

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**«ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ
ΜΕΘΑΝΟΛΗΣ ΣΕ ΤΣΙΠΟΥΡΑ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΑΦΥΛΙ
ΖΑΜΠΕΛΑ»**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΤΗΛΕΜΑΧΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

A.M. : 2010152

Επιβλέπον καθηγητής: Καπόλος Ιωάννης



ΚΑΛΑΜΑΤΑ

2017

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**«ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ
ΜΕΘΑΝΟΛΗΣ ΣΕ ΤΣΙΠΟΥΡΑ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΑΦΥΛΙ
ΖΑΜΠΕΛΑ»**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΤΗΛΕΜΑΧΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ
Α.Μ. : 2010152

Εξεταστική Επιτροπή: Σπηλιόπουλος Ιωακείμ,
Κουτρομπής Φώτης

ΚΑΛΑΜΑΤΑ
2017

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Ιωάννη Καπόλο, για την αμέριστη βοήθεια που μου προσέφερε καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας εργασίας, την καθοδήγηση και των άνευ εκπτώσεων συμβουλών, καθώς ακόμα και για την κατανόηση και την ψυχολογική υποστήριξη που χρειάστηκα για να συνεχίσω και να ολοκληρώσω την εργασία αυτή.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, τους φίλους μου και τους συμφοιτητές μου που πίστεψαν σε εμένα από την πρώτη στιγμή και με τον τρόπο τους ο καθένας με βοήθησε να παραμείνω στην σχολή και, αν και καθυστερημένα, να ολοκληρώσω τις σπουδές μου, στηρίζοντάς με σε κάθε δυσκολία που αντιμετώπισα.

Σας ευχαριστώ όλους!

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<u>ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ</u>	7
<u>ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ</u>	7
<u>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</u>	8
<u>ABSTRACT</u>	9
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ</u>	10
<u>1.1 Περιγραφή του σταφυλιού</u>	12
<u>1.1.1 Βόστρυχος</u>	12
<u>1.1.2 Ράγα</u>	13
<u>1.1.2.1 Φλοιός</u>	14
<u>1.1.2.2 Σάρκα</u>	15
<u>1.1.2.3 Γίγαρτα</u>	17
<u>1.2 Τρυγητός</u>	19
<u>1.2.1 Πορεία ωρίμανσης</u>	20
<u>1.3 Ζαμπέλα</u>	23
<u>1.3.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά</u>	23
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ - ΑΠΟΣΤΑΞΗ</u>	25
<u>2.1 Γενικά</u>	25
<u>2.2 Επεξεργασία σταφυλιών</u>	27
<u>2.2.1 Εκθλιψη των ραγών</u>	27
<u>2.2.2 Αποβοστρύχωση</u>	29
<u>2.2.3 Συμπίεση σταφυλιών</u>	30
<u>2.2.3.1 Πιεστήρια μεμβράνης</u>	30
<u>2.2.3.2 Οριζόντια πιεστήρια με τύμπανα</u>	31
<u>2.2.3.3 Συνεχή πιεστήρια</u>	31
<u>2.2.3.4 Θείωση σταφυλομάζας</u>	32
<u>2.3 Αλκοολική ζύμωση</u>	33
<u>2.3.1 Μέτρηση της θερμοκρασίας</u>	33
<u>2.3.2 Μέτρηση της πυκνότητας</u>	34
<u>2.3.3 Απομάκρυνση στεμφύλων</u>	34
<u>2.3.4 Τερματισμός ζύμωσης</u>	36
<u>2.4 Διαφορές βιομηχανικής και παραδοσιακής απόσταξης</u>	37
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ</u>	41
<u>3.1 Εισαγωγή</u>	41
<u>3.2 Διαχωρισμός χρωματογραφικών τεχνικών</u>	41

<u>3.2.1 Βάσει του μηχανισμού διαχωρισμού</u>	41
<u>3.2.2 Βάσει του είδους της κινητής φάσης</u>	42
<u>3.2.3 Βάσει της διάταξης της στατικής φάσης</u>	42
<u>3.2.4 Άλλοι διαχωρισμοί των χρωματογραφικών τεχνικών</u>	43
<u>3.3 Αέρια χρωματογραφία</u>	45
<u>3.3.1 Είδη αέριας χρωματογραφίας</u>	46
<u>3.3.2 Ανάλυση δειγμάτων</u>	47
<u>3.3.2.1 Υγρά δείγματα</u>	47
<u>3.3.2.2 Αέρια δείγματα</u>	49
<u>3.3.2.3 Συσκευές συγκέντρωσης για την έγχυση δειγμάτων</u>	49
<u>3.4 Οργανολογία αέριου χρωματογράφου</u>	50
<u>3.4.1 Φέρον αέριο</u>	50
<u>3.4.2 Στήλη</u>	50
<u>3.4.2.1 Τριχοειδής στήλη</u>	51
<u>3.4.2.2 Στήλες πλήρωσης</u>	52
<u>3.4.2.3 Μικροστήλες υλικού πλήρωσης</u>	53
<u>3.4.3 Υγρή στατική φάση</u>	53
<u>3.4.4 Φούρνος</u>	53
<u>3.4.5 Μήκος και διάμετρος στήλης</u>	53
<u>3.4.6 Ποσότητα υγρής στατικής φάσης</u>	54
<u>3.4.7 Πορώδη πολυμερή</u>	54
<u>3.4.8 Συστήματα ανίχνευσης</u>	55
<u>3.4.8.1 Ανιχνευτές ιοντισμού φλόγας (F.I.D.)</u>	55
<u>3.4.8.2 Ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (TCD)</u>	56
<u>3.4.8.3 Ανιχνευτές σύλληψης ηλεκτρονίου (E.C.D.)</u>	57
<u>3.4.8.4 Ανιχνευτής πλάσματος (P.D.)</u>	57
<u>3.4.8.5 Ανιχνευτής χημειοφωταύγειας θείου (S.C.D.)</u>	57
<u>3.4.8.6 Φωτομετρικός ανιχνευτής φλόγας (F.P.D.)</u>	57
<u>3.4.8.7 Θερμοϊοντικοί ανιχνευτές (T.I.D.)</u>	58
<u>3.4.8.8 Συνδυασμός ανιχνευτών στην αέρια χρωματογραφία</u>	58
<u>3.4.8.9 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της αέριας χρωματογραφίας</u>	58
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΜΕΘΑΝΟΛΗ</u>	60
<u>4.1 Γενικά</u>	60
<u>4.2 Υγεία</u>	62
<u>4.3 Νομοθεσία</u>	64

<u>4.4 Άλλες χρήσεις της μεθανόλης</u>	67
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΜΕΘΑΝΟΛΗΣ</u> ..	68
<u>5.1 Πρότυπη ευθεία</u>	68
<u>5.2 Πειραματική Πορεία</u>	70
<u>5.3 Μέθοδος</u>	79
<u>5.4 Αποτελέσματα</u>	80
<u>5.5 Συμπεράσματα</u>	82
<u>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>	84

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1 Βότρυς	12
Εικόνα 1.2 Διατομή ράγας	13
Εικόνα 2.1 Χειροκίνητος σπαστήρας	29
Εικόνα 2.2 Μηχανικός σπαστήρας – εκραγιστήρας	30
Εικόνα 2.3 Σακχαροδιαθλασίμετρο τσέπης και πυκνόμετρο με ενσωματωμένο θερμομέτρο 34	
Εικόνα 2.4 Απεικόνιση καζανιού με τόξο	38
Εικόνα 2.5 Χάλκινο καζάνι με καπάκι τύπου «λουλά» και χάλκινο μανίκι	40
Εικόνα 3.1 Η διάταξη ενός αέριου χρωματογράφου	46
Εικόνα 3.2 Εξωτερική μορφή στήλης και διατομές τριών ειδών τριχοειδούς στήλης	52
Εικόνα 4.1 Συντακτικός τύπος μεθανόλης	61
Εικόνα 5.1 Κορυφή μεθανόλης	71
Εικόνα 5.2 Κορυφή αιθανόλης	72
Εικόνα 5.3 Κορυφή ακετονιτριλίου	73
Εικόνα 5.4 Κορυφές μεθανόλης, αιθανόλης και ακετονιτριλίου σε πρότυπο διάλυμα	76
Εικόνα 5.5 Κορυφές μεθανόλης, αιθανόλης και ακετονιτριλίου σε δείγμα τσίπουρου	77
Εικόνα 5.4 Ευθεία αναφοράς	78
Εικόνα 5.5 Η αντίστροφη γραφική παράσταση της πρότυπης ευθείας	78

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 3.1 Ταξινόμηση των βασικών τεχνικών χρωματογραφίας	44
Πίνακας 5.1 Αποτελέσματα ανάλυσης των άγνωστων σε μεθανόλη δειγμάτων	81

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η ανάπτυξη μίας απλής και σχετικά γρήγορης μεθόδου, που θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της μεθανόλης σε αλκοολούχα ποτά.. Είναι πολύ σημαντικό και αναγκαίο να υπάρχουν τέτοιου είδους μέθοδοι με στόχο τον έλεγχο των αλκοολούχων ποτών και την πρόληψη από κρούσματα δηλητηρίασης από την ουσία αυτή, καθώς ενώ είναι τοξική για τον άνθρωπο, χρησιμοποιείται παράνομα στην παραγωγή αλκοολούχων ποτών με κίνδυνο ένα πλήθος αρνητικών και επιβλαβών αποτελεσμάτων για την υγεία του καταναλωτή. Η ζαμπέλα είναι ποικιλία σταφυλιών η οποία χαρακτηρίζεται από μεγάλη αντοχή στα καιρικά φαινόμενα και ιδιαίτερα στο κρύο, καθώς επίσης και απέναντι στις συνηθέστερες ασθένειες της αμπέλου. Η αντοχή αυτή δίνει τη δυνατότητα βιολογικής καλλιέργειας της ζαμπέλας χωρίς τη χρήση φυτοφαρμάκων. Στην Ελλάδα η παρασκευή τσίπουρου από σταφύλια ζαμπέλας απαγορεύεται καθώς θεωρείται πως παράγεται σημαντική ποσότητα μεθανόλης κατά την απόσταξη. Με την παρούσα εργασία μπορεί να διερευνηθεί η επιστημονική ορθότητα της απαγόρευσης. Τα δείγματα τσίπουρου που ελήφθησαν ήταν από παραγωγούς των Αθαμανικών ορέων (Τζουμέρκα), οι οποίοι χρησιμοποιούν ως πρώτη ύλη για την παραγωγή τσίπουρου, τη ζαμπέλα. Με τη χρήση της μεθόδου που αναπτύχθηκε στον αέριο χρωματογράφο, αναλύθηκαν τα δείγματα, καθώς επίσης έγινε και σύγκριση με άλλα δείγματα οينوπνευματώδων ποτών (τσίπουρο από άλλες περιοχές, τσικουδιά Κρήτης, ζηβανία Κύπρου). Βάσει των αποτελεσμάτων τα δείγματα τσίπουρου ζαμπέλας περιέχαν από 219,5 μέχρι 277 gr MeOH ανά 100L. Το δείγμα ζηβανίας περιέχει 92,12 gr MeOH ανά 100L. Τα δείγματα τσικουδιάς από 275 έως 345,9 gr MeOH ανά 100L, ενώ τα υπόλοιπα δείγματα τσίπουρων κυμαίνονται μεταξύ 215,3 και 250,4 gr MeOH ανά 100L. Βάσει του πειράματος μπορούμε να συμπεράνουμε ότι κανένα δείγματα τσίπουρου από ζαμπέλα δεν περιέχει μεθανόλη ανώτερη της οριζόμενης από την Ευρωπαϊκή νομοθεσία (μέγιστη περιεκτικότητα σε μεθανόλη 1000 γραμμάρια ανά εκατόλιτρο αλκοόλης 100% vol). Ως εκ τούτου η απαγόρευση παραγωγής τσίπουρου ενδεχομένως θα έπρεπε να επανεξεταστεί.

ABSTRACT

The purpose of the experiment is to establish a simple and relatively quick method in order to detect and quantitate methanol -which is by-product of distillation- in alcoholic beverages. Such a method bears great significance in order to control alcoholic beverages and to prevent outbreaks of poisoning by methanol which is used illegally in the production of alcoholic drinks albeit toxic to humans. Risking therefore, a number of negative and harmful effects for the health of the consumer. Zambella is a variety of grapes characterized by high resistance to weather conditions, especially cold, as well as to the most common grape diseases. Zambella's resistance enables the biological cultivation of the grapes without the use of pesticides. In Greece, the production of tsipouro from zambella grapes is forbidden as it is thought to produce harmful amounts of methanol. Using this experiment we can investigate the scientific correctness of the ban. The samples of tsipouro were obtained from producers of the Athamanian Mountains (Tzoumerka), who use zambella grapes as raw material to produce it. Using the method we developed in the gas chromatographer, the samples were analyzed, and also compared with other samples of alcoholic beverages (tsipouro from other regions, tsikoudia from Crete and zivania from Cyprus). On the basis of the results, the samples of tsipouro from zambella contain from 219.5 to 277 gr of MeOH per 100L. The sample of zivania contains 92.12 gr of MeOH per 100L. The sample of tsikoudia contains from 275 to 345.9 gr of MeOH per 100L, while the other samples of tsipouro range between 215.3 and 250.4 gr of MeOH per 100L. Based on the experiment, we can conclude that no tsipouro specimens from zambella contain more than the methanol specified by European legislation (maximum methanol content 1000 grams per hecatolitre of alcohol 100% vol). Therefore, its ban may have to be re-examined.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ

Η διαφοροποίηση των αλκοολούχων ποτών που παράγονται με απόσταξη, γίνεται αφενός με βάση τον τρόπο και τον τόπο παραγωγής τους, τα οποία επηρεάζουν κυρίως την ονομασία του προϊόντος, αφετέρου με βάση την πρώτη ύλη η οποία χρησιμοποιείται και η οποία τους προσδίδει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που το κάνουν ξεχωριστό. Για παράδειγμα, ενώ έχουν παρόμοιο τρόπο παραγωγής, το ουίσκι, η βότκα, η τεκίλα και το ρούμι διαφοροποιούνται, κυρίως, λόγω της πρώτης ύλης. Η πρώτη ύλη για την παραγωγή ουίσκι είναι κυρίως το κριθάρι, αλλά χρησιμοποιούνται και η σίκαλη το σιτάρι και το καλαμπόκι. Για τη βότκα οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται είναι, όπως και στο ουίσκι, κάποια σιτηρά (σιτάρι, κριθάρι και σίκαλη), αλλά και η πατάτα. Μία βασική διαφορά των δύο αυτών ποτών, πέραν της μικρής διαφοράς στη χρήση των πρώτων υλών αλλά και του τύπου παραγωγής, είναι ότι βάσει νομοθεσίας το ουίσκι πρέπει να υποστεί ωρίμανση και μάλιστα τουλάχιστον τριετής σε δρύινα βαρέλια. Από αυτή τη διαδικασία παίρνει αρκετά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως το χαρακτηριστικό του χρώμα, καθώς όλα τα αποστάγματα είναι διάφανα. Από αυτό εύκολα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι στη διαδικασία παραγωγής βότκας δεν υπάρχει το στάδιο της ωρίμανσης. Για την παραγωγή τεκίλας χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη αποκλειστικά η μπλε αγαύη, ένα συγγενές φυτό με τον ελληνικό αθάνατο. Η λευκή με την κίτρινη τεκίλα διαφέρουν μόνο στο στάδιο της ωρίμανσης. Άλλο ένα παράδειγμα αλκοολούχου ποτού απόσταξης, με διαφορετική από τα άλλα αποστάγματα πρώτη ύλη, είναι το ρούμι που παράγεται από ζαχαροκάλαμο. Και σε αυτό το ποτό είναι εμφανής η διαφορά στα ωριμασμένα ή μη, καθώς παράγεται είτε με απευθείας εμφιάλωση μετά το στάδιο της απόσταξης (και αραίωσης), (λευκό ρούμι), είτε έχοντας προηγηθεί ωρίμανση σε δρύινα βαρέλια (χρυσό ή σκούρο μελί ρούμι, ανάλογα με τα χρόνια παραμονής στα βαρέλια). Βέβαια για να πάρει μία από τις παραπάνω ονομασίες ένα ποτό, δεν αρκούν μόνο αυτά. Απαιτούνται αυστηρά κριτήρια στην επιλογή των πρώτων υλών και στην τήρηση συγκεκριμένων διαδικασιών κατά την παραγωγή, καθώς επίσης απαιτείται η παραγωγή κάποιων προϊόντων να πραγματοποιείται εντός συγκεκριμένων γεωγραφικών ορίων.

Στην Ελλάδα ως κύρια πρώτη ύλη για την παραγωγή αποσταγμάτων είναι το σταφύλι. Η ποικιλία διαφέρει ανάλογα με τον τόπο παραγωγής του ποτού. Τα ποτά που παράγονται στην Ελλάδα με απόσταξη κατά παράδοση είναι το ούζο και το τσίπουρο/τσικουδιά. Το πρώτο, αρχικά ήταν και αυτό τσίπουρο, δηλαδή απόσταγμα

στεμφύλων σταφυλής, με τη διαφορά ότι στη δεύτερη απόσταξη γινόταν προσθήκη αρωματικών ουσιών με κύρια και βασική ουσία το γλυκάνισο. Αυτό λέγεται ότι το έκαναν για να μην γίνεται αντιληπτό το κακής ποιότητας τσίπουρο όταν δεν είχε γίνει σωστά η απόσταξη ή δεν ήταν καλής ποιότητας η πρώτη ύλη, με αποτέλεσμα να έχει όχι και τόσο αποδεκτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, κυρίως γεύση και μυρωδιά. Πλέον το ούζο, καθώς η νομοθεσία δεν επιβάλλει να έχει ως πρώτη ύλη το σταφύλι, παράγεται με πρώτη ύλη τη μελάσα, που παράγεται από ζαχαροκάλαμο. Το τσίπουρο/τσικουδιά βάσει νομοθεσίας είναι απόσταγμα στεμφύλων σταφυλής και πρέπει να προέρχονται από οινοποίηση οινοποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου που καλλιεργούνται αποκλειστικά εντός της Ελλάδος. Επιτρέπεται η προσθήκη αρωματικών φυτών και σπόρων κατά την απόσταξη ή την επαναπόσταξη αυτού (στη Μακεδονία και τη Θεσσαλία συνήθως προσθέτουν γλυκάνισο). Επίσης επιτρέπεται η παλαιώση του σε δρύινα βαρέλια χωρητικότητας έως και χιλίων λίτρων (1000 L), με ελάχιστο χρόνο παραμονής σε αυτά για έξι μήνες. Η διαφοροποίηση της ονομασίας του προϊόντος σε τσίπουρο ή τσικουδιά, έγκειται στον τόπο παραγωγής του ποτού αυτού. Ως τσικουδιά αναφέρεται όταν παράγεται στην Κρήτη, αλλά και σε κάποια νησιά του Αιγαίου (Κυκλάδες και Δωδεκάνησα), ενώ ως τσίπουρο αναφέρεται όταν παράγεται στην υπόλοιπη Ελλάδα. Δεν επιτρέπεται η χρήση άλλης ονομασίας όπως Ρακή ή Ρακί, αν και χρησιμοποιείται ευρέως, καθώς χρησιμοποιείται για τον χαρακτηρισμό παρόμοιου αποστάγματος που παράγεται στην Τουρκία. Επίσης άλλες γνωστές ονομασίες που χρησιμοποιούνται σε γειτονικές χώρες για την περιγραφή αποσταγμάτων στεμφύλων σταφυλής είναι η ζιβανία στην Κύπρο, η γκράπα στην Ιταλία, το ορούχο στην Ισπανία, το ρακί (ή η ρακή) στην Τουρκία και η ρακία στη Βουλγαρία.

1.1 Περιγραφή του σταφυλιού

Το σταφύλι, ως πρώτη ύλη, ασκεί μεγάλη επίδραση στη γεύση, το άρωμα και γενικά την ποιότητα των προϊόντων που προκύπτουν από τις διάφορες διεργασίες αυτού (κρασί, τσίπουρο, πετιμέζι κλπ.). Για την καλύτερη κατανόηση της σχέσης πρώτης ύλης – τελικού προϊόντος, η οποία εξαρτάται τόσο από την ποιότητα όσο και από τον τρόπο μεταχείρισης της πρώτης ύλης, θα πρέπει να γνωρίζουμε καλά την ανατομία και τα συστατικά της σταφυλής, καθώς και τους ορθούς τρόπους μεταχείρισής του.

Το τσαμπί (βότρυς) του σταφυλιού, χωρίζεται σε δύο κύρια μέρη:

- Το ξυλώδες μέρος του, που ονομάζεται βόστρυχος, τσαμπί, τσάμπουρο, ή και τσίπουρο (παλαιότερα).
- Το εδώδιμο μέρος του, που ονομάζεται ράγα, ή ρόγα.

Το ποσοστό του καθενός, από τα δύο αυτά μέρη του σταφυλιού, διαφέρει κάθε φορά ανάλογα με την ποικιλία της αμπέλου, τις κλιματικές συνθήκες, τη στιγμή της συγκομιδής, το έδαφος και το πότισμα, αλλά και οι τυχόν ασθένειες που μπορεί να προσβάλλουν το φυτό.



Εικόνα 1.1 Βότρυς

Η σύσταση των δύο αυτών μερών του σταφυλιού έχει μεγάλη διαφορά και κατ' επέκταση επηρεάζει σημαντικά τα συστατικά και την ποιότητα, δηλαδή τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Η σύστασή τους, λοιπόν, έχει ως εξής:

1.1.1 Βόστρυχος

Ο βόστρυχος υπάρχει στο σταφύλι σε αναλογία που κατά μέσο όρο κυμαίνεται σε 3% με 7% βάρος κατ' όγκο (w/v) και 30% όγκο κατ' όγκο (v/v). Η σύστασή του μοιάζει με αυτή του φύλλου. Είναι φτωχή σε σάκχαρα με περιεκτικότητα που δεν ξεπερνάει το 1% κατά βάρος, και με σημαντική περιεκτικότητα σε οξέα, εξουδετερωμένα λόγω της μεγάλης ποσότητας ανόργανων ιόντων. Σε πολύ μεγάλο ποσοστό αποτελείται από νερό, που σε πρώτη φάση μπορεί να φτάσει και το 90%, αυτού, κατά βάρος. Σε δεύτερη φάση και κατά την

ωρίμανση του βότρυ, ανάλογα με το βαθμό ξυλοποίησης των ιστών του φυτού, ή της ξήρανσής του, το ποσοστό του νερού μειώνεται σε 65 με 75% κατά βάρος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ποσοστιαία αύξηση των στερεών ουσιών του βοστρύχου, που από 10% αρχικά, μπορεί να φτάσει έως και 25 με 30% κατά βάρος. Σπάνια, μπορεί ακόμα και να το ξεπεράσει. Το μεγαλύτερο μέρος των στερεών του βοστρύχου αποτελούνται κυρίως από ξυλώδεις ουσίες. Το υπόλοιπο μέρος αυτού, αποτελείται σε ποσοστό κατά βάρος, από:

- Ταννίνες 2-4 %
- Ανόργανα συστατικά 2-3 %
- Οργανικά οξέα 1-2 %
- Αζωτούχες ενώσεις 1-2 %
- Ρητίνες 1 %
- Σάκχαρα 1 %

Από τα παραπάνω, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η σύσταση των βοστρύχων παίζει σημαντικό ρόλο στην ποιότητα του τελικού προϊόντος, καθώς εάν συμμετέχει στη διαδικασία οينوποίησης ή στη διαδικασία παραγωγής τσίπουρου, προσδίδει άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, αλλά και συστατικά.

1.1.2 Ράγα

Η ράγα του σταφυλιού αποτελείται από το φλοιό (φλούδα), το σαρκώδες μέρος (σάρκα) και τα γίγαρτα (κουκούτσια). Σε κάποιες ποικιλίες σταφυλιών τα τελευταία δεν υπάρχουν. Η ποσοστιαία σύνθεση της ράγας, σε περιεκτικότητες βάρος κατά βάρος, από τα παραπάνω, έχει ως εξής: Φλοιός 10-20%, σάρκα 74-87% και γίγαρτα (όταν υπάρχουν) 3-6%. Η σύνθεση αυτή διαφέρει σε κάθε ποικιλία και εξαρτάται από της εκάστοτε κλιματικές αλλά και εδαφικές συνθήκες, όπως επίσης και από το στάδιο ωρίμανσης του βότρυ.



Εικόνα 1.2 Διατομή ράγας

1.1.2.1 Φλοιός

Ο φλοιός αποτελείται από τρία στρώματα, την εφυμενίδα, την επιδερμίδα και την υποδερμίδα, όπου αποτελούνται από μία ή περισσότερες στιβάδες κυττάρων (Σουφλερός, 2012).

Η εφυμενίδα βρίσκεται στο εξωτερικό μέρος του φλοιού και είναι επικαλυμμένη από μια λεπτή στρώση κηρωδών ουσιών, την ανθηρότητα, που αποτελείται από μικρά επίπεδα λοβωδών λεπιών τα οποία επικάθονται το ένα πάνω στο άλλο. Η κηρώδης αυτή επίστρωση, εμποδίζει την έντονη εξάτμιση της υγρασίας της ράγας μέσω της επιδερμικής διαπνοής του καρπού και βοηθάει στην γρήγορη απομάκρυνση του βρόχινου νερού και εμποδίζει την είσοδό του στους ιστούς του καρπού, ώστε να μην σαπίσει. Βοηθάει στην αποφυγή εγκαυμάτων από τον ήλιο και την ανάπτυξη ευρωτιάσεων (Τσακίρης, 2014). Επίσης πάνω στις κηρώδεις αυτές ουσίες, μέσω του αέρα, είναι προσκολλημένοι οι μικροοργανισμοί που είναι υπεύθυνοι για τις διαδικασίες ζύμωσης που λαμβάνουν χώρα στο γλεύκος, αλλά και αργότερα στο κρασί.

Η επιδερμίδα αποτελείται από μία με δύο στιβάδες λεπτών κυττάρων με ανθεκτικές μεμβράνες και είναι το στρώμα του φλοιού στο οποίο εμπεριέχονται τα αρωματικά έλαια της εκάστοτε ποικιλίας. Σε κάθε ράγα υπάρχουν 25 με 40 στομάτια στην επιδερμίδα, τα οποία σταματούν να λειτουργούν με την αλλαγή στο χρώμα της ράγας.

Η υποδερμίδα αποτελείται από 6 με 10 στιβάδες κυττάρων με μεγαλύτερο μέγεθος από αυτό της επιδερμίδας, τα οποία καθώς αυξάνεται ο όγκος της ράγας, αυτά γίνονται πιο πλατιά και εκτείνονται, λόγω της συμπίεσης που υπόκεινται μεταξύ της σάρκας και των κυττάρων της επιδερμίδας, ενώ την ίδια στιγμή τα κυτταρικά τοιχώματά τους αρχίζουν και παχαίνουν. Στις 2 με 3 πρώτες στιβάδες εμπεριέχονται οι ανθοκυάνες ή οι φλαβόνες οι οποίες είναι οι χρωστικές ουσίες στις οποίες οφείλεται το χρώμα που πρόκειται να πάρει η ράγα κατά την ωρίμανση του βότρυ. Οι ανθοκυάνες προσδίδουν σκούρο κόκκινο χρώμα στο σταφύλι, ενώ οι φλαβόνες λευκοκίτρινο. Σε ορισμένες «βαφικές ποικιλίες σταφυλιών» οι χρωστικές ουσίες βρίσκονται σε όλη τη σάρκα της ράγας (Σουφλερός, 2012).

Ο φλοιός αποτελεί το 10 με 20% του βάρους του σταφυλιού και ανάλογα με την ποικιλία, το πάχος κυμαίνεται από 1,5 έως 3,8 μm. Παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην οينوποίηση και την παραγωγή τσίπουρου. Σε ένα πολύ μεγάλο βαθμό, από το φλοιό και τη μεταχείρισή του, εξαρτώνται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρασιού που θα παραχθεί. Πέρα από το χρώμα είναι σημαντικός παράγοντας για την οξύτητα, αλλά και τη

στυφή γεύση, κάποιον ερυθρών οίνων, λόγω των ταννινών που υπάρχουν στις σκούρες/κόκκινες ποικιλίες σταφυλιών. Γενικά, τα σταφύλια που προορίζονται για οινοποίηση έχουν, συνήθως, πιο σκληρό φλοιό και χυμώδη σαρκώδες μέρος, σε αντίθεση με τις επιτραπέζιες ποικιλίες που έχουν λεπτό φλοιό και πιο τραγανή σάρκα.

