

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΥΨΟΜΕΤΡΟΥ**  
**ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ “ΑΓΙΩΡΓΗΤΙΚΟ” ΣΤΑ**  
**ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥ ΟΙΝΟΥ»**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

**ΦΩΤΗΣ ΣΤΕΡΓΙΟΥ**



**ΚΑΛΑΜΑΤΑ**

**2016**

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΥΨΟΜΕΤΡΟΥ**  
**ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ “ΑΓΙΩΡΓΗΤΙΚΟ” ΣΤΑ**  
**ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥ ΟΙΝΟΥ»**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

**ΦΩΤΗΣ ΣΤΕΡΓΙΟΥ**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης του υψόμετρου στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου οίνου. Η παρούσα μελέτη διεξήχθη σε αμπελώνα, μη αρδευόμενο, 10 στρεμμάτων στον Ασπρόκαμπο, Κορινθίας που ανήκει στο κτήμα Κατώγι – Στροφιλιά Α.Ε. και βρίσκεται σε υψόμετρο 785 - 803 μ. Η καλλιεργούμενη ποικιλία ήταν (*Vitis vinifera* L.) cv Αγιωργήτικο.

Ο αμπελώνας χωρίστηκε σε 18 τμήματα παρόμοιου μεγέθους (400-550 m<sup>2</sup>) και διαφορετικού υψόμετρου. Στη συνέχεια σε κάθε ένα από τα 18 τμήματα πραγματοποιήθηκε μικροοινοποίηση και ακολούθησαν εργαστηριακές αναλύσεις στους παραγόμενους οίνους. Η οινοποίηση των σταφυλιών έγινε στο οινοποιείο του εργαστηρίου Οινολογίας, του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθήνας.

Στο τέλος της οινοποίησης μετρήθηκε στους 18 παραγόμενους οίνους η ολική οξύτητα, το pH, η πτητική οξύτητα και ο αλκοολικός τίτλος. Συγκεκριμένα, οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν: Ένταση χρώματος και απόχρωση, μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών με χρήση του αντιδραστηρίου μεθυλική κυτταρίνη, μέτρηση ολικών ανθοκυανών, προσδιορισμός ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), προσδιορισμός δείκτη HCl, προσδιορισμός δείκτη ιονισμού (I%), προσδιορισμός συγκέντρωσης ολικών φαινολικών, μέτρηση της συγκέντρωσης των ταννινών με τη μέθοδο Harbertson και προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών ταννινών με βρασμό. Πραγματοποιήθηκαν επίσης μετρήσεις για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φαινολικών ουσιών, των ανθοκυανών και των ταννινών.

Λέξεις κλειδιά: Ποικιλία Αγιωργήτικο, Νεμέα. ανθοκυάνες, φαινολικά συστατικά, ράγες.

## **ABSTRACT**

The purpose of this thesis is the study of altering in qualitative combination of grapes and the wine that is produced. This study was undertaken in a non-watered 10 acre vineyard in Asprokamos, Corinthos, it is a property of Katogi - Strofilia Inc. and is located in an altitude of 785 – 800 m. The cultivated vine variety is (*Vitis vinifera* L.) cv Agiorgitiko.

Firstly, the vineyard was split in 18 parts of similar size (400 - 550 m<sup>2</sup>) and different altitude. There was a micro-vinification which was followed by some laboratory analysis in the produced wine in each of the 18 parts. The vinification of the grapes took place in the laboratory of Oenology, at the department of the "Science and food technology" at the Agricultural University of Athens.

At the end of the vinification the following analysis took place. Total acidity, pH, volatile acidity and alcoholic value. Measurements concerning the quantitative specification of phenolic substances, anthocyanins and tannins also took place. More specifically, the analyses that were performed were the following: hue, intensity, total phenolic index, along with the measurement of the concentration of condensed tannins with the use of methyl cellulose. Furthermore, there were also measured, the concentration of anthocyanins and oligomeric phenolic compounds determined by HPLC, HCl indicator, ionization indicator (I %), concentration of tannins with the Harbertson method and concentration of tannins with boiling method.

Key – words: Agiorgitiko, Nemea, anthocyanins, tannins, phenolic content, berries

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω αρχικά τον καθηγητή μου Ιωάννη Καπόλο για τον πολύτιμο χρόνο του που μου αφιέρωσε και τις γνώσεις που μου μετέδωσε για να πραγματοποιηθεί αυτή η εργασία.

Επίσης να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον κύριο Γεώργιο Κοτσερίδη, επίκουρο καθηγητή Οινολογίας που με δέχτηκε στο εργαστήριο της Οινολογίας στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών όπου και πραγματοποιήθηκε η συγκεκριμένη εργασία και την κυρία Νίκη Προξενιά για την επιστημονική υποστήριξη που μου προσέφερε κατά την διάρκεια των πειραμάτων στο εργαστήριο.

Πίσω από κάθε εργασία υπάρχουν άνθρωποι που βοηθούν με τον τρόπο τους να έρθει το καλύτερο αποτέλεσμα. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την οικογένειά μου για όλη την στήριξη, την δύναμη και την αυτοπεποίθηση που μου προσφέρει σε κάθε μου επιλογή.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την συμφοιτήτριά μου Κυριακή Σκοπελίτου για την ηθική, ψυχολογική και επιστημονική υποστήριξη που μου παρέχει όλα αυτά τα χρόνια.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

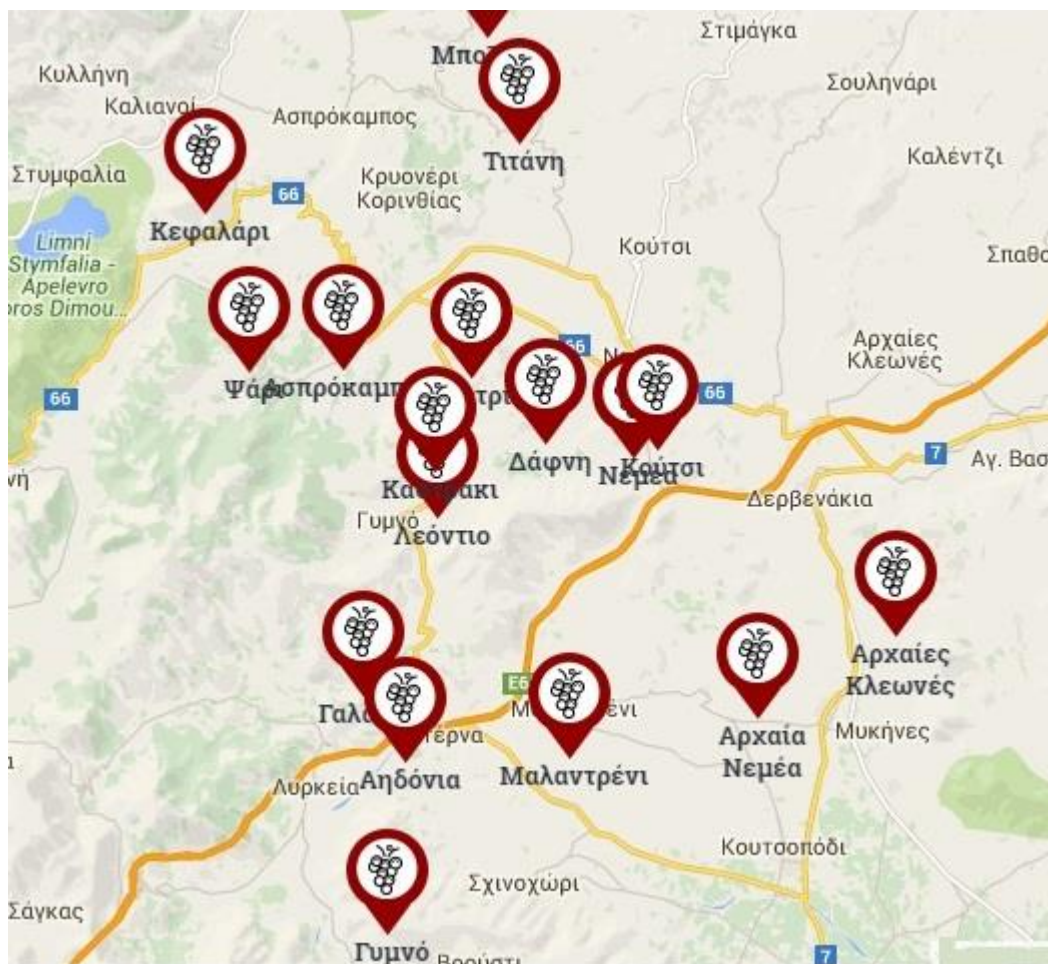
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	3
<b>ABSTRACT</b>	4
<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b>	5
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b>	6
<b>1. ΟΙΝΟΣ Π.Ο.Π. ΝΕΜΕΑΣ</b>	8
<b>2. ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ</b>	9
<b>3. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ</b>	11
<b>3.1. Φαινολικά οξέα</b>	11
3.1.1. Παράγωγα του κινναμωμικού οξέος	12
3.1.2. Παράγωγα του βενζοϊκού οξέος	13
3.1.3. Στιλβένια	14
<b>3.2. Φλαβονοειδείς φαινόλες</b>	14
3.2.1. Ανθοκυάνες	17
3.2.2. Τανίνες	18
<b>4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>	20
<b>4.1. Σχεδιασμός πειράματος</b>	20
<b>4.2. Φυσικοχημικές αναλύσεις</b>	23
4.2.1. Μέτρηση ολικής οξύτητας	23
4.2.2. Μέτρηση ενεργούς οξύτητας	24
4.2.3. Μέτρηση της πτητικής οξύτητας	24
4.2.4. Μέτρηση ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη	25
4.2.5. Μέτρηση ολικού θειώδους ανυδρίτη	26
4.2.6. Μέτρηση αλκοολικού βαθμού	26
4.2.7. Μέτρηση ανάγοντων σακχάρων	26
<b>4.3. Ενόργανες χημικές αναλύσεις</b>	27
4.3.1. Ένταση χρώματος/απόχρωση(420nm, 520nm, 620nm)	27
4.3.2. Δείκτης Φαινολικών Ουσιών(Δ.Φ.Ο)	28
4.3.3. Μέθοδος Folin – Ciocalteu (756nm)	28
4.3.4. Μέθοδος Methyl cellulose	29
4.3.5. Προσδιορισμός τανινών με την μέθοδο Harbertson	30
4.3.6. Προσδιορισμός ανθοκυανών με HPLC	30
4.3.7. Προσδιορισμός Δείκτη Ιονισμού	31
4.3.8. Προσδιορισμός τανίνων με βρασμό	32
4.3.9. Προσδιορισμός Δείκτη HCl	32
<b>5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	33
5.1. Γλεύκος σε ζύμωση 1 <sup>η</sup> ημέρα	33
5.2. Γλεύκος σε ζύμωση 4 <sup>η</sup> ημέρα	34
5.3. Γλεύκος σε ζύμωση 5 <sup>η</sup> ημέρα	35
5.4. Γλεύκος σε ζύμωση 6 <sup>η</sup> ημέρα	36
5.5. Γλεύκος σε ζύμωση 7 <sup>η</sup> ημέρα	37
5.6. Οίνος	38
5.7. Μεθυλοκυτταρίνη στον Οίνο	39
5.8. Δείκτης ιονισμού	40
5.9 Δείκτης Folin – Ciocalteu	41
5.10. Προσδιορισμός ανθοκυανών με HPLC	42

5.11. Προσδιορισμός τανινών με την μέθοδο Harbertson	43
5.12. Ταννίνες με βρασμό – Δείκτης HCl	44
<b>6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	<b>45</b>
<b>7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>63</b>

## 1. ΟΙΝΟΣ Π.Ο.Π. ΝΕΜΕΑΣ

Η Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης ζώνη (Π.Ο.Π.) της Νεμέας έχει γεωγραφικό πλάτος 37 ° βόρειο και γεωγραφικό μήκος 23 ° ανατολικό. Οι εκτάσεις που αποτελούν την περιοχή της ζώνης έχουν ως επίκεντρο τη βασική και μεγαλύτερη κοιλάδα, η οποία εκτείνεται 2 με 3 χλμ. νοτιοδυτικά της πόλης της Νεμέας. Από εκεί και σε ακτίνα περίπου 10 χιλιομέτρων με εξαίρεση το Β. Δ. τμήμα που η ακτίνα ανέρχεται στα 17 περίπου χιλιόμετρα βρίσκονται όλοι οι αμπελώνες της ζώνης Π.Ο.Π. Νεμέας.

Η ζώνη που καλλιεργείται το Αγιωργίτικο από το οποίο παράγεται το φημισμένο κρασί Π.Ο.Π. Νεμέα οριοθετήθηκε το 1971 και εκτός από την πόλη της Νεμέας, περιλαμβάνει ακόμα 16 χωριά: Μποζικάς, Τιτάνη, Κεφαλάρι, Ψάρι, Ασπρόκαμπος, Πετρί, Καστράκι, Δάφνη, Κούτσι, Λεόντιο, Γαλατάς, Αηδόνια, Μαλαντρένι, Αρχαία Νεμέα, Αρχαίες Κλεωνές και Γυμνό.



Εικόνα 1.1: Χάρτης Π.Ο.Π. Νεμέας

Το ανάγλυφο της ζώνης της Νεμέας είναι στο σύνολό του ένας ορεινός όγκος ο οποίος κόβεται με βαθιές χαραδρώσεις. Σήμερα αυτές οι χαραδρώσεις αποτελούν τις μικρές κοιλάδες της ζώνης. Η κεντρική και μεγαλύτερη κοιλάδα του ποταμού Ασωπού, περικλείεται μεταξύ των κοινοτήτων Νεμέας, Γαλατάς, Αηδονίων, Πετρίου και Κουτσίου. Οι υπόλοιπες μικρές κοιλάδες σχηματίζονται στην περιοχή των Αρχαίων



Κλεωνών, της Αρχαίας Νεμέας, Λεοντίου - Γυμνού, Ασπροκάμπου - Ψαρίου, Κεφαλαρίου, Μαλανδρενίου. Αυτές οι 7 κοιλάδες έχουν γύρω τους, στη μεγαλύτερη έκτασή τους ομαλές βουνοπλαγιές, στις οποίες εκτείνονται επίσης αμπελώνες.

Η ζώνη της Νεμέας εκτείνεται συνολικά σε 429.506 στρέμματα από τα οποία μόνο τα 20.000 με 22.000 στρέμματα, περίπου είναι φυτεμένα με την ποικιλία Αγιωργίτικο.

Το υψόμετρο της ζώνης κυμαίνεται από τα 80 έως τα 1235 μέτρα. Αμπελώνες μπορούμε να βρούμε αντίστοιχα από τα 95 έως τα 850 μέτρα περίπου. Το μεγαλύτερο μέρος της περιοχής (48,7%) έχει υψόμετρο 250 έως 500 μέτρα.

Το κλίμα γενικότερα για όλη την περιοχή μπορεί να χαρακτηριστεί ως ήπιο, μεσογειακό, ύφυγρο έως υπόξηρο. Με χειμώνες ήπιους συνήθως αρκετά βροχερούς, και μια καλοκαιρινή περίοδο παρατεταμένη, ζεστή και σχετικά ξηρή.

## 2. ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ

Μία από τις σημαντικότερες ελληνικές ερυθρές ποικιλίες είναι το Αγιωργίτικο. Λόγω του του βαθυκόκκινου χρώματος που έχουν τα παραγόμενα κρασιά αποκαλείται και «αίμα του Ηρακλή». Κάποια συνώνυμά του είναι Μαύρο Νεμέας, Νεμεάτικο.

Σε μια έκταση 22.000 στρεμμάτων με υψόμετρο από 200 έως 850 μέτρα τα σταφύλια μέτριου μεγέθους, με σφαιρικές ράγες, μαλακή σάρκα και παχύ κυανομέλανο φλοιό δίνουν το φημισμένο, πλούσιο σε αρώματα, Αγιωργίτικο Οίνο. Έτσι η Νεμέα κατατάσσεται στη μεγαλύτερη παραγωγή ερυθρών οίνων στην Ελλάδα.



Εικόνα 2.1: Σταφύλι ποικιλίας Αγιωργίτικο

Η ποικιλία Αγιωργίτικο έχει μεγάλη ετερογένεια εδαφικών και κλιματικών συνθηκών. Τα τελευταία χρόνια βρίσκεται επίσης στην Κρήτη και στην Δράμα καθώς υπάρχουν διάσπαρτα αμπέλια με Αγιωργίτικο στα νησιά του Αιγαίου, σε κάποιες περιοχές της Στερεάς Ελλάδας και της Αττικής.

Οι αμπελογραφικοί χαρακτήρες του Αγιωργίτικου:

- Η κορυφή νεαρής βλάστησης είναι μετρίως ανοιχτή έως ανοιχτή, κιτρινοπράσινη, χνοώδης, με ρόδινη παρυφή
- Τα νεαρά φύλλα είναι πράσινα, χνοώδη-βαμβακώδη στην κάτω επιφάνεια στιλπνά, με μικρές ροδόχροες περιοχές.
- Το αναπτυγμένο φύλλο είναι μέτριο ως μεγάλο, πεντάκολλο καισφηνοειδές. Έχει έλασμα κυματώδες, ελαφρώς πομφολυγώδες, παχύ με αναδιπλώσεις κατά μήκος των κυρίως νευρώσεων, βαθυπράσινο και λείο στην άνω επιφάνεια.
- Ο μισχικός κόλπος είναι κλειστός, σχήματος V και μετά U, με επικαλυπτόμενα χείλη.
- Ο πώδης βλαστός είναι οριζόντιος, αραχνουφής, πράσινος στην κοιλιακή πλευρά, πράσινος με ερυθρές ραβδώσεις στην νωτιαία πλευρά, ενώ οι κόμβοι του είναι αραχνουφείς, ερυθροί με πράσινα στίγματα.
- Η αυξανόμενη κορυφή κοκκινίζει και οι οφθαλμοί του είναι πράσινοι με ερυθρές περιοχές.
- Οι ανώτεροι κόλποι είναι βαθείς.
- Οι οδόντες είναι μέτριοι ως μεγάλοι, με τις πλευρές σχεδόν ευθείες.
- Ο μίσχος είναι μέτριου μήκους και πάχους, πράσινος με ερυθροιώδεις ραβδώσεις

Η σταφυλή είναι μέτρια, κωνική, συχνά διπλή, πυκνή έως πολύ πυκνή. Ο ποδίσκος είναι βραχύς που κατά κανόνα ξυλοποιείται πλήρως. Η ράγα είναι μικρή έως μέτρια, σφαιρική αλλά κάποιες φορές ωοειδής και ο φλοιός της είναι μέτρια ανθεκτικός, μέτρια παχύς ως παχύς, , καλυμμένος με άφθονη ανθηρότητα και πλούσιος σε ανθοκυάνες. Η σάρκα του είναι γλυκιά, χυμώδης, μετρίως μαλακή και έχει 2-3 γίγαρτα ανά ράγα.

Η ποικιλία Αγιωργίτικο είναι μέτρια ζωνηρή, εύρωστη, όψιμης ωρίμανσης, πολύ παραγωγική. Η έναρξη βλάστησης του παρατηρείται στα τέλη 3ου δεκαημέρου του Μαρτίου και η πλήρης βλάστηση στις αρχές 3ου δεκαημέρου του Απριλίου. Η άνθηση γίνεται το 2ο δεκαήμερο του Μαΐου, ενώ η έναρξη ωρίμανσης στα τέλη του 3ου δεκαημέρου του Ιουλίου και η πλήρης ωρίμανση το 3ο δεκαήμερο του Σεπτεμβρίου.

Οι νέοι αμπελώνες μορφώνονται σε γραμμικά σχήματα, αμφίπλευρο Royat με 6-8 βραχίονες με βραχύ κλάδεμα. Κάθε βραχίονας έχει 1 κεφαλή με 2 οφθαλμούς και η πυκνότητα φύτευσης βρίσκεται ανάμεσα στα 330 και 450 φυτά ανά στρέμμα. Σήμερα, μέσα στη ζώνη υπάρχουν νέα αμπέλια, τα οποία έχουν πυκνότητα φύτευσης έως και 650 φυτά / στρέμμα, και ύψος κορμού, το οποίο φτάνει και τα 90 εκατοστά, και ως κλάδεμα χρησιμοποιείται πάντα το Royat.

Παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στο οίδιο και κυρίως στο μολυσματικό εκφυλισμό. Είναι ευαίσθητη ποικιλία στην ξηρασία, στον ανοιξιάτικο παγετό και στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες.

Είναι πλούσιο σε ανθοκυάνες και φαινόλες. Σε περιοχές μικρού υψόμετρου δίνει αξιόλογα γλυκά κρασιά, σε περιοχές με μέτριο υψόμετρο δίνει κρασιά υψηλόβαθμα, καλής οξύτητας, πλούσια σε χρώμα, με καλές τανίνες, ενώ σε περιοχές μεγάλου υψόμετρου δίνει ροζέ ξηρά κρασιά.

### **3.ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ**

Τα φαινολικά συστατικά έχουν κυρίως αντιοξειδωτικές, βακτηριοκτόνες και βιταμινούχες ιδιότητες αποτελούν σημαντικό παράγοντα στην παραγωγή του οίνου. Είναι υπεύθυνα για όλες τις διαφορές μεταξύ των ευθρών και λευκών οίνων, ιδιαίτερα για το χρώμα και το άρωμα των ερυθρών (Kinsella et al.,1993). Οι πολυφαινολικές ενώσεις είναι υπεύθυνες για τις θετικές ή αρνητικές μεταβολές της ποιότητας, κατά την παραγωγή, ωρίμανση, συντήρηση και παλαίωση των οίνων (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Από χημική άποψη, τα φαινολικά συστατικά των οίνων διακρίνονται σε:

- Φαινολικά οξέα (μη φλαβονοειδείς φαινόλες). Ταξινομούνται με βάση την πηγή της προέλευσής τους, τη βιολογική τους λειτουργία και τη χημική τους δομή. Τα φαινολικά οξέα είναι άφθονα στα φυτά, διαχωρίζονται σε:
  - Παράγωγα του κινναμωμικού οξέος.
  - Παράγωγα του βενζοϊκού οξέος
  - Στιλβένια.
- Φλαβονοειδείς φαινόλες. Είναι ουσιαστικά οι πολυμοριακές φαινόλες που προέρχονται από την ίδια μητρική ένωση που είναι η φλαβόνη και τα δύο βασικά παράγωγα τους είναι :
  - Ανθοκυάνες (100-700 mg/l για ερυθρούς οίνους).
  - Τανίνες (1-4 g/l για ερυθρούς οίνους) (Τσακίρης, 1998).

#### **3.1. Φαινολικά οξέα (μη φλαβονοειδής φαινόλες)**

Τα φαινολικά οξέα (μη φλαβονοειδείς φαινόλες) περιλαμβάνουν τα βενζοϊκά οξέα, κινναμωμικά οξέα, και τα στιλβένια. Το σταφύλι περιέχει παράγωγα του βενζοϊκού και κινναμωμικού οξέος, των οποίων ένα ή περισσότερα υδρογόνα των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου έχουν αντικατασταθεί με υδροξυλομάδες και μεθόξυ ομάδες. Κυρίως στη σάρκα παρά στους φλοιούς περιέχονται οι μη φλαβονοειδείς και σε πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση σε ερυθρές ποικιλίες απ 'ότι σε λευκές. Στους ερυθρούς οίνους, η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται μεταξύ 100-200 mg/L. (Ribéreau-Gayón et al., 2000).

Στον οίνο υπάρχουν οξέα της ομάδας του βενζοϊκού και κινναμωμικού που απαντούν ως ετεροσακχαρίτες των ανθοκυανών ή ως εστέρες του τρυγικού οξέος όπως και παράγωγα της βενζαλδεΐδης και της κινναμωμικής αλδεΐδης που βρίσκονται στους οίνους που έχουν παραμείνει για παλαίωση στο ξύλινο βαρέλι (Τσακίρης, 1998).

