

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΘΕΜΑ:**

**«ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΗΣ  
ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΩΝ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ  
ΣΕ ΟΙΝΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ pH»**



**ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ: ΣΠΥΡΙΔΑΚΗ ΑΡΤΕΜΙΣ-ΕΥΣΤΑΘΙΑ**

**ΑΜ: 2011041**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2018**

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΘΕΜΑ:**

**«ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΗΣ  
ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΩΝ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ  
ΣΕ ΟΙΝΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ pH»**

**ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ: ΣΠΥΡΙΔΑΚΗ ΑΡΤΕΜΙΣ-ΕΥΣΤΑΘΙΑ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΚΑΠΟΛΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2018**

## Ευχαριστίες

Πρώτα από όλους, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή και πρότανη του Ανώτατου Τεχνολογικού Ιδρύματος Πελοποννήσου, κ. Ιωάννη Καπόλο, για την επίβλεψη και συμβουλευτική επί της πτυχιακής εργασίας καθώς επίσης και για την ευκαιρία που μου έδωσε να εκπονήσω τα πειράματα της έρευνας στο εργαστήριο Ενόργανης Ανάλυσης.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω εγκάρδια τους γονείς μου για τις δυνατότητες, την καθοδήγηση και τη συμπαράσταση που μου προσέφεραν όλα αυτά τα χρόνια.

## Περιεχόμενα □

<u>Πρόλογος</u>	<u>5</u>
<u>Κεφάλαιο 1° Γενικά για τον οίνο</u>	<u>6</u>
<u>1.2 Οινοποίηση και διαφορές λευκού-κόκκινου οίνου</u>	<u>6</u>
<u>1.3 Τα σωματίδια στον οίνο και πού βρίσκονται</u>	<u>11</u>
<u>Κεφάλαιο 2° Κολλοειδή, θολώματα και φαινολικά συστατικά</u>	<u>12</u>
<u>2.1 Κολλοειδή</u>	<u>12</u>
<u>2.1.1 Τι είναι τα κολλοειδή</u>	<u>12</u>
<u>2.1.2 Ιδιότητες κολλοειδών συστημάτων</u>	<u>13</u>
<u>2.1.3 Ηλεκτρικό φορτίο και χημική σύσταση κολλοειδή σωματιδίων</u>	<u>15</u>
<u>2.2 Θολώματα</u>	<u>15</u>
<u>2.3 Φαινολικά συστατικά και τανίνες</u>	<u>17</u>
<u>Κεφάλαιο 3° Τεχνικές πειραματικής διαδικασίας</u>	<u>20</u>
<u>3.1 Κατηγορίες σκέδασης</u>	<u>20</u>
<u>3.2 Οργανολογία</u>	<u>26</u>
<u>Κεφάλαιο 4° Πειραματικό μέρος</u>	<u>29</u>
<u>Κεφάλαιο 5° Αποτελέσματα</u>	<u>31</u>
<u>5.1 Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων (Particle Size)</u>	<u>31</u>
<u>5.2 Μέτρηση ζ-δυναμικού (ζ-potential and electrophoresis) των σωματιδίων</u>	<u>37</u>
<u>Κεφάλαιο 6° Συμπεράσματα</u>	<u>43</u>
<u>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>	<u>45</u>

## Πρόλογος

Η στιγμή της εμφιάλωσης είναι για τον οίνο μια πράξη που δεν επιδέχεται διόρθωση, δεδομένης της καταστροφής και των προβλημάτων που προκύπτουν από μια πιθανή απ-εμφιάλωση και επανακατεργασία του οίνου. Ο καταναλωτής απαιτεί τέλεια διαύγεια του οίνου, τόσο μέσα στο μπουκάλι, όσο και στο ποτήρι. Δεν φθάνει ο οίνος να είναι καλός από άποψη οσμής και γεύσης, στοιχείο ποιότητας αποτελεί και η οπτική παρουσία του. Κάθε θόλωμα, κάθε ίζημα τρυγικών αλάτων ή χρωστικών και γενικότερα οποιαδήποτε μη συνηθισμένη εμφάνιση του οίνου, μετατρέπει τον καταναλωτή σε αυστηρό κριτή της ποιότητάς του. Οι οπτικές εντυπώσεις είναι οι πρώτες που σχηματίζει ο δοκιμαστής ή ο καταναλωτής του οίνου και γι' αυτό το λόγο επηρεάζεται σημαντικά στην εκτίμηση που θα κάνει. Γι' αυτό, είναι απόλυτη ανάγκη να λαμβάνονται όλα τα απαραίτητα μέτρα ώστε ο οίνος να απαλλάσσεται από τα υπάρχοντα θολώματα ή ιζήματα πριν την εμφιάλωση, όσο και από τις αιτίες που πιθανόν να τα δημιουργήσουν στο μέλλον.

## Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>

### Γενικά για τον οίνο

#### 1.1 Τα συστατικά του

Ο οίνος είναι ουσιαστικά ένα διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης (περίπου 6-18%) σε νερό (85-90%) το οποίο περιέχει επίσης ένα μεγάλο αριθμό πτητικών ή χημικών ουσιών σε διάλυμα ή σε εναιώρημα.

Ο οίνος περιέχει επίσης:

- **σάκχαρα:** γλυκόζη, φρουκτόζη (0-2 g / L σε ξηρά κρασιά και 50 έως 60 g / L σε γλυκά).
- **οξέα:** τρυγικό (1-5%), γαλακτικό (1-5%), μηλικό, κιτρικό, οξικό, ηλεκτρικό, οξαλικό, βορικό, φωσφορικό, επτά αμινο βενζοϊκό, κινναμωμικό φαινολικές ενώσεις: τανίνες (0,2-1,5% για τα λευκά κρασιά και 1,5-3% για τα κόκκινα), ανθοκυανίνες (στο κόκκινο οίνος)
- **διοξειδίο του άνθρακα**
- **ίχνη αλάτων:** του καλίου, του νατρίου, του ασβεστίου, του μαγνησίου και του σιδήρου.

Γενικά, ο οίνος, κόκκινος, λευκός ή ροζέ περιέχει νερό, αλκοόλη, ανόργανα άλατα, πολυάριθμες αρωματικές ενώσεις, τανίνες (σε μικρές ή μεγάλες ποσότητες, ανάλογα με το χρώμα και τη μέθοδο παραγωγής), αντιοξειδωτικές ουσίες (φλαβονοειδή, φαινόλες, προκυανιδίνες, ανθοκυανιδίνες, ρεσβερατρόλη κλπ.) & διάφορες χρωστικές, συμπεριλαμβανομένων και των ανθοκυανινών (Στεργίου, 2012-2016).

#### 1.2 Οινοποίηση και διαφορές λευκού-ερυθρού οίνου

Η οινοποίηση είναι η διαδικασία κατά την οποία μετατρέπονται τα σταφύλια σε οίνος, με τη μερική ή πλήρη ζύμωση του μούστου (γλεύκους) τους. Οι ρώγες του σταφυλιού, που αποτελεί και την πρώτη ύλη του οίνου, περιέχουν σάκχαρα, οργανικά οξέα και νερό (πάνω από 70%). Η περιεκτικότητα των ανωτέρω, εξαρτάται από την

ποικιλία, το υπέδαφος, τις κλιματικές συνθήκες, αλλά και από τη χρονική στιγμή της ωρίμανσης του σταφυλιού.

Το σταφύλι αποτελείται από το τσάμπουρο (βόστρυχο) και τις ρώγες. Το τσάμπουρο περιέχει 0,8-4% τανίνη. Οι ρώγες αποτελούνται από την επιδερμίδα (επικάρπιο ή εξωκάρπιο), τη σάρκα (μεσοκάρπιο), το ενδοκάρπιο και τα σπέραματα ή αλλιώς γίγαρτα.

Τα σταφύλια συλλέγονται στο τελευταίο στάδιο της ωρίμανσής τους. Οι αμπελουργοί προσδιορίζουν εμπειρικά την ωριμότητα των σταφυλιών από τη γεύση, το χρώμα και την ελαστικότητα που παρουσιάζουν οι ρώγες. Το κόψιμο των σταφυλιών από το φυτό πραγματοποιείται είτε με το χέρι είτε με μαχαιρίδιο είτε με κλαδευτικό ψαλίδι, από το οποίο απομακρύνονται τα χαλασμένα τσαμπιά, ιδιαίτερα όταν πρόκειται να παρασκευαστούν εκλεκτά κρασιά.

Μετά τη διαδικασία του τρύγου (συγκομιδής), ακολουθεί η μεταφορά στους ληνούς (πατητήρια) ή στα θλιπτήρια η οποία πραγματοποιείται με πλεκτά, ξύλινα ή μεταλλικά κάνιστρα διαφόρων τύπων, έτσι ώστε να αποφευχθεί η σύνθλιψη του προϊόντος. Πριν από την έκθλιψη, και εφόσον πρόκειται να παρασκευαστούν οίνοι ειδικού τύπου, αναμιγνύονται σταφύλια από διάφορες ποικιλίες. Για να αποφευχθεί η υπερβολική επίδραση της τανίνης στον οίνο, συνήθως πραγματοποιείται αποχωρισμός των βοστρύχων από τις ρώγες με ειδικά αποστραγγιστικά θλιπτήρια.

Ο μούστος, που εξάγεται με πίεση από τα σταφύλια, αποτελείται από 60-85% νερό και 15-40% εκχύλισμα. Το τελευταίο, αποτελείται κυρίως από σάκχαρα (γλυκόζη και φρουκτόζη, 16-24%), από οξέα (τρυγικό, μηλικό και κιτρικό, 4-10%) και, σε ελάχιστες ποσότητες αζωτούχες, ανόργανες και χρωστικές ουσίες, τανίνη και ένζυμα.

Ο μούστος μεταφέρεται σε ξύλινα βαρέλια ή σε δεξαμενές, όπου αρχίζει η ζύμωση.

Σε πολλές περιπτώσεις οινοποίησης, έχουμε την προσθήκη θειώδους ανυδρίτη, ο οποίος χρησιμοποιείται για την προστασία του γλεύκους από τις οξειδώσεις. Η θείωση αφορά κυρίως τη λευκή οινοποίηση, καθώς όπως θα δούμε στη συνέχεια, το γλεύκος περιέχει ελάχιστες φαινολικές ενώσεις, και καθόλου τανίνες, που θα το προστάτευαν μέχρι ένα βαθμό από τις οξειδώσεις, λόγω του πρόωγου διαχωρισμού του γλεύκους από τα στέμφυλα. Οι φαινολικές ενώσεις είναι πιο ευάλωτες στην οξείδωση από άλλα συστατικά του οίνου και καθώς οξειδώνονται οι ίδιες, προστατεύουν τις υπόλοιπες οξειδώσιμες ενώσεις που περιέχει το γλεύκος. Ο θειώδης

ανυδρίτης στην οινοποίηση δεν παρεμβαίνει μόνο ως αντιοξειδωτικό, αλλά και ως αντιοξειδασικό, καταστρέφοντας τις οξειδάσες. Αυτές είναι ένζυμα που περιέχει το γλεύκος και είναι οι κύριες υπεύθυνες για τις οξειδώσεις, γιατί δρουν γρήγορα, αντίθετα με τις χημικές οξειδώσεις που είναι αργές (Τσακίρης, 1998).

Στη συνέχεια ακολουθεί η τελική διαδικασία της ζύμωσης. Το οινόπνευμα που περιέχει ο οίνος παράγεται από τα σάκχαρα του μούστου με τη διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης. Η αλκοολική ζύμωση επιτελείται από ειδικά ένζυμα, τις ζυμώσεις των ζυμομυκήτων. Οι ζυμομύκητες υπάρχουν αδρανοποιημένοι στο φλοιό των σταφυλιών και καθώς έρχονται σε επαφή με το μούστο, πολλαπλασιάζονται και επιτελούν τη ζύμωση. Τα σταφύλια μπορούν να ζυμωθούν με την προσθήκη επιλεγμένων ζυμών οίνου για να κυριαρχήσουν της ζύμης που προέρχεται από τον αμπελώνα (επιφάνεια, φύλλα, και μίσχοι σταφυλιών) καθώς και του περιβάλλοντος των οινοποιών (δεξαμενές, βαρέλια, μάνικες). Η προσθήκη ενός επιλεγμένου είδους ζύμης εξασφαλίζει μια πλήρη ζύμωση χωρίς την απώλεια αρώματος καθώς επίσης και την παραγωγή ενός οίνου με συγκεκριμένη ποιότητα γεύσης. Η θερμοκρασία ζύμωσης και τα χαρακτηριστικά των επιλεγμένων ζυμών καθορίζουν την ποσότητα και τον τύπο των αρωματικών ουσιών στο τελικό προϊόν. Κατά τη διάρκεια της αυθόρμητης ζύμωσης διαφορετικές ζύμες παράγονται σε διαφορετικά στάδια της ζύμωσης. Επομένως, ένας οινοπαραγωγός πρέπει προσεκτικά να καθοδηγήσει τις αυθόρμητες ζυμώσεις για να μειώσει τον κίνδυνο αλλοίωσης του προϊόντος από ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς. Οι επιτυχείς αυθόρμητες ζυμώσεις μπορούν να παραγάγουν κρασιά πλούσια σε γεύση καθώς και ποικίλες αισθητηριακές ιδιότητες, π.χ., άρωμα που προέρχεται από τις γεύσεις του χυμού του οίνου.

Στη συνέχεια, ακολουθεί μια δεύτερη ζύμωση από τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος, γνωστή ως μηλογαλακτική ζύμωση. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, τα γαλακτικά βακτήρια μετατρέπουν το μηλικό οξύ σε γαλακτικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>), γεγονός που οδηγεί σε ελάττωση της οξύτητας του οίνου. Οι μεταβολικές δραστηριότητες των βακτηρίων αλλάζουν επίσης τη φρουτώδη γεύση του οίνου και παράγουν μερικές αρωματικές ενώσεις. Η θερμοκρασία, το pH, και η διαθεσιμότητα άλλων πηγών ενέργειας έχουν επιπτώσεις στο ποσοστό ανάλωσης του μηλικού οξέος (Στεργίου, 2012-2016).