Ο φλοιός έχει πολύ μικρή ποσότητα σακχάρων κατά την ωρίμανση, που κυμαίνεται από 0,7 έως 3 g ανά 1.000 ρόγες (Τσακίρης, 2014), αλλά είναι πλούσιος σε αδιάλυτες πηκτίνες, κυτταρίνη και πρωτεΐνες (Σουφλερός, 2012). Στο φλοιό των πράσινων σταφυλιών υπάρχουν μικρές ποσότητες τρυγικού οξέος, καθώς και μηλικό οξύ, το οποίο όμως κατά την ωρίμανση χάνεται. Το οξύ που υπερέχει σε ποσότητα μέσα στο φλοιό είναι το κιτρικό. Η πλειοψηφία αυτών, απαντώνται σε μορφή αλάτων μέσα στο φλοιό. Αντιθέτως, στο σαρκώδες μέρος του σταφυλιού βρίσκονται κατά κύριο λόγο σε ελεύθερη κατάσταση. Πιο συγκεκριμένα, ο φλοιός αποτελείται από τα παρακάτω συστατικά σε ποσοστό επί τοις εκατό βάρος κατά βάρος:

• Νερό	75-80 %
• Ανόργανες ενώσεις	1,5-2 %
• Αζωτούχες ενώσεις	1,5-2 %
• Όξινες ενώσεις	1-1,5 %
• Ταννίνες	1-1,5 %
• Άλλες ουσίες	10-15 %

Η παρουσία αρωματικών ενώσεων είναι χαρακτηριστικό του φλοιού. Για αυτόν το λόγο παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην παραγωγή των διαφόρων ειδών οίνου, δίνοντας διαφορετικό χαρακτήρα ανάλογα με τη μεταχείρισή τους και με το χρόνο παραμονής τους στο γλεύκος, αλλά και βασικό παράγοντα στο άρωμα και τη γεύση του τσίπουρου, όταν οι φλοιοί (στέμφυλα) δεν απομακρύνονται κατά την απόσταξη.

1.1.2.2 Σάρκα

Στη σάρκα της ράγας διακρίνονται 2 κύριες ζώνες κυττάρων, το μεσοκάρπιο και το ενδοκάρπιο, εκ των οποίων η μία, το μεσοκάρπιο, μπορεί να διαιρεθεί σε δύο. Το μεσοκάρπιο Α και το μεσοκάρπιο Β. Το μεσοκάρπιο Α είναι η συνέχεια της υποδερμίδας του φλοιού και το ενδοκάρπιο είναι η εσωτερική ζώνη που περικλείει τα γίγαρτα (όταν αυτά υπάρχουν), ενώ το μεσοκάρπιο Β βρίσκεται στο ενδιάμεσο αυτών των δύο. Οι ζώνες αυτές αποτελούνται από 25-30 στοιβάδες. Τα κύτταρα του μεσοκαρπίου της σάρκας έχουν σχήμα πενταγωνικό ή εξαγωνικό και έχουν τη δομή των ανεπτυγμένων φυτικών κυττάρων. Στις

οινοποιήσιμες ποικιλίες σταφυλιών το κυτταρικό τοίχωμα, κυρίως των πρώτων στοιβάδων, είναι πολύ λεπτό και αρκετά εύθραυστο δημιουργώντας μία ζώνη υγρού κάτω από το φλοιό. Μέσα από τη λεπτή κυτταρική μεμβράνη βρίσκεται ένας λεπτός ιστός κυτταροπλάσματος με τον πυρήνα να βρίσκεται εκτοπισμένος προς τα τοιχώματα. Το υπόλοιπο του εσωτερικού του κυττάρου βρίσκεται ένα ενιαίο μεγάλο χυμοτόπιο που καταλαμβάνει σχεδόν το 99% του κυττάρου, όπου με την παραμικρή ρήξη του φλοιού της ράγας, απελευθερώνεται ο περιεχόμενος χυμός. Η σάρκα περιέχει σχεδόν εξ ολοκλήρου όλο το χυμό του σταφυλιού που μετά τη θραύση των ραγών, παραλαμβάνεται και αποτελεί το γλεύκος (ο μούστος) που κατά την οινοποίηση θα ζυμωθεί και θα γίνει το κρασί.

Στη σάρκα υπάρχουν κάποιες αγγειώδεις δέσμες, μέσω των οποίων γίνεται η μεταφορά των σακχάρων και των υπόλοιπων θρεπτικών ουσιών από το βλαστό, διαμέσου του ποδίσκου της ράγας, προς τα υπόλοιπα μέρη αυτής. Δύο από αυτές τις δέσμες, που είναι και οι μεγαλύτερες, λέγονται κεντρικές ή αξονικές, και είναι αυτές που διαπερνούν τη ράγα κατά μήκος, ενώνοντας τους δύο πόλους. Περίπου άλλες 8-10 δέσμες που καλούνται περιφερειακές βρίσκονται διασκορπισμένες μέσα στο μεσοκάρπιο. Με μία εγκάρσια τομή μπορούν να διακριθούν 30 με 40 δέσμες. Τα κυτταρικά τοιχώματα και αυτές οι δέσμες αγγείων που αποτελούν τα στερεά μέρη τη σάρκας, αποτελούν το 0,5% κατά βάρος της σάρκας και κατά τη διαδικασία οινοποίησης συμμετέχουν στη δημιουργία της οινολάσπης που έχει καθιζάνει μέσα στο γλεύκος.

Τα συστατικά της σάρκας είναι κυρίως σάκχαρα, οξέα και ανόργανα συστατικά.

Σάκχαρα

Τα σάκχαρα παίζουν, ίσως, τον πιο σημαντικό ρόλο στην οινολογία, καθώς είναι αυτά τα οποία θα υποστούν την αλκοολική ζύμωση και μέσω της κατανάλωσης τους από τις ζύμες, θα παραχθεί η πολυπόθητη αλκοόλη. Τα σάκχαρα που υπάρχουν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στη σάρκα του σταφυλιού, είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη. Άλλα σάκχαρα, όπως η σακχαρόζη, υπάρχουν σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις. Η διαφορά που παρατηρείται στην περιεκτικότητα των σακχάρων, εξαρτάται κυρίως από το στάδιο ωρίμανσης του σταφυλιού, αλλά και από την ποικιλία αυτού. Έχει παρατηρηθεί ακόμα ότι οι ράγες που βρίσκονται πιο κοντά στο κυρίως σώμα του κλήματος, παρουσιάζουν και την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σάκχαρα. Επίσης, σημαντικά αυξημένη περιεκτικότητα σακχάρων παρατηρείται στο μέρος της σάρκας γύρω από τα γίγαρτα, προς τον πυρήνα δηλαδή της ράγας.

Οξέα

Τα οξέα παίζουν επίσης πολύ σημαντικό ρόλο για την οινολογία, καθώς εκτός του ότι συμμετέχουν άμεσα στη γευστική ισορροπία του κρασιού, είναι υπεύθυνα για την προστασία αυτού από μικροβιακές αλλά και χημικές προσβολές, καθώς επίσης συμβάλουν και στη διατήρηση του χρώματος (Τσακίρης, 2014). Τα δύο οξέα που υπερέχουν σε περιεκτικότητα όλων των άλλων, είναι το μηλικό οξύ και το τρυγικό οξύ. Το τελευταίο έχει σχετικά ομαλή κατανομή μέσα στη σάρκα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση να παρουσιάζεται προς τα ενδότερα επίπεδα αυτής και κυρίως στο χώρο των γιγάρτων, ενώ το μηλικό οξύ παρατηρείται να έχει έντονα αυξημένη συγκέντρωση στο κέντρο της σάρκας, αλλά ακόμα μεγαλύτερη περιφερειακά αυτής, προς τον φλοιό.

Ανόργανα συστατικά

Το σημαντικότερο από τα ανόργανα ιόντα είναι το κάλιο το οποίο αποτελεί περίπου το 50% του συνόλου των ανόργανων ιόντων που περιέχονται στη ράγα και βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση προς το φλοιό της ράγας. Τα αζωτούχα συστατικά της σάρκας τα βρίσκουμε σε ανόργανη μορφή (NH_4^+), αλλά και σε οργανική ως αμινοξέα, και πρωτεΐνες. Συνήθως οι ποικιλίες αμπέλου που είναι πλούσιες σε οξέα είναι και πλούσιες σε αμινοξέα (Τσακίρης, 2014).

1.1.2.3 Γίγαρτα

Τα γίγαρτα, ή κουκούτσια, είναι τα όργανα αναπαραγωγής της αμπέλου. Βρίσκονται στο ενδοκάρπιο της σάρκας και συνήθως υπάρχουν τέσσερα σε κάθε ράγα. Πολλές φορές, και ανάλογα με την ποικιλία, συναντώνται λιγότερα ή και καθόλου γίγαρτα, με σύνηθες αποτέλεσμα την αδυναμία της ράγας για περαιτέρω ανάπτυξη και την παραμονή αυτής σε μικρότερο μέγεθος εν συγκρίσει με τις άλλες. Σε πολύ σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να συναντήσουμε πέντε, ακόμα και έξι γίγαρτα σε μία ράγα. Η δομή τους μας επιτρέπει να τα χωρίσουμε και να τα ονοματίσουμε. Το μυτερό μέρος αυτών ονομάζεται ράμφος ενώ το στρογγυλεμένο, σώμα, το οποίο διαχωρίζεται από ένα αυλάκι σε δύο λοβούς. Αποτελούνται από τη σάρκα ή αλλιώς το λευκωματώδη ιστό που προστατεύεται εξωτερικά από το κέλυφος ή αλλιώς επισπέρμιο και περικλείει το έμβρυο, το οποίο βρίσκεται στο ράμφος του γιγάρτου.

Τα γιγάρτα αποτελούν το 3-6% του συνολικού βάρους της ράγας και η χημική τους σύσταση αποτελείται από τα παρακάτω συστατικά σε ποσοστό επί τοις εκατό βάρος κατά βάρος:

• Νερό	25-45 %
• Υδρογονάνθρακες	34-36 %
• Ελαιώδεις ουσίες	13-20 %
• Αζωτούχες ουσίες	4-6,5 %
• Ταννίνες	4-6 %
• Ανόργανες ουσίες	2-4 %
• Λιπαρά οξέα	1 %

Είναι πλέον γνωστό ότι τα γιγάρτα είναι μία πολύ σημαντική πηγή ταννινών, των οποίων η παρουσία είναι επιθυμητή, αυξάνοντας τη τελική ποιότητα κυρίως των ερυθρών οίνων, προσδίδοντας τη στυφή αίσθηση που μένει στο στόμα. Ορισμένα άλλα συστατικά που βρίσκονται στο εσωτερικό των γιγάρτων και κυρίως οι ελαιώδεις ουσίες, είναι δυνατόν να γίνουν επιζήμιες για το τελικό προϊόν, προκαλώντας την υποβάθμιση του οίνου, καθώς αυτές αποτελούν τη βάση για την εκδήλωση της βουτυρικής ζύμωσης, προσδίδοντας στον οίνο πολλές φορές μία ανεπιθύμητη και μη αποδεκτή οσμή. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να δίνεται μεγάλη προσοχή και να αποφεύγεται με επιμέλεια το σπάσιμο των γιγάρτων κατά τη διάρκεια της μηχανικής έκθλιψης των ραγών και κατά την πίεση των στεμφύλων.

1.2 Τρυγητός

Το στάδιο ωριμότητας του σταφυλιού είναι ένας εκ των σπουδαιότερων παραγόντων που επηρεάζουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Τα στάδια ανάπτυξης του σταφυλιού χωρίζονται σε τέσσερεις κύριες περιόδους: το στάδιο της πράσινης ράγας, το στάδιο του περκασμού, το στάδιο της ωρίμανσης και το στάδιο της υπερωρίμανσης.

Πράσινη ράγα

Το στάδιο αυτό, καλύπτει την περίοδο μετά την καρπόδεση και μέχρι τον περκασμό. Στο διάστημα αυτό, οι ράγες έχουν πράσινο χρώμα λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας του φλοιού σε χλωροφύλλη. Οι ράγες είναι αρκετά σκληρές και όξινες, όπως επίσης παρουσιάζουν αργή ανάπτυξη.

Περκασμός

Στο στάδιο αυτό, οι ράγες του σταφυλιού αρχίζουν να γυαλίζουν, και εξ αιτίας της βαθμιαίας διάσπασης της χλωροφύλλης που υπάρχει στο φλοιό τους, αλλάζουν χρώμα ανάλογα με την ποικιλία. Εκτός αυτών, οι ράγες μαλακώνουν και γίνονται πιο ελαστικές, και καθώς εμπλουτίζονται με σάκχαρα, των οποίων η συγκέντρωση έχει ως αποτέλεσμα την έλξη νερού, λόγω όσμωσης, και κατ' επέκταση την αύξηση του όγκου των ραγών, μειώνοντας σημαντικά την οξύτητα λόγω της αραίωσης που υπόκεινται τα οξέα.

Ωρίμανση

Το στάδιο αυτό, ακολουθεί τον περκασμό και συνεχίζει μέχρι την ωριμότητα, δηλαδή μέχρι το σταφύλι να είναι ώριμο και έτοιμο για συγκομιδή. Η περίοδος αυτή διαρκεί περίπου 40 με 50 ημέρες, ανάλογα με τις κλιματολογικές και εδαφολογικές συνθήκες, και πραγματοποιείται ο διπλασιασμός του όγκου των ραγών, καθώς και η σταδιακή ξυλοποίηση των βοστρύχων, ενώ οι ράγες συνεχίζουν να εμπλουτίζονται με σάκχαρα και να μειώνουν την οξύτητάς τους.

Στο σταφύλι διακρίνονται τρία είδη ωριμότητας: η φυσιολογική ή βιολογική ωριμότητα των γιγάρτων, η βιομηχανική ή ωριμότητα της σάρκας και η τεχνολογική ωριμότητα. Η πρώτη εκφράζει τη στιγμή κατά την οποία τα γίγαρτα έχουν την ικανότητα να βλαστήσουν, ενώ η δεύτερη εκφράζει την στιγμή κατά την οποία το ώριμο σταφύλι περιέχει το ανώτατο ποσό των σακχάρων που μπορεί να συγκεντρώσει. Η τεχνολογική ωριμότητα εκφράζει τη στιγμή την οποία το σταφύλι της εκάστοτε ποικιλίας δίνει γλεύκος, τέτοιο που η

χημική του σύσταση να αντιστοιχεί στον τύπο του οίνου που πρόκειται να παραχθεί. Συνεπώς η τελευταία, εξαρτάται από το εκάστοτε επιθυμητό τελικό προϊόν.

Υπερωρίμανση

Το στάδιο αυτό, ακολουθεί το στάδιο της ωρίμανσης, εμφανίζεται δηλαδή μετά το στάδιο της ωριμότητας των ραγών. Κατά αυτήν την περίοδο, το σταφύλι δε δέχεται άλλες ουσίες από το φυτό και ζει με τα αποθέματά του. Καθώς όμως η διαπνοή δεν σταματάει, οι ράγες αφυδατώνονται με αποτέλεσμα τη συμπύκνωση των στερεών ουσιών τους και την αύξηση των σακχάρων. Επιτυγχάνεται με αυτό τον τρόπο γλεύκος με μεγαλύτερη συγκέντρωση σακχάρων. Τα στάδιο αυτό αν παραταθεί για αρκετό χρονικό διάστημα, θα έχει ως αποτέλεσμα τη συρρίκνωση και τέλος την νέκρωση των ραγών του σταφυλιού (Σουφλερός, 2012).

1.2.1 Πορεία ωρίμανσης

Κατά την ωρίμανση των ραγών πραγματοποιούνται κάποια φυσικοχημικά φαινόμενα, από τα οποία, κυριότερα είναι τα εξής:

- Η διόγκωση των ραγών
- Η συσσώρευση των σακχάρων
- Η μείωση της οξύτητας
- Ο σχηματισμός των χρωστικών και των ταννινών
- Ο σχηματισμός των αρωματικών συστατικών

Η διόγκωση των ραγών

Από την καρπόδεση έως και την ωρίμανση των ραγών, πραγματοποιείται συνεχώς ανάπτυξη του βάρους και του όγκου αυτών. Η ανάπτυξη αυτή όμως δεν γίνεται ομαλά, αλλά σε στάδια. Υπάρχει πολύ μεγάλη εξάρτηση της ανάπτυξης της ράγας από την ύπαρξη και την ανάπτυξη των γιγάρτων, καθώς όσο μεγαλύτερα και περισσότερα είναι αυτά, τόσο μεγαλύτερη θα είναι και η ταχύτητα ανάπτυξης της ράγας. Άλλος, πολύ σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την ανάπτυξη των ραγών είναι οι εξωτερικές συνθήκες, δηλαδή οι κλιματολογικές συνθήκες όπως για παράδειγμα η βροχή, αλλά και οι εδαφικές συνθήκες όπως η επάρκεια σε ανόργανα συστατικά απαραίτητα για την ανάπτυξή τους, καθώς μία έντονη βροχόπτωση, κυρίως στο τελευταίο στάδιο ανάπτυξης των ραγών και πριν τον τρυγητό, μπορεί να προκαλέσει τόσο έντονη και γρήγορη ανάπτυξη του μεγέθους των ραγών που κάποιες φορές έχει σαν αποτέλεσμα το σχίσσιμο του φλοιού το οποίο είναι ανεπιθύμητο,

ενώ ένα φτωχό έδαφος σε απαραίτητα για την ανάπτυξη του βότρυ συστατικά, μπορεί να είναι ο λόγος για την υπανάπτυξη του και κατ' επέκταση τη μη παραγωγή του επιθυμητού αριθμού, μεγέθους και βάρους των ραγών.

Λίγες μέρες πριν από την πλήρη ωρίμανση οι ράγες θα αποκτήσουν το μεγαλύτερο δυνατό όγκο, ενώ λίγο πριν τον τρυγητό και περίπου την τελευταία εβδομάδα της ωρίμανσης γίνεται μία μικρή μείωση του όγκου της σάρκας και συμπύκνωση των σακχάρων λόγω απώλειας νερού.

Η συσσώρευση των σακχάρων

Οι εξόζες, γλυκόζη και φρουκτόζη, είναι τα δύο κύρια ζυμώσιμα σάκχαρα που συσσωρεύονται στο σταφύλι. Υπάρχουν και άλλα σάκχαρα και ίχνη σακχάρων τα οποία, όμως, δεν παρουσιάζουν κάποιο ιδιαίτερο ενδιαφέρον και δεν επηρεάζουν σημαντικά τη σύσταση της ράγας και τις μετέπειτα διεργασίες που προκύπτουν. Κατά την περίοδο του περκασμού παρατηρείται η ταχύτερη συσσώρευση των σακχάρων αυτών, ενώ κατά το στάδιο της ωρίμανσης συνεχίζεται με πιο αργό ρυθμό. Στο στάδιο της πράσινης ράγας η γλυκόζη βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση από τη φρουκτόζη, ενώ προς το στάδιο της ωρίμανσης αυτή η σχέση αρχίζει να αντιστρέφεται με αποτέλεσμα στο τέλος της ωρίμανσης γλυκόζη και φρουκτόζη βρίσκονται σε σχεδόν ίσες συγκεντρώσεις και στο στάδιο της υπερωρίμανσης η αρχική σχέση έχει αντιστραφεί και πλέον η φρουκτόζη υπερτερεί της γλυκόζης.

Ένα μέρος των σακχάρων προέρχονται από τα ξυλώδη μέρη του φυτού και το βλαστό, ενώ η μεγαλύτερη ποσότητα αυτών προέρχεται από τα φύλλα, μέσω της φωτοσύνθεσης (Σουφλερός, 2012).

Η μείωση της οξύτητας

Σε αντίθεση με τα σάκχαρα, τα οξέα, από το στάδιο του περκασμού μέχρι το στάδιο της ωρίμανσης μειώνονται προοδευτικά. Τα δύο κυριότερα οξέα που απαντώνται στην ράγα και κατ' επέκταση στο παραγόμενο γλεύκος είναι το τρυγικό οξύ και το μηλικό οξύ. Κατά την αναπνοή του φυτού και για την παραγωγή της ενέργειας που χρειάζεται, ένα μέρος των οξέων καταναλώνεται. Αυτός είναι ένας από τους δύο βασικούς λόγους της μείωσης της οξύτητας, ενώ ο άλλος είναι η αραίωση την οποία υπόκεινται τα στερεά συστατικά της ράγας καθώς αυτή διογκώνεται από την πρόσληψη του νερού.

Ο σχηματισμός των χρωστικών και των ταννινών

Μέχρι το στάδιο του περκασμού το χρώμα που υπερισχύει είναι το πράσινο το οποίο οφείλεται στη χλωροφύλλη που παράγεται από τους χλωροπλάστες κατά τη φωτοσύνθεση. Από το στάδιο του περκασμού και μετά, αρχίζουν να μειώνονται οι χλωροπλάστες δίνοντας τη θέση τους στους χρωμοπλάστες οι οποίοι είναι διαφορετικοί για κάθε φυτό και προσδίδουν σε αυτό το δικό του χαρακτηριστικό χρώμα. Οι χρωστικές που παράγονται στη ράγα συγκεντρώνονται κυρίως στο φλοιό της, και πιο συγκεκριμένα στα χυμοτόπια των κυττάρων της υποδερμίδας, ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις -σε αυτές των βαφικών ποικιλιών- χρωματίζεται και η σάρκα. Οι χρωστικές ουσίες που δίνουν το χρώμα τους στα σταφύλια ανήκουν κυρίως στις ανθοκυάνες και τις φλαβόνες, ανάλογα με την ποικιλία. Το χρώμα των ερυθρών σταφυλιών οφείλεται στις ανθοκυάνες, ενώ το χρώμα των λευκών ποικιλιών στις φλαβόνες.

Ο σχηματισμός των αρωματικών ουσιών

Οι ουσίες που είναι υπεύθυνες για το άρωμα των σταφυλιών είναι κυρίως τα τερπένια, στα οποία υπάγονται τα αρωματικά και τα αιθέρια έλαια, τα οποία υπάρχουν στην επιδερμίδα του φλοιού και όπως και στην περίπτωση του χρώματος, δίνουν το χαρακτηριστικό άρωμα σε κάθε ποικιλία σταφυλιού.

1.3 Ζαμπέλα

Το σταφύλι αυτό είναι αγριάμπελος και είναι μία ποικιλία από το είδος αμπέλων *Vitis labrusca*. Στην Ελλάδα ευδοκιμεί κυρίως στο μεγαλύτερο ορεινό κομμάτι της Ηπείρου και κυρίως γύρω από τον ορεινό όγκο των Αθαμανικών ορέων (Τζουμέρκα). Υπάρχουν αναφορές για την ύπαρξη του σταφυλιού αυτού στο Άγιο Όρος και για δοκιμές καλλιέργειας αυτού στην Πελοπόννησο, χωρίς όμως κάποια σημαντική παραγωγή.

1.3.1 Ιστορικά στοιχεία

Υπάρχουν αρκετές θεωρίες για την καταγωγή της ζαμπέλας η οποία έχει ευδοκιμήσει εκτός από την ορεινή περιοχή της Ηπείρου και σε περιοχές άλλων χωρών με παρόμοιο κλίμα και εδαφικές συνθήκες, όπως σε περιοχές της Ισπανίας, αλλά και σε αρκετές πολιτείες των ΗΠΑ. Στον Ελλαδικό χώρο η ζαμπέλα πιστεύεται ότι έφτασε από την Ισπανία μάλλον στα τέλη του 15^{ου} με αρχές του 16^{ου} αιώνα, κατά τη βασιλεία της Ισαβέλλας της Α΄ της Καστίλης, από την οποία πιθανολογείται ότι πήρε και το όνομά της. Εκείνη την περίοδο η Ισαβέλλα με το σύζυγο της και βασιλιά της Ισπανίας, Φερδινάνδο, χρηματοδότησαν τα ταξίδια του Ιταλού εξερευνητή Χριστόφορου Κολόμβου ο οποίος ξεκινώντας να κάνει το γύρο της γης και να φτάσει στις Ινδίες, έφτασε στην Αμερική κάνοντας την ανακάλυψη του Νέου Κόσμου. Μία από τις θεωρίες λέει πως σε ένα από τα ταξίδια του πήρε από την Ισπανία την άμπελο αυτή, τη ζαμπέλα, η οποία καλλιεργήθηκε και διαδόθηκε στην υπόλοιπη Αμερικανική ήπειρο. Ενώ μία άλλη θεωρία θέλει την ποικιλία της ζαμπέλας να προϋπάρχει του Χριστόφορου Κολόμβου στην Αμερική (με άλλη ονομασία) και ο ίδιος να την έφερε στην Ευρώπη και να της έδωσε το όνομα της βασίλισσας Ισαβέλλας. Αυτή είναι η επικρατέστερη και μάλλον και η πιθανότερη εκδοχή της καταγωγής της, καθώς ταξινομείται στο είδος αμπέλου *Vitis labrusca* που ανήκει στο γένος *Vitis*, της οικογένειας *Vitaceae*, όπου έτσι ονομάζονται οι Αμερικανικές άμπελοι, ενώ οι Ευρωπαϊκές ονομάζονται *Vitis vinifera*.

1.3.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Ο βότρυς της ζαμπέλας μπορεί να γίνει αρκετά μεγάλος με πολλές, στρογγυλές, καλοσηματισμένες, μεσαίου μεγέθους ράγες σε πυκνή διάταξη. Οι ράγες της έχουν σκούρο μωβ, σχεδόν μαύρο χρώμα. Ο φλοιός τους είναι ανθεκτικός, πολύ χοντρός και σκληρός με πάρα πολύ όξινη γεύση και από μέσα έχει έντονο σκούρο κόκκινο χρώμα που βάφει, ενώ η σάρκα τους έχει κιτρινοπράσινο χρώμα με αρκετά γλυκιά γεύση και είναι πολύ ζουμερή, σχεδόν βλεννώδης με αποτέλεσμα να ξεχωρίζει εύκολα από το φλοιό με ένα πολύ ελαφρύ πάτημα της ράγας. Περιέχει γίγαρτα με έντονα στυφή και πικρή γεύση. Το σταφύλι αυτό έχει

μία ιδιαίτερη γεύση και άρωμα που στη ξένη βιβλιογραφία χαρακτηρίζεται ως “foxy”, για αυτό του έχουν δώσει και το όνομα “fox grape”. Το κρασί που συνήθως προτιμάται να παράγεται από το σταφύλι αυτό είναι ημίγλυκο και έχει ελάχιστη οξύτητα θυμίζοντας πιο πολύ χυμό.

Τα δύο μεγαλύτερα πλεονεκτήματα της ζαμπέλας είναι:

- Η μεγάλη αντοχή που παρουσιάζει στο κρύο, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στον ανθεκτικό, χοντρό φλοιό της καθώς και στην υψηλή συγκέντρωσή της σε σάκχαρα.
- Η επίσης μεγάλη ανθεκτικότητα που παρουσιάζει απέναντι σε μία από τις κυριότερες ασθένειες των αμπελιών, το βοτρυτή, καθώς και γενικότερα στις περισσότερες ασθένειες, παρέχοντας τη δυνατότητα να αποφεύγεται το ράντισμα με φυτοφάρμακα.

Τα δύο αυτά πολύ σημαντικά πλεονεκτήματα είχαν σαν αποτέλεσμα για αρκετά χρόνια να πιστεύεται ότι η ζαμπέλα είναι υβρίδιο, την οποία είχαν «φτιάξει» έτσι ώστε να κατέχει αυτή τη μεγάλη ανθεκτικότητα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ - ΑΠΟΣΤΑΞΗ

2.1 Γενικά

Ως οινοποίηση θεωρείται το σύνολο των διεργασιών από τη συλλογή και επιλογή των κατάλληλων σταφυλιών τη μετατροπή των σακχάρων σε αιθανόλη και τέλος την τελική μορφή του παραγόμενου οίνου που θα είναι έτοιμος για κατανάλωση.

Ανάλογα με τον τύπο του οίνου που θέλουμε να παρασκευάσουμε, τα σταφύλια που διαθέτουμε και τις δυνατότητες που έχει το οινοποιείο μας, θα πρέπει να προσαρμόσουμε έναν μεγάλο αριθμό εφαρμογών και επεξεργασιών ώστε να έχουμε το επιθυμητό αποτέλεσμα.

Η οινοποίηση χωρίζεται κυρίως σε τέσσερις κατηγορίες παρασκευής οίνων:

- Την ερυθρή οινοποίηση (παραγωγή ερυθρού οίνου)
- Την λευκή οινοποίηση (παραγωγή λευκού οίνου)
- Την ερυθρωπή οινοποίηση (παραγωγή ροζέ οίνου), και
- Τις ειδικές οινοποιήσεις (παραγωγή αφρώδους οίνου, παραγωγή γλυκού ή ημίγλυκου οίνου και παραγωγή αρωματισμένου οίνου)

Η απόσταξη στη βιομηχανία τροφίμων περιορίζεται κυρίως στην παραγωγή αλκοολούχων ποτών, αλλά και στη συλλογή αιθέριων ελαίων. Τα ποτά που παράγονται από απόσταξη παρουσιάζουν υψηλό αλκοολικό βαθμό καθώς η αιθυλική αλκοόλη είναι ουσία με μεγάλη πτητικότητα, με αποτέλεσμα να έχει μεγάλη συγκέντρωση στο απόσταγμα. Τέτοια ποτά είναι η βότκα, το ουίσκι, το ρούμι, η τεκίλα, το μπράντι, το αφέντι και άλλα. Στην Ελλάδα τα ποτά που παράγονται με απόσταξη είναι κυρίως το τσίπουρο/τσικουδιά, το ούζο, αλλά και το μπράντι.

