



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΗΣ  
ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑΣ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΠΑΤΕΛΟΥ ΠΗΝΕΛΟΠΗ**  
**ΔΡΥΜΩΝΑ ΕΛΕΝΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:**  
**ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΚΕΧΑΓΙΑ**

**ΑΘΗΝΑ ,2023**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

**ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο:

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΗΣ ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑΣ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ»**

και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

<b>Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (1ου Μέλους Επιτροπής)</b>	
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (2ου Μέλους Επιτροπής)</b>	
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (3ου Μέλους Επιτροπής)</b>	

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι Πατέλου Πηνελόπη του Κωνσταντίνου, με αριθμό μητρώου os151075 φοιτήτρια και Δρυμώνα Ελένη του Γεωργίου, με αριθμό μητρώου os151025 του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και ποτών δηλώνουμε υπεύθυνα ότι: «Είμαστε οι συγγραφείς αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

Ο/Η Δηλών/ούσα

ΠΑΤΕΛΟΥ ΠΗΝΕΛΟΠΗ

Ο/Η Δηλών/ούσα

ΔΡΥΜΩΝΑ ΕΛΕΝΗ

(Ονοματεπώνυμο & Υπογραφή)

## Περίληψη

Η Μαλαγουζιά ή Μαλαγούζια αποτελεί μια ελληνική λευκή ποικιλία με έντονο αρωματικό χαρακτήρα. Καλλιεργείται σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές της Ελλάδας και για αυτό ο τελικός οίνος που προκύπτει, διαφέρει από τόπο σε τόπο. Ο καιρός, τα κλαδέματα, η οινοποίηση και ο ανθρώπινος παράγοντας είναι κάποιοι από τους παραπάνω λόγους. Στο θεωρητικό μέρος της παρούσας πτυχιακής εργασίας παρουσιάζονται πληροφορίες σχετικά με την Μαλαγουζιά, τα εδάφη και τις διαφορές των καλλιεργήσιμων περιοχών της. Οι περιοχές που επικεντρώνεται η έρευνα είναι Αττική, Χαλκιδική, Πελοπόννησος και Πάρος.

Σκοπός είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας της Μαλαγουζιάς από τις διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, κάτω από συγκεκριμένες πειραματικές μεθόδους. Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας, χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις διαφορετικές Μαλαγουζιές ίδιας χρονιάς και ίδιας οινοποιητικής μεθόδου. Ακολούθησε προσδιορισμός του φαινολικού δυναμικού με χρήση του Δείκτη Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ), καθώς και με χρήση του δείκτη Folin-Ciocalteu. Ο έλεγχος της αντιοξειδωτικής ικανότητας πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο DPPH και την μέθοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης.

**Λέξεις κλειδιά:** Μαλαγουζιά, Λευκό Κρασί, Αττική, Χαλκιδική, Πάρος, Πελοπόννησος, Αντιοξειδωτική ικανότητα, Φαινολικό δυναμικό, Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ), Folin-Ciocalteu, μέθοδος DPPH, Μέθοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης.

## Abstract

Malagouzia or Malagouzia is a Greek white variety with a strong aromatic character. It is cultivated in various geographical regions of Greece and for this reason the final wine obtained differs from place to place. Weather, pruning, vinification and the human factor are some of the above reasons. In the theoretical part of this thesis, information is presented about Malagouzia, the soils and the differences of its cultivated areas. The areas where the research is focused are Attica, Halkidiki, Peloponnese and Paros.

The purpose is to determine the antioxidant capacity of Malagouzia from different geographical areas, under specific experimental methods. To determine the antioxidant capacity, four different Malagouzies of the same year and the same vinification method were used. This was followed by a determination of the phenolic potential using the Phenolic Substance Index (PFI), as well as using the Folin-Ciocalteu index. The antioxidant capacity was tested using the DPPH method and the accelerated oxidation method.

**Key words:** Malagouzia, White Wine, Attica, Halkidiki, Paros, Peloponnese, Antioxidant capacity, Phenolic potential, Phenolic Substances Index (PDI), Folin-Ciocalteu, DPPH method, Accelerated oxidation method.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες.....	2
Πρόλογος.....	2
Περίληψη.....	2
Abstract.....	2
Περιεχόμενα.....	4
<b>A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	5
1.1 Κλίμα.....	5
1.2 Έδαφος.....	7
1.4 Ιστορία Μαλαγουζιάς .....	10
1.5 Αμπελογραφικά Χαρακτηριστικά.....	10
1.6 Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά.....	11
2. Σύσταση Οίνου.....	12
2.1 Λευκή Οινοποίηση.....	13
3. Φαινολικά Συστατικά του Οίνου.....	16
3.1 Φλαβονόλες.....	17
3.2 Ανθοκυάνες.....	17
3.3 Ταννίνες.....	17
3.4 Φαινόλες.....	17
4. Μέθοδος Προσδιορισμού Φαινολικού Δυναμικού Οίνου.....	20
5. Οξειδωση στους Λευκούς Οίνους.....	21
5.1 Μηχανισμοί Οξειδωτικής Αμαύρωσης.....	21
5.1.1 Ενζυμικής Φύσης Οξειδώσεις.....	21
5.1.2 Μη Ενζυμικής Φύσης Οξειδώσεις.....	21
5.2 Άλλοι Μηχανισμοί Οξειδωσης.....	21
5.2.1 Ακεταλδεύδη.....	21
5.2.2 Γλυοξικό Οξύ.....	21
6. Προστασία Γλεύκους και Οίνου Από Τις Οξειδώσεις.....	29
6.1 Θείωση.....	29

6.2 Ασκορβικό Οξύ.....	29
6.3 Απολάσπωση και Κατεργασία Με Μπετονίτη.....	29
6.4 Οινοποίηση με Αδρανή Αέρια.....	29
6.5 Ψύξη/ Θέρμανση Γλεύκους.....	29
6.6 Προσθήκη PVPP.....	29
7. Αντιοξειδωτική Ικανότητα Οίνων και Μέθοδοι Προσδιορισμού.....	33
7.1 Μέθοδος Επιταχυνόμενης Οξείδωσης.....	33
7.2 Μέτρηση Αντιοξειδωτικής Ικανότητας –Μέθοδος DPPH.....	33
<b>B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ.....</b>	<b>36</b>
1.1 Προσδιορισμός Επιταχυνόμενης Οξείδωσης.....	37
1.2 Προσδιορισμός Φαινολικών ουσιών με το δείκτη Folin-Ciocaltaeu.....	38
1.3 Εκτίμηση της Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με τη μέθοδο DPPH.....	39
<b>Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>42</b>
<b>Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>42</b>

# A. Εισαγωγή

---

Για την παραγωγή ενός ποιοτικού κρασιού χρειάζεται συνδυασμός δύο πραγμάτων:

α) ο ανθρώπινος παράγοντας,

Ο άνθρωπος είναι αυτός που τόσο με την δουλεία του στον αμπελώνα όσο και στο οινοποιείο θα μετατρέψει την πρώτη ύλη και θα δώσει ένα ποιοτικό κρασί.

β) η καλή ποιότητα σταφυλιού

Η ποιότητα των σταφυλιών εξαρτάται από την ποικιλία, αλλά και μια σειρά παραγόντων όπως είναι το κλίμα, το έδαφος, το φυτό, την τοπογραφία. Οι παράγοντες αυτοί συχνά περιγράφονται από μία Γαλλικής προέλευσης λέξη γνωστή ως *terroir*.

## 1.1 Κλίμα

Η ποιότητα του σταφυλιού, εξαρτάται άμεσα από το κλίμα της περιοχής όπου καλλιεργείται το αμπέλι από το οποίο προέρχεται. Έτσι, κλίμα και αμπέλι είναι άρρηκτα δεμένα. Το κλίμα μιας καλλιεργητικής περιοχής συχνά μελετάται σε 3 επίπεδα, το Μάκρο-κλίμα το οποίο αναφέρεται στον τύπο κλίματος που επικρατεί σε μία περιοχή π.χ. ηπειρωτικό, μεσογειακό, ωκεάνιο. Το δεύτερο επίπεδο είναι το Μέσο-κλίμα, δηλαδή το κλίμα του αμπελώνα, επηρεάζεται από την κλίση και την έκθεση του εδάφους. Συχνά γίνονται και ανθρώπινες επεμβάσεις όπως σε αρκετούς αμπελώνες της Γερμανίας και της Αυστρίας όπου δημιουργούνται επικλινή εδάφη με σκοπό να πετύχουν περισσότερη έκθεση στον ήλιο. Και τρίτο επίπεδο είναι το Μίκρο-κλίμα το οποίο αναφέρεται σε ένα πολύ εξειδικευμένο περιβάλλον, αυτό που επικρατεί γύρω και μέσα από τα πρέμνα.

Οι κυριότερες κλιματολογικές παράμετροι που επηρεάζουν την ανάπτυξη του αμπελιού είναι η θερμοκρασία, η ηλιοφάνεια, η βροχή, οι άνεμοι, η υγρασία, το υψόμετρο, ενώ σημαντικό ρόλο έχει η ύπαρξη μεγάλων μαζών νερού (θάλασσα, λίμνη, ποτάμι). Η μεγάλη θερμοχωρητικότητα του νερού παίζει διορθωτικό ρόλο, εξομαλύνοντας τις ακραίες θερμοκρασίες της γύρω περιοχής. Ανάλογα με τις παραμέτρους αυτές προσδιορίζεται και το κλίμα ενός τόπου, Μεσογειακό, Ηπειρωτικό και Ωκεάνιο.



- Θερμοκρασία: Η θερμοκρασία θεωρείται από τους σημαντικότερους κλιματικούς παράγοντες , επηρεάζοντας τόσο την ανάπτυξη του αμπελιού όσο και την σύστασή του ( επιδρά στη γεύση, στο χρώμα , στα αρώματα, στα οξέα , στο pH ). Το αμπέλι ευδοκιμεί σε ορισμένα όρια θερμοκρασίας, από την έναρξη της βλάστησης μέχρι και την άνθιση βέλτιστες θερμοκρασίες είναι από 12 έως 18 , από την άνθιση μέχρι την καρπόδεση 18 με 23 , και μέχρι την πλήρη ωρίμανση 20 έως 24.

Υψηλές θερμοκρασίες έχουν σαν αποτέλεσμα μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στερεών συστατικών στο γλεύκος. Πειράματα που έχουν διεξαχθεί ανά τα χρόνια έχουν δείξει ότι οίνοι που έχουν παραχθεί σε παρόμοια εδάφη και σε παρόμοιο ψυχρό κλίμα σε σχέση με οίνους που παρήχθησαν σε ζεστότερα κλίματα έχουν υψηλότερους βαθμούς.

Η επίδραση της θερμοκρασίας στη γεύση και στο άρωμα του οίνου στηρίζεται κυρίως στην σχέση ενζύμων-θερμοκρασία, σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες η δραστηριότητα των ενζύμων μειώνεται προκαλώντας έτσι και τη μείωση της παραγωγής γευστικών και αρωματικών ουσιών.

- Ηλιοφάνεια: Η ηλιοφάνεια σχετίζεται άμεσα με την φωτοσυνθετική δραστηριότητα των φύλλων. Η ποσότητα των υδατανθράκων που συντίθεται στα φύλλα επηρεάζει την ανάπτυξη, την πορεία ωρίμανσης των σταφυλιών. Οι περιοχές που έχουν μεγάλη ηλιοφάνεια παράγουν οίνους πλούσιους σε σάκχαρα , σε αντίθεση με κρασιά που παράγονται σε περιοχές με μικρότερη ηλιοφάνεια που παρουσιάζουν χαμηλό αλκοολικό τίτλο και υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα.
- Βροχόπτωση: Η βροχόπτωση ή αλλιώς η εδαφική υγρασία επιδρά σημαντικά στην πορεία ωρίμανσης των σταφυλιών. Οι μεγαλύτερες ανάγκες σε νερό εμφανίζονται κατά την περίοδο της καρπόδευσης, ενώ πριν από τον τρύγο το πότισμα ή η βροχή θεωρούνται επιζήμιες καθώς οδηγούν στην διόγκωση του σταφυλιού και κατά συνέπεια στην αραίωση των αρωματικών και γευστικών ουσιών.

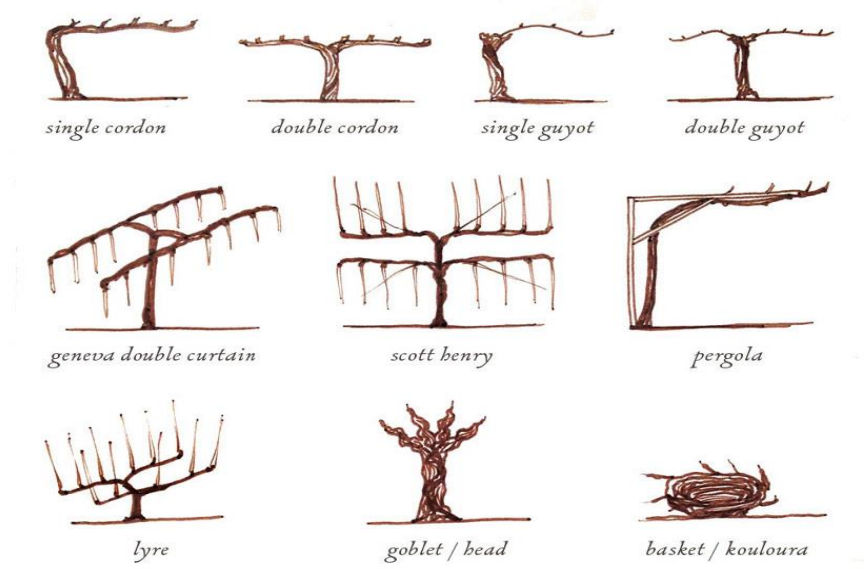
Στην Ελλάδα επικρατεί το μεσογειακό κλίμα όπου χαρακτηρίζεται ως κλίμα: Με μαλακούς χειμώνες, ζεστά και ξηρά καλοκαίρια, υγρή άνοιξη και φθινόπωρο. Ενώ οι θερμοκρασίες είναι σχετικά υψηλές και οι ώρες ηλιοφάνειας πολλές.

## 1.2 Φυτό

Ο παράγοντας φυτό περιλαμβάνει τα γενετικά χαρακτηριστικά μιας ποικιλίας καθώς και όλες τις καλλιεργητικές τεχνικές που μπορεί να χρησιμοποιηθούν. Ένας από τους βασικούς παράγοντες είναι η πυκνότητα φύτευσης και ο προσανατολισμός του αμπελώνα. Σε ψυχρά κλίματα οι αποστάσεις φύτευσης είναι συνήθως μικρές, ενώ σε ζεστά και ξηρά κλίματα όπου έχουμε μικρότερο ποσοστό υγρασίας και το κάθε πρέμνο θέλει μεγαλύτερη έκταση εδάφους να εκμεταλευθεί, χρειάζεται και μεγαλύτερες αποστάσεις φύτευσης. Δεύτερος παράγοντας εξίσου σημαντικός είναι ο προσανατολισμός των γραμμών ενός αμπελώνα. Υπάρχουν δύο βασικοί τύποι είτε βορράς – νότος, είτε δύση-ανατολή, ανάλογα με την καλύτερη εκμετάλλευση της ηλιακής ακτινοβολίας. Τέλος έχουμε το κλάδεμα, σκοπός του οποίου είναι να ρυθμίσουν την ανάπτυξη του αμπελιού. Η επιλογή του κλαδέματος εξαρτάται από το δυναμικό της ποικιλίας, το κλίμα και τις τοπογραφικές συνθήκες.

Μερικά από τα επικρατέστερα είδη κλαδέματος είναι: το κύπελλο (gobelete), το ρουαγιά (royat), την κουλούρα, το γκιότ (guyot) και την πέργκολα.

Στην καλλιέργεια της Μαλαγουζίας συνήθως προτιμάται η διαμόρφωση σε κυπελλοειδές ή γραμμοειδές royat και guyot.



**Εικόνα 1:** Είδη Κλαδέματος.

(Πηγή: Wine Folly.com, illustrated grape vine training methods)

### 1.3 Έδαφος

Terroir είναι γαλλικός όρος, που πλέον χρησιμοποιείται παγκοσμίως, και είναι για να περιγράψει το σύνολο των υπέρχειων και υπόγειων χαρακτηριστικών που καθιστούν έναν αμπελώνα μοναδικό. Αυτοί είναι το έδαφος, η κλίση, το υπέδαφος, ο προσανατολισμός.

Το έδαφος στην αμπελοκαλλιέργεια έχει συγχρόνως δύο ρόλους. Είναι το φυσικό υπόβαθρο που στηρίζει το αμπέλι και το υπόστρωμα όπου θα βρει αυτό τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία, δηλαδή αέρα, φως, νερό και ανόργανη τροφή (N, P, K, S, Fe, Mg, B, Mn, Cu, Zn, Mo, Na, Cl, Co). Επομένως από τη σύσταση του εδάφους εξαρτάται και η ανόργανη θρέψη του αμπελιού. Σαν αποτέλεσμα, στα πλούσια εδάφη, το αμπέλι μπορεί να απλώσει τις ρίζες του και να παρουσιάσει μεγάλη παραγωγή σταφυλιών. Αντίθετα, στα εδάφη που δε συγκρατούν το νερό, το αμπέλι πρέπει να παλέψει για να το βρει, τα φυτά υποφέρουν με αποτέλεσμα την μη παραγωγή κρασιών ποιότητας.

Στα εδάφη διακρίνουμε 4 βασικές κατηγορίες:

- \* Αμμώδη εδάφη: Είναι χαλαρά και εύκολα στην καλλιέργεια. Στραγγίζουν καλά και κατακρατούν την θερμότητα ενώ ταυτόχρονα έχουν καλή αντίσταση στα παράσιτα και στη φυλλοξήρα. Σε θερμά κλίματα δίνουν κρασιά μαλακά με ανοιχτό χρώμα και χαμηλές οξύτητες και ταννίνες.
- \* Αργιλώδη εδάφη: Μένουν δροσερά και κατακρατούν νερό, ενώ λόγω της κακής αποστράγγισης υπάρχει αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης ασθενειών. Αυτό βέβαια καθυστερεί την ωρίμανση των καρπών δίνοντας έτσι δυνατά κρασιά με υψηλή οξύτητα και έντονες ταννίνες.
- \* Ασβεστολιθικά εδάφη: Είναι σκληρά και δυσκολεύουν την ανάπτυξη των ριζών. Έχουν καλές αποστραγγιστικές ικανότητες ενώ παράλληλα κατακρατούν ελαφριά ποσότητα νερού. Όμως λόγω του υψηλού pH που έχουν δίνουν κρασιά όξινα και έντονα.
- \* Ηφαιστειογενή εδάφη: Αποτελούνται από βασάλτη (μαύρο πέτρωμα), στάχτη και θραύσματα βράχου. Η υψηλή σύνθεση σε ορυκτά σε συνδυασμό με την καλή αποστράγγιση του νερού και τη χαμηλή απόδοση των αμπελιών που φυτεύονται σε αυτό, δίνουν κρασιά ιδιαίτερης γεύσης και με πολύ υψηλή συμπύκνωση του καρπού.

#### **Έδαφος Αττικής ( κτήμα Λύτρα):**

Προέρχονται από προσχώσεις ποταμών και λιμνών της περιοχής, η συστασή του είναι κυρίως ασβεστόχο και αργιλώδες. Γενικά δεν είναι πολύ γόνιμα και αυτό γιατί έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε οργανική ύλη (δηλαδή όλα τα οργανικά υπολείμματα φυτικής και ζωικής προέλευσης στο έδαφος που αυξάνουν την παραγωγικότητα ενός εδάφους). Παρ' όλ' αυτά το κλίμα της περιοχής εξισσορροπεί τα αρνητικά στοιχεία του εδάφους όπου μαζί με τους ήπιους χειμώνες, την μεγάλη ηλιοφάνεια και τα μελτέμια και την θαλασινή αύρα που περιβάλλει την περιοχή συμβάλλει ώστε να έχουμε την βέλτιστη δυνατή παραγωγή.

#### **Έδαφος Χαλκιδικής( περιοχή Επανόμης –κτήμα Γεροβασιλείου):**

Το έδαφος χαρακτηρίζεται ως αμμώδες με κάποια πηλώδη υποστρώματα και κάποια ασβεστολιθικά πετρώματα. Παρουσιάζονται έντονες κλίσεις και άμεση επίδραση της θάλασσας, καθώς όλη η γύρω περιοχή σχηματίστηκε απο προσχωρήσεις θαλάσσιων περιοχών, με αποτέλεσμα το έδαφος να είναι πλούσιο σε θαλασσινά απολιθώματα.