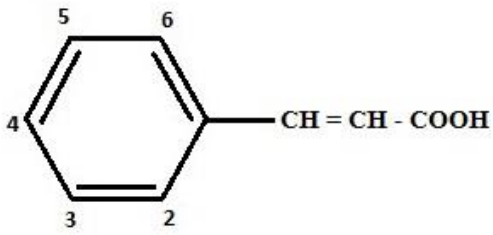
### 3.1.1. Παράγωγα κινναμωνικού οξέος

Πολλά κινναμωνικά οξέα, όπως το π-κουμαρικό, το καφεϊκό και το φερουλικό, υπάρχουν στα σταφύλια και το κρασί. Τα κινναμωμικά οξέα συνήθως δε βρίσκονται ελεύθερα στη σταφυλή, αλλά με μορφή ενώσεων με τις ανθοκυάνες και με το τρυγικό οξύ (Κοτσερίδης, 2005 / β).

Τα δεσμευμένα κινναμωνικά οξέα, όπως όλα τα φαινολικά οξέα μπορούν να απελευθερωθούν ή να υδρολυθούν με όξινη ή αλκαλική υδρόλυση ή από ένζυμα (Τσάο, 2010). Τα παράγωγα του υδροκινναμωμικού βρίσκονται πιο συχνά στα φυτά και αποτελούνται κυρίως από, καφεϊκόκουμαρικό, φερουλικό και σιναπικό οξύ. Αυτά τα οξέα απαντώνται κυρίως εστεροποιημένα με ένα σάκχαρο, συνήθως γλυκόζη ή με το κουϊνικό οξύ, το σικιμικό οξύ ή το ταρταρικό οξύ, και σπάνια σε ελεύθερη μορφή. Στην ελεύθερη μορφή τους βρίσκονται σε τρόφιμα που έχουν υποστεί επεξεργασία όπως ψύξη, θέρμανση ή ζύμωση (Τσάο, 2010).

Μέσω της εστεροποίησης του καφεϊκού οξέος και του π-κουμαρικού οξέος με την γλυκόζη του γλυκοζίτη, τα κινναμωνικά οξέα συνδιαζόμενα με μονογλυκοζίτες των ανθοκυανινών σχηματίζουν ακυλιωμένες ανθοκυάνες (Ribereau - Gayon, 1965). Το καφεϊκό οξύ, τόσο στην ελεύθερη όσο και στην εστεροποιημένη του μορφή είναι το πιο άφθονο φαινολικό οξύ και αντιπροσωπεύει το 75-100% του συνολικού υδροξυκινναμωμικού στα περισσότερα φρούτα (Τσάο, 2010). Πιο συγκεκριμένα το καφεϊκό είναι το 3,4 διυδροξυκινναμικό οξύ και παράγεται από το π-κουμαρικό οξύ με την προσθήκη μιας ακόμη υδροξυλομάδας στον αρωματικό του δακτύλιο. Το καφεϊκό οξύ, έχει ανιοξειδωτικές ικανότητες και βρίσκεται σε πολλά τρόφιμα (φρούτα, λαχανικά, κρασί, ελαιόλαδο) είτε στην ελεύθερη μορφή του είτε στην εστεροποιημένη του μορφή με σάκχαρα, οργανικά οξέα ή διάφορες αλκοόλες. Στα φρούτα βρίσκεται σε όλα τα μέρη του φρούτου, με μεγαλύτερες όμως συγκεντρώσεις να συναντώνται στα εξωτερικά μέρη των ώριμων φρούτων (Manach et al., 2004).

Το φερουλικό οξύ είναι το πιο άφθονο φαινολικό οξύ που υπάρχει κυρίως στο στους κόκκους των δημητριακών καταλαμβάνοντας το 90% της περιεκτικότητάς τους σε πολυφαινόλες καθώς επίσης βρίσκεται στα σταφύλια και σε διάφορα άλλα φρούτα (Scalbert et al., 2000, Manach et al., 2004). Επιπλέον παρουσιάζει σημαντική ικανότητα να δεσμεύει ελεύθερες ρίζες κυρίως υπεροξειδίου  $O_2^-$ , υδροξυλίου  $OH$  και μονοξειδίου του αζώτου  $NO$ , ωστόσο η αντιοξειδωτική του ικανότητα είναι μικρότερη από αυτή του καφεϊκού οξέος (Psotova et al., 2003).

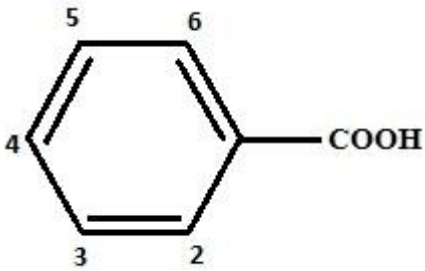
Βασικός τύπος κινναμωνικών οξέων	Όνομασία φαινολικών οξέων	Θέση πρόσθετων ομάδων -OH	Θέση πρόσθετων ομάδων -OCH <sub>3</sub>
	π- κουμαρικό	4	
	Φερουλικό οξύ	4	3
	Καφεικό οξύ	3,4	

Πίνακας 3.1: Κυριότερα κινναμωνικά οξέα στους οίνους (Τσακίρης, 1998)

### 3.1.2. Παράγωγα βενζοϊκού οξέος

Τα βενζοϊκά οξέα βρίσκονται με μορφή σύνθετων χημικών ενώσεων που συμμετέχουν και ανθοκυάνες. Επίσης συμμετέχουν και στη δομή των ταννινών. Τα βασικότερα βενζοϊκά οξέα είναι το σαλυλικό, π-υδροβενζοϊκό, βανιλλικό, συριγγικό, πρωτοκατεκινικό και γαλλικό (Τσακίρης, 1998). Το σταφύλι περιέχει κυρίως γαλλικό οξύ, που βρίσκεται με τη μορφή εστέρων των 3-φλαβανολών (κατεχίνες) (Soleas et al., 1997).

Οι υδρολυόμενες ταννίνες είναι μία ετερογενής ομάδα πολυμερών ενώσεων, που περιέχουν ένα σάκχαρο και άφθονα μόρια γαλλικού οξέος. Τα μόρια του γαλλικού οξέος, στο μόριο της υδρολυόμενης ταννίνης, συνδέονται με ποικίλους τρόπους. Το σάκχαρο είναι συνήθως γλυκόζη χωρίς όμως να αποκλείεται η παρουσία κάποιου άλλου σακχάρου. Τα μόρια των υδατοδιαλυτών ταννινών είναι μικρότερα από αυτά των συμπυκνωμένων ταννινών και σε όξινες συνθήκες διαχωρίζονται πολύ εύκολα σε σάκχαρο και φαινολικά οξέα. Αυτό συμβαίνει γιατί το χαμηλό pH μπορεί και εξασθενεί τον δεσμό ανάμεσα στο υδρογόνο και το οξυγόνο των συνδεδεμένων φαινολών στις υδρολυόμενες ταννίνες, ενώ στις συμπυκνωμένες ταννίνες οι δεσμοί είναι ομοιοπολικοί και είναι σταθεροί σε αυτές τις συνθήκες. Τα παράγωγα των υδροξυβενζοϊκών οξέων δεν βρίσκονται σε σημαντικές ποσότητες σε εδάδιμα φυτά (Soleas et al., 1997; Manach et al., 2004).

Βασικός τύπος βενζοϊκών οξέων	Ονομασία φαινολικών οξέων	Θέση πρόσθετων ομάδων -OH	Θέση πρόσθετων ομάδων -OCH <sub>3</sub>
	Σαλικικό οξύ	2	
	Π-υδροβενζοϊκό οξύ	4	
	Βανιλλικό οξύ	4	3
	Συριγγικό οξύ	4	3, 5
	Γαλλικό οξύ	3,4,5	
	Πρωτοκατεκινικό οξύ	3,4	

Πίνακας 3.2: Κυριότερα βενζοϊκά οξέα στους οίνους (Τσακίρης, 1998)

### 3.1.3 Στιλβένια

Τα στιλβένια είναι μία ακόμη ομάδα φαινολικών ενώσεων που ανήκουν στην κατηγορία των μη φλαβονοειδών. Κοινό χαρακτηριστικό τους είναι ότι αποτελούνται από δύο φαινολικούς δακτυλίους ενωμένους με μία γέφυρα μεθυλενίου (Yang et al., 2001). Μία από τις κύριες ιδιότητές τους είναι η αντιοξειδωτική δραστηριότητά τους, η οποία επιτρέπει τη μείωση της ανάπτυξης αρτηριοσκλήρωσης, φλεγμονωδών ασθενειών και του καρκίνου (Τσακίρης, 1998).

Στο σταφύλι και στον οίνο έχει εντοπισθεί η παρουσία της ρεσβερατρόλης που ανήκει στην ομάδα των στιλβενίων. Ανακαλύφθηκε στα κλήματα τύπου *Vitis vitifera* το 1976 και στο κρασί το 1992. Η ρεσβερατρόλη βρίσκεται μόνο στους φλοιούς της σταφυλής, συνεπώς υπάρχει μόνο σε ερυθρούς οίνους που γίνεται εκχύλιση κατά την αλκοολική ζύμωση, σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 1 έως 3 mg/L, ανάλογα με την ποικιλία (Ribéreau-Gayón et al., 2000).

### 3.2. Φλαβονοειδείς φαινόλες

Πολυάριθμοι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της ποικιλίας, μπορούν να επηρεάσουν το πολυφαινολικό περιεχόμενο των φυτών. Στους παράγοντες αυτούς ανήκουν η ωρίμανση κατά την ώρα της συγκομιδής, περιβαλλοντικοί παράγοντες, η αποθήκευση και η επεξεργασία του φυσικού προϊόντος (Manach et al., 2004). Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες επιδρούν σημαντικά στο πολυφαινολικό περιεχόμενο των τροφίμων. Μπορεί να είναι κλιματικοί (έκθεση στον ήλιο, βροχοπτώσεις) ή αγρονομικοί (καλλιέργειες σε θερμοκήπιο ή σε χωράφι, βιολογική καλλιέργεια, υδροπονική καλλιέργεια κτλ). Η έκθεση στον ήλιο επιδρά στα περισσότερα φλαβονοειδή. Ο βαθμός ωρίμανσης επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωση και την αναλογία των διάφορων πολυφαινολών στα φυτικά προϊόντα. Γενικά, η συγκέντρωση των φαινολικών οξέων μειώνεται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, ενώ η συγκέντρωση των ανθοκυανινών αυξάνεται.

Τα φλαβονοειδή αποτελούνται από έναν C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> σκελετό στον οποίο οι δύο C<sub>6</sub> μονάδες είναι φαινολικής φύσεως. Ανάλογα με το βαθμό οξείδωσης του

οξυγονομένου ετεροκυκλικού δακτυλίου μπορούν να διακριθούν σε φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβανόνες, ισοφλαβονοειδή, φλαβανόλες, που περιλαμβάνουν τις φλαβονόλες – 3 (κατεχίνες) και τις φλαβονόλες – 3 (προκυανιδίνες) (Manach et al., 2004, Τσάο, 2010).

Τα πολυμερή παράγωγα των φλαβονοειδών ονομάζονται τανίνες, ποικίλουν σε μεγάλο βαθμό ως προς το μοριακό τους βάρος και χωρίζονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τη δομή τους: σε συμπυκνωμένες και σε υδρολυμένες τανίνες. Οι συμπυκνωμένες τανίνες είναι πολυμερή των φλαβονοειδών και οι υδρολυμένες περιλαμβάνουν το γαλλικό οξύ. (Scalbert et al, 2000). Οι ανθοκυάνες μέσα στον οίνο βρίσκονται σε μορφή ετεροσακχαριτών των οποίων το άγλυκο μέρος είναι υδροξυλιωμένο και μεθυλιωμένο παράγωγο του φαινυλο-βένζο-πυριλίου (Τσακίρης, 1998).

Τα ισοφλαβονοειδή είναι από τα πιο σημαντικά φλαβονοειδή. Χωρίζονται σε 5 κατηγορίες. Στις ισοφλαβόνες (isoflavones), ισοφλαβάνες (isoflavanes), ισοφλαβανόνες (isoflavanones), κουμεστάνες (coumestanes), πτεροκαρπάνες (pterocarpanes). Εμφανίζουν αρκετά οφέλη για την υγεία αφού παρουσιάζουν προστατευτική δράση ενάντια σε καρδιαγγειακές παθήσεις όπως η αθηροσκλήρωση, η υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία και η καρδιακή θρόμβωση καθώς και ενάντια στην οστεοπόρωση και στο κλιμακτηριακό σύνδρομο (Watanabe et al., 2002). Οι ισοφλαβόνες ανήκουν στα φυτοοιστρογόνα και εμφανίζουν οιστρογονική, αντί οιστρογονική, αντικαρκινική, αντιϊική, αντιμυκητιακή και αντιοξειδωτική δράση (Mazur et al., 1996).

Οι φλαβονόλες είναι τα πιο συχνά απαντώμενα φλαβονοειδή στα φυτά όπως η κερκιτρίνη, κερκτίνη, μυρικιτρίνη και η καιμπερολόλη. Το κόκκινο κρασί και το τσάι περιέχουν αρκετή ποσότητα φλαβονολών. Βρίσκονται κυρίως σε γλυκοζυλιωμένη μορφή, συνδεδεμένα με μόρια γλυκόζης, ραμνόζης ή και γαλακτόζης, αραβινόζης, ξυλόζης και γλυκουρονικού οξέος. Τα φρούτα συχνά περιέχουν 5-10 διαφορετικούς φλαβονολικούς γλυκοζίτες. Βρίσκονται κυρίως στην εξωτερική επιφάνεια των φρούτων, στην επιδερμίδα και στα φύλλα επειδή η βιοσύνθεσή τους ενεργοποιείται από το φως. Η περιεκτικότητα των φλαβονολών στις σταφυλές ποικίλει από 10-100 mg/Kg ραγών. Στους λευκούς οίνους, λόγω της απουσίας φλοιών κατά την οινοποίηση, απαντούν στην ποσότητα των 1-3 mg/L ανάλογα με την ποικιλία της σταφυλής (Ribéreau-Gayón et al., 2000).

Οι φλαβονόνες απαντώνται σε μικρότερη συχνότητα από τις φλαβονόλες στα φρούτα και τα λαχανικά. Είναι ισομερή με τις χαλκόνες, που είναι μόρια με παρόμοια δομή με τις φλαβανόνες μόνο που πρόκειται για ακόρεστες ενώσεις, οι οποίες έχουν έναν ανοικτό δακτύλιο και η αρίθμησή τους είναι διαφορετική από αυτή των υπόλοιπων φλαβονοειδών. Οι κύριες φλαβανόνες είναι η ναριγκενίνη και η εσπερετίνη (Scalbert et al., 2000, Manach et al., 2004, Τσάο 2010).

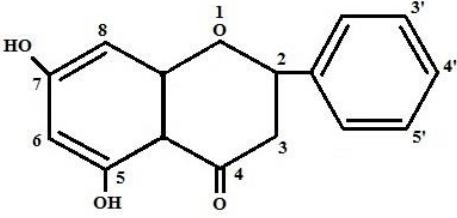
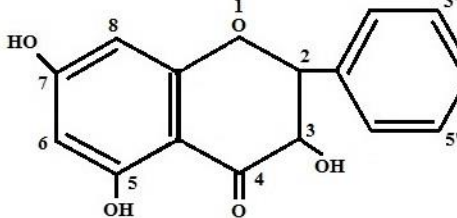
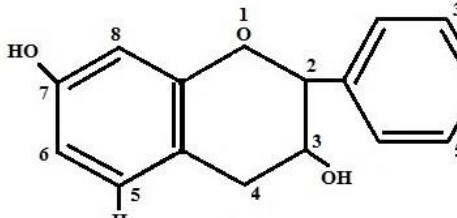
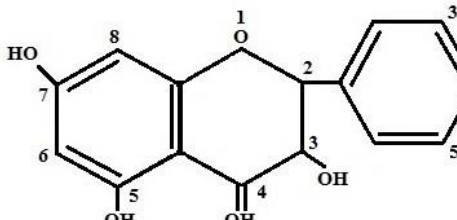
Οι κατεχίνες και οι επικατεχίνες είναι οι κύριες φλαβανόλες των φρούτων, ενώ οι γαλλοκατεχίνες, οι επιγαλλοκατεχίνες και οι εστέρες της επιγαλλοκατεχίνης, βρίσκονται σε συγκεκριμένα όσπρια, στα σταφύλια και κυρίως στο τσάι (Arts et al., 2000). Η κατεχίνη και η επικατεχίνη παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση επιδρώντας

με διάφορους τρόπους στα τρία βασικά στάδια της καρκινογενετικής διαδικασίας (initiation, promotion, progression) (Stoner et Mukhtar., 1995).

Οι προκυανιδίνες συχνά μπορούν να σχηματιστούν ως πολυμερή από τις κατεχίνες και τις επικατεχίνες (Τσάο, 2010, Arts et al., 2005). Επίσης είναι γνωστές και ως συμπυκνωμένες τανίνες, είναι διμερή, ολιγομερή και πολυμερή των κατεχινών, που συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς μεταξύ των ατόμων C4 και C8. Μέσω της δέσμευσής τους με πρωτεΐνες του σιέλου, οι συμπυκνωμένες τανίνες, είναι υπεύθυνες για τη στυφή γεύση που χαρακτηρίζει κάποια φρούτα, όπως τα σταφύλια και τα βατόμουρα, και κάποια ποτά - ροφήματα, όπως η μπίρα και το κρασί. Η στυπτικότητα αλλάζει κατά την ωρίμανση του τροφίμου και φαίνεται να εξαφανίζεται κατά την τελική ωρίμανση του, και οφείλεται σε αντιδράσεις πολυμερισμού των τανινών με μόρια ακεταλδεΐδης (Scalbert et al., 2000).

Οι αντιδράσεις πολυμερισμού φαίνεται να είναι υπεύθυνες και για τη μείωση της συγκέντρωσης των τανινών κατά την ωρίμανση του φρούτου. Είναι ιδιαίτερα δύσκολο να εκτιμήσουμε το περιεχόμενο των τροφίμων σε προκυανιδίνες επειδή εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία στη δομή και το μοριακό τους βάρος ( Manach et al., 2004, Τσάο, 2010).



Βασικός τύπος φλαβονοειδών φαινολών	Όνομασία φαινολών	Θέση πρόσθετων ομάδων -OH	Θέση πρόσθετων ομάδων -OCH <sub>3</sub>
<b>Φλαβονόνες</b>			
	Ναρριγετίνη	4'	
	Εσπεριτίνη	3'	4'
<b>Φλαβονόλες</b>			
	Καιμπερόλη	4'	
	Κερκτίνη	3', 4'	
	Κερκιτρίνη	3', 4'	
	Μυρικιτρίνη	3', 4', 5'	
<b>Φλαβονόλες – 3 (κατεχίνες)</b>			
	Κατεχίνη	3', 4'	
	Γαλλοκατεχίνη	3', 4', 5'	
<b>Φλαβονόλες – 3, 4 (προκυανιδίνες)</b>			
	Προκυανιδίνη	3', 4'	
	Προδελφιδίνη	3', 4', 5'	
	Προμαλβιδίνη	4'	3', 5'
	Προπετουνιδίνη	4', 5'	3'

Πίνακας 3.3: Οι κυριότερες φλαβονοειδής φαινόλες των οίνων (Τσακίρης, 1998)

### 3.2.1 Ανθοκυάνες

Από τις σημαντικότερες συνεισφορές των φαινολικών στον οίνο είναι το χρώμα και συγκεκριμένα από τις ανθοκυάνες που δίνουν το κόκκινό τους χρώμα. Εντοπίζονται στο φλοιό των ραγών εν *vinifera*, πλην των «βαφικών ποικιλιών» στις οποίες βρίσκονται στην σάρκα των ραγών (π.χ. *Alicante bouschet*) ή ορισμένων ραγών σε στάδιο υπερωρίμανσης, λόγω γήρανσης των κυττάρων και διάχυσης χρωστικών στη σάρκα. Είναι επίσης παρούσες στα φύλλα, κυρίως κατά το τέλος της περιόδου ανάπτυξης, όπου και χρωματίζονται ερυθρά. Από τον ποσοτικό προσδιορισμό των ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς των πιο διαδομένων ελληνικών ερυθρώ ποικιλιών,

προέκυψε ότι αυτές κυμαίνονται από 100mg – 1500mg/kg ραγών (Κουράκου - Δραγώνα, 1998).

Στα σταφύλια και στους οίνους απαντούν πέντε είδη ανθοκυανών, η κυανιδίνη, η δελφινιδίνη, η μαλβιδίνη, η πετουνιδίνη και η παιονιδίνη. Όλες είναι ασταθείς εκτός από τη μαλβιδίνη και την παιοδίνη (Τσακίρης, 1998).

Κατά την αλκοολική ζύμωση προκαλείται η αναγωγή των συστατικών γλεύκους, το υδρογόνο μεταφέρεται στις ανθοκυάνες από το συνένζυμο NADH<sub>2</sub> και προκαλεί αποχρωματισμό λόγω αναγωγής των ανθοκυανών (Τσακίρης, 1998).

Είναι πολύ πιο σταθερά υπό μορφή γλυκοζιτών (ανθοκυάνες) από ότι υπό μορφή άγλυκου (ανθοκυανιδίνες), ώστε τα τελευταία να μην βρίσκονται ελεύθερα στη φύση. Οι ανθοκυανιδίνες διαφέρουν μεταξύ τους μόνο ως προς τον αριθμό των OH και -CH<sub>3</sub> που υπεισέρχονται στον πλευρικό δακτύλιο. Ο αριθμός αυτός επηρεάζει τόσο τη σταθερότητα της ανθοκυάνης όσο και το χρώμα της (Ribéreau-Gayón et al., 2000).

Βασικός τύπος ανθοκυανών		
Όνομασία	R1	R2
Κυανιδίνη	-OH	-H
Παιονιδίνη	-OCH <sub>3</sub>	-H
Δελφινιδίνη	-OH	-OH
Πετουνιδίνη	-OCH <sub>3</sub>	-OH
Μαλβιδίνη	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>

Πίνακας 3.4: Οι ανθοκυάνες στους οίνους (Τσακίρης, 1998)

### 3.2.2. Τανίνες

Οι τανίνες απαντούν στα στερεά μέρη της σταφυλής (γίγαρτα 65%, βόστρυχοι 22%, φλοιοί 12%). Από χημική άποψη είναι μεγαλομόρια με φαινολικό δακτύλιο, που προκύπτουν από πολυμερισμό μορίων με φαινολική ομάδα. Δίνουν σταθερές ενώσεις με πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Τα Μ.Β. των δραστικών τανινών κυμαίνονται από 600 έως 3.500 Dalton (Ribéreau-Gayón et al., 2000).