Όταν ένα διάλυμα το οποίο περιέχει συστατικά τα οποία έχουν διαφορετικό σημείο ζέσεως θερμανθεί, τότε τα συστατικά με το χαμηλότερο σημείο ζέσεως, δηλαδή με την μεγαλύτερη πτητικότητα, θα διαχωριστούν πρώτα με τη μετατροπή τους σε υδρατμούς (εξάτμιση). Όταν οι υδρατμοί συγκεντρωθούν και η θερμοκρασία «κατέβει» κάτω από το σημείο ζέσεως τους, τότε θα ξαναπάρουν την αρχική τους υγρή μορφή (υγροποίηση). Η διαδικασία αυτή καλείται απόσταξη και πραγματοποιείται με τη βοήθεια ειδικών εργαστηριακών ή βιομηχανικών διατάξεων.

Ακόμα και αν παράγονται με την ίδια διαδικασία, τα ποτά αυτά (βότκα, ουίσκι, ρούμι, τεκίλα, το τσίπουρο/τσικουδιά, το ούζο) παρουσιάζουν διαφορετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά καθώς προέρχονται από διαφορετικές πρώτες ύλες. Άρα μπορούμε εύκολα να συμπεράνουμε ότι η αιθυλική αλκοόλη δεν είναι η μόνη πτητική ουσία που βρίσκεται στο ζυμούμενο μίγμα. Αν και η παρουσία κάποιων πτητικών ουσιών είναι επιθυμητή, καθώς προσδίδουν συγκεκριμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο απόσταγμα, κάποιες άλλες πτητικές ουσίες δεν είναι επιθυμητές και θα πρέπει να απομακρυνθούν κατά την απόσταξη με διάφορες τεχνικές (Αρβανιτογιάννης και Στρατάκος, 2011). Μία από τις βασικότερες ανεπιθύμητες πτητικές ουσίες και ίσως η κυριότερη καθώς είναι ένας δείκτης ποιότητας του ποτού, είναι η μεθανόλη. Η ουσία αυτή είναι μία αλκοόλη η οποία έχει πολύ χαμηλό σημείο ζέσεως με συνέπεια να είναι από τις πρώτες ουσίες που θα αποστάξουν. Ο πιο εύκολος και αποδοτικός τρόπος απομάκρυνσής της είναι η απόσταξη με κλάσματα (κλασματική απόσταξη), χωρίζοντας τη διαδικασία έτσι ώστε να παίρνουμε σε διαφορετικά αποστάγματα τις επιθυμητές ουσίες βάσει το διαφορετικό σημείο ζέσεως τους.

Αυτή η τεχνική χρησιμοποιείται πλέον από τις περισσότερες ποτοποιίες για την παραγωγή ποτών υψηλότερης ποιότητας, καθώς επίσης η νομοθεσία έχει θεσπίσει ένα ανώτατο επιτρεπτό όριο συγκέντρωσης της ουσίας αυτής, λόγω του ότι είναι τοξική για τον άνθρωπο και η κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων από αυτή μπορεί να οδηγήσει σε έντονη ζάλη/ναυτία, προσωρινή ή ακόμα και μόνιμη τύφλωση, μέχρι και θάνατο.

Τα παλαιότερα χρόνια, αλλά ακόμα και τώρα στα χωριά που παράγουν το τσίπουρο με τον παραδοσιακό τρόπο, ο διαχωρισμός της μεθανόλης κατά την απόσταξη γινόταν εμπειρικά, κάνοντας ένα είδος κλασματικής απόσταξης, πετώντας μία μικρή ποσότητα στην αρχή της απόσταξης (περίπου ίση με ένα ποτήρι κρασιού), το οποίο ονόμαζαν και κεφαλή της απόσταξης. Έτσι απομάκρυναν τη μεγαλύτερη ποσότητα της μεθανόλης καθώς αυτή βρίσκεται κυρίως στο πρώτο στάδιο της απόσταξης. Ένας άλλος τρόπος για να ελαχιστοποιηθεί η παραγόμενη μεθανόλη είναι η απομάκρυνση των βοστρύχων, καθώς αυτοί είναι που εκλύουν τη μεγαλύτερη ποσότητα αυτής της ουσίας.

2.2 Επεξεργασία σταφυλιών

Σε αυτό το στάδιο τα σταφύλια και στη συνέχεια η σταφυλομάζα υπόκεινται μηχανικές, χημικές και κάποιες φορές και φυσικές επεξεργασίες ώστε να γίνει η σωστή και ασφαλής εξαγωγή και παραλαβή του χυμού τους (γλεύκους), για να ακολουθήσει η επεξεργασία αυτού και η διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης. Οι νεότερες αντιλήψεις στην αλυσίδα επεξεργασίας του σταφυλιού έχουν σκοπό η διαδικασία παραγωγής οίνου, να χρειάζεται όσο το δυνατόν λιγότερες κατεργασίες.

Η παλαιότερη χρησιμοποιούμενη μέθοδος, μηχανικής επεξεργασίας, περιλαμβάνει: αποβοστρύχωση, έκθλιψη, στράγγισμα και συμπίεση σταφυλομάζας. Η αποβοστρύχωση συχνά αποφεύγεται για να γίνει διευκόλυνση στην εξαγωγή του γλεύκους η οποία είναι ευκολότερη όταν οι βόστρυχοι δεν έχουν απομακρυνθεί (Τσακίρης, 2014).

2.2.1 Έκθλιψη των ραγών

Η διαδικασία αυτή έχει ως σκοπό τη ρήξη του φλοιού των ραγών και την παραλαβή των χυμών της σάρκας τους με τη βοήθεια μηχανικών πιέσεων. Το σπάσιμο των ραγών θα πρέπει κατά κανόνα να μην γίνεται βίαια, καθώς σε αυτή την περίπτωση μπορεί να έχουμε ανεπιθύμητα αποτελέσματα στη σύσταση του γλεύκους από το λιώσιμο του φλοιού και των γιγάρτων, απελευθερώνοντας ελαιώδεις ουσίες οι οποίες είναι επιζήμιες για την ποιότητα του οίνου, διότι μπορούν να προκαλέσουν το εναρκτήριο έναυσμα για την εκδήλωση της βουτυρικής ζύμωσης, υποβαθμίζοντας έτσι την ποιότητα του οίνου. Ένας άλλος βασικός κανόνας είναι ότι η διαδικασία της έκθλιψης δεν θα πρέπει να γίνεται στον αμπελώνα, όπως γινόταν συχνά παλαιότερα, καθώς υπάρχει κίνδυνος λόγω θερμότητας να γίνει η έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης νωρίτερα από το προβλεπόμενο, όπως επίσης υπάρχει περίπτωση το γλεύκος να υποστεί οξείδωση από τον αέρα με αποτέλεσμα την καταστροφή των χρωστικών ουσιών.

Η διαδικασία της έκθλιψης γίνεται με ειδικά μηχανήματα που ονομάζονται σπαστήρες ή θλιπτήρια στα οποία έχουμε τη δυνατότητα να επιλέξουμε σε τι απόσταση θα βρίσκονται οι δύο παράλληλοι κύλινδροι που βρίσκονται στο εσωτερικό τους και κινούνται με αντίθετη φορά, για να εγκλωβίζουν και να σπάνε τις ράγες, ρυθμίζοντάς το ανάλογα με το μέγεθος των ραγών έτσι ώστε να γίνεται όσο το δυνατόν πιο ήπια, χωρίς να γίνεται σπάσιμο των γιγάρτων και τεμαχισμός των βοστρύχων (Σουφλερός, 2012).

Όπως είναι φυσικό, κάθε στάδιο επεξεργασίας ενός προϊόντος μπορεί να έχει πλεονεκτήματα, όπως και μειονεκτήματα. Έτσι, και η εφαρμογή της έκθλιψης στη διαδικασία οινοποίησης παρουσιάζει κάποια σημαντικά πλεονεκτήματα, αλλά και κάποια αναπόφευκτα μειονεκτήματα:

Πλεονεκτήματα:

- Απελευθερώνει μέρος από το χυμό του σταφυλιού
- Δύναται να γίνει με αντλίες η μεταφορά της σταφυλομάζας
- Προκαλείται ο αερισμός αυτής, ευνοώντας την ανάπτυξη των ζυμών
- Διασπείρονται οι ζύμες σε όλη τη σταφυλομάζα
- Διευκολύνεται ο σχηματισμός υπερκείμενου στρώματος στεμφύλων
- Αυξάνεται η επιφάνεια επαφής υγρού και στερεών συστατικών, ενισχύοντας την εκχύλιση των χρωστικών ουσιών
- Γίνεται ευκολότερη και καλύτερη θείωση
- Εξοικονομείται χώρος
- Επιταχύνεται η διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης και ολοκληρώνεται συντομότερα

Μειονεκτήματα:

- Ο υπερβολικός αερισμός της σταφυλομάζας μπορεί να οδηγήσει σε οξείδωση και κατ' επέκταση σε καταστροφή των χρωστικών ουσιών της
- Σε θερμές περιόδους υπάρχει κίνδυνος, λόγω της αύξησης της ταχύτητας της ζύμωσης, να προκληθεί μεγάλη άνοδος στη θερμοκρασία
- Μπορεί να προκαλέσει έντονη εκχύλιση των ουσιών των στεμφύλων, με αποτέλεσμα τη μεγάλη συγκέντρωση ταννινών στον οίνο επηρεάζοντας αρνητικά τη γεύση του
- Απελευθερώνονται τα γίγαρτα, τα οποία παίρνουν μέρος στη διαδικασία της εκχύλισης, και προσδίδουν στον οίνο στυφή αίσθηση
- Υπάρχει κίνδυνος σύνθλιψης των γιγάρτων, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την πιο στυφή αίσθηση στο τελικό προϊόν από αυτή που είναι επιθυμητή, καθώς υπάρχει και ο κίνδυνος έναρξης της βουτυρικής ζύμωσης, δίνοντας άσχημη, έως και μη αποδεχτή μυρωδιά στο γλεύκος και κατ' επέκταση στον οίνο.
- Αυξάνει την ποσότητα της οινολάσσης



Εικόνα 2.1 Χειροκίνητος σπαστήρας

2.2.2 Αποβοστρύχωση

Η αποβοστρύχωση (ή απορράγιση) γίνεται με σκοπό την απομάκρυνση των βοστρύχων από τις ράγες ώστε στις υπόλοιπες διαδικασίες της οινοποίησης να παίρνουν μέρος μόνο οι ράγες και ο χυμός που θα εξάγουμε από αυτές. Το στάδιο αυτό συχνά προηγείται από το στάδιο της έκθλιψης. Παλαιότερα, αλλά και σήμερα σε κάποια μέρη και κυρίως σε χωριά που έχουν μικρή παραγωγή, η διαδικασία της αποβοστρύχωσης γίνεται με τα χέρια. Πλέον, και ειδικά σε μεγαλύτερες παραγωγές, η διαδικασία αυτή γίνεται με τη χρήση εξειδικευμένων μηχανημάτων που λέγονται απορραγιστήρια ή εκραγιστήρια στα οποία τις περισσότερες φορές συνδέονται τα εκθλιπτήρια ως επέκταση λειτουργώντας ως ένα μηχάνημα.

Τα απορραγιστήρια αποτελούνται από έναν οριζόντιο κύλινδρο με οπές, τέτοιες ώστε να περνούν ράγες, ενώ κατά μήκος αυτού, περιστρέφεται αντίθετα ένας άξονας με πτερύγια απομακρύνοντας έτσι τους βοστρύχους. Τα μηχανήματα καλής ποιότητας θα πρέπει να απομακρύνουν το σύνολο των βοστρύχων χωρίς να τους τεμαχίζουν και χωρίς να απομακρύνουν μαζί και ράγες. Κάποια από τα βασικά μειονεκτήματα και πλεονεκτήματα της επεξεργασίας αυτής, είναι τα εξής:

Πλεονεκτήματα:

- Μείωση του όγκου της σταφυλομάζας
- Γευστικά βελτιωμένοι οίνοι, μειώνοντας τη στυφή αίσθηση
- Αύξηση της ολικής αλκοόλης στη σταφυλομάζα
- Καλύτερο χρώμα του οίνου

Μειονεκτήματα:

- Περιορίζεται το περιεχόμενο άζωτο δυσκολεύοντας την αλκοολική ζύμωση

- Αυξάνεται ελαφρώς η οξύτητα
- Καθίσταται δυσκολότερη η διαδικασία πίεσης των στεμφύλων
- Αυξάνεται η οξείδωση της σταφυλομάζας
- Αυξάνεται η θερμοκρασία της σταφυλομάζας

Η διαδικασία της απορράγισης γίνεται, γενικά, σε όλες τις οινοαμπελουργικές περιοχές ονομασίας προέλευσης, κυρίως ερυθρών οίνων, καθώς οι ποικιλίες των σταφυλιών αυτών έχουν από μόνες τους μεγάλη περιεκτικότητα σε ταννίνες και δεν χρειάζονται οι ταννίνες των βοστρύχων. Σε περιπτώσεις όπου κατά τον τρύγο ο βότρυς δεν έχει ωριμάσει σωστά και παραμένουν πράσινοι βόστρυχοι, τότε θα πρέπει οπωσδήποτε να γίνει αποβοστρύχωση (Σουφλερός, 2012).



Εικόνα 2.2 Μηχανικός σπαστήρας – εκραγιστήρας

2.2.3 Συμπίεση σταφυλιών

Η διαδικασία αυτή έχει ως σκοπό την παραλαβή του χυμού της ράγας με τη βοήθεια της μηχανικής πίεσης των μηχανημάτων που ονομάζονται πιεστήρια. Υπάρχουν διάφορα είδη πιεστηρίων που χρησιμοποιούνται στα οινοποιεία. Τα πιο διαδεδομένα πιεστήρια μέχρι πρότινος ήταν τα πιεστήρια με τύμπανο τα οποία διακρίνονταν σε δύο είδη. Τα ασυνεχή, που χρησιμοποιούνταν για την παραγωγή ποιοτικών οίνων και τα συνεχή που χρησιμοποιούνται ακόμα, για την παραγωγή χαμηλότερης ποιότητας οίνων. Τα πιο πρόσφατα και πλέον διαδεδομένα πιεστήρια είναι τα πιεστήρια μεμβράνης.

2.2.3.1 Πιεστήρια μεμβράνης

Τα πιεστήρια μεμβράνης είναι τα πιο σύγχρονα και εξελιγμένα πιεστήρια. Η πίεση στη σταφυλομάζα ασκείται από τη διόγκωση μιας μεμβράνης στο εσωτερικό του πιεστηρίου, η οποία φουσκώνει με αέρα ή νερό, πιέζοντας τη σταφυλομάζα προς τα κάτω όπου υπάρχουν οπές ώστε να απορρέει το γλεύκος και να συγκεντρώνεται σε μία λεκάνη. Ανάλογα με την πορεία που ακολουθεί το γλεύκος μέσα από τις οπές και μέχρι να φτάσει στη λεκάνη που το

συγκεντρώνουμε, τα πιεστήρια μεμβράνης χωρίζονται στα ανοιχτού και κλειστού τύπου. Στην περίπτωση του ανοιχτού τύπου το γλεύκος απορρέει ελεύθερα από τις οπές προς την λεκάνη, ενώ στην περίπτωση του κλειστού τύπου, η απορροή του γλεύκους γίνεται από αυλούς και καταλήγει στη λεκάνη μέσω κλειστού σωλήνα. Και στις δύο περιπτώσεις, ένα από τα πλεονεκτήματα των πιεστηρίων μεμβράνης, είναι ότι υπάρχει σύστημα κατακράτησης των στερεών λαμβάνοντας γλεύκος με μεγαλύτερη διαύγεια. Ενώ ακόμα ένα μεγάλο πλεονέκτημα είναι ότι γίνεται πολύ πιο ήπια μεταχείριση του σταφυλιού, ασκώντας μικρότερες πιέσεις σε σχέση με άλλα πιεστήρια. Το μεγαλύτερο μειονέκτημά τους είναι ότι ο χρόνος πίεσης είναι μεγάλος λόγω της δύσκολης εκχύμωσης με τη μέθοδο αυτή.

Τα πιεστήρια μεμβράνης είναι γνωστά και ως πνευματικά πιεστήρια και παρόλο που είναι και πιο ακριβά, έχουν πλέον επικρατήσει χάρις τα ελάχιστα και σχεδόν ασήμαντα μειονεκτήματα τους εν αντιθέσει με τα σημαντικά πλεονεκτήματά τους (Τσακίρης, 2014).

2.2.3.2 Οριζόντια πιεστήρια με τύμπανα

Στα οριζόντια πιεστήρια με τύμπανα η πίεση γίνεται με ταυτόχρονη σύγκλιση δύο κινητών συμπαγών τυμπάνων. Στο εσωτερικό του πιεστηρίου συνήθως υπάρχουν αλυσίδες οι οποίες, όταν η πίεση από τα τύμπανα σταματήσει, ανακατεύουν τη σταφυλομάζα για τη μεγαλύτερη δυνατή εξαγωγή γλεύκους. Αυτό όμως έχει ως αποτέλεσμα τα σημαντικά μειονεκτήματα του έντονου αερισμού της σταφυλομάζας και της δημιουργίας μεγάλης ποσότητας οινολάσπης, ειδικά σε σχέση με τα πνευματικά πιεστήρια. Τα σημαντικότερα πλεονεκτήματά τους είναι η εύκολη χρήση τους και οι σχετικά μικρές πιέσεις που δέχεται η σταφυλομάζα.

2.2.3.3 Συνεχή πιεστήρια

Τα συνεχή πιεστήρια χρησιμοποιούνται κυρίως για την κατεργασία μεγάλων ποσοτήτων σταφυλιών. Η αρχή μεθόδου τους είναι η περιστροφή ενός ατέρμονα κοχλία ο οποίος πιέζει συνεχώς την σταφυλομάζα προς την έξοδο στην οποία όμως εμποδίζεται η έξοδος τους. Το πιεστήριο διαθέτει αρκετές μικρές οπές που λειτουργούν ως έξοδοι παραλαβής του γλεύκους. Τα πιεστήρια αυτά έχουν το σημαντικό πλεονέκτημα της γρήγορης εξαγωγής του γλεύκους, ενώ παράλληλα είναι η οικονομικότερη διαδικασία πίεσης και παραλαβής γλεύκους. Το μεγάλο μειονέκτημά τους όμως είναι ότι αποτελεί την πιο βίαιη κατεργασία της σταφυλομάζας με μεγάλη παραγωγή οινολάσπης καθιστώντας τα, μη προτεινόμενα για την παραγωγή οίνων καλής ποιότητας.

2.2.3.4 Θείωση σταφυλομάζας

Η θείωση είναι η βασικότερη χημική επεξεργασία στη διαδικασία της οινοποίησης. Γίνεται μετά την έκθλιψη και αποβοστρύχωση, καθώς η σταφυλομάζα οδηγείται μέσω αντλιών σε δεξαμενές ζύμωσης. Δεν πρέπει να γίνεται πριν την εξαγωγή του χυμού των σταφυλιών, γιατί αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την επιτάχυνση της εκχύλισης, δίνοντας στο γλεύκος και κατ' επέκταση στον οίνο αυξημένη ποσότητα ταννινών προσδίδοντας έντονη στυφή γεύση. Η προσθήκη του θειώδους ανυδρίτη, ή αλλιώς διοξειδίου του θείου (SO_2), γίνεται με σκοπό την προστασία της σταφυλομάζας και εν συνεχεία του γλεύκους από μερικά ανεπιθύμητα βιολογικά και φυσικοχημικά φαινόμενα που λαμβάνουν μέρος στη φυσιολογική εξέλιξη της πορείας των συστατικών του σταφυλιού.

Η ποσότητα του προστιθέμενου διοξειδίου του θείου που θα επιλέξουμε, εξαρτάται από την κατάσταση των σταφυλιών από άποψη υγείας, τη θερμοκρασία αυτών και του περιβάλλοντος και την οξύτητα του γλεύκους, προσδίδοντάς μας ένα σύνολο θετικών εξελίξεων καθιστώντας το ευρέως χρησιμοποιούμενο για ένα μεγάλο εύρος χημικών επεξεργασιών που απαιτούνται.

Συνοψίζοντας, ο θειώδης ανυδρίτης μας προσφέρει τα εξής πλεονεκτήματα:

- Προστατεύει τη σταφυλομάζα, το γλεύκος και τον οίνο από την οξειδωση.
- Καταστρέφει ή αδρανοποιεί τις οξειδάσες.
- Εμποδίζει την ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών.
- Βελτιώνει τη γεύση και την οσμή του οίνου, δεσμεύοντας την—τυχόν παραγόμενη— ακεταλδεΐδη.
- Τονώνει και δραστηριοποιεί τις ζύμες, ευνοώντας την αλκοολική ζύμωση.
- Διευκολύνει την εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων από τα στέμφυλα στο γλεύκος.
- Χάρη στην αντιοξειδωτική του δράση επιτρέπει την μακροχρόνια ωρίμανση του οίνου σε βαρέλια, χωρίς να χάνει τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά.

Παρόλα, όμως, τα θετικά που μας προσφέρει η χρήση του θειώδους ανυδρίτη, δεν θα πρέπει σε καμία περίπτωση να γίνεται κατάχρηση αυτού καθώς μπορεί να έχουμε ανεπιθύμητα αποτελέσματα, όπως τη δυσάρεστη χαρακτηριστική οσμή και γεύση του διοξειδίου του θείου επισκιάζοντας τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, αλλά και την προσβολή της υγείας του καταναλωτή (Σουφλερός, 2012).

2.3 Αλκοολική ζύμωση

Το φαινόμενο της αλκοολικής ζύμωσης παρουσίασε μεγάλο ενδιαφέρον από την αρχαιότητα. Παρατηρήθηκε όταν γλεύκος που αφέθηκε χωρίς καμία επεξεργασία και παρέμβαση από τον άνθρωπο, παρουσίασε ένα φαινόμενο αντίδρασης που εκδηλώθηκε με έντονο αναβρασμό και είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας του, την απελευθέρωση αερίων (κυρίως CO₂) και τη μετατροπή των περιεχόμενων, σε αυτό, σακχάρων σε αλκοόλη. Εδώ και πολλά χρόνια έχει γίνει αντικείμενο αρκετών μελετών, με σοβαρές αντιπαραθέσεις σχετικά με τη φύση της αντίδρασης αυτής, μέχρι να ανακαλυφθούν οι ζυμομύκητες και ο ρόλος που παίζουν στη διαδικασία αυτή. Η βασική χημική εξίσωση που εκφράζει την παραγωγή αιθυλικής αλκοόλης από εξόζη μέσω της αλκοολικής ζύμωσης είναι η εξής:



Πλέον, η παρακολούθηση της αλκοολικής ζύμωσης γίνεται καθ' όλη τη διάρκειά της αποτελεσματικά με τη χρήση οργάνων για τη μέτρηση κάποιων από τους σημαντικότερους παράγοντες που παίζουν ρόλο στην ομαλή και επιθυμητή πορεία της, όπως θερμοκρασία και πυκνότητα, ώστε να πάρουμε όσο το δυνατόν γρηγορότερα το καλύτερο ποιοτικά και σε μεγάλη ποσότητα προϊόν.

2.3.1 Μέτρηση της θερμοκρασίας

Κατά την αλκοολική ζύμωση, η σταφυλομάζα που βρίσκεται στη δεξαμενή δεν είναι ομογενοποιημένη αλλά έχει χωριστεί σε φάσεις, όπως είναι η υπερκείμενη φάση όπου βρίσκονται κάποια επιπλέοντα στέμφυλα, η υγρή φάση που είναι το κύριο σώμα του μίγματος αυτού και αποτελείται από το γλεύκος, και η οινολάσπη που σιγά σιγά δημιουργείται στον πάτο του βαρελιού ή της δεξαμενής που γίνεται η ζύμωση, καθώς κατακάθονται στερεά όπως γίγαρτα, υπολείμματα βοστρύχων, νεκρά κύτταρα ζυμών, τα στερεά μέρη της σάρκας και ίσως κάποια στέμφυλα. Η θερμοκρασία διαφέρει στις διαφορετικές αυτές φάσεις όπως επίσης υπάρχει διαφορά θερμοκρασίας ανάμεσα στα σημεία της σταφυλομάζας που βρίσκονται κοντά στα τοιχώματα του βαρελιού ή της δεξαμενής και σε αυτά που βρίσκονται προς το κέντρο αυτού. Γι' αυτό, πριν από κάθε μέτρηση της θερμοκρασίας θα πρέπει να γίνεται ανακάτεμα της σταφυλομάζας ώστε να έχουμε μεγαλύτερη ακρίβεια και αντικειμενικότητα στα αποτελέσματα των μετρήσεων αυτών.

Στα πιο σύγχρονα οινοποιεία, βέβαια, υπάρχουν δεξαμενές ζύμωσης με ενσωματωμένα αναλογικά θερμομέτρα, ή ακόμα και ηλεκτρονικά τα οποία μπορούν να

συνδέονται με υπολογιστή, ώστε να μπορούμε να παρακολουθούμε συνεχώς την πορεία της θερμοκρασίας καθ' όλη τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Η ιδανική θερμοκρασία κατά τη ζύμωση στη λευκή οινοποίηση είναι 16-20° C, ενώ στην ερυθρή οινοποίηση 25-30° C.

2.3.2 Μέτρηση της πυκνότητας

Η πυκνότητα της σταφυλομάζας, δηλαδή η περιεκτικότητά της σε σάκχαρα ουσιαστικά, μετριέται σε όλη την πορεία της αλκοολικής ζύμωσης, από την παραλαβή της μετά το πιεστήριο μέχρι το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης. Πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης πραγματοποιούνται μετρήσεις με σακχαροδιαθλασίμετρο (Brix), τέτοιο που χρησιμοποιείται και για τη μέτρηση της περιεκτικότητας των σακχάρων στις ράγες όταν βρίσκονται ακόμα στο αμπέλι πριν τον τρυγητό, ως ένα κριτήριο για το στάδιο ωριμότητας των σταφυλιών. Ενώ οι μετρήσεις κατά τη διάρκεια της ζύμωσης πραγματοποιούνται με αραιόμετρα και πυκνόμετρα Baume λαμβάνοντας δείγμα από το μέσο της δεξαμενής ή του βαρελιού, σε συνδυασμό με μέτρηση της θερμοκρασίας ώστε να γίνει σωστά η μέτρηση με τη βοήθεια των πινάκων, καθώς τα όργανα είναι βαθμονομημένα σε συγκεκριμένη θερμοκρασία (συνήθως των 20° C).



Εικόνα 2.3 Σακχαροδιαθλασίμετρο τσέπης (αριστερά) και πυκνόμετρο με ενσωματωμένο θερμόμετρο (δεξιά)

2.3.3 Απομάκρυνση στεμφύλων

Τα στέμφυλα, αλλά και οι βόστρυχοι όταν αυτοί, ή μέρος αυτών, δεν έχουν αφαιρεθεί και παραμένουν στο γλεύκος οδηγούν στην αύξηση της συγκέντρωσης των ταννινών στο γλεύκος καθώς αυτές οι ουσίες εκχυλίζονται από τα στέμφυλα και τους βοστρύχους. Αντίστροφα, όσο περισσότερο καιρό παραμένουν οι βόστρυχοι και τα γίγαρτα στο γλεύκος μειώνονται οι ανθοκυάνες καθώς απορροφούνται από αυτά. Αυτό επηρεάζει κυρίως την ερυθρή οινοποίηση, η οποία πραγματοποιείται με την παρουσία των στεμφύλων στο γλεύκος, ώστε να λαμβάνονται οι ανθοκυάνες οι οποίες είναι οι χρωστικές ουσίες που

είναι υπεύθυνες για το ερυθρό χρώμα, καθώς επίσης και οι ταννίνες. Έχουν γίνει πολλές δοκιμές και ανάλογα με το τι κρασί θέλουμε να παράξουμε, μπορούμε να επιτύχουμε το επιθυμητό αποτέλεσμα αυξάνοντας ή μειώνοντας το χρόνο παραμονής των στερεών αυτών στο γλεύκος, αφαιρώντας ή όχι τους βοστρύχους κατά την έκθλιψη των ραγών, εφαρμόζοντας χαμηλότερες ή υψηλότερες θερμοκρασίες κατά τη ζύμωση για να επιτύχουμε πιο γρήγορο ή πιο αργό ρυθμό κάποιων διεργασιών όπως είναι η εκχύλιση, και άλλες.

Γενικά στη λευκή οινοποίηση τα στέμφυλα δεν παραμένουν αρκετά στο γλεύκος ιδίως όταν γίνεται με ερυθρά σταφύλια, καθώς υπάρχει κίνδυνος να αρχίσει η εκχύλιση των χρωστικών που βρίσκονται στο φλοιό, με αποτέλεσμα τη μη επιθυμητή χρώση του γλεύκους. Στην ερυθρή οινοποίηση, ανάλογα με το πόσο έντονο και σκούρο χρώμα θέλουμε να πετύχουμε, τόσο περισσότερο πρέπει να αυξήσουμε το χρόνο εκχύλισης ή την ταχύτητα αυτής, αυξάνοντας τη θερμοκρασία η οποία λειτουργεί καταλυτικά σε τέτοιου είδους αντιδράσεις. Στην περίπτωση της ερυθρωπής οινοποίησης (ροζέ), ο χρόνος παραμονής και η ένταση της εκχύλισης πρέπει να γίνεται με συστηματική παρακολούθηση του γλεύκους ώστε να πετύχουμε την επιθυμητή χρώση χωρίς να μας «ξεφύγει» και χρωματιστεί περισσότερο με αποτέλεσμα να πάρουμε έναν ερυθρό οίνο.