#### **Έδαφος Πάρου ( κτήμα Μωραίτη):**

Τα αμπέλια στο νησί του Αιγαίου βρίσκονται διάσπαρτα σε όλη την έκταση του, γι' αυτό και τα εδάφη του χαρακτηρίζονται ανάλογα με το που βρίσκονται. Πηλώδη-αργιλώδη σε πιο ορεινά σημεία του νησιού, αλλά και πιο αμμώδη σε αμπέλια που βρίσκονται πιο κοντά στη θάλασσα. Το ιδιαίτερο της περιοχής αυτής είναι ότι λόγω της μεγάλης κλίσης του εδάφους αλλά και δυνατά μελτέμια έχουμε διαμόρφωση των αμπελοκαλλιεργειών να γίνεται σε πεζούλες. Οι πεζούλες ή αλλιώς αναβαθμίδες είναι μια κατασκευή τοίχου από πέτρες χωρίς άλλο συνδετικό υλικό, και χρησιμεύουν στη συγκράτηση του εδάφους των βουνών, προστατεύουν από τον αέρα σε συνδυασμό με το χαμηλό κλάδεμα των αμπελιών, ενώ ταυτόχρονα προστατεύουν από την ξηρασία τους καλοκαιρινούς κυρίως μήνες συγκρατώντας το βρόχινο νερό.

#### **Έδαφος Πελοποννήσου ( Αχαΐα – Κτήμα Αντωνόπουλου):**

Τα αμπέλια βρίσκονται σε υψόμετρο 750-900 μέτρα, έχοντας έτσι ένα μικροκλίμα από πολύ δροσερές νύχτες και ήπια ζεστές μέρες. Τα εδάφη είναι κατά βάση αργιλώδη και ανάλογα το υψόμετρο σθναντάμαι αργιλοαμμώδη στα χαμηλότερα ύψη (750μ.) και αργιλοπυλώδη στα υψηλότερα (900μ.). Οι μεγάλες κλίσεις οδηγούν και σε καλή αποστράγγιση του εδάφους το οποίο σε σθνδιασμό με την βορειοανατολική έκθεση στον ήλιο δίνουν μια ιδανική ωρίμανση στο αμπέλι.

### **1.4 Ιστορία Μαλαγουζίας**

Η πρώτη αναφορά για την ύπαρξη της Μαλαγουζίας γίνεται στο νομό Αιτωλοκαρνανίας, σύμφωνα με το βιβλίο Οινολογικά του Όθωνα Ρουσόπουλου το 1888. Με την οικοπεδοποίηση της πεδιάδας της Ναυπάκτου και με την ανάπτυξη των αρδευόμενων καλλιεργειών στο Μεσολόγγι, η αμπελοκαλλιέργεια της ποικιλίας μειώθηκε δραματικά με αποτέλεσμα σχεδόν την ολοκληρωτική της εξαφάνιση.

Η αναβίωση της ξεκινάει το 1970 όπου και κάποιες από τις τελευταίες κληματίδες της ποικιλίας φτάνουν στα χέρια του οινολόγου Βασίλη Γεροβασιλείου από το Ινστιτούτο Οίνου. Ο Γεροβασιλείου την περίοδο αυτή εργάζεται στο κτήμα Πόρτο Καρράς, όπου ξεκινούν και τον πρώτο εμβολιασμό αμπελιών με την ποικιλία της Μαλαγουζίας. Το 1980 έχουμε και τις πρώτες εμφιαλώσεις.

Κάπου στη δεκαετία του 80' δίνονται κάποιες κληματίδες στην Ρωξάνη Μάτσα στα πλαίσια αναμπέλωσης του αμπελώνα του κτήματός της. Το πρώτο κρασί βγαίνει στο εμπόριο το 1997, δίνοντας έτσι την αίσθηση μιας ποικιλίας δύσκολης στην καλλιέργειά της και με μεγάλο κόστος. Είναι μια ποικιλία με πολύπλοκο άρωμα και άριστη προσαρμογή στο ξηροθερμικό κλίμα της Κάντζας. Η Ρωξάνη συνέβαλε στη διάδοσή της δίνοντας εμβολιο-κληματίδες για την αναπαραγωγή της σε όποιον της ζητούσε, καθώς διαπίστωσε ότι είχε μεγάλη σημασία για την αμπελουργία της Νότιας Ελλάδας.

## **1.5 Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά Μαλαγουζίας**

Το φύλλο της ποικιλίας είναι μέσου-μεγάλου μεγέθους, σφηνοειδές, αποτελείται από πέντε λοβούς, από τους οποίους οι ανώτεροι είναι βαθείς ροπαλοειδούς σχήματος και οι κατώτεροι μέσου βάθους. Στην κάτω επιφάνεια του φύλλου παρατηρείται λίγο χνούδι, ενώ η άνω επιφάνεια είναι λεία. Το έλασμα του φυτού χαρακτηρίζεται κυματώδης, είναι βαθυπράσινο και λείο στην άνω επιφάνεια ενώ ανοιχτοπράσινο και ελαφρώς χνουδωτό στην κάτω. Τέλος η ράγα είναι μεσαίου ως μεγάλου μεγέθους. Το σχήμα της είναι σφαιρικό ή ωσειδές, ενώ το χρώμα ποικίλει από πρασινοκίτρινο έως πρασινοκίτρινο χρυσίζον. Ο φλοιός της έχει μέσο πάχος με διάφανη επιδερμίδα και σάρκα μέτριας έως μαλακής ανεκτικότητας. Η πυκνότητα των ραγών πάνω στο τσαμπί είναι υψηλή. Σαν ποικιλία θεωρείται παραγωγική και ζυηρή, αυτό βέβαια καθορίζεται και από το κλάδεμα της. Γενικά ένας καρποφόρος βλαστός μπορεί να δώσει μέχρι και δύο τσαμπιά. Διαμορφώνεται είτε σε κύπελλο είτε σε γραμμικό αμφίπλευρο κορδόνι και συνήθως κλαδεύεται στα 2-3 μάτια, βραχύ κλάδεμα. Η απόδοση της εξαρτάται, πρώτον από το σχήμα του αμπελιού, δηλαδή μπορεί να κυμαίνεται από 500 κιλά ανά στρέμμα όταν είναι σε κυπελλοειδής μορφή τα πρέμνα έως 1500 κιλά ανά στρέμμα όταν είναι σε γραμμοειδές. Δεύτερον, από το υποκείμενο στο οποίο έχει εμβολιαστεί η ποικιλία και τρίτον από το κλίμα και τις καλλιεργητικές μεθόδους. Η βλάστηση του φυτού ξεκινά μέσα Μάρτη και ωριμάζει από τέλη Αυγούστου έως αρχές Σεπτέμβρη.



Εικόνα2: Αμπέλι Μαλαγουζιάς

⋮⋮⋮⋮⋮

## **1.6 Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά**

### **Ταυτότητα Μαλαγουζιάς**

- \* Χρώμα: απαλό κίτρινο προς πράσινο
- \* Άρωμα: έντονες νύξεις ροδάκινου, πράσινης πιπεριάς , λουλουδιών , λεμονιού, νότες μέντας , βασιλικού.
- \* Στόμα: δίνει γεμάτη, στρογγυλή γεύση
- \* Αλκοόλη: μέτρια προς υψηλά επίπεδα αλκοόλης ( 12,5-13,5%vol)
- \* Οξύτητα: μέτρια

Υπάρχει δυνατότητα ωρίμανσης σε βαρέλι 3-4 χρόνια δίνοντας κρασιά πιο πυκνά και αρωματικά.

### **Συνδυασμός με Φαγητό**



Η Μαλαγουζιά εκτός από έντονο αρωματικό χαρακτήρα έχει και πολύ ιδιαίτερη λιπαρή υφή από φυσικού της, που συχνά ενισχύεται από παραμονή με οινολάσπες ή ήπιο batonnage. Αυτό στα μάτια μου την καθιστά ιδανικό ταίρι για τρυφερά μαλάκια όπως η σουπιά και το καλαμάρι, ψητά ή σωτέ (για να διατηρήσουν τη βουτυράτη υφή τους και να δέσουν με αυτή της Μαλαγουζιάς). Αν μάλιστα στο πιάτο προσθέσεις και κάποια αρωματική σάλτσα με βάση τα εσπεριδοειδή και τα βότανα έχεις πάει τον συνδυασμό σε άλλο επίπεδο. Από την άλλη μεριά, μπορεί να συνοδεύσει ευχάριστα πράσινες σαλάτες και ζυμαρικά με ελαφριές σάλτσες λαχανικών ή πέστο. Οι πιο "βόρειες" και βοτανικές εκδοχές της ταιριάζουν με ελαφριά πιάτα με κοτόπουλο ή ψάρι, πίτες με λευκά τυριά και χορταρικά, καθώς και πιάτα που περιέχουν φρούτα (ψαρονέφρι με βερούκοκα).

Μια γλυκιά Μαλαγουζιά είναι εξαιρετος συνοδός για τάρτες φρούτων, πορτοκαλόπιτες, και πάβλοβες με σως από τροπικά φρούτα. Αντιθέτως οι πορτοκαλί εκδοχές μπορούν να συνδυαστούν με μια ζεστή σαλάτα finocchio - πορτοκάλι, με ινδικό κάρυ, κοτόπουλο ταζίν, tapenade και αγγινάρεςαλά πολίτα!

## **2. Σύσταση του οίνου**

Μελέτες έχουν δείξει ότι η σύσταση του γλεύκους και του οίνου είναι ίδια ποιοτικά, αλλά όχι και ποσοτικά. Ποσοτικά παρατηρούνται μεταβολές οι οποίες είναι αποτέλεσμα της αλκοολικής ζύμωσης και των επεξεργασιών που υφίσταται το γλεύκος κατά την διάρκεια της οινοποίησης. Οι τρεις βασικές ομάδες που ανήκουν τα επιμέρους συστατικά είναι το νερό, τα ανόργανα και οργανικά συστατικά. Το νερό αποτελεί το 60-80% του γλεύκους, ποσοστό που μεταβάλλεται ανάλογα την ωριμότητα, τις κλιματολογικές συνθήκες, την περιοχή και την ποικιλία. Στα ανόργανα συστατικά ανήκουν τα ανόργανα ιόντα που βρίσκονται κυρίως στα στερεά μέρη του σταφυλιού. Χαρακτηριστικό είναι τόσο στο γλεύκος όσο και στον οίνο δεν απαντώνται ανόργανα οξέα καθώς η ύπαρξη βάσεων σε υψηλή συγκέντρωση οδηγεί στην εξουδετέρωσή τους. Τα οργανικά συστατικά είναι εκείνες οι χημικές ενώσεις που καθορίζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου οίνου. Πρόκειται, δηλαδή για τις αρωματικές και φαινολικές ενώσεις, τα σάκχαρα και τους πολυσακχαρίτες, τα οργανικά οξέα καθώς και τα ένζυμα και τις βιταμίνες.



<b>Νερό (80-85%)</b>		
<b>Οργανικά συστατικά</b>	Οργανικά οξέα	Σταθερά και πτητικά οξέα σταφυλιού, ζυμώσεων και προσβολών
	Αλκοόλες	Μονοαλκοόλες και πολυαλκοόλες
	Οσμηρές πτητικές ενώσεις	Αλκοόλες, εστέρες, καρβονυλικές ενώσεις και τερπενικές ενώσεις
	Σάκχαρα	Ανάγοντα και μη ανάγοντα
	Πολυσακχαρίτες	Πηκτίνες, κόμμεα και δεξτράνη
	Φαινολικές ενώσεις	Φαινολικά οξέα, φλαβόνες, ανθοκυανίνες και ταννίνες
	Αζωτούχες ενώσεις	Πρωτεΐνες, αμινοξέα, πολυπεπίδια
	Βιταμίνες	
	Ένζυμα	
	<b>Ανόργανα συστατικά</b>	Ανιόντα
Κατιόντα		

Εικόνα 3: Χημική Σύσταση του Οίνου

## 2.1 Λευκή Οινοποίηση

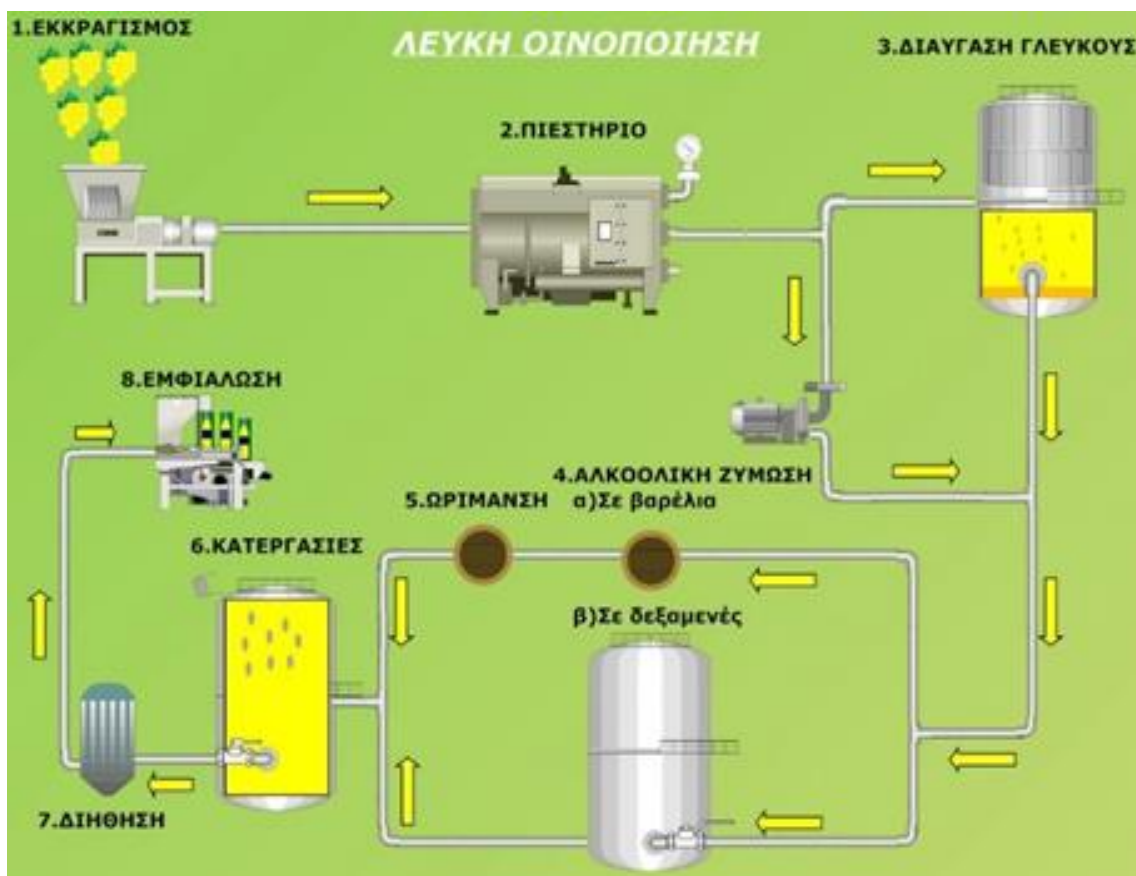
Λευκό οίνο, εννοούμε τον οίνο που προέρχεται από λευκές ή γκρίζες ποικιλίες (vins gris), των οποίων όμως οι ερυθρές χρωστικές δεν περνάνε στο γλεύκος όπου πρόκειται να ζυμωθεί και κατά συνέπεια ούτε και στον παραγόμενο οίνο. Κύρια χαρακτηριστικά της λευκής οινοποίησης είναι πρώτον η απουσία εκχύλισης κατά την αλκοολική ζύμωση, δεύτερον ο διαχωρισμός του γλεύκους από τα στέμφυλα πριν από τη ζύμωση. Μόνο στην περίπτωση της προζυμωτικής εκχύλισης πραγματοποιείτε μικρή εκχύλιση για την παραλαβή αρωματικών συστατικών από τη φλούδα. Ιδιαίτερη προσοχή στην παραγωγή λευκών κρασιών δίνουμε στην προστασία από οξειδώσεις, που γίνεται με την προσθήκη θειώδη ανυδρίτη. Η θείωση εδώ πρέπει να είναι πιο αυξημένη σε σχέση με την ερυθρή οινοποίηση καθώς στο λευκό γλεύκος απουσιάζουν οι ταννίνες που θα το προστάτευαν μέχρι ένα βαθμό από την οξείδωση.

Στάδια λευκής οινοποίησης:

- Συγκομιδή και μεταφορά των σταφυλιών: Η μεταφορά των σταφυλιών έχει μεγάλη σημασία στην λευκή οινοποίηση, πρέπει να γίνεται προσεκτικά βάσει κανόνων και σε δοχεία ή επιφάνειες, που επιτρέπουν τον αερισμό έτσι ώστε τα σταφύλια να συνεχίσουν να αναπνέουν σαν να ήταν πάνω στο κλήμα αποφεύγοντας έτσι τις οξειδώσεις και τυχόν προσβολές από μικροοργανισμούς.
- Παραλαβή στο οινοποιείο: Στο στάδιο αυτό γίνεται μηχανική επεξεργασία που περιλαμβάνει τον εκραγισμό, την έκθλιψη και πίεση των στεμφύλων. Εκραγισμός είναι ο διαχωρισμός του βοστρύχου από την ράγα του σταφυλιού. Τα σταφύλια μετά τον απορραγισμό οδηγούνται στο πιεστήριο με τη βοήθεια ειδικής αντλίας. Στο πιεστήριο γίνεται η έκθλιψη των ραγών, η οποία έχει σκοπό την παραλαβή του χυμού, δηλαδή του γλεύκους. Υπάρχουν τα λεγόμενα «ασυνεχή» και τα «πνευματικά» πιεστήρια. Το σημείο αυτό θέλει ιδιαίτερη προσοχή διότι πρέπει να αποφεύγεται το σπάσιμο των γιγάρτων που θα προσέθετε στυφή γεύση στον παραγόμενο οίνο. Η καλύτερη ποιότητα γλεύκους είναι το γλεύκος των πρώτων πιέσεων, ο λεγόμενος πρόρρογος, διότι περιέχει λιγότερες τανίνες, οι οποίες σε μεγάλη συγκέντρωση δίνουν έντονο χρώμα και στυφή αίσθηση, ανεπιθύμητη σε ένα λευκό κρασί. Τέλος με την πίεση της σταφυλομάζας εξάγουμε και το υπόλοιπο μέρος του χυμού.
- Πριν τη ζύμωση: Βασική διεργασία απαραίτητη στην λευκή οινοποίηση είναι η προστασία του γλεύκους από οξειδώσεις με την προσθήκη θειώδους ανυδρίτη. Πολλές φορές είναι απαραίτητη και η διόρθωση της οξύτητας, πάντα μέσα στα όρια της νομοθεσίας. Ακολουθεί η διαύγαση του γλεύκους, ο μούστος οδηγείται μέσω ενός σωλήνα στις δεξαμενές. Εκεί ψύχουμε τον μούστο για να επιβραδύνουμε την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης. Τα σωματίδια που αιωρούνται μέσα στον μούστο (λάσπες) κατακάθονται και στη συνέχεια απομακρύνονται.

Μια επιπλέον διεργασία που μπορεί να πραγματοποιηθεί πριν την αλκοολική είναι η προζύμωτική εκχύλιση. Η βασική ιδέα αυτής της τεχνικής είναι η βελτίωση ορισμένων σημαντικών ποιοτικών χαρακτηριστικών των οίνων, όπως το χρώμα και το άρωμα, μέσω της εκχύλισης των στεμφύλων σε χαμηλές θερμοκρασίες. Μια ισορροπημένη εκχύλιση μπορεί να επιτευχθεί μόνο με ελεγχόμενο χρόνο εκχύλισης και ελεγχόμενη θερμοκρασία. Η θερμοκρασία είναι προτιμότερο να διατηρείται κάτω από 15°C και ανάμεσα σε 10-15°C και ο χρόνος μπορεί να είναι από μερικές ώρες μέχρι και 24 ώρες. Βέβαια στα λευκά σταφύλια τα πράγματα είναι πιο πολύπλοκα καθώς έχουν λιγότερα φαινολικά συστατικά, παρόλ'αυτά η εκχύλιση αυτών συνεισφέρει στο 'σώμα' του παραγόμενου οίνου όπως επίσης σε μια ενδεχόμενη παλαίωση του. Ένα από τα αρνητικά της διεργασίας αυτής είναι η μείωση της ολικής οξύτητας και το αυξημένο pH στο γλεύκος.