Στις τανίνες των σταφυλιών γίνεται διαχωρισμός μεταξύ των ταννινών των γιγάρτων και του φλοιού. Οι τανίνες διακρίνονται σε συμπυκνωμένες και σε

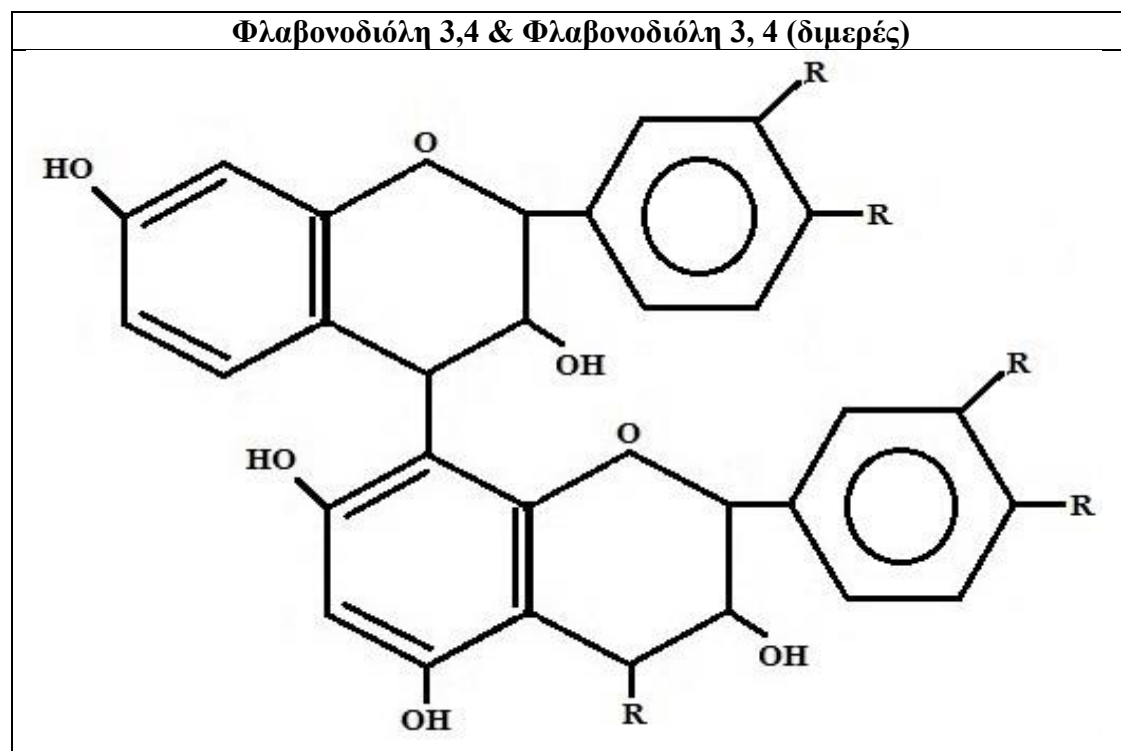
υδρολυόμενες. Η θέρμανση των τανινών σε όξινο περιβάλλον οδηγεί στο σχηματισμό κυρίως ερυθρής κυανιδίνης, προκυανιδίνη (Κοτσερίδης, 2005/β).

Οι υδρολυόμενες τανίνες αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου, γλυκόζη, πάνω στο οποίο προσκολλώνται διάφορες φαινολικές ενώσεις, γνωστές ως γαλλοτανίνες ή ελλαγικές τανίνες. Δεν περιέχονται στη σταφυλή αλλά στο ξύλο της δρυός (Σουφλερός, 2000/α).

Οι συμπυκνωμένες τανίνες είναι οι τανίνες της σταφυλής, που απαντώνται σε όλα τα στερεά μέρη της και προέρχονται από τον πολυμερισμό της 3-φλαβονόλης (κατεχίνης) (Σουφλερός, 2000/α). Σύμφωνα με την Κουράκου οι συμπυκνωμένες τανίνες αποτελούν το σώμα του οίνου. Αντιπροσωπεύουν το 30-60% των ολικών φαινολικών παραγώγων και το ποσοστό τους αυξάνεται με την ηλικία του οίνου.

Η ανομοιογένεια της υφής των τανινών εξαρτάται από την ποικιλία των σταφυλιών, τις κλιματολογικές συνθήκες και το είδος της οινοποίησης. Οι ερυθροί οίνοι που προορίζονται για γρήγορη κατανάλωση έχουν μικρά μόρια τανινών τα οποία δεν αντέχουν στην παλαίωση (Τσακίρης, 1998).

Οι νέοι οίνοι που προορίζονται για παλαίωση, οι τανίνες προέρχονται κυρίως από τα κουκούτσια και είναι κατά μεγάλο ποσοστό μεγάλα μόρια. Η ικανότητα παλαίωσης εκτός από την ποικιλία του σταφυλιού εξαρτάται από την ωρίμανση του σταφυλιού από την οποία εξαρτάται ο βαθμός πολυμερισμού των τανινών (Τσακίρης, 1998).



Πίνακας 3.5: Τανίνες του σταφυλιού και του οίνου (Τσακίρης, 1998)

## 4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

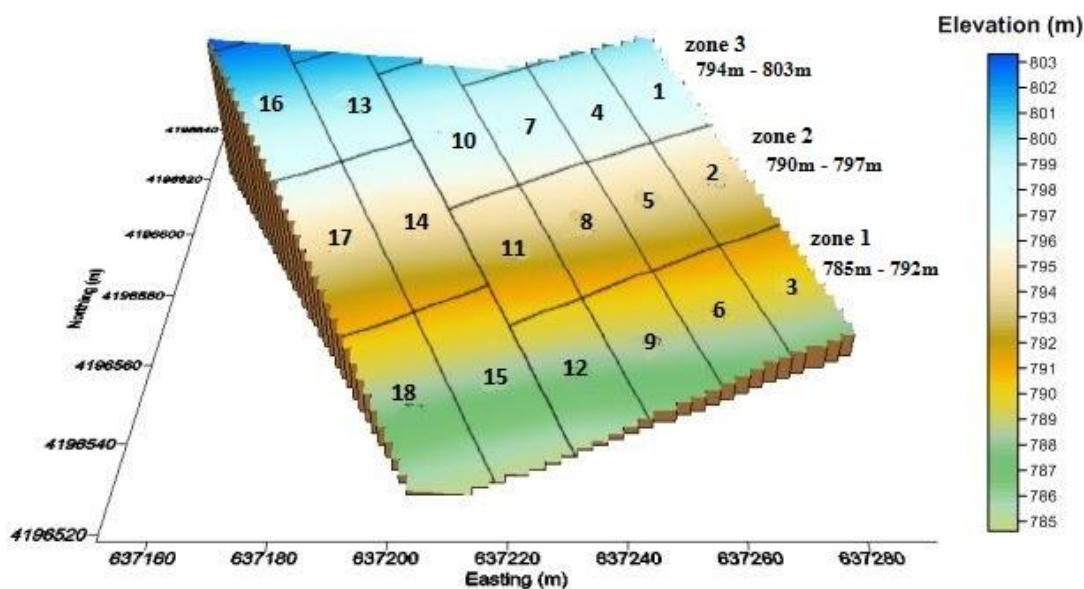
### 4.1. Σχεδιασμός Πειράματος

Ο τρυγητός έγινε στις 02/10/2014 στον Ασπρόκαμπο Κορινθίας, σε αμπελώνα που ανήκει στο κτήμα Κατώγι - Στροφιλιά Α.Ε. Ο αμπελώνας βρίσκεται σε υψόμετρο από 785m έως 803m και είναι 10 στρεμμάτων με γεωγραφικό πλάτος 37,54 °B και γεωγραφικό μήκος 22,33°A. Το υποκείμενο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το 1103 Ρ.

Οι μετρήσεις στον αμπελώνα καθώς και η οινοποίηση πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του έτους 2014. Τα πρέμνα ήταν ηλικίας 4 ετών ενώ η απόσταση φύτευσης πρέμων ήταν 1,0 x 2,5μ.

Το κλίμα της περιοχής χαρακτηρίζεται από χειμώνα ψυχρό, με αρκετές βροχές και χιόνια, άνοιξη δροσερή και καλοκαίρι ξηρό, με υψηλές θερμοκρασίες την ημέρα και χαμηλότερες τη νύχτα. Η ωρίμανση των σταφυλιών γίνεται δύσκολα (όψιμος τρύγος), ενώ τα σταφύλια ανεβάζουν δύσκολα αλκοολικό βαθμό. Οι αμπελώνες του Ασπρόκαμπου, εμφανίζουν εδάφη βαθιά, αργιλώδη, αλκαλικά, με αρκετό ανθρακικό ασβέστιο ενώ η απόδοσή τους είναι 900 kg / στρ.

Ο αμπελώνας χωρίστηκε σε 18 τμήματα τα οποία χωρίστηκαν σε 3 ζώνες ανάλογα με το υψόμετρό τους. Η ζώνη 1 βρίσκεται σε υψόμετρο από 785m έως 792m και περιλαμβάνει τα τμήματα: 3, 6, 9, 12, 15, 18. Η ζώνη 2 βρίσκεται σε υψόμετρο από 790m έως 797m και περιλαμβάνει τα τμήματα: 2, 5, 8, 11, 14, 17. Τέλος η ζώνη 3 βρίσκεται σε υψόμετρο από 794m έως 803m και περιλαμβάνει τα τμήματα: 1, 4, 7, 10, 13, 16.



Εικόνα 4.1: Ο αμπελώνας που ανήκει στο κτήμα Κατώγι - Στροφιλιά Α.Ε, χωρισμένος σε 18 τμήματα και 3 ζώνες

Τα σταφύλια συλλέχθηκαν από τα 18 τμήματα και οινοποιήθηκαν ξεχωριστά. Μεταφέρθηκαν 18 τελάρα των 20 kg και αποθηκεύτηκαν σε ψυκτικό θάλαμο στους 5 °C.

Τα σταφύλια συλλέχθηκαν από τα 18 τμήματα και οινοποιήθηκαν ξεχωριστά. Μεταφέρθηκαν 18 τελάρα των 20 kg και αποθηκεύτηκαν σε ψυκτικό θάλαμο στους 5°C. Μετά από 2 μέρες (4/10) ακολούθησε η οινοποίηση. Η μέθοδος που ακολουθήθηκε ήταν η κλασική ερυθρή οινοποίηση.

Επιγραμματικά ακολουθήθηκαν τα εξής στάδια:

- Έκθλιψη των σταφυλών με αποβοστρύχωση. Η έκθλιψη έγινε σε χειροκίνητο θλιπτήρα που διαθέτει η Γεωπονική Σχολή Αθηνών.
- Μεταφορά Της σταφυλομάζας στα δοχεία οινοποίησης. Αφαιρέθηκαν οι βόστρυχοι με τα χέρια και στη συνέχεια μεταφέρθηκε η σταφυλομάζα σε δοχείο 15L. Στη συνέχεια έγινε θειώση με θειώδη ανυδρίτη (8 g/hl). Προστέθηκαν πηκτινολυτικά ένζυμα σε αναλογία 5 g/εκατόλιτρο (Safizym Χρώμα, Fermentis, Γαλλία). Προστέθηκαν και τανίνες 20 g/HKG. Η αλκοολική ζύμωση πραγματοποιήθηκε στους 15 °C μετά από εμβολιασμό με ζύμες Αγίου Γεωργίου S101 σε αναλογία 20 gr/εκατόλιτρο οι οποίες είχαν προστεθεί σε νερό για 15 λεπτά στους 38 °C. Στη συνέχεια προστέθηκε και τροφή για τους ζυμομύκητες, SuperStart Laffort 20 g/hl.

Καθημερινά γινόταν ανάδευση του γλεύκους ώστε να επιτυγχάνεται ομογενοποίηση. Με το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης πραγματοποιήθηκε μηλογαλακτική ζύμωση αφού πρώτα έγινε μετάγγιση των δειγμάτων. Η μηλογαλακτική ζύμωση έγινε αυθόρμητα και όχι με προσθήκη γαλακτικών βακτηρίων.

Καθημερινά κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης γινόταν μέτρηση Baume για τον ποσοδιορισμό των σακχάρων, της θερμοκρασίας και της πυκνότητας, για τον έλεγχο της πορείας της ζύμωσης. Τέλος, για τον έλεγχο της πορείας της μηλογαλακτικής ζύμωσης γινόταν καθημερινά προσδιορισμός της αποικοδόμησης του μηλικού οξέως σε γαλακτικό οξύ με τη μέθοδο TLC (Thin-Layer Chromatography).

Στο τέλος προστέθηκε επιπλέον θειώδης ανυδρίτης (50 mg/L SO<sub>2</sub>) και ο οίνος μεταγγίστηκε σε ασκούς ώστε να διατηρηθεί για τις αναλύσεις.

Μετά την αλκοολική ζύμωσης μετρήθηκε ο αλκοολικός τίτλος, η ολική οξύτητα, το pH, η πτητική οξύτητα, το ελεύθερο SO<sub>2</sub>, το ολικό SO<sub>2</sub>, η περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ, τα ανάγοντα σάκχαρα, οι ολικές ανθοκυάνες καθώς και η ένταση χρώματος και η απόχρωση. Κατά την αποθήκευση μετρήθηκε η ολική και η πτητική οξύτητα, το pH, το ελεύθερο SO<sub>2</sub> και το ολικό SO<sub>2</sub>.

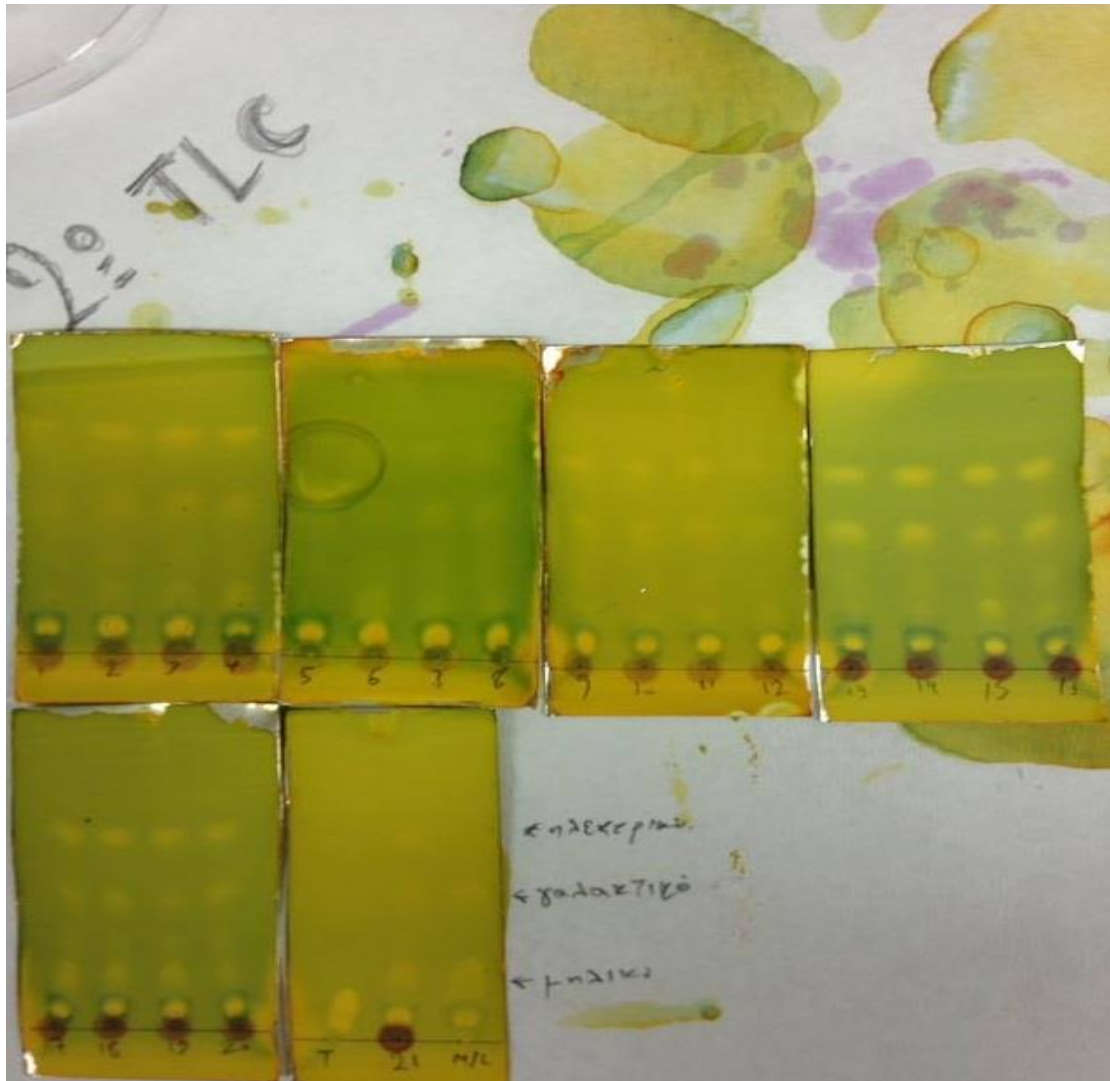




Εικόνα 4.2: Μέτρηση Baume για τον προσδιορισμό των σακχάρων για τον έλεγχο της αλκοολικής ζύμωσης στο εργαστήριο της οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για τα δείγματα της παρούσας εργασίας

Πριν την εμφιάλωση μετρήθηκε ο αλκοολικός τίτλος, το pH, η πτητική οξύτητα, το ελεύθερο και το ολικό SO<sub>2</sub>, έγινε έλεγχος τρυγικής σταθερότητας, ενώ προσδιορίστηκε και ο Δείκτης Φαινολικών Ουσιών, η ένταση χρώματος / απόχρωση και οι ολικές ανθοκυάνες.

Μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης πραγματοποιήθηκαν κλασικές μετρήσεις, και μετρήσεις ποσοτικού προσδιορισμού φαινολικών ουσιών, ανθοκυανών και τανινών. Αναλυτικά, οι κλασικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν η μέτρηση του pH, των Brix, της ολικής οξύτητας, του αλκοολικού τίτλου καθώς και της πτητικής οξύτητας. Επιπλέον, μετρήθηκε η ένταση του χρώματος και η απόχρωση, καθώς και η συγκέντρωση συμπυκνωμένων ταννινών με την χρήση της μεθυλική κυτταρίνη. Επίσης, με υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης (HPLC) προσδιορίστηκαν οι εξής ανθοκυάνες: δελφινιδίνη, κυανιδίνη, πετουινιδίνη, παιονιδίνη, μαλβιδίνη, οξικός εστέρας μαλβιδίνης, κουμαρικός εστέρας μαλβιδίνης. Τέλος, προσδιορίστηκαν ο δείκτης ιονισμού (I%, Glories, 1978), ο δείκτης υδροχλωρικού οξέος (HCl %, Glories, 1978), η συγκέντρωση ταννινών με την μέθοδο Harberston (Adams και Harberston, 1999) και η συγκέντρωση ταννινών με βρασμό.



Εικόνα 4.3: Έλεγχος μηλογαλακτικής ζύμωσης με την μέθοδο TLC (Thin-Layer Chromatography) στο εργαστήριο της οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για τα δείγματα της παρούσας εργασίας

## 4.2. Φυσικοχημικές αναλύσεις

### 4.2.1. Μέτρηση της ολικής οξύτητας

Ολική οξύτητα ορίζεται το άθροισμα των όξινων ομάδων που τιτλοδοτούνται όταν το pH του οίνου ρυθμίζεται στην τιμή 7 με την προσθήκη τιτλοδοτημένου διαλύματος βάσης. Το CO<sub>2</sub> και το SO<sub>2</sub> δεν περιλαμβάνονται στην ολική οξύτητα. Τα οξέα του οίνου προέρχονται από το γλεύκος και παράγονται κατά τη διάρκεια ή και μετά την αλκοολική ζύμωση. Κύρια οργανικά οξέα του οίνου είναι το τρυγικό και το μηλικό οξύ. Τα οξέα αυτά προέρχονται από το γλεύκος και συμβάλουν κατά κύριο λόγο στην ολική οξύτητα.

#### Πειραματική διαδικασία:

- Σε κωνική φιάλη των 250 ml προστίθενται 10 ml οίνου 1 ml δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης
- 30 mL απεσταγμένο νερό

- Τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου NaOH 0,1 M, μέχρι να ληφθεί κυανοπράσινο χρώμα.

Η ολική οξύτητα εκφράζεται σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο (g/L) ή σε χλιοστοισοδύναμα ανά λίτρο (meq/L).

Εκφραζόμενη σε χλιοστοισοδύναμα ανά λίτρο, η ολική οξύτητα δίδεται από τον τύπο:  $A = 10 * n$ , με ένα δεκαδικό ψηφίο.

Η ολική οξύτητα, εκφραζόμενη σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο, δίδεται από τον τύπο:  $A' = 0,75 * A$ , με ένα δεκαδικό ψηφίο.

Έστω  $n$  τα mL που καταναλώθηκαν κατά την ογκομέτρηση μέχρι το διάλυμα να πάρει χρώμα κυανοπράσινο.

#### 4.2.2. Μέτρηση της ενεργούς οξύτητας - pH

Σαν ενεργή οξύτητα ή pH καλείται το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και δίνουν  $H^+$ . Εξαρτάται όχι μόνο από τη συγκέντρωση αλλά και από το είδος των οργανικών οξέων, π.χ. ο οίνος που περιέχει μια ορισμένη ποσότητα τρυγικού οξέος είναι πιο όξινος από τον οίνο που περιέχει ισότοπο ηλεκτρικό οξύ λόγω του διαφορετικού βαθμού διάστασης των ελεύθερων καρβοξυλομάδων. Το pH των οίνων ανάλογα με την αμπελοργική περιοχή, την ποικιλία και την τεχνική παρασκευής του κυμαίνεται από 2,8 - 4,2.

##### Πειραματική διαδικασία:

- Χρησιμοποιείται pH-μετρο
- Γίνεται βαθμονόμηση του οργάνου σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή με ρυθμιστικά διαλύματα γνωστού pH, συνήθως 4 και 7
- Σε ποτήρι ζέσεως, που περιέχει μαγνήτη και βρίσκεται πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα, τοποθετείται επαρκής ποσότητα δείγματος ώστε το ηλεκτρόδιο να είναι εμβαπτισμένο και να μην ακουμπάει τα τοιχώματα του ποτηριού ή τον μαγνήτη.
- Η θερμοκρασία του δείγματος είναι 20-25 °C
- Όταν σταθεροποιηθεί η τιμή πέρνουμε την μέτρηση

#### 4.2.3. Μέτρηση της πτητικής οξύτητας

Η πτητική οξύτητα οφείλεται στο οξικό οξύ που περιέχεται στους οίνους ελεύθερο ή εξουδετερωμένο, με μορφή αλάτων. Τα πτητικά οξέα με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα (μυρμηκικό, οξικό, προπιονικό, βουτυρικό) έχουν δυσμενή επίδραση στην ποιότητα του οίνου καθώς επηρεάζουν αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του.

Το ηλεκτρικό, το γαλακτικό και το οξικό οξύ, παράγονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης ή και μετά από αυτήν, στον προσδιορισμό, όμως, της πτητικής οξύτητας δεν υπολογίζεται η οξύτητα του γαλακτικού και του ηλεκτρικού οξέος.



#### Πειραματική διαδικασία:

- Τα πτητικά οξέα διαχωρίζονται από τον οίνο με απόσταξη με υδρατμούς. Πριν την απόσταξη απομακρύνεται το CO<sub>2</sub> με αντλία σε φιάλη κενού. Σε φιάλη απόσταξης φέρονται 20 ml οίνου.
- Προστίθενται 0,5 g τρυγικού οξέος και συλλέγονται 250 ml αποστάγματος.
- Ογκομέτρηση του αποστάγματος με διάλυμα NaOH 0,1 N, με δείκτη φαινολοφθαλείνη. Έστω  $n$  ml, ο όγκος που καταναλώνεται.
- Προσθήκη 4 σταγόνων υδροχλωρικού οξέος, αραιωμένου σε αναλογία 1/4, 2 ml διαλύματος αμύλου και μερικοί κρύσταλλοι ιωδιούχου καλίου.
- Ογκομέτρηση του ελεύθερου διοξειδίου του θείου με διάλυμα ιωδίου 0,005 M Έστω  $n'$  ο όγκος που καταναλώνεται σε ml.