Τα κόκκινα κρασιά παρασκευάζονται από έγχρωμα σταφύλια σε δύο φάσεις. Αρχικά η ζύμωση του γλεύκους είναι πολύ ζωηρή και συντελείται μαζί με τα στέμφυλα (η πολτώδης μάζα που απομένει μετά την έκθλιψη των σταφυλιών) μέσα σε ανοικτούς κάδους ή δεξαμενές. Αυτό επιτρέπει τη σταδιακή εκχύλιση των χρωστικών των στεμφύλων, καθώς προχωρά η διαδικασία της ζύμωσης, μέχρι τη μέγιστη διαλυτότητα που επιτυγχάνεται σε περιεκτικότητα αλκοόλης 6%. Ακολουθεί βραδεία ζύμωση χωρίς τα στέμφυλα μέσα σε βαρέλια για τη μετατροπή του υπόλοιπου σακχάρου σε αλκοόλη. Η απομάκρυνση των στεμφύλων είναι απαραίτητη, γιατί η περαιτέρω παραμονή τους οδηγεί στην απορρόφηση των χρωστικών. Στην περίπτωση παρασκευής οίνου ανοιχτού κόκκινου χρώματος, η απομάκρυνση των στεμφύλων από τα δοχεία της ζύμωσης πραγματοποιείται νωρίτερα. Τα λευκά κρασιά παρασκευάζονται από λευκά σταφύλια, αν και μπορεί να παραχθούν και από σκούρες ποικιλίες, με την προϋπόθεση ότι ο χυμός τους δεν περιέχει χρωστικές. Στη δεύτερη περίπτωση, η ζύμωση του γλεύκους πραγματοποιείται χωρίς τα στέμφυλα. Η επαφή του άχρωμου χυμού με τα έγχρωμα στέμφυλα, για μικρό χρονικό διάστημα, επιτρέπει το σχηματισμό ροζέ οίνου. Παρασκευάζονται επίσης και κρασιά μεικτά, ένα μέρος των οποίων προέρχεται από ζυμωμένο μούστο χωρίς τα στέμφυλα. Ο διαχωρισμός του γλεύκους από τα στέμφυλα πραγματοποιείται σε ειδικά στραγγιστήρια ή με άντληση του μισο-ζυμωμένου γλεύκους από τους ανοικτούς κάδους στα βαρέλια. Τα στέμφυλα, αφού υποστούν μια πρώτη πίεση στα πιεστήρια, δίνουν γλεύκος διαφορετικής σύστασης, ανάλογα με την περίπτωση, το οποίο μπορεί να αναμειχθεί με το πρώτο γλεύκος στα βαρέλια. Από το γλεύκος της δεύτερης πίεσης μπορεί να παρασκευαστεί οίνος κατώτερης ποιότητας. Στα βαρέλια ο όγκος του οίνου μειώνεται εξαιτίας της βραδείας ζύμωσης κατά την οποία απομακρύνεται διοξείδιο του άνθρακα, μέσω των ειδικών πωμάτων. Γι' αυτό, μέχρι να ολοκληρωθεί η ζύμωση, γίνεται τακτικό απογέμισμα των βαρελιών. Όταν σταματήσει η ζύμωση, αρχίζουν οι μεταγίσεις με αντλίες και φίλτρα, ώστε να απομακρυνθούν οι αιωρούμενες ξένες ουσίες που υπάρχουν στο οίνο, οι οποίες τελικά καθιζάνουν στο τέλος του βαρελιού. Ιδιαίτερη αξία έχει τέλος και η διαδικασία ωρίμανσης του οίνου. Θεωρείται γενικά πως ένας οίνος γίνεται καλύτερος όσο παλιώνει. Ωστόσο, διαφορετικά είδη οίνου χαρακτηρίζονται και από διαφορετική διάρκεια ζωής. Σε αυτό παίζει ρόλο η ποσότητα των τανινών που περιέχει. Τα προστατευτικά στοιχεία της τανίνης βάζουν

ουσιαστικά «φρένο» στη φυσική αλλοίωση του οίνου, μια διαδικασία που καθορίζεται από την οξείδωση. Συχνά με το πέρασμα του χρόνου οι τανίνες αλλάζουν δίνοντας πιο μαλακούς οίνους. Οίνοι με υψηλή περιεκτικότητα σε μεγάλα μόρια τανινών συμπεριφέρονται καλύτερα στη διαδικασία της παλαίωσης. Συγκεκριμένα η κολλοειδής συμπεριφορά των τανινών μπορεί να διευκολύνει και να επισπεύσει κάποιες από τις ιδιότητές τους που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της παλαίωσης του οίνου. Μερικές από αυτές είναι η ικανότητά τους να δημιουργούν θολώματα και καθιζήσεις και η αλληλεπίδρασή τους με τις πρωτεΐνες (Cheynier et al., 1998). Κύρια επιδίωξη αποτελεί στην πράξη η αργή και ελεγχόμενη οξείδωση του οίνου. Η διάρκεια της ωρίμανσης του ποικίλλει και συνήθως κυμαίνεται από μερικούς μήνες έως λίγα χρόνια. Γενικά ελάχιστα κρασιά έχουν διάρκεια ζωής άνω των 50 ή 100 ετών, ενώ τα περισσότερα φθάνουν στην ποιοτική τους κορύφωση εντός μερικών χρόνων (Howard 2009).

Συνοψίζοντας, η βασική διαφορά που έχει η ερυθρή από τη λευκή οινοποίηση, είναι ο διαχωρισμός του γλεύκους από τα στέμφυλα, ο οποίος γίνεται πριν από τη ζύμωση στη λευκή οινοποίηση, με σκοπό την ελαχιστοποίηση της εκχύλισης. Αντίθετα στην ερυθρή οινοποίηση η ζύμωση γίνεται παρουσία στέμφυλων (γλεύκους), που σκοπό έχει την παραλαβή από αυτά των επιθυμητών χρωστικών, γευστικών και αρωματικών συστατικών (Τσακίρης, 1998). Φυσικά επακόλουθη είναι και η αύξηση πολυσακχαριτών, διαφόρων ανόργανων ιόντων και φαινολικών συστατικών, όπως είναι οι ανθοκυάνες και οι τανίνες που θα αναλύσουμε εκτενέστερα στη συνέχεια, τα οποία είναι υπεύθυνα για το χρώμα, τη λιπαρότητα της γεύσης και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ερυθρών κρασιών.

### **1.3 Τα σωματίδια στον οίνο και πού απαντώνται**

Το γλεύκος περιέχει πλήθος από αιωρούμενα σωματίδια. Πολλά από αυτά καθιζάνουν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, ενώ πολλά από αυτά παραμένουν σε αιώρηση και μετά το τέλος της ζύμωσης. Τέτοια σωματίδια είναι τα στερεά τμήματα του σταφυλιού, ζύμες, βακτηρίδια, κρύσταλλους των τρυγικών αλάτων, διάφορα κολλοειδή κόμματα, οξειδωμένες χρωστικές, μέταλλα κ.ά. Η παρουσία των περισσότερων από αυτά τα αιωρήματα γίνεται αισθητή με τη μορφή θολώματος. Έτσι

πριν από την εμφιάλωση ο οίνος πρέπει να υποβληθεί σε ορισμένες κατεργασίες που έχουν ως σκοπό την απομάκρυνση των διαφόρων αιωρούμενων σωματιδίων που προκαλούν θολώματα.

Οι κυριότερες κατεργασίες είναι

- η σταθεροποίηση
- η διαύγαση με τη διαδικασία του κολλαρίσματος
- το φιλτράρισμα

### ***Σταθεροποίηση***

Ωστόσο, ακόμα και μετά τις κατεργασίες που προαναφέρθηκαν, μπορεί σωματίδια της σύστασης του οίνου τα οποία βρίσκονται σε κolloειδή κατάσταση (ένα συστατικό είναι σε κolloειδή κατάσταση όταν η διάμετρός του είναι ανάμεσα στα 2-100 μm) να περάσουν στο τελικό προϊόν και με την πάροδο του χρόνου, αλλά και με τη μεταβολή κάποιων συνθηκών, να ενωθούν μεταξύ τους (κροκιδωθούν), να γίνουν ορατά και άρα να σχηματίσουν θολώματα, συσσωματώματα κolloειδών, και στο τέλος να έχουμε ίσως και την κατακρήμνιση τους. Αυτό σημαίνει ότι στην πορεία καθώς αυξάνεται το μέγεθός τους, γίνονται τόσο μεγάλα και βαριά ώστε καταβυθίζονται, με αποτέλεσμα να διαμορφώσουν αρνητικά το τελικό προϊόν. Τα κolloειδή συστατικά, τα συσσωματώματα που δημιουργούν καθώς και οι ιδιότητές τους, θα ζητηθούν στο επόμενο κεφάλαιο.

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup> Κολλοειδή, θολώματα και φαινολικά συστατικά

### 2.1 Κολλοειδή

#### 2.1.1 Τι είναι τα κολλοειδή

Τα κολλοειδή είναι συστήματα διασποράς με μέγεθος σωματιδίων μεταξύ 1nm και 0,5μm. Βρίσκονται δηλαδή ανάμεσα στα ομογενή (μοριακά) διαλύματα και τα ετερογενή συστήματα διασποράς (αιωρήματα).

Τα κολλοειδή είναι ετερογενή συστήματα που αποτελούνται από δύο φάσεις. Τα συστατικά ενός κολλοειδούς είναι το μέσον διασποράς και η διεσπαρμένη ουσία σε αντιστοιχία με τους όρους διαλύτης και διαλυμένη ουσία που χρησιμοποιούνται στα διαλύματα δηλαδή: Διεσπαρμένη ουσία + μέσο διασποράς = κολλοειδές διαλυμένη ουσία + διαλύτης = διάλυμα

Μια κολλοειδής κατάσταση απαντάται ανάμεσα στα διαλύματα και στα αιωρήματα (suspensions). Οι χαρακτηριστικές ιδιότητες ομοιότητες και διαφορές των τριών καταστάσεων (διαλυμάτων, κολλοειδών και αιωρημάτων) είναι οι εξής:

- α) Τα διαλύματα είναι ομογενή, ενώ τα αιωρήματα είναι ετερογενή συστήματα.
- β) Το μέγεθος των σωματιδίων στα διαλύματα είναι μικρότερο από  $10^{-7}$  cm, στα κολλοειδή μεταξύ  $10^{-7}$  και  $10^{-4}$  cm, και στα αιωρήματα μεγαλύτερο από  $10^{-4}$  cm.
- γ) Με την εφαρμογή συνεχούς ηλεκτρικού ρεύματος στα διαλύματα πραγματοποιείται ηλεκτρόλυση και στα κολλοειδή ηλεκτροφόρηση ενώ στα αιωρήματα καμία επίδραση.
- δ) Τα σωματίδια των αιωρημάτων καθιζάνουν με την επίδραση του πεδίου βαρύτητας. Τα σωματίδια των διαλυμάτων και των κολλοειδών δεν καθιζάνουν με την επίδραση του πεδίου βαρύτητας, αν και μερικά κολλοειδή καθιζάνουν με την υπερφυγοκέντρωση.
- ε) Ο διαχωρισμός των σωματιδίων των αιωρημάτων γίνεται με διήθηση. Τα σωματίδια των κολλοειδών δεν διαχωρίζονται με διήθηση αλλά με διαπίδυση.

στ) Κατά τη δίοδο του φωτός μέσα σε ένα διάλυμα δεν παρατηρείται καμία διασπορά, σε αντίθεση με την δίοδο του σε κolloειδές σύστημα όπου παρατηρείται διασπορά του φωτός και μια σχετική απορρόφηση (Χατζηλαζάρου, 2014).

### 2.1.2 Ιδιότητες κolloειδών συστημάτων

Τα κolloειδή σωματίδια χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα υδρόφοβα και τα υδρόφιλα. Η σταθερότητα των υδρόφοβων οφείλεται στις απωστικές ηλεκτρικές δυνάμεις, ενώ των υδρόφιλων οφείλεται περισσότερο στη συγγένεια τους με το νερό (διασκορπίζονται εύκολα στη μάζα του) και λιγότερο στα ηλεκτρικά φορτία που διαθέτουν. Τα υδρόφοβα σωματίδια αποτελούνται από φαινολικές ενώσεις, θειικό χαλκό, φωσφορικό σίδηρο, σιδηροκυανιούχος σίδηρο, μπεντονίτη, κλπ. τα οποία έχουν αρνητικό φορτίο, ενώ τα υδρόφιλα αποτελούνται από πολυσακχαρίτες που έχουν αρνητικό φορτίο, και πρωτεΐνες που έχουν θετικό φορτίο. Οι πολυσακχαρίτες θεωρούνται προστατευτικά κolloειδή, υπεύθυνα για την παρεμπόδιση ή τον περιορισμό των συσσωματωμάτων λόγω κροκίδωσης και γι' αυτό το λόγο αποφεύγονται τα θολώματα ή/και η καθίζηση (Pellerin & Cabanis, 1998). Τα κolloειδή σωματίδια είναι αόρατα στο γυμνό μάτι και ορατά στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, έχουν την ιδιότητα να διέρχονται από κοινούς ηθμούς και την ικανότητα περίθλασης του φωτός (απόκλιση του φωτός σε διάφορα οπτικά μέσα). Μπορούν να κροκιδωθούν και να θολώσουν τον οίνο. Όταν η κροκίδωση συνεχίζεται, αποκτούν μεγάλο βάρος και καταβυθίζονται. Έτσι συμπαρασύρουν ότι σωματίδια συναντήσουν στην πορεία τους (Τσέτουρας, 2003). Ένας επιπλέον λόγος σταθερότητας των κolloειδών είναι η προστασία που τους παρέχεται από ορισμένες ουσίες που προσροφώνται σε αυτά. Ως αποτέλεσμα της διάλυσης, τα κolloειδή σωματίδια θεωρούνται ως μερικώς ιονισμένα επιφανειακά. Απόδειξη αποτελεί η εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου, η οποία προκαλεί κίνηση των σωματιδίων. Η θεωρητική ερμηνεία αυτών των ηλεκτροκινητικών φαινομένων (των κolloειδή συστημάτων) οδήγησε στην υπόθεση κατά την οποία, όταν ένα κolloειδές σωματίδιο φορτιστεί τότε προσκολλώνται στην επιφάνεια του ιόντα με αντίθετο φορτίο, σχηματίζοντας ένα συμπαγές στρώμα (στρώμα Stern). Γύρω από το συμπαγές αυτό

στρώμα σχηματίζεται ένα πιο χαλαρό, που αποτελείται από ένα διάχυτο νέφος ιόντων. Η διαφορά δυναμικού που αναπτύσσεται μεταξύ του στρώματος Stern και της κυρίως μάζας του διαλύματος ορίζεται ως δυναμικό Ζήτα ( $\zeta$ -potential) ή ηλεκτροκινητικό δυναμικό. Το δυναμικό αυτό δρα παρεμποδίζοντας τη συνένωση των κολλοειδών. Άρα για να γίνει συνένωση των κολλοειδών πρέπει το διάλυμα να αποσταθεροποιηθεί είτε με ελάττωση του δυναμικού- $\zeta$  είτε με παρεμπόδιση της δράσης του.

Η αποσταθεροποίηση βασίζεται σε δύο βασικές λειτουργίες, τη συσσωμάτωση και την κροκίδωση: Συσσωμάτωση (coagulation) είναι η διεργασία κατά την οποία τα κολλοειδή και λεπτομερή αιωρούμενα υλικά ενός υδατικού διαλύματος προετοιμάζονται με κατάλληλα μέσα για συνένωση. Πρακτικά, η συσσωμάτωση αποτελεί τη διεργασία αποσταθεροποίησης του σταθερού κολλοειδούς διαλύματος. Κροκίδωση (flocculation) είναι η συνένωση των αποσταθεροποιημένων κολλοειδών και η δημιουργία μεγάλων σχηματισμών (κροκίδων, flocs).

Οι μηχανισμοί με τους οποίους επιτυγχάνεται η συσσωμάτωση και κροκίδωση των κολλοειδών είναι οι εξής:

- i) Αμοιβαία Συσσωμάτωση: Με την προσθήκη, συνήθως, μεταλλικών οξειδίων (π.χ. θεικού αργιλίου) παρουσιάζονται πολυσθενή θετικά ιόντα τα οποία εξουδετερώνουν τα αρνητικά φορτισμένα κολλοειδή.
- ii) Ηλεκτροστατική συσσωμάτωση: Με την προσθήκη ηλεκτρολυτών, προκαλείται αποσταθεροποίηση των κολλοειδών λόγω μείωσης της ηλεκτροστατικής άπωσης (μείωση του δυναμικού- $\zeta$ ). Η ποσότητα του προστιθέμενου ηλεκτρολύτη είναι ανάλογη του δυναμικού- $\zeta$  και όχι της ποσότητας των κολλοειδών και εξαρτάται από το σθένος των ιόντων του κροκιδωτικού μέσου. Η ικανότητα κροκίδωσης αυξάνει γεωμετρικά με το σθένος του προστιθέμενου ιόντος π.χ.  $\text{Na}^{+1}:\text{Mg}^{+2}:\text{Al}^{+3} = 1:60:600$ . Η πιο αποτελεσματική κροκίδωση πραγματοποιείται όταν το δυναμικό- $\zeta$  γίνεται μηδέν (ισοηλεκτρικό σημείο), ωστόσο είναι αρκετά ικανοποιητική και για τιμές του δυναμικού  $\pm 0,5 \text{ mV}$ .
- iii) Συσσωμάτωση με προσρόφηση Στην περίπτωση αυτή, η αποσταθεροποίηση του κολλοειδούς διαλύματος γίνεται με την προσθήκη πολυηλεκτρολυτών οι οποίοι μεταβάλλουν το φορτίο των κολλοειδών, μέσω του μηχανισμού της προσρόφησης.