Ο διαχωρισμός των στεμφύλων από το γλεύκος γίνεται με μετάγγιση (τράβηγμα) του γλεύκους σε άλλη δεξαμενή ή βαρέλι όπου θα παραμείνει μέχρι το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης, εάν αυτή συνεχίζεται ακόμα. Ανάλογα με το στάδιο που βρίσκεται η αλκοολική ζύμωση, αναφέρονται τρεις περίοδοι όπου μπορεί να γίνει η απομάκρυνση των στεμφύλων ώστε να έχουμε το ανάλογο επιθυμητό αποτέλεσμα:

- Πριν το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης. Μετά από 3-4 μέρες συμπαραμονής στεμφύλων – γλεύκους, για την παραγωγή οίνων κοινής κατανάλωσης.
- Κατά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης. Για την παραγωγή οίνων υψηλής ποιότητας.
- Μερικές μέρες μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης. Για οίνους που προορίζονται για παλαίωση.

Τα στέμφυλα, καθώς και τα υπόλοιπα στερεά που παίρνουν μέρος ή προκύπτουν κατά την οινοποίηση, όπως η οινολάσπη, κ.λπ., μπορούν να οδηγηθούν σε καζάνια και μετά την αραίωσή τους με νερό να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της απόσταξης ώστε να παραχθεί το τσίπουρο/τσικουδιά.

2.3.4 Τερματισμός ζύμωσης

Ο τερματισμός της αλκοολικής ζύμωσης μπορεί να γίνει με φυσικό ή και τεχνητό τρόπο. Ο τερματισμός με φυσικό τρόπο γίνεται όταν, θεωρητικά, όλα τα σάκχαρα του γλεύκους καταναλωθούν από τους σακχαρομύκητες, οι οποίοι έχουν παράξει το μέγιστο δυνατό, με φυσικό τρόπο, αλκοολικό τίτλο. Στην πραγματικότητα πάντα παραμένει ένα μικρό ποσοστό αζύμων σακχάρων, το οποίο όμως είναι ασήμαντο και δεν επηρεάζει την επιθυμητή σύσταση του παραγόμενου οίνου και αδύνατον να προξενήσει περεταίρω βιοχημικές διεργασίες σε αυτόν. Ο τερματισμός με τεχνητό τρόπο γίνεται για την παραγωγή γλυκών ή ημίγλυκων οίνων με σκοπό να παραμείνουν αζύμωτα σάκχαρα ώστε να προσδώσουν τη γλυκιά γεύση, αλλά θα πρέπει να έχει προχωρήσει μέχρι ένα σημείο και η αλκοολική ζύμωση ώστε να έχουμε τον επιθυμητό αλκοολικό τίτλο. Αυτό επιτυγχάνεται με την ψύξη του γλεύκους σε θερμοκρασίες κάτω των 8-10°C, με θέρμανση στους 45°C, με προσθήκη αλκοόλης, προσθήκη διοξειδίου του θείου (SO₂), κ.α., μέθοδοι οι οποίες αποσκοπούν στην αδρανοποίηση ή καταστροφή των ζυμομυκήτων.

Μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης παίρνουν μέρος διάφορες διεργασίες για τη σταθεροποίηση του οίνου και για την αποφυγή εμφάνισης διαφόρων ασθενειών. Γενικά, η βασικότερη επεξεργασία του οίνου είναι η διαύγαση για την αποφυγή θολωμάτων, η οποία γίνεται με πολλούς τρόπους όπως για παράδειγμα, με κολλάρισμα, με φιλτράρισμα-διήθηση, με φυγοκέντριση κ.λπ. Η βασικότερη και πιο συχνή ασθένεια που μπορεί να παρουσιαστεί σε έναν οίνο είναι η οξική ζύμωση που έχει ως αποτέλεσμα τη μετατροπή του οίνου σε ξύδι. Αυτό προκύπτει από την ανάπτυξη του βακτηρίου *Acetobacter*, του οποίου η ενζυμική δράση, παρουσία οξυγόνου, οξειδώνει την παραχθείσα αιθυλική αλκοόλη μετατρέποντάς την σε οξικό οξύ. Η ασθένεια αυτή είναι αναστρέψιμη στο αρχικό της στάδιο, πραγματοποιώντας παστερίωση του οίνου, που έχει ως αποτέλεσμα όμως την ποιοτική υποβάθμισή του. Η σωστή και έγκαιρη θείωση του οίνου προλαμβάνει τέτοιου είδους ασθένειες.

Για να κερδίσει προστιθέμενη αξία και μία ιδιαίτερη ποιότητα οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, κάποιοι οίνοι έχουν τη δυνατότητα να οδηγηθούν σε δρύινα βαρέλια και να υποστούν παλαίωση.

2.4 Διαφορές βιομηχανικής και παραδοσιακής απόσταξης

Βιομηχανική απόσταξη

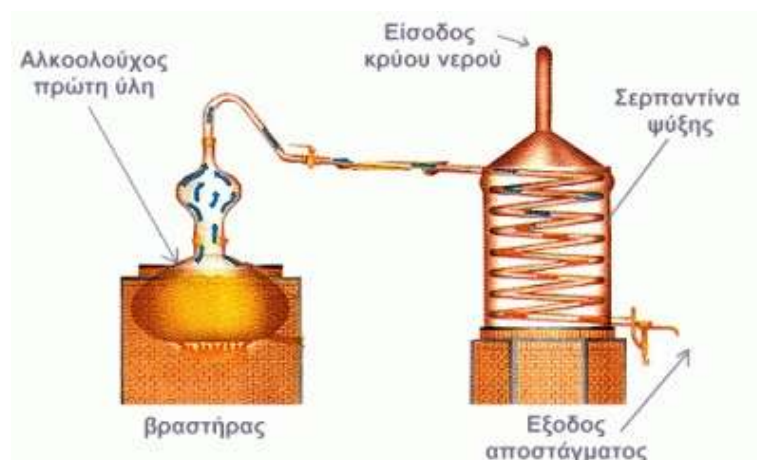
Στις βιομηχανικές μονάδες απόσταξης χρησιμοποιούνται μεγάλα χάλκινα καζάνια χωρητικότητας 1300 L, κλασματικής απόσταξης, με ενσωματωμένο θερμόμετρο και μανόμετρο (όργανο που μετράει την πίεση). Πολλά καζάνια διαθέτουν πλέον και στήλη απομεθυλίωσης για την απομάκρυνση της μεθυλικής αλκοόλης (μεθανόλη). Η απόσταξη γίνεται με προσθήκη ποσότητας νερού στα στερεά υπολείμματα της οινοποίησης (οινολάσπη, γίγαρτα, στέμφυλα, βόστρυχοι, κ.α.). Συνήθως πραγματοποιείται μονή απόσταξη, ενώ κάποιες φορές και διπλή (καθώς αυτή επιτρέπεται), κυρίως όταν γίνεται προσθήκη γλυκάνισου και άλλων αρωματικών ουσιών. Η θέρμανση του καζανιού γίνεται με φιάλες προπανίου ή με φυσικό αέριο και η ψύξη και υγροποίηση των υδρατμών γίνεται καθώς αυτοί περνούν μέσα από χάλκινο σπειροειδή σωλήνα, ο οποίος βρίσκεται μέσα σε ένα μεγάλο κυλινδρικό δοχείο που περιέχει κρύο νερό (κάποιες φορές και πάγο), με αποτέλεσμα, μέχρι οι υδρατμοί να φτάσουν στην έξοδο του σωλήνα και να υγροποιηθούν πλήρως χωρίς να έχουμε απώλειες πτητικών ουσιών. Το τελικό προϊόν, μετά από την απαιτούμενη αραίωση με νερό, θα έχει αλκοολικό τίτλο 38-42% vol.

Σε αρκετά αποστακτήρια βιομηχανικών μονάδων χρησιμοποιούνται πλέον συνεχείς στήλες απόσταξης, αντικαθιστώντας την μέχρι πρότινος μοναδική μέθοδο απόσταξης σε παρτίδες. Η αρχή της μεθόδου αυτής είναι ότι καθώς το συνεχώς τρεχούμενο υγρό που περνάει μέσα από στήλη που θερμαίνεται, οι πτητικές ουσίες διαχωρίζονται από την κορυφή της στήλης και στη συνέχεια υγροποιούνται παρόμοια με την παλαιότερη μέθοδο, ενώ τα υπολείμματα και το ίζημα διαχωρίζονται στη βάση. Για τον καλύτερο διαχωρισμό των ουσιών αυτών, ένα μέρος του αποστάγματος επαναφέρεται στη στήλη, ενώ ένα μέρος των υπολειμμάτων εξατμίζεται από έναν βραστήρα και ανατροφοδοτείται στη βάση της στήλης (Αρβανιτογιάννης και Στρατάκος, 2011).

Παραδοσιακή απόσταξη

Η διαδικασία αυτή, που λαμβάνει χώρα κυρίως σε επαρχιακές πόλεις και χωριά, διαφέρει από τόπο σε τόπο σε πολλά από τα στάδια της διαδικασίας όπως για παράδειγμα με τι τρόπο γίνεται το πάτημα των σταφυλιών, αν γίνεται απομάκρυνση των βοστρύχων ή όχι, κ.α. Βασική διαφορά είναι σαφώς και η επιλογή της πρώτης ύλης, η οποία καθορίζει και σε πολύ μεγάλο βαθμό το τελικό προϊόν. Η επιλογή αυτή γίνεται ανάλογα με τις ποικιλίες που ευδοκούν στην εκάστοτε περιοχή, αλλά και ανάλογα με την απόδοση που έχουν στην

παραγωγή τσίπουρου. Ίσως η βασικότερη διαφορά, που επηρεάζει και το τελικό προϊόν, να είναι ο αριθμός των αποστάξεων που πραγματοποιούνται για την παραγωγή του τσίπουρου, αλλά και το αν θα προηγηθεί παραγωγή οίνου ή όχι. Στα περισσότερα χωριά τις Ηπείρου αλλά και σε ορισμένα χωριά των Τρικάλων και της Κατερίνης πραγματοποιείται διπλή απόσταξη, ενώ στην ανατολική και νότια Θεσσαλία, καθώς και στο μεγαλύτερο μέρος της Μακεδονίας πραγματοποιείται μονή απόσταξη. Άλλη σημαντική διαφορά, που όμως δεν παίζει κάποιο σημαντικό ρόλο στο τελικό προϊόν, είναι ο τύπος του καζανιού στο οποίο πραγματοποιείται η απόσταξη. Οι δύο τύποι καζανιών που χρησιμοποιούνται διαφέρουν ουσιαστικά στο καπάκι και στον ψυκτήρα. Το καζάνι τύπου λουλά, χρησιμοποιείται, πλέον, κυρίως στην Ήπειρο και στο μεγαλύτερο μέρος της Κρήτης, καθώς στην Θεσσαλία και την Μακεδονία έχει αντικατασταθεί από τα καζάνια με τόξο. Η διαφορά είναι ότι στα πρώτα καζάνια (τύπου λουλά) η ψύξη και υγροποίηση των υδρατμών γίνεται μέσα στον κύλινδρο (μανίκι) το οποίο διαθέτει εσωτερικό τοίχωμα. Τα παλιά μανίκια ήταν χωρισμένα στα δύο, με ένα τοίχωμα κατά μήκος αυτού, δημιουργώντας έναν θάλαμο επάνω και έναν κάτω. Από τον κάτω διέρχονταν οι υδρατμοί ενώ από τον πάνω, με αντίθετη ροή, το κρύο νερό για να ψύχει τους πρώτους. Τα καινούρια μανίκια είναι δύο κύλινδροι, ουσιαστικά ομόκεντροι, ο ένας μέσα στον άλλον. Από τον εσωτερικό κύλινδρο διέρχονται οι υδρατμοί, ενώ από τον εξωτερικό το κρύο νερό (με αντίθετη ροή). Στα καζάνια με τόξο, οι υδρατμοί ακολουθούν μία διαδρομή μέσα από χάλκινο τοξοειδή σωλήνα για να καταλήξουν σε μία σπειροειδής σωλήνα (σερπαντίνα ψύξης) στο εσωτερικό ενός χάλκινου «ψυγείου» από το οποίο διέρχεται συνεχώς κρύο νερό (κάποιες φορές τοποθετούνται και παγάκια μέσα σε αυτό). Και σε αυτήν την περίπτωση καζανιού, το σχήμα του «τόξου» αλλά και του «ψυγείου» με την σερπαντίνα ψύξης ποικίλει.



Εικόνα 2.4 Απεικόνιση καζανιού με τόξο

Η καταγραφή της παραδοσιακής διαδικασίας της απόσταξης έγινε με προσωπική παρακολούθηση και συμμετοχή σε όλα τα στάδια της παραγωγής τσίπουρου, από τον τρύγο έως και την παραλαβή του τελικού προϊόντος, από μικρούς αμπελοπαραγωγούς και αποσταγματοποιούς της περιοχής των Τζουμέρκων. Το σημείο στο οποίο θα εστιάσουμε όμως είναι η απόσταξη. Η απόσταξη γίνεται σε χάλκινους άμβυκες χωρητικότητας το πολύ μέχρι 130 L (βάσει νόμου που ισχύει για τους μικρούς/διήμερους τσιπουροπαραγωγούς). Στην απόσταξη συμμετέχει, εκτός από τα στερεά που έχουν προκύψει κατά την οينوποίηση (οινολάσπη, γίγαρτα, στέμφυλα, βόστρυχοι, κ.α.) και όλο το γλεύκος, το κρασί ουσιαστικά που έχει παραχθεί κατά την αλκοολική ζύμωση, καθώς αυτό δεν απομακρύνεται ώστε να παραχθεί κάποιος οίνος. Με αυτόν τον τρόπο δεν χρειάζεται να προσθέσουμε καθόλου νερό για να διευκολύνουμε την διαδικασία της απόσταξης. Οι περισσότεροι υποστηρίζουν πως με αυτόν τον τρόπο παράγεται ανώτερης ποιότητας τσίπουρο καθώς στο τελικό προϊόν, πέραν των πτητικών ουσιών που υπάρχουν στα στερεά υπολείμματα, θα έχουμε και τις πτητικές και τις αρωματικές ουσίες που υπάρχουν στο γλεύκος δίνοντας πιο πλούσια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Το παραγόμενο, από αυτή τη διαδικασία, τσίπουρο είναι ανώτερης ποιότητας καθώς ο τρόπος παραγωγής του μοιάζει αρκετά και με τον τρόπο παραγωγής brandy, το οποίο θεωρείται ένα ιδιαίτερα ποιοτικό αλκοολούχο ποτό το οποίο παράγεται από την απόσταξη οίνου.

Η θέρμανση γίνεται είτε με ξύλα είτε με φιάλες προπανίου για τον καλύτερο και πιο σωστό έλεγχο της έντασης της φωτιάς. Η ψύξη των υδρατμών γίνεται καθώς αυτοί περνούν μέσα από το «μανίκι», μία χάλκινη σωλήνα με διπλό τοίχωμα, από το εσωτερικό της οποίας περνάνε οι υδρατμοί, ενώ από το εξωτερικό, με αντίθετη ροή από αυτή των υδρατμών, περνάει κρύο νερό ώστε να ψύχονται αποτελεσματικά, έχοντας τη μικρότερη δυνατή απώλεια πτητικών ουσιών. Οι τσιπουροπαραγωγοί κάνουν ένα είδος κλασματικής απόσταξης με εμπειρικό τρόπο, χωρίζοντας το απόσταγμα σε «κεφαλή», «καρδιά» και «ουρά» της απόσταξης. Η κεφαλή πετιέται καθώς είναι το πρώτο τμήμα που θα αποστάξει και το οποίο είναι πλούσιο σε μεθανόλη η οποία δεν είναι επιθυμητή στο τελικό προϊόν. Η καρδιά είναι το κύριο μέρος της απόσταξης και κρατιέται όλο. Η ουρά είναι το τέλος της απόσταξης και είθισται να το ξεχωρίζουν και να το ρίχνουν στην επόμενη καζανιά με το υπόλοιπο μίγμα και στο τέλος απορρίπτεται. Η απόσταξη συνεχίζεται κατά παρτίδες μαζεύοντας το προϊόν της πρώτης απόσταξης σε δοχεία, και αφού τελειώσουν τα προς απόσταξη στερεά και γλεύκος, το καζάνι καθαρίζεται καλά και ακολουθεί η δεύτερη απόσταξη. Αυτή τη φορά στην

απόσταξη θα μετέχει μόνο το καλό κλάσμα της προηγούμενης απόσταξης, δηλαδή οι «καρδιές» που έχουν συλλεχθεί.

Η πρώτη απόσταξη διαρκεί περίπου δύο ώρες και δίνει εννέα με δώδεκα κιλά ανά καζάνι, ενώ η δεύτερη απόσταξη θα διαρκέσει περίπου τρεις ώρες και τριάντα λεπτά και έχει απόδοση 22-25 κιλά ανά καζάνι. Το τελικό απόσταγμα (μετά και τη δεύτερη απόσταξη) έχει αλκοολικό τίτλο 67-70% vol ή αλλιώς 25-27 γράδα. Αφού παραμείνει αρκετές ώρες, ή ακόμα και μερικές μέρες σε γυάλινα δοχεία ώστε το απόσταγμα να «έρθει» σε θερμοκρασία δωματίου και να έχουμε πιο σωστές μετρήσεις, γίνεται πάλι μέτρηση του αλκοολικού βαθμού και αραιώνεται με βραστό ή πολλές φορές ακόμα και με απεσταγμένο νερό το οποίο είτε είναι βρόχινο είτε έχει συλλεχθεί από πηγή, μέχρι τελικής περιεκτικότητας σε αλκοόλη 50-55% vol (περίπου 19,5-21 γράδα) στους 20° C.



Εικόνα 2.5 Χάλκινο καζάνι με καπάκι τύπου «λουλά» (αριστερά), χάλκινο μανίκι (δεξιά)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

3.1 Εισαγωγή

Χρωματογραφία είναι η τεχνική που χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των επιμέρους ουσιών ενός διαλύματος, οι οποίες κατανέμονται μεταξύ δύο φάσεων, τη στατική και την κινητή φάση. Αυτές οι δύο φάσεις θα πρέπει να μην αναμιγνύονται μεταξύ τους και να μην αλληλοεπιδρά η μία με την άλλη. Η στατική φάση μπορεί να είναι σε στερεή ή υγρή μορφή και μπορεί να βρίσκεται σε στήλη ως στιβάδα (πληρωμένη στήλη) ή υμένιο (τριχοειδής στήλη). Η κινητή φάση μπορεί να είναι σε υγρή ή αέρια μορφή (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001).

3.2 Διαχωρισμός χρωματογραφικών τεχνικών

Η χρωματογραφική τεχνική που επιλέγεται κάθε φορά για μία ανάλυση, εξαρτάται από την επιλογή των δύο φάσεων αλλά και το είδος των δυνάμεων που ασκούνται στις δύο φάσεις ανάλογα με την εκάστοτε, προς ανάλυση, ουσία. Ο διαχωρισμός και η ταξινόμηση των τεχνικών χρωματογραφίας δύναται να επιτευχθεί με διάφορα κριτήρια όπως τα παρακάτω.

3.2.1 Βάσει του μηχανισμού διαχωρισμού

Ανάλογα με το μηχανισμό διαχωρισμού που, κατά κύριο λόγο, λαμβάνει χώρα, έχουν προκύψει πέντε βασικά είδη χρωματογραφίας:

1. **Χρωματογραφία Προσρόφησης.** Είναι η πιο παλιά μορφή χρωματογραφίας. Με αυτήν, ο διαχωρισμός των συστατικών γίνεται με την προσρόφηση αυτών, στην επιφάνεια της στατικής φάσης που αποτελείται από στερεά σωματίδια. Η κινητή φάση μπορεί να είναι τόσο υγρή όσο και αέρια.
2. **Χρωματογραφία Κατανομής.** Σε αυτήν, η στατική φάση είναι σε υγρή μορφή, σχηματίζοντας ένα λεπτό υμένιο στην επιφάνεια του στερεού υποστρώματος. Τα συστατικά του διαλύματος βρίσκονται σε ισορροπία ανάμεσα στις δύο φάσεις. Και σε αυτή την περίπτωση η κινητή φάση μπορεί να είναι είτε υγρή, είτε αέρια.
3. **Χρωματογραφία Ιοντοανταλλαγής.** Με αυτή την τεχνική, τυχόν ιόντα που υπάρχουν στο μίγμα, έλκονται με ηλεκτροστατικές δυνάμεις από αντίθετα φορτισμένα ιόντα όπου έχουν δεσμευτεί στη στατική φάση με ομοιοπολικούς

δεσμούς. Η στατική φάση είναι στερεή και συνήθως είναι ρητίνη, ενώ η κινητή φάση είναι υγρή.

4. **Χρωματογραφία Μοριακού Αποκλεισμού ή Διαπίδωσης Πηκτής.** Σε αυτή τη χρωματογραφία η στατική φάση είναι στερεή και έχει τη μορφή πορώδους πηκτής (γέλης/gel). Ο διαχωρισμός των συστατικών γίνεται ανάλογα με το μέγεθός τους. Αυτά με το μεγαλύτερο μέγεθος προχωρούν ταχύτερα καθώς δεν εισέρχονται στο πλέγμα της πηκτής, ενώ τα μικρότερου μεγέθους συστατικά επιβραδύνουν καθώς περνούν μέσα από αυτό. Όσο πιο μικρό είναι ένα συστατικό, τόσο περισσότερο θα καθυστερήσει να εξέλθει από τη στήλη της στερεής φάσης. Η κινητή φάση μπορεί να είναι υγρή ή αέρια.
5. **Χρωματογραφία Συγγένειας.** Είναι η πιο εκλεκτική χρωματογραφική τεχνική και η πιο σύγχρονη. Τα μόρια της στατικής φάσης είναι ακινητοποιημένα με ομοιοπολικούς δεσμούς και το κάθε ένα δεσμεύει συγκεκριμένα συστατικά της κινητής φάσης. Με την πλύση της στατικής φάσης, μένουν σε αυτήν μόνο τα επιθυμητά συστατικά.

3.2.2 Βάσει του είδους της κινητής φάσης

Η χρωματογραφία χωρίζεται σε δύο βασικές κατηγορίες ανάλογα με τη φύση της κινητής φάσης:

- **Υγρή Χρωματογραφία.** Στην οποία ως κινητή φάση χρησιμοποιείται διαλύτης (οργανικός ή ανόργανος), ή μίγμα διαλυτών.
- **Αέρια Χρωματογραφία.** Στην οποία ως κινητή φάση χρησιμοποιείται αδρανές αέριο (π.χ.: άζωτο, υδρογόνο, ήλιο, κ.λπ.).

3.2.3 Βάσει της διάταξης της στατικής φάσης

Μία άλλη σημαντική διαφοροποίηση των χρωματογραφικών τεχνικών, είναι η διάταξη της στατικής φάσης. Σε αυτή την περίπτωση, χωρίζουμε τις χρωματογραφίες σε δύο είδη:

- **Επίπεδη Χρωματογραφία** (π.χ.: χαρτογραφία χάρτου ή λεπτής στιβάδας).
- **Χρωματογραφία Στήλης** (π.χ.: αέρια ή υγρή χρωματογραφία).

3.2.4 Άλλοι διαχωρισμοί των χρωματογραφικών τεχνικών

Πέρα από τις βασικές κατηγορίες διαχωρισμού των χρωματογραφικών τεχνικών υπάρχουν και κάποιες ακόμα τεχνικές που τις διαφοροποιούν ανάλογα με:

- a. Τη διεργασία ανάπτυξης**, που χωρίζεται σε τρία είδη χρωματογραφίας:
 - i. Χρωματογραφία Εκλούσης
 - ii. Χρωματογραφία Αντικατάστασης
 - iii. Χρωματογραφία Μετωπικής Ανάλυσης
- b. Την κλίμακα εφαρμογής**, που ανάλογα με το πεδίο εφαρμογής διακρίνεται σε δύο είδη χρωματογραφίας, την:
 - i. Αναλυτική Χρωματογραφία
 - ii. Παρασκευαστική Χρωματογραφία

Πίνακας 3.1 Ταξινόμηση των βασικών τεχνικών χρωματογραφίας

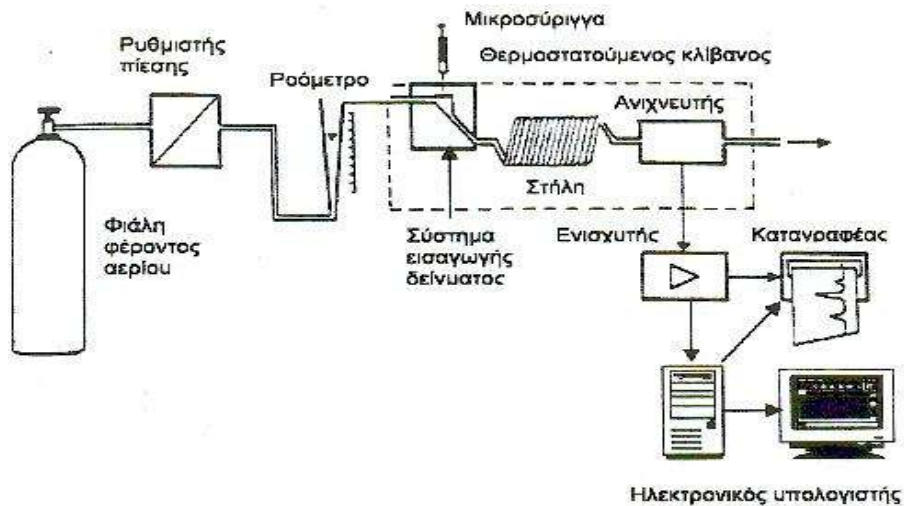
Κινητή Φάση	Στατική Φάση	Μηχανισμός	Μορφή στατικής Φάσης	Τεχνική Χρωματογραφίας
Υγρό	Στερεό	Προσρόφηση	Στήλη	Χρωματογραφία προσρόφησης σε στήλη
			Λεπτή στιβάδα	Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας
			Χάρτης	Χρωματογραφία προσρόφησης σε χάρτη
		Ιονανταλλαγή	Στήλη	Χρωματογραφία ιονανταλλαγής σε στήλη
			Χάρτης	Χρωματογραφία ιονανταλλαγής σε χάρτη
		Μοριακός Αποκλεισμός	Στήλη	Υγρή – στερεή χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού
	Συγγένεια	Στήλη	Χρωματογραφία συγγένειας	
	Υγρό	Κατανομή	Στήλη	Χαρτογραφία κατανομής σε στήλη
			Χάρτης	Χαρτογραφία κατανομής σε χάρτη
	Αέριο	Στερεό	Προσρόφηση	Στήλη
Μοριακός Αποκλεισμός			Στήλη	Αέρια – στερεή χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού
Υγρό		Κατανομή	Στήλη (πληρωμένη ή τριχοειδής)	Αέρια – υγρή χρωματογραφία ή απλώς αέρια χρωματογραφία

3.3 Αέρια χρωματογραφία

Η αέρια χρωματογραφία αναπτύχθηκε ως αναλυτική τεχνική περίπου τα τελευταία εξήντα χρόνια. Η τεχνική αυτή είναι σχετικά απλή, αν συγκριθεί με ανάλογες τεχνικές χημικές ανάλυσης και με μεγάλες δυνατότητες εφαρμογής. Η αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιείται σήμερα για την ανάλυση πτητικών ουσιών σε τρόφιμα, φάρμακα, προϊόντα πετρελαίου, βιομηχανίες αρωματοποιίας κ.τ.λ. (Παπαδόγιάννης και Σαμανίδου, 2001). Η αέρια χρωματογραφία είναι η κυριότερη τεχνική για το διαχωρισμό και την ανάλυση πτητικών ενώσεων. Έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση αέριων, υγρών και στερεών ουσιών, οι οποίες συνήθως διαλύονται σε πτητικούς διαλύτες. Επίσης μπορεί να αναλύσει οργανικές και ανόργανες ουσίες με μοριακά βάρη τα οποία κυμαίνονται μεταξύ 2 έως και πάνω από 1000 Daltons. Οι αέριοι και οι υγροί χρωματογράφοι είναι τα πλέον ευρύτερα αναλυτικά όργανα στον κόσμο (Καψημάλη, 2008).

Η αέρια χρωματογραφία είναι εκείνη η μορφή χρωματογραφίας στην οποία το αέριο είναι η κινητή φάση. Η βασική αρχή ενός αέριου χρωματογράφου είναι ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος λόγω της πτητικότητάς τους, από ένα θερμαινόμενο στόμιο εισαγωγής (injector), σε μια ειδική στήλη, με βάση το χρόνο και την ανίχνευση κάθε συστατικού από έναν ανιχνευτή. Ένα σημαντικό τμήμα του αέριου χρωματογράφου είναι η χρήση ενός φέροντος αερίου για τη μεταφορά του δείγματος από τον εισαγωγέα, μέσω της στήλης, στον ανιχνευτή. Η στήλη, τριχοειδής ή πληρωμένη, περιέχει ένα επίστρωμα στατικής φάσης. Ο διαχωρισμός των συστατικών καθορίζεται από τη κατανομή κάθε συστατικού μεταξύ του φέροντος αερίου (κινητή φάση) και της στατικής φάσης. Ένα συστατικό που "ξοδεύει" λίγο χρόνο στη στατική φάση θα εκλουστεί γρήγορα από το φέρον αέριο.