Επειδή το επικρατέστερο οξύ είναι το οξικό, η πτητική οξύτητα εκφράζεται συνήθως σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο. Η κύρια μονάδα μέτρησης είναι το χιλιοστογραμμοισοδύναμο ανά λίτρο.

Η πτητική οξύτητα εκφράζεται σε χιλιοστογραμμο ισοδύναμο ανά λίτρο:  
 $A = 5 (n - 0,1 n')$ .

Η πτητική οξύτητα εκφράζεται σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο:  
 $A = 0,3 (n - 0,1 n')$ .

#### **4.2.4. Μέτρηση ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη**

Ο θειώδης ανυδρίτης είναι χημική ουσία που προστίθεται εξωγενώς στα γλεύκη και στον οίνο ως συντηρητικό, λόγω των αντιοξειδωτικών και των αντιμικροβιακών του ιδιοτήτων. Σε υδατικά διαλύματα ο θειώδης ανυδρίτης εμφανίζεται σε δύο μορφές: SO<sub>2</sub> και HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Όταν το pH του διαλύματος είναι μεταξύ 3,0 - 7,0 δεν εμφανίζεται υπό μορφή HSO<sub>3</sub>.

Στους οίνους ο θειώδης ανυδρίτης βρίσκεται υπό τις εξής μορφές:

- Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης: SO<sub>2</sub> ή HSO<sub>3</sub>
- Ενωμένος θειώδης ανυδρίτης, υπό τη μορφή ενώσεων προσθήκης με καρβονυλικές ενώσεις.

#### Πειραματική διαδικασία:

- Σε κωνική φιάλη των 250 mL προστίθενται 25 ml οίνου, 2,5 ml διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% και 0,5 ml δείκτη αμύλου
- Ανάδευση και τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα ιωδίου 0,02 N (εμφάνιση μπλε χροιάς σταθερής για 20-30 sec).

Έστω  $A$  τα ml του διαλύματος ιωδίου που καταναλώνονται. Το ελεύθερο διοξείδιο του θείου, υπολογίζεται από τη σχέση,  $SO_2 \text{ (mg/L)} = 25,6 * A$

#### 4.2.5. Μέτρηση ολικού θειώδους ανυδρίτη

Πειραματική διαδικασία:

- Σε κωνική φιάλη των 250 mL προστίθενται 25 ml οίνου και 12,5 mL διαλύματος KOH 1N
- Ανακίνηση και παραμονή για 10 min
- Προσθήκη 5 ml διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%
- Προσθήκη 0,5 mL δείκτη αμύλου
- Ανάδευση
- Τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα ιωδίου 0,02 N (εμφάνιση μπλε χροιάς σταθερής για 20-30 sec)

Έστω B τα ml του διαλύματος ιωδίου που καταναλώθηκαν.  
**Ολικός SO<sub>2</sub> (mg/L) = 25,6 \* B .**

Η διαφορά μεταξύ ολικού και ελεύθερου SO<sub>2</sub> δίνει το δεσμευμένο θειώδη ανυδρίτη. **Δεσμευμένος = ολικός - ελεύθερος**

#### 4.2.6. Μέτρηση αλκοολικού βαθμού

Ο αλκοολικός τίτλος κατ' όγκον ισούται με τον αριθμό των λίτρων αιθανόλης που περιέχονται σε 100 λίτρα οίνου, σε θερμοκρασία 20°C. Η αιθυλική αλκοόλη, προέρχεται από την αλκοολική ζύμωση των σακχάρων του σταφυλίου. Είναι το δεύτερο σε ποσότητα, μετά το νερό, συστατικό του οίνου.

Πειραματική διαδικασία:

- Προσθήκη 200 ml οίνου σε ογκομετρική φιάλη
- Μέτρηση θερμοκρασίας
- Μετάγγιση δείγματος στη σφαιρική φιάλη της αποστακτικής συσκευής
- Ξέπλυμα 4 φορές με 5 ml νερού κάθε φορά
- Προσθήκη 10 ml εναιωρήματος Ca(OH)<sub>2</sub>
- Προσθήκη 2 τεμαχίων πορώδους ανενεργού υλικού (ελαφρόπετρα)
- Σύνδεση σφαιρικής φιάλης στην αποστακτική συσκευή
- Συγκέντρωση αποστάγματος στην ογκομετρική των 200 κ.εκ.
- Συλλογή ¾ του αρχικού όγκου του αποστάγματος
- Συμπλήρωση έως τα 200 ml με απιονισμένο νερό
- Μεταφορά σε ογκομετρικό κύλινδρο
- Μέτρηση αλκοολικού βαθμού με αλκοολόμετρο
- Μέτρηση θερμοκρασίας
- Διόρθωση αλκοολικού βαθμού με τη βοήθεια πίνακα

#### 4.2.7. Μέτρηση ανάγοντων σακχάρων

Τα ανάγοντα σάκχαρα είναι τα σάκχαρα που διαθέτουν ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα και ανάγουν το αλκαλικό διάλυμα του χαλκού. Στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης η συγκέντρωση των αναγωγικών σακχάρων ποτέ δεν είναι μηδέν.

Ανάλογα με την περιεκτικότητα τους σε ανάγοντα σάκχαρα οι οίνοι χαρακτηρίζονται:

- Ξηρός (sec) μέχρι 2 g/L αναγωγικά σάκχαρα, (η ελληνική νομοθεσία ορίζει τα 4 g/L)
- Ημίξηρος (demi-sec) από 2 έως 18g/L
- Ημίγλυκος (demi-doux) από 18 έως 40 g/L
- Γλυκός (doux) πάνω από 40 g/L

#### Πειραματική διαδικασία:

- Σε κωνική φιάλη των 300 ml με εσμύρισμα μεταφέρεται ποσότητα καθαρού, διαηγούς δείγματος 20 ml και 5 ml νερού
- Προστίθενται 25 ml αλκαλικού διαλύματος χαλκού
- Η κωνική φιάλη εφαρμόζεται σε κάθετο ψυκτήρα και το δείγμα υφίσταται βρασμό για 10 λεπτά.
- Ακολουθεί άμεση και ταχεία ψύξη με τρεχούμενο νερό και προσθήκη 10 ml KI 30% (w/v), 25 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% (w/v) (προσεκτικά και αργά, γιατί αφρίζει) και άμυλο ως δείκτης.
- Ακολουθεί τιτλοδότηση με θειοθειικό νάτριο (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 0,1 N.
- Το τελικό σημείο της ογκομέτρησης προσδιορίζεται με την αλλαγή του χρώματος σε λευκό.

Έστω  $n$  τα mL που καταναλώθηκαν κατά την ογκομέτρηση μέχρι το διάλυμα να πάρει χρώμα λευκό και  $n'$  τα mL που καταναλώθηκαν στο λευκό προσδιορισμό (τυφλό). Από το σχετικό πίνακα βρίσκεται η αντιστοιχία της διαφοράς ( $n' - n$ ) και των mg των σακχάρων που περιέχονται στα ml διηθήματος που χρησιμοποιήθηκαν. Το αποτέλεσμα του πίνακα διαιρείται με τον συντελεστή διαίρεσης (20) ανάλογα με την ποσότητα του διηθήματος που χρησιμοποιήθηκε. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε g σακχάρων ανά λίτρο οίνου.

### **4.3. Ενόργανες χημικές αναλύσεις**

#### **4.3.1. Ένταση χρώματος/απόχρωση(420nm, 520nm, 620nm)**

Στους ερυθρούς οίνους το μέγιστο απορρόφησης παρουσιάζεται στα 520 nm (ερυθρό). Με την πάροδο του χρόνου, δηλ. την παλαίωση, η απορρόφηση στα 520 nm μειώνεται και αυξάνεται η απορρόφηση στα 420 nm (κίτρινο). Για την αξιολόγηση αυτών των χρωμάτων, λαμβάνεται υπόψη η απορρόφηση στα 620 nm (κυανό), που αποδίδεται στις μορφές της βάσης της κινόνης, των ελευθέρων και των ενωμένων ανθοκυανών.

#### Πειραματική διαδικασία:

- Φυγοκέντρηση του οίνου ή του γλεύκους σε 4.000rpm για 5 λεπτά
- Μέτρηση απορρόφησης στα 420 nm, 520nm και 620nm με κυψελίδες υάλινες 10 χιλιοστά

Η ένταση του χρώματος στον οίνο αντικατοπτρίζεται από την αναλογία των απορροφήσεων  $A_{420}$ ,  $A_{520}$  και  $A_{620}$  (Glories 1984) και το άθροισμα της  $A_{420}$  και  $A_{520}$

(Sudraud 1958). Η απόχρωση υπολογίζεται από την αναλογία των απορροφήσεων  $A_{420}$  και  $A_{520}$  (Glories 1984, Sudraud 1958).

**Ένταση Χρώματος =  $A_{420} + A_{520} + A_{620}$ , Απόχρωση =  $A_{420} / A_{520}$**

#### **4.3.2. Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (Δ.Φ.Ο)**

Ο προσδιορισμός βασίζεται στην απορρόφηση που παρουσιάζουν οι βενζολικοί δακτύλιοι φαινολικών ενώσεων στο υπεριώδες φως, στα 280 nm. Μετρά την περιεκτικότητα των φλαβανοειδών φαινολών (ανθοκυάνες, τανίνες), των μη φλαβανοειδών (φαινολικά οξέα) και κάποιων μη φαινολικών ουσιών που απορροφούν στα 280 nm. Ο ΔΦΟ είναι γρήγορη και εύκολη μέθοδος με επαναλήψιμα αποτελέσματα. Η μέτρηση απαιτεί κυψελίδα χαλαζία. Η υπεριώδης απορρόφηση δεν επηρεάζεται από το pH, και το νόμο του Beer-Lambert για τη συγκέντρωση και το μήκος της διαδρομής του φωτός, καθιστώντας τα δεδομένα εύκολα να συλλέγουν.

Πειραματική διαδικασία:

- Φυγοκέντρηση του οίνου ή του γλεύκους σε 4.000rpm για 5 λεπτά
- Αραίωση 1:100 σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml
- Μέτρηση απορρόφησης στα 280 nm με κυψελίδες χαλαζία 10nm

**Δ.Φ.Ο. = OD \* αραίωση δείγματος**

#### **4.3.3. Μέθοδος Folin – Ciocalteu (756nm)**

Η μέθοδος βασίζεται στον ιονισμό των φαινολών σε αλκαλικό περιβάλλον, στο οποίο μπορούν να οξειδωθούν εύκολα με την προσθήκη του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu. Η οξείδωση μετατρέπει το κίτρινο χρώμα σε μπλε με την πάροδο του χρόνου. Η αλλαγή αυτή παρατηρείται σε φασματοφωτόμετρο στα 765nm.

Είναι η επίσημη μέθοδος του ΟΙΥ. Μετρά το σύνολο των φαινολικών ουσιών αλλά υστερεί σε ευκολία έναντι του ΔΦΟ. Πρόκειται για φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων του οίνου από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Χρησιμοποιείται για τη μέτρηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου χωρίς να γίνεται διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών ή μεγαλύτερων φαινολικών συστατικών.

Το κύριο αντιδραστήριο της μεθόδου, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu, είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφο-μολυβδαινικά και φωσφο-βολφραμικά ετεροπολυμερή οξέα. Τα φαινολικά ιόντα οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Κατά την οξείδωση των φαινολών, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου ( $W_8O_{23}$ ) και του μολυβδαινίου ( $Mo_8O_{23}$ ). Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750 nm και είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα  $Na_2CO_3$ .

#### Πειραματική διαδικασία:

- Φυγοκέντρηση του οίνου ή του γλεύκους σε 4.000 rpm για 5 λεπτά
- Σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml προστίθενται 5 ml απιονισμένο H<sub>2</sub>O, 10 μl οίνου 1 ml αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu
- Ακολουθεί φυγοκέντρηση και παραμονή για 1 με 8 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
- Προστίθενται 1,5 ml άνυδρου ανθρακικού νατρίου 20% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) και απιονισμένου H<sub>2</sub>O μέχρι τα 10 ml
- Παραμονή για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
- Μέτρηση απορρόφησης στα 765 nm με πλαστική κυψελίδα 10 mm σε λάμπα αλογόνου
- Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος

Οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται με το δείκτη Folin-Ciocalteu εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος.

Από τα πρότυπα διαλύματα προέκυψε η καμπύλη βαθμονόμησης η οποία είναι ευθεία και έχει τη μορφή:

$$y = \alpha x + \beta. (y = 0,009 x + 0,0178) \text{ με } R^2 = 0,9988$$

Λύνοντας ως προς  $x$  την εξίσωση υπολογίζεται η συγκέντρωση (mg/L) εκφρασμένη σε γαλλικό οξύ.

#### **4.3.4. Μέθοδος Methyl cellulose**

##### Πειραματική διαδικασία:

- Μέτρηση Βάρους 50 ραγών.
- Ομογενοποίηση με ultra turrax στις 24.000 rpm για (περίπου) 30 δευτερόλεπτα.
- Μεταφορά 1ζ του ομογενοποιημένου δείγματος σε σωλήνα φυγοκέντρησης.
- Προσθήκη 10 ml υδατικού διαλύματος αιθανόλης 50% (όχι οξινισμένης).
- Ανάδευση για 1 ώρα.
- Φυγοκέντρηση για 10 λεπτά σε 4.000 rpm.
- Σε 2 πλαστικούς σωλήνες φυγοκέντρου (control και sample):
  - control: 1 ml εκχυλίσματος (ή 250 μl οίνου) + 2 ml θειικό αμμώνιο + H<sub>2</sub>O (Vτελ = 10 ml)
  - sample: 1 ml εκχυλίσματος (ή 250 μl οίνου) + 3 ml μεθυλική κυτταρίνη
- Ανάδευση σε vortex και παραμονή για 2-3 λεπτά + 2 ml θειικό αμμώνιο + H<sub>2</sub>O (Vτελ = 10 ml)
- Φυγοκέντρηση για 5 λεπτά σε 4 000 rpm
- Φωτομέτρηση στα 280 nm

Υπολογισμοί συμπυκνωμένων τανινών με τη μέθοδο σε κυτταρίνη μεθυλίου οίνους:

$$\text{Συγκέντρωση τανινών στον οίνο (mg/L)} = \text{Φωτομέτρηση} * 40$$

#### 4.3.5. Προσδιορισμός τανινών με την μέθοδο Harbertson

Η μέθοδος προσδιορισμού τανινών βασίζεται στη συγκάθιξη της αλβουμίνης του ορού βοοειδών και του ενζύμου αλκαλική φωσφατάση (Harberston και Adams, 1999). Οι τανίνες που εμφανίζονται στον οίνο είναι ανάλογες με την ποσότητα του ενζύμου που καθιζάνει, οπότε η ποσότητα των τανινών μπορεί να προσδιοριστεί έμμεσα από τη μέτρηση της αλκαλικής φωσφατάσης. Η μέτρηση γίνεται με φασματοφωτόμετρο σε απορρόφηση στα 510 nm. Οι τιμές του οίνου λαμβάνονται από την καμπύλη αναφοράς και συνεπώς εκφράζονται σε mg κατεχίνης (Harbertson J. F κ.α., 2002). Η μέθοδος Harbertson είναι φθηνή και αξιόπιστη μέτρηση των τανινών και του χρώματος του οίνου.

Η μεθοδολογία της ανάλυσης των τανινών στηρίζεται στην ταυτόχρονη καθίζηση της BSA (αλβουμίνη ορού βοοειδών) και του ενζύμου αλκαλική φωσφατάση, που συμμετέχει στην υδρόλυση των φωσφορικών εστέρων.

##### Πειραματική διαδικασία:

- 500  $\mu$ L δείγματος με 1 ml διαλύματος BSA (αλβουμίνη βόειου ορού) αναδεύονται για 15 min
- Φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 12.000 rpm υπό ψύξη
- Στο ίζημα προστίθενται 250  $\mu$ L πρωτεϊνικού διαλύματος
- Γίνεται πάλι φυγοκέντρηση στις ίδιες συνθήκες για 5 λεπτά
- Στο ίζημα προστίθενται 875  $\mu$ L διαλύματος TEA-SDS (τριεθυλαμίνη –θειικό νάτριο δωδέκυλο) και αφήνεται σε ηρεμία για 10 min
- Ανάδευση έως ότου διαλυθεί το ίζημα
- Μέτρηση της απορρόφησης στα 510 nm χρησιμοποιώντας ως τυφλό TEA-SDS
- Στο ίδιο διάλυμα προστίθενται 125  $\mu$ L FeCl<sub>3</sub> και μετά το πέρας 10 λεπτών μετριέται ξανά η απορρόφηση στα 510 nm

Η μέτρηση γίνεται με φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού στα 510 nm χρησιμοποιώντας πρότυπη καμπύλη αναφοράς κατεχίνης (Habertson, J. F. et al., 2002). Οι τιμές των τανινών λαμβάνονται από την καμπύλη αναφοράς και συνεπώς εκφράζονται σε mg κατεχίνης (Habertson, J. F. et al., 2002).

Από τα πρότυπα διαλύματα προέκυψε η καμπύλη βαθμονόμησης η οποία είναι της μορφής

$$y = ax + \beta. \quad (y = 0,0055x + 0,0168) \text{ με } R^2 = 0,9989$$

Λύνοντας ως προς  $x$  την εξίσωση υπολογίστηκε η συγκέντρωση (mg/L) εκφρασμένη σε κατεχίνη. Τέλος, επειδή είναι ερυθροί οίνοι το αποτέλεσμα πολλαπλασιάζεται επί 10.

#### 4.3.6. Προσδιορισμός ανθοκυανών με HPLC

##### Πειραματική διαδικασία:

Οι οίνοι φιλτράρονταν με φίλτρα 0,2  $\mu$ m και ακολουθεί ανάλυση με HPLC. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με ρυθμό ροής κινητής φάσης 1 mL/min, με όγκο ένεσης δείγματος 25  $\mu$ L, σε μήκος κύματος 520 nm και με το ακόλουθο πρόγραμμα έκλυσης:

95% διαλύτης A για 1 min, μετά από 95% σε 50% μέσα σε 26 min, από 50% σε 5% σε 29 min, όπου και διατηρήθηκε ισοκρατικά για επιπλέον 3 min και τέλος σε 95% στα 38 min όπου και παρέμεινε μέχρι το τέλος της διαδικασίας. Ο διαλύτης A ήταν 10% (v/v) φορμικό οξύ και ο διαλύτης B ήταν μεθανόλη. Η ταυτοποίηση της μαλβιδίνης βασίζεται στην σύγκριση των τιμών κατακράτησης των κορυφών που προσδιορίστηκαν με τις κορυφές των πρότυπων ουσιών.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε μέσω πρότυπης καμπύλης αναφοράς, η χάραξη της οποίας γίνεται με διαλύματα μαλβιδίνης γνωστών συγκεντρώσεων.

Από πρότυπα διαλύματα προέκυψε η καμπύλη βαθμονόμησης η οποία είναι ευθεία και έχει τη μορφή

$$y = ax + \beta. (y = 33,63 x + 8,84) \text{ με } R^2 = 0,9984$$

Λύνοντας ως προς  $x$  την εξίσωση υπολογίστηκε η συγκέντρωση των ανθοκυανών σε (mg/L) εκφρασμένη σε μαλβιδίνη.

#### 4.3.7. Προσδιορισμός Δείκτη Ιονισμού

Η μέθοδος προσδιορίζει το ποσοστό των ανθοκυανών που είναι έγχρωμες στον οίνο. Ο βαθμός ιονισμού των ανθοκυανών παίρνει τιμές 10-30% για νεαρά κρασιά και 80-90% για παλαιωμένα. Όσο μικρότερος είναι, τόσο περισσότερες είναι οι δεσμευμένες ανθοκυάνες. Το 20% των ανθοκυανών βρίσκεται στην έγχρωμη μορφή, ενώ οι υπόλοιπες είναι άχρωμες. Όσο παλαιώνει το κρασί, πολυμερίζονται και το χρώμα πάει προς το καφέ.

##### Πειραματική διαδικασία:

- Ο οίνος φυγοκεντρείται για 5 λεπτά στις 4000 στροφές
- Γίνεται μηδενισμός του φασματοφωτόμετρου με H<sub>2</sub>O
- Οι μετρήσεις γίνονται με λάμπα αλογόνου στα 520nm, σε πλαστικές κυψελίδες
- Δημιουργούμε 4 διαλύματα ανά δείγμα ανά επανάληψη.
- D1: 5 ml οίνου + 1 ml H<sub>2</sub>O και ανάδευση με vortex. Μέτρηση απορρόφησης σε κυψελίδες γυάλινες πάχους 1 mm
- D2: 5 ml οίνου + 1 ml διαλύματος 15% NaHSO<sub>3</sub> και ανάδευση με vortex. Μετά από 5 min μετράται η απορρόφηση σε κυψελίδες γυάλινες πάχους 1 mm.
- D3: 0,5 ml οίνου + 1 ml H<sub>2</sub>O + 3,5 ml διαλύματος HCl N/10 και ανάδευση με vortex. Μέτρηση απορρόφησης σε κυψελίδες πλαστικές πάχους 10 mm.
- D4: 0,5 ml οίνου + 1 ml διαλύματος 15% NaHSO<sub>3</sub> + 3,5ml διαλύματος HCl N/10 και ανάδευση με vortex. Μετά από 5 min μετράται η απορρόφηση σε κυψελίδες πλαστικές πάχους 10 mm.

Βάση των παραπάνω απορροφήσεων υπολογίζονται τα μεγέθη  $\Delta da$  και  $\Delta d\gamma$  όπου η συμμετοχή των χρωματισμένων ανθοκυανών:  $\Delta da = (D1 - D2) * 12 / 10$

Το σύνολο των μορίων των ανθοκυανών:  $\Delta d\gamma = (D3 - D4) * 100 / 95$ .

Ο βαθμός ιονισμού των ανθοκυανών δίνεται από τη σχέση:  $I = \% (\Delta da / \Delta d\gamma) * 100$

#### 4.3.8. Προσδιορισμός τανίνων με βρασμό

Η μέθοδος στηρίζεται στην ιδιότητα των τανινών να μετατρέπονται σε ανθοκυάνες με θέρμανση σε όξινο περιβάλλον. Στη διάρκεια του βρασμού, οι τανίνες μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες και, επομένως, το δείγμα που έχει θερμανθεί περιέχει τις αρχικές ανθοκυάνες και τις ανθοκυάνες που σχηματίστηκαν από την υδρόλυση των τανινών. Το δείγμα που δεν θερμάνθηκε περιέχει μόνο τις αρχικές ανθοκυάνες. Η διαφορά τους δίνει τις ανθοκυάνες που σχηματίστηκαν.

##### Πειραματική διαδικασία:

- Ο οίνος φυγοκεντρήθηκε για 5 min στις 4000 στροφές και έγινε αραιώση 1/50
- Σε δοκιμαστικό σωλήνα φέρονται 2 ml αραιωμένου οίνου 1 ml H<sub>2</sub>O και 3 ml πυκνού HCl 37% (D1)
- Σε πλαστικό σωλήνα με πάμα φέρονται 2 ml αραιωμένου οίνου 1 ml H<sub>2</sub>O και 3 ml πυκνού HCl 37%. (D2).Ο σωλήνας παραμένει σε βρασμό για 45 λεπτά στους 100 °C
- Μετά το πέρας των 45 λεπτών και αφού ψηχθεί προστίθεται και στους 2 σωλήνες 500 μl αιθανόλης 95% για την σταθεροποίηση του χρώματος
- Στη συνέχεια μετρώνται οι απορροφήσεις των 2 δειγμάτων στα 550 nm με πλαστικές κυψελίδες 10 mm

Το ποσό των τανινών δίνεται από τις σχέση: **Τανίνες (g / L) = (d2-d1) \* 19,35**

#### 4.3.9. Προσδιορισμός Δείκτη HCl

Ο δείκτης HCl αντιστοιχεί στην κατάσταση πολυμερισμού των τανινών στον οίνο, η οποία εξαρτάται από τις συνθήκες παλαίωσης. Η μέθοδος βασίζεται στην αστάθεια των προκυανιδών σε ένα πυκνό διάλυμα HCl και των οποίων η ταχύτητα καταβύθισης εξαρτάται από τον βαθμό πολυμερισμού των τανινών.