- Αλκοολική Ζύμωση: Στο στάδιο αυτό ουσιαστικά επιτυγχάνουμε την μετατροπή των σακχάρων σε αλκοόλη. Το γλεύκος μετά την απολάσπωση μεταγγίζεται σε καθαρές δεξαμενές, εμβολιάζεται με την κατάλληλη ζύμη και παραμένει εκεί μέχρι το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δώσουμε στη θερμοκρασία της ζύμωσης, η οποία καθορίζει και το ποσό των αρωματικών εστέρων , πρέπει να κυμαίνεται από 10-18 βαθμούς κελσίου ανάλογα και με το είδος της ζύμης που έχουμε επιλέξει να εμβολιάσουμε.
- Χημικές Διεργασίες : Μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης ο φρέσκος οίνος υφίσταται διεργασίες με σκοπό της σταθεροποίηση του πριν την εμφιάλωση. Μία από αυτές είναι και η διήθηση όπως και στην απολάσπωση εδώ έχουμε απομάκρυνση του έτοιμου κρασιού από τις λάσπες, ένα πολύ σημαντικό στάδιο στην επεξεργασία του οίνου με σκοπό την αποφυγή ανάπτυξης δυσάρεστων οσμών υδρόθειου κάνοντας το κρασί ακατάλληλο για κατανάλωση. Ακολουθούν τρυγική σταθεροποίηση , θείωση του οίνου για προστασία.
- Εμφιάλωση: Τελευταίο στάδιο στην παραγωγή είναι η εμφιάλωση του κρασιού, ο χρόνος της οποίας εξαρτάται από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά κάθε κρασιού. Συνήθως γίνεται και έως την άνοιξη του επόμενου έτους.



Εικόνα 3: Στάδια λευκής οινοποίησης.

### **3. Φαινολικά Συστατικά Οίνου**

Οι φαινολικές ουσίες αποτελούν σημαντική παράμετρο των οίνων καθώς από αυτές εξαρτάται το χρώμα και οι αποχρώσεις, κυρίως, των ερυθρών και ροζέ οίνων αλλά και οι ιδιαίτεροι γευστικοί χαρακτήρες τους. Είναι υπεύθυνες για τις θετικές ή αρνητικές μεταβολές της ποιότητας των οίνων κατά τη συντήρηση και παλαίωση (π.χ. εξευγενισμός γευστικών χαρακτήρων των ερυθρών ή, αντίθετα, “καφέτιασμα” των λευκών. Κοινό χαρακτηριστικό αυτών των ουσιών, απ’όπου πήραν και το όνομα τους, είναι η παρουσία ενός ή περισσότερων φαινολικών δακτυλίων στο μόριο τους. Χωρίζονται σε δυο μεγάλες κατηγορίες: τις πολυμοριακές (φλαβονοειδείς)φαινόλες με κύριους εκπροσώπους τις τανίνες (προκυανιδίνες, συμπυκνωμένες και πολυμερισμένες ταννίνες) και τις ανθοκυάνες (ελεύθερες ή ενωμένες με ταννίνες) και τις μονομοριακές (μη φλαβονοειδείς) φαινόλες (π.χ. γαλλικό, καφεϊκό οξύ). Βρίσκονται συγκεντρωμένες στα στερεά μέρη της σταφυλής (φλοιοί, γίγαρτα και βόστρυχοι) και περνάνε στο γλεύκος και κατόπιν στον οίνο με εκχύλιση ή διάχυση κατά τις διάφορες τεχνικές οινοποίησης. Στην ερυθρή οινοποίηση η εκχύλιση γίνεται κατά το χρονικό διάστημα που τα στέμφυλα παραμένουν σε επαφή με το γλεύκος ενώ στη λευκή οινοποίηση, όπου ο διαχωρισμός γίνεται αμέσως μετά την σύνθλιψη, μόνο ένα μικρό ποσοστό φαινολικών εκχυλίζεται στο γλεύκος. Είναι οι αποκλειστικοί υπεύθυνοι για όλες τις διαφορές που υπάρχουν ανάμεσα στους λευκούς και τους ερυθρούς οίνους.

#### **3.1 Φλαβονόλες :**

Στις φλαβονοειδείς φαινόλες περιλαμβάνονται οι φλαβονόλες που έχουν ανοιχτό κίτρινο χρώμα και αφοθούν στα κουκούτσια, οι φλαβονόλες-3 (κατεχίνες), που υπάρχουν κυρίως στη φλούδα και στα κουκούτσια και οι φλαβονοδιόλες 3,4 (λευκοανθοκυάνες ή προκυανιδίνες), που υπάρχουν στη φλούδα και κυρίως στα κουκούτσια. Επειδή οι φλαβονοειδείς φαινόλες βρίσκονται στο εσωτερικό του φλοιού και στα κουκούτσια, ενώ σε κανονικές συνθήκες δεν υπάρχουν στους λευκούς οίνους.

#### **3.2 Ανθοκυάνες:**

Οι ανθοκυάνες είναι ερυθρές χρωστικές του σταφυλιού, οι οποίες εκτός από ελάχιστες περιπτώσεις, βρίσκονται μόνο στο φλοιό των ρογών. Από χημική άποψη είναι παράγωγα του φαινυλο-2βενζοπυριλίου, το μόριο του οποίου παρουσιάζει κάποια ιδιαιτερότητα. Η ιδιαιτερότητά του είναι ότι περιέχει σε μορφή θετικού ιόντος έναν οξυγονούχο


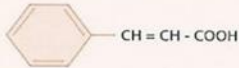


ετεροκυκλικό δακτύλιο, το πυρόλιο, που επιτρέπει το σχηματισμό αλάτων με τα ανιόντα. Από το μόριο του φαίνυλο -2 βενζοπυριλίου προκύπτουν οι διάφορες ανθοκυανίδες του σταφυλιού. Η μαλβιδίνη είναι η σημαντικότερη από άποψη ποσότητας χρωστικής των ερυθρών σταφυλιών και γι' αυτό ονομάζεται και οινιδίνη. Αντίθετα, η πελαργονιδίνη δεν περιέχεται καθόλου σε αυτά. Οι χρωστικές που συναντιούνται στη φύση δεν είναι ανθοκυανιδίνες, αλλά ενώσεις αυτών με ένα ή δυο μόρια κάποιου σακχάρου και ονομάζονται ανθοκυανίνες (ή ανθοκυάνες). Στις ανθοκυάνες των σταφυλιών το σάκχαρο που συμμετέχει στο σχηματισμό του μορίου τους είναι η γλυκόζη. Έτσι, ανάλογα με τη θέση στην οποία προσκολλάται η γλυκόζη στο μόριο της ανθοκυανιδίνης σχηματίζονται οι μονογλυκοζίτες και οι διγλυκοζίτες. (Soufleros E., 1997).

### 3.3 Ταννίνες:

Οι ταννίνες είναι προϊόντα πολύ μερισμού των απλών φαινολών. Το μοριακό τους βάρος κυμαίνεται μεταξύ 500 και 3000. Αν τα μόρια των ταννινών είναι πολύ μικρά δεν υπάρχουν αρκετές ενεργές θέσεις και έτσι οι ενώσεις που σχηματίζονται με τις πρωτεΐνες είναι ασταθείς. Αλλά και στην περίπτωση που τα μόρια των ταννινών είναι υπερβολικά μεγάλα, τότε αυτά δεν μπορούν να πλησιάσουν αρκετά τις πρωτεΐνες και παρεμποδίζεται έτσι ο σχηματισμός ενώσεων. Επίσης η ιδιαίτερη στυφή γεύση ορισμένων οίνων οφείλεται στην παρουσία ορισμένων ταννινών (μοριακό βάρος: 500 - 3000). Οι επιθετικές αυτές ταννίνες έχουν την ιδιότητα να ενώνονται με τις πρωτεΐνες και να εξαφανίζονται, ενώ οι μη επιθετικές δεν ενώνονται με τις πρωτεΐνες και παραμένουν στον οίνο. Ανάλογα με τη δομή των μορίων τους, οι ταννίνες διακρίνονται στις υδρολυμένες και στις συμπυκνωμένες. Οι υδρολυμένες ταννίνες αποτελούνται από ένα γλυκοσίδιο πάνω στο οποίο προσκολλούνται διάφορες φαινολικές ενώσεις, όπως το γαλλικό και το ελλαγικό οξύ. Επιπλέον, οι υδρολυμένες ταννίνες δεν περιέχονται στα σταφύλια αλλά είναι δυνατόν να βρεθούν σε οίνους, γιατί αποτελούν τις κύριες εμπορικές ταννίνες, που χρησιμοποιούνται στις διάφορες κατεργασίες αυτών. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες είναι οι φυσικές ταννίνες των σταφυλιών και των οίνων και προέρχονται από τον πολυμερισμό της φλαβονόλης - 3 (κατεχίνη) και κυρίως της φλαβονοδιόλης - 3,4 (λευκοκυανιδίνη). Οι τελευταίες δεν είναι ταννίνες, αλλά μόρια που θα συμπυκνωθούν για να δώσουν ταννίνες. Οι συνηθισμένες φυσικές ταννίνες του σταφυλιού απαρτίζονται από τις φλαβονάλες, οι οποίες είναι ολιγομερή, που περιλαμβάνουν 2 μέχρι 10 ή 12 στοιχειώδη μόρια. ( Παπαγεωργίου E., 2005) Η διαφορά που υπάρχει ανάμεσα στις κατεχίνες και στις λευκοκυανιδίνες οφείλεται στο γεγονός ότι οι πρώτες μετά από θέρμανση στους 1000 °C και σε όξινο περιβάλλον, μετατρέπονται κατά 100% σε φλοιοβένιο (προϊόν με καστανόμαυρο χρώμα), και οι δεύτερες μετατρέπονται κατά 80% σε φλοιοβένιο και κατά 20% σε κυανιδίνη, η οποία είναι μια ανθοκυάνη ερυθρού χρώματος. Στην τελευταία αντίδραση στηρίζεται ο ποσοτικός προσδιορισμός των ταννινών. Οι ταννίνες των σταφυλιών βρίσκονται στα στερεά μέρη

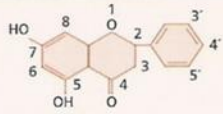
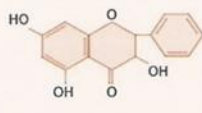
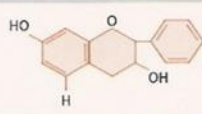
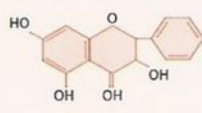


τους και παραλαμβάνονται είτε με εκχύλιση είτε με συμπύεση. Από την ποσότητα των ταννινών που περιέχεται στο σταφύλι ένα ελάχιστο ποσοστό μεταφέρεται στον οίνο. Το ποσοστό αυτό από μετά από τις μειώσεις που παθαίνει από τα διάφορα φαινόμενα στους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται μεταξύ 1,5 και 4 g / l, ενώ στους λευκούς οίνους μεταξύ 40 και 200mg/L•. Οι ταννίνες χαρακτηρίζονται για την αντιοξειδωτική τους δράση με την οποία προστατεύονται οι ερυθροί οίνοι από τις επιδράσεις του οξυγόνου. Επίσης διακρίνονται για τις ενώσεις που σχηματίζουν με το Εε, λόγω των 2 ΟΗ που βρίσκονται στη θέση ορθότου πλάγιου δακτυλίου (κατεχολική θέση). Οι ενώσεις αυτές συμμετέχουν στο σιδηρικό θόλωμα των οίνων και στο οξειδωτικό μαύρισμα διαφόρων φρουτοχυμών που είναι ανεπιθύμητο.(Soufleros E., 1997) Από την ποικιλία των σταφυλιών, τις κλιματολογικές συνθήκες και το είδος της οινοποίησης εξαρτάται και η ανομοιογένεια της υφής των ταννινών. Οι ερυθροί οίνοι δεν αντέχουν στην παλαίωση. Η ύπαρξη μικρών μόνο μορίων οφείλεται στο σύντομο χρόνο εκχύλισης, που γι' αυτόν τον τύπο οίνων αποβλέπει περισσότερο στην παραλαβή χρώματος δηλαδή ανθοκυανών.

Βασικός τύπος	Όνομασία φαινολίων	Θέση πρόσθετων ομάδων	
		-OH	-OCH <sub>3</sub>
<b>Βενζοϊκά οξέα</b>			
	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	
<b>Κινναμωνικά οξέα</b>			
	π-κουμαρικό	4	
	Φερουλικό οξύ	4	3
	Καφεϊκό οξύ	3, 4	
<b>Βενζαλδεΐδες</b>			
	Βανιλλίνη	4	3
	Συριγγική αλδεΐδη	4	3,5
<b>Κινναμωνικές αλδεΐδες</b>			
	Κωνιφερυλλαλδεΐδη	4	3
	Σινναμυλλαλδεΐδη	4	3,5

**Εικόνα 4:** Οι κυριότερες μη φλαβονοειδείς φαινόλες των οίνων.

(Πηγή: Α. Τσακίρης, Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί, 2017)

Βασικός τύπος	Όνομασία φαινολών	Θέση πρόσθετων ομάδων	
		-OH	-OCH <sub>3</sub>
<b>Φλαβανόνες</b>			
	Ναρριγετίνη	4'	
	Εσπερίτίνη	3'	4'
<b>Φλαβονόητες</b>			
	Καιμπερόλη	4'	
	Κερκτίνη	3', 4'	
	Κερκιτρίνη	3', 4'	
	Μυρικιτρίνη	3', 4', 5'	
<b>Φλαβονόητες - 3 (κατεχίνες)</b>			
	Κατεχίνη	3', 4'	
	Γαλλοκατεχίνη	3', 4', 5'	
<b>Φλαβονόητες - 3, 4 (λευκοανθοκυανές ή προκυανιδίνες)</b>			
	Προκυανιδίνη	3', 4'	
	Προδελφιδίνη	3', 4', 5'	
	Προμαθιδίνη	4'	3', 5'
	Προπετουνιδίνη	4', 5'	3'

**Εικόνα 5:** Οι κυριότερες φλαβανοειδείς φαινόλες των οίνων.

(Πηγή: Α. Τσακίρης, Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί, 2017)

### 3.4 Φαινόλες:

Τα φαινολικά είναι σημαντικά για τον οίνο, γιατί έχουν αντιβιοτικές και αντισηπτικές ιδιότητες (βενζοϊκό οξύ, σαλικυλικό οξύ) και χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση τροφίμων. Ενδέχεται τα οξέα αυτά να παίζουν κάποιο ρόλο στη μικροβιολογική κατάσταση του οίνου, έναντι κυρίως των βακτηρίων. (Soufleros E., 1997) Μερικά από τα φαινολικά, κυρίως εκείνα που έχουν 2φαινολικά -OH σε θέση ορθό-(καφεϊκό και γαλλικό), έχουν την ιδιότητα να οξειδώνονται εύκολα και να οδηγούν σε θέση κινόνης. Οι κινόνες έχουν φαιά απόχρωση και θεωρείται ότι παίζουν κάποιο ρόλο στην οξειδωτική μετατροπή του χρώματος των λευκών γλευκών και οίνων σε καστανό. Κατά τη διάρκεια της γήρανσης τα φαινολικά οξέα υδρολύονται και περνούν σε ελεύθερη μορφή.

Το άσπρο κρασί περιέχει μόνο 0.2-0.3 g/L πολυφαινολών

- γίνεται με συμπύεση του χυμού σταφυλιών μετά από απομάκρυνση στερεών, έπειτα ζυμώνεται
- μικρότερος χρόνος για την εξαγωγή των πολυφαινολών

- το πολυφαινολικό περιεχόμενο του λευκού οίνου είναι τελικά στο χέρι του οινοπαραγωγού
- έκθεση άσπρου οίνου σε στερεά δίνει υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο, 18 ώρες επώασης με τα συμπιεσμένα σταφύλια δίνουν μια αύξηση 41% στο πολυφαινολικό περιεχόμενο, αύξηση 60% παρουσία αιθανόλης .... τα αντιοξειδωτικά όπως εκείνα στο κόκκινο κρασί.

Οι φαινολικές ενώσεις είναι υπεύθυνες για το χρώμα και τη γεύση (στυφάδα) του οίνου, την αντιοξειδωτική και αντιβακτηριδιακή προστασία και βοηθούν στην παλαίωσή του.

#### **4. Μέθοδος Προσδιορισμός Φαινολικού Δυναμικού Οίνου**

Το περιεχόμενο ενός λευκού οίνου σε φαινολικές ουσίες μπορεί να προσδιοριστεί με την μέθοδο Folin Ciocalteu (F.C)- Φασματοφωτομετρία VIS(750nm).

##### Βασική Αρχή Προσδιορισμού :

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu (F.C.), η αρχή της οποίας στηρίζεται στην εν ψυχρό οξείδωση των πολυφαινολών των οίνων από το εξειδικευμένο αντιδραστήριο Folin-ciocalteu (F.C) (Sodium tungstate, sodium molybdate, phosphoric acid, concentrated HCL, lithium dulfate, bromine). Τα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι ότι 1) είναι μέθοδος αναφοράς, 2) εφαρμόζεται σε κάθε είδος οίνου και 3) είναι ακριβής. Το μόνο μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι το αντιδραστήριο είναι σχετικά ευοξειδωτο και πρέπει να ανανεώνεται συχνά.

##### Δείκτης Folin-Ciocalteu:

Είναι η επίσημη μέθοδος του ΟΙV η οποία μετρά το σύνολο των φαινολικών ουσιών. Πρόκειται για φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων του οίνου από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Χρησιμοποιείται για την 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 και του μολυβδαινίου. Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750nm και είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.



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

## **5. Η οξείδωση στους λευκούς οίνους**

Κατά την διάρκεια της οινοποίησης και της παλαίωσης οι οίνοι μπορεί να έρθουν σε επαφή με το οξυγόνο (σκοπίμως ή όχι). Στους ερυθρούς οίνους μια ελεγχόμενη έκθεση στο οξυγόνο κατά την διάρκεια της παλαίωσης ή της αποθήκευσης θεωρείται ότι επιδρά θετικά σε κάποια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όπως το χρώμα. Σε κάποιες περιοχές μάλιστα όπως π.χ. στην Jura της Γαλλίας, στην Rioja της Ισπανίας παράγονται σκοπίμως οξειδωμένα λευκά κρασιά. Οξειδωμένα κρασιά είναι αυτά που έχουν σκόπιμα εκτεθεί σε οξυγόνο κατά τη διάρκεια της διαδικασίας οινοποίησης. Το οξυγόνο έχει μεγάλο αντίκτυπο στο το κρασί καθώς ωριμάζει. Αυτό συμβαίνει πολύ έντονα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας οινοποίησης ή έπειτα από την εμφιάλωση οπότε και το κρασί μπορεί να οξειδωθεί, που είναι ένα σημαντικό ελάττωμα. Αν όμως ο οινοποιός ελέγξει την ποσότητα του οξυγόνου, αυτό μπορεί να αξιοποιηθεί για να προσδώσει έναν ειδικό χαρακτήρα που όλοι οι πότες κρασιού ανά τις εποχές έχουν απολαύσει. Όταν γίνεται σκόπιμα, το αποτέλεσμα είναι συχνά υπέροχο. Τι συμβαίνει όμως σε περίπτωση που συμβαίνει άθελα του οινοποιού; Στην περίπτωση αυτή, η έκθεση των λευκών οίνων στο οξυγόνο έχει αρνητικά αποτελέσματα. Τροποποίηση ή καταστροφή των αρωματικών συστατικών του οίνου και το σχηματισμό της ακεταλδεύδης (προϊόν χημικής οξείδωσης της αλκοόλης) που δίνει χαρακτηριστική οσμή των οξειδωμένων οίνων. Επίσης, η οξείδωση των φαινολικών ουσιών, που περιέχονται στους λευκούς οίνους, έχει ως επακόλουθο την δημιουργία πολυμερισμένων ενώσεων με χαρακτηριστικό καφέ χρωματισμό. Ως συνέπεια της παρουσίας των ενώσεων αυτών είναι υποβάθμιση της ποιότητας του τελικού προϊόντος καθώς όπως αναφέραμε παραπάνω επηρεάζονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των λευκών οίνων. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται οξειδωτική αμαύρωση του οίνου (φαινόμενο browning).