Το φέρον αέριο (συνήθως ήλιο, άζωτο, αργό, υδρογόνο) βρίσκεται σε φιάλη υψηλής πίεσης και μέσα από ρυθμιστές παροχής, οδηγείται στη στήλη, η οποία είναι και το σημαντικότερο μέρος της αέριας χρωματογραφίας μαζί με τον ανιχνευτή. Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται στην κορυφή της στήλης συνήθως με μικροσύριγγα. Τα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται από το φέρον αέριο κατά μήκος της στήλης και διαχωρίζονται. Τα κλάσματα στη συνέχεια ανιχνεύονται από τον ανιχνευτή και τα σήματα της ανίχνευσης καταγράφονται από το καταγραφικό ή οδηγούνται σε μικροϋπολογιστή που είναι ενσωματωμένος δίπλα στον κλίβανο του αέριου χρωματογράφου ή και πολλές φορές σε υπολογιστή συνδεδεμένο με τον GC. Σε ορισμένες περιπτώσεις, στη συνέχεια υπάρχει μία διάταξη όπου συλλέγονται τα διάφορα κλάσματα και τέλος ένα ρόμετρο για τον έλεγχο της ταχύτητας ροής του φέροντος αερίου (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001).



Εικόνα 3.1 Η διάταξη ενός αερίου χρωματογράφου

3.3.1 Είδη αέριας χρωματογραφίας

Στην αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιούνται προς ανάλυση δείγματα οργανικών και ανόργανων πτητικών ενώσεων που είναι θερμικά σταθερές. Ανάλογα με το είδος της στατικής φάσης της στήλης του αερίου χρωματογράφου, μπορούμε να χωρίσουμε την αέρια χρωματογραφία σε δύο κατηγορίες:

- **Στερεά Αέρια Χρωματογραφία**, είναι αυτή που η στήλη είναι πληρωμένη από στερεό υλικό με ενεργή επιφάνεια και ο διαχωρισμός των συστατικών του μίγματος γίνεται με την προσρόφηση αυτών από την ενεργή επιφάνεια της στερεής στατικής φάσης της στήλης.
- **Υγρή Αέρια Χρωματογραφία**, είναι αυτή που η στατική φάση της στήλης είναι ένα στερεό επικαλυμμένο από ένα υγρό. Τα συστατικά του αερίου μίγματος, διαχωρίζονται μέσα στη στήλη λόγω της διαφοράς των συντελεστών κατανομής τους, ανάμεσα στην υγρή επικάλυψη της στερεής στατικής φάσης και την αέρια κινητή φάση. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγγένεια ανάμεσα στα συστατικά του μίγματος και τη στατική φάση, τόσο μεγαλώνει ο χρόνος συγκράτησης των συστατικών.

3.3.2 Ανάλυση δειγμάτων

Υπάρχουν διάφοροι τύποι συστημάτων εισαγωγής δειγμάτων διαθέσιμων για την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία. Η χρησιμοποιούμενη συσκευή εισαγωγής δειγμάτων εξαρτάται από την εφαρμογή.

3.3.2.1 Υγρά δείγματα

Τα υγρά δείγματα εισάγονται συνήθως μέσα στη στήλη διαμέσου ενός διαφράγματος, το οποίο βρίσκεται στην είσοδο του οργάνου και σε όγκους 1 μL με μια μικροσύριγγα. Το φέρον αέριο οδηγεί το δείγμα στη στήλη και με σωστά σχεδιασμένες συνθήκες πίεσης, παροχής του φέροντος αερίου και θερμοκρασίας, το δείγμα εξατμίζεται και διαχωρίζεται μέσα στη στήλη. Άλλος, επίσης πολύ ικανοποιητικός διαχωρισμός, γίνεται όταν το δείγμα εισάγεται στη στήλη ως μια ταινία. Για να γίνει σωστά η εξάχνωση και για τον καλύτερο διαχωρισμό του δείγματος, πρέπει να γίνεται με απότομη θέρμανση της βαλβίδας εισαγωγής του δείγματος.

Υπάρχουν αρκετές τεχνικές για την εισαγωγή υγρών δειγμάτων στη στήλη του αερίου χρωματογράφου. Οι κυριότερες αναλύονται στη συνέχεια:

- I. **Σύστημα άμεσης έγχυσης.** Με τη μέθοδο αυτή, το δείγμα εγχέεται άμεσα επάνω στη στήλη χρησιμοποιώντας μια μικρή βελόνα συριγγών. Προφανώς, αυτή η τεχνική είναι ευκολότερο να χρησιμοποιηθεί σε στήλες αερίου χρωματογράφου με μεγαλύτερη διάμετρο, αλλά οι σύγχρονοι αέριοι χρωματογράφοι μπορούν να ελέγξουν ακριβώς τη διαδικασία εγχύσεων πάνω στη στήλη, συμπεριλαμβανομένου του αυτόματου ελέγχου της θέρμανσης και της ψύξης του εγχυτήρα. Αυτή η μέθοδος ανάλυσης δίνει καλά ποσοτικά αποτελέσματα και είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για ενώσεις με ποικίλα σημεία ζέσεως και θερμικά ασταθή δείγματα. Με αυτήν την τεχνική, ένα σύντομο τμήμα, του χωρίς επίστρωση πεπληρωμένου τριχοειδούς σωλήνα πυριτίου, παρεμβάλλεται συχνά μεταξύ της θέσης εγχύσεων και της τριχοειδούς αναλυτικής στήλης. Η βραδεία εισαγωγή υπερβολικής ποσότητας δείγματος οδηγεί σε διεύρυνση ζωνών και σε κακό διαχωρισμό. Η συνηθέστερη τεχνική έγχυσης είναι η έγχυση του υγρού ή αερίου δείγματος με μικροσύριγγα, μέσω ενός αυτοσφραγιζόμενου ελαστικού διαφράγματος σιλικόνης (septum). Το δείγμα εισέρχεται από το στόμιο εισόδου στο χώρο ταχείας εξάτμισης, που βρίσκεται στην κεφαλή της στήλης (η θερμοκρασία του χώρου αυτού είναι τουλάχιστον 50° C πάνω από το σημείο ζέσεως του λιγότερου πτητικού συστατικού

του δείγματος). Για τις κοινές αναλυτικές στήλες η ποσότητα του δείγματος κυμαίνεται από λίγα δέκατα του μικρόλιτρου έως 10 μL . Οι τριχοειδείς στήλες απαιτούν πολύ μικρότερα δείγματα. Για την περίπτωση αυτή χρησιμοποιείται σύστημα διαμοιραστή για την εισαγωγή στην κεφαλή της στήλης μικρού μόνο κλάσματος του εγγεόμενου δείγματος, ενώ το υπόλοιπο οδηγείται στα απόβλητα.

- II. Εισαγωγή δείγματος με διαχωρισμό ροής (Split Injection).** Με την εφαρμογή διαχωρισμού ροής, το εγγεόμενο δείγμα ατμοποιείται στο ρεύμα του φέροντος αερίου και ένα τμήμα του δείγματος και του διαλύτη κατευθύνονται πάνω στην κεφαλή της στήλης. Το υπόλοιπο εξατμίζεται γιατί σε αντίθετη περίπτωση θα οδηγούσε σε υπερφόρτωση της στήλης. Η χαρακτηριστική αναλογία split κυμαίνεται από 10:1 σε 100:1 (Κασημάλη, 2008).
- III. Εισαγωγή του δείγματος χωρίς διαχωρισμό ροής (Splitless Injection).** Στην έγχυση χωρίς διαχωρισμό ροής όλο το δείγμα εξατμίζεται και συμπυκνώνεται στις πρώτες στροφές της τριχοειδούς στήλης. Υψηλή ροή φέροντος αερίου που εισάγεται μέσω εξωτερικής βαλβίδας στη συνέχεια καθαρίζει με εξαερισμό το σύστημα εισαγωγής του δείγματος. Η έγχυση χωρίς διαχωρισμό ροής, επομένως, συγκεντρώνει το δείγμα στην αρχή της κρύας στήλης και απορρίπτει το μεγαλύτερο μέρος του πτητικού διαλύτη. Για αυτόν το λόγο και επειδή μεγάλα ποσά δείγματος μπορούν να εγχυθούν, η έγχυση χωρίς διαχωρισμό ροής χρησιμοποιείται για την ιχνοανάλυση. Η splitless μέθοδος δεν συστήνεται για μεγάλο εύρος δειγμάτων εάν απαιτείται ποσοτικός προσδιορισμός. Για καλύτερα αποτελέσματα, το σημείο ζέσεως του διαλύτη πρέπει να είναι τουλάχιστον 20°C μικρότερο από το μικρότερο σημείο ζέσεως των συστατικών του δείγματος. Αν και η splitless έγχυση είναι η συνιστώμενη μέθοδος για τις ιχνοανάλυσεις απαιτεί τη βελτιστοποίηση τέτοιων παραμέτρων όπως για παράδειγμα τη θερμοκρασία των στηλών. Γενικά η τεχνική αυτή προτιμάται για αραιά δείγματα (Κασημάλη, 2008).
- IV. Αυτόματος δειγματολήπτης.** Στο εμπόριο υπάρχει μια σειρά διατάξεων που επιτρέπει την αυτόματη εισαγωγή αέριων, υγρών και στερεών δειγμάτων. Οι διατάξεις αυτές ρυθμίζονται να εισάγουν αυτόματα μικροποσότητες δείγματος σε ορισμένα χρονικά διαστήματα, να ρυθμίζουν τον προγραμματισμό της θερμοκρασίας αυτόματα και να ψύχουν τη στήλη (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001).
- V. Εγχυτήρες που ρυθμίζουν τον προγραμματισμό της θερμοκρασίας.** Ο εγχυτήρας που ρυθμίζει τον προγραμματισμό της θερμοκρασίας κρατιέται κοντά στο σημείο

ζέσεως του διαλύτη μετά από την έγχυση του δείγματος. Η θερμοκρασία φθάνει στην επιθυμητή μέγιστη θερμοκρασία, η οποία είναι κανονικά υψηλότερη από αυτή ενός ισόθερμου (σταθερή θερμοκρασία) εγχυτήρα. Δεδομένου ότι τα συστατικά των δειγμάτων ατμοποιούνται, μεταφέρονται στην αρχή της στήλης. Αυτή η τεχνική είναι μια παραλλαγή της άμεσης έγχυσης, αλλά μειώνει τη διεύρυνση των κορυφών που συχνά παρατηρείται με εγχύσεις απ' ευθείας στη στήλη (Καψημάλη, 2008).

3.3.2.2 Αέρια δείγματα

Η βαλβίδα εισαγωγής αέριου δείγματος χρησιμοποιείται και για ποιοτική και για ποσοτική ανάλυση αερίων δειγμάτων. Η βαλβίδα περιέχει ένα βρόχο γνωστού όγκου στον οποίο μπορεί το αέριο να ρέει όταν η βαλβίδα είναι στη θέση δειγματοληψίας. Με την αλλαγή της βαλβίδας στην προς ανάλυση θέση, το αέριο μέσα στο βρόχο μεταφέρεται από το φέρον αέριο στη στήλη του αέριου χρωματογράφου. Οι βαλβίδες δειγματοληψίας αερίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μειωμένη πίεση και για την ανάλυση υγρών δειγμάτων με χαμηλό σημείο ζέσεως που ατμοποιούνται σε μειωμένες πιέσεις:

- i. **Δειγματοληψία από υπερκείμενη αέρια φάση (headspace sampling)** για πτητικά συστατικά από πολύπλοκα υποστρώματα π.χ. βιολογικά υγρά, περιβαλλοντικά δείγματα κ.α.
- ii. **Διατάξεις παγίδευσης (purge and trap)** για πτητικά στατικά που παγιδεύονται σε πορώδη πολυμερή υποστρώματα και διατηρούνται μέχρι να εκροφηθούν θερμικά (Καψημάλη, 2008).

3.3.2.3 Συσκευές συγκέντρωσης για την έγχυση δειγμάτων

Αυτές οι συσκευές προσαρτώνται στο σύστημα εισόδου της αέριας χρωματογραφίας με σκοπό τη συγκέντρωση των οργανικών ουσιών από μεγάλα αέρια ή υγρά δείγματα. Οι περισσότερες από αυτές τις συσκευές παγιδεύουν τις οργανικές ουσίες επάνω στα προσροφητικά ή/και τα πορώδη πολυμερή σώματα. Το δείγμα εκροφάται θερμικά επάνω στη κεφαλή μιας στήλης με το αντίστροφο ξέπλυμα από το φέρον αέριο. Πολλές φορές ένα απλό στάδιο ψύξης είναι επαρκές για να παγιδέψει τις πτητικές ουσίες που εκροφώνται από τη γρήγορη αύξηση της θερμοκρασίας στη συσκευή παγίδευσης.

3.4 Οργανολογία αέριου χρωματογράφου

3.4.1 Φέρον αέριο

Ως φέρον αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε αέριο σε υπερκάθαρη κατάσταση, το οποίο μπορεί να διαχωριστεί στον ανιχνευτή από τα διάφορα συστατικά του μίγματος. Τα ιδανικότερα αέρια για την χρήση αυτή είναι το υδρογόνο, το ήλιο, το άζωτο και το αργό. Το φέρον αέριο πρέπει να είναι αδρανές και απαλλαγμένο από προσμίξεις. Επίσης δεν πρέπει να υπάρχει οξυγόνο γιατί οξειδώνει τη στατική φάση που έχει ως αποτέλεσμα την καταστροφή της στήλης. Αυτό συμβαίνει σε πιο μεγάλο βαθμό και πιο γρήγορο ρυθμό όταν έχουμε τριχοειδή στήλη και η ποσότητα της στατικής φάσης δεν είναι μεγάλη, ώστε να καλύπτει όσο το δυνατόν περισσότερο τα τοιχώματα της στήλης. Επίσης καταστροφή της στήλης μπορεί να προκληθεί από την παρουσία υγρασίας. Για αυτό, το φέρον αέριο θα πρέπει να είναι απαλλαγμένο και από τυχόν υγρασία. Ο παράγοντας που καθορίζει το είδος του αερίου που θα επιλέξουμε, εξαρτάται από τον τύπο του ανιχνευτή που χρησιμοποιούμε. Η πίεση και η ταχύτητα της παροχής του φέροντος αερίου, ρυθμίζεται από ειδικές βαλβίδες και ροόμετρα.

3.4.2 Στήλη

Το βασικότερο μέρος ενός αέριου ή υγρού χρωματογράφου είναι η στήλη. Οι στήλες που χρησιμοποιούνται είναι γεμισμένες με διάφορα υλικά ανάλογα με τα συστατικά που θέλουμε να διαχωρίσουμε. Το σχήμα τους έχει ελικοειδή μορφή και η διάμετρος του είναι πάρα πολύ μικρή. Το υλικό τους μπορεί να είναι ανοξειδωτος χάλυβας, χαλκός, αργίλιο, γυαλί ή πλαστικό και το μήκος τους κυμαίνεται από 1-2 m για της πληρωμένες στήλες, ενώ για τις τριχοειδείς στήλες μπορεί να φτάσει αρκετά εκατοντάδες μέτρα, με διάμετρο 0,2 mm μέχρι 0,8 mm. Η στήλη περιέχει ένα λεπτό στρώμα μιας μη πτητικής χημικής ουσίας που είναι είτε επιστρωμένη επάνω στα τοιχώματα της στήλης (τριχοειδείς στήλες) είτε επιστρωμένη επάνω σε ένα αδρανές στερεό που προστίθεται έπειτα στη στήλη (πεπληρωμένες στήλες). Το δείγμα (όγκου περίπου 1μL) εισάγεται στο ρεύμα του φέροντος αερίου, στην αρχή της στήλης με μια μικροσύριγγα, διαμέσου μιας ελαστικής πλακέτας (septum) ή μιας βαλβίδας. Η ταχύτητα και η ικανότητα διαχωρισμού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, για αυτό ο φούρνος στον οποίο βρίσκεται μέσα η στήλη, είναι μεγάλης ακρίβειας ώστε να έχουμε επαναλήψιμες συνθήκες και αποτελέσματα. Ο διαχωρισμός γίνεται λόγω των διαφορετικών δυνάμεων συγκράτησης και έκλουσης μεταξύ των συστατικών του δείγματος, του υλικού πλήρωσης της στήλης και της ροής του φέροντος αερίου. Τα συστατικά του εγχεόμενου δείγματος μεταφέρονται στην αρχή της στήλης από το φέρον αέριο

και επιβραδύνουν επιλεκτικά από τη στατική φάση. Η θερμοκρασία του φούρνου στον οποίο βρίσκεται η στήλη, αυξάνεται συνήθως με ρυθμό 4-20° C/min έτσι ώστε σε υψηλότερη θερμοκρασία και τα λιγότερο πτητικά συστατικά να απελευθερωθούν διαδοχικά. Η αέρια χρωματογραφία περιορίζεται στις ενώσεις που είναι πτητικές ή μπορούν να γίνουν πτητικές και είναι αρκετά σταθερές για να διατρέξουν στη στήλη του αέριου χρωματογράφου.

Η επιλογή της στήλης εξαρτάται από το προς ανάλυση δείγμα αλλά και από την πείρα του χειριστή του αέριου χρωματογράφου. Γενικά όταν έχουμε να αναλύσουμε πολικές ενώσεις, καλύτερα να επιλέξουμε στήλες με πολικό υλικό πλήρωσης, ενώ αν έχουμε να αναλύσουμε μη πολικές ενώσεις είναι προτιμότερη η χρήση στηλών με μη πολικό υλικό πλήρωσης. Η ανάλυση με αέρια χρωματογραφία στηρίζεται στην ικανότητα της στήλης να διαχωρίζει τα διάφορα συστατικά των ουσιών που την διαπερνούν.

3.4.2.1 Τριχοειδής στήλη

Υπάρχουν διάφορα είδη τριχοειδών στηλών. Κάποιοι από τους βασικούς τύπους είναι: οι στήλες με επικάλυψη τοιχωμάτων (WCOT) και οι στήλες με επικάλυψη υλικού στήριξης (SCOT). Οι τριχοειδείς στήλες με επικάλυψη τοιχωμάτων έχουν εσωτερικό τοίχωμα επικαλυμμένο με λεπτό στρώμα υγρής στατικής φάσης. Στις στήλες με επικάλυψη υλικού στήριξης, το εσωτερικό τοίχωμα της τριχοειδούς στήλης καλύπτεται από ένα λεπτό υμένιο υλικού στήριξης, όπου εκεί τοποθετείται η υγρή στατική φάση. Αυτός ο τύπος συγκρατεί πολλαπλάσια ποσότητα στατικής φάσης και για αυτό χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη χωρητικότητα δείγματος. Επίσης, υπάρχει άλλος ένας βασικός τύπος που μοιάζει με τον δεύτερο, όπου πάνω στην στήλη υπάρχει μία πορώδη επίστρωση από στερεά σωματίδια στην στατική φάση.

Οι πρώτες στήλες WCOT κατασκευάστηκαν από ανοξείδωτο χάλυβα, αλουμίνιο, χαλκό και στη συνέχεια από ύαλο. Οι νεότερες στήλες είναι στήλες ανοιχτού σωλήνα τηγμένης πυριτίας (FSOT). Κατασκευάζονται με εφελευσμό τήγματος πυριτίας ειδικής καθαρότητας που περιέχει ελάχιστα ποσά μεταλλικών οξειδίων. Οι στήλες αυτές έχουν εσωτερική διάμετρο 100 μm έως 320 μm και πολύ λεπτότερα τοιχώματα από τις γυάλινες. Τελευταία, άρχισε η διάθεση τριχοειδών στηλών με διάμετρο 530 μm (στήλες megabore) που μπορούν να δεχθούν δείγματα παρόμοιου μεγέθους με εκείνα των πληρωμένων στηλών (Καψημάλη, 2008).



Εικόνα 3.2 Αριστερά: εξωτερική μορφή στήλης. Δεξιά: διατομές τριών ειδών τριχοειδούς στήλης

Τα πλεονεκτήματα των τριχοειδών στηλών είναι:

1. Μεγάλος αριθμός θεωρητικών πλακών (μέχρι 500.000 σε σχέση με τις στήλες πλήρωσης 20.000).
2. Μικρότερη ποσότητα δείγματος (ng).
3. Μικρότερος χρόνος έκλουσης και ανάλυσης.
4. Μικρότερες θερμοκρασίες διαχωρισμού (20° C).
5. Η εξέλιξη της τεχνολογίας επιτρέπει διαχωρισμό ουσιών που δε θα μπορούσαν να διαχωριστούν.
6. Με 3-4 στήλες μπορούν να διαχωριστούν οποιοσδήποτε ενώσεις.
7. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για σύζευξη με ανιχνευτές για ταυτοποίηση των ενώσεων.
8. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν στήλες μεγάλου μήκους για να επιτευχθεί μεγάλη διαχωριστική ικανότητα.
9. Όρια ανίχνευσης περίπου ίδια, αλλά με σημαντικά μικρότερη ποσότητα δείγματος.
10. Μεγαλύτερη ευελιξία στην επιλογή ταχύτητας ροής του φέροντος αερίου.

3.4.2.2 Στήλες πλήρωσης

Οι στήλες πλήρωσης κατασκευάζονται από γυάλινους σωλήνες, μεταλλικούς (από ανοξείδωτο χάλυβα, χαλκό, αλουμίνιο) ή πλαστικούς (από teflon) με μήκος 2-3m και εσωτερική διάμετρο 2-4 mm. Οι σωλήνες αυτοί γεμίζονται πυκνά με ένα λεπτό και ομοιόμορφο κονιοποιημένο πληρωτικό υλικό (υλικό στήριξης), το οποίο είναι καλυμμένο με ένα λεπτό στρώμα στατικής φάσης.

3.4.2.3 Μικροστήλες υλικού πλήρωσης

Οι μικροστήλες υλικού πλήρωσης συνδυάζουν τις ιδιότητες των τριχοειδών στηλών με ανοιχτά άκρα και των στηλών με υλικό πλήρωσης. Έχουν εσωτερική διάμετρο 1 mm και φέρουν υλικό πλήρωσης της ίδιας πυκνότητας με τις κανονικές.

3.4.3 Υγρή στατική φάση

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται ως στατικές φάσεις χαρακτηρίζονται από χημική και θερμική σταθερότητα. Συνήθως οι συνθήκες λειτουργίας που επιλέγονται είναι 10-15° C χαμηλότερες από το ανώτατο όριο των υγρών φάσεων, ώστε να αποφεύγεται η εξάτμιση της υγρής στατικής φάσης, να αυξάνεται το όριο ζωής της στήλης και να διατηρείται σταθερή η βασική γραμμή του ανιχνευτή. Οι μη-πολικές φάσεις είναι λιγότερο επιρρεπείς σε «διαρροές» από τις πολικές φάσεις. Γενικά μία λεπτή στατική φάση (0,1 μm) είναι καλύτερη για ενώσεις με υψηλά σημεία ζέσεως και μία πιο παχιά στατική φάση (1,0 μm) παρέχει καλύτερη συγκράτηση σε ενώσεις με χαμηλότερα σημεία ζέσεως.

3.4.4 Φούρνος

Οι ποιοτικές και ποσοτικές πληροφορίες που παίρνουμε από μία ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο εξαρτώνται από την απόλυτη επαναληψιμότητα των δεδομένων των χρόνων συγκράτησης. Αυξάνοντας τη θερμοκρασία κατά 30 °C, μπορούμε να επιτύχουμε υποδιπλασιασμό στο χρόνο συγκράτησης του κάθε συστατικού του δείγματος. Για αυτό, ο φούρνος πρέπει να έχει μεγάλη ακρίβεια, με μικρό σφάλμα της τάξεως του 0,1 °C. Επίσης κατά την πορεία της ανάλυσης, η θερμοκρασία θα πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο σταθερή γίνεται. Ο φούρνος στον οποίο θα τοποθετηθεί η στήλη θα πρέπει να μπορεί να παίρνει τιμές από 45 έως 250° C. Ακόμα, θα πρέπει όλες οι συνθήκες που παίρνουν μέρος σε μία ανάλυση να είναι οπωσδήποτε επαναλήψιμες. Για αυτό οι φούρνοι που χρησιμοποιούνται είναι ηλεκτρονικοί με καλό εξαερισμό και ελεγχόμενοι από υπολογιστές.

3.4.5 Μήκος και διάμετρος στήλης

Για να αυξήσουμε την απόδοση μίας στήλης, θεωρητικά θα αρκούσε να αυξήσουμε το μήκος της. Αυτό όμως δεν είναι δυνατόν να γίνει από ένα σημείο και έπειτα, καθώς όσο το μήκος της στήλης μεγαλώνει, τόσο θα πρέπει να αυξάνουμε και την πίεση του φέροντος αερίου, ώστε να διατηρηθεί στο βέλτιστο επίπεδο η ταχύτητα ροής. Έτσι, το μέγιστο μήκος που μπορούν να έχουν οι στήλες πλήρωσης είναι 5,5m ενώ το υλικό πλήρωσης θα πρέπει να έχει όσο το δυνατόν μικρότερες διαστάσεις.

Η μικρή εσωτερική διάμετρος σε μία στήλη ελαχιστοποιεί τα φαινόμενα διάχυσης που έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη ικανότητα της στήλης. Για το λόγο αυτό οι στήλες που χρησιμοποιούνται ευρέως έχουν εσωτερική διάμετρο 2 ή 4 mm. Τελικά αυτό που ρυθμίζει την χωρητικότητα της στήλης και καθορίζει την ποσότητα του δείγματος που μπορούμε να εισάγουμε, είναι το υλικό πλήρωσης, καθώς είναι απευθείας ανάλογο με το μέγεθος της διαμέτρου της στήλης. Στην πραγματικότητα, οι στήλες που χρησιμοποιούνται είναι μεγαλύτερης διαμέτρου με ειδικές διατάξεις για τη συλλογή του δείγματος, δίνοντάς μας τη δυνατότητα για περεταίρω ποιοτική ανάλυση ή τη συλλογή καθαρών ενώσεων (παρασκευαστική χρωματογραφία). Όσο αυξάνεται η εσωτερική διάμετρος της στήλης, αυξάνεται και η ποσότητα του δείγματος που εισέρχεται σε αυτή, που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του αριθμού των αναλύσεων που απαιτούνται για τη συλλογή μιας ποσότητας ενός κλάσματος. Όμως, αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ικανότητας της στήλης λόγω διάχυσης και μεταβολής του πορώδους κατά μήκος της στήλης, καθώς επίσης η διαδικασία αυτή είναι και χρονοβόρα.

3.4.6 Ποσότητα υγρής στατικής φάσης

Ο κυριότερος παράγοντας που επηρεάζει την ποσότητα της στατικής φάσης που θα εμποτιστεί με το υλικό πλήρωσης της στήλης, είναι η φύση του υλικού αυτού. Στις περιπτώσεις που το υλικό πλήρωσης είναι γυάλινα σφαιρίδια, το ποσοστό της στατικής φάσης που μπορεί να συγκρατηθεί είναι μόνο 5% w/w. Ενώ άλλα υλικά έχουν ικανότητα συγκράτησης μέχρι και 40% w/w. Επίσης, η ποσότητα της υγρής στατικής φάσης που επιλέγεται για την κάλυψη του υλικού πλήρωσης, εξαρτάται αποκλειστικά από το δείγμα που πρόκειται να αναλυθεί. Άρα, στις περιπτώσεις που θέλουμε να αναλύσουμε ενώσεις με μεγάλο μοριακό βάρος, επιλέγουμε μικρές ποσότητες στατικής φάσης, της τάξεως του 1-5% w/w του υλικού πλήρωσης, αλλά θα πρέπει να προσέχουμε το ενδεχόμενο της πλήρους απενεργοποίησής του, λόγω μικρού πάχους, με αποτέλεσμα ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων. Συνήθως χρησιμοποιείται μεγαλύτερη ποσότητα στατικής φάσης (5-10% w/w), ώστε να εξασφαλίσουμε μεγαλύτερο εύρος ανάλυσης.

3.4.7 Πορώδη πολυμερή

Τα πορώδη πολυμερή χρησιμοποιούνται ως υλικό πλήρωσης της στήλης και μπορούν να τοποθετηθούν μόνα τους, απευθείας πάνω στο εσωτερικό της στήλης, είτε σε συνδυασμό με υγρή στατική φάση και έχουν την μορφή «χάντρας». Τα πολυμερή αυτά,

χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο στην ανάλυση υδατικών διαλυμάτων, καθώς επίσης και σε αναλύσεις ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους.

3.4.8 Συστήματα ανίχνευσης

Ένα μεγάλο πλεονέκτημα της GC είναι η ποικιλία των ανιχνευτών που είναι διαθέσιμοι. Αυτοί περιλαμβάνουν τους καθολικούς ανιχνευτές, όπως οι ανιχνευτές ιοντισμού φλόγας και οι εκλεκτικοί ανιχνευτές, όπως οι φωτομετρικοί και θερμοϊοντικοί ανιχνευτές φλογών. Οι περισσότερο χρησιμοποιούμενοι ανιχνευτές, αποκλείοντας το φασματόμετρο μάζας περιγράφονται στα εξής τμήματα.