- iv) Συσσωμάτωση με γεφύρωση: Στην περίπτωση αυτή η αποσταθεροποίηση του κολλοειδούς διαλύματος είναι αποτέλεσμα της προσθήκης μακρομορίων ή πολυηλεκτρολυτών, που προσροφώνται στην επιφάνεια των κολλοειδών, δημιουργώντας γεφυρώσεις.
- v) Συσσωμάτωση με σάρωση: Η σάρωση των κολλοειδών σωματιδίων γίνεται από τα αδιάλυτα υδροξείδια των μετάλλων τα οποία καθώς καθιζάνουν αργά, συμπαρασύρουν τα αιωρούμενα σωματίδια. (Λοϊζίδου, 2006)

### 2.1.3 Ηλεκτρικό φορτίο και χημική σύσταση κολλοειδή σωματίων

Στην επιφάνεια των σωματιδίων προσροφούνται ιόντα από το διαλύτη τα οποία σχηματίζουν στρώμα φορτισμένων ιόντων. Αυτό είναι που δίνει και το φορτίο στα σωματίδια. Σε χαμηλό pH έχουμε προσρόφιση  $H^+$  και άρα θετικά φορτισμένα ιόντα. Σε χαμηλό pH έχουμε προσρόφιση  $OH^-$ , δηλαδή αρνητικά φορτισμένων ιόντων. Σε κάποιο ενδιάμεσο pH, το οποίο καλείται ισοηλεκτρικό σημείο, τα σωματίδια είναι ουδέτερα. Οι ιδιότητες των κολλοειδών οφείλονται στην ύπαρξη αυτών των ηλεκτρικών φορτίων. Η σταθερότητά τους είναι αποτέλεσμα της αμοιβαίας απόθησης που εμποδίζει τη συσσωμάτωσή τους. Τα κολλοειδή σωματίδια παρά τις μικρές τους διαστάσεις παρουσιάζουν πολύ μεγάλη επιφάνεια σχετικά με το βάρος τους. Επειδή η ταχύτητα πτώσης είναι αντιστρόφως ανάλογη της ακτίνας, τα κολλοειδή έχουν μικρή ταχύτητα πτώσης, που άλλωστε εξουδετερώνονται από τις κινήσεις Brown και τις κινήσεις που οφείλονται στις μικρές διαφορές θερμοκρασίας στα διάφορα σημεία του χώρου που βρίσκεται αποθηκευμένος ο οίνος. (Τσακίρης, 1998)

## 2.2 Θολώματα

Όταν κατά τη διάρκεια των δοκιμών συμπεριφοράς του οίνου εμφανιστούν ορισμένες ατέλειες της διαύγειάς του, αυτό σημαίνει ότι κατά πάσα πιθανότητα έχουν σχηματιστεί θολώματα σε αυτό. Σε αυτή την περίπτωση, πριν από την εμφιάλωσή

του, θα πρέπει να υποβληθεί σε ορισμένες κατεργασίες, ανάλογα πάντα με το είδος του θολώματος. Οι κατεργασίες αυτές έχουν ως σκοπό να αποτρέψουν κάθε αλλοίωση της διαύγειας του εμφιαλωμένου οίνου. Για την αναγνώριση του θολώματος εφαρμόζουμε διάφορες δοκιμές χαρακτηριστικές για το καθένα από αυτά. Τα θολώματα στα ερυθρά κρασιά, τα οποία είναι και αντικείμενο μελέτης στην παρούσα έρευνα, διακρίνονται ανάλογα με την αιτία που τα προκαλούν ως εξής:

- Ενζυμικής προέλευσης - Θόλωμα οξειδωτικών ενζύμων. Αυτά τα θολώματα εμφανίζονται στα νέα κρασιά και προκαλούνται από τα οξειδωτικά ένζυμα τυροσινάση και λακάση. Η τυροσινάση βρίσκεται σε όλα τα σταφύλια και μπορεί να ελεγχθεί με το θειώδη ανυδρίτη. Η λακάση εκλύεται από το βοτρυτή. Βρίσκεται στα σάπια σταφύλια και είναι ανθεκτική στο θειώδη ανυδρίτη. Τα δύο οξειδωτικά ένζυμα με τη δράση τους στις πολυφαινόλες προκαλούν το καστανό θόλωμα, κάνοντας θα ερυθρά κρασιά σοκολατί. Το θόλωμα αυτό συνήθως δεν συναντιέται σε κρασιά που έχουν υποστεί παλαίωση.
- Μικροβιακής προέλευσης – Ζυμομύκητες και σπάνια βακτήρια. Εμφανίζονται σε κρασιά τα οποία δεν είναι καλά διατηρημένα με θειώδη ανυδρίτη και περιέχουν αζύμωτα σάκχαρα και μηλικό οξύ. Στα κρασιά αυτά αναπτύσσονται μύκητες ή βακτήρια, εμφανίζουν θόλωμα ή ίζημα και χάνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους. Ταυτόχρονα υπάρχει έκλυση διοξειδίου του άνθρακα που δηλώνει προσβολή από ζύμες ή βακτήρια.
- Χημικής προέλευσης – Θολώματα σιδήρου, ιζήματα τρυγικών αλάτων και χρωστικών ουσιών. Τα θολώματα του σιδήρου εμφανίζονται στους οίνους μετά την επαφή τους με τον ατμοσφαιρικό αέρα, όταν η περιεκτικότητα του σιδήρου είναι μεγαλύτερη από 12 mg/l. Τα διαλυτά άλατα του δισθενούς σιδήρου παρουσία οξυγόνου μετατρέπονται σε άλατα τρισθενούς σιδήρου, τα οποία δεν διαλύονται και έχουμε θόλωμα. Το όξινο τρυγικό κάλιο και το ουδέτερο τρυγικό ασβέστιο είναι τα δύο άλατα τα οποία αποτελούν την τρυγία. Τα άλατα αυτά συχνά δημιουργούν ιζήματα σε κρασιά που εμφιαλώθηκαν νωρίς και κυρίως χωρίς να υποστούν την κατάλληλη επεξεργασία. Επίσης μερικές φορές ιζήματα τέτοιου είδους εμφανίζονται με το πέρασμα του χρόνου εξαιτίας φυσικοχημικών αλλαγών στη σύσταση του οίνου. Η πτώση του όξινου τρυγικού καλίου γίνεται όταν το οίνος εκτεθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια του χειμώνα. Η



πτώση του τρυγικού ασβεστίου είναι αργή και ελάχιστα εξαρτάται από τις χαμηλές θερμοκρασίες. Σε αυξανόμενο αλκοολικό περιβάλλον ευνοείται η πτώση των τρυγικών αλάτων. Τέλος, τα ιζήματα χρωστικών ουσιών εμφανίζονται σε οίνους που έγινε η εμφιάλωση γρήγορα. Κατά τη σταθεροποίηση των οίνων κανονικά έχουμε τη φυσική ελάττωση των χρωστικών. Τα ιζήματα αυτά οφείλονται στην ενζυμική υδρόλυση των χρωστικών που υδρολύονται σε γλυκόζη και στο αδιάλυτο τμήμα το οποίο καταβυθίζεται, σε σχηματισμό αδιάλυτων ή ελάχιστα διαλυτών ενώσεων μεταξύ χρωστικών-αλδευδών και στη συμπύκνωση και συσσωμάτωση των φαινολικών ενώσεων, για τις οποίες θα μιλήσουμε στη συνέχεια.

### 2.3 Φαινολικά συστατικά και τανίνες

Τα φαινολικά συστατικά στον ερυθρό οίνο είναι υπεύθυνα για το χρώμα, τη λιπαρότητα της γεύσης και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Οι ποσότητες των φαινολικών του οίνου εξαρτώνται από την ποικιλία του σταφυλιού, το χρόνο τρύγου και τον τρόπο οινοποίησης. Η ωρίμανση του σταφυλιού δεν είναι μόνο συνάρτηση της οξύτητας των σακχάρων, αλλά και των φαινολικών συστατικών.

Φαινολικά συστατικά στον οίνο είναι οι ανθοκυάνες και οι τανίνες. Η τανίνη είναι μία ουσία (φαινόλη) που βρίσκεται στο φλοιό του σταφυλιού. Περνάει στον οίνο κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, της παραμονής δηλαδή του μούστου μαζί με τα στερεά στοιχεία του σταφυλιού, τη σάρκα και τον φλοιό. Στα σταφύλια και τον οίνο υπάρχουν τανίνες που προέρχονται από τον πολυμερισμό των φλαβονολών-3 (κατεχινών) και των φλαβανοδιολών-3,4. Ο βαθμός πολυμερισμού επηρεάζει την ιδιότητα των τανινών να προκαλούν στυφή αίσθηση που οφείλεται στην ικανότητα που έχουν να ενώνονται με τις πρωτεΐνες. Στην πραγματικότητα αυτή η στυφότητα δεν είναι μια γεύση αλλά είναι απλά μία αίσθηση ξηρότητας στο στόμα (Jöbstl et al. 2004). Η ιδιαίτερα στυφή αίσθηση ορισμένων κρασιών οφείλεται στην απουσία ορισμένων τανινών μοριακού βάρους 500-3000. Οι «επιθετικές» αυτές τανίνες έχουν την ιδιότητα να ενώνονται με πρωτεΐνες, ενώ οι μη επιθετικές δεν ενώνονται με τις πρωτεΐνες και παραμένουν στον οίνο.

Από την ποικιλία των σταφυλιών, τις κλιματολογικές συνθήκες και το είδος της οινοποίησης εξαρτάται και η ανομοιογένεια της υφής των τανινών. Οι ερυθροί οίνοι που προορίζονται για γρήγορη κατανάλωση έχουν μόνο μικρά μόρια τανινών τα οποία δεν αντέχουν στην παλαίωση. Η ύπαρξη μικρών μόνο μορίων οφείλεται στο σύντομο χρόνο εκχύλισης που γι' αυτό τον τύπο κρασιών αποβλέπει μόνο στην παραγωγή χρώματος, δηλαδή ανθοκυανών.

Στους νέους οίνους που προορίζονται για παλαίωση, δηλαδή προέρχονται από μακρόχρονη εκχύλιση, οι τανίνες προέρχονται κυρίως από τα κουκούτσια και είναι κατά μεγάλο ποσοστό μεγάλα μόρια. Η ικανότητα παλαίωσης εκτός βέβαια από την ποικιλία του σταφυλιού εξαρτάται από την ωρίμανση του σταφυλιού από την οποία εξαρτάται ο βαθμός πολυμερισμού των τανινών. Αυτές οι μεγάλες τανίνες μπορούν να διατηρηθούν κατά τη γήρανση και έχουν την ικανότητα να μην προκαλούν στυφή αίσθηση.

Οι ενώσεις των τανινών με πρωτεΐνες είναι μεν η αιτία της στυφής αίσθησης, αλλά και των θολωμάτων του οίνου. Φαίνεται ότι, στην περίπτωση πολυμερισμού (η ένωση και η δημιουργία μεγαλομοριακών συμπλοκών μεταξύ των τανινών), όπως και στην περίπτωση ένωσης ανάμεσα σε τανίνες και πρωτεΐνες, η ένωσή τους είναι κύριο αποτέλεσμα της αντίδρασης υδρόφοβων ομάδων σταθεροποιημένων προφανώς με δεσμούς υδρογόνου. Οι τανίνες όπως και οι πρωτεΐνες διαθέτουν πολυάριθμα σημεία ικανά να ενωθούν με δεσμούς υδρογόνου και να δημιουργήσουν διάταξη στο χώρο που εμφανίζει υδρόφοβη χημική συμπεριφορά. Οι ενώσεις που σχηματίζουν μπορεί να είναι διαλυτές ή αδιάλυτες και η καταβύθιση γίνεται σε δύο στάδια. Οι μονομερείς φλαβανόλες μπορούν να ενωθούν με τις πρωτεΐνες αλλά να μην καταβυθιστούν, ενώ οι πολύ συμπυκνωμένες τανίνες είναι από μόνες τους αδιάλυτες και μπορούν να σχηματίσουν ογκώδη συσσωματώματα ανίκανα να μείνουν ως αιωρήματα. Οι συμπυκνωμένες τανίνες που προέρχονται από το σταφύλι, και σε μικρότερο βαθμό οι υδρολυόμενες τανίνες που εξάγονται από την παραμονή στο βαρέλι, είναι οι κύριες υπεύθυνες ουσίες για τη στυφή αίσθηση των οίνων. Η στυφή αίσθηση αυξάνει με το βαθμό πολυμερισμού και κατόπιν ενώνεται με την αδιαλυτοποίηση των πολυμερών μεγάλου σχετικά μοριακού βάρους. Στο σκελετό των τανινών, κατά την παλαίωση, αντιδρούν και άλλα μόρια όπως πολυσακχαρίτες, πράγμα που οδηγεί σε μειωμένη

δραστικότητα έναντι των πρωτεϊνών και επομένως σε απενεργοποίηση του στυφού τους χαρακτήρα.

Επιπλέον, σημαντικό ρόλο παίζει η μεταβολή των τανινών κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης.

Οι τανίνες των κουκουτσιών, κυρίως προκυανιδίνες, αντιδρούν έντονα με τις πρωτεΐνες. Έχουν χαμηλό βαθμό πολυμερισμού στην αλλαγή του χρώματος, που αυξάνει κατά την ωρίμανση. Αντίθετα, οι τανίνες της φλούδας έχουν πιο σύνθετη δομή και ο βαθμός πολυμερισμού τους υφίσταται μικρότερη μεταβολή κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Οι τανίνες αυτές δείχνουν όλο και λιγότερο τάση να ενωθούν με τις πρωτεΐνες και άρα γίνονται όλο και λιγότερο επιθετικές και στυφές. Πρόκειται για τανίνες ενωμένες με πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες που δίνουν την αίσθηση του σώματος. Οι πολυσακχαρίτες που υπάρχουν στον οίνο προέρχονται είτε από τα κυτταρικά τοιχώματα μικροοργανισμών είτε από σταφύλια. Για να καθοριστούν οι εγγενείς ιδιότητές τους και να τις χαρακτηρίσουμε δομικά είναι απαραίτητο να κατηγοριοποιήσουμε τις διαφορετικές τάξεις των πολυσακχαριτών του οίνου σε επαρκείς ποσότητες. Οι προηγούμενες μελέτες έχουν ταυτοποιήσει τους κύριους πολυσακχαρίτες στον οίνο και μερικές από τις ιδιότητές τους έχουν καθοριστεί. Εκείνοι που προέρχονται από τα κυτταρικά τοιχώματα του σταφυλιού περιλαμβάνουν αραβινογαλακτικές πρωτεΐνες (Brillouet et al. 1990), (Saulnier et al. 1992) και RG-II (Doco & Brillouet, 1993; (Pellerin et al. 1996), ενώ εκείνοι που προέρχονται από τα κυτταρικά τοιχώματα των μυκήτων είναι κυρίως μαννοπρωτεΐνες (Villetaz & Amad, 1981), (Waters, Pellerin, and Brillouet 1994).

Ένα ώριμο σταφύλι διακρίνεται από το μέγιστο της περιεκτικότητας σε ανθοκυάνες και για τις ανενεργές ως προς τις πρωτεΐνες, τανίνες της φλούδας και την υψηλή περιεκτικότητα των κουκουτσιών σε πολυμερισμένες τανίνες που επίσης αντιδρούν λίγο με τις πρωτεΐνες.

## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup> Τεχνικές πειραματικής διαδικασίας

Όταν το μέγεθος των σωματιδίων είναι σχετικά μεγάλο (π.χ. πάνω από 40  $\mu\text{m}$ ), η μέτρηση της κατανομής του μεγέθους γίνεται σχετικά εύκολα, π.χ. με την εφαρμογή της μεθόδου της κοσκίνησης. Αντίθετα, στην περίπτωση των λεπτομερών (πολύ μικρών) σωματιδίων (π.χ. που είναι μικρότερα από 10  $\mu\text{m}$ ) χρησιμοποιούνται πιο πολύπλοκες μέθοδοι (μικροσκοπικές, φωτομετρικές, βαρυτικές, ηλεκτρικές κτλ.), που θεωρούνται κατάλληλες για τη μέτρηση του μεγέθους σε ορισμένη περιοχή.