### **5.1 Μηχανισμοί οξειδωτικής αμαύρωσης:**

Οι φαινόλες, ειδικά οι ο-διφαινόλες είναι οι κυρίως υπεύθυνες για την οξειδωτική αμαύρωση του οίνου. Οι αντιδράσεις αμαύρωσης μπορεί να είναι ενζυματικής ή μη-ενζυματικής (χημικής) φύσεως. Το καφέτιασμα συνήθως ξεκινά από τα αρχικά στάδια οινοποίησης από ενζυματικές αντιδράσεις όπου υδροξυκιναμικοί εστέρες παίζουν σημαντικό ρόλο. Μετά την ζύμωση, μη- ενζυματική οξείδωση μπορεί να συμβεί

καταλήγοντας στην εμφάνιση ενός περισσότερου ή λιγότερου έντονου καφέ χρώματος (Καλλίθρακα, 2008).

### 5.1.1 Ενζυματικής φύσεως οξειδώσεις

Η οξείδωση του γλεύκους και του οίνου από το οξυγόνο του αέρα, επιταχύνεται πάρα πολύ από την παρουσία οξειδασών. Η οξυγονο-τρανσφερασες (οξειδάσεις) είναι ένζυμα, τα οποία καταλύουν την μεταφορά του οξυγόνου σε ένα υπόστρωμα. Στην περίπτωση του σταφυλιού το υπόστρωμα είναι οι διάφορες φαινόλες του γλεύκους.

Φαινόλες + Οξυγόνο = προϊόντα οξείδωσης

Οι κυριότερες οξειδάσες που απαντούν στα γλεύκη και στην σταφυλόμαζα είναι οι πολυφαινολοξειδάσες (ένζυμα), οι οποίες χαρακτηρίζονται από την παρουσία χαλκού ενωμένου στο πρωτεϊνικό μόριο, το αποένζυμο. Τα ένζυμα αυτά, που προκαλούν την οξείδωση των φαινολικών παραγώγων, συνηθίζεται να διαιρούνται σε δύο κατηγορίες:

1. Ένζυμα τύπου λακκάσης (π- διφαινολοξειδάση)
2. Ένζυμα τύπου τυροσινάσης (ο- διφαινολοξειδάση)

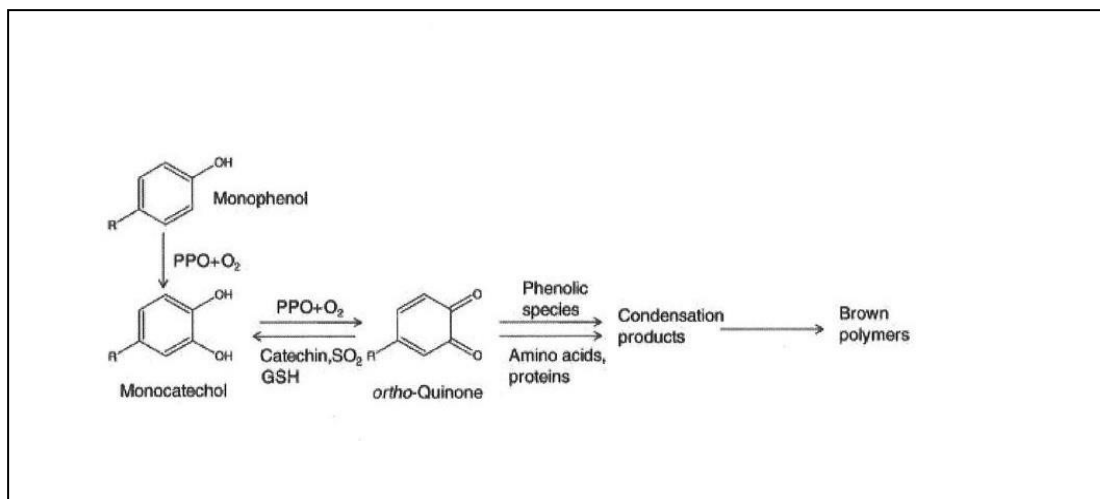
Η λακκάση παράγεται από τον μύκητα *Botrytis cinerea*, ο οποίος είναι ένας ιδιαίτερα διαδεδομένος στον κόσμο μικροοργανισμός (Galet, 1997). Η δράση του συνίσταται στην καταστροφή και νέκρωση των ιστών του φυτού που προσβάλλει. Η παρουσία νερού πάνω στον φυτικό ιστό και θερμοκρασία 18 οC αποτελούν ιδανικές συνθήκες ανάπτυξής του. Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που προκαλεί είναι η οξείδωση των φαινολικών ουσιών. Η αντίδραση αυτή συμβαίνει λόγω μιας εξωκυτταρικής οξειδοοδουκτάσης που παράγει ο μύκητας, της λακκάσης. Η ικανότητα του ενζύμου να οξειδώνει ένα ευρύ φάσμα φαινολικών ενώσεων το καθιστά άκρως επικίνδυνο για τις ουσίες αυτές (Salgues et al., 1986). Αντίθετα προς την τυροσινάση, η λακκάση είναι εξ' ολοκλήρου διαλυτή, με αποτέλεσμα να μην απομακρύνεται κατά την απολάσπωση του γλεύκους. Το μέγιστο της δράσης της παρατηρείται σε ζώνη pH 3-5 και είναι πολύ σταθερή σε όξινο περιβάλλον, καθιστώντας την έτσι ιδιαίτερα επικίνδυνη στο pH του γλεύκους και του οίνου. Επί της λακκάσης δεν επιδρούν ούτε ο μπετονίτης, ούτε οι ταννίνες, ενώ ο θειώδης ανυδρίτης, ακόμη και όταν προστίθεται σε υψηλές ποσότητες στο γλεύκος (>200 mg/l), επιφέρει περιορισμένη αναστολή της δράσης της. Ο μόνος παράγοντας που επενεργεί θετικά είναι η θερμοκρασία, όπου μια σύντομη θέρμανση του γλεύκους ή της σταφυλόμαζας για 5 μόνο λεπτά στους 80 οC έχει ως συνέπεια την καταστολή της δραστηριότητας της λακκάσης. Η λακκάση μετατρέπει τις κύριες φαινολικές ενώσεις των λευκών σταφυλιών (καφεϊκό και p-

κουμαρικό οξύ είτε σε ελεύθερες είτε σε εστεροποιημένες με τρυγικό οξύ μορφές) σε κινόνες (Salgues, et al., 1986). Εν συνεχεία, οι ενώσεις αυτές πολυμερίζονται και σχηματίζουν ενώσεις με χαρακτηριστικό καφέ χρώμα, οι οποίες είναι οι κύριες υπεύθυνες για το φαινόμενο της αμαύρωσης. Ο ρυθμός παραγωγής της λακκάσης από το μύκητα μειώνεται στα τελευταία στάδια της ανάπτυξης του. Όσον αφορά την τυροσινάση, πρόκειται για ένζυμο το οποίο βρίσκεται στις ράγες των σταφυλιών ενωμένο με τους χλωροπλάστες. Κατά την έκθλιψη των ραγών, ένα μέρος διαλύεται στο γλεύκος, ενώ το υπόλοιπο παραμένει ενωμένο στους χλωροπλάστες, όπου και απομακρύνεται κατά την απολάσπωση του γλεύκους. Η τυροσινάση καταστρέφεται κατά μεγάλο ποσοστό κατά την διάρκεια οξειδώσεων που καταλύει. Γι' αυτό, σε γλεύκη που δεν έχουν υποστεί θείωση, η επαφή τους με τον αέρα αυξάνει σε πρώτη φάση την δράση της τυροσινάσης, στην συνέχεια όμως μειώνεται. Τα ένζυμα αυτά της δεύτερης κατηγορίας έχουν δύο διαφορετικούς τρόπους δράσης. Αφ' ενός μετατρέπουν τις μονομοριακές φαινόλες σε διφαινόλες και αφ' ετέρου οξειδώνουν τις διαφαινόλες (δράση κατεχολάση). Η οξείδωση της τυροσίνης υπό την επίδραση της τυροσινάσης δίνει αρχικά διυδροξυ-φαινολ-αλανίνη που οξειδώνεται σε κινίνη η οποία δίνει με μεταγενέστερη οξείδωση πολυμερισμού, προϊόντα καφέ- κόκκινου χρώματος, τις μελανίνες. Στην σταφυλόμαζα, η ενζυματική αμαύρωση καταλύεται από τις φλαβανόλες και είναι άμεσα συσχετιζόμενη με την παρουσία υδροξυαμινομικών ουσιών όπως είναι το καφετρυγικό οξύ (caftaric acid) και το π-κουμαροτρυγικό οξύ (coutaric acid) τα οποία αποτελούν εστέρες του τρυγικού οξέος. Όταν τα σταφύλια συνθλίβονται, ελευθερώνονται οι πολυφαινολοξειδάσες (PPO) οι οποίες γρήγορα οξειδώνουν τις υδροξυκιναμωμικές ουσίες σε βενζοκινόνες (CTAQ), οι οποίες με την σειρά τους θα προβούν σε περαιτέρω αντιδράσεις σύμφωνα με τις οξειδοαναγωγικές τους ιδιότητες και την ηλεκτροσυγγένεια (Oliveira, et al, 2011). Όταν οξειδωτικά μέσα, οι κινόνες μπορούν να οξειδώσουν συστατικά με μικρότερο δυναμικό όπως είναι οι πολυφαινόλες, το ασκορβικό οξύ και το διοξείδιο του θείου. Ως ηλεκτρονιόφιλα μπορούν να αντιδράσουν με κατάλληλες υδροκινόνες, πιθανόν υποβαλλόμενες σε αντιδράσεις συμπύκνωσης και πολυμερισμού, καταλήγοντας σε καφετί χρωματικές ουσίες.

Στην οξείδωση της σταφυλόμαζας η πρόσληψη του αρχικού οξυγόνου από τα ορθο-διυδροξυβενζόλια μειώνεται σταδιακά με την προσθήκη ουσιών, όπως η κυστεΐνη (Cys) ή η γλουταθειόνη (GSH) (Cheynier and Van Hulst, 1988). Όταν ο εστέρας καφεϊκού και τρυγικού οξέος οξειδώνεται στην αντίστοιχη κινόνη από την τυροσινάση, η GSH θα αντιδράσει γρήγορα με την κινόνη, σχηματίζοντας έτσι ένα άχρωμο προϊόν το επονομαζόμενο grape reaction product (GPR; 2-S- glutathionyl caftaric acid), το οποίο δεν αποτελεί πλέον υπόστρωμα για περαιτέρω οξείδωση από την τυροσινάση (Oliveira, et al 2011). Άρα ο σχηματισμός αυτού του προϊόντος θεωρείται ότι περιορίζει το καφέτιασμα του μούστου

και εξαρτάται από τα σχετικά ποσοστά της GSH. Αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε παλαιωμένους οίνους έδειξαν ότι το GRP υδρολύεται σταδιακά σε παράγωγο του GSH-καφεϊκού οξέος (ο τρυγικός εστέρας υδρολύεται) (Chenyier, et al., 1986). Φαίνεται ότι οι υδροξυκινναμωμικές ουσίες αντιδρούν με φλαβαν-3όλες προς σχηματισμό έγχρωμων προϊόντων (Chenyier, et al., 1995, Chenyier, 1991). Το διοξείδιο του θείου αναχαιτίζει την δράση της τυροσινάσης (Dybernet and Ribereau- Gayon, 1973) και εμποδίζει την παραγωγή του GRP. Έτσι διατηρούνται σε υψηλά επίπεδα τα ελεύθερα υδροξυκινναμωμικά με μεγάλο δυναμικό αμαύρωσης. Επιπλέον, σε αντίθεση με την τυροσινάση, η λακκάση καθίσταται πρόθυμη για οξείδωση του GRP. Παρατηρήθηκε ότι το GRP οξειδώνεται από την λακκάση, στην αντίστοιχη ορθο-κινόνη με αντικαταστάτη της τελευταίας από γλουταθειόνη. Όταν δεν υπάρχει διαθέσιμη γλουταθειόνη, ο πολυμερισμός των κινονών οδηγεί στο καφέτιασμα (αμαύρωση) του χυμού (Salgues et al., 1986). Έχει αποδειχθεί ότι η τυροσινάση είναι πιο ευαίσθητη στο SO<sub>2</sub> σε αντίθεση με την λακκάση, η οποία έχει και μεγαλύτερο φάσμα υποστρώματος οξείδωσης (Κουράκου-Δραγώνα, 2000). Γενικά, δεν είναι επιζήμια η όλη διαδικασία ενζυματικής αμαύρωσης που συμβαίνει στο λευκό μούστο. Η υπεροξυγόνωση του γλεύκους μειώνει το δυναμικό αμαύρωσης του οίνου με δύο τρόπους: με την εξαφάνιση της τυροσινάσης και την εξάντληση των οξειδώσιμων πολυφαινόλων κατά την διάρκεια των αντιδράσεων οξείδωσης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, οίνοι με χαμηλές συγκεντρώσεις πολυφαινόλων και υψηλό περιεχόμενο GRP να είναι πιο σταθεροί σε σχέση με εκείνους που παράγονται από μη-οξειδωμένο χυμό, στους οποίους υψηλές περιεκτικότητες πολυφαινόλων διατηρούνται με μεγάλο δυναμικό αμαύρωσης (Li, et al., 2008).

Αρχικά η υδροξυλίωση των μονοφαινόλων σε ο-διφαινόλες και των διαφαινόλων σε ο-κινόνες συμβαίνει με γρήγορες συζευγμένες οξειδώσεις των κινονών με ένα άλλο μόριο φαινόλης καταλήγοντας στον σχηματισμό διμερών ή την αναγέννηση των αρχικών φαινόλων (Εικόνα 7). Κατόπιν οι παραχθείσες κινόνες μπορούν επίσης να πολυμεριστούν και να συμπυκνωθούν με άλλες ενώσεις (συμπεριλαμβανομένων φαινολικών ειδών και μη) και τελικά να σχηματίσουν καφέ χρωστικές ουσίες, κάτι το οποίο επιταχύνεται σε υψηλότερα pH (Robards, et al. 1999; Wang, 1990).



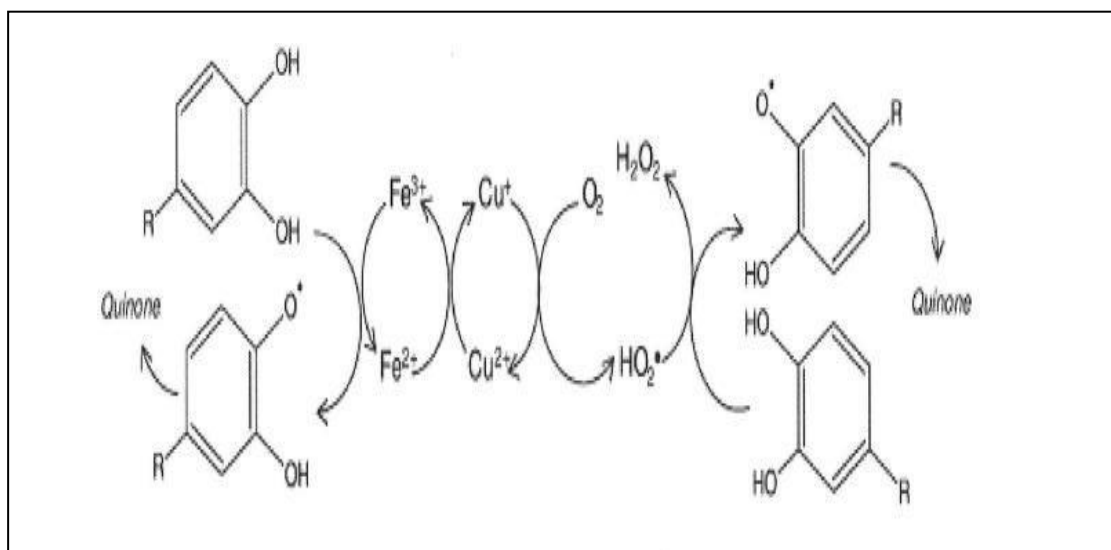
**Εικόνα 6:** Διαδικασία ενζυματικής αμαύρωσης στην σταφυλόμαζα

(Πηγή : eclass, ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΑΛΕΞΙΟΣ ΒΛΑΜΗΣ)

### 5.1..2 Μη ενζυμικής φύσεως οξειδώσεις :

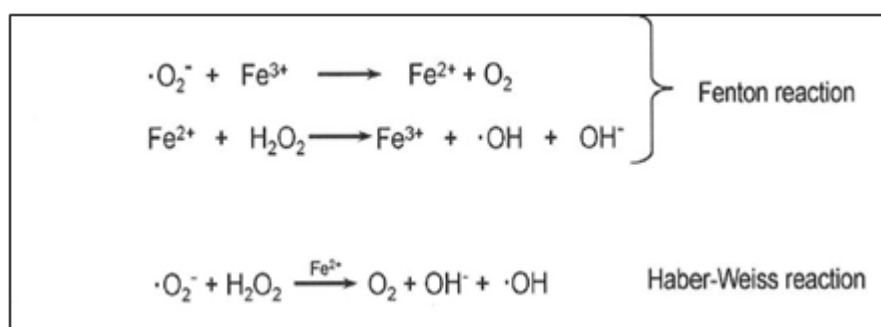
Κατά την διάρκεια της μη-ενζυματικής οξείδωσης, καλούμενη και ως χημική οξείδωση, η οξειδωτική διαδικασία ευνοείται από την οξείδωση φαινολών οι οποίες περιέχουν ένα ορθο-διθδροξυβενζολικό (δακτύλιος κατεχόλης) ή ένα 1,2,3, τριυδροξυβενζολικό τμήμα, όπως η (+) κατεχίνη/(-)–επικατεχίνη, γαλλοκατεχίνη, το γαλλικό οξύ και τους εστέρες του και το καφεϊκό οξύ, τα οποία είναι τα πιο ευαίσθητα στοιχεία του οίνου για οξείδωση. (Singleton, 1987, Waterhouse, 2001, Li, et al., 2007). Αυτά τα υποστρώματα οξειδώνονται σε αλληλουχία, σε ρίζες ημικινόνων και βενζοκινόνων ενώ το οξυγόνο μετατρέπεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου και η όλη διαδικασία προωθείται από τον οξειδοαναγωγικό κύκλο του  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  και  $Cu^{2+}/Cu^{+}$ . Άλλες ενώσεις με πιο απομονωμένες φαινολικές ομάδες, όπως η μαλβιδίνη, η κύρια χρωστική ανθοκυάνη στους ερυθρούς, το p–κουμαρικό οξύ οξειδώνονται σε υψηλότερα δυναμικά. Οι κινόνες που σχηματίζονται μέσω της οξείδωσης των πολυφαινολών, όντας αρχικά προϊόντα, είναι ασταθείς και μπορούν να υποβληθούν σε περαιτέρω αντιδράσεις. Μπορούν αυθόρμητα αν συνδυαστούν με πυρηνόφιλες ενώσεις εξαιτίας του υψηλού ηλεκτρονιόφιλου χαρακτήρα τους. Επιπλέον τα παραγόμενα διμερή ή πολυμερή σε συζευγμένες αντιδράσεις οξείδωσης έχουν χαμηλότερο οξειδοαναγωγικό δυναμικό σε σχέση με τις αρχικές τους φαινόλες και οξειδώνονται πολύ πιο εύκολα. Συνεπώς, θεωρείται ότι η οξείδωση αυτών των προϊόντων καταλήγει στην επιτάχυνση της διαδικασίας πολυμερισμού. Οι αντιδράσεις αυτές χαρακτηρίζονται από την αλλαγή της κατάστασης οξείδωσης των αντιδρώντων (Εικόνα). Κατά τις αντιδράσεις αυτές υπεισέρχεται μεταφορά ηλεκτρονίων από το ένα αντιδρών στο

άλλο. Η ενεργότητα του H<sup>+</sup> χρησιμοποιείται για να χαρακτηριστεί το υγρό όξινο ή βασικό και η ενεργότητα του e<sup>-</sup> χρησιμοποιείται για να χαρακτηριστεί το υγρό όξινο η αναγωγικό.