Ο ιδανικός ανιχνευτής ενός αερίου χρωματογράφου θα πρέπει να διαθέτει:

1. Ικανοποιητική ευαισθησία.

Οι ευαισθησίες των σύγχρονων ανιχνευτών κυμαίνονται στη περιοχή των 10^{-8} - 10^{-15} g ουσίας/s.

2. Σταθερότητα και επαναληψιμότητα.
3. Γραμμική απόκριση.
4. Περιοχή θερμοκρασιών λειτουργίας από τη θερμοκρασία δωματίου μέχρι τουλάχιστον 400° C.
5. Σύντομους χρόνους απόκρισης ανεξάρτητους από τη ταχύτητα ροής.
6. Εξαιρετική αξιοπιστία και ευκολία στη χρήση.
7. Παρόμοια απόκριση προς όλες τις διαχωριζόμενες ουσίες ή εκλεκτική απόκριση προς τη προσδιοριζόμενη ουσία.
8. Να μην καταστρέφει το δείγμα.

3.4.8.1 Ανιχνευτές ιοντισμού φλόγας (F.I.D.)

Οι περισσότερες οργανικές ενώσεις όταν πυρολυθούν στη θερμοκρασία φλόγας υδρογόνου / αέρα, παράγουν ιόντα και ηλεκτρόνια, τα οποία άγουν τον ηλεκτρισμό μέσω της φλόγας. Μεταξύ του ακροφύσιου του καυστήρα και ενός ηλεκτροδίου – συλλέκτη πάνω ακριβώς από τη φλόγα εφαρμόζεται διαφορά δυναμικού. Ο ανιχνευτής δεν αποκρίνεται καθόλου σε μη καύσιμα αέρια (Καψημάλη, 2008). Ο ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας χρησιμοποιείται στις περισσότερες διατάξεις αέριας χρωματογραφίας και αυτό γιατί έχει χαμηλό όριο ανίχνευσης (10^{-9} g) και ανιχνεύει ουσιαστικά όλες τις οργανικές ενώσεις. Οι ανιχνευτές αυτοί δεν μπορούν να ανιχνεύσουν τις παρακάτω ενώσεις: He, Ne, Ar, Kr, Xe, O₂, N₂, NO, NO₂, N₂O, NH₃, H₂, H₂O, H₂S, CO, CO₂, COS, CS₂, SO₂, HCOOH, HCHO και πτητικές ανόργανες ενώσεις. Έτσι, ο ανιχνευτής αυτός είναι γενικής χρήσης και μας δίνει τη

δυνατότητα να χρησιμοποιήσουμε νερό ή διθειάνθρακα ως διαλύτες (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001).

Οι ιδιότητες αυτές καθιστούν τον FID ένα πολύ χρήσιμο γενικό ανιχνευτή για ανάλυση των περισσότερων οργανικών δειγμάτων, περιλαμβανόμενων και εκείνων που έχουν «μολυνθεί» με νερό και με οξείδια του αζώτου και του θείου. Ο FID έχει μεγάλη ευαισθησία (10^{-13} g/s), μεγάλη γραμμική περιοχή (10^7) και χαμηλό θόρυβο (Καψημάλη, 2008).

3.4.8.2 Ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (TCD)

Ένας από τους πρώτους ανιχνευτές της αέριας χρωματογραφίας, με μεγάλο εύρος εφαρμογών είναι ο ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας. Βασίζεται στις μεταβολές που προκαλεί η παρουσία μορίων αναλύτη στη θερμική αγωγιμότητα ενός ρεύματος αερίου. Συχνά ο ανιχνευτής αυτός αναφέρεται και ως καθαρόμετρο. Το θερμαινόμενο στοιχείο είναι ένα λεπτό σύρμα λευκόχρυσου, χρυσού ή βολφραμίου ή ένα ημιαγώγιμο θερμίστορ. Χρησιμοποιούνται δύο ζεύγη στοιχείων. Το ένα ζεύγος τοποθετείται στη ροή του εκλούσματος από τη στήλη και το άλλο στη ροή αερίου πριν από την εισροή του στο θάλαμο έγχυσης του δείγματος. Τα στοιχεία αυτά αναφέρονται ως «δείγμα» και «αναφορά». Μέχρις ότου το μίγμα να φτάσει στον ανιχνευτή, μέσα από τα κανάλια περνάει καθαρό φέρον αέριο. Στο κύκλωμα υπάρχει ισορροπία, καθώς η θερμοκρασία είναι η ίδια και στις τέσσερις αντιστάσεις. Όταν το δείγμα αρχίσει να εκλύεται, θα υπάρξει μείωση της θερμικής αγωγιμότητας με αποτέλεσμα τη διατάραξη της ισορροπίας, παράγοντας κάποιο δυναμικό που μπορεί να καταγραφεί και να μετρηθεί. Οι πρώτοι ανιχνευτές θερμικής αγωγιμότητας, έδιναν σταθερή ροή ρεύματος ή σταθερό δυναμικό, αλλά είχαν δύο μεγάλα μειονεκτήματα. 1^{ov}: οι αντιστάσεις ανέπτυσαν μεγάλη θερμοκρασία με αποτέλεσμα την καταστροφή της γραμμικότητας, και 2^{ov}: η τυχόν διακοπή της ροής του φέροντος αερίου, είχε ως αποτέλεσμα την υπερθέρμανση και την καταστροφή των αντιστάσεων. Οι σύγχρονοι ανιχνευτές διαθέτουν πηγές ενέργειας που ρυθμίζουν αυτόματα τη θερμοκρασία των αντιστάσεων, προστατεύοντας τους από τυχόν υπερθέρμανση (Καψημάλη, 2008) και (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001).

Τα πλεονεκτήματα του ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας είναι η απλότητα του, η μεγάλη δυναμική περιοχή (10^5), η γενική απόκριση του σε οργανικές και ανόργανες ουσίες και ο μη καταστρεπτικός χαρακτήρας του. Μειονέκτημα του καθαρομέτρου είναι η περιορισμένη ευαισθησία (10^{-8} g ουσίας/mL φέροντος αερίου).

3.4.8.3 Ανιχνευτές σύλληψης ηλεκτρονίου (E.C.D.)

Είναι από τους ευρύτερα διαδεδομένους ανιχνευτές για περιβαλλοντικά δείγματα εξαιτίας της εκλεκτικότητας του στις αλογονούχες ενώσεις όπως φυτοφάρμακα και πολυχλωριωμένα διφαινύλια. Ο E.C.D. λειτουργεί κατά τρόπο ανάλογο με τον αναλογικό απαριθμητή. Ένα ηλεκτρόνιο από τη ραδιενεργό πηγή προκαλεί ιοντισμό του φέροντος αερίου και την παραγωγή ενός σμήνους ηλεκτρονίων. Ο ανιχνευτής δέσμευσης ηλεκτρονίων είναι εκλεκτικός ως προς την απόκριση του και ιδιαίτερα ευαίσθητος σε μόρια που περιέχουν αλογόνα, υπεροξειδικούς δεσμούς, κινόνες και νιτροενώσεις. Αντίθετα δεν αποκρίνεται σε αμίνες, αλκοόλες και υδρογονάνθρακες (Καψημάλη, 2008).

3.4.8.4 Ανιχνευτής πλάσματος (P.D.)

Στον ανιχνευτή αυτό, το έκλουσμα εισάγεται σε πλάσμα ηλίου ενεργοποιημένο με μικροκύματα, το οποίο είναι συζευγμένο με συστοιχία διόδων φασματόμετρου οπτικής εκπομπής. Η συστοιχία διόδων (ρυθμιζόμενης θέσης) μπορεί να παρακολουθεί 2-4 στοιχεία σε κάθε θέση. Προς το παρόν το λογισμικό που προσφέρεται μαζί με τον ανιχνευτή επιτρέπει μέτρηση της συγκέντρωσης 15 στοιχείων.

3.4.8.5 Ανιχνευτής χημειοφωταύγειας θείου (S.C.D.)

Ο ανιχνευτής αυτός βασίζεται στην αντίδραση μεταξύ ορισμένων ενώσεων του θείου με όζον. Η ένταση της παραγόμενης χημειοφωταύγειας είναι ανάλογη της συγκέντρωσης σε θείο και ο ανιχνευτής αυτός αποδείχθηκε χρήσιμος για προσδιορισμούς ρυπαντών, όπως είναι οι μερκαπτάνες. Στον S.C.D. έκλουσμα αναμιγνύεται με υδρογόνο και αέρα και καίγεται. Τα παραγόμενα αέρια αναμιγνύονται με όζον και μετρείται η ένταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001).

3.4.8.6 Φωτομετρικός ανιχνευτής φλόγας (F.P.D.)

Ο φωτομετρικός ανιχνευτής φλόγας χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό ρυπαντών του αέρα και των υδάτων, φυτοφαρμάκων και προϊόντων υδρογόνωσης του άνθρακα. Πρόκειται για εκλεκτικό ανιχνευτή που ανταποκρίνεται κυρίως σε θειούχες και φωσφορούχες ενώσεις. Το έκλουσμα εισάγεται σε φλόγα χαμηλής θερμοκρασίας υδρογόνου / αέρα, όπου μέρος του φωσφόρου μετατρέπεται σε σωματίδια HPO , τα οποία εκπέμπουν ζώνες ακτινοβολίας με κορυφές στα μήκη κύματος 510-526 nm. Παράλληλα το θείο μετατρέπεται σε S_2 , το οποίο εκπέμπει ζώνη ακτινοβολίας με κορυφή στα 394 nm.

3.4.8.7 Θερμοϊοντικοί ανιχνευτές (T.I.D.)

Ο T.I.D. είναι εκλεκτικός προς τις οργανικές ενώσεις που περιέχουν φώσφορο και άζωτο. Η απόκριση τους προς ένα άτομο φωσφόρου είναι περίπου 10 φορές μεγαλύτερη από την απόκριση προς ένα άτομο αζώτου και 104-106 φορές σε σχέση με ένα άτομο άνθρακα.

3.4.8.8 Συνδυασμός ανιχνευτών στην αέρια χρωματογραφία

Στα παραπάνω παραδείγματα ανιχνευτών, θεωρείται ότι χρησιμοποιείται ο εκάστοτε ανιχνευτής κάθε φορά για την ανάλυση του δείγματος. Θα ήταν όμως δυνατή η χρήση δύο ανιχνευτών ταυτόχρονα ώστε να παίρναμε συνδυαστικά πληροφορίες από δύο ανιχνευτές σε μία ανάλυση. Ένας συνηθισμένος συνδυασμός ανιχνευτών για την ανάλυση μιγμάτων, είναι η χρήση ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (F.I.D.) και ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (T.C.D.).

3.4.8.9 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της αέριας χρωματογραφίας

- **Πλεονεκτήματα:** 1) Γρήγορη ανάλυση, συνήθως μερικά λεπτά
2) Αποτελεσματικότητα, παρέχοντας υψηλό διαχωρισμό
3) Ευαισθησία, εύκολη ανίχνευση σε ppm
4) Μη καταστρεπτική
5) Δυνατή η on-line σύζευξη π.χ. με το φασματοόμετρο μάζας
6) Ιδιαίτερα ακριβής ποσοτική ανάλυση
7) Απαιτεί μικρό όγκο δειγμάτων, συνήθως σε μL
8) Αξιόπιστη και σχετικά απλή
9) Σχετικά οικονομική

Γενικά, η αναλυτική μέθοδος με τη χρήση αέριου χρωματογράφου υπερτερεί έναντι όλων των άλλων στον παράγοντα «χρόνος ανάλυσης», καθώς είναι η ταχύτερη μέθοδος. Επίσης, λόγω της εξαιρετικής ποιοτικής και ποσοτικής ανάλυσης που εκτελεί, είναι ευρέως διαδεδομένη για ένα μεγάλο πλήθος αναλύσεων. Διαθέτει υπερευαίσθητους ανιχνευτές που δίνουν αξιόπιστες ποσοτικές αναλύσεις σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα και σχετικά μικρό κόστος.

Έχει αντικαταστήσει την κλασματική μέθοδο για την ανάλυση πτητικών ουσιών, καθώς έχει το μεγάλο πλεονέκτημα ότι ο διαχωρισμός των ουσιών σε μία ανάλυση, γίνεται, πέραν λόγω της πτητικότητας των ουσιών, αλλά και την σχέση αυτών με την στατική φάση της στήλης, δίνοντας μας πιο ακριβή αποτελέσματα. Επιπλέον, εκμηδενίζονται τα προβλήματα

που προκύπτουν σε μία ανάλυση από την ύπαρξη αζεοτροπικού μίγματος, επιτυγχάνοντας πολύ καλύτερο διαχωρισμό των ουσιών.

- **Μειονεκτήματα:** 1) Περιορίζεται στα πτητικά δείγματα
2) Μη κατάλληλη για τα θερμικά ασταθή δείγματα
3) Αρκετά δύσκολη για τα μεγάλα, παρασκευαστικά δείγματα
4) Απαιτεί φασματοσκοπία, συνήθως φασματοσκοπία μάζας, για την επιβεβαίωση της ταυτότητας

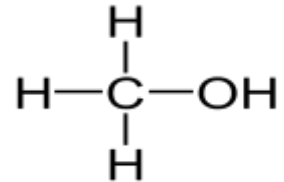
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΜΕΘΑΝΟΛΗ

4.1 Γενικά

Η μεθανόλη, ή αλλιώς μεθυλική αλκοόλη, είναι μία οργανική χημική ένωση άνθρακα, οξυγόνου και υδρογόνου. Ο χημικός τύπος της είναι ο CH_4O , ενώ συχνά συναντάται και ένας σύντομος συντακτικός τύπος που είναι ο CH_3OH , ο οποίος γράφεται και με την συντομογραφία MeOH . Παλαιότερα ήταν γνωστή ως «ξυλόπνευμα» (wood alcohol) επειδή αρχικά παράγονταν κυρίως από την ξηρή απόσταξη, η αλλιώς «πυρόλυση» του ξύλου. Σε εργαστηριακό κυρίως επίπεδο παράγεται από μονοξείδιο του άνθρακα, διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο, δηλαδή καταλυτική υδρογόνωση του CO_2 και του CO (Barceloux et al., 2002) και (Jadhav et al., 2014), ενώ ένας άλλος αποδοτικός αλλά ακριβός τρόπος που παράγουν μεθανόλη οι βιομηχανίες, είναι από μεθάνιο το οποίο διέρχεται από μίγμα αέριων καταλυτών, όπως μονοξείδιο του άνθρακα (CO) και μόρια υδρογόνου (H_2). Έρευνες όμως έχουν γίνει και για πιο απλές και οικονομικές μεθόδους που ακόμα δεν έχουν εφαρμοστεί σε βιομηχανικό επίπεδο, όπως η απ' ευθείας οξείδωση του μεθανίου και τη χρήση του αέριου μίγματος καταλυτών (CO και H_2) για την παραγωγή καθαρής μεθανόλης (da Silva, 2016). Σε βιομηχανικό επίπεδο, η μεθανόλη παράγεται με μία εξέλιξη της μεθόδου που ανέπτυξαν δύο Γερμανοί χημικοί, οι Alwin Mittasch και Mathias Pier το 1923, οι οποίοι χρησιμοποίησαν συνθετικό αέριο (μονοξείδιο του άνθρακα, διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο) και οξείδια του χρωμίου (Cr) και του μαγγανίου (Mn), ως καταλύτες, για την παραγωγή μεθανόλης. Η αρχική αυτή μέθοδος όμως, απαιτούσε πολύ υψηλές τιμές θερμοκρασίες και πίεσης, καθιστώντας τη αρκετά χρονοβόρα και δαπανηρή. Στην εξέλιξή της, και στην μορφή που χρησιμοποιείται από το 1960 έως και σήμερα, αυτή η μέθοδος χρησιμοποιεί ως καταλύτες χαλκό (Cu), οξείδιο του ψευδαργύρου (ZnO) κ.α., και έχει πολύ μικρότερη απαίτηση σε θερμοκρασία και πίεση για να παραχθεί μεθανόλη, με αποτέλεσμα την εξοικονόμηση χρόνου και ενέργειας.

Η μεθανόλη είναι η απλούστερη αλκοόλη (με έναν άνθρακα στο μόριό της), και πιο συγκεκριμένα είναι μία αλκανόλη, δηλαδή αλειφατική (άκυκλη), κορεσμένη, μονοσθενής αλκοόλη. Η καθαρή μεθανόλη σε φυσιολογικές συνθήκες (θερμοκρασία $25\text{ }^\circ\text{C}$ και πίεση 1 atm) είναι ένα ελαφρύ, άχρωμο και εύφλεκτο υγρό, με παρόμοια, αλλά ελαφρώς πιο γλυκιά, χαρακτηριστική οσμή από αυτή της αιθανόλης. Το σημείο τήξεώς της, σε πίεση μίας ατμόσφαιρας, είναι στους $-97\text{ }^\circ\text{C}$ και το σημείο ζέσεώς της είναι $64,7\text{ }^\circ\text{C}$. Η υγρή μεθανόλη είναι ένα πολικό υγρό που χρησιμοποιείται ως αντιψυκτικό, διαλύτης, καύσιμο κ.α. Επίσης

λαμβάνει μέρος, ή ακόμα χρησιμοποιείται παράνομα και με μεγάλο κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου, στην παραγωγή αλκοολούχων ποτών, νοθευοντάς τα με αυτήν ως υποκατάστατο της αιθανόλης. Η μεθανόλη στη φύση, εντοπίζεται στον ατμοσφαιρικό αέρα σε πολύ μικρή συγκέντρωση, καθώς είναι παραπροϊόν αναερόβιας αναπνοής ορισμένων βακτηρίων, το οποίο εν τέλει οξειδώνεται σε διοξείδιο του άνθρακα (CO₂).



Εικόνα 4.1 Συντακτικός τύπος μεθανόλης

4.2 Υγεία

Η μεθανόλη είναι τοξική για όλα τα θηλαστικά και η κατανάλωσή της μπορεί να προκαλέσει σοβαρή δηλητηρίαση που θα έχει ως επακόλουθο μία πληθώρα άσχημων αντιδράσεων και δυσλειτουργιών του οργανισμού. Μία οξεία δηλητηρίαση από μεθανόλη μπορεί να προκαλέσει από πονοκέφαλο, ίλιγγο, έντονη κόπωση, ναυτία, έμετο, θόλωμα στην όραση, προσωρινή ή και μόνιμη τύφλωση, μέχρι και κώμα ή ακόμα και θάνατο. Για αυτά τα συμπτώματα κατηγορούνται κυρίως οι μεταβολίτες της μεθανόλης, φορμαλδεΰδη και μεθανικό οξύ, ή αλλιώς φορμικό οξύ (μυρμηκικό οξύ), καθώς παρουσιάζουν υψηλή τοξικότητα στον ανθρώπινο οργανισμό (Mackus et al., 2017).

Τα κρούσματα δηλητηριάσεων από μεθανόλη, αλλά και οι θάνατοι που σημειώνονται, είναι γεγονός και έχουν σημαντική αύξηση τα τελευταία χρόνια σε όλο τον κόσμο, από Ασία και Ευρώπη μέχρι Αμερική (Ohimain, 2016). Σύμφωνα με έρευνα της Αμερικανικής Ακαδημίας Κλινικής Τοξικολογίας (American Academy of Clinical Toxicology) το 2002, την χρονική περίοδο από το 2000 μέχρι το 2002, μόνο στις ΗΠΑ, σημειώθηκαν 2418 κρούσματα δηλητηρίασης από μεθανόλη, από τα οποία τα 209 έγιναν εκ προθέσεως, τα 193 από αυτά αναφέρονταν σε μέτριας έως υψηλής τοξικότητας κρούσματα, ενώ καταγράφηκαν και 12 θάνατοι. Σε παλαιότερες έρευνες που πραγματοποιήθηκαν στο Οντάριο των ΗΠΑ, τη χρονική περίοδο από το 1986 ως το 1991 σημειώνονταν κατά μέσο όρο 7 θάνατοι κάθε χρόνο. Όπως αναφέρει ο Ohimain (2016) τα κρούσματα δηλητηρίασης, αλλά και τελικά οι θάνατοι, από μεθανόλη έχουν παρουσιάσει έξαρση τα τελευταία χρόνια, με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) να βγάζει ανακοίνωση το 2014 και να προειδοποιεί για την αύξηση των κρουσμάτων αυτών σε χώρες όπως οι: Κένυα, Γκάμπια, Λιβύη, Ουγκάντα, Ινδία, Εκουαδόρ, Ινδονησία, Νικαράγουα, Πακιστάν, Τουρκία, Τσεχία, Εσθονία και Νορβηγία με κρούσματα από 20 μέχρι και 800 ετησίως με ποσοστό θνησιμότητας μέχρι και 30%. Πιο συγκεκριμένα αναφέρεται ότι τις χρονιές 2008 και 2009, σε δύο πόλεις της Ινδίας, σημειώθηκαν 180 και 138 θάνατοι, αντίστοιχα, από δηλητηρίαση με μεθανόλη, όπως επίσης 25 άνθρωποι πέθαναν στην Ινδονησία το 2009 από τον ίδιο λόγο. Ενώ στην Τσεχία, το 2013 μόνο, σημειώθηκαν 127 κρούσματα δηλητηρίασης από μεθανόλη με 42 από αυτά να είναι θανατηφόρα (Ohimain 2016).

Μεθανόλη και αποστάγματα

Σύμφωνα με τους Ohimain (2016) και Mackus et al. (2017), την Αμερικάνικη Ακαδημία Κλινικής Τοξικολογίας (2002), η πλειονότητα των περιπτώσεων αυτών των

κρουσμάτων, οφείλεται στην ακούσια και ανεξέλεγκτη κατανάλωση μεθανόλης που περιέχεται ως επί τω πλείστον, αλλά όχι μόνο, σε «χύμα» αλκοολούχα ποτά που κυκλοφορούν παράνομα ή πολλές φορές ακόμα και στο εμπόριο. Η νοθεία αυτή έχει διαπιστωθεί και σε κρασιά αλλά κυρίως σε διάφορα αποστάγματα. Η δυσκολία στον άμεσο εντοπισμό της έγκειται στο ότι κατά τη μέτρηση του αλκοολικού τίτλου (vol) ενός αλκοολούχου ποτού με αλκοολόμετρο, παίρνουμε την τιμή της ολικής αλκοόλης αυτού (αιθανόλης και μεθανόλης), αδυνατώντας να ξεχωρίσουμε τα ποσοστά που αντιστοιχούν στις δύο αυτές αλκοόλες.

Η μεθανόλη είναι παραπροϊόν της απόσταξης, κυρίως, των ξυλωδών μερών των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αλκοολούχων ποτών, υψηλού αλκοολικού βαθμού, μέσω της διαδικασίας της απόσταξης. Όντας η απλούστερη εκ των αλκοολών και έχοντας το μικρότερο σημείο ζέσεως, αναπόφευκτα κατά τη διαδικασία αυτή, θα υπάρχει ποσότητα μεθανόλης στο τελικό προϊόν. Για να προληφθεί η μεγάλη συγκέντρωση αυτής, θα πρέπει να εφαρμόζονται οι πλέον ορθές χρήσεις του αποστακτήρα καθώς και η σωστή μεταχείριση της πρώτης ύλης, για την ελαχιστοποίηση της παραγόμενης, κατά την απόσταξη, μεθανόλης, ή και την εν μέρει απομάκρυνσή της. Επιπρόσθετα, αναγκαία είναι η ύπαρξη απλών και γρήγορων μεθόδων για την ανάλυση δειγμάτων αλκοολούχων ποτών, με ακρίβεια στην ποσοτικοποίηση της μεθανόλης που βρίσκεται σε αυτά, με σκοπό την ελαχιστοποίηση των κρουσμάτων νοθείας.

4.3 Νομοθεσία

Το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και το Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, στις Βρυξέλλες στις 30 Οκτωβρίου το 2007, θέσπισαν κάποιες νομοθετικές και άλλες πράξεις σχετικά με τον ορισμό, την περιγραφή, την παρουσίαση, την επισήμανση και την προστασία των γεωγραφικών ενδείξεων των αλκοολούχων ποτών, καταργώντας τον μέχρι τότε ισχύοντα κανονισμό 1576/89 του συμβουλίου της ΕΟΚ.

Ο ορισμός του αλκοολούχου ποτού προσδιορίζεται στο άρθρο 2, σημείο 1:

Για τους σκοπούς του παρόντος κανονισμού, ως «αλκοολούχο ποτό» νοείται το οινοπνευματώδες που:

- α) προορίζεται για κατανάλωση από τον άνθρωπο,
- β) διαθέτει ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά,
- γ) έχει ελάχιστο αλκοολικό τίτλο 15% vol.,
- δ) παράγεται:

(i) είτε με:

- απευθείας απόσταξη φυσικά ζυμωθέντων προϊόντων, με ή χωρίς προσθήκη αρτυμάτων ή/και
- διαβροχή, ή με παρόμοια επεξεργασία, φυτικών υλικών σε αιθυλική αλκοόλη γεωργικής προέλευσης και/ή σε προϊόντα απόσταξης γεωργικής ή/και αλκοολούχα ποτά κατά την έννοια του παρόντος κανονισμού ή/και
- προσθήκη των αρτυμάτων, σακχάρων και άλλων γλυκαντικών προϊόντων που απαριθμούνται στο Παράρτημα I, σημείο (3) ή/και άλλων γεωργικών προϊόντων και/ή τροφίμων σε αιθυλική αλκοόλη γεωργικής προέλευσης ή/και σε προϊόντα απόσταξης γεωργικής προέλευσης ή/και σε αλκοολούχα ποτά υπό την έννοια του παρόντος κανονισμού,

(ii) είτε με ανάμιξη αλκοολούχου ποτού με:

- ένα ή περισσότερα άλλα αλκοολούχα ποτά ή/και

- αιθυλική αλκοόλη γεωργικής προέλευσης ή προϊόντα απόσταξης γεωργικής προέλευσης ή/και
- άλλα οينوπνευματώδη ή/και
- άλλα ποτά.

Σύμφωνα με τον καινούριο, και πλέον ισχύοντα κανονισμό, στο Παράρτημα II που αφορά τα αλκοολούχα ποτά και τις κατηγορίες αυτών, στο σημείο υπ' αριθμόν 6. όπου αφορά το απόσταγμα στεμφύλων σταφυλιού, ισχύουν τα εξής:

α) Απόσταγμα στεμφύλων σταφυλιού είναι αλκοολούχο ποτό που πληροί τους ακόλουθους όρους:

(i) Παράγεται αποκλειστικά με ζύμωση στεμφύλων σταφυλιού, ακολουθούμενη από απόσταξη είτε κατευθείαν με υδρατμούς είτε μετά από προσθήκη νερού.

(ii) Στα στέμφυλα είναι δυνατόν να έχει προστεθεί οινολάσπη σε αναλογία που δεν υπερβαίνει τα 25 χιλιόγραμμα οινολάσπης ανά 100 χιλιόγραμμα χρησιμοποιηθέντων στεμφύλων σταφυλιού

(iii) Η ποσότητα της προερχόμενης από την οινολάσπη αλκοόλη δεν υπερβαίνει το 35% της συνολικής ποσότητας αλκοόλης που περιέχει το τελικό προϊόν.

(iv) Η απόσταξη συντελείται παρουσία των στεμφύλων, σε βαθμό χαμηλότερο από 86% vol.

(v) Επιτρέπεται η επαναπόσταξη στον ίδιο αλκοολικό βαθμό.

(vi) Έχει περιεκτικότητα σε πτητικές ουσίες ίση με 140 γραμμάρια ανά εκατόλιτρο αλκοόλης 100% vol. ή μεγαλύτερη, και μέγιστη περιεκτικότητα σε μεθανόλη 1000 γραμμάρια ανά εκατόλιτρο αλκοόλης 100% vol.

β) Ο ελάχιστος αλκοολικός βαθμός κατ' όγκο του αποστάγματος στεμφύλων σταφυλιού είναι 37,5%.

γ) Δεν προστίθεται αλκοόλη, όπως αυτή ορίζεται στο Παράρτημα I, σημείο (5), αραιωμένη ή μη.

δ) Το απόσταγμα στεμφύλων σταφυλής δεν αρωματίζεται. Αυτό δεν αποκλείει τις παραδοσιακές μεθόδους παραγωγής.

ε) Το απόσταγμα στεμφύλων σταφυλής μπορεί να περιέχει μόνο πρόσθετο καραμελόχρωμα ως μέσο βελτίωσης του χρώματος.

