπορούν να λειτουργήσουν ως δότες πρωτονίων (H^+) όπως και ως δότες ηλεκτρονίων (αντιοξειδωτικά-αναγωγικά μέσα) ενώ οι

πολυφαινολικές ενώσεις δρουν ως οξειδωτικοί παράγοντες, προσλαμβάνουν δηλαδή ηλεκτρόνια για να αναχθούν.

Στην εικόνα 22 παρουσιάζεται η μεταβολή στις τιμές των ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu, για όλα τα δείγματα από Day 1 και Day 11. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα οι τιμές είναι υψηλότερες για το τυφλό δείγμα και το δείγμα ασκορβικού οξέος συγκέντρωσης 10mg/L και παρουσιάζουν πτώση για day 11. Για τα υπόλοιπα δείγματα δεν ισχύει κάτι ανάλογο μιας και όπως φαίνεται από τον πίνακα υπάρχει μια πτώση στα ολικά φαινολικά συστατικά με αρκετές αυξομειώσεις στο διάστημα του 12ημέρου.

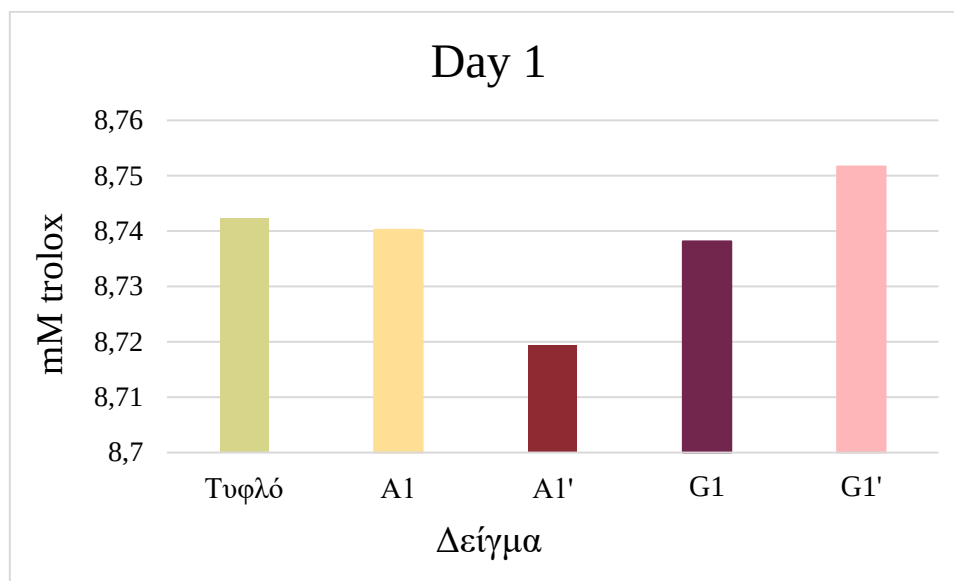
Το δείγμα ασκορβικού οξέος συγκέντρωσης 20mg/L παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή απορρόφησης και δείκτη καφετιάσματος στα 420nm κάτι το οποίο δεν παρατηρείται και ως προς την τιμή συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών. Το δείγμα ασκορβικού οξέος συγκέντρωσης 10mg/L εμφανίζει αύξηση των φαινολικών. Τα δείγματα γλουταθειόνης εμφανίζουν φθίνουσα τάση ως προς τα συνολικά φαινολικά με ιδιαίτερα αισθητή τη μείωση στα φαινολικά δείγματος γλουταθειόνης συγκέντρωσης 100mg/L.

Το αποτέλεσμα αυτό δε συνάδει με τον υψηλό συντελεστή του ρυθμού μεταβολής του χρώματος κ όσο και με τον αυξημένο δείκτη καστάνωσης στα δείγματα αυτά στη θερμοκρασία των $55^{\circ}\text{C} \pm 0,2$.

Εν κατακλείδι, τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων των ολικών φαινολικών ουσιών δεν εμφάνισαν μεγάλη συσχέτιση τόσο με τα αποτελέσματα του συντελεστή μεταβολής του χρώματος κ όσο και με το δείκτη καστάνωσης κάθε δείγματος αντίστοιχα. Το συμπέρασμα αυτό, ως προς την συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ουσιών, έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Fernandez-Zurbano et al. (1995) και των Sioumis et al. (2005), αλλά σε αντίθεση με άλλα (Simpson, 1982). Το φαινόμενο αυτό αποδεικνύει τόσο τον περίπλοκο ρόλο των φαινολικών ουσιών στον οίνο όσο και το ότι δεν είναι όλες οι πολυφαινόλες το ίδιο σημαντικές καθώς δεν παράγουν όλες προϊόντα οξείδωσης στον ίδιο βαθμό εμφάνισης του οξειδωτικού καφετιάσματος στο κρασί (Rossi & Singleton, 1966; Sioumis et al., 2005).

Αυτό ίσως οφείλεται στις χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την διάρκεια της θέρμανσης οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή της δραστηριότητας των φαινολικών ενώσεων με το αντιδραστήριο (Folin) που χρησιμοποιείται για την μέτρηση.