**Εικόνα 7:** Καταλυτική δράση ιόντων σιδηρού και χαλκού κατά την οξείδωση των κατεχολών προς σχηματισμό κινονών και υπεροξειδίου του υδρογόνου (Πηγή : eclass, ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΑΛΕΞΙΟΣ ΒΛΑΜΗΣ)

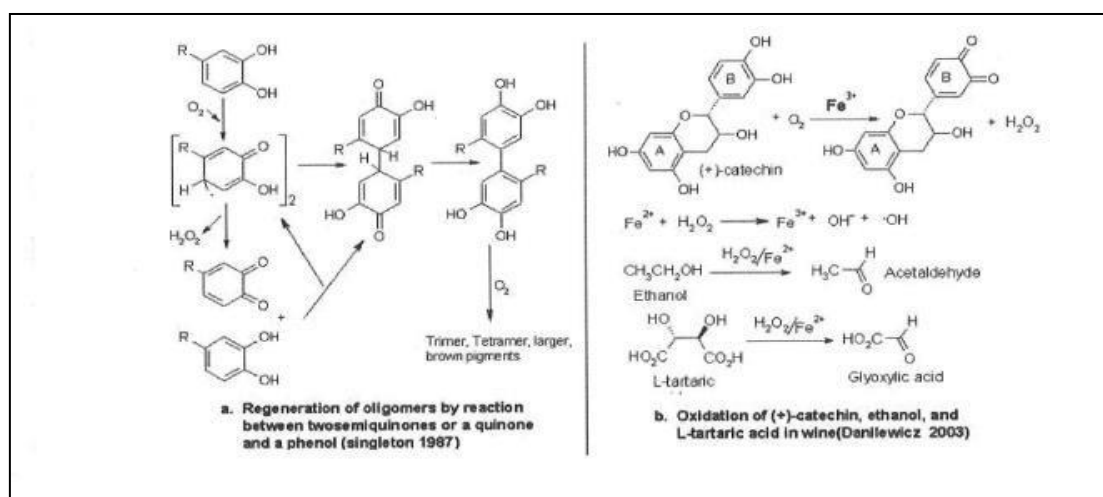
Το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε συνδυασμό με τον δισθενή σίδηρο σχηματίζουν ρίζες υδροξυλίου (HO), μια αντίδραση που είναι γνωστή ως αντίδραση Fenton (Εικόνα). Η ρίζα υδροξυλίου είναι ένα προϊόν μετατροπής του οξυγόνου το οποίο έχει την ικανότητα να οξειδώνει σχεδόν οποιοδήποτε οργανικό μόριο βρίσκεται στον οίνο (Waterhouse and Laurie, 2006). Επίσης, εξαιτίας της μεγάλης δραστηριότητας που το διακρίνει, αντιδρά με τα πρώτα μόρια που θα συναντήσει, ανάλογα με την συγκέντρωσή τους, όπως είναι η αιθανόλη, το τρυγικό οξύ, η γλυκερόλη, τα σάκχαρα και οργανικά οξέα. Η Fenton οξείδωση της αιθανόλης και του τρυγικού οξέος οδηγεί στον σχηματισμό ακεταλδεΐδης και γλυοξυλικού οξέος αντίστοιχα (Danilewicz, Singleton, 2000).



**Εικόνα 8:** Αντίδραση Fenton



Οι επιστήμονες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το οξυγόνο δεν αντιδρά άμεσα με τα φαινολικά παράγωγα χωρίς την παρουσία μεταβατικών μεταλλικών ιόντων. Εξάλλου έχει παρατηρηθεί στην διαδικασία της οξείδωσης η μεσολάβηση ιόντων σιδήρου, χαλκού και μαγνησίου. Για παράδειγμα, παρουσία μεταλλικών ιόντων το υπεροξειδίο υδρογόνου οξειδώνει την αιθανόλη και το (+)-τρυγικό οξύ αυξάνοντας τα επίπεδα της ακεταλδευδης και γλυοξυλικού οξέος αντίστοιχα (Waterhouse and Laurie, 2006; Es- Safi, et al, 2006). Άλλες καρβονυλικές ομάδες που παράγονται κατά την διάρκεια της ζύμωσης (πυροσταφυλικό οξύ, 2-3 βουτανοδιόνη κ.α.) μπορεί επίσης να δρουν ως συνδεδετικά μόρια. Τέλος, η παρουσία κάποιων τεχνολογικών προσθέσεων και συμπληρωμάτων όπως το διοξειδίο του θείου και ασκορβικό οξύ παίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο (ή την ανάπτυξη) του φαινομένου του καφετιάσματος (αμαύρωση).



**Εικόνα 9:** Αντιδράσεις χημικής οξείδωσης στο κρασί

## 5.2\_ Άλλοι Πιθανοί Μηχανισμοί Χημικής Αμαύρωσης:

### 5.2.1 Ακεταλδεΐδη

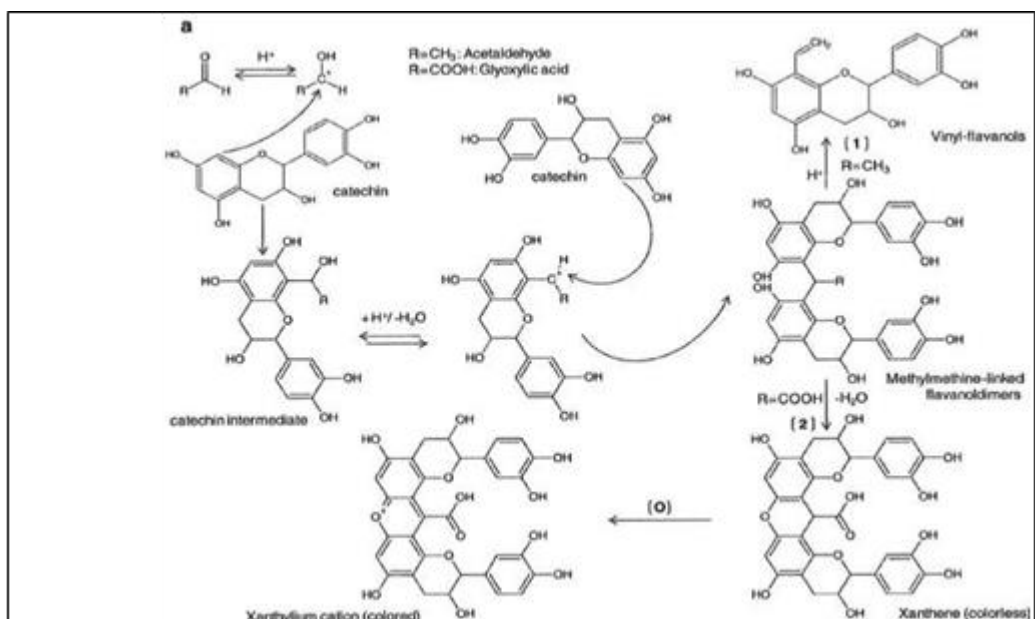
Η ακεταλδεΐδη χαρακτηρίζεται από μια δυσάρεστη γεύση η οποία προσδίδει πικράδα στον οίνο. Στην περίπτωση που τα επίπεδα συγκέντρωσης της ξεπερνούν τα 50mg/L στον επιτραπέζιο οίνο σημαίνει ότι αυτός έχει οξειδωθεί. Παράγεται κατά την διάρκεια της ζύμωσης μέσω μεταβολισμού των ζυμομυκήτων, μέσω της αιθανόλης, μια αντίδραση που καταλύεται από τα μεταβατικά μέταλλα (Fe,Cu). Ο τελευταίος τρόπος αποτελεί και τον πιο σημαντικό για τους οίνους, ενώ ο πρώτος πραγματοποιείται κυρίως σε ισπανικούς οίνους (sherry wines).

Η αντίδραση μεταξύ της ακεταλδεΐδης και των φαινολών πιστεύεται ότι ξεκινά με την πρωτονίωση της ακεταλδεΐδης σε καρβοκατιόν υπό όξινες συνθήκες ακολουθούμενη από την πυρηνόφιλη προσθήκη της φλαβανόλης στο καρβοκατιόν. Αφού χάσει ένα μόριο νερού, η αιθανόλη (ένωση προσθήκης) σχηματίζει ένα καινούργιο καρβοκατιόν το οποίο αντιδρά με μια δεύτερη πυρηνόφιλη μονάδα φλαβανόλης αποδίδοντας μια διμερή ένωση φλαβανόλης αιθυλίου. Η αντίδραση ξεκινά πάλι από τα νεοσχηματισμένα διμερή καταλήγοντας σε πολυμερή (Fulcrand, Duenas, Salas and Chenyier, 2006). Παρόλο, που οι υπόξανθες χρωστικές ουσίες δεν έχουν παρατηρηθεί όταν η ακεταλδεΐδη αντιδρά με φλαβανόλες, ο πορτοκαλί χρωματισμός του αρχικού διαλύματος είναι χαρακτηριστικός των υπόξανθων χρωμοφόρων.

### 5.2.2 Γλυοξυλικό οξύ

Το 1996, ο Oszmianski, παρατήρησε ότι τα προϊόντα οξείδωσης που προερχόταν ύστερα από την οξείδωση της (+) – κατεχίνης ήταν άχρωμα ή κιτρινωπά, με τις κίτρινες ενώσεις να έχουν μέγιστη απορρόφηση στα 440-460 nm (Fulcrand, Chenyier, 1997). Αμέσως, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της δομής αυτών των ουσιών και βρέθηκε ότι ένα δεύτερος τρόπος αμαύρωσης μπορεί να υπάρχει. Παρουσία σιδήρου, η οξείδωση της κατεχίνης δεν πραγματοποιούνται άμεσα, αλλά μέσω του τρυγικού οξέος το οποίο έδινε το γλυοξυλικό οξύ. Μόλις σχηματιζόταν το γλυοξυλικό οξύ, αντιδρούσε με δύο μονάδες φλαβανόλης με σκοπό την δημιουργία άχρωμου διμερούς. Το άχρωμο διμερές σχηματίζει κιτρινωπές ουσίες μέσω αφυδάτωσης. Με την πάροδο του χρόνου μελέτες επιβεβαίωσαν αυτόν τον τρόπο αμαύρωσης (Εικόνα). Κατά την διάρκεια αποθήκευσης και παλαίωσης του οίνου, σε αντίθεση με τις αντιδράσεις που υποκινούνται από την ακεταλδεΐδη όπου η εμπλοκή των φλαβανολών φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στην σταθεροποίηση του χρώματος, οι αντιδράσεις που προκαλούνται από το γλυοξυλικό οξύ είναι οι κύριες υπεύθυνες για τον αποχρωματισμό και τον σχηματισμό κιτρινωπών ενώσεων οι οποίες είναι περισσότερο σημαντικές στην αμαύρωση και στην μείωση της στυπτικότητας απ' ότι στην σταθεροποίηση του χρώματος.





**Εικόνα 10:** Μηχανισμοί πολυμερισμού των φλαβανολών μέσω ακεταλδεΐδης και γλυοξυλικού οξέος

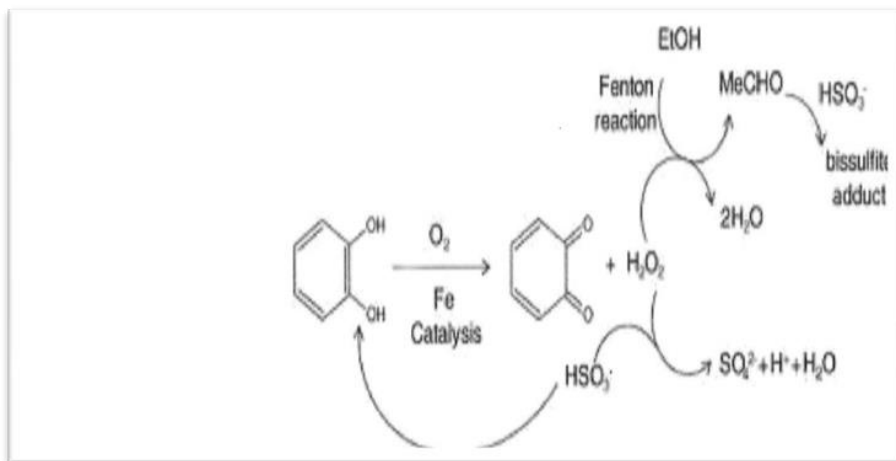
## 6. Προστασία Γλεύκους και Οίνου Από Τις Οξειδώσεις

Όπως αναφέραμε παραπάνω, η παρουσία οξυγόνου στους λευκούς οίνους αλλοιώνει τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Συγκεκριμένα, το άρωμα, εξαφανίζεται η φρεσκάδα και σκουραίνει το χρώμα. Κατά την διάρκεια της πίεσης των σταφυλιών που έχουν υποστεί έκθλιψη, έρχεται μεγάλη επιφάνεια σε επαφή με ποσότητα οξυγόνου. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, υπεύθυνες για τις οξειδώσεις ενζυματικής φύσεως είναι η τυροσινάση (οξειδωτικό ένζυμο που βρίσκεται στα στερεά μέρη της ράγας) και η λακκάση που υπάρχει στα σταφύλια που έχουν προσβληθεί από φαιά σήψη. Για την προστασία τους γλεύκους προτείνεται η καταστροφή των οξειδασών και η αποφυγή των οξειδώσεων. Οι κυριότερες μέθοδοι προστασίας βρίσκονται παρακάτω.

### 6.1 Θείωση:

Το SO<sub>2</sub> χρησιμοποιείται ευρέως στην οινοποίηση λόγω της αντιμικροβιακής και αντιοξειδωτικής δραστηριότητάς του. Προστατεύει τον οίνο από το καφέτιασμα και

ρυθμίζει την ανάπτυξη των ζυμών και βακτηρίων τα οποία ευθύνονται για την αλλοίωση του. Επιπλέον, το διοξείδιο του θείου μπορεί να μειώσει την δυσάρεστη επίδραση των καρβονυλικών συστατικών στο άρωμα αντιδρώντας με αυτά και σχηματίζοντας άοσμα όξινα θειώδη στοιχεία. Λαμβάνοντας υπ' όψιν τον τρόπο δράσης του πιστεύεται ότι η κύρια αντιοξειδωτική του λειτουργία στηρίζεται στην καταστολή του υπεροξειδίου του υδρογόνου το οποίο προέρχεται από την μετατροπή του οξυγόνου, περιορίζοντας έτσι τον σχηματισμό αλδεΐδης (λόγω ανταγωνισμού μεταξύ των για το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) και εμποδίζοντας τον σχηματισμό εύκολα οξειδώσιμων συστατικών. Τέλος, μετατρέπει τις σχηματιζόμενες κατά την διάρκεια της οξείδωσης κινόνες στην αρχική τους ο-διαφαινολική μορφή, επαναφέροντας την φαινολική σύσταση του οίνου. Στον οίνο υπάρχουν δύο κλάσματα του διοξειδίου του θείου, το ελεύθερο SO<sub>2</sub> που αναφέρεται στο όξινο θειώδες και το διοξείδιο του θείου, και το συνδεδεμένο κυρίως με ακόρεστες ενώσεις. Η θείωση αποτελεί αρκετά ικανοποιητική λύση στο θέμα προστασίας από τις οξειδώσεις, με την προϋπόθεση της προσθήκης σε σχετικά υψηλές δόσεις (6-12 g/hl) (Chinnici,2012).



**Εικόνα 11:** Η αλληλεπίδραση του SO<sub>2</sub> με το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και τις κινόνες ακολουθούμενη από την οξείδωση της κατεχόλης.

## 6.2 Ασκορβικό οξύ (Βιταμίνη C)

Η χρήση του ασκορβικού οξέος(βιταμίνη C) στηρίζεται στην αντιοξειδωτική προστασία, που παρέχει στους λευκούς οίνους, κυρίως λόγω της άμεσης αντίδρασης του με το μοριακό οξυγόνο εμποδίζοντας την οξείδωση αυτού με τα φαινολικά συστατικά. Όπως και το SO<sub>2</sub>, θεωρείται ότι και αυτό μετατρέπει τις κινόνες σε πρόδρομες κατεχίνες, ακόμα και αν η δραστηριότητα του αυτή πρόσφατα αμφισβητήθηκε. Παρ' όλα αυτά, η οξείδωση του ασκορβικού οξέος σε δευδροασκορβικό οξύ παράγει υπεροξείδιο του υδρογόνου το οποίο

με την σειρά του, παρουσία μεταλλικών ιόντων, θα υποκινούσε την οξειδωτική αλλοίωση των οίνων. Έτσι λοιπόν ο συνδυασμός του ασκορβικού οξέος με το θειώδη ανυδρίτη φαίνεται να παρέχει καλύτερη προστασία κατά των οξειδωτικών φαινομένων. Η προσθήκη 10-20g/hl ασκορβικού οξέος στο γλεύκος δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα και καλύτερη διατήρηση του αρώματος του οίνου. (Chinnici, et al., 2012).

### 6.3 Απολάσπωση και κατεργασία με μπετονίτη

Η απολάσπωση έχει σκοπό την απομάκρυνση των στερεών σωματιδίων που βρίσκονται στο γλεύκος σε αραίωση και τα οποία είναι ικανά να δώσουν στον οίνο χορτώδη οσμή. Επειδή η τυροσινάση κατά ένα μέρος είναι συνδεδεμένη με τα στερεά σωματίδια (η λακκάση είναι πλήρως διαλυτή) η απολάσπωση αφαιρεί μέρος από τις οξειδάσες, περιορίζοντας έτσι τις οξειδώσεις. Ο μπετονίτης δρα χάρη στην ιδιότητα που έχει να απορροφά τις πρωτεΐνες. Δρα μόνο στο διαλυτό τμήμα της τυροσινάσης. Προσθήκη 100 mg/hl μειώνει την δραστηριότητα κατά 30-40%. Σε συνδυασμό με προσθήκη 80 g/hl θειώδη ανυδρίτη μπορούμε να πετύχουμε ολική παύση της δραστηριότητας της τυροσινάσης. Στη λακκάση ο μπετονίτης έχει μικρή μόνο δράση (Κοντός, 1980).

### 6.4 Οινοποίηση σε αδρανή ατμόσφαιρα

Η τεχνική αυτή συνίσταται στην επεξεργασία των σταφυλιών και του γλεύκους σε αναερόβιο περιβάλλον, που δημιουργείται με τη διοχέτευση ενός αδρανούς αερίου, αζώτου ή CO<sub>2</sub> στο χώρο της επεξεργασίας. Η περιεκτικότητα σε CO<sub>2</sub> του ήσυχου κρασιού δεν μπορεί να είναι μεγαλύτερη από 2g/l, σύμφωνα με την νομοθεσία. Το άζωτο είναι διαλυτό στο κρασί αλλά, επειδή το κρασί είναι ήδη κορεσμένο σε άζωτο δεν μπορεί να διαλυθεί περισσότερο. Σύμφωνα με την μέθοδο αυτή, ουσιαστικά οι ακέραιες ράγες εμποτίζονται με το CO<sub>2</sub> και σιγά σιγά μαλακώνουν. Με την επίδραση των ενζύμων της σάρκας πραγματοποιείται μια πρώτη ζύμωση –ενδοκυτταρική- που έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός χαρακτηριστικού αρώματος, ενώ μετά την έκθλιψη και την πίεση της σταφυλομάζας γίνεται μια δεύτερη ζύμωση μέσω των ζυμών. Οι δεξαμενές που χρησιμοποιούνται είναι απόλυτα στεγανές, μεταλλικές γιατί ανταποκρίνονται καλύτερα στις πιέσεις από την παραγωγή CO<sub>2</sub>, μικρής χωρητικότητας, πλατιές και κοντές. Η χρήση αυτών των δεξαμενών έχει σκοπό την επιδίωξη της επιθυμητής θερμοκρασίας. Μελέτες έδειξαν ότι με την τεχνική επιτυγχάνεται η βελτίωση της έντασης και της λεπτότητας του αρώματος.



Η πολυβινυλ-πολύ-πυρολιδόνη (PVPP) είναι μια λευκή σκόνη, λεπτή, αδιάλυτη στο νερό, στα οξέα, στα αλκάλια και στους οργανικούς διαλύτες και παρασκευάζεται με πολυμερισμό της η βινυλ-πυρολιδόνης.

Το PVPP χρησιμοποιείται:

- Για την προστασία του χρώματος των λευκών οίνων καθώς η PVPP απομακρύνει τα ευοξειδωτα φαινολικά συστατικά που ευθύνονται για τις αλλοιώσεις του χρώματος.
- Για την κατεργασία των οξειδωμένων οίνων
- Για το μαλάκωμα των ερυθρών οίνων: η κατεργασία με PVPP δεν επηρεάζει πολύ τις ανθοκυάνες και το χρώμα των οίνων, αλλά ελαττώνει αισθητά τις ταννίνες και μειώνει το δείκτη φαινολών. Το PVPP δεσμεύει επιλεκτικά τις στυφές ταννίνες.

Η κατεργασία με PVPP παρουσιάζει τα παρακάτω πλεονεκτήματα:

- Βελτιώνεται το χρώμα του οίνου: οι οίνοι εμφανίζονται λιγότερο κίτρινοι
- Ελαττώνονται οι κατεχίνες και οι λευκοανθοκυάνες που είναι υπεύθυνες για το καφέτιασμα
- Βελτιώνονται οι οργανοληπτικοί χαρακτήρες των οίνων(μείωση της πικράδας, αύξηση του αρώματος και της ζωντάνιας των οίνων)

Η δράση του PVPP είναι συμπληρωματική αυτής που επιτυγχάνεται με καζεΐνη ή μπετονίτη. Η ανώτερη επιτρεπόμενη δόση ανέρχεται στα 80g/hl οίνου (Κοντός, 1980, Κουράκου-Δραγώνα 1998).