##### Πειραματική διαδικασία:

- 10 ml οίνος, 15 ml HCl (12N) και 5 ml H<sub>2</sub>O τοποθετούνται σε κωνική φιάλη
- Διάλυση με H<sub>2</sub>O με αναλογία 1/30
- Μέτρηση οπτικής πυκνότητας d<sub>0</sub> στα 280 nm σε οπτική διαδρομή 10 mm.
- Επανάληψη της ίδιας μέτρησης μετά από παραμονή 7 και φυγοκέντρηση του μείγματος προκειμένου να ληφθεί τιμή d<sub>1</sub>

Ο δείκτης HCl δίδεται από την εξίσωση **ΔHCl = (d<sub>0</sub> - d<sub>1</sub>) / d<sub>0</sub> \* 100**

Οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ 5 – 40. Στην αρχή της παλαίωσης στο βαρέλι τα φτωγά σε τανίνες κρασιά έχουν χαμηλή τιμή ανάμεσα στο 5 – 10. Ένα κρασί πλούσιο σε τανίνες, κατάλληλο για παλαίωση, έχει τιμή 10 – 25. Ένα κρασί με υψηλή συγκέντρωση και υψηλό πολυμερισμό τανινών έχει τιμή μεγαλύτερη του 25. Σε τιμές ανάμεσα στο 35 – 40, οι τανίνες καταβυθίζονται σταδιακά με αποτέλεσμα την μείωση της τιμής.



## 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 5.1. Γλεύκος σε ζύμωση 1<sup>η</sup> ημέρα

Πίνακας 5.1: Περιέχονται οι τιμές της ολικής οξύτητας, του baume, του pH, της έντασης του χρώματος, της χρωματικής απόχρωσης και του δείκτη φαινολικών ουσιών για τη ζύμωση του γλεύκους κατά την πρώτη μέρα της αλκοολικής ζύμωσης

A/A	Ολική οξύτητα (g/ L)	Ενεργή οξύτητα pH	Baume'	Ένταση χρώματος	Απόχρωση	ΔΦΟ
1	4,43	3,20	11,30	3,10	1,97	12,17
2	4,29	3,20	10,70	2,64	1,93	9,22
3	4,27	3,30	11,50	2,79	1,92	11,28
4	4,12	3,60	12,50	2,73	1,86	9,01
5	4,42	3,30	11,90	2,30	1,84	9,45
6	4,12	3,10	11,65	2,51	1,77	9,11
7	3,91	3,30	11,30	2,27	1,79	10,06
8	4,12	3,30	12,00	2,50	1,77	11,34
9	4,87	3,20	11,20	2,53	1,76	11,04
10	3,67	3,40	11,55	2,51	1,76	11,00
11	4,57	3,30	11,15	2,59	1,69	11,19
12	4,12	3,20	11,35	2,63	1,84	11,54
13	3,97	3,50	11,85	2,86	1,83	11,95
14	3,97	3,50	11,75	3,18	1,63	13,41
15	4,35	3,30	12,65	2,69	1,73	12,06
16	4,52	3,50	11,95	2,94	1,82	11,76
17	4,64	3,30	11,50	3,05	1,83	13,60
18	4,55	3,40	11,85	2,98	1,84	11,77

## 5.2. Γλεύκος σε ζύμωση 4<sup>η</sup> ημέρα

Πίνακας 5.2: Περιέχονται οι τιμές του baume, της έντασης του χρώματος, της χρωματικής απόχρωσης και του δείκτη φαινολικών ουσιών για τη ζύμωση του γλεύκους κατά την τέταρτη μέρα της αλκοολικής ζύμωσης

A/A	Baume'	Ένταση χρώματος	Απόχρωση	ΔΦΟ
1	8,05	9,23	0,62	41,69
2	7,85	5,80	0,53	28,79
3	8,15	5,66	0,54	3,70
4	8,95	9,96	0,72	4,75
5	8,95	23,25	0,92	36,20
6	9,70	15,81	0,77	37,84
7	8,50	9,17	0,60	40,58
8	9,80	15,61	0,80	30,03
9	8,32	10,84	0,52	39,31
10	8,70	16,87	0,79	39,68
11	7,93	8,36	0,56	33,67
12	8,53	7,40	0,53	54,96
13	8,40	9,30	0,61	28,74
14	8,35	9,38	0,70	36,70
15	10,8	19,04	0,80	42,01
16	7,95	12,74	0,72	48,83
17	9,00	7,37	0,55	34,62
18	9,33	8,71	0,54	36,59

### 5.3. Γλεύκος σε ζύμωση 5<sup>η</sup> ημέρα

Πίνακας 5.3: Περιέχονται οι τιμές του baume, της έντασης του χρώματος, της χρωματικής απόχρωσης και του δείκτη φαινολικών ουσιών για τη ζύμωση του γλεύκους κατά την πέμπτη μέρα της αλκοολικής ζύμωσης

A/A	Baume'	Ένταση χρώματος	Απόχρωση	ΔΦΟ
1	4,35	5,15	0,54	34,70
2	3,55	5,84	0,46	38,02
3	4,85	5,55	0,49	38,86
4	4,85	7,78	0,61	51,22
5	4,25	3,18	0,54	24,88
6	6,45	10,27	0,45	43,99
7	4,62	7,89	0,48	39,35
8	5,75	17,16	0,85	31,65
9	4,55	5,85	0,53	34,75
10	4,90	7,78	0,56	40,34
11	3,75	7,01	0,48	41,67
12	3,75	7,19	0,48	37,66
13	5,10	28,68	0,86	50,16
14	4,35	8,13	0,55	45,61
15	7,98	10,15	0,55	44,45
16	3,85	7,50	0,59	43,16
17	5,75	6,19	0,57	32,65
18	5,05	11,82	0,54	54,69

#### 5.4. Γλεύκος σε ζύμωση 6<sup>η</sup> μέρα

Πίνακας 5.4: Περιέχονται οι τιμές του baume, της έντασης του χρώματος, της χρωματικής απόχρωσης και του δείκτη φαινολικών ουσιών για τη ζύμωση του γλεύκους κατά την έκτη μέρα της αλκοολικής ζύμωσης

A/A	Baume'	Ένταση χρώματος	Απόχρωση	ΔΦΟ
1	1,63	8,57	0,51	52,02
2	0,70	13,44	0,44	61,23
3	1,83	7,43	0,50	43,81
4	1,93	7,85	0,60	45,84
5	1,13	10,71	0,48	36,15
6	2,53	11,02	0,44	56,96
7	1,90	8,02	0,49	58,26
8	1,75	6,58	0,55	30,45
9	1,43	21,06	0,74	55,72
10	1,53	7,87	0,53	49,92
11	0,83	8,30	0,46	42,32
12	0,83	11,20	0,45	53,25
13	1,15	9,24	0,51	52,98
14	1,43	5,81	0,5	37,52
15	4,23	13,25	0,54	54,77
16	1,05	8,91	0,53	54,06
17	3,13	7,36	0,51	46,78
18	2,13	9,92	0,58	63,67

### 5.5. Γλεύκος σε ζύμωση 7<sup>η</sup> ημέρα

Πίνακας 5.5: Περιέχονται οι τιμές του baume, της έντασης του χρώματος, της χρωματικής απόχρωσης και του δείκτη φαινολικών ουσιών για τη ζύμωση του γλεύκους κατά την εβδομημέρα της αλκοολικής ζύμωσης

A/A	Baume'	Ένταση χρώματος	Απόχρωση	ΔΦΟ
1	0	12,52	0,50	69,43
2	0	9,53	0,45	64,70
3	0	8,27	0,49	99,06
4	0	10,56	0,58	75,13
5	0	9,94	0,50	48,84
6	0	12,17	0,44	56,3
7	0	12,46	0,47	70,58
8	0	9,99	0,52	48,04
9	0	8,72	0,47	49,05
10	0	9,33	0,53	49,54
11	0	8,19	0,47	45,26
12	0	10,90	0,45	54,06
13	0	10,26	0,53	58,88
14	0	8,43	0,55	48,76
15	1,35	11,98	0,51	40,77
16	0	8,80	0,54	59,71
17	0,65	10,09	0,54	50,34
18	0	10,65	0,48	57,91

## 5.6 Οίνος

Πίνακας 5.6: Περιέχονται οι τιμές της περιεκτικότητας σε αιθανόλη, των ανάγοντων σακχάρων, της ολικής οξύτητας, του pH και της πτητικής οξύτητας στον παραγόμενο οίνο μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης

A/A	Περιεκτικότητα σε αιθανόλη (vol/vol)	g. αναγ. σακχάρων/L οίνου	Ολική οξύτητα (g/L) τ. ο.	Εν.οξύτ. -pH	Πτητική οξύτητα (g/L) ο.ο.
1	12,35	0,51	4,50	3,64	0,64
2	12,86	0,38	5,90	3,32	1,32
3	13,24	0,48	6,45	3,30	0,29
4	13,28	0,61	5,55	3,40	0,38
5	13,26	0,58	6,90	3,38	0,14
6	13,26	0,55	7,20	3,34	0,20
7	12,69	0,57	6,00	3,50	0,29
8	13,35	0,61	6,00	3,60	3,12
9	12,88	0,96	7,05	3,40	0,23
10	13,06	0,77	5,10	3,70	0,44
11	12,50	0,89	6,00	3,51	0,33
12	13,26	0,92	5,25	3,43	0,29
13	12,88	0,96	5,40	3,60	0,24
14	13,36	0,89	6,15	3,60	0,35
15	13,34	0,71	6,75	3,43	0,29
16	13,37	1,10	6,67	3,60	0,30
17	12,48	0,88	6,00	3,50	0,30
18	13,06	0,88	6,15	3,50	0,99

## 5.7 Μεθυλοκυτταρίνη στον οίνο

Πίνακας 5.7: Περιέχονται οι τιμές της κατεχίνης που προέρχονται από την φωτομέτρηση και η συγκέντρωση των ταννινών στον παραγόμενο οίνο

A/A	Κατεχίνη (mg/L)	Συγκέντρωση ταννινών σε mg/L κατεχίνης
1	24,02	961,00
2	11,18	447,54
3	14,66	586,67
4	20,52	820,94
5	14,03	561,41
6	26,58	106,32
7	16,81	672,46
8	13,38	535,20
9	12,75	510,24
10	14,16	566,71
11	11,73	469,38
12	19,09	763,86
13	19,19	767,60
14	19,52	781,01
15	10,95	438,19
16	18,62	745,14
17	12,48	499,33
18	17,45	698,35

## 5.8. Δείκτης ιονισμού

Πίνακας 5.8: Περιέχονται οι τιμές της συμμετοχής των χρωματισμένων ανθοκυανών, του συνόλου μορίων ανθοκυανών και ο δείκτης ιονισμού στον παραγόμενο οίνο

A/A	Συμμετογή χρωματισμένων ανθοκυανών (g/L)	Σύνολο μορίων Ανθοκυανών (g/L)	Δείκτης ιονισμού I%
1	0,32	1,35	23,72
2	0,14	0,31	48,39
3	0,16	1,05	16,08
4	0,16	0,72	22,42
5	0,18	1,18	15,83
6	0,34	1,78	18,79
7	0,32	1,81	17,69
8	0,24	0,70	35,74
9	0,14	0,59	23,90
10	0,12	1,42	8,23
11	0,11	0,65	16,54
12	0,08	1,18	6,64
13	0,15	0,48	31,03
14	0,09	0,69	12,86
15	0,14	0,50	29,45
16	0,22	1,73	12,62
17	0,27	0,66	40,68
18	0,17	1,68	10,17



## 5.9. Δείκτης Folin – Ciocalteu

Πίνακας 5.9: Περιέχονται οι τιμές του δείκτη Folin – Ciocalteu και του γαλλικού οξέος στον παραγόμενο οίνο

A/A	Δείκτης FC	g γαλλικού οξέος/L οινου
1	28,20	1,37
2	29,22	1,42
3	31,19	1,53
4	22,82	1,07
5	28,22	1,37
6	32,62	1,61
7	29,91	1,46
8	23,68	1,11
9	26,78	1,29
10	23,62	1,11
11	31,00	1,52
12	32,24	1,59
13	27,62	1,33
14	28,24	1,37
15	29,78	1,46
16	32,02	1,58
17	32,44	1,60
18	30,40	1,49

## 5.10. HPLC στον οίνο

Πίνακας 5.10: Περιέχονται οι τιμές της δελφινιδίνης, της κυανιδίνης, της πετουνιδίνης, της παιονιδίνης, της μαλβιδίνης, του οξικού εστέρα μαλβιδίνης, του κουμαρικού εστέρα μαλβιδίνης και των ολικών αθοκυανών στον παραγόμενο οίνο

A/A	Δελφινιδίνη (mg/L)	Κυανιδίνη (mg/L)	Πετουνιδίνη (mg/L)	Παιονιδίνη (mg/L)	Μαλβιδίνη (mg/L)	Οξικός εστέρας μαλβιδίνης (mg/L)	Κουμαρικός εστέρας μαλβιδίνης (mg/L)	Ολικές ανθοκυάνες (mg/L)
1	2,84	10,65	19,64	14,44	297,49	12,967	27,30	388,66
2	1,91	8,00	14,45	11,02	203,68	8,984	22,38	277,21
3	1,93	8,89	14,93	13,29	205,55	9,47	22,25	283,43
4	1,03	4,07	7,55	7,59	116,21	4,35	10,61	156,04
5	1,04	3,16	7,33	6,41	121,48	5,82	11,70	170,05
6	1,28	6,45	10,33	8,43	132,19	5,57	14,44	183,59
7	2,39	5,66	10,10	9,17	144,22	4,98	13,75	195,41
8	1,08	5,14	9,45	7,17	110,16	0,40	9,71	149,65
9	1,29	5,95	10,08	8,65	150,98	6,35	16,01	202,32
10	1,08	5,41	9,87	9,59	169,36	7,12	16,42	223,41
11	0,94	4,24	7,93	5,60	123,87	5,95	11,8	164,08
12	1,12	7,95	11,47	11,79	161,14	5,66	16,52	221,12
13	0	5,58	11,05	14,36	158,99	5,13	15,98	215,61
14	1,17	4,45	8,46	8,03	141,52	5,65	13,71	186,84
15	0	8,53	12,28	17,29	147,21	4,12	15,30	209,17
16	0	3,93	8,29	8,84	127,10	6,06	13,11	216,18
17	1,53	7,38	11,94	9,21	164,84	7,08	18,16	225,45
18	1,11	5,79	10,05	6,56	135,31	7,07	14,85	185,18

### 5.11. Προσδιορισμός τανινών με την μέθοδο Harbertson

Πίνακας 5.11: Περιέχονται οι τιμές της συγκέντρωσης των τανινών στον παραγόμενο οίνο

A/A	Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης/L οίνου
1	163,27
2	108,36
3	107,82
4	68,73
5	47,45
6	362,91
7	180,00
8	68,18
9	67,27
10	8,73
11	22,73
12	123,09
13	186,54
14	150,00
15	129,45
16	350,36
17	202,91
18	262,73

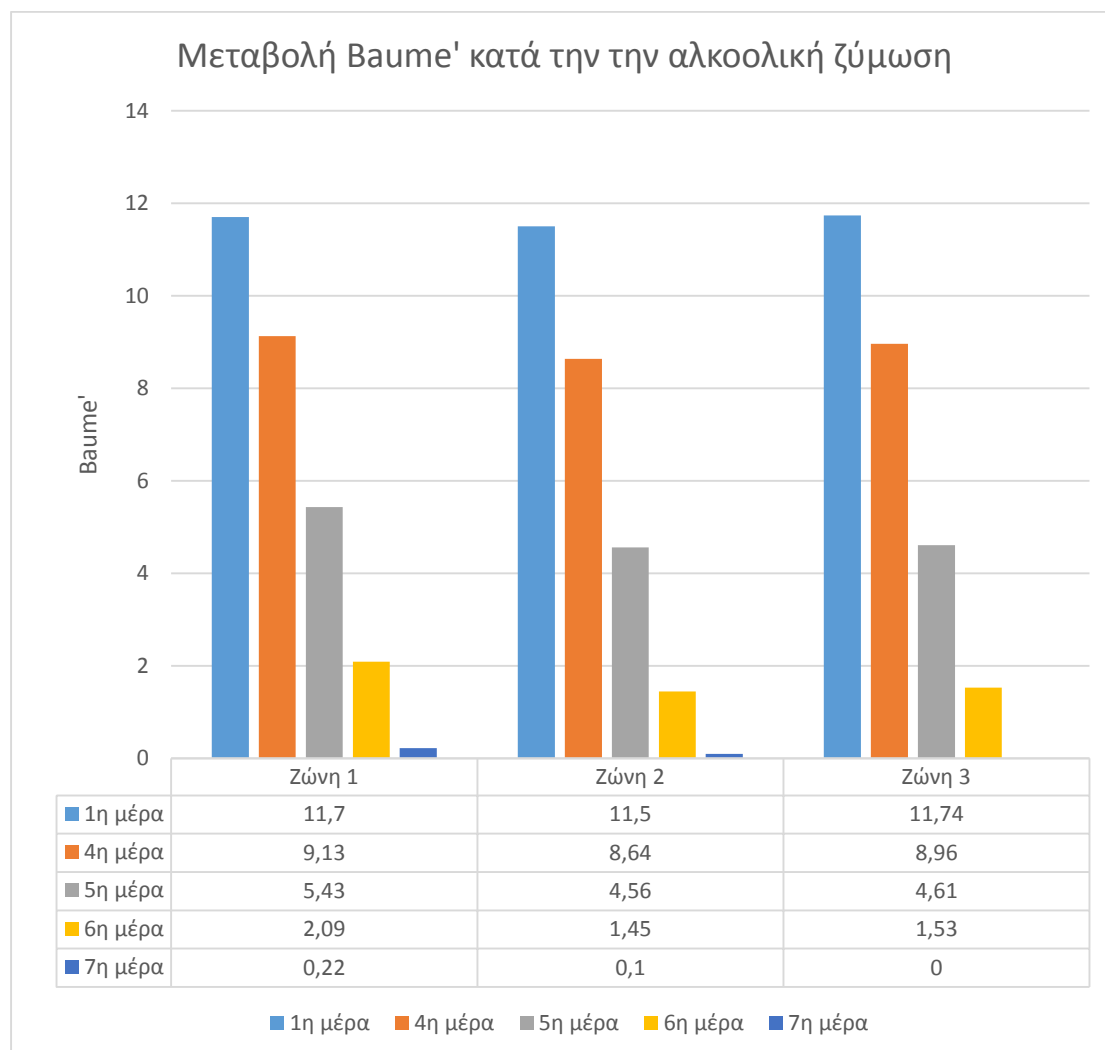
## 5.12. Ταννίνες με βρασμό – Δείκτης HCl

Πίνακας 5.11: Περιέχονται οι τιμές της συγκέντρωσης των τανινών με βρασμό και ο δείκτης υδροχλωρικού οξέος στον παραγόμενο οίνο

A/A	Συγκέντρωση τανινών σε g/L	Δείκτης HCl
1	3,37	22,96
2	2,64	21,16
3	2,61	24,58
4	2,99	11,52
5	2,38	11,30
6	3,39	15,07
7	3,19	13,61
8	2,25	11,06
9	2,35	16,64
10	2,65	4,99
11	2,12	1,26
12	2,95	28,26
13	3,03	19,64
14	2,55	19,90
15	3,01	25,70
16	3,18	12,72
17	2,98	11,69
18	3,28	43,71

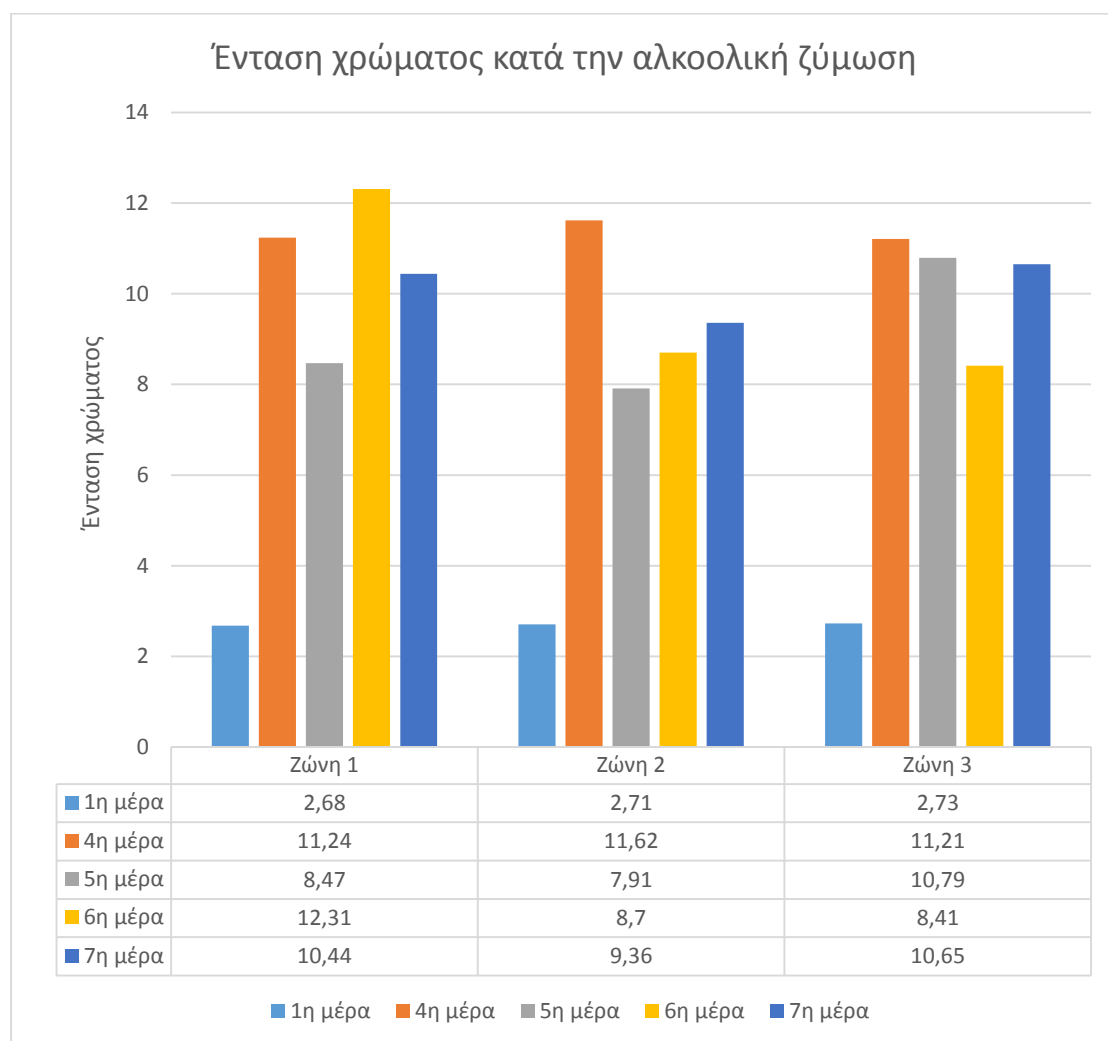
## 6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Γράφημα 6.1: Περιγράφεται η μεταβολή Baume' στην πορεία της αλκοολικής ζύμωσης