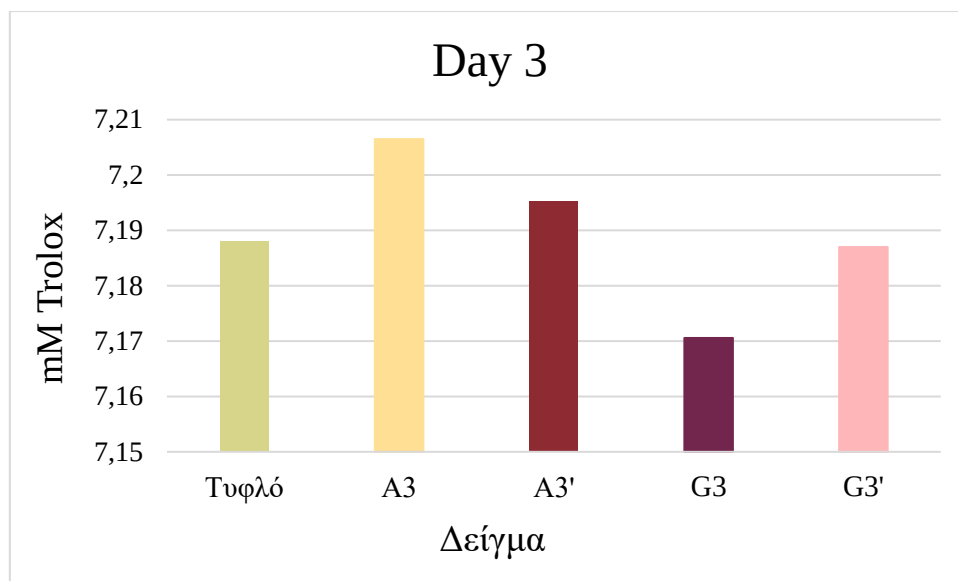
9.3. Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας (μέθοδος DPPH)



Εικόνα 23: Αντιοξειδωτική ικανότητα οίνων μέρα 1 (mM Trolox)

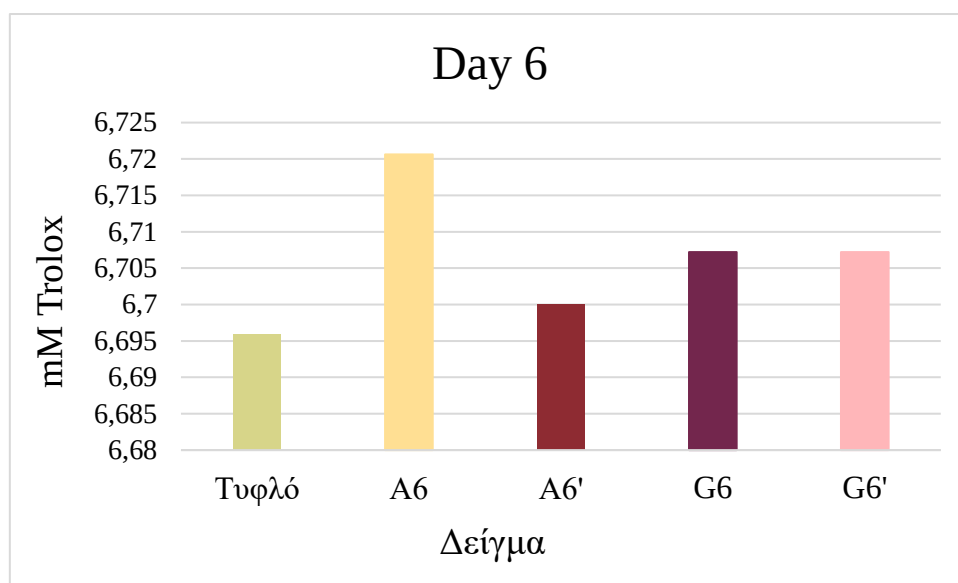
Ως **αντιοξειδωτική ικανότητα** χαρακτηρίζεται η ικανότητα κάποιας ένωσης να αναστέλλει ή να εμποδίζει την οξειδωτική υποβάθμιση. Στη συγκεκριμένη περίπτωση οι ενώσεις αυτές είναι τα φαινολικά συστατικά του οίνου. Για την εκτίμησή της χρησιμοποιήθηκε μία μέθοδος, η οποία στηρίζεται στην ικανότητα των φαινολικών ουσιών να δεσμεύουν μία σταθερή, ελεύθερη, οργανική ρίζα αζώτου, το **1,1 διφαινυλο-2-πικρυλ-υδραζύλιο (DPPH)**.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων την ημέρα 1 παρουσιάζεται στην εικόνα 23 και όπως φαίνεται η υψηλότερη τιμή εμφανίζεται στο δείγμα G1' (8,751) με σημαντική στατική διαφορά από τα υπόλοιπα δείγματα.