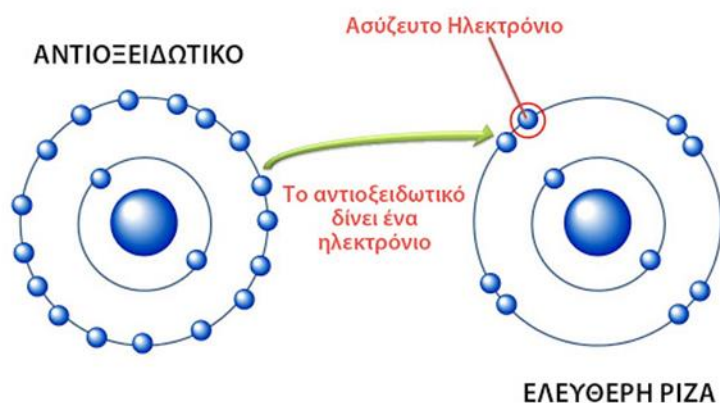
## **7. Αντιοξειδωτική Ικανότητα Οίνων και Μέθοδοι Προσδιορισμού της**

Τα αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις ικανές είτε να καθυστερήσουν ή να αναστείλουν τις διεργασίες οξείδωσης που συμβαίνουν υπό την επίδραση του ατμοσφαιρικού οξυγόνου ή των δραστικών ειδών οξυγόνου ή αζώτου. Η αντιοξειδωτική ουσία βρίσκεται σε μικρές συγκεντρώσεις σε σύγκριση με το υπόστρωμα που οξειδώνεται και καθυστερεί σημαντικά ή αποτρέπει την οξείδωση του υποστρώματος αυτού (Kriinsky 2002).

Τα αντιοξειδωτικά συστατικά των τροφίμων έχουν συνδεθεί στενά με την πρόληψη της κυτταρικής καταστροφής εντός του οργανισμού, η οποία αποτελεί βασικό παράγοντα προώθησης του γήρατος και πολλών εκφυλιστικών νόσων.

Πρόκειται για μόρια που μπορούν να αλληλεπιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και να τερματίζουν την αλυσίδα των αντιδράσεων, πριν ακόμα καταστραφούν τα ζωτικής

σημασίας μόρια. Η ικανότητα των αντιοξειδωτικών, να απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες από τον ανθρώπινο οργανισμό και επομένως, να μειώνουν την καταστροφή των κυτταρικών οργανιδίων, όπως των λιπιδίων και του DNA φαίνεται να αποτελεί έναν από τους βασικότερους προστατευτικούς μηχανισμούς.



**Εικόνα 13:** Απεικόνιση δράσης των αντιοξειδωτικών ουσιών: προσφέρουν ένα ηλεκτρόνιο, από τα πολλά που έχουν, στο ασύζευκτο ηλεκτρόνιο της ελεύθερης ρίζας, οπότε περιορίζεται και η δραστηριότητά της

Για την μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας χρησιμοποιούνται οι παρακάτω δύο προσδιορισμοί:

- 1) Μέθοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης
- 2) Μέθοδος DPPH

## 7.1 Μέθοδος επιταχυνόμενης Οξείδωσης

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της ανάπτυξης της αμαύρωσης των οίνων (Sioumi et al., 2006) είναι μια παραλλαγή αυτής που περιγράφηκε από τους Singleton and Kramling (1976).

Σε ένα μπουκάλι πειράματος αντιστοιχούν 3 φιαλίδια βιδωτά με καπάκι (vial 7,5 cm μήκος με 2,1 cm εσωτερική διάμετρο και χωρητικότητας 30 ml) πάνω στα οποία επισημαίνεται ο αντίστοιχος κωδικός του οίνου. Στα φιαλίδια αυτά τοποθετούνται 20 ml από τον κάθε οίνο με την βοήθεια ογκομετρικού κυλίνδρου και στην συνέχεια υποβάλλονται για διάστημα 12 ημερών σε θέρμανση υπό σταθερή θερμοκρασία  $55 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,20\text{C}$  (τακτική παρατήρηση με βοήθεια θερμόμετρου) μέσα σε ειδικό υδατόλουτρο (συνθήκες σκότους). Τα μπουκαλάκια αποσύρονται από το υδατόλουτρο κάθε 24 ώρες και

αφού αφεθούν για διάστημα περίπου 20 λεπτών, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος, με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου καταγράφεται η απορρόφηση των δειγμάτων στα 420, 520 620nm (A420, A520, A620). Για τον μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου χρησιμοποιείται διάλυμα αιθανόλης 12 % ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε στενωτικές κυψελίδες και με χρήση λάμπας αλογόνου. Το περιεχόμενο των κυψελίδων επιστρέφει στα φιαλίδια από τα οποία αντλήθηκε (έτσι ώστε να διατηρηθεί ο αρχικός όγκος ) και τοποθετούνται ξανά στο υδατόλουτρο. Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για 12 ημέρες. Τέλος, τα φιαλίδια είναι 3 για κάθε εμφιαλωμένο οίνο με σκοπό την μεγαλύτερη ακρίβεια, τον έλεγχο της επαναληψιμότητας, τη στατιστική ανάλυση και συνεπώς τα πιο ακριβή αποτελέσματα.

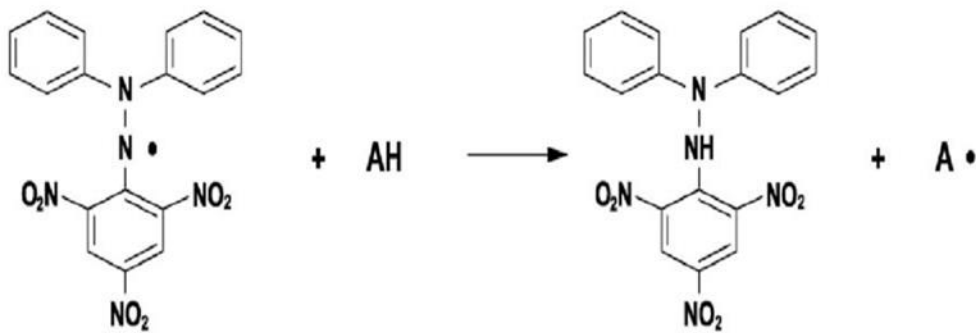
## 7.2 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας – Μέθοδος DPPH

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των διαφόρων αφεψημάτων χρησιμοποιείται ευρέως η μέθοδος DPPH (2,2 διφαινυλ-πικρυλ- υδραζίλιο. Το DPPH είναι μία μέθοδος εκτίμησης του πολυφαινολικού περιεχομένου που βασίζεται στη μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών.

Στην ικανότητα αυτή των πολυφαινολών αποδίδεται η αντιοξειδωτική τους δράση με αποτέλεσμα η μέθοδος αυτή να δίνει μετρήσεις της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των πολυφαινολών του δείγματος (Parejoetal., 2000). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην ικανότητα που έχουν τα διαλύματα που περιέχουν ουσίες με αντιοξειδωτικές ιδιότητες να αποχρωματίζουν το διάλυμα του DPPH το οποίο είναι έντονο μωβ. Η ρίζα αυτή απορροφά στην περιοχή του ορατού και συγκεκριμένα στα 515-517nm.

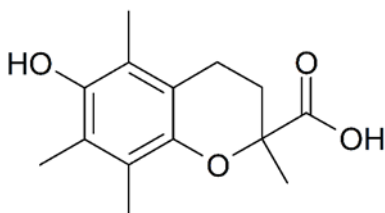
Η μέθοδος, που αποτελεί μία παραλλαγή της μεθόδου που περιγράφηκε από τον Brand-Williams και τους συνεργάτες του (1994), στηρίζεται στην απορρόφηση της ρίζας 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH). Όταν στο διάλυμα προστεθεί μία ουσία με αντιοξειδωτική δράση, τότε η ρίζα DPPH ανάγεται με πρόσληψη ενός ατόμου υδρογόνου ή ενός e<sup>-</sup> και μετατρέπεται σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη, η οποία έχει κίτρινο χρώμα (Εικόνα 13) . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να ελαττώνεται η οπτική απορρόφηση. Ο βαθμός μεταβολής του χρώματος που μετράται ως μείωση της απορρόφησης του DPPH καθορίζει την αντιοξειδωτική ικανότητα της εκάστοτε πολυφαινόλης. Η μέτρηση της απορρόφησης πραγματοποιείται στα 515nm.





**Εικόνα 14:** Αντίδραση της ρίζας DPPH με ένα αντιοξειδωτικό αντιδραστήριο

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH, αρχικά παρασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με το αντιδραστήριο Trolox. Το Trolox (6-υδροξυ-2,5,7,8-τετραμεθυλοχρωμανο-2-καρβοξυλικό οξύ) είναι ένα υδατοδιαλυτό ανάλογο της βιταμίνης E, είναι αντιοξειδωτικό όπως η βιταμίνη E και χρησιμοποιείται σε βιολογικές ή βιοχημικές εφαρμογές για τη μείωση του οξειδωτικού στρες ή της βλάβης. Η ισοδύναμη αντιοξειδωτική ικανότητα Trolox (TEAC) είναι μια μέτρηση της αντιοξειδωτικής αντοχής με βάση το Trolox, μετρούμενη σε μονάδες που ονομάζονται Ισοδύναμα Trolox [TroloxEquivalents (TE)], π.χ. μικρογραμμάρια / 100 g. Λόγω των δυσκολιών μέτρησης μεμονωμένων αντιοξειδωτικών συστατικών ενός πολύπλοκου μείγματος, η ισοδυναμία Trolox χρησιμοποιείται ως σημείο αναφοράς για την αντιοξειδωτική ικανότητα ενός τέτοιου μείγματος. Η ισοδυναμία Trolox μετρείται πιο συχνά με τη χρήση της ανάλυσης αποχρωματισμού ABTS. Ο προσδιορισμός TEAC χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των τροφίμων, των ποτών και των συμπληρωμάτων.



**Εικόνα 15:** Το αντιοξειδωτικό αντιδραστήριο Trolox.

## B. Πειραματικό



Θα μελετήσουμε την μεταβολή της οξειδωσιμότητας σε τέσσερις ελληνικούς, λευκούς, ξηρούς οίνους, ποικιλίας Μαλαγουζιάς. Οι οίνοι παράγονται σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές και συγκεκριμένα:

1. Πελοπόννησος -> Κτήμα Αντωνόπουλος
2. Αττική -> Κτήμα Λύτρα
3. Βόρεια Ελλάδα -> Κτήμα Γεροβασιλείου
4. Πάρος (Κυκλάδες) -> Κτήμα Μωραΐτη



Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήσαμε στο εργαστήριο ήταν:

- 1) Μέθοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης
- 2) Μέθοδος Folin-Ciocalteu
- 3) Μέθοδος DPPH

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Όλοι οι οίνοι έχουν παραχθεί το 2021 με προζυμωτική εκχύλιση.

## 1.1 Προσδιορισμός με μέθοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της ανάπτυξης της αμαύρωσης των οίνων (Sioumietal., 2006) είναι μια παραλλαγή αυτής που περιγράφηκε από τους Singleton and Kramling (1976).

Σε έκαστο μπουκάλι πειράματος αντιστοιχούν 3 φιαλίδια βιδωτά με καπάκι (vial 7,5 cm μήκος με 2,1 cm εσωτερική διάμετρο και χωρητικότητας 30 ml) πάνω στα οποία επισημαίνεται ο αντίστοιχος κωδικός του οίνου . Στα φιαλίδια αυτά τοποθετούνται 20 ml από τον κάθε οίνο με την βοήθεια ογκομετρικού κυλίνδρου και στην συνέχεια υποβάλλονται για διάστημα 12 ημερών σε θέρμανση υπό σταθερή θερμοκρασία  $55 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,20\text{C}$  (τακτική παρατήρηση με βοήθεια θερμόμετρου) μέσα σε ειδικό υδατόλουτρο (συνθήκες σκότους). Τα μπουκαλάκια αποσύρονται από το υδατόλουτρο κάθε 24 ώρες και αφού αφεθούν για διάστημα περίπου 20 λεπτών, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος, με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου καταγράφεται η απορρόφηση των δειγμάτων στα 420, 520 620nm (A420, A520, A620). Για τον μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου χρησιμοποιείται διάλυμα αιθανόλης 12 % ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε στενωτικές κυψελίδες και με χρήση λάμπας αλογόνου. Το περιεχόμενο των κυψελίδων επιστρέφει στα φιαλίδια από τα οποία αντλήθηκε (έτσι ώστε να διατηρηθεί ο αρχικός όγκος ) και τοποθετούνται ξανά στο υδατόλουτρο. Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για 12 ημέρες. Τέλος, τα φιαλίδια είναι 3 για κάθε εμφιαλωμένο οίνο με σκοπό την μεγαλύτερη ακρίβεια, τον έλεγχο της επαναληψιμότητας, τη στατιστική ανάλυση και συνεπώς τα πιο ακριβή αποτελέσματα.

### **Υλικά – Όργανα**

- Φασματοφωτόμετρο uv-vis
- Δείγματα λευκώνοίνων
- Πλαστικά φιαλίδια χωρητικότητας
- Αυτόματες πιπέτες 0,5-10  $\mu\text{L}$
- Στενωτικές κυψελίδες
- Διάλυμα αιθανόλης 12%

### **ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:**

1. Αντί για υδατόλουτρο χρησιμοποιήθηκε κλίβανος υπό σταθερή θερμοκρασία  $55 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,20\text{C}$ .
2. Τα φιαλίδια γεμίστηκαν μέχρι πάνω για να έχουμε κενό αέρος
3. Τα φιαλίδια τυλίχτηκαν με αλουμινόχαρτο για καλύτερη διατήρηση συνθηκών σκότους.

## 1.2 Προσδιορισμός φαινολικών ουσιών με τον δείκτη Folin-Ciocalteu

Είναι η επίσημη μέθοδος του ΟΙV (O. Folin and V. Ciocalteu, J. Biol. Chem., 1927, 73, 627). 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 την 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 ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) και φωσφο-βολφραμικά ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) 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  $Na_2CO_3$ . Οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται με τον δείκτη Folin-Ciocalteu εκφράζονται πολύ συχνά σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος.

### Υλικά – Όργανα

- Αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu
- Ανθρακικό νάτριο  $Na_2CO_3$  20%w/v
- Αποσταγμένο νερό
- Δείγματα λευκών οίνων
- Φασματοφωτόμετρον-vis
- Αναδευτήρας (Vortex)
- Πλαστικά κωνικά φιαλίδια
- Ογκομετρικές φιάλες 10 ml
- Αυτόματες πιπέτες 0,5-10  $\mu$ L, 10-100 $\mu$ L
- Πλαστικές κυψελίδες (b=1,00 cm)

### Διαδικασία Προσδιορισμού

Σε ογκομετρικές φιάλες των 25 ml εισάγονται 250 $\mu$ L δείγματος οίνου, 12,5 ml  $H_2O$  και κατόπιν προστίθενται 1250 $\mu$ L αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu, ακολουθεί ανάδευση με

vortex και επώαση στο σκοτάδι για 3min. Εν συνεχεία προστίθεται 1mL διαλύματος Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20% w/v) γίνεται ανακίνηση και αραίωση με αποσταγμένο νερό ως τη χαραγή. Μετά το πέρας της επώασης στο σκοτάδι για 30min ακολουθεί φωτομέτρηση στα 750nm. Στο τυφλό διάλυμα την θέση του δείγματος κατέχει ίσος όγκος νερού. Η διαδικασία πραγματοποιείται 3 φορές για κάθε δείγμα και ως απορρόφηση λαμβάνεται ο μέσος όρος των τριών τιμών. Η συγκέντρωση σε ολικές παλυφαινόλες υπολογίζεται από την καμπύλη βαθμονόμησης, χρησιμοποιώντας Γαλλικό οξύ σαν πρότυπο, ενώ τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mgGAEs/L οίνου.

#### Διάλυμα Ανθρακικού Νατρίου (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>):

Μηδενίζεται ο ζυγός με το ποτήρι ζέσεως που θα χρησιμοποιηθεί και προστίθεται σε αυτό 20g άνυδρου Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Το ποτήρι τοποθετείται στον αναδευτήρα, αφού έχει συμπληρωθεί με κατάλληλη ποσότητα απιονισμένου νερού και προστεθεί ο μαγνήτης, όπου σε χαμηλές στροφές αφήνουμε το διάλυμα να ομογενοποιηθεί. Τέλος, το διάλυμα τοποθετείται σε ογκομετρική φιάλη των 100ml και συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή.

### 1.3 Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH

Με την μέθοδο DPPH πραγματοποιείται η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

#### Υλικά - Αντιδραστήρια

- Πιπέτες, tips,
- Ποτήρια ζέσεως
- Αναλυτικός ζυγός
- Ογκομετρικός κύλινδρος
- Ογκομετρικές φιάλες των 250, 25, 5 ml
- Φασματοφωτόμετρο
- Κυψελίδα πλαστική
- Eppendorf
- Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)
- Διάλυμα DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (υπό μορφή κόκκων σε μικρό vial καλυπτόμενο με αλουμινόχαρτο για προστασία από το φως. Συντήρηση εντός ψυγείου

- Μεθανόλη
- Αιθανόλη 12%
- Δείγματα οίνων

## Διαλύματα

### A. Μητρικό διάλυμα DPPH :

Ο ζυγός μηδενίζεται με το ποτήρι ζέσεως που θα χρησιμοποιηθεί και προστίθεται σε αυτό ακριβώς ποσότητα 5,9 mgDPPH με την βοήθεια ειδικής σπάτουλας. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται προσθήκη κάθε φορά μικρής ποσότητας μεθανόλης στο ποτήρι ζέσεως με ταυτόχρονη ανάδευση μέχρι διάλυσης των κόκκων DPPH. Τέλος, τοποθετούμε το περιεχόμενο του ποτηριού σε ογκομετρική φιάλη των 250 ml και προσθέτουμε μεθανόλη μέχρι τη χαραγή. Το διάλυμα πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως μετά την παρασκευή του. Διατηρείται στο ψυγείο το πολύ μία μέρα.

### B. Διάλυμα trolox :

Ο ζυγός μηδενίζεται με το ποτήρι ζέσεως που θα χρησιμοποιηθεί και προστίθεται σε αυτό ακριβώς 12,5 mgtrolox με την βοήθεια ειδικής σπάτουλας. Αυτά διαλύονται σε 3 ml αιθανόλη 12% και το διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml και συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή.

## Διαδικασία προσδιορισμού

Σε erpendorf προστίθενται 25ml δείγματος οίνου (από τα φιαλίδια που βρίσκονται στο υδατόλουτρο) και 975ml μητρικού διαλύματος DPPH με την βοήθεια πιπετών.

Μετά την ανάδευση σε vortex για 30sec μετράτε η απορρόφηση σε μήκος κύματος 515nm (t-control t=0) σε κυψελίδες. Μετά από 30 λεπτά πραγματοποιείται vortex και μετράτε η απορρόφηση ξανά (t=30 sec). Το φασματοφωτόμετρο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό.

Από τις δύο απορροφήσεις υπολογίζεται η % διαφορά στην απορρόφηση σύμφωνα με τον τύπο:

$$\% \Delta A (515\text{nm}) = [A(0) - A(30)] / A(0) \times 100$$

Μέσω της καμπύλης αναφοράς σε trolox εκφράζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα σε ισοδύναμα trolox.

## Καμπύλη αναφοράς με Trolox

### Διαλύματα:

Μητρικό διάλυμα DPPH : 5,9mgDPPH σε 250ml μεθανόλης. Το διάλυμα πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως, διατηρείται στο ψυγείο μόνο μία μέρα.

Διάλυμα A (2mMtrolox) : 12,5mgtrolox διαλύονται σε 25ml 12% αιθανόλης.

Για την πρότυπη καμπύλη αναφοράς παρασκευάζεται διάλυμα Trolox με συγκέντρωση 2mM (διάλυμα A). Η καμπύλη αναφοράς γίνεται για τις συγκεντρώσεις 0.08 , 0.5 , 1 , 1.5 , 2mM.

Σε ογκομετρικές φιάλες των 5 mL προστίθενται οι ανάλογες ποσότητες 0.2 , 1.25 , 2.5 , 3.75 ml διαλύματος A και ο όγκος συμπληρώνεται με καθαρή αιθανόλη.