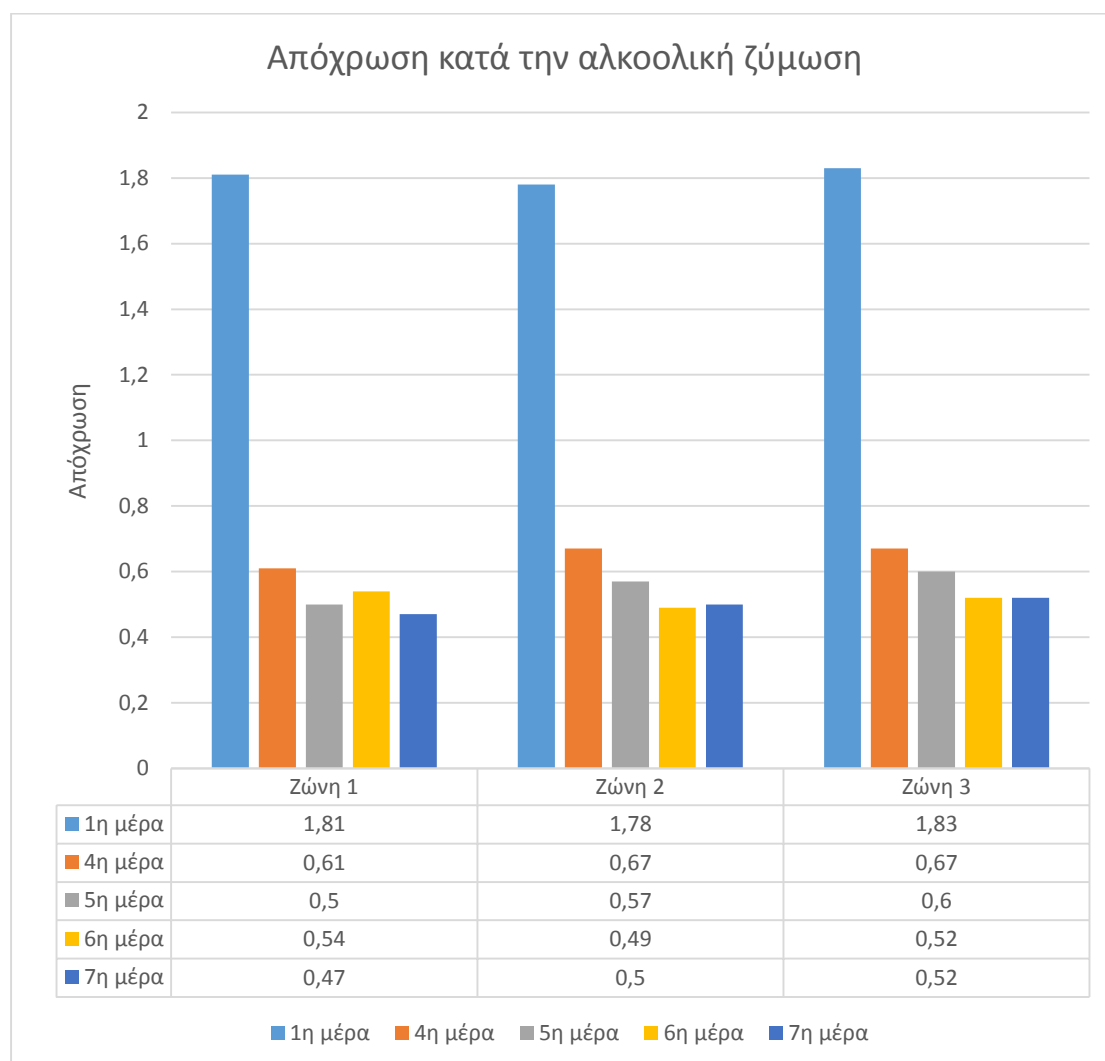
Η αλκοολική ζύμωση ολοκληρώνεται όταν οι βαθμοί Baume' φτάσουν στο 0. Σύμφωνα με το γράφημα η αλκοολική ζύμωση στην ζώνη 3, πραγματοποιήθηκε με πολύ μικρή διαφορά μία μέρα νωρίτερα απο την ζώνη 2 και 3.

Γράφημα 6.2: Περιγράφεται η ένταση του χρώματος κατά την αλκοολική ζύμωση



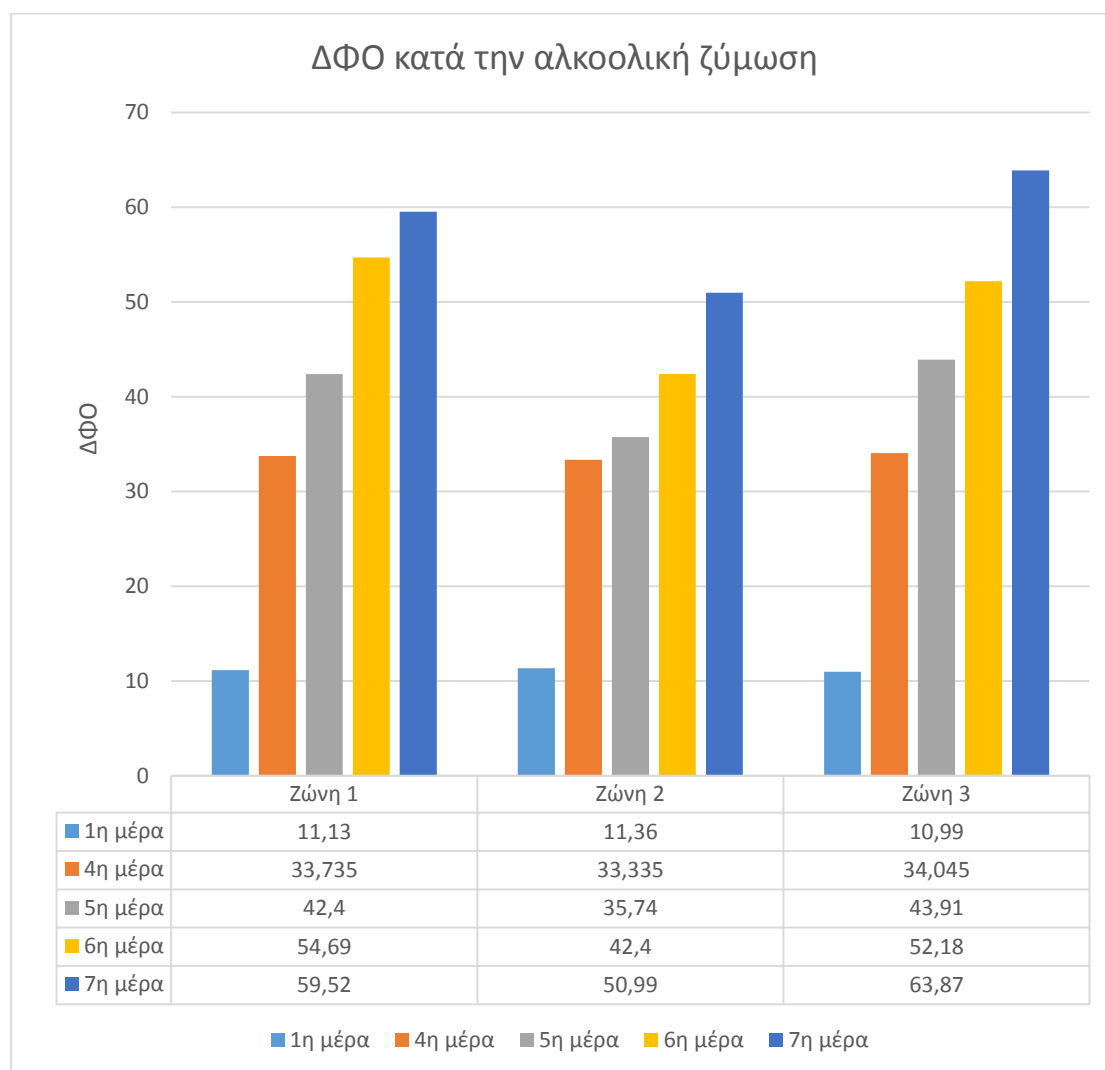
Σύμφωνα με το γράφημα η ζώνη 3 φέρεται να έχει την μεγαλύτερη ένταση στο χρώμα, αλλά η διαφορά είναι πολύ μικρή σε σχέση με την ζώνη 1. Μόνο με την ζώνη 1 παρουσιάζεται διαφορά 1,31 που δεν κάνει την σημαντική διαφορά στον παραγόμενο οίνο.

Γράφημα 6.3: Περιγράφεται η απόχρωση κατά την αλκοολική ζύμωση



Η απόχρωση του οίνου εκφράζει την αναλογία ανθοκυανών δεσμευμένων με τανίνες προς ελεύθερες ανθοκυάνες και σταθεροποιείται το χρώμα του οίνου. Σύμφωνα με το γράφημα η απόχρωση είναι φανερά πιο έντονη την πρώτη μέρα και στις 3 ζώνες. Και οι 3 ζώνες έχουν ομοιόμορφη μεταβολή στην απόχρωση και δεν φένεται να επηρεάζεται αναλογικά με το υψόμετρο.

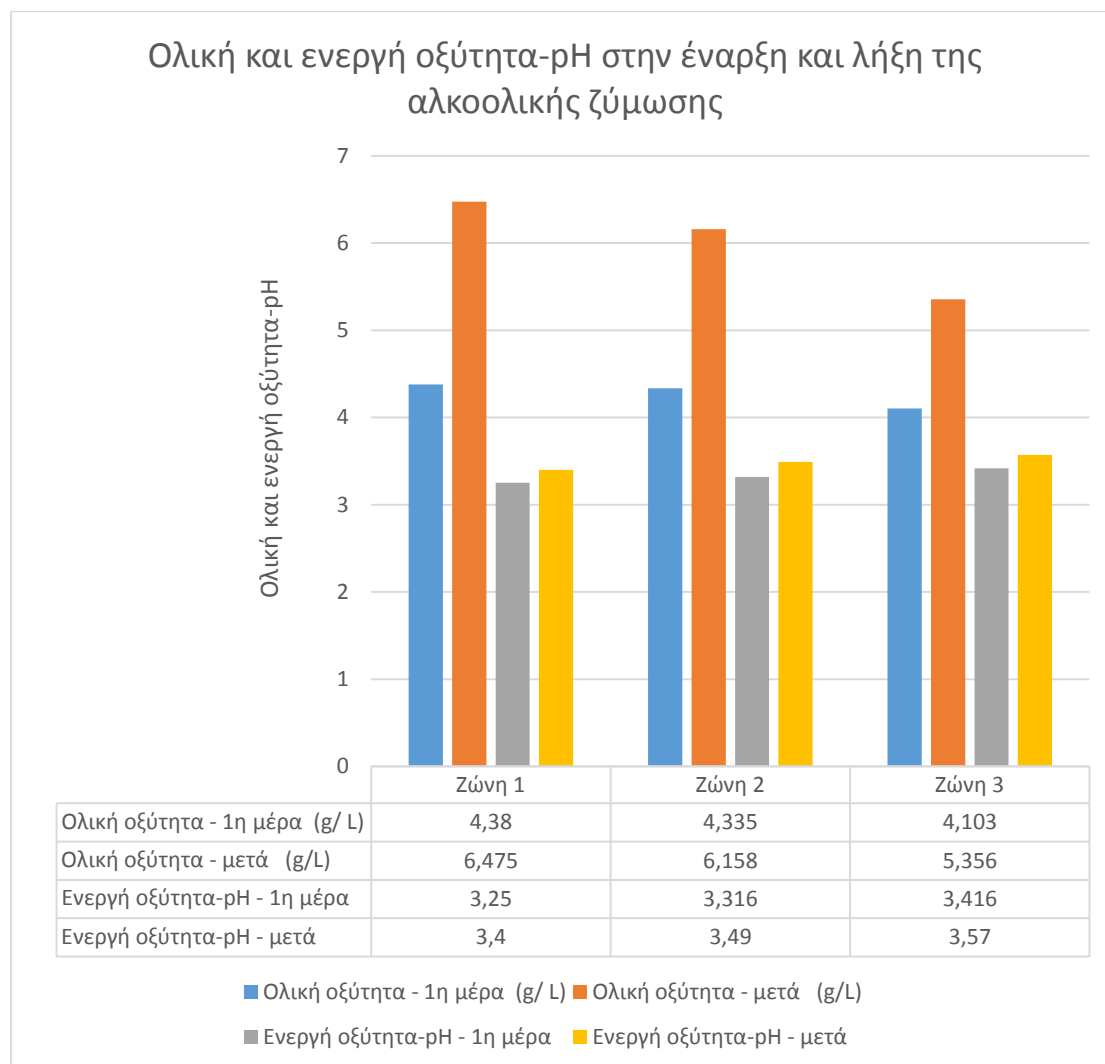
Γράφημα 6.4: Περιγράφεται ο δείκτης φαινολικών ουσιών κατά την αλκοολική ζύμωση



Ο ΔΦΟ μας δείχνει το σύνολο των φαινολικών συστατικών. Σύμφωνα με το γράφημα και οι 3 ζώνες παρουσιάζουν ομοιόμορφη μεταβολή. Η υψομετρικά υψηλότερη, ζώνη 3 στο τέλος την αλκοολικής ζύμωσης παρουσιάζει τα περισσότερα φαινολικά συστατικά, ενώ ακολουθεί η ζώνη 1 και 2.

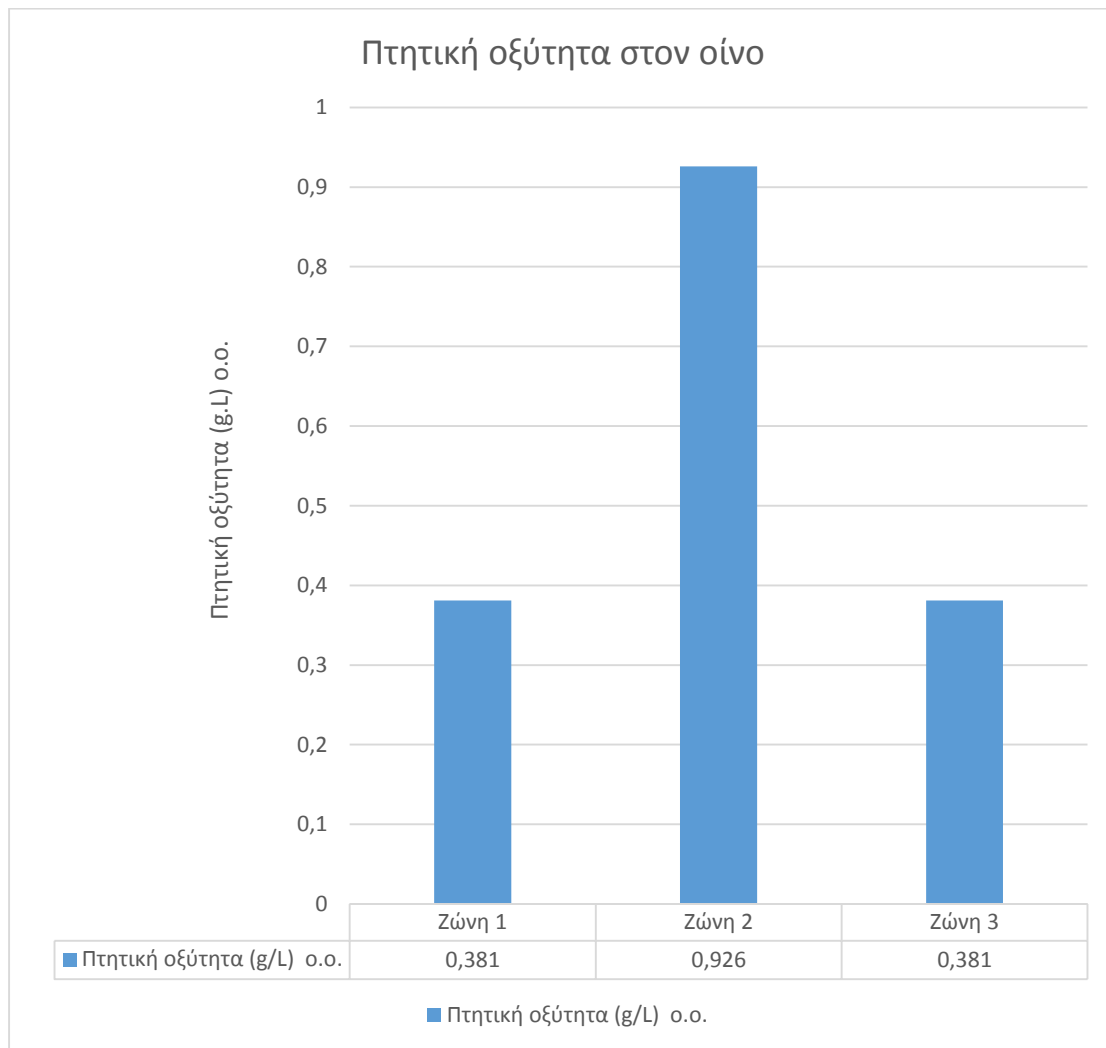


Γράφημα 6.5: Περιγράφεται η ολική και ενεργή οξύτητα-pH στην έναρξη και στην λήξη της αλκοολικής ζύμωσης



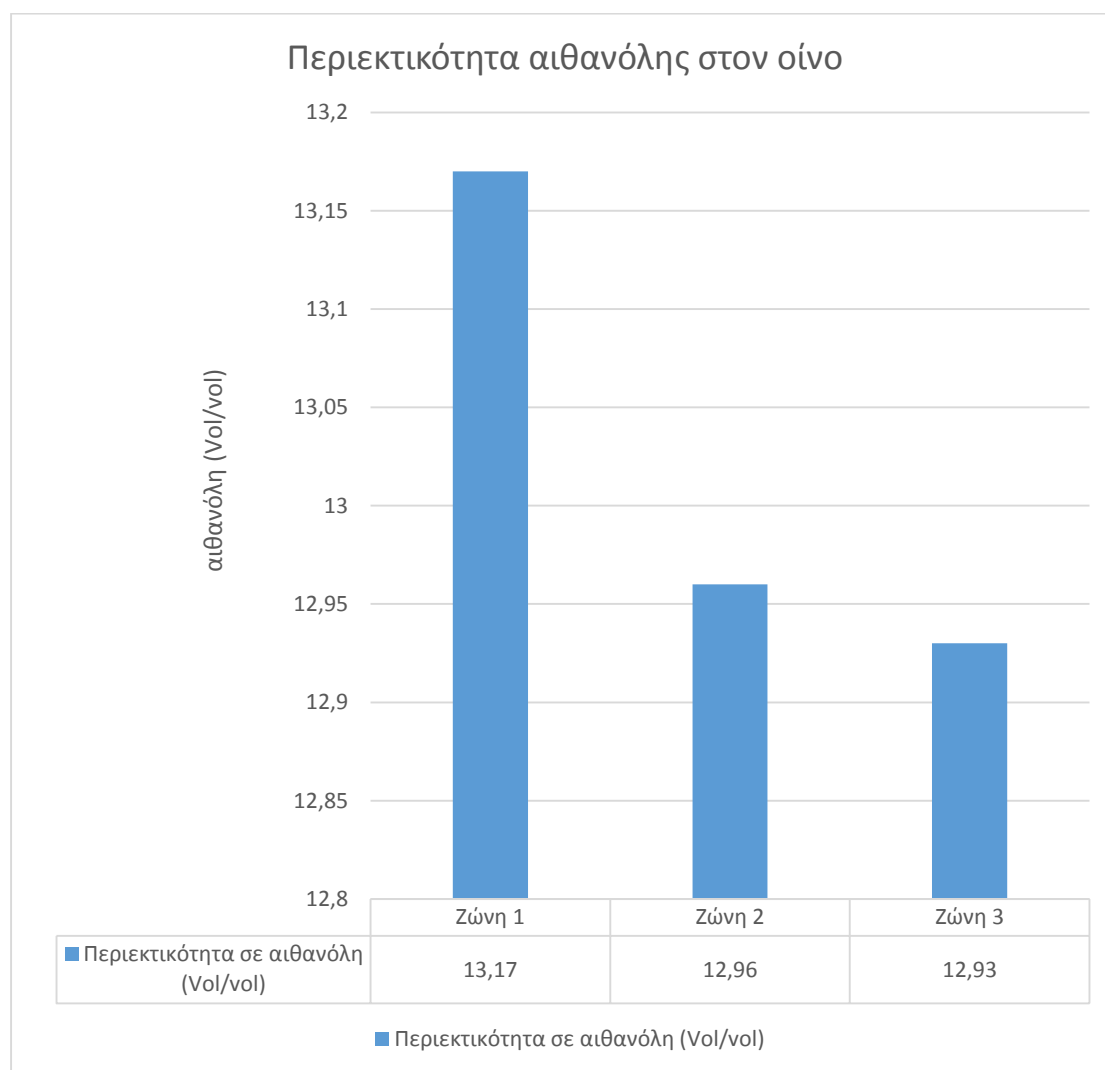
Στο γράφημα παρατηρείται οι τιμές της ενεργής και ολικής οξύτητας κατά την πρώτη μέρα της αλκοολικής ζύμωσης, των ζωνών 1, 2 και 3 βρίσκονται αρκετά κοντά χωρίς να παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές. Μετά το τέλος της ζύμωσης όμως, η ολική οξύτητα της, χαμηλής σε υψόμετρο, ζώνης 1 είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις άλλες 2 ζώνες. Ακολουθεί η, μεσαίου υψόμετρο, ζώνη 2 και η, υψηλού υψόμετρο, ζώνη 3.

Γράφημα 6.6: Περιγράφεται η πτητική οξύτητα στον παραγόμενο οίνο



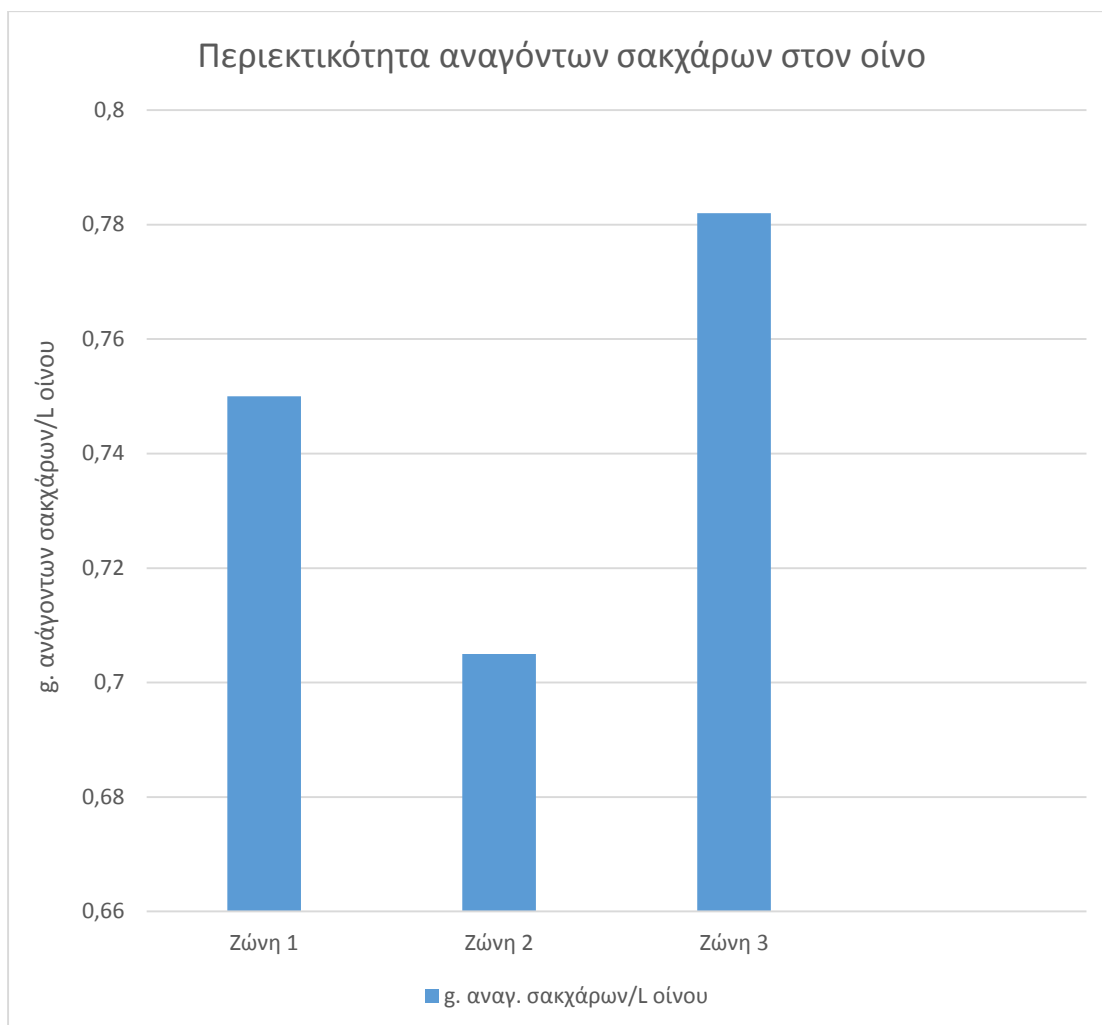
Όσο μεγαλύτερη η πτητική οξύτητα, τόσο επηρεασμένα αρνητικά είναι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Η ζώνη 2 παρουσιάζει την μεγαλύτερη πτητική οξύτητα και οι ζώνες 1 και 3 βρίσκονται στα ίδια ακριβώς επίπεδα.