Οι φωτομετρικές μέθοδοι, όπως αυτή που χρησιμοποιήθηκε γι' αυτή την πειραματική διαδικασία, βασίζονται στην απορρόφηση και στη σκέδαση του φωτός (light scattering), καθώς και στις μετρήσεις της θολερότητας (turbidity), που συμβαίνουν όταν μια δέσμη φωτεινής ακτινοβολίας (συνήθως μονοχρωματικού φωτός π.χ. laser) συναντήσει ένα αιώρημα σωματιδίων μέσα σε κάποιο υγρό ή αέριο ρεύμα (Ζουμπούλης et al., 2013).

### **3.1 Κατηγορίες σκέδασης**

Η σκέδαση του φωτός χωρίζεται σε δύο κατηγορίες:

1. στατική σκέδαση του φωτός: παρέχει άμεση μέτρηση του όγκου των σωματιδίων (ή της μάζας τους). Η κλασική σκέδαση φωτός περιλαμβάνει μέτρηση της ποσότητας φωτός που σκεδάζεται από ένα διάλυμα σε μια συγκεκριμένη γωνία η οποία σχετίζεται με την προσπίπτουσα ακτίνα φωτός. Αυτή η μέθοδος μπορεί να είναι επίσης πολύ χρήσιμη για τον προσδιορισμό συσσωματωμάτων, όπως νουκλεϊκών οξέων ή γλυκοπρωτεϊνών.

2. δυναμική σκέδαση του φωτός: χρησιμοποιεί το σκεδάζον φως για να μετρήσει το εύρος της διάχυσης των σωματιδίων. Εδώ κάποιος μπορεί να μετρήσει την εξάρτηση του χρόνου του φωτός που σκεδάζεται από μια μικρή περιοχή του διαλύματος σε σχέση με ένα εύρος τιμών χρόνου από δέκατα του  $\mu\text{s}$  (microseconds) έως ms (milliseconds). Αυτές οι διακυμάνσεις στην ένταση του σκεδάζοντος φωτός

σχετίζονται με την ποσότητα διάχυσης των σωματιδίων μέσα και έξω από την περιοχή που μελετάται (κίνηση Brown), και τα δεδομένα μπορούν να αναλυθούν ώστε κατ' ευθείαν να δώσουν τους συντελεστές διάχυσης των σωματιδίων που έχουν σκεδαστεί. Όταν πολλά είδη είναι παρόντα, φαίνεται η κατανομή συντελεστών διάχυσης.

### **Δυναμική Σκέδαση Φωτός (Dynamic Light Scattering)**

Δυναμική σκέδαση φωτός (επίσης γνωστή ως φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων ή οιονεί ελαστική σκέδαση φωτός) είναι μία τεχνική στη φυσική που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του προφίλ κατανομής μεγέθους μικρών σωματιδίων σε εναιώρημα ή πολυμερή σε διάλυμα (Berne and Pecora 1976).

Γενικά μια προσπίπτουσα ακτινοβολία σκεδάζεται τυχαία στο χώρο προς όλες τις κατευθύνσεις. Η ένταση του σκεδασμένου φωτός εξαρτάται από την πολωσιμότητα, ενώ η πολωσιμότητα εξαρτάται από το μοριακό βάρος. Αυτή η ιδιότητα του φωτός να σκεδάζεται είναι πολύ χρήσιμο εργαλείο για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους. Ακόμη η σκέδαση του φωτός έχει μια άμεση εξάρτηση με το μέγεθος των σωματιδίων.

Πολλά χαρακτηριστικά των τροφίμων καθορίζονται από το μέγεθος των σωματιδίων που υπάρχουν στην αρχική πρώτη ύλη ή στο τελικό προϊόν, το οποίο επηρεάζει τις ρεολογικές ιδιότητες του ακατέργαστου προϊόντος.

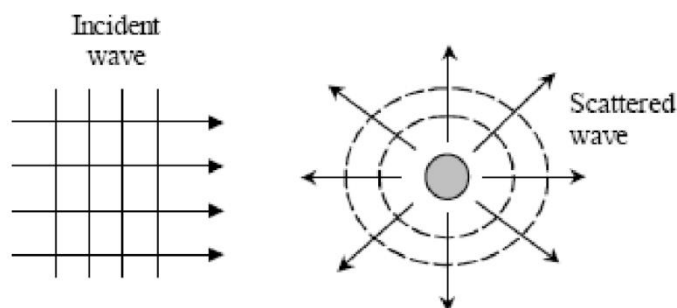
Καθώς το φως διέρχεται από ένα υλικό, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αλληλοεπιδρά με τα μόρια του υλικού. Αυτά πολώνονται, δηλαδή τα επίκεντρα του θετικού και του αρνητικού φορτίου αλλάζουν την σχετική τους θέση. Η συχνότητα της προσπίπτουσας ακτίνας είναι ίδια με την συχνότητα πόλωσης, και τα μόρια που υποβάλλονται σε αυτή την διαδικασία γίνονται τα ίδια πηγές ακτινοβολίας. Σε ένα απόλυτα ομογενές σύστημα αυτή η δευτερογενής ακτινοβολία αναιρείται από την πρόσθεση των επιμέρους κυματικών συναρτήσεων (κάθε μόριο εκπέμπει σε ελαφρά διαφορετική φάση από το διπλανό του, οπότε το άθροισμα των κυμάτων είναι μηδέν) και η προσπίπτουσα ακτινοβολία διέρχεται του μέσου χωρίς σκέδαση. Αν όμως η πολικότητα των επιμέρους μικροπεριοχών του υλικού δεν είναι η ίδια καθ' όλο το υλικό, οι δευτερογενείς ακτινοβολίες δεν είναι παρόμοιες, οπότε το άθροισμά τους

δεν είναι μηδέν. Έτσι τελικά οι επιμέρους περιοχές σκεδάζουν μέρος του φωτός. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το σώμα να φαίνεται συμπαγές. (Liu et al, 2015).

Σκέδαση είναι η διαδικασία κατά την οποία η κατεύθυνση ενός ηλεκτρομαγνητικού κύματος μεταβάλλεται εφόσον προσπέσει σε κάποιο μόριο ύλης το οποίο να είναι τέτοιου μεγέθους που να επηρεάζει το κύμα. Η σκέδαση εξαρτάται από τη διαφορά μεταξύ του δείκτη διάθλασης του μέσου που διαδίδεται το φως αλλά και το μέγεθος των σκεδαστών σε σχέση με το μήκος κύματος. Η σκέδαση οφείλεται στην ανομοιογένεια του μέσου που ακτινοβολείται και στο δείκτη διάθλασης.

Η γωνιακή κατανομή της σκέδασης εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων και συγκεκριμένα:

- Το μέγεθος και το σχήμα των σκεδαστών.
- Τη διαφορά στο δείκτη διάθλασης των σκεδαστών από το μέσο στο οποίο βρίσκονται.
- Το μέγεθος της ανομοιογένειας σε σχέση με το μήκος κύματος.
- Την πυκνότητα των σκεδαστών



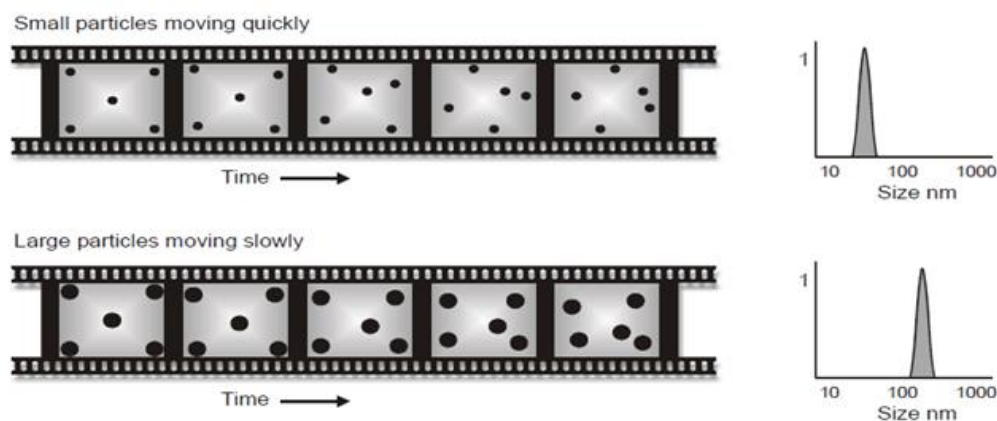
**Εικόνα 1:** Σχηματική αναπαράσταση της σκέδασης του φωτός όταν προσπίπτει σε ένα αντικείμενο.

Η δυναμική σκέδαση φωτός γνωστή και ως φασματοσκοπία συσχετισμού φωτονίων (Photon Correlation Spectroscopy- PCS) είναι ένα από τα σημαντικότερα μέσα μέτρησης μεγέθους των νανοσωματιδίων, του οποίου τα πλεονεκτήματα είναι πολλά αλλά κυρίως η ταχύτητα, η ακρίβεια και η μη επεμβατικότητα στα σωματίδια που μελετά. Η DLS μέθοδος βασίζεται στην κίνηση Brown των σωματιδίων σε εναιώρημα και παραδοσιακά εφαρμοζόταν για τη μέτρηση μεγέθους σωματιδίων. Το σκεδαζόμενο φως από μικρά μεγάλα σωματίδια διακυμαίνεται αργά. Ο συντελεστής

διάχυσης των σωματιδίων μπορεί να προσδιοριστεί από τη λειτουργία συσχέτισης έντασης σήματος (intensity autocorrelation) από την οποία μπορούμε να λάβουμε τις πληροφορίες για το μέγεθος των σωματιδίων (Liu et al, 2015).

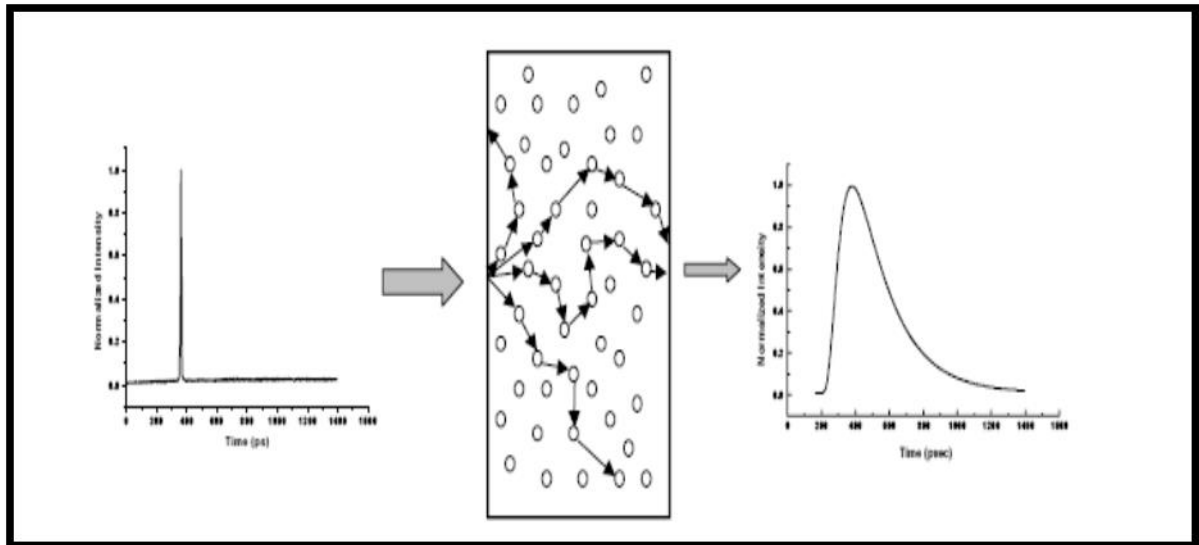
Καθορίζει το μέγεθος μετρώντας πρώτα την κίνηση Brown (Brownian motion) των σωματιδίων στο δείγμα χρησιμοποιώντας DLS και μετά ερμηνεύει/δίνει ένα μέγεθος γι' αυτό χρησιμοποιώντας εδραιωμένες θεωρίες. Η κίνηση Brown εκφράζεται ως: «Η τυχαία κίνηση των σωματιδίων μέσα σε ένα υγρό λόγω του βομβαρδισμού τους από τα μόρια που τα περιβάλλουν». Τα σωματίδια κινούνται τυχαία και η ταχύτητα της κίνησης τους χρησιμοποιείται για να προσδιοριστεί το μέγεθος τους .

Η κίνηση Brown είναι αντιστρόφως ανάλογη του μεγέθους των σωματιδίων, δηλαδή όσο πιο μεγάλο ένα σώμα τόσο πιο αργή η κίνηση Brown. Επίσης όσο υψηλότερη η θερμοοίνοσα τόσο πιο γρήγορη είναι η κίνηση Brown.



**Εικόνα 2:** Κίνηση Brown

Η ταχύτητα της κίνησης αυτής καθορίζεται από το μεταφορικό συντελεστή διάχυσης  $D_t$ . Όταν το φως σκεδάζεται από κινούμενο σωματίδιο, λόγω φαινομένου Doppler, υφίσταται μια μετατόπιση προς ελαφρώς χαμηλότερη ή υψηλότερη συχνότητα, ανάλογα εάν το σωματίδιο κινείται από ή προς την πηγή. Το κύριο χαρακτηριστικό της δυναμικής σκέδασης είναι η ικανότητα της μεθόδου να αναλύει δείγματα που περιέχουν διαφορετικές κατανομές των ειδών και διαφορετικά μοριακά βάρη (Liu et al, 2015), ([www.Malvern.co.uk](http://www.Malvern.co.uk)).



**Εικόνα 3:** Η μεταβολή της ακτινοβολίας πριν υποστεί σκέδαση και μετά

Στη φωτομετρία χρησιμοποιούνται αραιά αιωρήματα, οπότε τα σωματίδια θεωρούνται τελείως αδιαφανή και δεν αντανακλούν το προσπίπτον φως. Η σκέδαση του φωτός χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των αιωρουμένων σωματιδίων με πολύ μικρό μέγεθος, κυρίως κolloειδών διαστάσεων. Στην περίπτωση αυτή ισχύει η εξίσωση Rayleigh. Η μέθοδος όμως αυτή παρουσιάζει το πλεονέκτημα, ότι δεν απαιτεί την εισαγωγή κάποιου οργάνου για δειγματοληψία ή μέτρηση μέσα στο αιώρημα, οπότε αποφεύγονται διάφορα πιθανά σφάλματα, που θα μπορούσαν να δημιουργηθούν από την εισαγωγή αυτή (Ζουμπούλης et al., 2013).

Η DLS μετρά τις διακυμάνσεις που υφίσταται η σκεδαζόμενη ένταση του φωτός κατά τη χρονική διάρκεια του πειράματος και καταγράφει τις χρονικές στιγμές που συμβαίνουν οι μέγιστες διακυμάνσεις. Ο σκοπός των πειραμάτων ήταν να εξαχθούν μερικές φυσικοχημικές παράμετροι για το βιολογικό μακρομόριο. Ένας από αυτούς είναι η γυροσκοπική ακτίνα ( $R_g$ ) που είναι η απόσταση που συνδέει το κέντρο μάζας του μακρομορίου με το εξώτατο άκρο του. Η υδροδυναμική ακτίνα ( $R_h$ ) είναι ένα εξίσου χρήσιμο μέγεθος. Θεωρώντας ότι κάθε μόριο διαλυμένης ουσίας περιστοιχίζεται από πολλά μόρια διαλύτη, σχηματίζεται τελικά μια φυσαλίδα (blob) που έχει πάντοτε σφαιρικό σχήμα και ακτίνα  $R_h$  (Σαμόλης 2005).