	Τελική Συγκέντρωση Trolox σε mM	Ποσότητα δ/τος A σε τελικό όγκο 5ml Αιθανόλης
1	0,08	0,2ml
2	0,5	1,25ml
3	1	2,5ml
4	1,5	3,75ml
5	2	Διάλυμα A χωρίς αραιώση

**Πίνακας 4:** Ποσοτική προσθήκη διαλύματος A για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς σε Trolox.

Σε erpendorf προστίθενται 25 mL του κάθε διαλύματος Trolox και 975 mL μητρικού διαλύματος DPPH. Μετά την ανάδευση σε vortex για 30 λεπτά μετράτε η απορρόφηση σε μήκος κύματος 515 nm(t=0). Μετά από 30 λεπτά μετράτε η απορρόφηση ξανά (t=0). Το φωτόμετρο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό. Από τις δύο απορροφήσεις υπολογίζεται η % διαφορά στην απορρόφηση :

$$\% \Delta A (515\text{nm}) = [A(0) - A(30) / A(0)] \times 100$$

Η καμπύλη αναφοράς γίνεται μεταξύ των συγκεντρώσεων trolox και της % διαφοράς στην απορρόφηση.

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ :** Η μέτρηση των απορροφήσεων έχει επαναληφθεί τρεις φορές για κάθε συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος και έχει καταγραφεί ο μέσος όρος των τιμών.

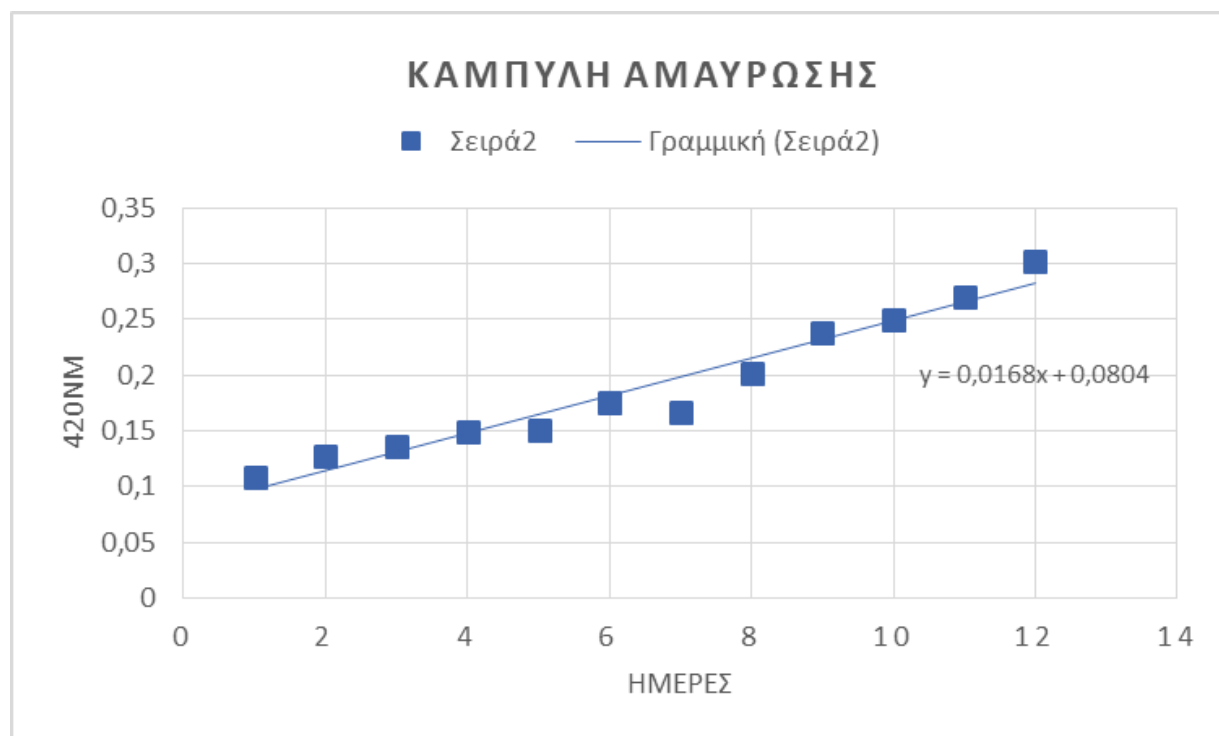
## Γ. Αποτελέσματα – Συζήτηση

---

### **1.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟ ΕΠΙΤΑΧΥΝΟΜΕΝΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ**

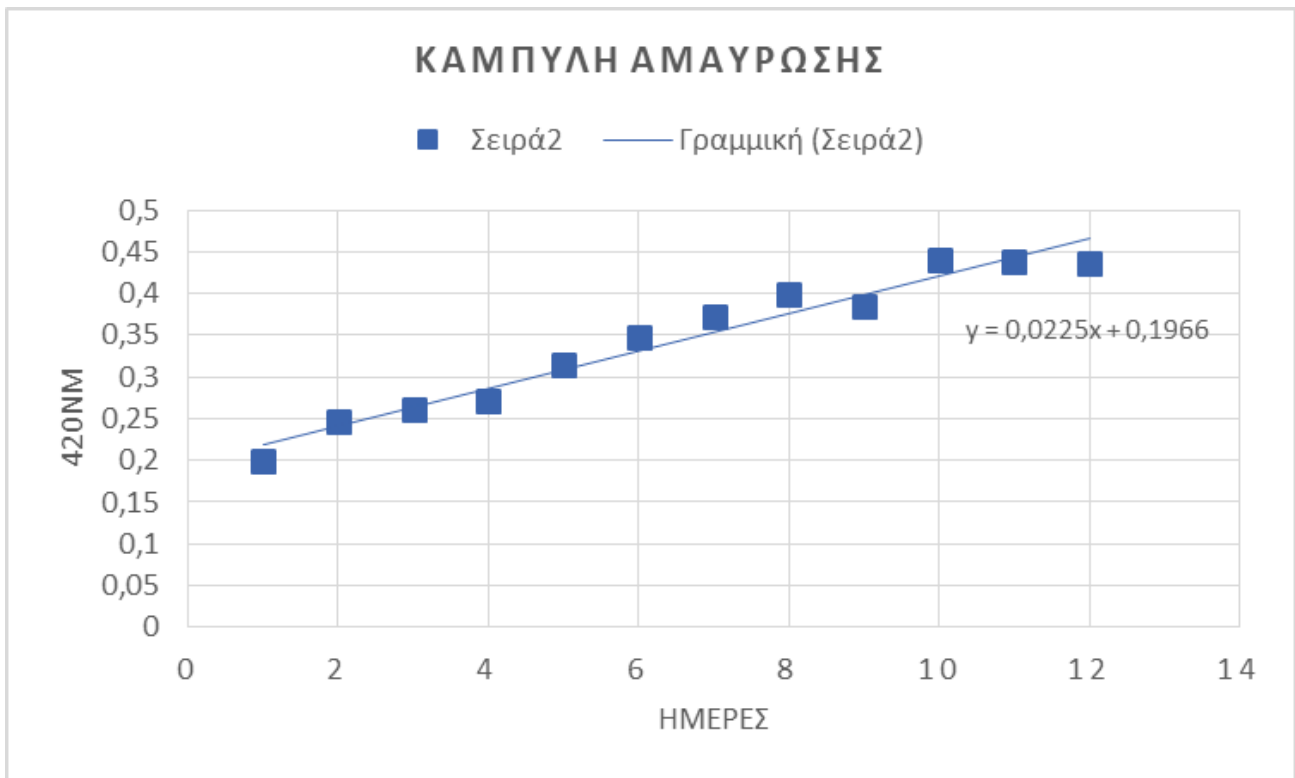
Για την μελέτη της οξειδωτικής αμαύρωσης όπως έχει αναφερθεί κάθε 24 ώρες κα για 12 ημέρες καταγράφεται η απορρόφηση των δειγμάτων στα 420nm. Οι τιμές προκύπτουν

από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων του κάθε δείγματος. Πριν τις μετρήσεις γίνεται μηδένιση του φασματοφωτόμετρου με απιονισμένο νερό.

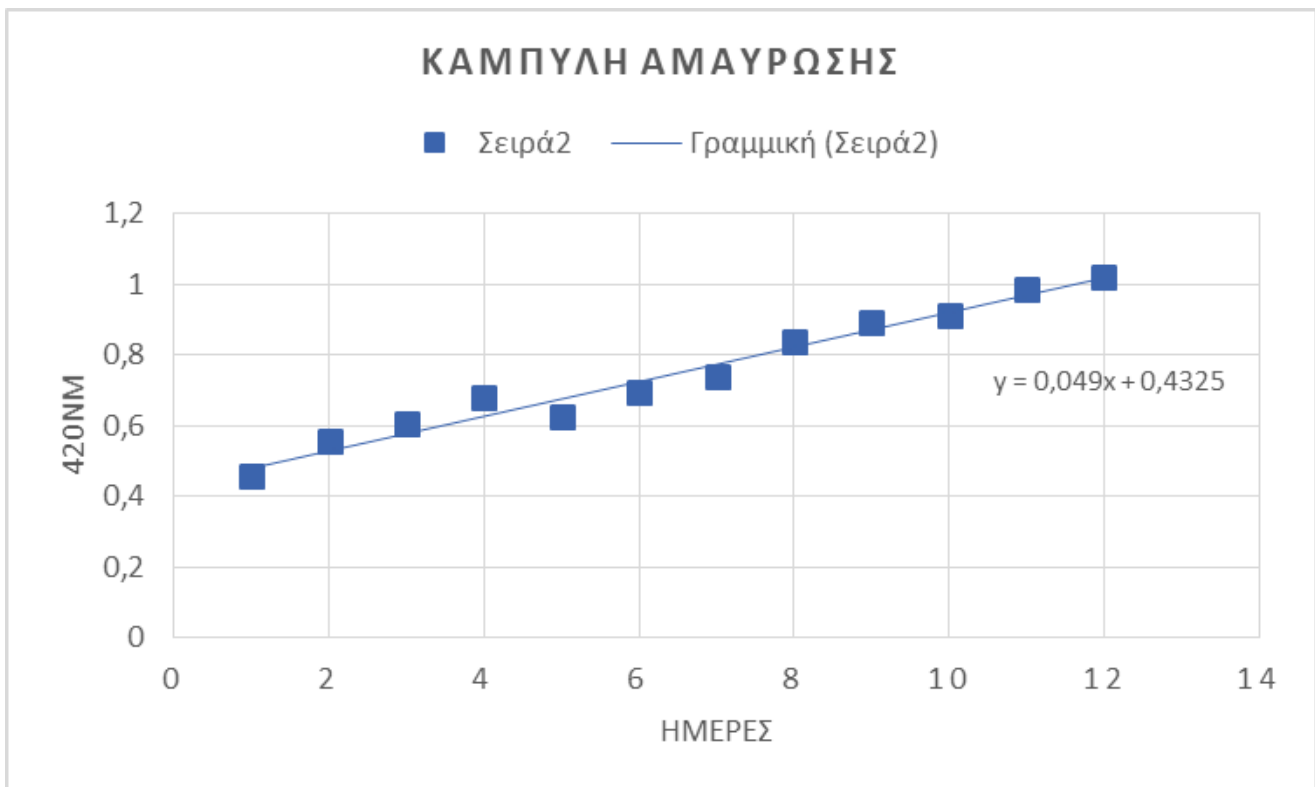


**Διάγραμμα 1:** Οξειδωτική αμαύρωση σε 12 ημέρες του δείγματος από την Βόρεια Ελλάδα.

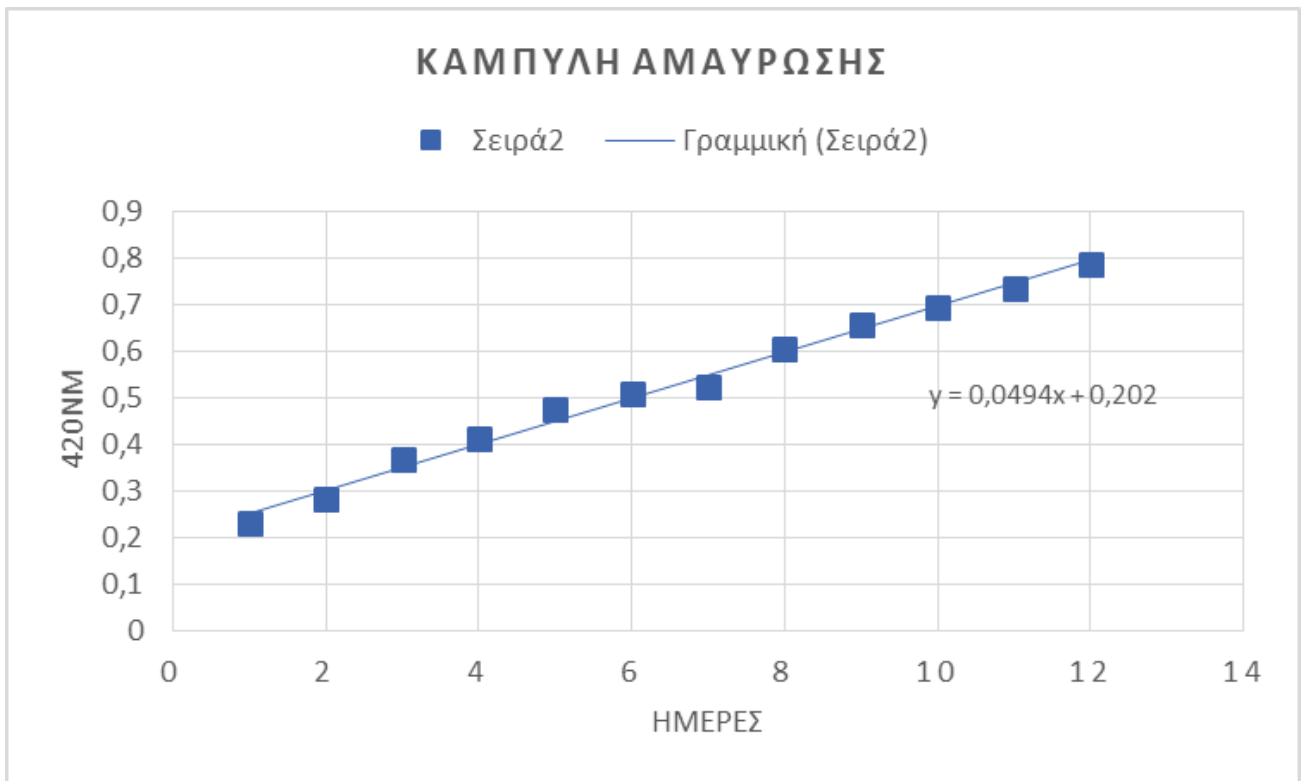




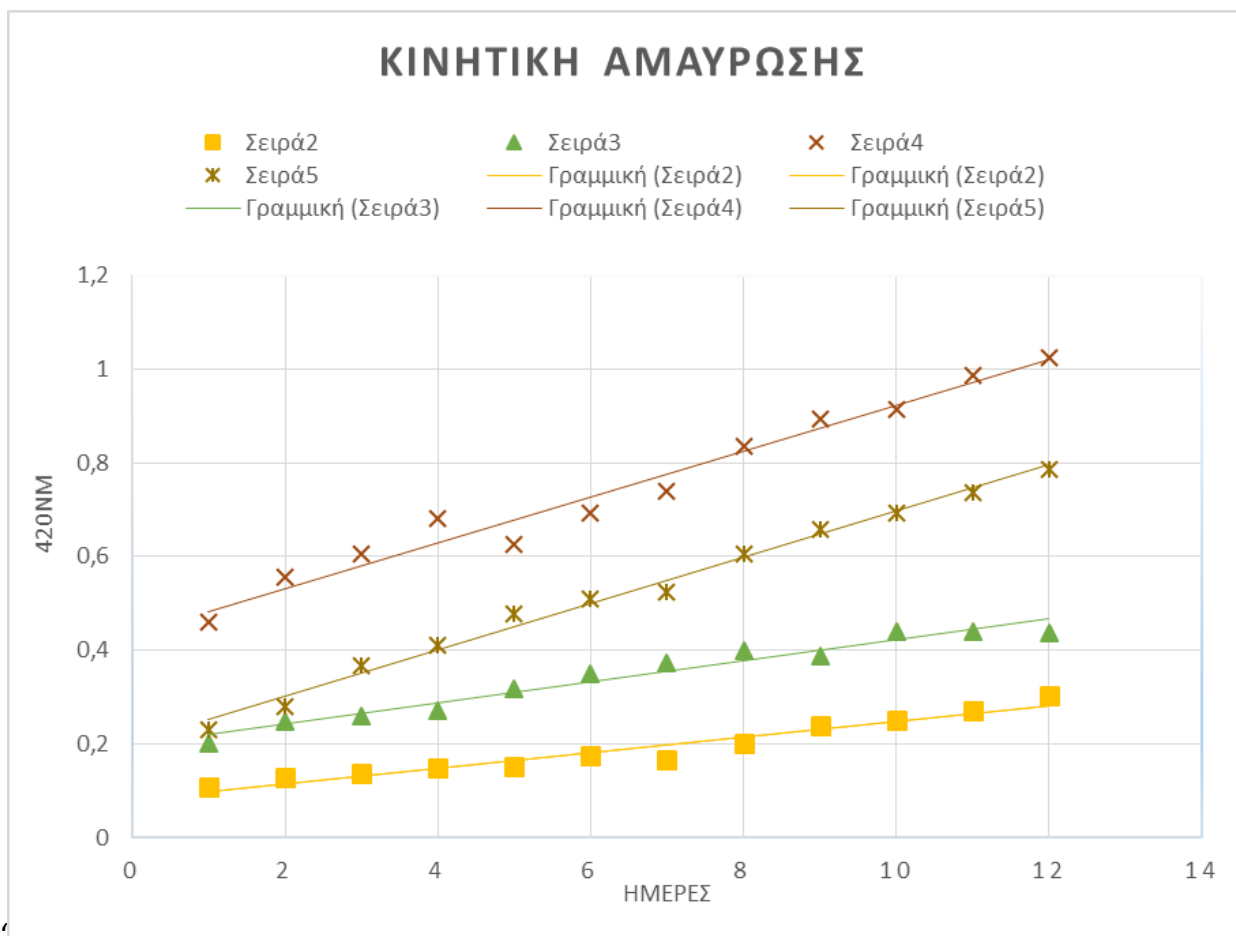
**Διάγραμμα 2:** Οξειδωτική αμαύρωση σε 12 ημέρες του δείγματος από την Πάρο.



**Διάγραμμα 3:** Οξειδωτική αμαύρωση σε 12 ημέρες του δείγματος από την Πελοπόννησο.



**Διάγραμμα 4:** Οξειδωτική αμαύρωση σε 12 ημέρες του δείγματος από την Αττική.



**Διάγραμμα 5:** Κινητική μελέτη όλων των δειγμάτων οίνου. Σειρά 2 είναι το δείγμα από Βόρεια Ελλάδα, σειρά 3 είναι της Πάρου, σειρά 4 είναι το δείγμα της Πελοποννήσου και σειρά 5 της Αττικής.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως φαίνεται από τα διαγράμματα τις μεγαλύτερες απορροφήσεις στα 420nm παρουσιάζει το δείγμα της Πελοποννήσου, όπου την πρώτη μέρα έχουμε τιμή απορρόφησης 0,4590 και δωδέκατη μέρα 1,0236.

Γενικά παρατηρείται ότι η σταθερά αμαύρωσης για την ποικιλία της Μαλαγουζίας διαφέρει ανάλογα με την γεωγραφική περιοχή που μελετήθηκε. Στην αντίστοιχη μελέτη των Sioumis, etc., 2006, παρατηρήθηκε ότι η καμπύλη κινητικής χωρίζεται σε δύο φάσεις. Στην πρώτη έχουμε απότομη αύξηση τις πρώτες τρεις ημέρες, που ακολουθούνται από μια δεύτερη φάση που χαρακτηρίζεται από μια γραμμική σχεδόν αύξηση.

Σύμφωνα με τα διαγράμματα παραπάνω στην δικιά μας περίπτωση βλέπουμε μόνο τη δεύτερη φάση στην καμπύλη αμαύρωσης, δηλαδή μια γραμμική αύξηση και όχι κάποια απότομη αύξηση στις τρεις πρώτες ημέρες.