Γράφημα 6.7: Περιγράφεται η περιεκτικότητα του παραγόμενου οίνου σε αιθανόλη



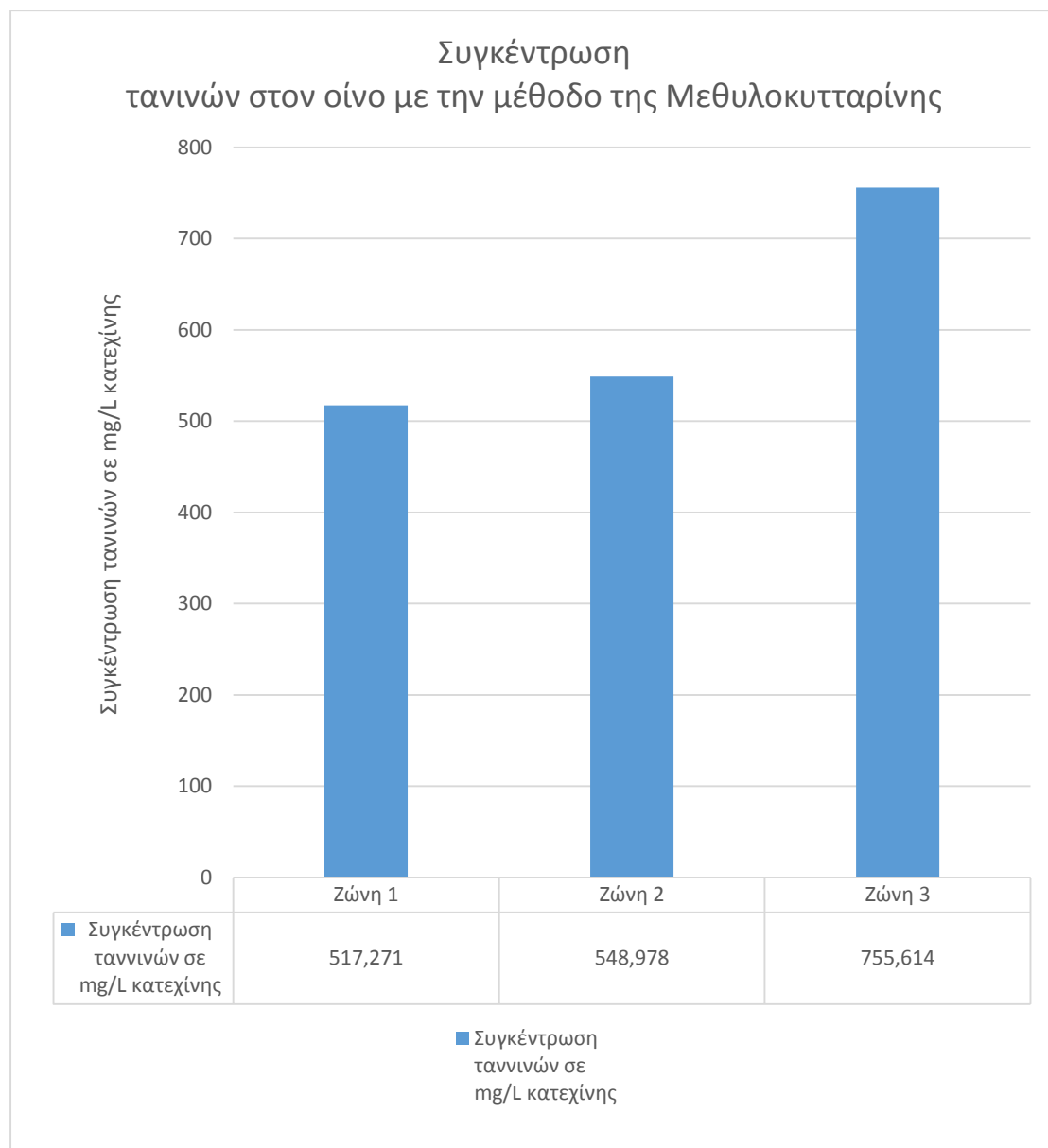
Το γράφημα μας δείχνει τους αλκοολικούς βαθμούς της ζώνης 1,2 και 3. Παρατηρούμε ότι η χαμηλότερη υψομετρικά,ζώνη 1 παρουσιάζει τον μεγαλύτερο αλκοολικό βαθμό. Ακολουθούν η ζώνη 2 και 3 αλλά οι διαφορές μεταξύ των τριών ζωνών στην περιεκτικότητά τους σε αιθανόλη είναι ουσιαστικά ελάχιστες.

Γράφημα 6.8: Περιγράφεται η περιεκτικότητα των αναγόντων σακχάρων στον παραγόμενο οίνο



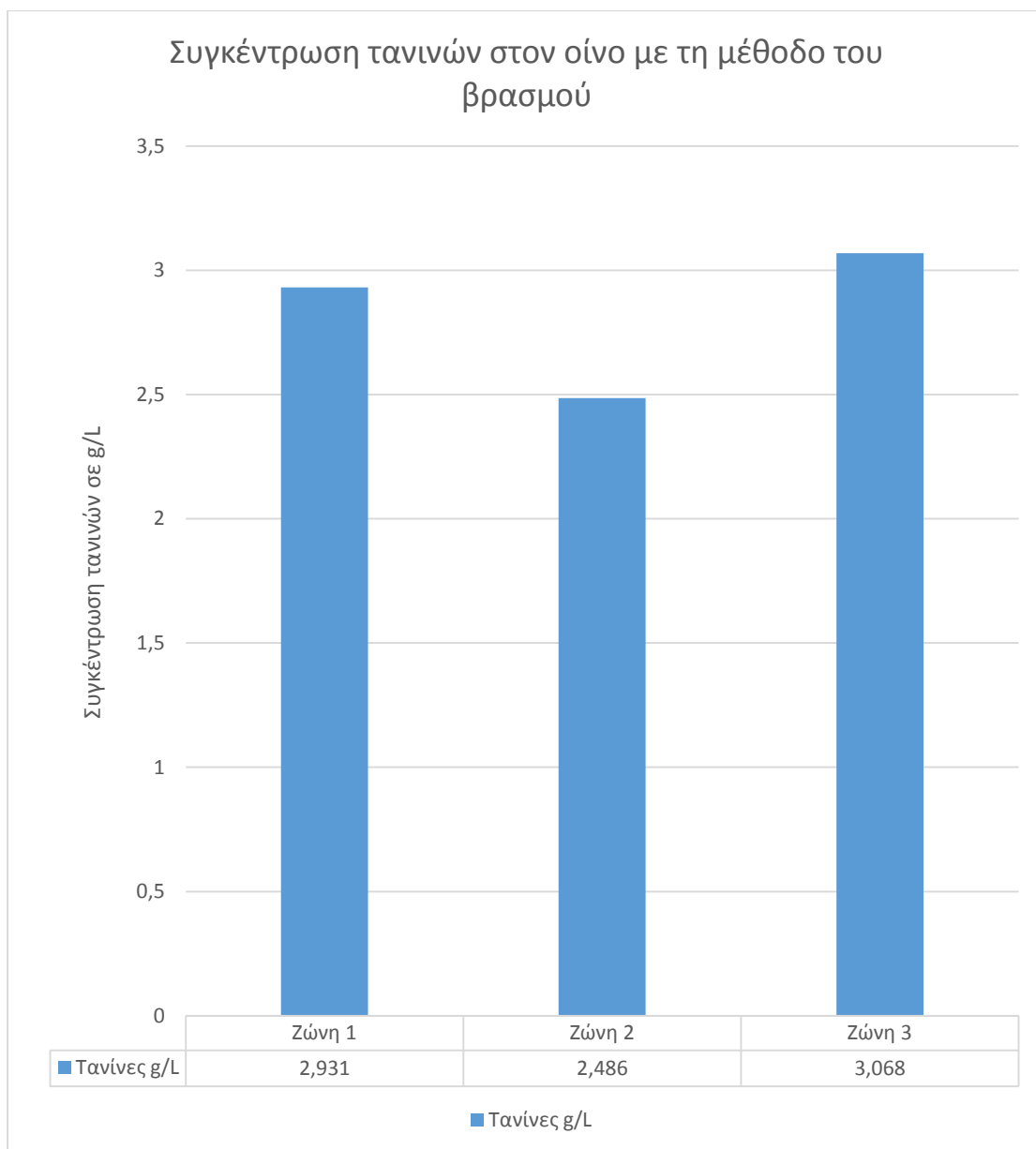
Με τα αποτελέσματα της μέτρησης της περιεκτικότητας των αναγόντων σακχάρων των παραγόμενων οίνων, πραγματοποιείται ο χαρακτηρισμός τους σε ξηρός, ημίξηρος, ημίγλυκος και γλυκός. Και οι 3 ζώνες παρουσιάζουν κάτω από 2 g ανάγοντα σάκχαρα /L οίνου, οπότε χαρακτηρίζονται ως ξηροί οίνοι.

Γράφημα 6.9: Περιγράφεται η συγκέντρωση τανινών στον παραγόμενο οίνο με την μέθοδο της Μεθυλοκυτταρίνης



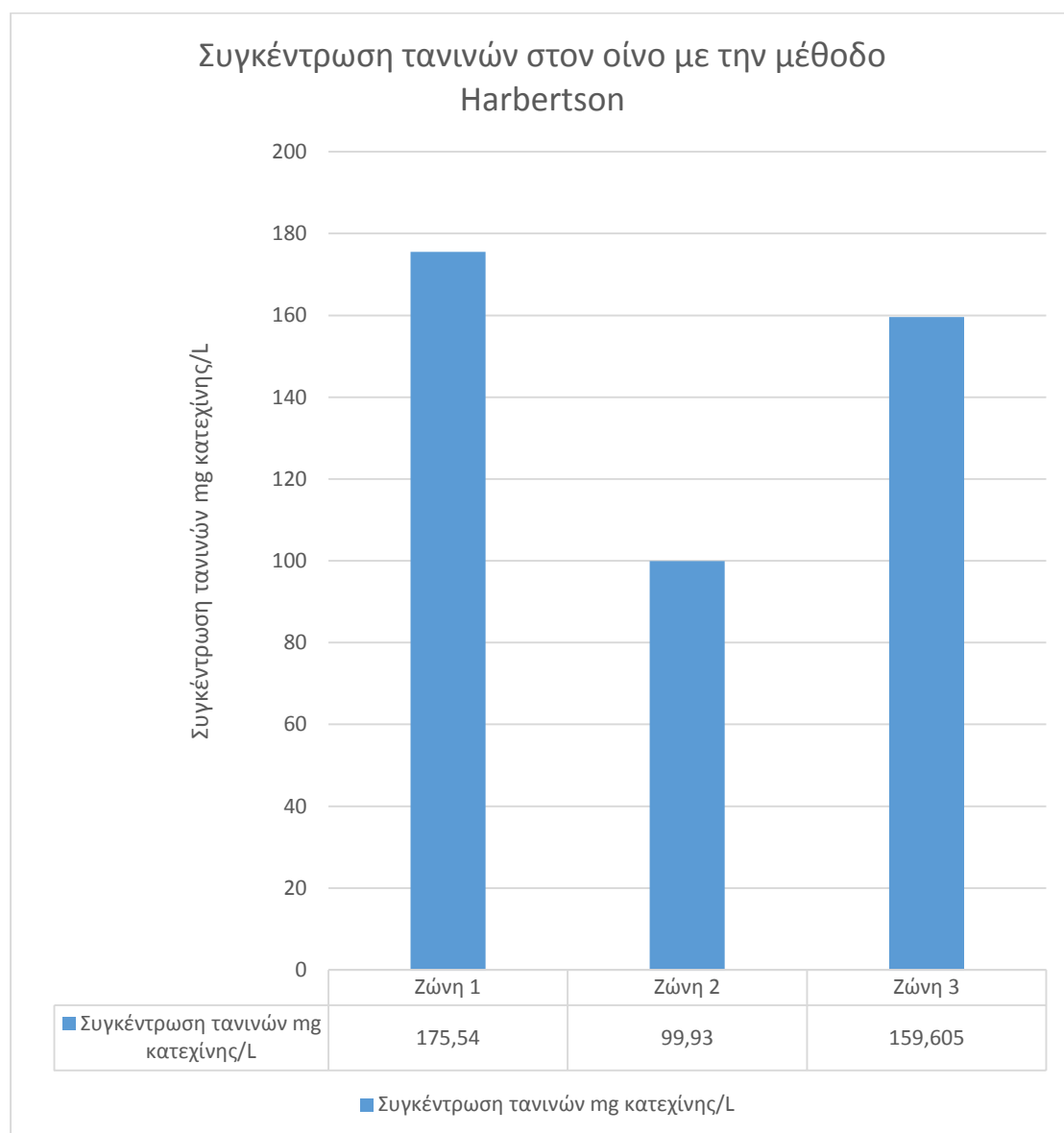
Σύμφωνα με το γράφημα η υψομετρικά ψηλότερη, ζώνη 3, έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε τανίνες από τις άλλες 2 ζώνες. Ακολουθεί η ζώνη 2 και τέλος η ζώνη 1.

Γράφημα 6.10: Περιγράφεται η συγκέντρωση των τανινών στον οίνο με την μέθοδο του βρασμού



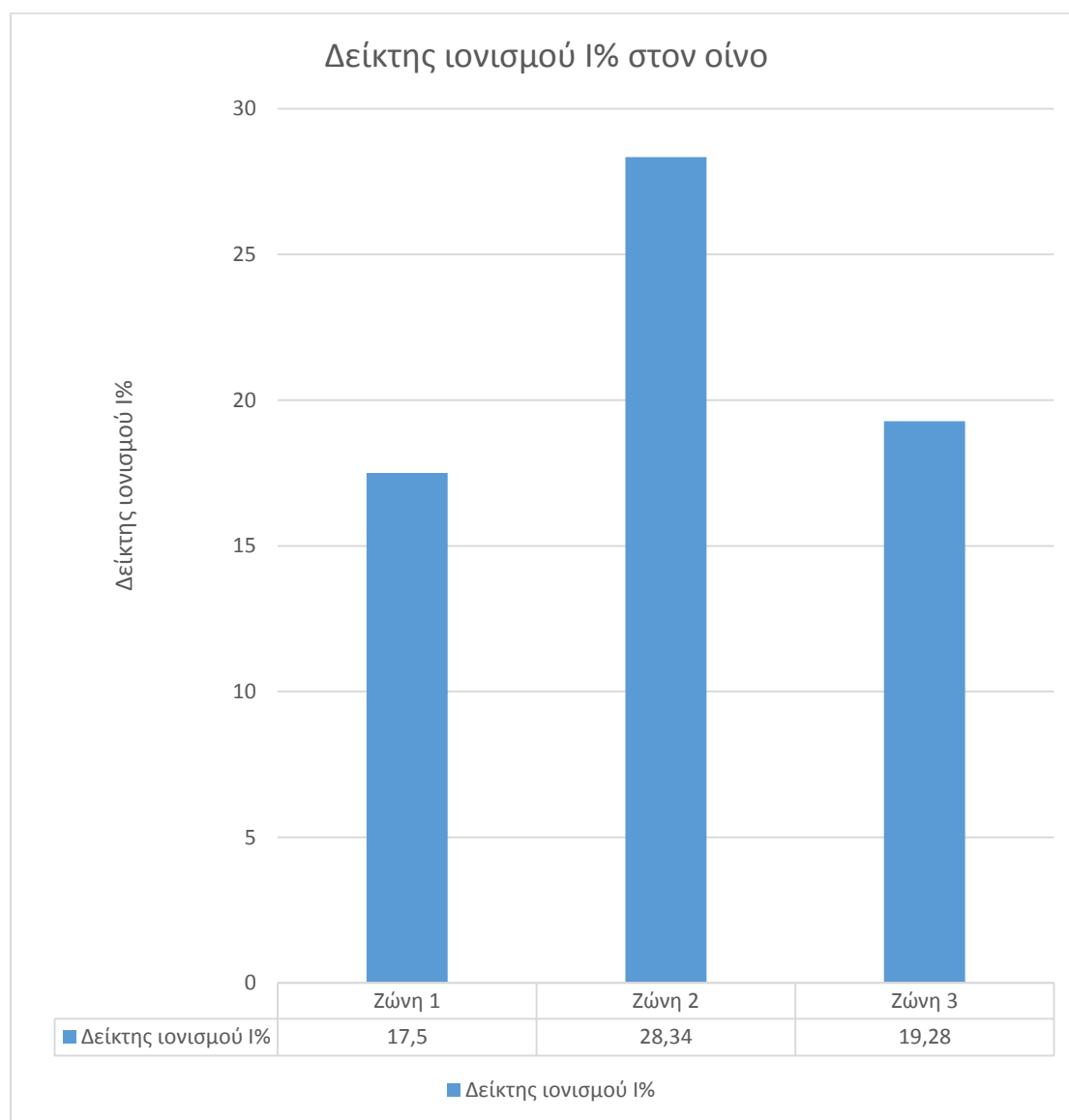
Σύμφωνα με το διάγραμμα η ζώνη 3, έχει την μεγαλύτερη συγκέντρωση τανινών σε σχέση με την ζώνη 1 που ακολουθεί και την ζώνη 2 που είναι η φτωχότερη σε τανίνες.

Γράφημα 6.11: Περιγράφεται η συγκέντρωση των τανινών στον οίνο με την μέθοδο Harbertson



Σύμφωνα με την μέθοδο Harbertson που πραγματοποιήθηκε στους παραγόμενους οίνους και των τριών ζωνών, παρατηρούμε ότι η ζώνη 1 παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση τανινών και ακολουθούν με μικρότερη συγκέντρωση η ζώνη 3 και 2.

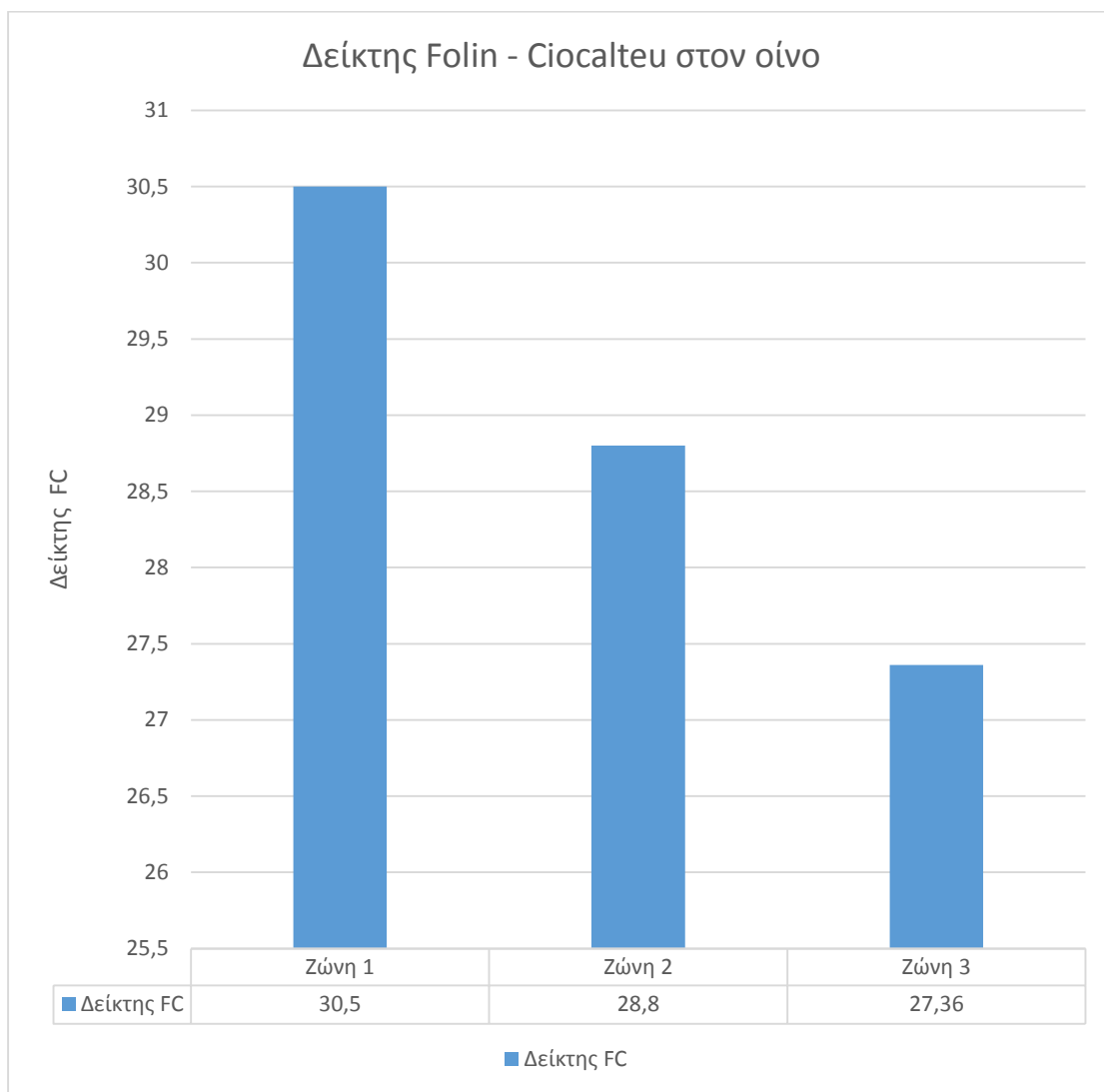
Γράφημα 6.12: Περιγράφεται ο δείκτης ιονισμού στον παραγόμενο οίνο



Όσο μικρότερος είναι ο δείκτης ιονισμού, τόσο περισσότερες είναι οι δεσμευμένες ανθοκυάνες. Όσο παλαιώνει ο οίνος, πολυμερίζονται και το χρώμα πάει προς το καφέ. Στο γράφημα η ζώνη 2 έχει τον υψηλότερο δείκτη ιονισμού. Ακολουθεί η ζώνη 3 και τελευταία η ζώνη 1.