Η DLS χρησιμοποιείται για να χαρακτηρίσει το μέγεθος των διαφόρων σωματιδίων, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, πολυμερών, μικκύλια, υδατάνθρακες και νανοσωματίδια. Αν το σύστημα είναι μονοδιασπαρμένο, η μέση αποτελεσματική διάμετρος των σωματιδίων μπορεί να προσδιοριστεί. Αυτή η μέτρηση εξαρτάται από το μέγεθος του πυρήνα των σωματιδίων, το μέγεθος των δομών της επιφάνειας, η συγκέντρωση των σωματιδίων, και το είδος των ιόντων στο μέσο.

Η DLS μετρά ουσιαστικά διακυμάνσεις στην ένταση του φωτός διάσπαρτα λόγω διάχυσης σωματιδίων, ο συντελεστής διάχυσης των σωματιδίων μπορεί να προσδιοριστεί. Το λογισμικό DLS εμφανίζει τυπικά τον πληθυσμό των σωματιδίων σε διαφορετικές διαμέτρους. Αν το σύστημα είναι μονοδιασπαρμένο, θα πρέπει να υπάρχει μόνο μία μάζα πληθυσμού, ενώ ένα σύστημα που είναι πολυδιάσπαρτο θα δείξει πολλαπλούς πληθυσμούς σωματιδίων.

Οι μελέτες σταθερότητας μπορεί να γίνουν εύκολα με τη χρήση DLS. Περιοδικές DLS μετρήσεις του δείγματος μπορεί να δείξουν εάν τα σωματίδια συσσωματώνονται με την πάροδο του χρόνου, βλέποντας αν η υδροδυναμική ακτίνα των σωματιδίων αυξάνεται. Εάν τα σωματίδια συσσωματώνονται, θα υπάρξει ένας μεγαλύτερος πληθυσμός των σωματιδίων με μια μεγαλύτερη ακτίνα. Επιπλέον, σε ορισμένα όργανα DLS ανάλογα με τη θερμοκρασία μπορεί να αναλυθεί η σταθερότητα με τον έλεγχο της θερμοκρασίας επί τόπου.

### **Πλεονεκτήματα χρήσης της μεθόδου για τον προσδιορισμό του μεγέθους σωματιδίων.**

Η σκέδαση του φωτός, ως μέθοδος προσδιορισμού του μεγέθους σωματιδίων, έχει τα παρακάτω πλεονεκτήματα:

- Η μέθοδος αυτή είναι απόλυτη γι' αυτό το λόγο δεν είναι απαραίτητο να βαθμονομούμε ένα όργανο.
- Μεγάλο δυναμικό εύρος. Ο καλύτερος εξοπλισμός σκέδασης φωτός επιτρέπει στον χρήστη να μετρήσει ένα εύρος από 0,1 ως 2000 μικρά. Μικρότερα δείγματα (1nm - 1

μm) μπορούν να μετρηθούν με την τεχνική φασματοσκοπίας συσχέτισης φωτονίου αφού το υλικό είναι σε αιώρηση και δεν δημιουργεί ίζημα.

- Ευκολία. Για παράδειγμα, είναι δυνατόν να μετρηθεί το σήμα εξόδου από ένα ακροφύσιο ψεκασμού.
- Οι ξηρές σκόρες μπορούν να μετρηθούν κατευθείαν, αν και αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μια πιο φτωχή διασπορά σε σχέση με το αν χρησιμοποιούσαμε ένα υγρό μέσο διασποράς.
- Υγρές διασπορές και γαλακτώματα μπορούν να μετρηθούν σε ένα κελί επανακυκλοφορίας και αυτό δίνει υψηλή παραγωγικότητα και επίσης επιτρέπει στο μέσο διασποράς (π.χ. 0,1 % νερό) και στα απολυμαντικά να εργαστούν ώστε να εξακριβώσουν το βασικό μέγεθος σωματιδίου.
- Όλο το δείγμα μετριέται. Αν και η ποσότητα του δείγματος είναι μικρή (4-10g για ξηρά υλικά και σκόρες, 1-2g για αιωρήματα) πρέπει να διατίθεται ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα, όλο το δείγμα περνά μπροστά από την ακτίνα φωτός και η σκέδαση συμβαίνει σε όλα τα σωματίδια.
- Προκύπτει μια κατανομή του όγκου, η οποία είναι ισοδύναμη με την κατανομή του βάρους αν η πυκνότητα είναι σταθερή.
- Η μέθοδος είναι πολύ γρήγορη δεδομένου ότι δίνει αποτέλεσμα σε λιγότερο από ένα λεπτό. Αυτό κάνει τις επαναληπτικές μετρήσεις μια πολύ εύκολη διαδικασία.
- Είναι υψηλής επαναληψιμότητας τεχνική.
- Είναι υψηλής ανάλυσης
- Μικρή διάρκεια πειράματος
- Αυτοματοποιημένη μέθοδος (Παπαδοπούλου και Πανακίδης,2009), (Liu et al, 2015).

### 3.2 Οργανολογία

Το μέγεθος των σωματιδίων και το ζ-δυναμικό προσδιορίστηκαν με τη συσκευή Malvern Zetasizer Nano ZS ZEN3600 (Malvern, Worcestershire, United Kingdom).

Η συσκευή αυτή έχει τη δυνατότητα μέτρηση τριών χαρακτηριστικών των μορίων σε ένα υγρό μέσο.

Αυτά τα 3 χαρακτηριστικά – παράμετροι είναι:

- Μέγεθος σωματιδίων
- ζ δυναμικό (ζ-potential) της επιφάνειας των κολλοειδών
- Σωματιδιακό βάρος

Με εύρος θερμοκρασιών από 0 έως 120 °C. (Malvern Zetasizer Nano – User Manual)

#### 1. Μέγεθος σωματιδίων – Particle Size

Τα μόρια σε ένα υγρό κινούνται τυχαία και η ταχύτητά τους χρησιμοποιείται για να καθορίσουμε το μέγεθός τους. Ανάλογα με το μέγεθος της κίνησης-απόστασης που έχει καλυφθεί από τα μόρια σε δύο διαδοχικές εικόνες, μας δίνεται η δυνατότητα να υπολογίσουμε το μέγεθός τους. Αν έχει καλυφθεί μικρή απόσταση τα μόρια χαρακτηρίζονται ως μεγάλα, και αντίστοιχα αν έχει διανυθεί μικρή απόσταση μεταξύ των δύο διαδοχικών φωτογραφιών τα μόρια χαρακτηρίζονται ως μικρού μεγέθους.

#### 2. ζ-δυναμικό – ζ-potential and electrophoresis

Τα ιόντα κοντά στην επιφάνεια ενός σωματιδίου θα είναι ισχυρά δεμένα, ενώ όσο προχωράμε πιο μακριά θα έχουμε πιο ασθενείς δεσμούς που ονομάζονται diffuse layer. Ενδεχομένως αυτοί οι δεσμοί που υπάρχουν μεταξύ της επιφάνειας των σωματιδίων και του υγρού, ποικίλουν ανάλογα με την απόσταση από την επιφάνεια του σωματιδίου. Αυτό το δυναμικό στο επίπεδο ολίσθησης ονομάζεται Zeta potential. Μετριέται με συνδυασμό ηλεκτροφόρησης και Laser Doppler Velocimetry. Το ζ-potential των μικροοργανισμών είναι μηδενικό ή ακόμα και αρνητικό (Dengis and Rouxhet 1997). Ένα σωματίδιο κινείται σ' ένα υγρό όταν εφαρμόζεται σ' αυτό ηλεκτρικό πεδίο. Αυτό μας χρησιμεύει καθώς μπορούμε να δούμε (αν γνωρίζουμε το zeta potential) αν τα μόρια σε ένα υγρό θα έχουν την τάση να ενωθούν ή όχι.

#### 3. Μοριακό βάρος – Molecular weight

Το μοντέλο αυτό είναι εξοπλισμένο με ένα λέιζερ μήκους κύματος 633nm και ανιχνευτή με θέση γωνίας 173° για τη μέτρηση της μη επεμβατικής διάχυσης με κινούμενα

οπτικά (τεχνολογία NIBS). Το πλεονέκτημα της εν λόγω διάταξης ( $173^\circ$ ) είναι ότι, σε αντίθεση με τις διατάξεις που μετρούν την ένταση του σκεδαζόμενου φωτός στις  $90^\circ$ , η πολλαπλή σκέδαση είναι ελάχιστη και κατά συνέπεια μπορούν να μετρηθούν πυκνά (μη-αραιωμένα) δείγματα. Ο δείκτης διάθλασης 1,46 χρησιμοποιήθηκε για τη διεσπαρμένη φάση, θεωρώντας ότι οι διαλυμένοι πολυσακχαρίτες είναι ενυδατωμένα συστήματα. Η ίδια συσκευή χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση του ζ-δυναμικού

## Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup> Πειραματικό μέρος

Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, σε διαφορετικές τιμές του pH, έχουμε και διαφορετικά μεγέθη σωματιδίων, αλλάζει η σύστασή τους και σχηματίζονται κολλοειδή.

Εμείς σε αυτό το πείραμα θα διαπιστώσουμε ποιες είναι αυτές οι τιμές στις οποίες παρατηρείται αυτή η αλλαγή, τι διαπιστώνουμε για τη μεταβολή αυτής και στο πλαίσιο ποιων τιμών pH θα αποφύγουμε την ανεπιθύμητη καταβύθιση και καθίζηση των κολλοειδών σωματιδίων.

Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 6 διαφορετικά κρασιά, αραιωμένα 1:3 σε απιονισμένο νερό. Αφού παραλλάχτηκε το pH τους με τη βοήθεια υδροχλωρίου για να δημιουργηθούν 5 διαδοχικά πιο όξινα δείγματα, και υδροξειδίου του νατρίου για να παραχθούν αντίστοιχα 5 πιο βασικά δείγματα, μετρήθηκε το καθένα για να βρεθεί το μέγεθος των σωματιδίων αλλά και η κινητικότητά τους.

Από τις μετρήσεις που πήραμε καταλήξαμε σε συμπεράσματα τα οποία θα αναλυθούν στην επόμενη ενότητα, αλλά για την καλύτερη ανάλυση και επεξήγησή τους θα χρησιμοποιηθεί το δείγμα 4 του πειράματος, καθώς οι μετρήσεις του είναι ενδεικτικά αντιπροσωπευτικές των υπολοίπων. Το δείγμα 4 είναι κόκκινος οίνος «Νεμέα».

Οι τιμές pH που δημιουργήθηκαν είναι οι εξής: 2,09 – 2,51 – 2,78 – 3,20 – 3,47 με προσθήκη οξέος και 3,81 – 4,04 – 4,36 – 4,67 – 5 με προσθήκη βάσης.

Με τη βοήθεια μιας πιπέτας και δυο συρίγγων τοποθετήθηκε το κάθε δείγμα ξεχωριστά στον ειδικό δειγματολήπτη και έπειτα στη συσκευή για να μετρηθεί το μέγεθος των σωματιδίων το ζ-δυναμικό και η κινητικότητα των μορίων (Εικόνες 4 και 5).



**Εικόνα 4 :** Malvern cell



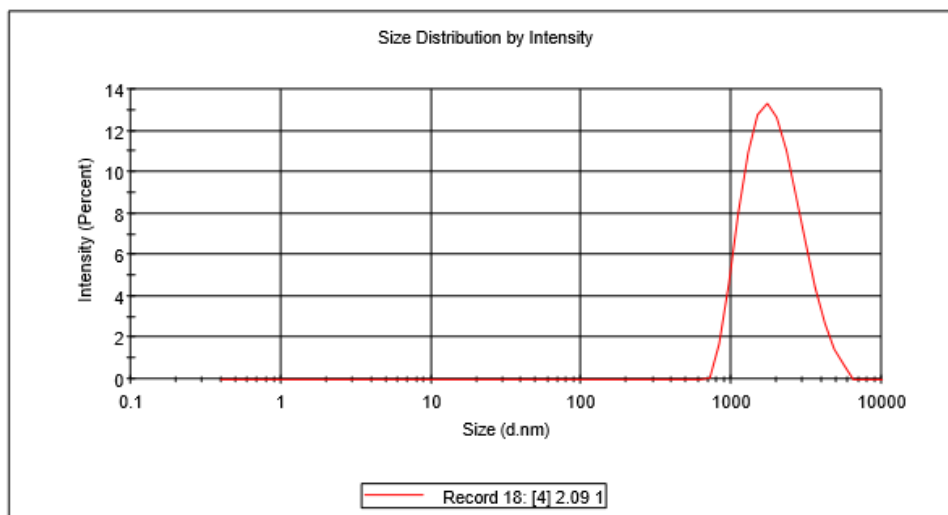
**Εικόνα 5:** Τοποθέτηση δείγματος στον Malvern Zetasizer Nano ZS ZEN3600

## Κεφάλαιο 5° Αποτελέσματα

### 5.1 Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων (Particle Size)

#### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 1699	<b>Peak 1:</b> 2035	100.0	899.1
<b>Pdl:</b> 0.170	<b>Peak 2:</b> 0.000	0.0	0.000
<b>Intercept:</b> 0.936	<b>Peak 3:</b> 0.000	0.0	0.000
<b>Result quality :</b> Good			

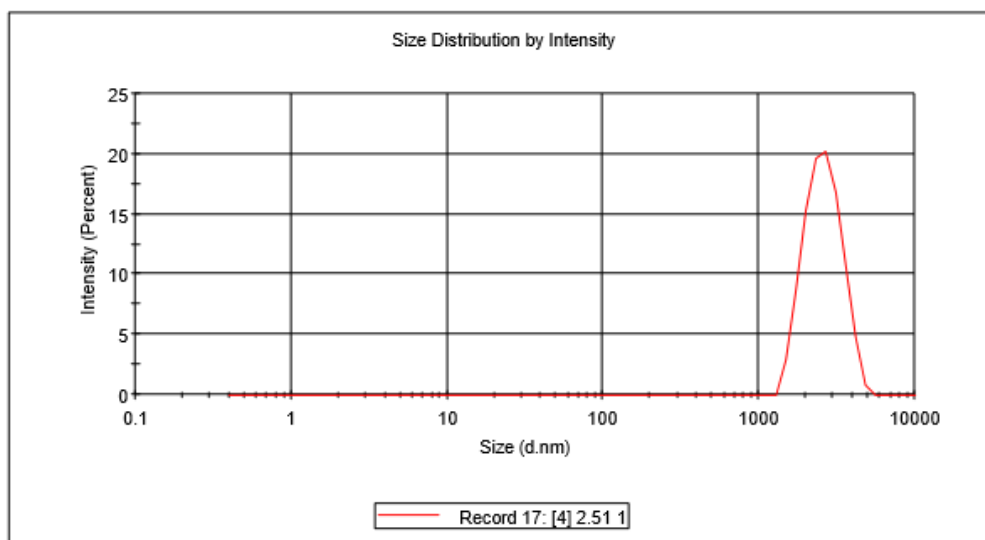


Διάγραμμα 1: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη HCl, pH 2,09

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 2203	<b>Peak 1:</b> 2635	100.0	691.9
<b>Pdl:</b> 0.205	<b>Peak 2:</b> 0.000	0.0	0.000
<b>Intercept:</b> 0.886	<b>Peak 3:</b> 0.000	0.0	0.000