## **2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ**

### **Δείκτης Folin – Ciocalteu (F-C)**

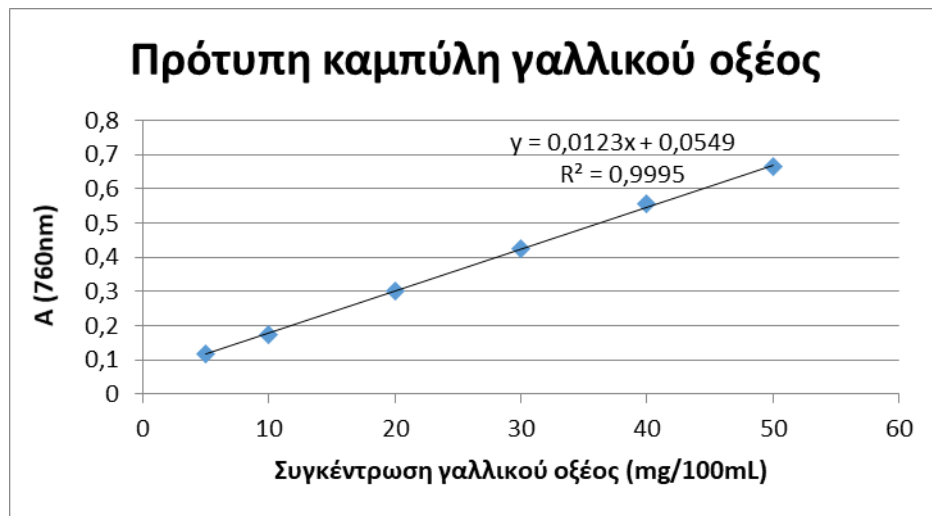
#### **2.1 Πρότυπη καμπύλη Γαλλικού Οξέος**

Αρχικά έγιναν μετρήσεις προτύπων διαλυμάτων γαλλικού οξέος για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς. Οι συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων φαίνονται στον επόμενο πίνακα, καθώς και οι αντίστοιχες απορροφήσεις τους, με βάση τις οποίες κατασκευάσαμε την πρότυπη καμπύλη. Για κάθε συγκέντρωση προτύπου διαλύματος πραγματοποιούνται 3 μετρήσεις ( $A_1$ ,  $A_2$  και  $A_3$ ) και καταγράφεται τελικά ο μέσος όρος των απορροφήσεων.

Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος γαλλικού οξέος(mg/100ml)	$A_1$	$A_2$	$A_3$	Μέσος Όρος Απορρόφησης $A_{750\text{ nm}}$
5	0,115	0,121	0,118	0,118
10	0,174	0,175	0,175	0,175
20	0,300	0,300	0,300	0,300
30	0,425	0,425	0,426	0,425
40	0,554	0,556	0,558	0,556
50	0,664	0,666	0,665	0,665

--	--	--	--	--

**Πίνακας 1 :**Μετρήσεις απορρόφησης προτύπων διαλυμάτων γαλλικού οξέος



**Διάγραμμα 6:** Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος, μεθόδου Folin – Ciocalteu.

## 2.2. Μετρήσεις δειγμάτων

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τη βοήθεια της πρότυπης καμπύλης Γαλλικού Οξέος σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος ( $\text{mgL}^{-1}$ ). Οι υπολογισμοί γίνονται με τη βοήθεια της εξίσωσης της πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος :

$$y = 0,0123x + 0,0549, \text{ όπου } x = \text{ισοδύναμα}$$

γαλλικού οξέος,  $y =$  μέσος όρος απορροφήσεων

Δείγματα Βόρειας Ελλάδας (ημέρες)	$A_{750\text{nm}}$ (μέσος όρος μετρήσεων)	Ισοδύναμα Γαλλικού οξέος (mg/L)
1 <sup>η</sup>	0,2927	193,33
2 <sup>η</sup>	0,2547	162,440
3 <sup>η</sup>	0,1988	116,991
4 <sup>η</sup>	0,2374	148,373

5 <sup>η</sup>	0,1549	81,105
----------------	--------	--------

**Πίνακας 2 :** Έκφραση απορρόφησης του δείγματος σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος του κρασιού από Βόρεια Ελλάδα

Δείγματα Πάρου (ημέρες)	A <sub>750nm</sub> (μέσος όρος μετρήσεων)	Ισοδύναμα Γαλλικού οξέος (mg/L)
1 <sup>η</sup>	0,3872	270,16
2 <sup>η</sup>	0,3687	255,12
3 <sup>η</sup>	0,3177	213,65
4 <sup>η</sup>	0,3086	206,26
5 <sup>η</sup>	0,1835	104,55

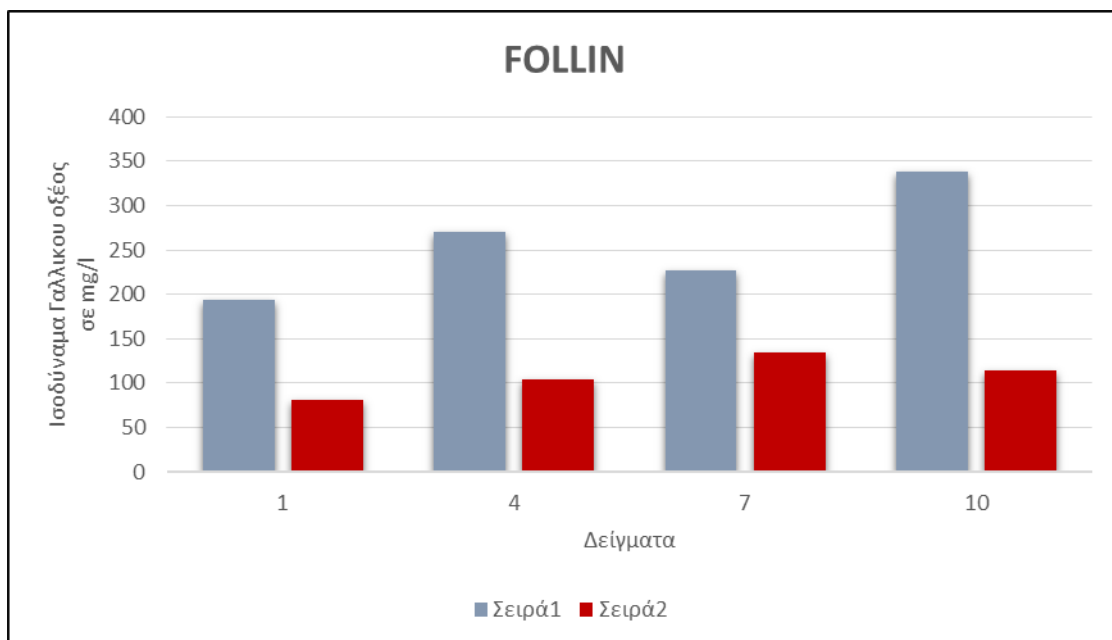
**Πίνακας 3:** Έκφραση απορρόφησης του δείγματος σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος του κρασιού από την Πάρο.

Δείγματα Πελοποννήσου (ημέρες)	A <sub>750nm</sub> (μέσος όρος μετρήσεων)	Ισοδύναμα Γαλλικού οξέος (mg/L)
1 <sup>η</sup>	0,3337	226,66
2 <sup>η</sup>	0,2993	198,69
3 <sup>η</sup>	0,2144	151,62
4 <sup>η</sup>	0,3089	206,50
5 <sup>η</sup>	0,2212	135,20

**Πίνακας 4:** Έκφραση απορρόφησης του δείγματος σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος του κρασιού από την Πελοπόννησο.

Δείγματα Αττικής (ημέρες)	A <sub>750nm</sub> (μέσος όρος μετρήσεων)	Ισοδύναμα Γαλλικού οξέος (mg/L)
1 <sup>η</sup>	0,4705	337,88
2 <sup>η</sup>	0,4018	281,78
3 <sup>η</sup>	0,4015	282,03
4 <sup>η</sup>	0,3163	249,1
5 <sup>η</sup>	0,1962	114,87

**Πίνακας 5:** Έκφραση απορρόφησης του δείγματος σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος του κρασιού από την Αττική.



**Διάγραμμα 7:**

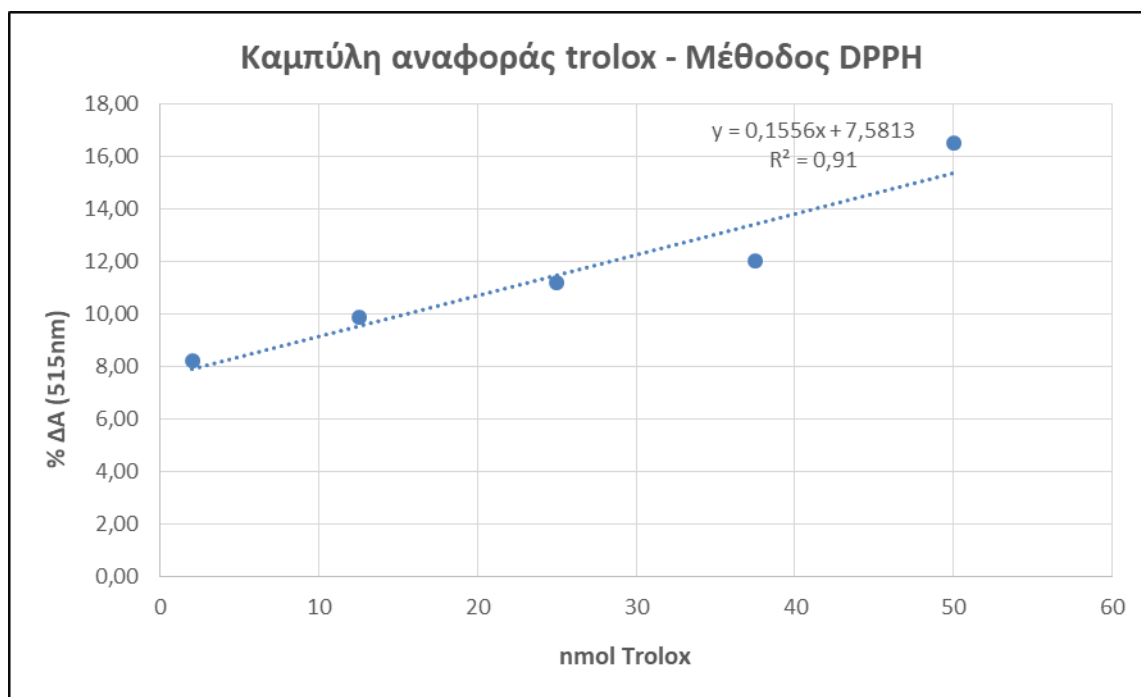
### 3. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH

#### 3.1 Καμπύλη αναφοράς trolox

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς με τα πρότυπα διαλύματα trolox, υπολογίστηκε το ποσό trolox σε nmol που περιέχεται στα 25μL δείγμα διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία. Οι μετρήσεις φαίνονται στον Πίνακα 4 και η καμπύλη που προέκυψε φαίνεται στο διάγραμμα 8.

$C_{\text{TROLOX}}$ ( mM )	nmol Trolox	A (t=0) Control	A (t=30)	%ΔA (515m)
0,08	2	0,893	0,820	8,17
0,5	12,5	0,833	0,751	9,84
1	25	0,789	0,701	11,15
1,5	37,5	0,741	0,652	12,01
2	50	0,358	0,299	16,4

**Πίνακας 11:** Οι μετρήσεις απορρόφησης για τα πρότυπα διαλύματα trolox.



**Διάγραμμα 8:** Πρότυπη καμπύλη αναφοράς Trolox μεθόδου DPPH

### 3.2 Μετρήσεις δειγμάτων

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τη βοήθεια της πρότυπης καμπύλης Trolox σε ισοδύναμα trolox, δηλαδή η ποσότητα κρασιού που απαιτήθηκε για την δέσμευση της ελεύθερης ρίζας ανάχθηκε σε ισοδύναμα Trolox που επέδειξαν την ίδια ικανότητα δέσμευσης.

Αρχικά υπολογίζεται η % διαφορά στην απορρόφηση από τον τύπο :

$$\% \Delta A_{(515\text{nm})} = [A_{(0)} - A_{(30)} / A_{(0)}] \times 100$$

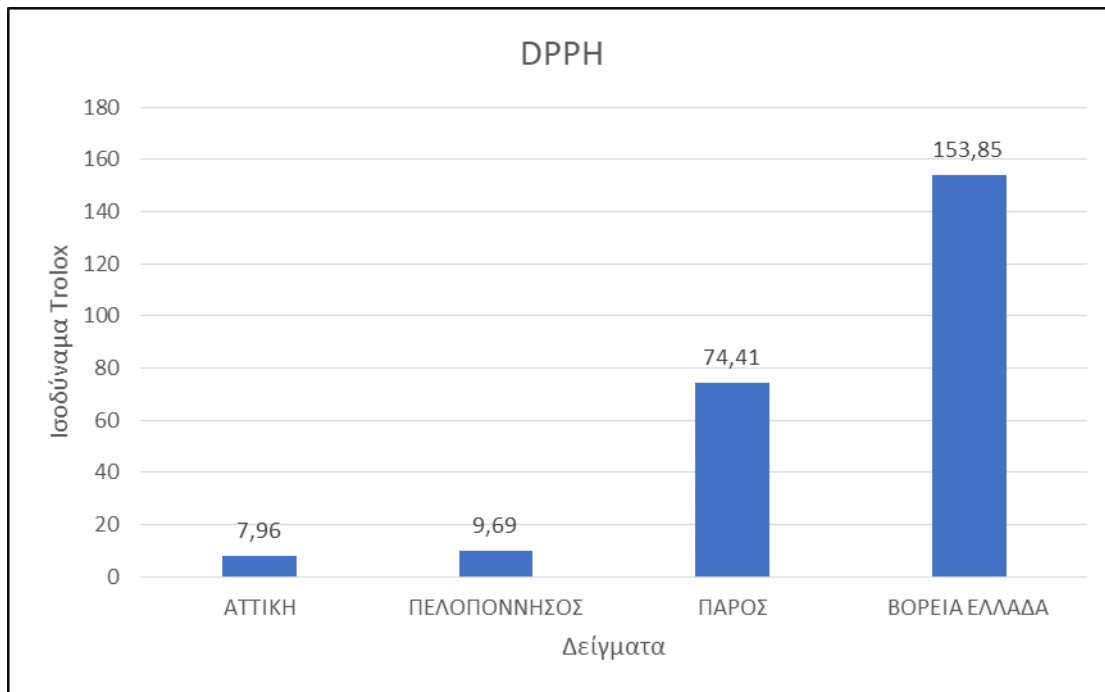
Στη συνέχεια η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων οίνου εκφράζεται ως ισοδύναμα trolox(nmol), με τη βοήθεια της εξίσωσης από την καμπύλη αναφοράς trolox:

$$Y = 0,1556x + 7,5813, \text{ όπου } y = \% \Delta A \text{ και } x = \text{ισοδύναμα trolox}$$

Δείγματα λευκού οίνου	A ( t=0 )	A ( t=30 )	%ΔA	A <sub>AR</sub> = C, σε Ισοδύναμα Trolox (nmol)
Μάρτυρας	0,7	0,64	8,57	6,35
Βόρεια Ελλάδα	0,276	0,189	31,52	153,85
Πάρος	0,240	0,194	19,16	74,41



Αττική	0,68	0,62	8,82	7,69
Πελοπόννησος	0,66	0,63	9,09	9,69



**Διάγραμμα 9:** Αντιοξειδωτική ικανότητα δειγμάτων , εκφρασμένη σε ισοδύναμα nmol trolox .

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μέθοδος αυτή δίνει μετρήσεις της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των πολυφαινολών, στα λευκά κρασιά, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης αντιοξειδωτικών σε σχέση με την συγκέντρωση των φαινολών, πολλές ενώσεις που έχουν σημαντικό ρόλο στην αντιοξειδωτική ικανότητα δεν λαμβάνονται υπόψιν από τη μέθοδο της ανάλυσης DPPH.

Η ικανότητα εξουδετέρωσης απέναντι στις ρίζες DPPH οφείλεται στο πολυφαινολικό τους περιεχόμενο. Η ικανότητα αυτή είναι τόσο καλύτερη όσο μεγαλύτερο το ισοδύναμο trolox που αντιστοιχεί.

Σύμφωνα με τα παραπάνω όπως βλέπουμε στο διάγραμμα 9 την μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα την έχει το κρασί από την Αττική με τιμή 7,96nmol trolox και την μεγαλύτερη το κρασί από την Βόρεια Ελλάδα με τιμή 153,85nmol trolox.

## Δ. Βιβλιογραφία

---

**Charalampos Proestos, Athanasios Bakogiannis and Michael Komaitis**(2012), *Determination of Phenolic Compounds in wines*, International Journal of Food Studies IJFS April 2012 Volume 1 pages 33–41

**Ihami Gulcin, Mahfuz Elmastas, Hassan Y. Aboul-Enein**(2012), *Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source*, Arabian Journal of Chemistry, 5, 489-499

**Κόρκας Ηλίας**, << Καλλιέργεια της Αμπέλου, ECLASS >>

**Σταυράκος Δημήτριος**<<Βιβλίο ΑΜΠΕΛΟΓΡΑΦΙΑ>>

**Τσακίρης Αργύρης**, «Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί», Εκδ. Ψυχάλου, 4<sup>η</sup> Έκδοση 2017

**Σουφλερός, Ευαγγελος**, «ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ-ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΓΝΩΣΙΑ II »

**Σουφλερός, Ευαγγελος**, ΟΙΝΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΑ (ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ - ΓΛΕΥΚΟΣ ΟΙΝΟΣ - ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΑ - ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ - ΕΛΕΓΧΟΣ ΝΟΘΕΙΑΣ)

**Β. Βαϊμάκης** 1998 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΕΥΚΩΝ ΟΙΝΩΝ

**Cheynier V.; Fulcrand H.; Guyot S.; Oszmianski J.; et al. Institut National de la Recherche Agronomique, Montpellier, France. [Corporate Author] Zagazig Univ. (Egypt). Faculty of Agriculture** .Reactions of enzymically generated quinones in relation to browning in grape musts and wines. [1995] p.130-143

**Nikos Sioumis· Stamatina Kallithraka· Dimitris P.Makris· Panagiotis Kefalas** Kinetics of browning onset in white wines: influence of principal redox-active polyphenols and impact on the reducing capacity p.98-104

## **Αναφορές από Διαδίκτυο**

1. <http://www.krasiagr.com/ti-einai-ta-oxidwmena-krasia/>
2. <http://cypruswineacademy.eu/archives/182>
3. <https://ampeloeniki.gr/wp-content/uploads/2019/08/Pvpp.pdf>
4. [http://nestor.teipel.gr/xmlui/bitstream/handle/123456789/14232/STEG\\_TEGEP\\_00040\\_Medium.pdf?sequence=1](http://nestor.teipel.gr/xmlui/bitstream/handle/123456789/14232/STEG_TEGEP_00040_Medium.pdf?sequence=1)
5. <https://wineplus.gr/el/wine-school/Wine-Varieties-Malagousia.47/&tid=47>
6. <http://dspace.aua.gr/xmlui/handle/10329/6549>
7. <https://oinologio.wordpress.com/2018/04/15/ti-einai-ta-oxeidomena-krasia/>
8. <https://kontologis.gr/2020/08/22/ti-einai-oxeidosi-ti-prokalei-sto-krasi-kai-pos-boro-na-xero-ean-krasi-mou-einai-oxeidomeno/>
9. <https://www.argatia.gr/view.php?w=8>
10. [http://www.rira.gr/el-GR/%CE%9C%CE%B1%CE%BB%CE%B1%CE%B3%CE%BF%CF%85%CE%B6%CE%B9%CE%AC-%CF%8E%CF%81%CE%B1-%CE%BD%CE%B1-%CF%84%CE%B7-%CE%B3%CE%BD%CF%89%CF%81%CE%AF%CF%83%CE%BF%CF%85%CE%BC%CE%B5,-%CE%B1%CF%80%CE%BB%CE%AC%E2%80%A6\\_n-33.aspx](http://www.rira.gr/el-GR/%CE%9C%CE%B1%CE%BB%CE%B1%CE%B3%CE%BF%CF%85%CE%B6%CE%B9%CE%AC-%CF%8E%CF%81%CE%B1-%CE%BD%CE%B1-%CF%84%CE%B7-%CE%B3%CE%BD%CF%89%CF%81%CE%AF%CF%83%CE%BF%CF%85%CE%BC%CE%B5,-%CE%B1%CF%80%CE%BB%CE%AC%E2%80%A6_n-33.aspx)
11. <https://www.infowine.gr/el/winepedia/enology/vinification/?nid=527>
12. [7 Ενζυμική αμαύρωση.pdf](#)