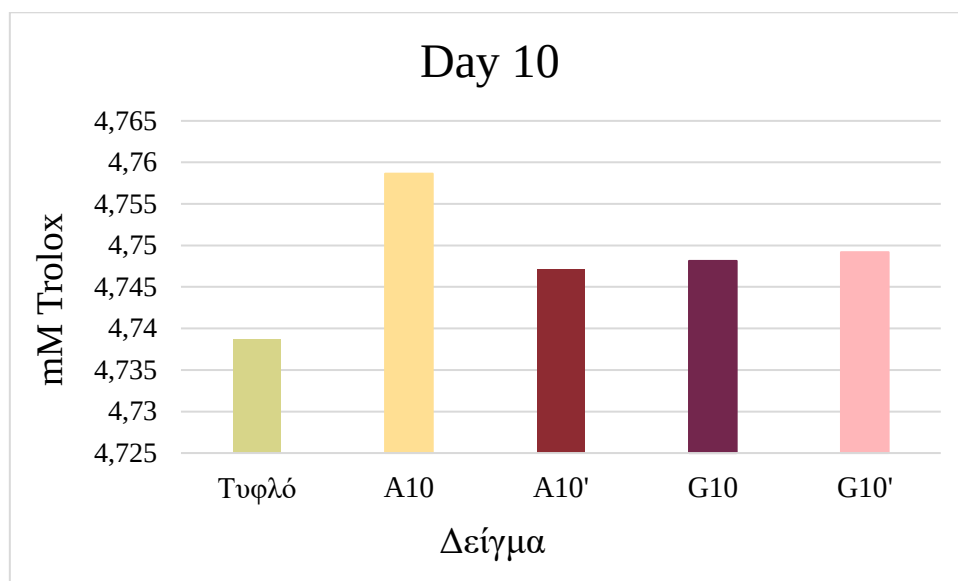
Εικόνα 24: Αντιοξειδωτική ικανότητα οίνων μέρα 3(mM Trolox)

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων την ημέρα 3 παρουσιάζεται στην εικόνα 24 και όπως φαίνεται η υψηλότερη τιμή εμφανίζεται στο δείγμα A3 (7,206) με σημαντική στατική διαφορά από τα υπόλοιπα δείγματα.



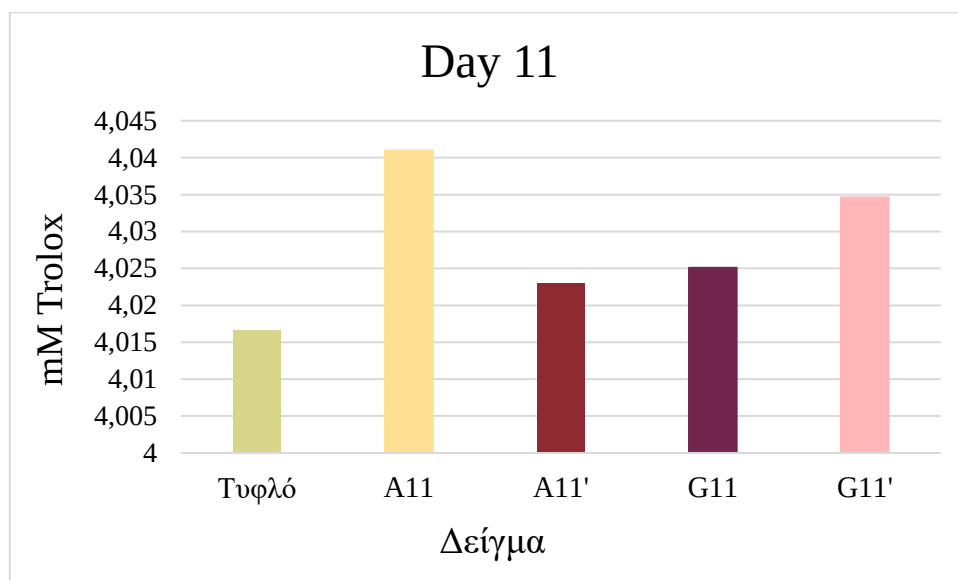
Εικόνα 25: Αντιοξειδωτική ικανότητα οίνων μέρα 6(mM Trolox)

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων την ημέρα 6 παρουσιάζεται στην εικόνα 25 και όπως φαίνεται η υψηλότερη τιμή εμφανίζεται στα δείγματα G6 (6,707) και G6' (6,707).



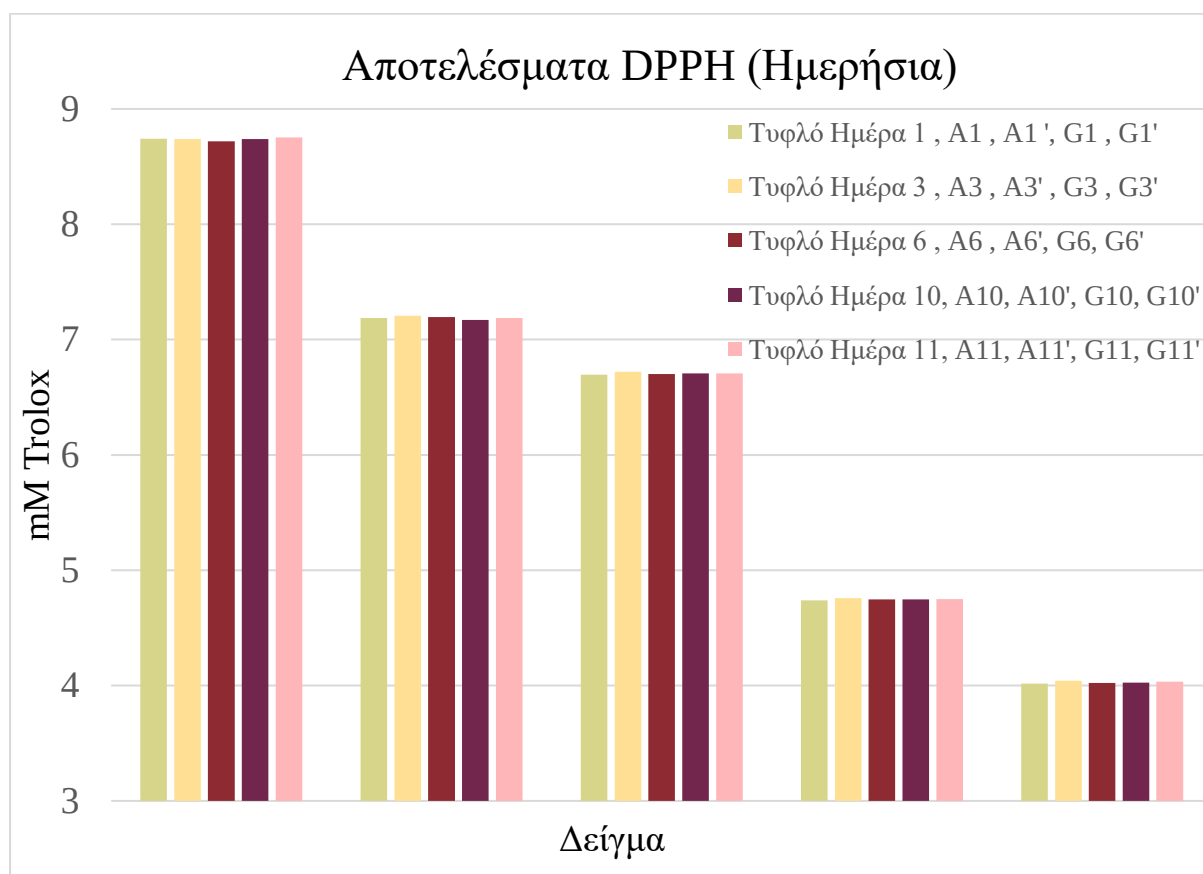
Εικόνα 26. Αντιοξειδωτική ικανότητα οίνων μέρα 10 (mM Trolox)