Σε έναν παλαιότερο, παρόμοιο, εθνικό κανονισμό με υπουργικές αποφάσεις και εγκρίσεις που δημοσιεύτηκαν στην εφημερίδα της κυβέρνησης στις 27 Οκτωβρίου το 1988, στο άρθρο 1 ορίζονται οι ονομασίες που μπορούν να δοθούν στα αλκοολούχα ποτά που παράγονται από απόσταξη στεμφύλων σταφυλιού, καθώς και τα λίγο πιο αυστηρά όρια για την περιεκτικότητα της μεθανόλης σε αυτά, σε σχέση με τον ισχύοντα κανονισμό που αναφέρθηκε παραπάνω:

1. Απόσταγμα στεμφύλων σταφυλιών καλείται το προϊόν που λαμβάνεται με απόσταξη στεμφύλων σταφυλιών μετά ή άνευ υγιούς οινολάσπης ή γλευκολάσπης σταφυλιών μέχρι 86% vol. στους 20° C, έχει δε μέγιστη περιεκτικότητα σε μεθανόλη 800 gr/hL αλκοόλης 100% vol. και συνολική περιεκτικότητα σε πτητικές ουσίες, εκτός αιθυλικής και μεθυλικής αλκοόλης ανώτερη των 140 gr/hL αλκοόλης 100% vol.

2. Από το πιο πάνω απόσταγμα στεμφύλων σταφυλιών χωρίς προσθήκη οينوπνεύματος, σε καμία περίπτωση, θα παρασκευάζονται τα ποτά ΤΣΙΠΟΥΡΟ ή ΤΣΙΚΟΥΔΙΑ, που θα έχουν αλκοολικό τίτλο μεγαλύτερο των 35% vol. στους 20° C, μέγιστη περιεκτικότητα σε μεθυλική αλκοόλη 800 gr/hL αλκοόλης 100% vol. και συνολική περιεκτικότητα σε πτητικές ουσίες, εκτός μεθυλικής και αιθυλικής αλκοόλης, ανώτερη των 140 gr/hL αλκοόλης 100% vol.

4.4 Άλλες χρήσεις της μεθανόλης

Η μεθανόλη είναι μία από τις χημικές ουσίες με τη μεγαλύτερη εμπορική σημασία σε όλο τον κόσμο. Οι εφαρμογές στις οποίες λαμβάνει χώρα, είναι κυρίως:

- Στην παραγωγή μεθανάλης, από την οποία παράγεται και το κόντρα-πλακέ
- Στην παραγωγή αιθανικού οξέος, για την παραγωγή πολυεστέρων
- Στην παραγωγή μεθυλεστέρων, από τους οποίους παράγεται βιοντίζελ
- Στην απευθείας ανάμειξη με βενζίνη, για χρήση ως καύσιμο
- Χρησιμοποιείται ευρέως ως εργαστηριακός διαλύτης, και είναι ιδιαίτερος χρήσιμη στην HPLC και στην UV/Vis φασματοσκοπία
- Γενικά χρησιμοποιείται σε πολύ μεγάλο βαθμό ως πρόδρομη ύλη για την παραγωγή άλλων χημικών ουσιών
- Χρησιμοποιείται ως αντιψυκτικό και διαλυτικό, μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλες ουσίες
- Χρησιμοποιείται στην φαρμακοβιομηχανία ως διαλύτης για την εκχύλιση ουσιών για την παραγωγή ορισμένων φαρμάκων
- Παίρνει μέρος σε μονάδες βιολογικού καθαρισμού ως ανθρακούχα τροφή των βακτηρίων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΜΕΘΑΝΟΛΗΣ

5.1 Πρότυπη ευθεία

Στις περισσότερες χημικές αναλύσεις γίνεται χρήση της πρότυπης καμπύλης (ή αλλιώς καμπύλη βαθμονόμησης ή αναφοράς). Η καμπύλη αυτή βοηθάει στην ποσοτική ανάλυση μίας ουσίας και κατασκευάζεται με την ανάλυση δειγμάτων, γνωστής συγκέντρωσης (πρότυπα διαλύματα) με την προς ανάλυση ουσία σε διάφορες συγκεντρώσεις. Βασίζεται στη σύγκριση του ύψους ή της επιφάνειας (εμβαδό) της κορυφής της ουσίας που εμφανίζεται στον υπολογιστή κατά την ανίχνευσή της στα πρότυπα αυτά διαλύματα. Σε ιδανικές συνθήκες, το μέγεθος των κορυφών αυτών θα μεταβάλλονταν γραμμικά με τη συγκέντρωση, και τα σημεία τους σε μία γραφική παράσταση θα σχημάτιζαν ευθεία. Στην πραγματικότητα όμως, τα σημεία αυτά παρουσιάζουν μία μικρή διασπορά. Για αυτό χρησιμοποιούμε τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, ώστε να χαράξουμε τη βέλτιστη ευθεία όπου θα διέρχεται από τα εν λόγω σημεία της γραφικής παράστασης, έχοντας την μικρότερη δυνατή απόκλιση. Η χάραξη της ευθείας αναφοράς, καθώς και ο υπολογισμός της εξίσωσης της ευθείας αυτής, βάσει της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων, έγινε αυτόματα στον υπολογιστή σε excel. Από την εξίσωση της πρότυπης καμπύλης μπορεί να υπολογιστεί το όριο της ανίχνευσης – limit of detection (LOD) και το όριο της ποσοτικοποίησης – limit of quantitation (LOQ). Ως όριο ανίχνευσης ορίζεται η ελάχιστη ποσότητα μίας ουσίας η οποία μπορεί να ανιχνευθεί κατά την ανάλυσή της. Μία μέθοδος, για να θεωρείται ακριβής, θα πρέπει να έχει όριο ανίχνευσης χαμηλότερο από την μικρότερη συγκέντρωση που πρόκειται να αναλυθεί. Ως όριο ποσοτικοποίησης ορίζεται η μικρότερη ποσότητα που μπορεί να υπολογιστεί με ακρίβεια κατά την ανάλυση ενός διαλύματος. Τα δύο αυτά όρια συνδέονται από τη σχέση: $LOQ=3,3*LOD$.

Στη συνέχεια γίνεται ανάλυση του αγνώστου δείγματος (ή δειγμάτων) για να συγκριθεί η κορυφή της προς ανάλυσης ουσίας, ή το εμβαδόν αυτής, με αυτές των πρότυπων δειγμάτων στην ευθεία αναφοράς που προέκυψε, ώστε να προσδιοριστεί η ποσότητα της (στο άγνωστο δείγμα). Κατά την έγχυση των πρότυπων και αγνώστων δειγμάτων υπάρχουν κάποια φυσιολογικά σφάλματα και μικρές αστοχίες που οφείλονται σε πολλές παραμέτρους που επηρεάζονται καθ' όλη την διάρκεια της ανάλυσης και έχουν σαν αποτέλεσμα την όχι και τόσο αντιπροσωπευτική ανάλυση των δειγμάτων αυτών. Για αυτό, για την πιο σωστή

ανάλυση των δειγμάτων και την καλύτερη ποσοτικοποίηση των ουσιών, θα προτιμήσουμε στην μέθοδό μας να χρησιμοποιήσουμε εσωτερικό πρότυπο.

Εσωτερικό πρότυπο (Internal Standard/ IS)

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, μία προσεκτικά μετρημένη ποσότητα μιας ουσίας, που αποτελεί το εσωτερικό πρότυπο, προστίθεται σε κάθε πρότυπο διάλυμα και σε κάθε δείγμα. Ως αναλυτική παράμετρος, πλέον, δεν χρησιμοποιείται το ύψος της κορυφής της ουσίας που θέλουμε να αναλύσουμε ή το εμβαδόν αυτής, αλλά ο λόγος του ύψους ή το εμβαδόν της κορυφής της προς ανάλυση ουσίας προς το αντίστοιχο ύψος ή εμβαδόν του εσωτερικού προτύπου. Για να έχει επιτυχία η χρήση του εσωτερικού προτύπου, θα πρέπει κατ' αρχάς η ουσία αυτή να μην είναι αναμίξιμη ή να αντιδρά με καμία από τις ουσίες που εμπεριέχονται στα δείγματα που εξετάζονται (πρότυπα και άγνωστα). Επίσης, θα πρέπει η κορυφή του εσωτερικού προτύπου να διαχωρίζεται καλά από τις κορυφές των άλλων δειγμάτων στο γράφημα, αλλά ταυτόχρονα να μην απέχει πολύ από την κορυφή της ουσίας που μας ενδιαφέρει να ποσοτικοποιήσουμε.

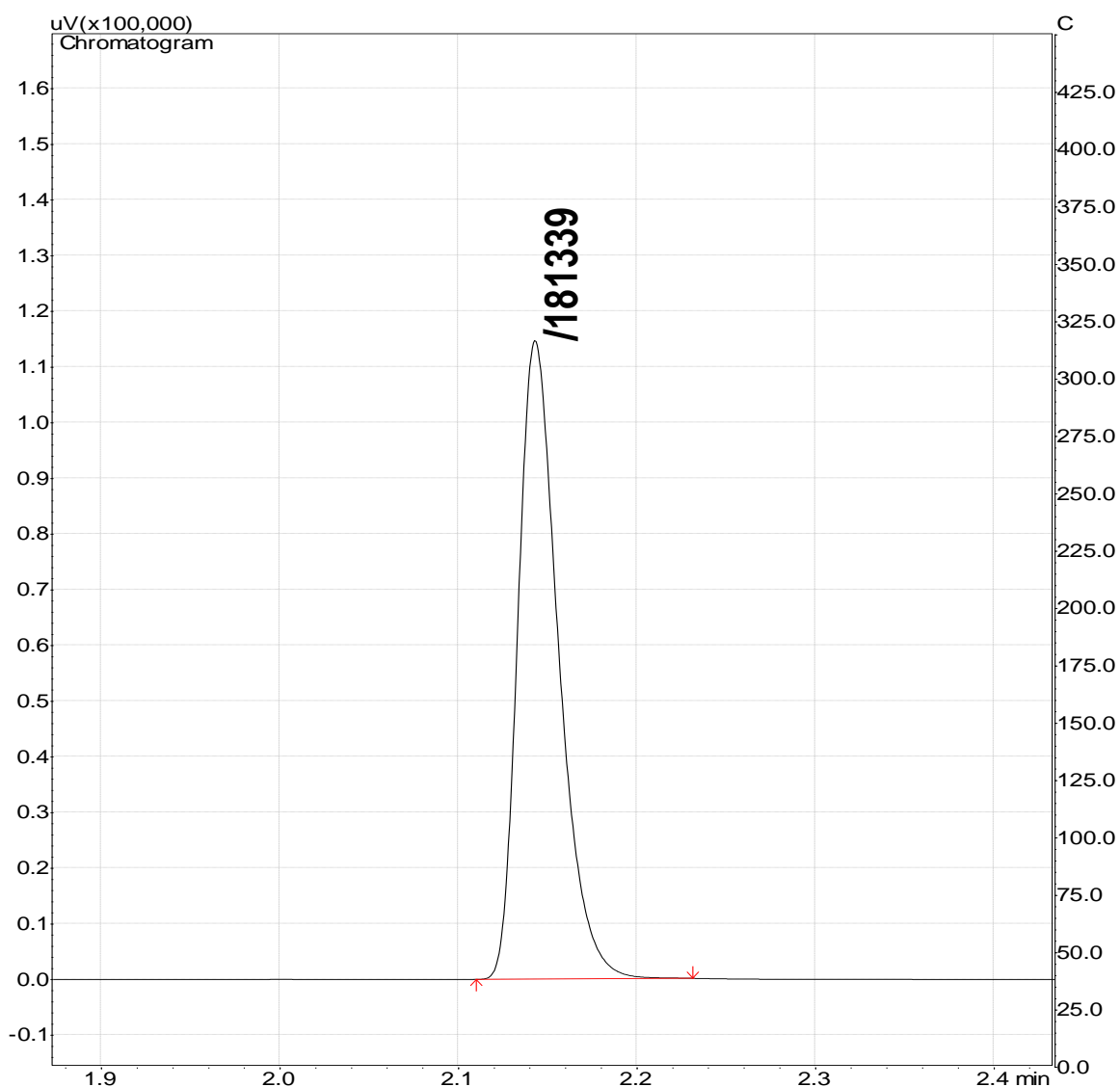
5.2 Πειραματική Πορεία

Στο πείραμα θα προσπαθήσουμε να φτιάξουμε μία απλή και σχετικά γρήγορη μέθοδο, που θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της μεθανόλης σε αλκοολούχα ποτά. Τα δείγματα τσίπουρου που πάρθηκαν για την πραγματοποίηση του πειράματος ήταν ως επί το πλείστον από μικρούς παραγωγούς της ορεινής περιοχή των Τζουμέρκων του νομού Άρτας, και πιο συγκεκριμένα από τον Δήμο Κεντρικών Τζουμέρκων, όπου χρησιμοποιείται αποκλειστικά, για την παραγωγή του τσίπουρου, η ποικιλία αμπέλου «Ζαμπέλα», ή αλλιώς Ιζαμπέλα. Ο λόγος που το πείραμα εστιάστηκε γύρω από τα τσίπουρα από ζαμπέλα, είναι γιατί η ποικιλία αυτή έχει ανακηρυχθεί από την Ελληνική νομοθεσία ως απαγορευμένη για την παραγωγή αποσταγμάτων προς κατανάλωση, με την αιτιολογία ότι εκλύεται, κατά την παραγωγή, μεγαλύτερη ποσότητα μεθανόλης στο τελικό προϊόν από αυτή που έχει θεσπιστεί ως ανώτατο όριο από τη νομοθεσία τροφίμων και ποτών. Στόχος, λοιπόν, του πειράματος είναι πέρα από τη δημιουργία μίας ευρέως διαδεδομένης και αξιόπιστης μεθόδου για την ποσοτικοποίηση της μεθανόλης σε αλκοολούχα ποτά, αλλά και η εξακρίβωση ή μη, των κατηγοριών αυτών για το παραγόμενο τσίπουρο από την εν λόγω ποικιλία αμπέλου.

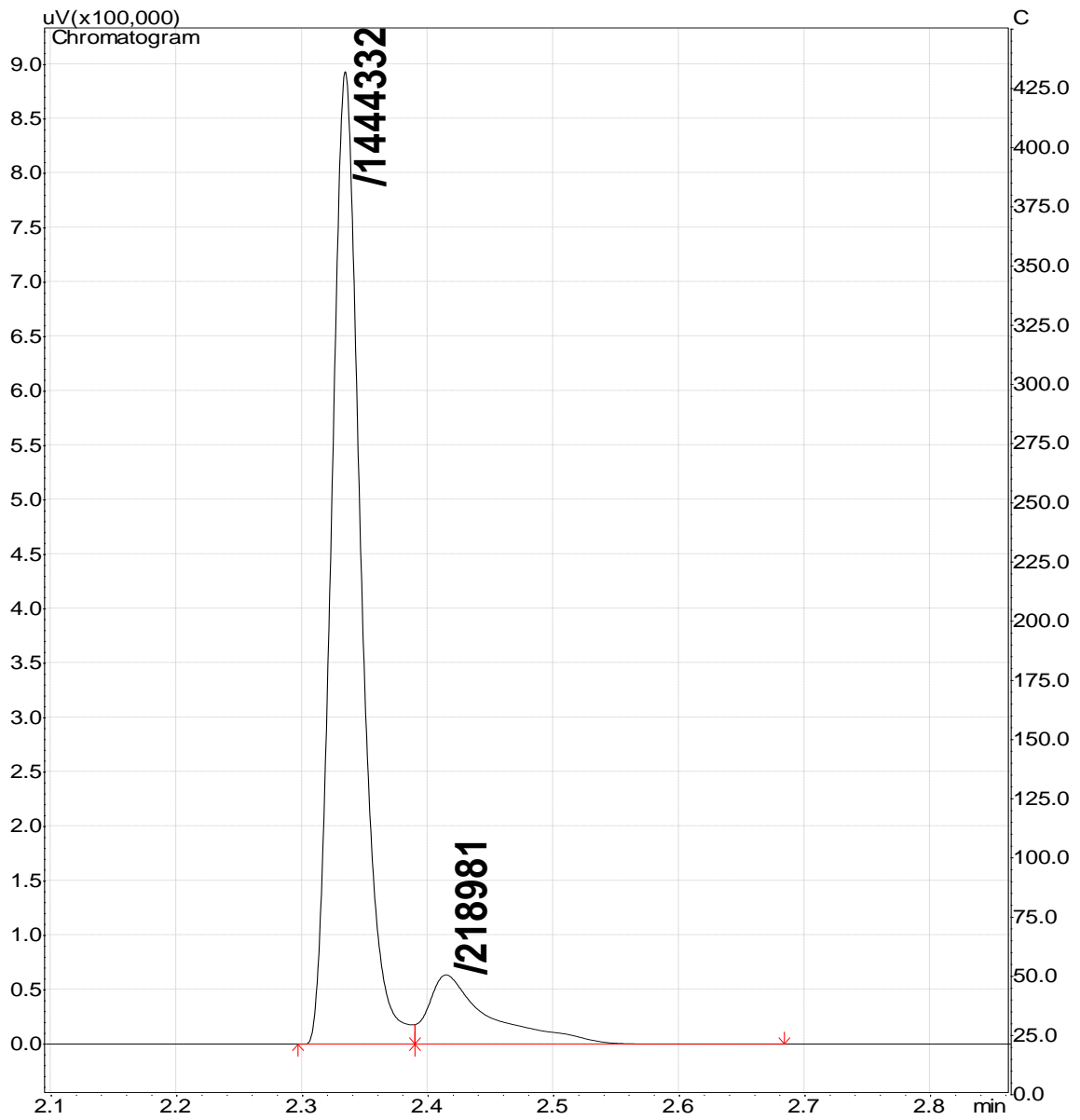
Η ανάλυση των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα και όλη η διαδικασία του πειράματος και της ανάπτυξης της μεθόδου αυτής, πραγματοποιήθηκαν σε έναν αέριο χρωματογράφο. Όπως προαναφέρθηκε και στο κεφάλαιο της χρωματογραφίας, η ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο (αλλά και σε κάθε είδος χρωματογραφίας), γίνεται από την απορρόφηση των διαφόρων ουσιών από έναν ανιχνευτή, στον οποίο φτάνει το μίγμα των ουσιών που έχουμε εκχύσει, συμπαρασυρόμενο από το φέρον αέριο μέσα στην στήλη που βρίσκεται στο εσωτερικό του φούρνου του αέριου χρωματογράφου. Τα αποτελέσματα της απορρόφησης της ουσίας ή των ουσιών από τον ανιχνευτή εμφανίζονται στην οθόνη του ενσωματωμένου, στον GC, μικροϋπολογιστή (ή/και στον συνδεδεμένο ηλεκτρονικό υπολογιστή), ως κορυφές των οποίων η ποσότητα εκφράζεται με τον υπολογισμό του ύψους ή του εμβαδού τους όπως θα δούμε και στην συνέχεια. Για να προσδιορίσουμε ποια ουσία αντιστοιχεί κάθε φορά στην εκάστοτε κορυφή, εφαρμόζουμε πρώτα ανάλυση σε γνωστής ποιότητας δείγματα, με κάθε μία από τις ουσίες που θα αναλυθούν, ξεχωριστά, για να προσδιοριστεί η χρονική στιγμή της απορρόφησης από τον ανιχνευτή και της εμφάνισης της κορυφής στον υπολογιστή. Οι ουσίες στις οποίες πραγματοποιήθηκαν μεμονωμένες αναλύσεις για την επιτυχία αυτού του σκοπού, είναι η μεθανόλη και η αιθανόλη, οι οποίες υπάρχουν έτσι και αλλιώς και στα δείγματα τσίπουρου που θα εφαρμόσουμε την μέθοδο

ανάλυσης, καθώς και στο ακετονιτρίλιο το οποίο χρησιμοποιήσαμε ως εσωτερικό πρότυπο σε όλες τις αναλύσεις, όπως θα αναφερθεί και στην συνέχεια. Η ανάλυση αυτή, των γνωστών δειγμάτων, θα μας βοηθήσει να δούμε, εκτός από το χρονικό σημείο στο οποίο απορροφάται η εκάστοτε ουσία, αλλά και τη μορφολογία της κάθε κορυφής που δημιουργήθηκε κατά την απορρόφηση αυτών.

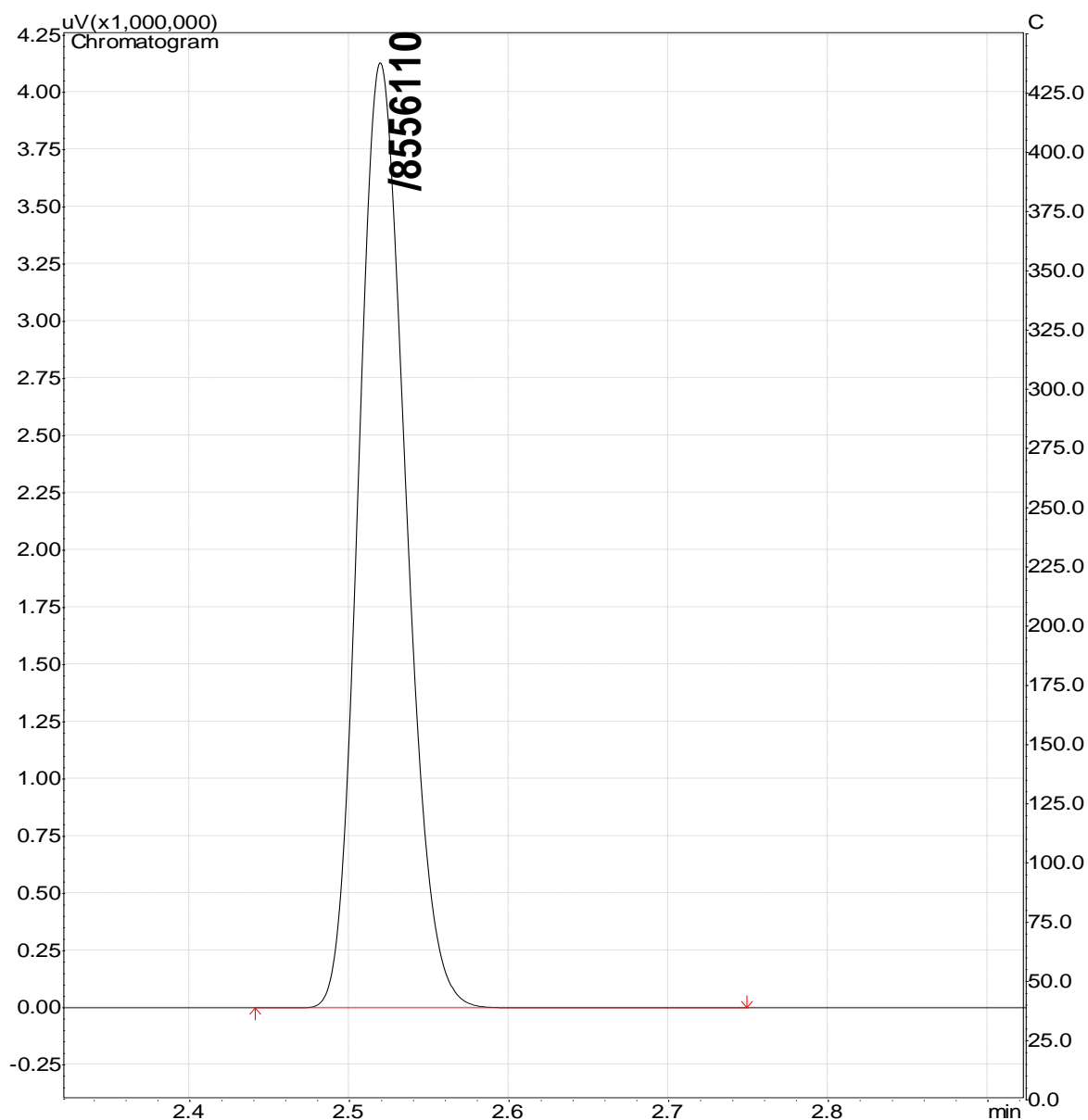
Οι αναλύσεις των γνωστής ποιότητας δειγμάτων (EtOH, MeOH και ACN) μας έδωσαν τις παρακάτω κορυφές:



Εικόνα 5.1 Κορυφή μεθανόλης. Η απορρόφηση της ουσίας αυτής έγινε περίπου στα 2,15 λεπτά



Εικόνα 5.2 Κορυφή αιθανόλης. Η απορρόφηση της ουσίας αυτής έγινε περίπου στα 2,34 λεπτά



Εικόνα 5.3 Κορυφή ακετονιτριλίου. Η απορρόφηση της ουσίας αυτής έγινε περίπου στα 2,52 λεπτά

Βλέπουμε ότι η κορυφή του εσωτερικού προτύπου, βάσει χρόνου, θα διαχωρίζεται καλά στο γράφημα από τις κορυφές των άλλων δύο βασικών, για το πείραμα, ουσιών. Ενώ ταυτόχρονα δεν απέχει πολύ χρονικά από την κορυφή της μεθανόλης.

Κατασκευή πρότυπης ευθείας

Αρχικά, για να μπορούμε να ποσοτικοποιήσουμε τη συγκέντρωση της περιεχόμενης μεθανόλης, κατά την ανάλυση άγνωστου δείγματος από τον υπολογισμό του εμβαδού της

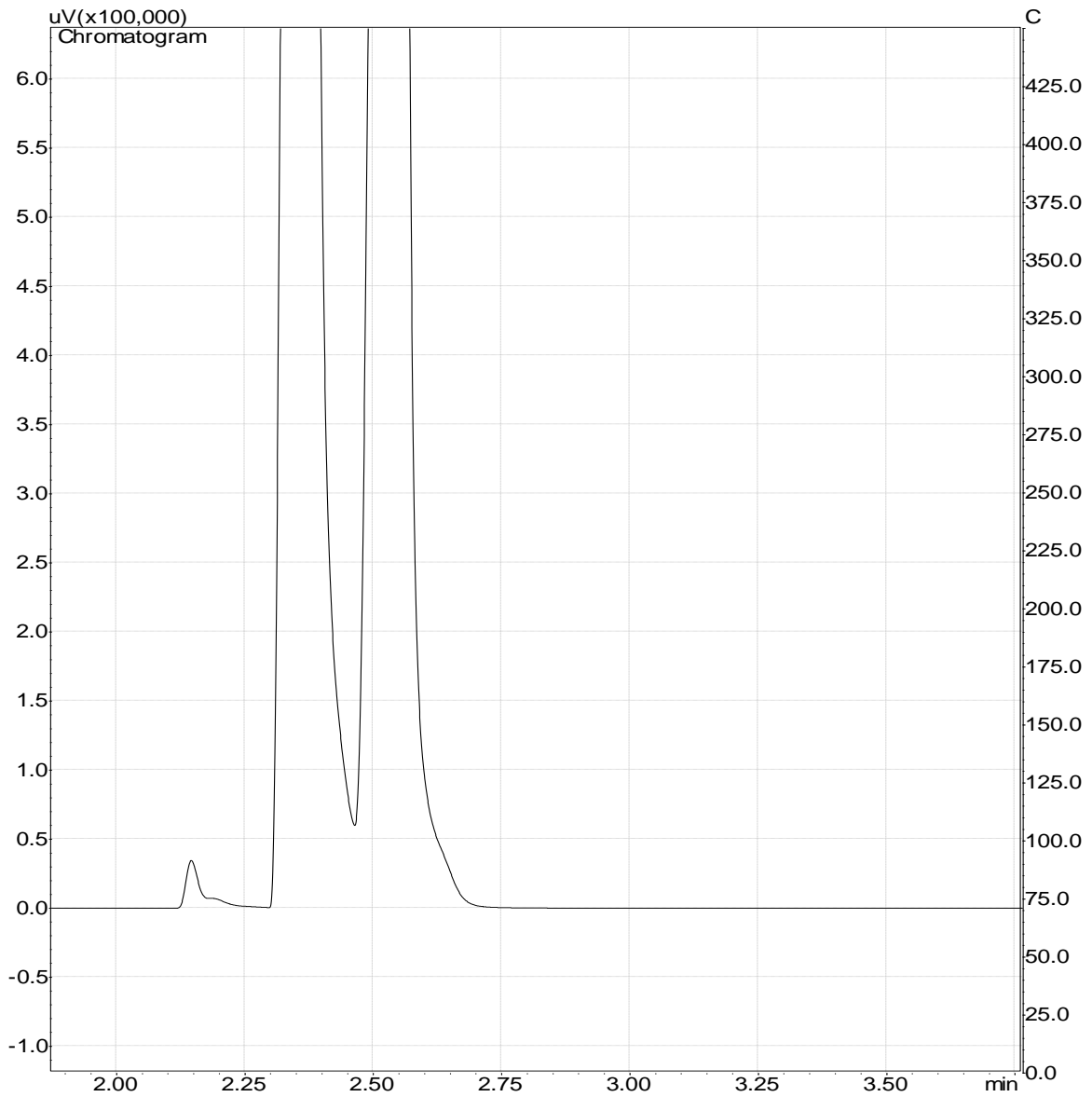
κορυφής της, χρειάστηκε να αναλύσουμε δείγματα με γνωστή συγκέντρωση σε μεθανόλη ώστε να φτιάξουμε μία πρότυπη ευθεία (ευθεία αναφοράς).