**Result quality :** Good

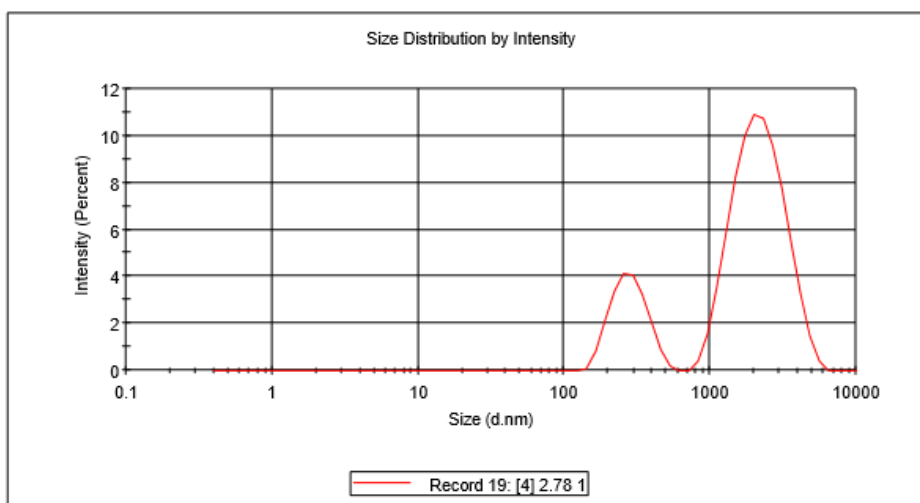


Διάγραμμα 2: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη HCl, pH 2,51

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 831.3	<b>Peak 1:</b> 2285	79.0	901.7
<b>Pdl:</b> 0.749	<b>Peak 2:</b> 285.0	21.0	77.24
<b>Intercept:</b> 0.781	<b>Peak 3:</b> 0.000	0.0	0.000

**Result quality :** Refer to quality report



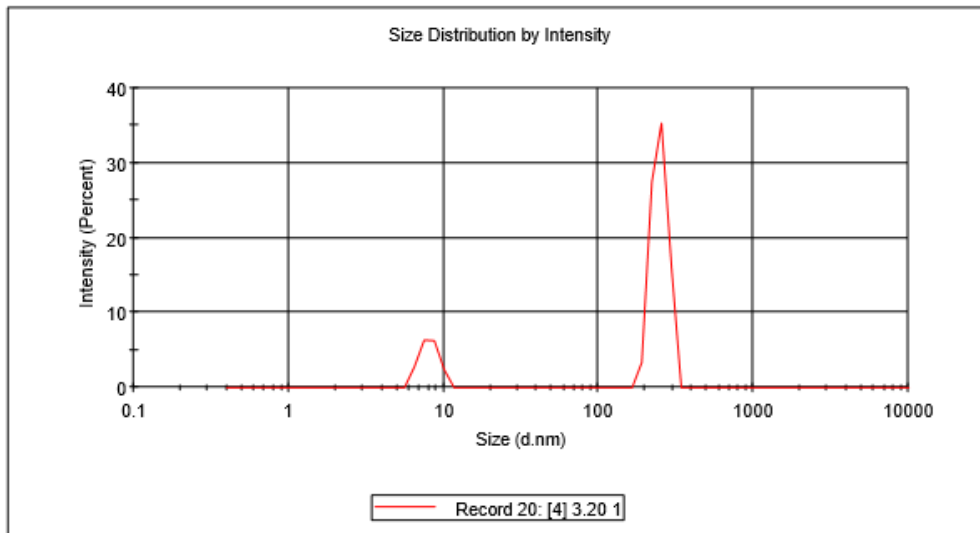
Διάγραμμα 3: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη HCl, pH 2,78



## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 660.8	<b>Peak 1:</b> 248.5	82.0	29.18
<b>Pdl:</b> 0.626	<b>Peak 2:</b> 8.138	18.0	1.101
<b>Intercept:</b> 0.773	<b>Peak 3:</b> 0.000	0.0	0.000

**Result quality :** Refer to quality report

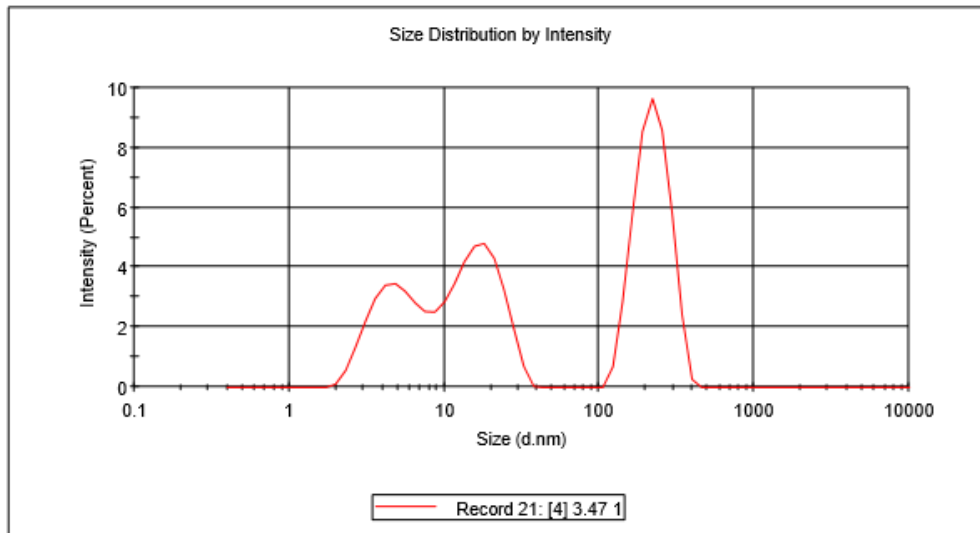


Διάγραμμα 4: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη HCl, pH 3,20

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 326.7	<b>Peak 1:</b> 224.7	43.5	55.41
<b>Pdl:</b> 0.376	<b>Peak 2:</b> 17.03	32.0	5.931
<b>Intercept:</b> 0.409	<b>Peak 3:</b> 5.221	24.5	1.844

**Result quality :** Refer to quality report

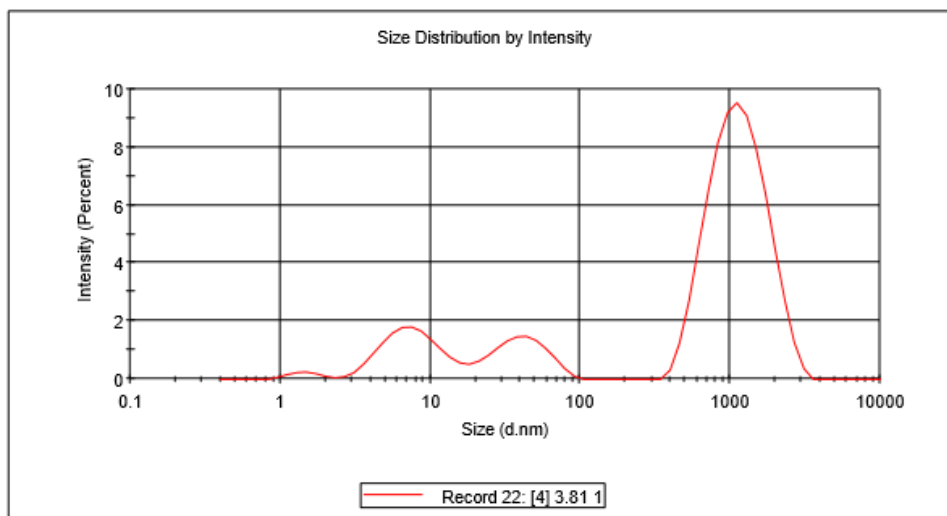


Διάγραμμα 5: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη HCl, pH 3,47

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 105.4	<b>Peak 1:</b> 1203	74.0	512.2
<b>Pdl:</b> 1.000	<b>Peak 2:</b> 8.226	14.1	3.672
<b>Intercept:</b> 0.490	<b>Peak 3:</b> 41.75	10.9	16.14

**Result quality :** Refer to quality report

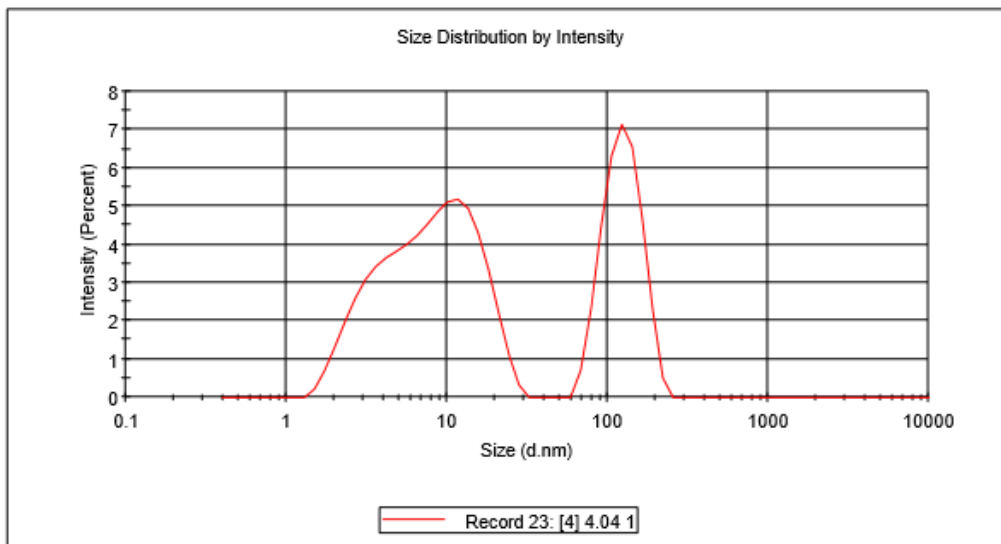


Διάγραμμα 6: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη NaOH, pH 3,81

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 405.8	<b>Peak 1:</b> 9.053	64.9	5.638
<b>Pdl:</b> 0.460	<b>Peak 2:</b> 126.6	35.1	33.09
<b>Intercept:</b> 0.311	<b>Peak 3:</b> 0.000	0.0	0.000

**Result quality :** Refer to quality report

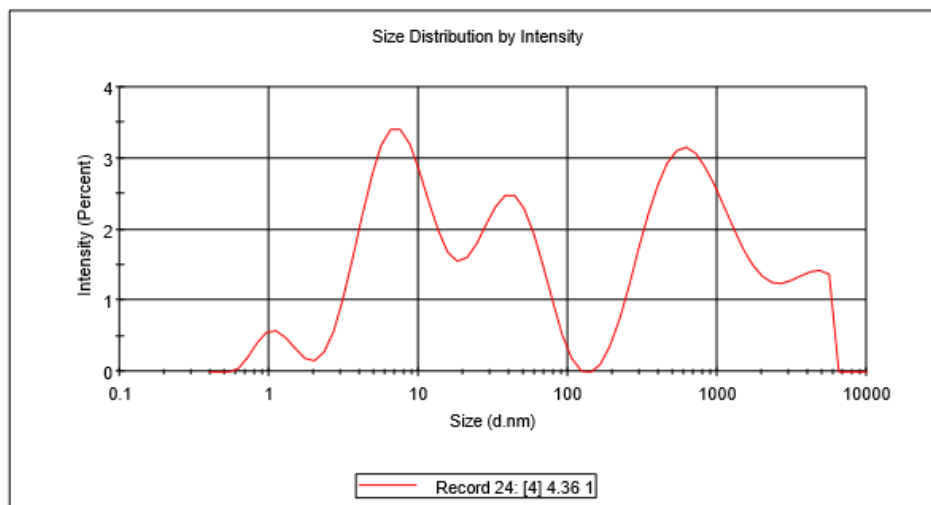


Διάγραμμα 7: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη NaOH, pH 4,04

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 55.66	<b>Peak 1:</b> 892.5	37.0	614.7
<b>Pdl:</b> 0.484	<b>Peak 2:</b> 8.252	31.2	4.086
<b>Intercept:</b> 0.399	<b>Peak 3:</b> 42.42	21.1	19.21

**Result quality :** Refer to quality report

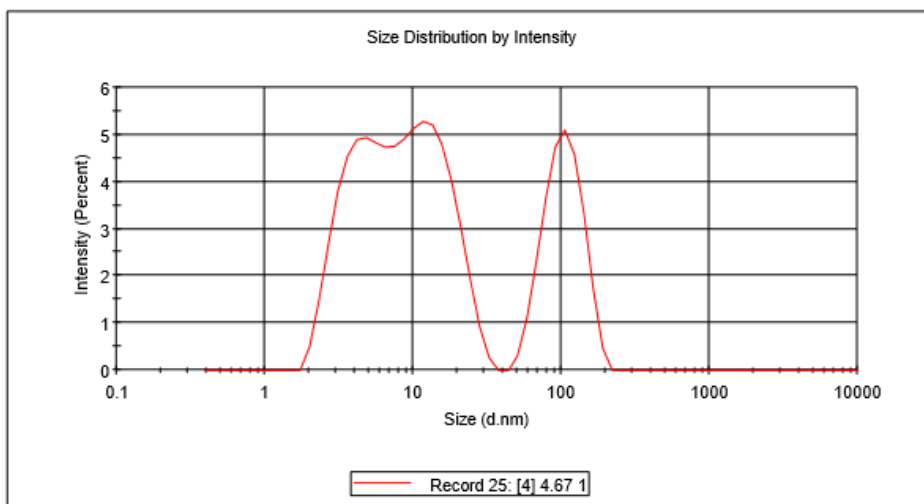


Διάγραμμα 8: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη NaOH, pH 4,36

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 534.0	<b>Peak 1:</b> 13.05	42.9	5.555
<b>Pdl:</b> 0.497	<b>Peak 2:</b> 4.388	31.0	1.308
<b>Intercept:</b> 0.276	<b>Peak 3:</b> 106.1	26.1	30.36

**Result quality :** Refer to quality report

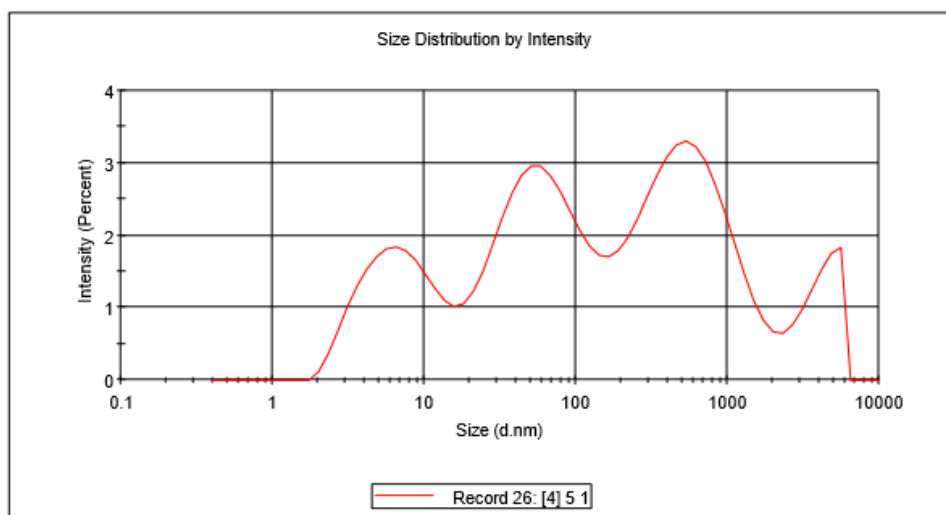


Διάγραμμα 9: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη NaOH, pH 4,67

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 91.17	<b>Peak 1:</b> 647.1	39.3	455.9
<b>Pdl:</b> 0.485	<b>Peak 2:</b> 66.46	34.2	40.14
<b>Intercept:</b> 0.451	<b>Peak 3:</b> 7.298	18.1	3.643

**Result quality :** Refer to quality report



Διάγραμμα 10: Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων του οίνου με προσθήκη NaOH, pH 5

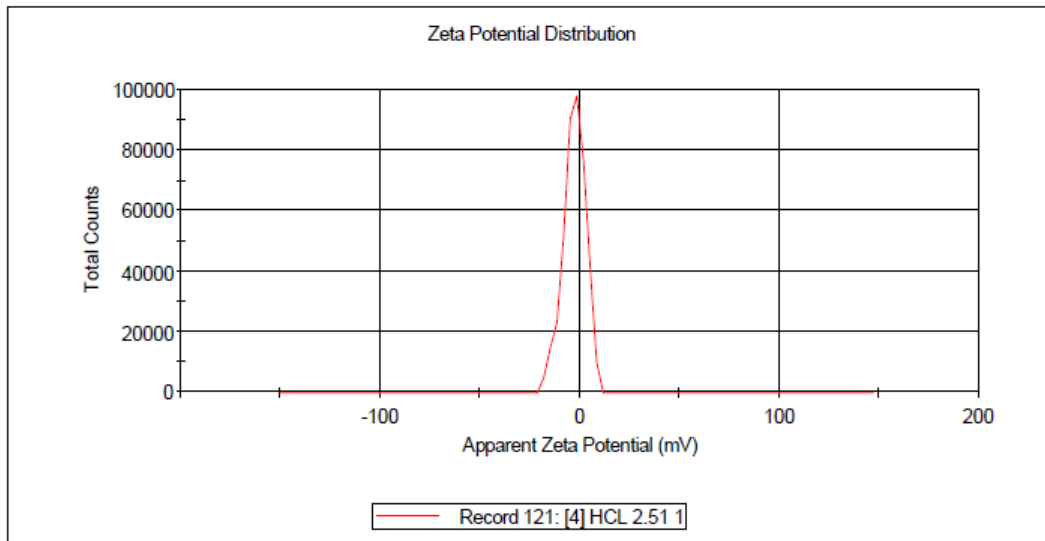
Στα αποτελέσματα για τη μέτρηση του μεγέθους των σωματιδίων του οίνου βλέπουμε ότι σε χαμηλές τιμές pH τα διαγράμματα παρουσιάζουν μονή καμπύλη, πράγμα που σημαίνει ότι υπάρχουν μονοδιασπαρμένα, παρόμοιων μεγεθών σωματίδια μεγάλου μεγέθους, στα 2035 και στα 2635 νανόμετρα (Διαγράμματα 1 και 2), ενώ όσο προχωρούμε στα διαγράμματα βλέπουμε διωνυμικές κατανομές (Διαγράμματα 3 και 4), δηλαδή μικρότερο αριθμό σωματιδίων όπως τα 285 νανόμετρα, μαζί με κατά πολύ μεγαλύτερα σωματίδια, στα 2285 νανόμετρα (Διάγραμμα 3). Οπότε αρχίζουν και σχηματίζονται σωματίδια ακραία διαφορετικών μεγεθών.