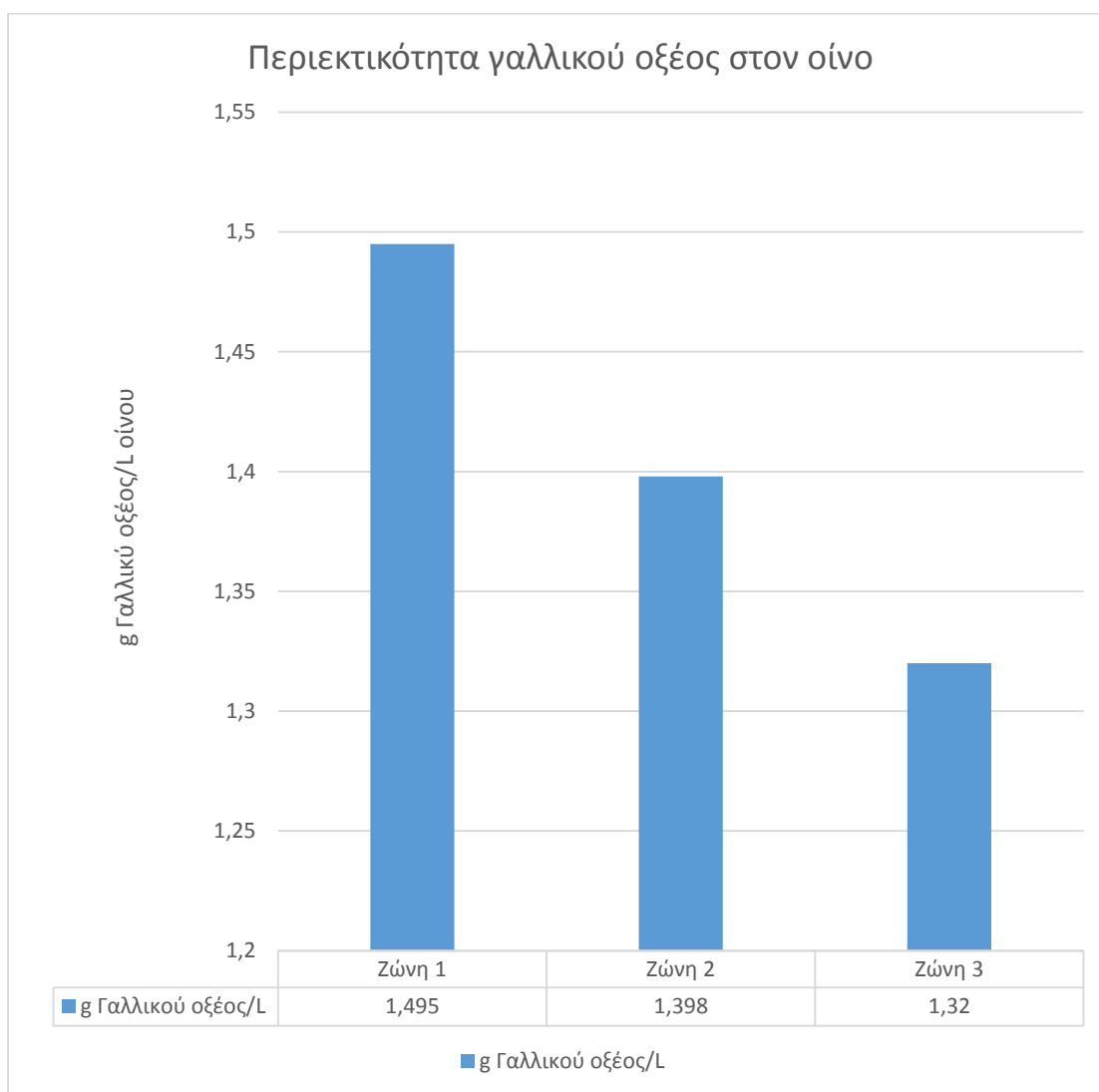


Γράφημα 6.13: Περιγράφεται ο δείκτης Folin – Ciocalteu στον παραγόμενο οίνο



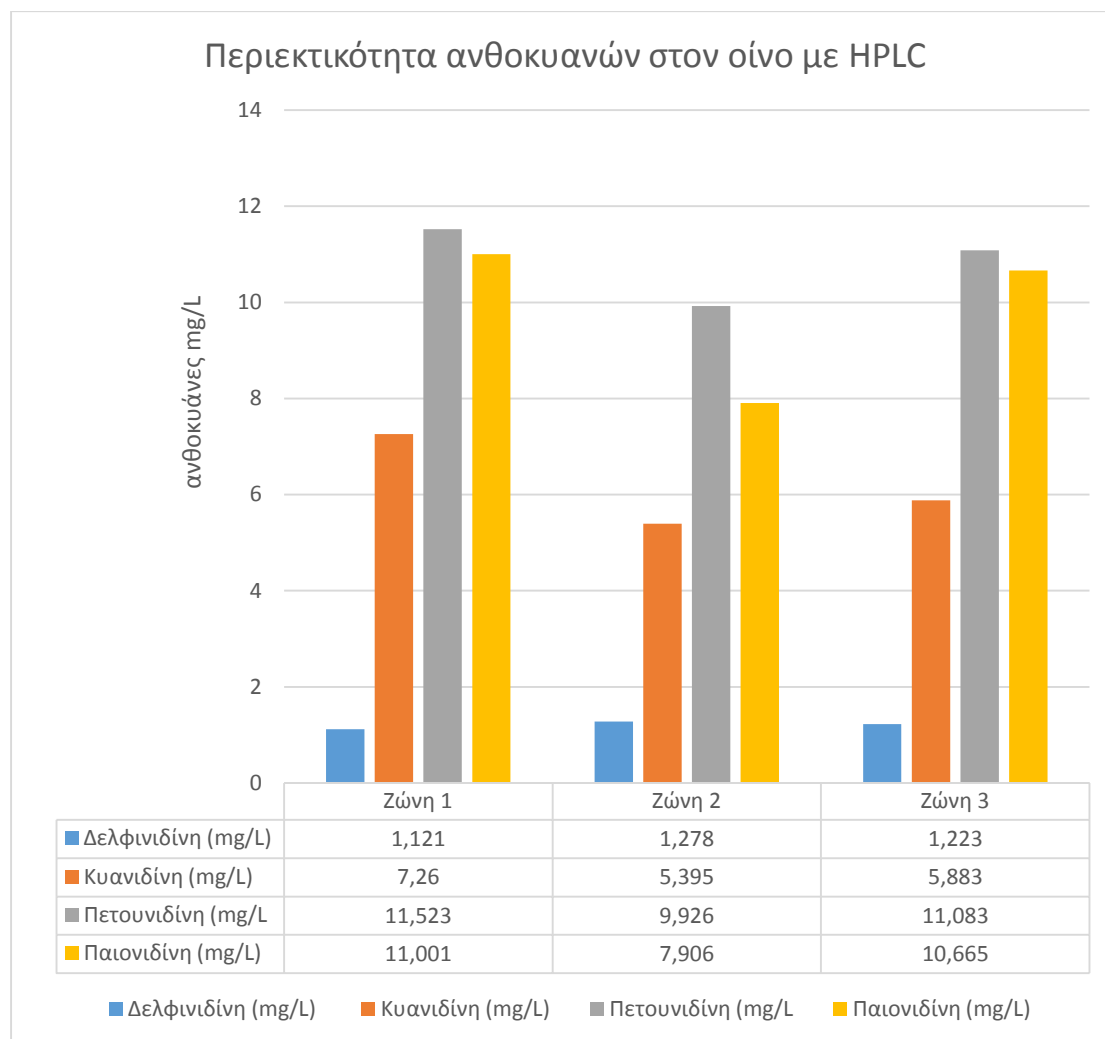
Μετρά το σύνολο των φαινολικών ουσιών στον οίνο. Η ζώνη 1 έχει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες. Ακολουθεί η ζώνη 2 και 3.

Γράφημα 6.14: Περιγράφεται η περιεκτικότητα του γαλλικού οξέος στον παραγόμενο οίνο



Σύμφωνα με το γράφημα η ζώνη 1 έχει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε γαλλικό οξύ σε σχέση με την ζώνη 2 και την ζώνη 3.

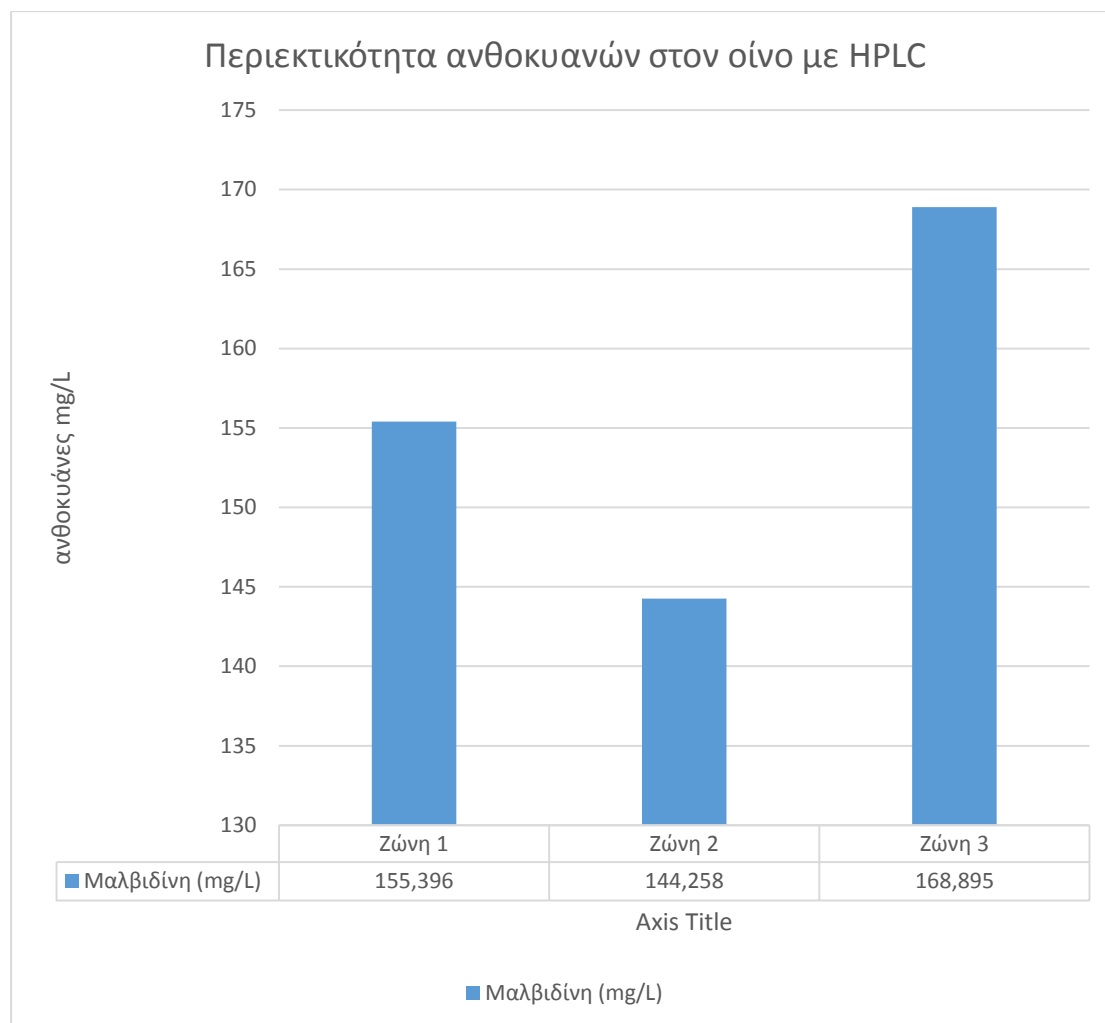
Γράφημα 6.15: Περιγράφεται η περιεκτικότητα των ανθοκυανών που προσδιορίστηκαν με HPLC, στον παραγόμενο οίνο



Σύμφωνα με το γράφημα η δελφινιδίνη βρίσκεται, με πολύ μικρές διαφορές, στις ίδιες συγκεντρώσεις και στις 3 ζώνες.

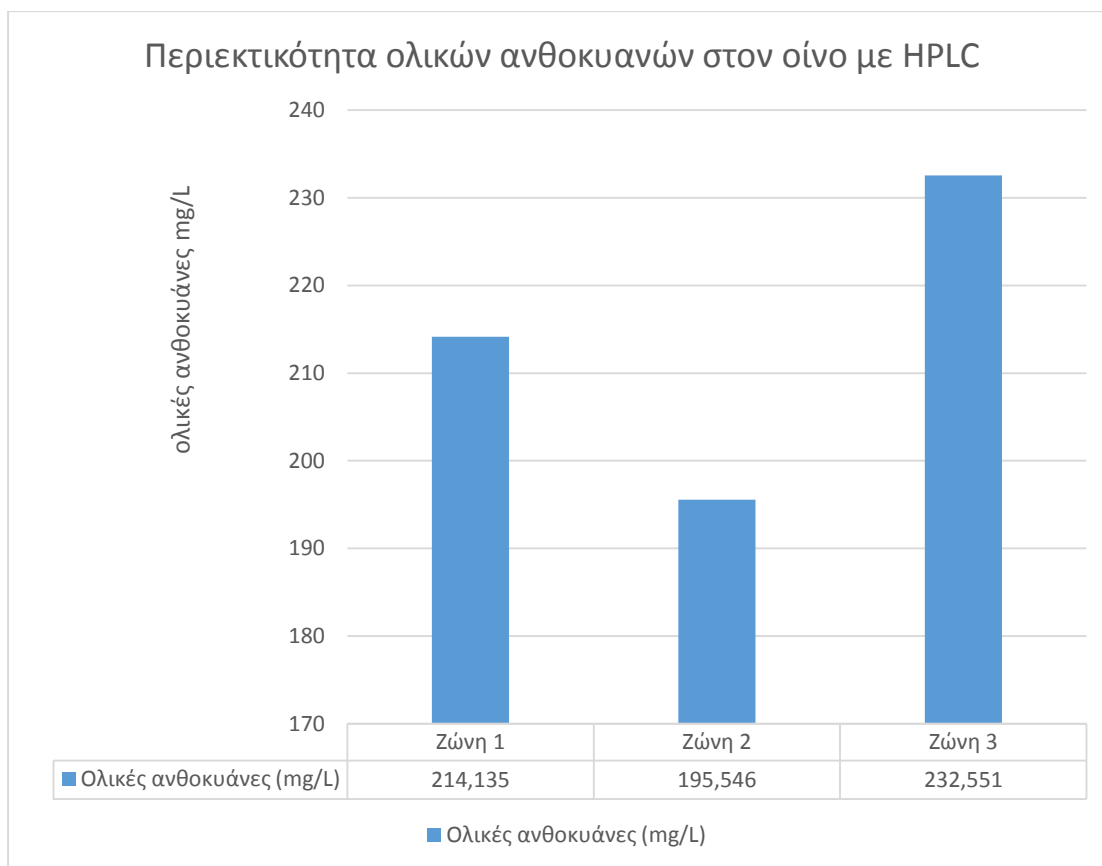
Η κυανιδίνη, η πετουνιδίνη, η παιονιδίνη παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ζώνη 1. Ακολουθούν η ζώνη 3 και 2.

Γράφημα 6.16: Περιγράφεται η περιεκτικότητα των ανθοκυανών που προσδιορίστηκαν με HPLC, στον παραγόμενο οίνο



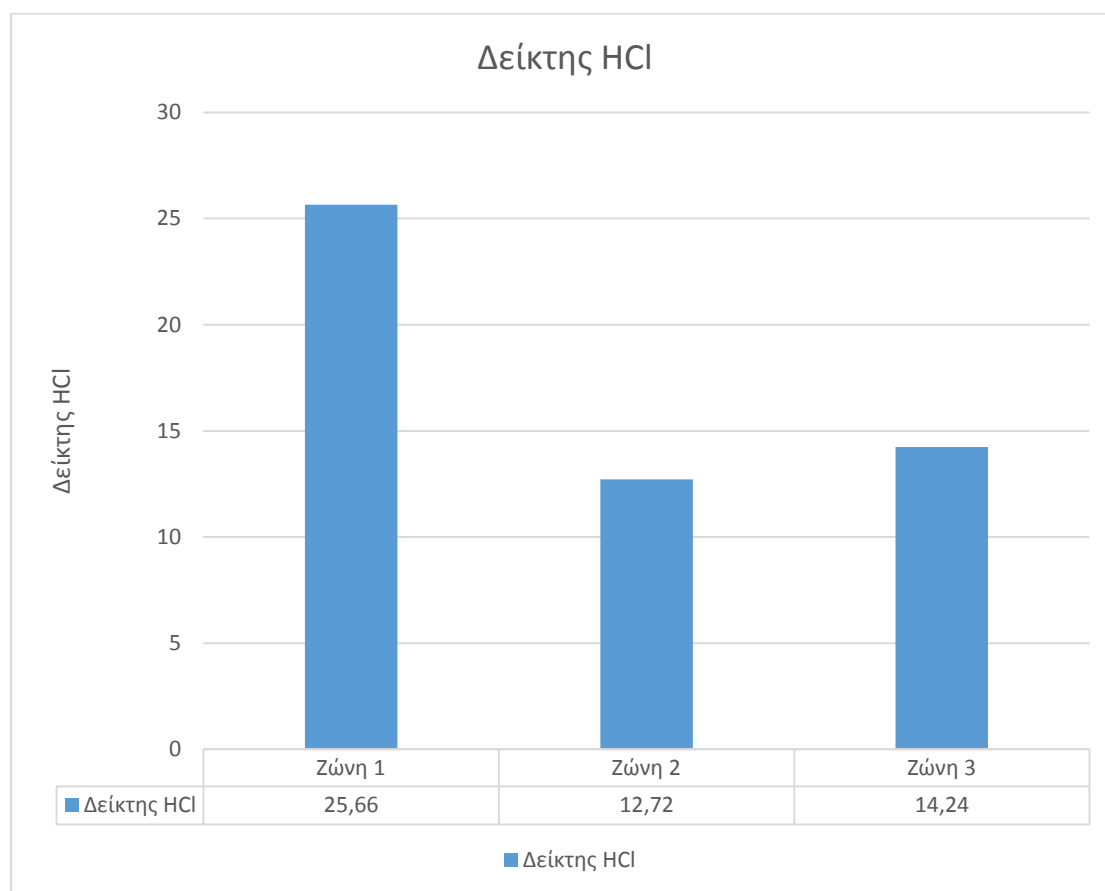
Η μαλβιδίνη είναι η μεγαλύτερη σε συγκέντρωση ανθοκυάνη και στις 3 ζώνες. Η μεγαλύτερη συγκέντρωσή της βρίσκεται στην ψηλότερη υψομετρικά, ζώνη 3. Μικρότερη συγκέντρωση συναντάμε στην ζώνη 1 και ακόμα πιο μικρή στην ζώνη 2.

Γράφημα 6.15: Περιγράφεται η περιεκτικότητα των ολικών ανθοκυανών που προσδιορίστηκαν με HPLC, στον παραγόμενο οίνο



Σύμφωνα με το γράφημα, η υψομετρικά ψηλότερη, ζώνη 3 έχει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες σε σχέση με την ζώνη 1 που ακολουθεί και ζώνη 2 που είναι η φτωχότερη.

Γράφημα 6.18: Περιγράφεται ο δείκτης υδροχλωρικού οξέος στον παραγόμενο οίνο



Ο δείκτης HCl μας δίνει να καταλάβουμε αν ο οίνος είναι κατάλληλος για παλαίωση. Ένας οίνος πλούσιος σε τανίνες, ιδανικός για παλαίωση, έχει τιμή 10 – 25. Σύμφωνα με το γράφημα η ζώνη 1, η χαμηλότερη υψομετρικά μας έδωσε τιμή ελάχιστα πάνω από το 25. Η ζώνη 2 και 3 μας έδωσαν τιμή εντός των ορίων και βγάζοντας το συμπέρασμα ότι και οι 3 ζώνες μπορούν να παράξουν οίνο ικανό να παλαιωθεί.

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Ελληνική βιβλιογραφία

Κοτσερίδης Γ., (2005). Σημειώσεις/Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας Ι. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Αθήνα

Κουράκου - Δραγώνα Σ., (1998). Θέματα οινολογίας. Τροχαλία

Σταυρακάκης Ε., (2010). Αμπελογραφία. Εκδόσεις Τροπή

Χαρβαλιά, Α. και Μπενά - Τζούρου, Ε. (1981). Το χρώμα των ερυθρών οίνων από διάφορες ποικιλίες και περιοχές της Ελλάδας, Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά. Τόμος 1

Τσακίρης, Α.: Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί, εκδ. τρόφιμα και ποτά, Αθήνα 1988

Σουφλερός, Ε.: Οίνος και αποστάγματα- μέθοδοι ανάλυσης, Θεσσαλονίκη 1997

Σπινθηροπούλου, Χ.: Οινοποιήσιμες ελληνικές ποικιλίες του ελληνικού αμπελώνα, Αθήνα 2000

### Ξένη βιβλιογραφία

Glories, Y. (1987) Le bois et la qualité des vins et des eaux-de-vie. (ed. G. Gimberteau). Special Conn. Vigne Vin, 81.

Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. Mesure, origine et interprétation. Partie I. Connaiss. Vigne Vin, 18, 195–217.

Glories, Y. (1978). Recherches sur la matière colorante des vins rouges. PhD Thesis. University of Bordeaux II (France).

Harbertson, F. & Adams, J. A. (2002): Tannins in skins and seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah and Pinot noir berries during ripening. Am. J. Enol. Vitic., 53, 54-59.

Kinsella, J. E., E., German, B., Kanner, J. (1993): Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. Food technol., 47, 85-89

Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jiménez L. (2004), Polyphenols: food sources and bioavailability, Am. J. Clin. Nutr., 79, 727-47.

Mazur, W., Fotsis, T., Wahala, K., Ojala, S., Salakka, A. and Adlercreutz, H., (1996), Isotope dilution gas chromatographic-mass spectrometric method for determination of isoflavonoids, coumestrol and ligans in food samples. Analytical Biochemistry, 233, 169-180

Psotova J., Kolar M., Sousek J., Švagera Z., Vicar J, Ulrichova J. (2003), Biological activities of Prunella vulgaris extract. Phytother Res, 17, 1082-1087

Ribereau – Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., and Dubourdieu, D. (2006), Handbook of Enology 2. The chemistry of Wine Stabilization and Treatments, John Wiley and Sons Ltd.

Ribéreau-Gayon, P. and Stonestreet, E., (1966). Dosage des tannins du vin rouges et détermination de leur structure (Content of tannins in red wine and determination of their structure). *Chem. Anal.*, 48, 188–196.

Ribereau-Gayon, P. and Stonestreet, E. (1965). Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 9, 2649-2652.

Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M. Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone. *Clin. Biochem.* 1997; 30:91–113.

Scalbert A., Déprez S., Mila I., Albrecht A. M., Huneau J. F., Raboti S., Proanthocyanidins and human health: systemic effects and local effects in the gut, *Biofactors.*, 13, 115-20.

Stoner G. D., Mukhtar H. (1995), Polyphenols as cancer chemopreventive agents, *J.Cell Biochemistry Suppl.*, 22, 169-80

Yang C.S., Landau J.M., Huang M., Newmark H., (2001), Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds, *Annual Review of Nutrition*, 21, 381-406

Watanabe S., Uesugi S., Kikuchi Y., (2002), Isoflavones for prevention of cancer, cardiovascular diseases, gynaecological problems and possible immune potentiation, *Biomed Pharmacother*, 56:302-312