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων την ημέρα 10 παρουσιάζεται στην εικόνα 26 και όπως φαίνεται η υψηλότερη τιμή εμφανίζεται στο δείγμα A10 (4,758) με σημαντική στατική διαφορά από τα υπόλοιπα δείγματα.



Εικόνα 27: Αντιοξειδωτική ικανότητα οίνων μέρα 11(mM Trolox)

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων την ημέρα 11 παρουσιάζεται στην εικόνα 24 και όπως φαίνεται η υψηλότερη τιμή εμφανίζεται στο δείγμα A11 (4,040) με σημαντική στατική διαφορά από τα υπόλοιπα δείγματα.



Εικόνα 28: Αντιοξειδωτική ικανότητα οίνων της πρώτης σε σχέση με τις υπόλοιπες μέρες (mM Trolox)

Στη εικόνα 28 φαίνονται οι τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας της πρώτης σε σχέση με τις υπόλοιπες μέρες. Όπως φαίνεται οι τιμές αρχικά είναι υψηλές και στην εντέκατη μέρα πέφτουν, με την πτώση να είναι ιδιαίτερα εμφανής στα δείγματα μέρας 11.

Day 1	Αντιοξειδωτική ικανότητα (mM Trolox)	Ολικές φαινόλες (mg γαλλικού οξέος/L οίνου)
Τυφλό	8,74230129	444
A1	8,740220558	470
A1'	8,719413233	577
G1	8,738139825	498
G1'	8,751664586	504

Πίνακας 5: Ενδείξεις 1ης μέρας αντιοξειδωτικής δράσης (mM trolox) και ολικών φαινολών (mg γαλλικού οξέος/L) των εξεταζόμενων δειγμάτων της ποικιλίας Τσαούσι

Day 3	Αντιοξειδωτική ικανότητα (mM Trolox)	Ολικές φαινόλες (mg γαλλικού οξέος/L οίνου)
Τυφλό	7,188013136	413
A3	7,206486043	484
A3'	7,195197044	482
G3	7,170566502	406
G3'	7,186986864	285

Πίνακας 6: Ενδείξεις 3ης μέρας αντιοξειδωτικής δράσης (mM trolox) και ολικών φαινολών (mg γαλλικού οξέος/L) των εξεταζόμενων δειγμάτων της ποικιλίας Τσαούσι

Day 6	Αντιοξειδωτική ικανότητα (mM Trolox)	Ολικές φαινόλες (mg γαλλικού οξέος/L οίνου)
Τυφλό	6,69584968	381
A6	6,69584968	506
A6'	6,699979352	473
G6	6,707206277	443
G6'	6,707206277	293

Πίνακας 7: Ενδείξεις 6ης μέρας αντιοξειδωτικής δράσης (mM trolox) και ολικών φαινολών (mg γαλλικού οξέος/L) των εξεταζόμενων δειγμάτων της ποικιλίας Τσαούσι

Day 10	Αντιοξειδωτική ικανότητα (mM Trolox)	Ολικές φαινόλες (mg γαλλικού οξέος/L οίνου)
Τυφλό	4,738678155	449
A10	4,758642429	518
A10'	4,747084165	529
G10	4,748134916	459
G10'	4,749185668	268

Πίνακας 10: Ενδείξεις 10ης μέρας αντιοξειδωτικής δράσης (mM trolox) και ολικών φαινολών (mg γαλλικού οξέος/L) των εξεταζόμενων δειγμάτων της ποικιλίας Τσαούσι

Day 11	Αντιοξειδωτική ικανότητα (mM Trolox)	Ολικές φαινόλες (mg γαλλικού οξέος/L οίνου)
Τυφλό	4,016617273	433
A11	4,04096105	512
A11'	4,022967824	487
G11	4,025084674	443
G11'	4,0346105	253

Πίνακας 11: Ενδείξεις 11ης μέρας αντιοξειδωτικής δράσης (mM trolox) και ολικών φαινολών (mg γαλλικού οξέος/L) των εξεταζόμενων δειγμάτων της ποικιλίας Τσαούσι

Η αύξηση του καφέ χρώματος (A420) στους οίνους συνεπάγεται με οξείδωση των πολυφαινολών και συνεπώς μείωση έως και απώλεια της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας (Sioumis et al., 2005).