Στην αρχή κατασκευάσαμε σε ογκομετρικές φιάλες, διαλύματα μεθανόλης και νερού (απιονισμένου) με περιεκτικότητες 0,1%, 0,3%, 0,5%, 0,7% και 1% όγκο κατ' όγκο (v/v) σε μεθανόλη. Στην συνέχεια πήραμε δείγμα 1,5ml από κάθε ογκομετρική φιάλη και το τοποθετήσαμε σε αντίστοιχου όγκου φιαλίδια (vials) από τα οποία ο αυτόματος δειγματολήπτης, του αέριου χρωματογράφου, θα πάρει ποσότητα 5μl για να τα κάνει ένεση στον εισαγωγέα της στήλης του αέριου χρωματογράφου. Η ανάλυση έγινε με μία απλή μέθοδο χωρίς διαχωρισμό (splitless mode) και στην συνέχεια με διαχωρισμό στα 100 (split100), με τρεις επαναλήψεις για κάθε δείγμα. Τα αποτελέσματα δεν παρουσίαζαν ικανοποιητική επαναληψιμότητα, καθώς και οι τρεις διαδοχικές αναλύσεις που έγιναν σε κάθε δείγμα, είχαν ανόμοια σχήματα, μεγέθη και εμβαδά κορυφών με αρκετά μεγάλη απόκλιση. Πραγματοποιήθηκαν κάποιες μικρές αλλαγές στην μέθοδο, κυρίως αλλάζοντας το πρόγραμμα της θερμοκρασίας και την ταχύτητα έκχυσης της ένεσης, χωρίς όμως κάποια αξιοσημείωτη βελτίωση στην επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων που παίρναμε από τις αναλύσεις. Κατά την ανάπτυξη μιας αναλυτικής μεθόδου θα πρέπει να γίνεται πάντα μελέτη των πειραματικών συνθηκών. Ο καλύτερος και πιο αποτελεσματικός τρόπος βελτιστοποίησης της μεθόδου είναι η μεταβολή κάθε φορά μίας μόνο παραμέτρου ενώ όλες οι άλλες παραμένουν σταθερές.

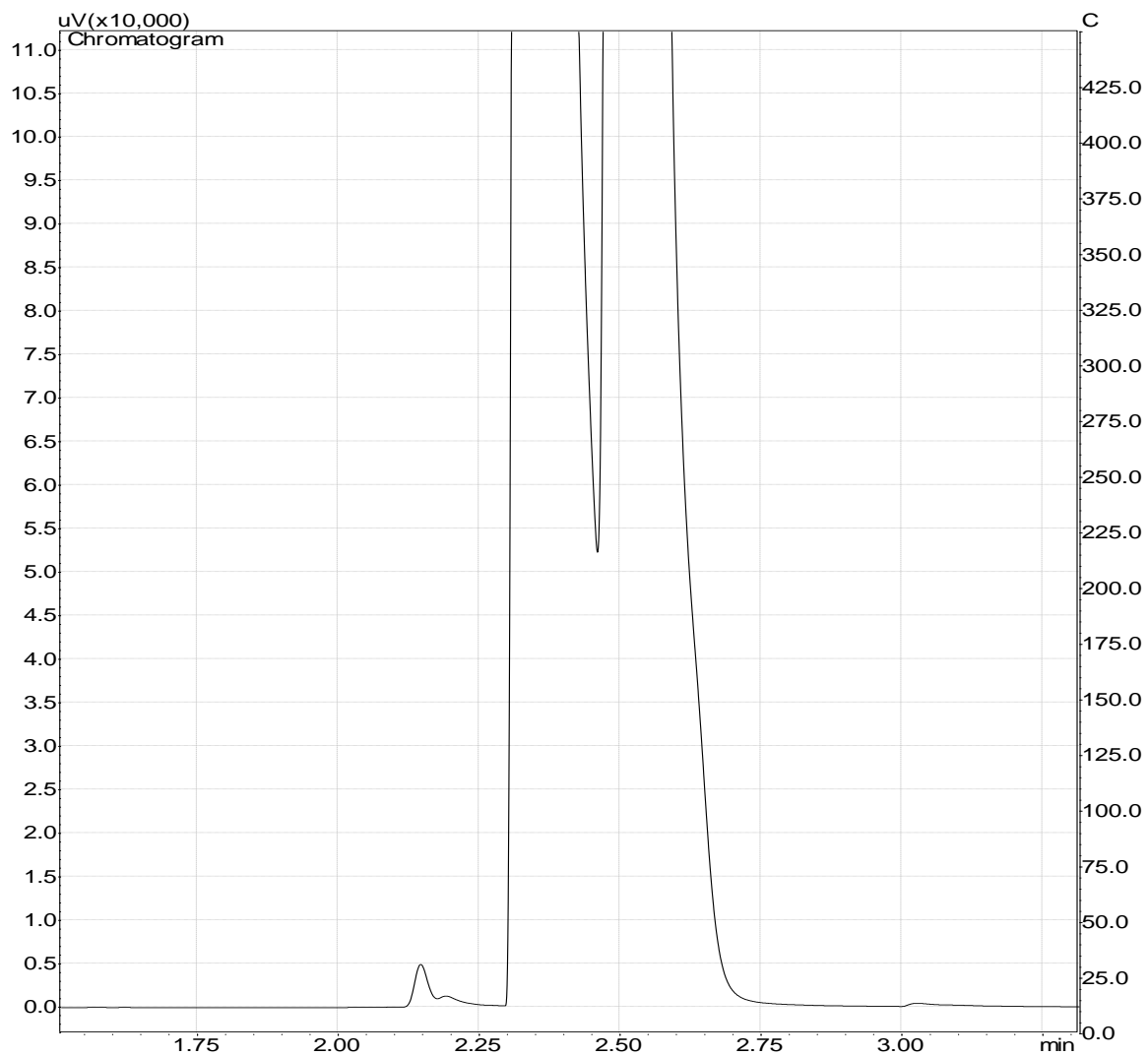
Παράλληλα, κατασκευάσαμε διαλύματα μεθανόλης με τις προηγούμενες περιεκτικότητες, με προσθήκη αιθανόλης σε ποσοστό 50% όγκο κατ' όγκο (v/v) ώστε να προσομοιάζουν όσο το δυνατόν περισσότερο με τα προς εξέταση δείγματα τσίπουρου από ζαμπέλα των οποίων ο αλκοολικός τίτλος κυμαίνεται στα 50% με 55% vol. Καθώς κατασκευάζαμε τα διαλύματα των γνωστών συγκεντρώσεων πραγματοποιήσαμε μερικές αναλύσεις με τα άγνωστα προς μεθανόλη δείγματα τσίπουρου για να δούμε, έστω και στο περίπου (αφού δεν είχαμε καλή επαναληψιμότητα), σε τι ύψος κυμαίνονται οι κορυφές της μεθανόλης και παρατηρήσαμε ότι είναι πολύ πιο μικρές απ' όσο περιμέναμε. Γι' αυτό κατασκευάσαμε ακόμα μερικά πρότυπα διαλύματα, με περιεκτικότητες: 0,05%, 0,15%, 0,2% και 0,25% όγκο κατ' όγκο (v/v), για να έχουμε μεγαλύτερη ακρίβεια στην περιοχή όπου υπολογίζαμε ότι θα κυμαίνονταν οι περιεκτικότητες της μεθανόλης των άγνωστων δειγμάτων, ενώ αφαιρέσαμε το πρότυπο διάλυμα περιεκτικότητας 1%. Εκτός από τις προαναφερθέντες περιεκτικότητες μεθανόλης, όλα τα πρότυπα διαλύματα έχουν πλέον 50% περιεκτικότητα σε αιθανόλη και κατασκευάστηκαν με τη χρήση απεσταγμένου νερού.

Επίσης αποφασίσαμε να χρησιμοποιήσουμε και ακετονιτρίλιο ως εσωτερικό πρότυπο για την ελαχιστοποίηση των σφαλμάτων κατά την ανάλυση, καθώς με τη χρήση εσωτερικού προτύπου, οι τιμές που θα χρησιμοποιηθούν στην πρότυπη ευθεία δεν θα είναι οι απόλυτες τιμές του εμβαδού της κορυφής, ή του ύψους της μεθανόλης, αλλά ο λόγος του εμβαδού αυτής προς το εμβαδόν του ακετονιτριλίου. Με τον τρόπο αυτό, τυχόν σφάλμα που μπορεί να προκύψει στην ανάλυση εκμηδενίζεται, καθώς ο λόγος των δύο εμβαδών παραμένει ουσιαστικά σταθερός. Για την παραγωγή και την προετοιμασία όλων των διαλυμάτων, χρησιμοποιήθηκε πιπέτα ακριβείας για την λήψη των διαφόρων όγκων μεθανόλης και σιφώνιο πλήρωσεως των 50ml για την προσθήκη αιθανόλης, ενώ τα διαλύματα παρασκευάστηκαν σε ογκομετρικές φιάλες των 100ml. Ο υπολογισμός του εμβαδού των κορυφών με χρήση ολοκληρωμάτων γίνεται αυτόματα στον υπολογιστή.

Η προσθήκη του ακετονιτριλίου γίνεται στα φιαλίδια (vials). Τοποθετούμε σε ένα άδειο vial 1ml, πλέον, από το εκάστοτε διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης και 0,5ml εσωτερικό πρότυπο (ακετονιτρίλιο). Οι λήψεις των όγκων αυτών έγιναν με πιπέτα ακριβείας. Ανακινούμε καλά και τοποθετούμε ένα – ένα τα γνωστά δείγματα στον αυτόματο δειγματολήπτη για να ξεκινήσει η ανάλυση. Μετά από μερικές μέρες ακόμα δοκιμών και αλλαγών στις παραμέτρους της μεθόδου ανάλυσης, αρχίσαμε να έχουμε μεγάλη ακρίβεια και πολύ καλή επαναληψιμότητα στις αναλύσεις μας. Παρακάτω μπορούμε να δούμε τις κορυφές που προκύπτουν κατά την ανάλυση ενός πρότυπου διαλύματος και ενός άγνωστου διαλύματος ως προς την μεθανόλη:

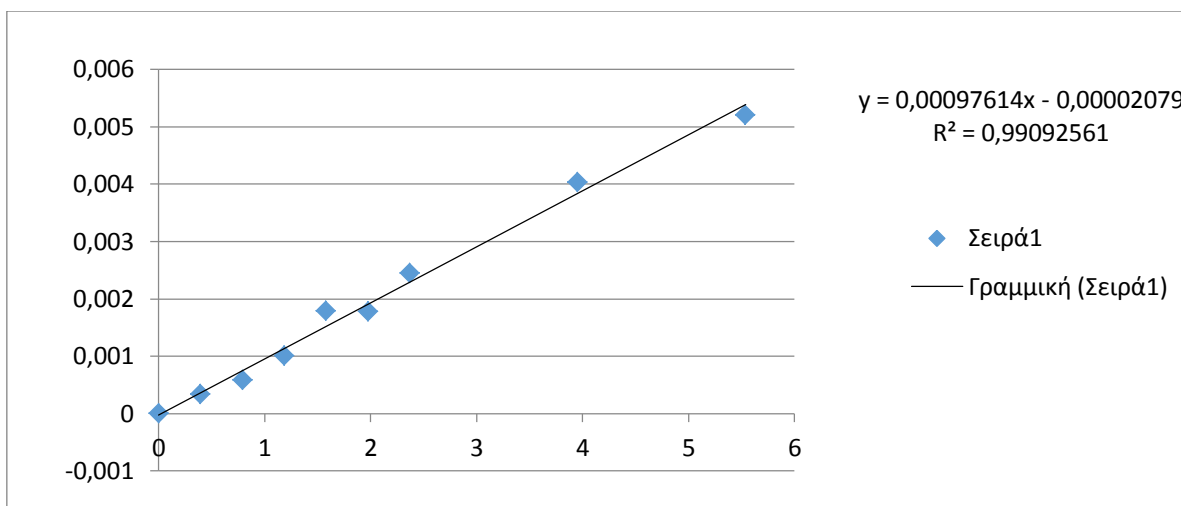


Εικόνα 5.4 Κορυφές μεθανόλης, αιθανόλης και ακετονιτριλίου (με σειρά από αριστερά προς τα δεξιά) σε πρότυπο διάλυμα περιεκτικότητας 0,7% v/v σε μεθανόλη



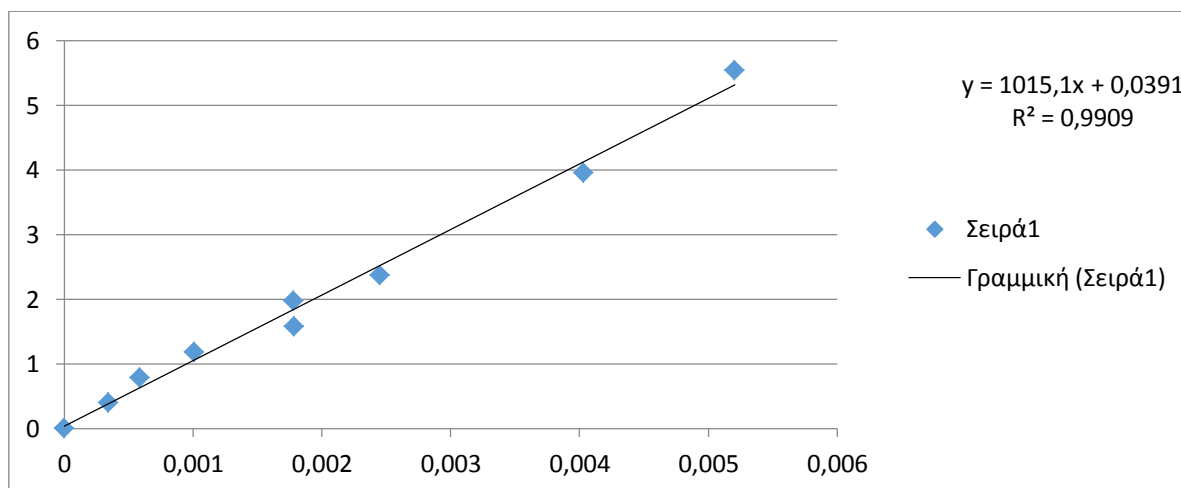
Εικόνα 5.5 Κορυφές μεθανόλης, αιθανόλης και ακετονιτριλίου (με σειρά από αριστερά προς τα δεξιά) σε δείγμα τσίπουρου με άγνωστη περιεκτικότητα σε μεθανόλη

Από το μέσο όρο των τριών διαδοχικών αναλύσεων που έγινε για κάθε δείγμα, προέκυψε η παρακάτω πρότυπη ευθεία:



Εικόνα 5.4 Ευθεία αναφοράς με εξίσωση $y = 0,00097614x - 0,00002079$ και συντελεστή προσαρμογής (R) = 0,99092561. Στον άξονα x έχουμε τα gr μεθανόλης σε 1000ml. Στον άξονα y έχουμε τον λόγο του εμβαδού της μεθανόλης προς το εμβαδό του ακετονιτριλίου

Για να βρούμε τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης (LOD και LOQ) τις μεθόδου, κάναμε την γραφική παράσταση των γραμμαρίων τις μεθανόλης έναντι του λόγου του εμβαδού της μεθανόλης προς του ακετονιτριλίου και από την τεταγμένη από την αρχή, υπολογίζουμε το LOD και το LOQ:



Εικόνα 5.5 Η αντίστροφη γραφική παράσταση της πρότυπης ευθείας. Στον άξονα x έχουμε τον λόγο του εμβαδού της μεθανόλης προς το εμβαδό του ακετονιτριλίου. Στον άξονα y έχουμε τα gr μεθανόλης σε 1000ml

Από την παραπάνω γραφική παράσταση μπορούμε να υπολογίσουμε ότι το $LOD = 0,0391\text{gr}/1000\text{ml}$, ενώ το $LOQ = 3*LoD = 0,12903\text{gr}/1000\text{ml}$.

5.3 Μέθοδος

Η μέθοδος ανάλυσης που προέκυψε και τελικά χρησιμοποιήσαμε μετά από τις αλλαγές που πραγματοποιήθηκαν, είναι η παρακάτω:

- Θερμοκρασία εισαγωγέα: 200° C
- Split mode: split ratio 100:1
- Ροή φέροντος αερίου: 0,84ml/min
- Φέρον αέριο: He (ήλιο)
- Τριχοειδής στήλη: BPx5:
 - Μήκος: 30m
 - Εσωτερική διάμετρος: 0,22mm
 - Πάχος επίστρωσης: 0,25μm
- Ανιχνευτής: FID
- Θερμοκρασία ανιχνευτή: 250° C
- Πρόγραμμα θερμοκρασίας:
 - Ξεκινάει στους 31° C και παραμένει για 1min
 - Αυξάνεται με ταχύτητα 10° C/min μέχρι να φτάσει στους 70° C όπου παραμένει για 0,5min
 - Αυξάνεται με ταχύτητα 100° C/min μέχρι να φτάσει στους 150° C όπου παραμένει για 1min
- Make up gas: 30ml/min (He)

5.4 Αποτελέσματα

Δείγματα

Από τα δείγματα τσίπουρου που πάρθηκαν για την πραγματοποίηση του πειράματος, τα επτά ήταν από μικρούς παραγωγούς της ορεινής περιοχής των Τζουμέρκων του νομού Άρτας, και πιο συγκεκριμένα από τον Δήμο Κεντρικών Τζουμέρκων, όπου χρησιμοποιείται αποκλειστικά, για την παραγωγή του τσίπουρου, η ποικιλία αμπέλου «Ζαμπέλα», ή αλλιώς Ιζαμπέλα. Επίσης χρησιμοποιήθηκαν δύο δείγματα τσικουδιάς Κρήτης, ένα δείγμα ζιβανίας Κύπρου, ένα δείγμα τσίπουρου από την Καλαμάτα, τρία δείγματα τσίπουρου από την περιοχή της Αχαΐας και ένα δείγμα από τσίπουρο εμπορίου, για να συγκριθούν τα αποτελέσματά τους με αυτά τα δείγματα τσίπουρου από ζαμπέλα.

Για την ανάλυση των δειγμάτων τσίπουρου πήραμε, όπως και προηγουμένως, 1ml από το κάθε δείγμα και το τοποθετήσαμε σε καθαρό φιαλίδιο και στην συνέχεια προσθέσαμε 0,5ml ακετονιτρίλιο ως εσωτερικό πρότυπο. Για την προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε πιπέτα ακριβείας. Στην συνέχεια έγιναν τρεις διαδοχικές αναλύσεις για κάθε ένα από τα δείγματα και καταγράφηκαν τα αποτελέσματα (το εμβαδόν της κορυφής της μεθανόλης, το εμβαδόν της κορυφής του ακετονιτριλίου και ο λόγος του πρώτου προς το δεύτερο). Ο υπολογισμός της επιφάνειας των κορυφών για τον υπολογισμό των εμβαδών με χρήση ολοκληρωμάτων έγινε αυτόματα από τον υπολογιστή. Αφού υπολογίσαμε τον μέσο όρο των τριών αναλύσεων για κάθε δείγμα, πήραμε την εξίσωση της πρότυπης ευθείας: $y=0,00097614x - 0,0000207$ και λύσαμε ως προς x για να βρούμε τα γραμμάρια μεθανόλης στο 1 λίτρο για κάθε δείγμα ξεχωριστά. Στην συνέχεια, καθώς έτσι το ορίζει η νομοθεσία, πολλαπλασιάσαμε τα γραμμάρια μεθανόλης που βρήκαμε με το 100 για να τα υπολογίσουμε στα 100 λίτρα, και τέλος κάναμε αναγωγή σε αλκοόλη 100% vol. Από την διαδικασία αυτή προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

Πίνακας 5.1 Αποτελέσματα ανάλυσης των άγνωστων σε μεθανόλη δειγμάτων

Δείγματα	Μ.Ο λόγων εμβαδού MeOH/ACN (y)	gr MeOH σε 1000ml (x) (άγνωστο)	gr MeOH σε 100L 100% vol. (με αναγωγή)
Δείγμα 1	0,001197207	1,247768763	249,5537525
Δείγμα 2	0,001134466	1,183494171	236,6988342
Δείγμα 3	0,001269109	1,321428279	264,2856557
Δείγμα 4	0,00133134	1,385180404	277,0360809
Δείγμα 5	0,001094607	1,142660889	228,5321778
Δείγμα 6	0,001282474	1,335119962	267,0239925
Δείγμα 7	0,001050349	1,097321081	219,4642162
Δείγμα 8	0,000819709	0,861043498	215,2608745
Δείγμα 9	0,000338914	0,368496322	92,12408056
Δείγμα 10	0,001052999	1,100035856	275,0089639
Δείγμα 11	0,001329823	1,383626324	345,906581
Δείγμα 12	0,000869754	0,912311759	228,0779396
Δείγμα 13	0,000956969	1,001658574	250,4146434
Δείγμα 14	0,000925642	0,969565841	242,3914602
Δείγμα 15	0,000757659	0,797476796	199,3691991

Τα πρώτα επτά δείγματα είναι τα τσίπουρα από ζαμπέλα, το δείγμα 8 είναι τσίπουρο από την Καλαμάτα, το δείγμα 9 είναι ζιβανία Κύπρου, τα δείγματα 10 και 11 είναι τσικουδιές Κρήτης, τα δείγματα 12, 13 και 14 είναι τσίπουρα από την Αχαΐα και το δείγμα 15 είναι τσίπουρο εμπορίου. Από τα παραπάνω αποτελέσματα μπορούμε να δούμε ότι κανένα από τα 15 δείγματα, ούτε αυτά των τσίπουρων από ζαμπέλα, ξεπερνάει, ούτε προσεγγίζει κατά το ήμισυ το νομοθετικό όριο για την περιεκτικότητα της μεθανόλης σε αλκοολούχα ποτά.

5.5 Συμπεράσματα

Όπως έχει αναφερθεί, ο σκοπός της διπλωματικής εργασίας είναι αφενός να αναπτύξουμε μία γρήγορη, εύκολη και οικονομική μέθοδο με την οποία θα μπορούμε να ποσοτικοποιήσουμε την περιεκτικότητα της μεθανόλης σε οποιοδήποτε αλκοολούχο ποτό, και αφετέρου να εξεταστεί, με την μέθοδο αυτή, αν ισχύει ο λόγος που απαγορεύεται η παραγωγή τσίπουρου από το σταφύλι ζαμπέλα, ο οποίος είναι η άνω του ορίου περιεκτικότητα του σε μεθανόλη, καθιστώντας το επικίνδυνο και ακατάλληλο για κατανάλωση.

Ο λόγος που επιλέξαμε να αναπτύξουμε την μέθοδο αυτή σε αέριο χρωματογράφο είναι τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει έναντι άλλων μεθόδων ανάλυσης, όπως είναι η ταχύτητα του, η μεγάλης ευαισθησίας ανιχνευσιμότητά του, παρέχοντας την δυνατότητα να αναλυθούν και να προσδιοριστούν ακόμα και ιχνοποσότητες, η μικρή απαίτηση σε ποσότητα δείγματος για την πραγματοποίηση πολλών αναλύσεων, καθώς και η δυνατότητα αυτοματοποίησης μερικών, ή κάποιες φορές και όλων των σταδίων της ανάλυσης, πετυχαίνοντας τα τρία ζητούμενα χαρακτηριστικά της ανάλυσης: ταχύτητα, ευκολία και χαμηλό κόστος.

Από τα αποτελέσματα του πειράματος έχουμε να συμπεράνουμε ότι κανένα από τα επτά δείγματα τσίπουρου από ζαμπέλα, καθώς και κανένα από τα υπόλοιπα δείγματα που χρησιμοποιήσαμε περιέχει πάνω από το όριο μεθανόλη όπως το ορίζει η Ευρωπαϊκή νομοθεσία (μέγιστη περιεκτικότητα σε μεθανόλη 1000 γραμμάρια ανά εκατόλιτρο αλκοόλης 100% vol). Από τα δείγματα τσίπουρου από ζαμπέλα, αυτό με την μικρότερη περιεκτικότητα σε μεθανόλη ήταν το δείγμα 7 με 219,4642162 γραμμάρια μεθανόλης ανά εκατόλιτρο αλκοόλης 100% vol, ενώ αυτό με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα ήταν το δείγμα 4 με 277,0360809 γραμμάρια μεθανόλης ανά εκατόλιτρο αλκοόλης 100% vol, απέχοντας κατά πολύ από το ανώτατο επιτρεπτό όριο. Ομοίως, από τα άλλα δείγματα τσίπουρων που χρησιμοποιήσαμε στο πείραμα, αυτό με την μικρότερη περιεκτικότητα σε μεθανόλη ήταν το δείγμα 9 που ήταν η ζιβανία Κύπρου, με 92,12408056 γραμμάρια μεθανόλης ανά εκατόλιτρο αλκοόλης 100% vol, ενώ αυτό με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα ήταν το δείγμα 11 που ήταν τσικουδιά Κρήτης, με 345,906581 γραμμάρια μεθανόλης ανά εκατόλιτρο αλκοόλης 100% vol, ενώ το δείγμα από τσίπουρο εμπορίου (δείγμα 15) παρουσίασε περιεκτικότητα 199,3691991 γραμμάρια μεθανόλης ανά εκατόλιτρο αλκοόλης 100% vol, απέχοντας και αυτά κατά πολύ από το ανώτατο επιτρεπτό όριο.

Άρα, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η απαγόρευση για την παραγωγή τσίπουρου με πρώτη ύλη την ζαμπέλα, λόγω παραγωγής τσίπουρου μεγάλης περιεκτικότητας σε μεθανόλη (και μάλιστα υπέρβασης του ανώτατου ορίου αυτής), μπορούμε να πούμε ότι δεν είναι βάσιμη καθώς δεν ισχύει.

Βέβαια για την εξαγωγή πλήρως τεκμηριωμένων αποτελεσμάτων θα πρέπει να γίνουν αναλύσεις σε πολύ περισσότερα δείγματα από τσίπουρο της ποικιλίας ζαμπέλα καθώς και παράλληλες αναλύσεις με την πιστοποιημένη επίσημη μέθοδο που εφαρμόζεται από τις κατά νόμο αρμόδιες αρχές τις χώρας.

Είναι σημαντικό να υπάρχουν τέτοιου είδους μέθοδοι ανάλυσης αλκοολούχων ποτών και αποσταγμάτων, καθώς θα μπορούσαν να γίνονται περισσότεροι και πιο αποτελεσματικοί έλεγχοι με στόχο την αποτελεσματική μείωση της κυκλοφορίας ακατάλληλων για κατανάλωση αλκοολούχων ποτών, καθώς και τον περιορισμό των παράνομων αποστακτηρίων που λειτουργούν σε όλη την χώρα, με κύριο και βασικό σκοπό την προστασία της υγείας του καταναλωτή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Σουφλερός Ευ., (2012). Οινολογία, επιστήμη και τεχνολογία, Εκδόσεις Σουφλερός Ευ., Θεσσαλονίκη
- Τσακίρης Α., (2014). Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί, Εκδόσεις Ψύχαλος
- Παπαδογιάννης Ι., Σαμανλίδου Β., (2001). Ενόργανη χημική ανάλυση, Εκδόσεις Πήγασος, Θεσσαλονίκη
- Αρβανιτογιάννης Ι., Στρατάκος Α., (2011). Τεχνολογίες επεξεργασίας και συσκευασίας τροφίμων, Εκδόσεις University studio press
- Καψημάλη Δ., (2008). Ανάπτυξη και βελτιστοποίηση μεθόδου μορφοειδικού προσδιορισμού μονομέθυλο- και ανόργανου υδραργύρου σε βιολογικά υγρά με μικροεκχύλιση στερεής φάσης από υπερκείμενη αέρια φάση (HS-SPME) και αέρια χρωματογραφία σε σύζευξη με φασματομέτρο μάζας (GC-MS), Πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών «Προχωρημένη χημική ανάλυση», Αριστοτέλειο πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
- Barceloux D., Bond R., Krenzelok E., Cooper H., Vale A., (2002). American academy of clinical toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning, Journal of toxicology: Clinical toxicology
- Jadhav S., Vaidya P., Bhanage B., Joshi J., (2014). Catalytic carbon dioxide hydrogenation to methanol: A review of recent studies, Chemical engineering research and design 92, 2557-2567
- Silva M., (2016). Synthesis of methanol from methane: Challenges and advances on the multi-step (syngas) and one-step routes (DMTM), Fuel Processing Technology 145, 42-61
- Mackus M., Van de Loo A.J.A.E., Korte-Bouws G.A.H., Van Neer R.H.P., Wang X., Nguyen T.T., Brookhuis K.A., Garssen J., Verster J.C., Urine methanol concentration and alcohol hangover severity, Alcohol 59, 37-41
- Ohimain E., (2016). Methanol contamination in traditionally fermented alcoholic beverages: the microbial dimension, Ohimain SpringerPlus 5:1607
- Hang Y., Woodams E., (2008). Methanol content of grappa made from New York grape pomace, Bioresource Technology 99, 3923–3925

- Fahrasmene L., Parfait A., Jouret C., Galzy P., (1985). Production of Higher Alcohols and Short Chain Fatty Acids by Different Yeasts Used in Rum Fermentations, *Journal of food science*, Volume 50, 1427
- Cedeno M., (1995). Tequila production, *Critical Reviews in Biotechnology*, 15(1): 1-11
- Legin A., Rudnitskaya B., Seleznev B., Vlasov Yo., (2005). Electronic tongue for quality assessment of ethanol, vodka and eau-de-vie, *Analytica Chimica Acta* 534, 129–135
- Agu R.C., Bringham T.A., Brosnan J.M., (2006). Production of Grain Whisky and Ethanol from Wheat, Maize and Other Cereals, *Journal of the institute of brewing*, The Institute of Brewing & Distilling, Publication no. G-2006-1308-464