Με την προσθήκη βάσης (NaOH) και περνώντας το 3,5 σε pH, βλέπουμε πληθώρα μεγεθών από τα σωματίδια από πολύ μεγάλα, έως πολύ μικρά (Διάγραμμα 6: βλέπουμε κορύφωση μεγεθών στα 1203 νανόμετρα και στα 8,226 νανόμετρα). Το φαινόμενο αυτό το παρατηρούμε και στα διαγράμματα 7, 8 και 9 μέχρι που τέλος στο τελευταίο διάγραμμα (Διάγραμμα 10) βλέπουμε πώς εκεί υπάρχει μεγάλη ποικιλία από διαφορετικών μεγεθών σωματίδια στο χώρο.

## 5.2 Μέτρηση ζ-δυναμικού (ζ-potential and electrophoresis) των σωματιδίων

### Results

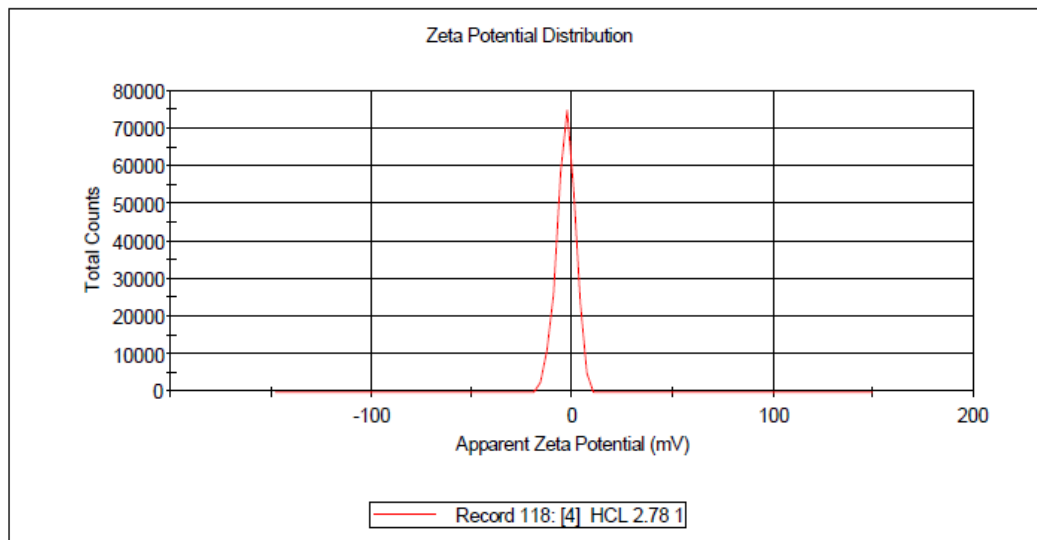
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
<b>Zeta Potential (mV): -2.70</b>	<b>Peak 1: -2.70</b>	100.0	5.51
<b>Zeta Deviation (mV): 5.51</b>	<b>Peak 2: 0.00</b>	0.0	0.00
<b>Conductivity (mS/cm): 3.70</b>	<b>Peak 3: 0.00</b>	0.0	0.00
<b>Result quality : Good</b>			



Διάγραμμα 11: Μέτρηση ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των σωματιδίων του οίνου με προσθήκη HCl, pH 2,51

## Results

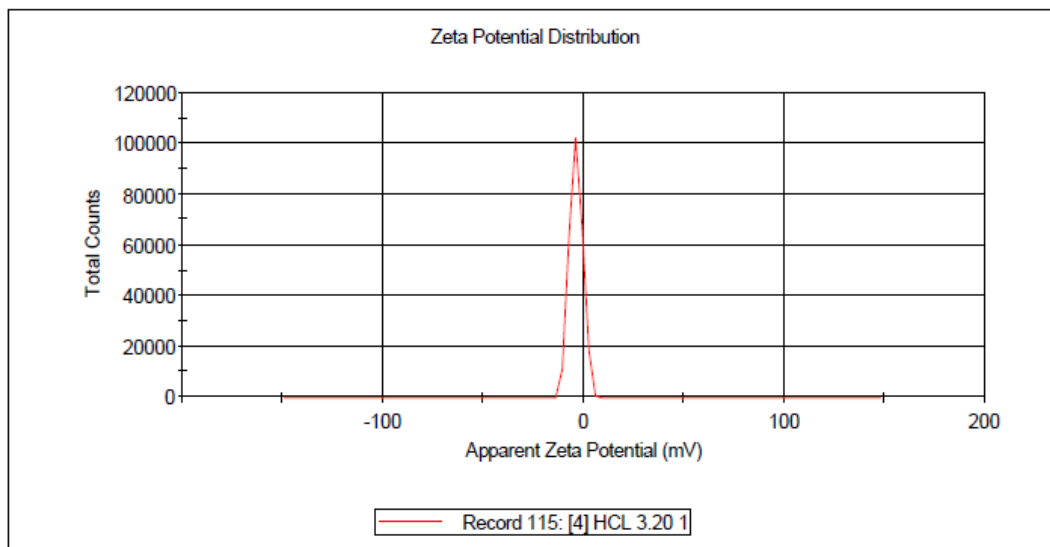
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
<b>Zeta Potential (mV):</b> -3.03	<b>Peak 1:</b> -3.03	100.0	4.58
<b>Zeta Deviation (mV):</b> 4.58	<b>Peak 2:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Conductivity (mS/cm):</b> 3.17	<b>Peak 3:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Result quality :</b> Good			



Διάγραμμα 12: Μέτρηση ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των σωματιδίων του οίνου με προσθήκη HCl, pH 2,78

## Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
<b>Zeta Potential (mV):</b> -3.61	<b>Peak 1:</b> -3.61	100.0	3.24
<b>Zeta Deviation (mV):</b> 3.24	<b>Peak 2:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Conductivity (mS/cm):</b> 2.69	<b>Peak 3:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Result quality : Good</b>			

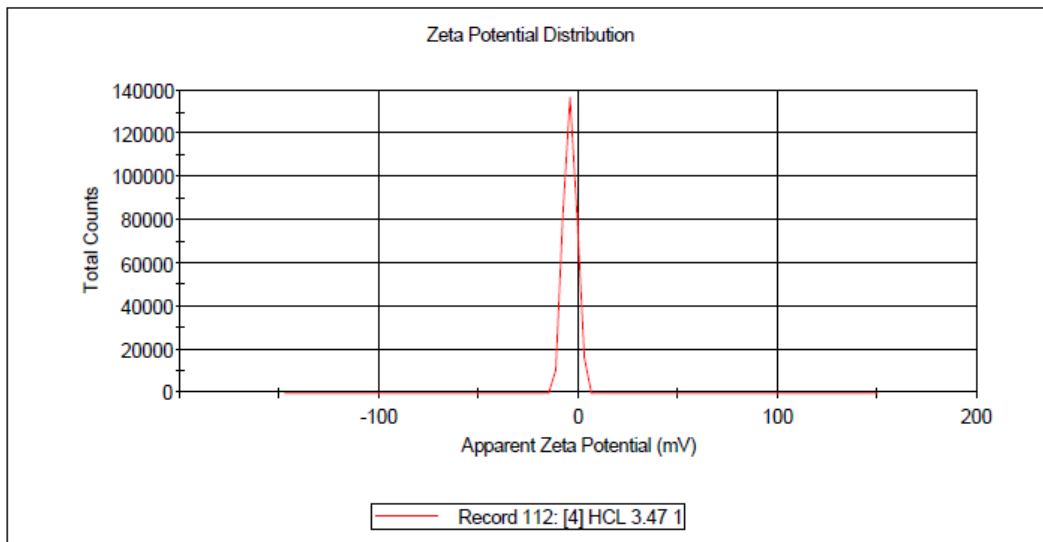


Διάγραμμα 13: Μέτρηση ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των σωματιδίων του οίνου με προσθήκη HCl, pH 3,20



## Results

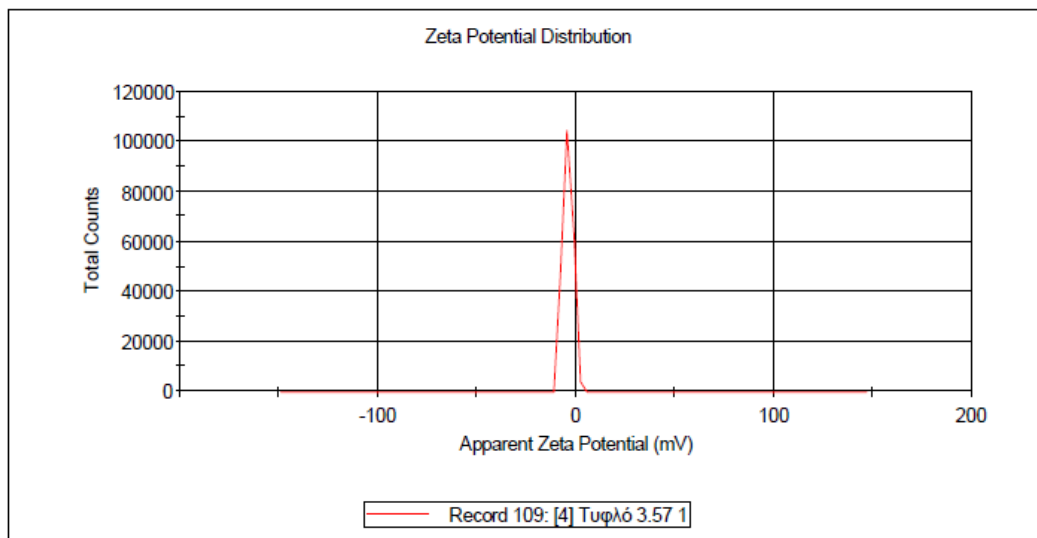
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
<b>Zeta Potential (mV):</b> -3.91	<b>Peak 1:</b> -3.91	100.0	3.26
<b>Zeta Deviation (mV):</b> 3.26	<b>Peak 2:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Conductivity (mS/cm):</b> 2.46	<b>Peak 3:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Result quality : Good</b>			



Διάγραμμα 14: Μέτρηση ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των σωματιδίων του οίνου με προσθήκη HCl, pH 3,47

## Results

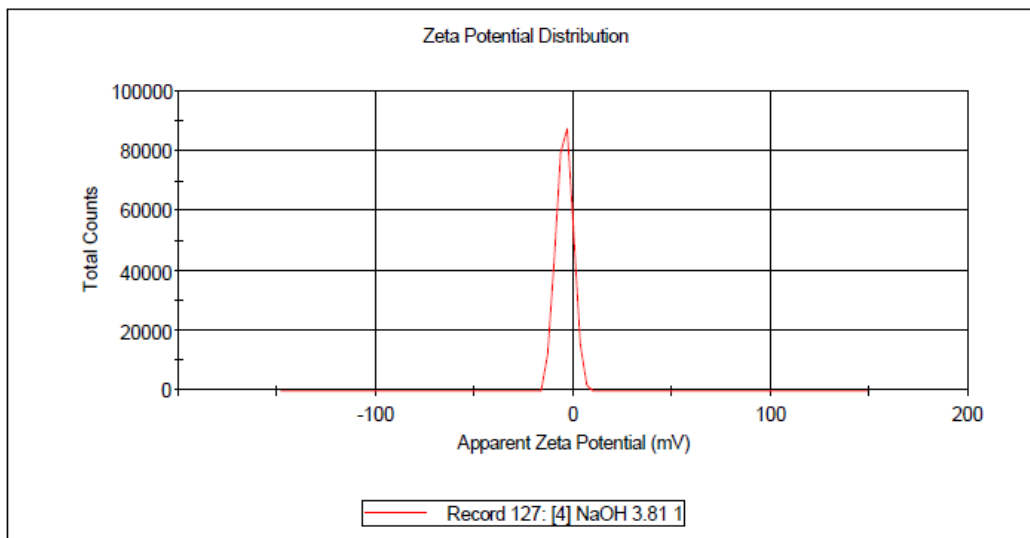
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
<b>Zeta Potential (mV): -3.93</b>	<b>Peak 1: -3.93</b>	100.0	2.53
<b>Zeta Deviation (mV): 2.53</b>	<b>Peak 2: 0.00</b>	0.0	0.00
<b>Conductivity (mS/cm): 2.31</b>	<b>Peak 3: 0.00</b>	0.0	0.00
<b>Result quality : Good</b>			



*Διάγραμμα 15: Μέτρηση ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των σωματιδίων του οίνου χωρίς προσθήκη βάσεως ή οξέος, pH 3,57*

## Results

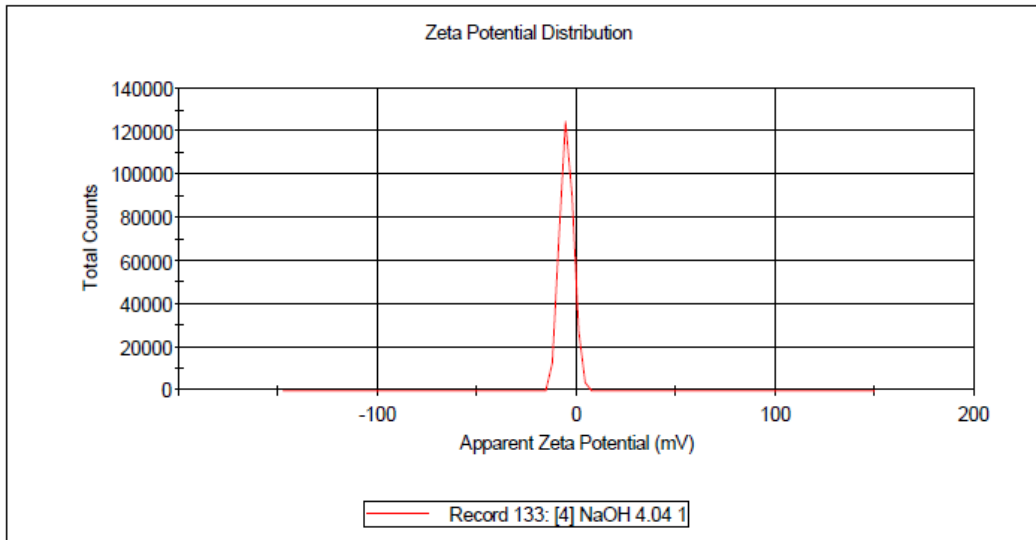
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
<b>Zeta Potential (mV):</b> -4.19	<b>Peak 1:</b> -4.19	100.0	4.10
<b>Zeta Deviation (mV):</b> 4.10	<b>Peak 2:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Conductivity (mS/cm):</b> 2.56	<b>Peak 3:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Result quality : Good</b>			