Στη παρούσα μελέτη η αντιοξειδωτική ικανότητα όλων των δειγμάτων μειώνεται κατά τη διάρκεια των ημερών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα DPPH υπάρχει μείωση στην αντιοξειδωτική ικανότητα όλων των δειγμάτων, παρόλο που δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα δείγματα γλουταθειόνης και ασκορβικού οξέος. Τη μέρα 10 υπάρχει μεγάλη πτώση στην αντιοξειδωτική ικανότητα, κάτι το οποίο ισχύει για όλα τα δείγματα. Τέλος η αύξηση της θερμοκρασίας στους 55°C επιτάχυνε τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής, έχοντας ως αποτέλεσμα τη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε όλα τα δείγματα κυρίως από την 10η μέρα και μετά, όπου εμφανίζεται η μεγαλύτερη από την μείωση των τιμών στο πείραμα. Οι Sioumis et al. (2005) στη μελέτη τους απέδειξαν ότι η αμαύρωση των οίνων έχει ως αποτέλεσμα την ανάλογη επιδείνωση της αντιοξειδωτικής του ικανότητας κάτι το οποίο δεν εξακριβώνεται πλήρως στη συγκεκριμένη μελέτη μιας και δεν υπάρχει αναλογία στη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων.

Εν κατακλείδι, η οξείδωση των πολυφαινολικών και φαινολικών ενώσεων οδηγεί σε κρασιά με χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, παρόλα αυτά οι αντιδράσεις μεταξύ των οξειδωμένων προϊόντων μπορεί να οδηγήσουν σε νέες ενώσεις με αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Άρα τελικά είναι πιθανό να αλλάζει η αντιοξειδωτική ικανότητα, σίγουρα όμως δεν είναι προβλέψιμη η αντιοξειδωτική συμπεριφορά (Kotseridis et al., n.d.)

X. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη διερεύνησε την κινητική του οξειδωτικού καφετιάσματος / αμαύρωσης (browning) και τα αντιοξειδωτικά χαρακτηριστικά της εγχώριας ελληνικής ποικιλίας λευκού κρασιού Τσαούσι από την Κεφαλονιά. Η επιταχυνόμενη οξείδωση προκλήθηκε θερμαίνοντας τα δείγματα κρασιού στους 55°C για 12 ημέρες. Ο ρυθμός του καφετιάσματος παρακολουθήθηκε μετρώντας την απορρόφηση στα 420nm καθημερινά. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια σταθερή αύξηση της αμαύρωσης με την πάροδο του χρόνου σε όλα τα δείγματα.

Αρχικά, τη μεγαλύτερη τιμή της απορρόφησης στα 420 nm κατά τη διάρκεια του πειράματος της επιταχυνόμενης οξείδωσης στους 55oC εμφάνισαν τα δείγματα ασκορβικού οξέος. Μάλιστα τα δείγματα του ασκορβικού οξέος λόγω της οξείδωσής τους συμβάλλουν στη παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Τα ίδια δείγματα εμφάνισαν εξίσου τις υψηλότερες τιμές του ρυθμού μεταβολής χρώματος K. Παρατηρείται δηλαδή ότι η αύξηση της απορρόφησης στα 420 nm του K και ο σχηματισμός καφετιάσματος συμβάλλει στην εντονότερη ελάττωση των επιπέδων θειώδη ανυδρίτη, μη προστατεύοντας πλέον τον οίνο από τις οξειδώσεις. Οι σταθερές καφετιάσματος κυμάνθηκαν από 19,1 έως 30,2, συγκρίσιμες με τιμές που αναφέρονται σε προηγούμενες μελέτες.

Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο και η αντιοξειδωτική ικανότητα εκτιμήθηκαν σε επιλεγμένα χρονικά σημεία χρησιμοποιώντας τις μεθόδους Folin-Ciocalteu και DPPH αντίστοιχα. Τα τυφλά δείγματα έδειξαν αρχικό φαινολικό περιεχόμενο 444 mg/L ισοδύναμα γαλλικού οξέος, μειωμένο στα 433 mg/L έως την 11η ημέρα. Επίσης, η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων παρουσίασε μεγάλη φθίνουσα τάση. Για το ασκορβικό οξύ 10mg/L, από αρχικά 8,74 mM Trolox σε 4,04 mM Trolox έως την 11η ημέρα. Παρόλα αυτά, τα δείγματα γλουταθειόνης και ασκορβικού οξέος δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα, κάτι το οποίο βρίσκεται σε αντίθεση με το δείκτη καφετιάσματος σύμφωνα με τη μέθοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης.

Η ελάττωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας κατά τη διάρκεια του πειράματος της επιταχυνόμενης οξείδωσης συνδέεται με την αύξηση της απορρόφησης στα 420nm και τις τιμές του ρυθμού μεταβολής χρώματος (κ). Σύμφωνα με τα παραπάνω η θερμοκρασία των 55oC έπαιξε ρόλο όχι μόνο στην επιτάχυνση των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων αλλά και τη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε όλα τα δείγματα. Να σημειωθεί ότι τα δείγματα γλουταθειόνης είχαν μια μικρή επίδραση στο σχηματισμό καφέ χρώματος του οίνου.

Εν κατακλείδι, το δημιουργούμενο καφέτιασμα στους λευκούς οίνους επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Παράγοντες όπως η αύξηση θερμοκρασίας στους 55oC, ο υψηλός δείκτης καφετιάσματος, ο ρυθμός μεταβολής χρώματος, η αυξανόμενη απορρόφηση στα 420nm. Η

έρευνα έδειξε ότι το κρασί Τσαούσι είναι επιρρεπές στην αμαύρωση κατά την επιταχυνόμενη οξείδωση, με το φαινολικό του προφίλ και την αντιοξειδωτική του ικανότητα να μειώνονται σε γενικές βάσεις με την πάροδο του χρόνου. Παρόλο που η πτώση τιμών δεν ήταν ευκρινής ,τα αποτελέσματα τονίζουν τη σημασία της ελαχιστοποίησης των οξειδωτικών συνθηκών κατά την παραγωγή και αποθήκευση κρασιού, για τη διατήρηση της ποιότητας αυτής της ποικιλίας λευκού κρασιού που είναι αναπόσπαστο κομμάτι της αμπελοοινικής ταυτότητας της.

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

1. Amerine, M., & Roessler, E. (1982). Composition of wines. In M. A. Amerine (Ed.), *Wines, their sensory evaluation* (pp. 67–80). Freeman.
2. Artero, A., Artero, A., Tarín, J. J., & Cano, A. (2015). The impact of moderate wine consumption on health. *Maturitas*, 80(3), 3–13. doi:10.1016/j.maturitas.2014.09.007
3. Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011). Methods for total antioxidant activity determination: A review.
4. Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, L. F., & Kunkee, R. E. (2001). *Principles and practices of winemaking* (Chinese trans.). China Light Industry Press.
5. Brown, L., Kroon, P. A., Das, D. K., Das, S., Tosaki, A., Chan, V., et al. (2009). The biological responses to resveratrol and other polyphenols from alcoholic beverages. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33, 1513–1523. doi:10.1111/j.1530-0277.2009.00989.x
6. Buckingham, J., Munasinghe, V., et al. (2015). *Dictionary of flavonoids*.
7. Nagel, C., & Graber, W. R. (1988). Effect of must oxidation on quality of white wines. *American Journal of Enology and Viticulture*.
8. Cheynier, V. (2006). Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. In *Flavonoids in wine* (pp. 273–299). Florida.
9. Cheynier, V., Basire, N., & Rigaud, J. (1989). Mechanism of trans-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(4), 1069–1071.
10. Cheynier, V., Fulcrand, H., Guyot, S., Oszmianski, J., & Moutounet, M. (1995). Reactions of enzymically generated quinones in relation to browning in grape musts and wines. In C. Y. Lee & J. R. Whitaker (Eds.), *Enzymatic browning and its prevention* (pp. 130–143). ACS Symposium Series, 600.
11. Cheynier, V., Fulcrand, H., & Moutounet, M. (2000). Ossidazione dei polifenoli nei mosti d'uva (Oxidation of polyphenols in wine musts). *Vignevini*, 27(11), 52–56.
12. Cheynier, V., Rigaud, J., Souquet, J., Duprat, F., & Moutounet, M. (1990). Must browning in relation to the behaviour of phenolic compounds during oxidation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41(4), 346–349.
13. Conner, J. M., Birkmyre, L., Paterson, A., & Piggott, J. R. (1999). Headspace concentrations of ethyl esters at different alcoholic strengths. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 121–126.
14. Cretin, B. N., Dubourdieu, D., & Marchal, A. (2018). Influence of ethanol content on sweetness and bitterness perception in dry wines. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 61–66. doi:10.1016/j.lwt.2017.08.075

15. Danilewicz, J. C. (2003). Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: Central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(2), 73–85.
16. Carneiro, E. A., Agustini, D., Figueiredo-Filho, L. C. S., Banks, C. E., Marcolino-Junior, L. H., Bergamini, M. F., et al. (2018). Microfluidic device based on cotton threads for amperometric estimation of antioxidants in wine samples.
17. Chinnici, F., Natali, N., & Riponi, C. (2014). Efficacy of chitosan in inhibiting the oxidation of (+)-catechin in white wine model solutions.
18. Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18(Part B), 757–781.
19. Fernández-Zurbano, P., Ferreira, V., Peña, C., Escudero, A., Serrano, F., & Cacho, J. (1995). Prediction of oxidative browning in white wines as a function of their chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11), 2813–2817.
20. Ferreira, V., Escudero, A., Fernández, P., & Cacho, J. F. (1997). Changes in the profile of volatile compounds in wines stored under oxygen and their relationship with the browning process. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A/Food Research and Technology*, 205(5), 392–396.
21. Sonni, F., Clark, A. C., Prenzler, P. D., Riponi, C., & Scollary, G. R. (2012). Antioxidant action of glutathione and the ascorbic acid/glutathione pair in a model white wine.
22. Gonzales Cartagena, L., Peña, F. J., & Abad, F. B. (1994). Interactions of some environmental and chemical parameters affecting the color attributes of wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 43–48.
23. Grosch, W. (2001). Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chemical Senses*, 26(5), 533–545.
doi:10.1093/chemse/26.5.533
24. Haseeb, S., Alexander, B., & Baranchuk, A. (2018). Response by Haseeb et al to letter regarding article, "wine and cardiovascular health: a comprehensive review." *Circulation*, 137, 1880–1881. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.033086
25. Li, H., Guo, A., & Wang, H. (2007). Mechanisms of oxidative browning of wine.
26. Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15–27.
27. Jackson, R. S. (2008). *Wine science: Principles and applications*. Academic Press.
28. Cilliers, J. J. L., & Singleton, V. L. (1990). Nonenzymic autoxidative reactions of caffeic acid in wine.