*Διάγραμμα 16: Μέτρηση ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των σωματιδίων του οίνου με προσθήκη NaOH, pH 3,81*

## Results

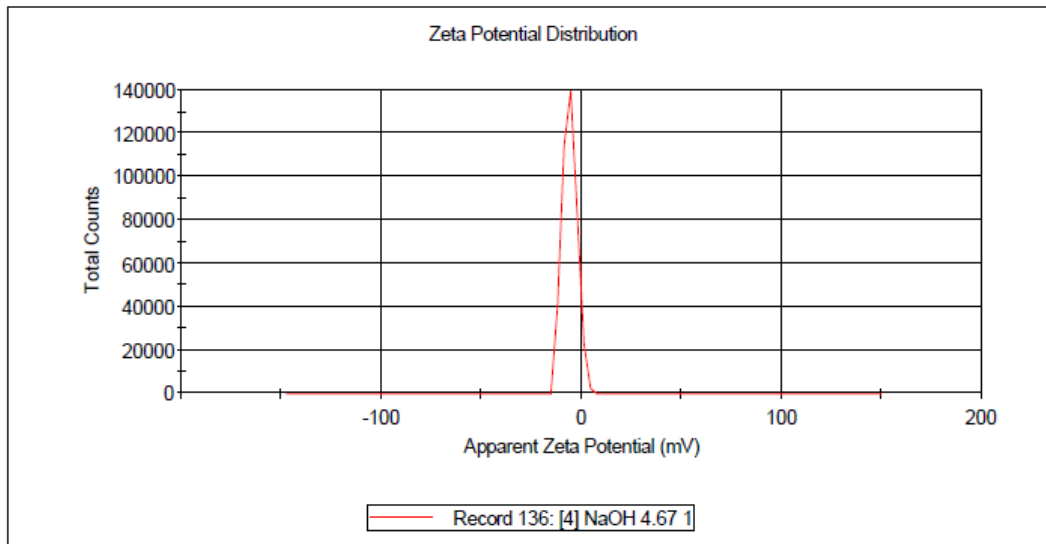
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
<b>Zeta Potential (mV):</b> -4.95	<b>Peak 1:</b> -4.95	100.0	3.38
<b>Zeta Deviation (mV):</b> 3.38	<b>Peak 2:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Conductivity (mS/cm):</b> 3.10	<b>Peak 3:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Result quality : Good</b>			



Διάγραμμα 17: Μέτρηση ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των σωματιδίων του οίνου με προσθήκη NaOH, pH 4,04

**Results**

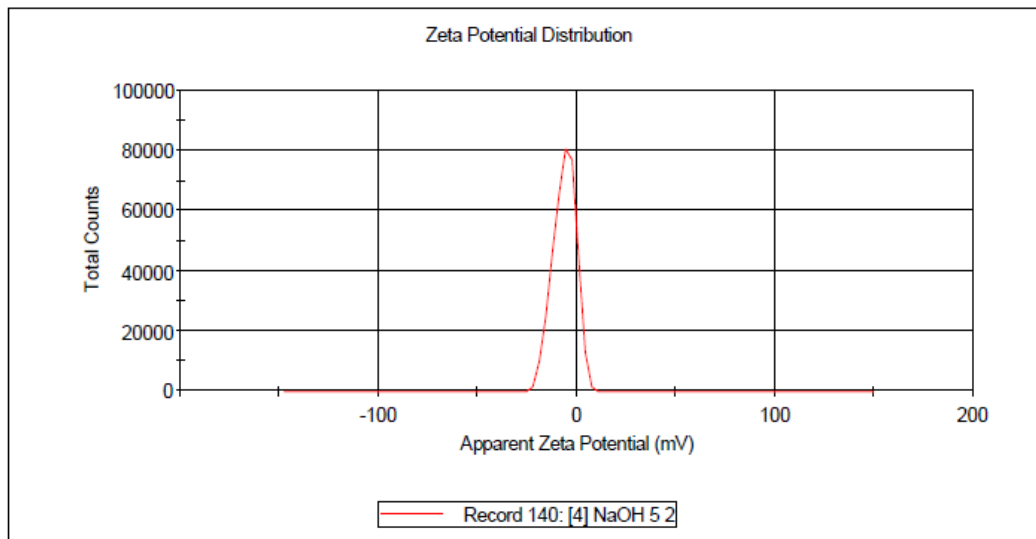
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
<b>Zeta Potential (mV):</b> -5.82	<b>Peak 1:</b> -5.82	100.0	3.55
<b>Zeta Deviation (mV):</b> 3.55	<b>Peak 2:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Conductivity (mS/cm):</b> 3.29	<b>Peak 3:</b> 0.00	0.0	0.00
<b>Result quality : Good</b>			



*Διάγραμμα 18: Μέτρηση ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των σωματιδίων του οίνου με προσθήκη NaOH, pH 4,67*

## Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
<b>Zeta Potential (mV): -6.07</b>	<b>Peak 1: -6.07</b>	100.0	5.63
<b>Zeta Deviation (mV): 5.63</b>	<b>Peak 2: 0.00</b>	0.0	0.00
<b>Conductivity (mS/cm): 4.21</b>	<b>Peak 3: 0.00</b>	0.0	0.00
<b>Result quality : Good</b>			



Διάγραμμα 19: Μέτρηση ηλεκτροφορητικής κινητικότητας των σωματιδίων του οίνου με προσθήκη NaOH, pH 5

Παρατηρώντας τα διαγράμματα των μετρήσεων του ζ-δυναμικού των σωματιδίων στα δείγματα οίνου, βλέπουμε πως οι τιμές του ζ-δυναμικού μεγαλώνουν όσο αυξάνεται και το pH των διαλυμάτων. Η τιμή 3,93 που παρατηρούμε στο διάγραμμα 15, το οποίο είναι μέτρηση του δείγματός μας χωρίς προσθήκη βάσης ή οξέος, είναι μια τιμή μέτριας κινητικότητας των σωματιδίων. Με την προσθήκη οξέος (HCl) βλέπουμε μικρές τιμές ζ-δυναμικού (Διαγράμματα 11 έως 14) ενώ αντίθετα με την προσθήκη βάσης (NaOH) η τιμή της κινητικότητας των σωματιδίων έφτασε στο 6,07 (Διάγραμμα 19).

## Κεφάλαιο 6° Συμπεράσματα

Το μέγεθος κατ' όγκο των δειγμάτων μας δείχνει ότι είναι διαφορετικό από δείγμα σε δείγμα και ελαττώνεται με την αύξηση του pH καθώς από πολύ χαμηλά pH έχουμε μεγαλύτερα σωματίδια. Ειδικότερα, παρατηρούμε λοιπόν από τα διαγράμματα για το μέγεθος των σωματιδίων, ότι σε χαμηλές τιμές pH δημιουργούνται αρκετά μεγάλα σωματίδια και ειδικότερα, οι τιμές 2,78 2,51 και 2,09 (Διαγράμματα 1, 2 και 3) είναι κρίσιμες τιμές για να δημιουργηθούν μεγάλα συσσωματώματα. Σε pH 3,20 και 3,47 (Διαγράμματα 4 και 5) έχουμε τις πιο χαμηλές τιμές σωματιδίων, καθώς όταν ανεβαίνει το pH στο 3,81 έχουμε 1 μικρόμετρο και στις δυο επόμενες τιμές το ίδιο. Διαπιστώνουμε δηλαδή ότι σε pH περίπου 3,7 αρχίζουν οι τιμές και μεγαλώνουν απότομα δημιουργώντας πολλά διαφορετικού μεγέθους σωματίδια από πολύ μεγάλα μέχρι πολύ μικρά. Σε πολύ μικρές τιμές pH όπως το 2,09 που έχουμε μεγάλο αριθμό σωματιδίων, με μία ανάδευση, με μία αλλαγή της θερμοκρασίας του χώρου, του τρόπου συντήρησης (βαρέλια κλπ) μπορεί να δώσει συσσωματώματα που θα καθιζάνουν. Και αυτά είναι μέταλλα, είναι πρωτεϊνικά, γενικά είναι θολώματα που οφείλονται σε σωματίδια.

Καταλήγουμε τελικώς ότι σε pH 3,47 περίπου, του διαγράμματος 5, έχουμε τα πιο ήπια μεγέθη σωματιδίων, καθώς οι τιμές τους είναι αρκετά μικρές και σταθερές συγκριτικά με τις υπόλοιπες μετρήσεις μας.

Στις τιμές pH οίνου που κυκλοφορεί στο εμπόριο (3,2-3,5) δείχνουν να μην αλλάζουν οι τιμές του μεγέθους των σωματιδίων οι οποίες δείχνει να είναι σταθερές και να διατηρούνται σε συγκεκριμένα πλαίσια και δεν επηρεάζονται από το χρόνο και γι' αυτό το λόγο δεν έχουμε και συσσωματώματα, κάτι το οποίο διαπιστώθηκε και απ' αυτό το πείραμα.

Σχετικά με το ζ-δυναμικό βλέπουμε ότι όσο μεγαλώνει το pH, μεγαλώνει και το ζ-δυναμικό προς τα αρνητικά. Αυτό σημαίνει ότι όσο μεγαλώνει το ζ-δυναμικό προς τα αρνητικά, σε χαμηλές τιμές pH είναι πολύ μικρό το ζ-δυναμικό, άρα σωματίδια μπορούν να έρθουν κοντά και να δώσουν αυτά τα μεγάλα μεγέθη, να συσσωματωθούν δηλαδή. Όσο μεγαλώνει το δυναμικό της επιφάνειας στα αρνητικά, απωθούνται τα σωματίδια μακριά κι έχουμε ουσιαστικά μικρότερα μεγέθη.

Συσσωμάτωση παρατηρήθηκε ότι συνέβη στα πιο όξινα διαλύματα, πράγμα που συνδέεται με τη θεωρία που λέει ότι όσο πιο όξινο είναι το διάλυμα τόσο μεγαλύτερα είναι τα σωματίδια που σχηματίζονται γιατί αυτά είναι πιο κοντά μεταξύ τους, κι αυτό φάνηκε και εδώ, που όσο μικρότερη τιμή pH είχαμε τόσο μεγαλύτερα σωματίδια από την αρχή υπήρχαν. Σε χαμηλά pH λοιπόν, δείχνει να επηρεάζεται το ζ-δυναμικό αρκετά και μετά δείχνει να είναι σταθερό, φτάνοντας τις τιμές -3,61, -3,91 και σταθεροποιώντας το στο -3,93 (Διαγράμματα 13, 14 και 15 αντίστοιχα), ενώ ανεβαίνοντας σε pH παρατηρούμε απότομη αύξηση της κινητικότητας των σωματιδίων σε τιμές -4,19 (Διάγραμμα 16) και -5,82 (Διάγραμμα 17).

Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι η ιδανικότερη τιμή pH για τη σταθερότητα του ζ-δυναμικού είναι γύρω στο pH 3,5.

Καταλήγοντας, είδαμε και από τα αποτελέσματα ότι ο οίνος παρουσιάζει ασταθείς φυσικοχημικές μεταβολές σε μεγαλύτερες τιμές pH από 3,5 και κολλοειδή συσσωματώματα σε πιο όξινες τιμές, συνεπώς διαπιστώσαμε ότι τιμές pH κοντά στο 3,5 είναι η ιδανικότερη συνθήκη για την καλύτερη διατήρηση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων του οίνου.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Berne, Bruce J., and Robert Pecora. 1976. *Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics*. Courier Corporation.
- Dengis, Pascale B., and Paul G. Rouxhet. 1997. "Surface Properties of Top- and Bottom-Fermenting Yeast." *Yeast* 13 (10):931–43.
- Howard, Paul. 2009. "Hugh Johnson: Hugh Johnson's Wine Companion. 6th Edition, Revised and Updated by Stephen Brook. Mitchell Beazley, London, 2009. 672 Pp., ISBN 978-1845334574, \$60.00 (hardback)." *Journal of Wine Economics* 4 (02):252–53.
- Jöbstl, Elisabeth, John O'Connell, J. Patrick A. Fairclough, and Mike P. Williamson. 2004. "Molecular Model for Astringency Produced by Polyphenol/Protein Interactions." *Biomacromolecules* 5 (3):942–49.
- Pellerin, Patrice, Thierry Doco, Stéphane Vida, Pascale Williams, Jean-Marc Brillouet, and Malcolm A. O'Neill. 1996. "Structural Characterization of Red Wine Rhamnogalacturonan II." *Carbohydrate Research* 290 (2):183–97.
- Saulnier, L., J. M. Brillouet, M. Moutounet, C. Hervé du Penhoat, and V. Michon. 1992. "New Investigations of the Structure of Grape Arabinogalactan-Protein." *Carbohydrate Research* 224 (February):219–35.
- Waters, Elizabeth J., Patrice Pellerin, and Jean-Marc Brillouet. 1994. "A Saccharomyces Mannoprotein That Protects Wine from Protein Haze." *Carbohydrate Polymers* 23 (3):185–91.
- Cheynier, V., Moutounet, M., & Sarni-Manchado, P. (1998) Les composés phénoliques. In C. Flanzy, (Enologie: fondements scientifiques et technologiques (pp. 123-162). Paris: Lavoisier TEC & DOC
- Pellerin, P., & Cabanis, J. -C. (1998). Les glucides et l'oenologie. In C. Flanzy, Fondements scientifiques et technologiques (pp. 41-92). Paris: Lavoisier TEC & DOC.
- Brillouet, J. M., Bosso, C., & Moutounet, M. (1990). Isolation, purification, and characterization of an arabinogalactan from a red wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41(1), 29-36.
- Doco, T., & Brillouet, J. M. (1993). Isolation and characterisation of a rhamnogalacturonan II from red wine. *Carbohydrate Research*, 243(2), 333-343.
- Villetaz, J. C., & Amad, R. (1981). Untersuchung des I slichen Natural-polysaccharid fraktion von Traubensaft und Wein. *Lebensm-Wiss und Technology*, 14, 176-181
- A. Ζουμπούλης, Θ. Καραπάντσιος, Κ. Μάτης, Π. Μαύρος, Στοιχεία Φυσικών Διεργασιών, Τζιόλα (2013)
- Αρχοντούλα Χατζηλαζάρου, 2014. Αρχοντούλα Χατζηλαζάρου. «Φυτικοχημεία (Ε). Ενότητα 8: Παρασκευή και ιδιότητες κολλοειδών διαλυμάτων». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2014
- Σαμόλης Παναγιώτης 2005 - ημερομηνία διάθεσης 2007 - Φασματοσκοπική μελέτη μιας πρωτεΐνης του *Chlorobium Teridum* με σκέδαση ακτίνων laser) Σχολή/Τμήμα--Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών--Τμήμα Χημείας--Μεταπτυχιακές εργασίες ειδίκευσης
- Τσακίρης Αρ. Ν., 1998. Οινολογία (Από το σταφύλι στο οίνο), (σελ. 169-211)

Τσέτουρας, Π Λ 2003, Οινολογία :η επιστήμη του οίνου στην πράξη, Σταμούλης, Αθήνα  
(663.2 Τσε) (σελ. 121-142, 155)  
<http://www.foodbites.eu/j15/el/trofima/diergasies/1290-wine-processing>  
[www.malvern.co.uk](http://www.malvern.co.uk) , «Mastersizer 2000», Malvern instruments, 2003, Malvern, U.K.