29. Rossi, J. A., & Singleton, V. L. (1966). Flavor effects and adsorptive properties of purified fractions of grape-seed phenols. *American Journal of Enology and Viticulture*.
30. Labrouche, F., Clark, A. C., Prenzler, P. D., & Scollary, G. R. (2005). Isomeric influence on the oxidative coloration of phenolic compounds in a model white wine: Comparison of (+)-catechin and (-)-epicatechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 9993–9998.
31. Lekli, I., Ray, D., & Das, D. K. (2010). Longevity nutrients resveratrol, wines and grapes. *Genes & Nutrition*, 5(1), 55–60. doi:10.1007/s12263-009-0145-2
32. Li, H. (2000). *Modern enology*. People's Press of Shaanxi.
33. Li, H., Wang, H., Yuan, C., & Wang, S. (2005). *Wine chemistry*. Scientific Publishing Company.
34. Lopez-Toledano, A., Mayen, M., Merida, J., & Medina, M. (2002). Yeast-induced inhibition of (+)-catechin and (-)-epicatechin degradation in model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1631–1635.
35. Main, G. L. (1992). Juice fining treatments to reduce browning and use of sulfur dioxide in white wine production. PhD Thesis, University of Arkansas.
36. Salacha, M.-I., Kallithraka, S., & Tzourou, I. (2007). Browning of white wines: correlation with antioxidant characteristics, total polyphenolic composition and flavanol content.
37. Moran, J. F., Klucas, R. V., Grayer, R. J., Abian, J., & Becana, M. (1997). Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: Prooxidant and antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 861–870.
38. Gurusamy, N., Ray, D., Lekli, I., & Das, D. K. (2010). Red wine antioxidant resveratrol-modified cardiac stem cells regenerate infarcted myocardium.
39. Vivas, N., & Glories, Y. (1996). Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging.
40. Oszmianski, J., Cheynier, V., & Moutounet, M. (1996). Iron-catalyzed oxidation of (+)-catechin in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1712–1715.
41. Pisoschi, P. A. M., & Negulescu, G. P. (2012). *Analytical Biochemistry*, 1, 106.
42. Palma, M., & Garcia-Barroso, C. (2002). Application of a new analytical method to determine the susceptibility of wine to browning. *European Food Research and Technology*, 214(5), 441–443.
43. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B., & Lonvaud, A. (2006). *Handbook of enology volume 1: The microbiology of wine and vinifications* (2nd ed.).

44. Wegmann-Herra, P., Ullrich, S., Schmarr, H.-G., & Durner, D. (2016). Use of glutathione during white wine production – impact on S-off-flavors and sensory production.
45. Ribeiro, M. M., Neumann, V. A., Padoveze, M. C., & Graziano, K. U. (2015). Efficacy and effectiveness of alcohol in the disinfection of semi-critical materials: A systematic review. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 23(4), 741–752.
46. Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of enology volume 2: The chemistry of wine stabilization and treatments*.
47. Rigaud, J., Cheynier, V., Souquet, J. M., & Moutounet, M. (1991). Influence of must composition on phenolic oxidation kinetics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 57(1), 55–63.
48. Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66(4), 401–436.
49. Saucier, C. T., & Waterhouse, A. L. (1999). Synergistic activity of catechin and other antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4491–4494.
50. Scollary, G. R. (2002). Factors determining wine oxidation: The critical role of ascorbic acid.
51. Singleton, V. L., & Kramling, T. E. (1976). Browning of white wines and an accelerated test for browning capacity. *American Journal of Enology and Viticulture*.
52. Singleton, V. L., & Cilliers, J. J. L. (1995). Phenolic browning – A perspective from grape and wine research. In *Enzymatic browning and its prevention* (Vol. 600, pp. 23–48). American Chemical Society.
53. Singleton, V. L., Salgues, M., Zaya, J., & Trousdale, E. (1985). Caftaric acid disappearance and conversion to products of enzymic oxidation in grape must and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36(1), 50–56.
54. Soares, S., Brandão, E., Mateus, N., & Freitas, V. (2017). Sensorial properties of red wine polyphenols: Astringency and bitterness. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(5), 937–948.
55. Haseeb, S., Alexander, B., Lopez Santi, R., Sosa Liprandi, A., & Baranchuk, A. (2018). What's in wine? A clinician's perspective.
56. Soleas, G. J., Diamandis, E. P., & Goldberg, D. M. (1997). Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 11(5), 287–313.
57. Spagna, G., Barbagallo, R. N., & Pifferi, P. G. (2000). Fining treatments of white wines by means of polymeric adjuvants for their stabilization against browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4619–4627.

58. Kallithraka, S., Salacha, M.-I., & Tzourou, I. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage.
59. Stockley, C., Teissedre, P.-L., Boban, M., Lorenzo, C. D., & Restani, P. (2012). Bioavailability of wine-derived phenolic compounds in humans: A review.
60. Sullivan, P. J. (2002). The effects of microoxygenation on red wines.
61. Soares, S., Brandão, E., Mateus, N., & Freitas, V. (2017). Sensorial properties of red wine polyphenols: Astringency and bitterness.
62. Terrier, N., Poncet-Legrand, C., & Cheynier, V. (2009). Flavanols, flavonols and dihydroflavonols. In *Wine chemistry and biochemistry* (pp. 463-507). Springer New York.
63. Toit, W. J. d., Marais, J., Pretorius, I. S., & Toit, M. d. (2006). Oxygen in must and wine – A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 27(1), 76–94.
64. Wei, T.-Y., Wang, Y.-Y., & Chen, L. (2003). Chemistry of tea polyphenols.
65. Zoecklein, B. W. (2000). Effects of fruit rot on wine stability.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Μπιμπίλας, Α. (2017). Επίδραση διεργασιών οινοποίησης στα φαινολικά συστατικά του οίνου - Effect of vinification techniques on the phenolic compounds of wine (Διδακτορική Διατριβή).
2. Τσακίρης, Α. (2020). Οινολογία από το σταφύλι στο κρασί (4η έκδοση).
3. ΒΟΛΤΕΑ, Σ. (2014). Χημικός. Χρήση Fe(II) και H₂O₂ για αποτίμηση της τάσης των λευκών οίνων προς οξείδωση.
4. Γαλανής, Δ., & Δούλιας, Π.Θ. (2001). Βιολογικά Αντιοξειδωτικά. *Χημικά Χρονικά*, 2, 49-50.
5. Σάββας, Ε. Ν. (2016). Μεταπτυχιακή διατριβή, Μελέτη της αντοχής στην οξειδωτική αμαύρωση επιλεγμένων οίνων από την ποικιλία Μαλαγουζιά.
6. Κουράκου-Δραγώνα, Σ. (1998). Θέματα Οινολογίας: Επιστήμη και τεχνολογία στον τομέα της οινοποιητικής τεχνικής.
7. Σουφλερός, Ε. (1997). Οίνος και αποστάγματα.
8. Χαρβαλιά, Α., & Μπένα-Τζούρου, Ε. (1982). Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των Ελληνικών οίνων. *Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά*, τόμος 1.

9. Μαρία Δ.Αϊδαρίνη. (2017). Μεταπτυχιακή διατριβή, παρακολούθηση μεταβολών σε ποιοτικά χαρακτηριστικά ρητίνη οίνου, παρουσία και απουσία ασκορβικού οξέος , κατά τη διατήρηση σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης.

ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Κρασί. Βικιπαίδεια, η ελεύθερη εγκυκλοπαίδεια. Retrieved July 17, 2023, from <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9A%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%AF>
2. Wine. Wikipedia. Retrieved July 17, 2023, from <https://en.wikipedia.org/wiki/Wine>
3. Ιστορική Αναδρομή. Domaine Foivos. Retrieved July 17, 2023, from <https://www.domainefoivos.com/istoriki-anadromi/>
4. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B., & Lonvaud, A. (2006). Handbook of Enology: The Microbiology of Wine and Vinifications (Vol. 1). John Wiley & Sons.
5. Picariello, L., & Hillebrand, S. (2016). Wine Oxidation. Infowine Technical Review, 16(1), 1-10. Retrieved from https://www.infowine.com/en/technical_articles/wine_oxidation_sc_20216.htm
6. El Sadek, M., Gazzola, D., & Christiaens, S. (2009). Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis (2nd ed.). International Organisation of Vine and Wine (OIV). Retrieved from <https://www.oiv.int/public/media/2477/oiv-ma-as2-10.pdf>
7. Folin–Ciocalteu reagent. Wikipedia. Retrieved July 17, 2023, from https://en.wikipedia.org/wiki/Folin%E2%80%93Ciocalteu_reagent#cite_note-4

8. Τι είναι οξείδωση και τι προκαλεί στο κρασί; Κρασί Αγρ. from <https://www.krasiagr.com/ti-einai-oxidosi-kai-ti-prokalei-sto-krasi/>
9. Σεριφιώτικο Συρό και Τσάουσι Κεφαλονιάς. Καθημερινή. from <https://www.kathimerini.gr/k/travel/561104713/serifiotiko-syroy-amp-tsaoyi-kefalonias/>
10. Τσάουσι 2019 - Σκλάβος. Οινογνωσία., from <https://www.oinognosia.wine/shop/tsaoyi-2019-sklavoy/>
11. Οινοποιείο Κεφαλονιά - Κρασί Κεφαλονιά - ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΜΑΣ. Sclavos Wines. Retrieved July 17, 2023, from <https://sclavoswines.gr/el/oinopoieio-kefalonia-krasia-kefalonia-TA-PROiONTA-MAS>
12. Οινοποιείο Σαρρής. <https://sarriswinery.com/the-winery/>

EIKONEΣ

<http://chimactiv.agroparistech.fr/en/aliments/antioxydant-dpph/principe>

<https://el.wikipedia->

[dia.org/wiki/%CE%A6%CE%B1%CE%B9%CE%BD%CF%8C%CE%BB%CE%B7](https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CE%B1%CE%B9%CE%BD%CF%8C%CE%BB%CE%B7)

<file:///C:/Users/tsikr/Downloads/Mechanismsofoxidativebrowningofwine.pdf>

https://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol_fermentation

<https://sarriswinery.com/wp-content/uploads/2023/03/Kefalonia-Winemakers-Kefalonia-Sarris-Winery-Dora-Panousopoulou-Photography-2022-79.jpg>