



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

Πτυχιακή Εργασία

ΤΙΤΛΟΣ:

**«Συγκριτική μελέτη παλαιωμένων brandy
ως προς την φαινολική τους σύσταση και την αντιοξειδωτική τους ικανότητα»**

Συγγραφέας:

ΣΟΥΓΙΑ ΛΑΜΠΡΙΝΗ

A.M. 151087



ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ:

ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ

ΑΘΗΝΑ, ΜΑΡΤΙΟΣ 2022



UNIVERSITY OF WEST ATTICA

FOOD SCIENCES FACULTY

DEPARTMENT OF WINE, VINE AND BEVERAGE SCIENCES

Diploma Thesis

Title:

**«Comparative study of aged brandy –
evaluation of their phenolic composition and antioxidant capacity»**

Student:

SOUGIA LAMPRINI

Registration Number: 151087

Supervisor:

EVANGELOU ALEXANDRA

ATHENS, MARCH 2022



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ

Τίτλος πτυχιακής εργασίας:

**«Συγκριτική μελέτη παλαιωμένων brandy ως προς την φαινολική τους σύσταση
και την αντιοξειδωτική τους ικανότητα»**

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή

Η πτυχιακή εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

α/α	ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
1	ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ	ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟΣ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ	
2	ΧΑΤΖΗΛΑΖΑΡΟΥ ΑΡΧΟΝΤΟΥΛΑ	ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ	
3	ΣΕΧΑΝΤΕ ΑΤΝΑΝ	ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη **ΣΟΥΓΙΑ ΛΑΜΠΡΙΝΗ** του **ΑΝΔΡΕΑ** με αριθμό μητρώου **151087** φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα 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, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

ΣΟΥΓΙΑ ΛΑΜΠΡΙΝΗ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μπράντι (brandy) ορίζεται το αλκοολούχο ποτό που προέρχεται από την απόσταξη ζυμούμενων φρούτων, όπως σταφύλια, μήλα, αχλάδια, κεράσια ή δαμάσκηνα. Όταν παραχθεί από αποσταγμένο οίνο, προερχόμενο από σταφύλια ονομάζεται μπράντι σταφυλιού (grape brandy), ενώ αν ο ζυμούμενος χυμός προέρχεται από δαμάσκηνα, τότε προκύπτει το μπράντι δαμάσκηνου (plum brandy). Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε σύγκριση ως προς την σύσταση των φαινολικών ουσιών και ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα δύο ειδών brandy, δεκαετούς παλαιώσης: ενός brandy από σταφύλια και συγκεκριμένα του "Brandy Ararat", που παράγεται στην Αρμενία και ενός brandy από δαμάσκηνα και συγκεκριμένα του "Slivovitz Rudolf Jelinek", που παράγεται στην Τσεχία. Ο προσδιορισμός των συνολικών φαινολικών ουσιών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Folin Ciocalteu και ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο DPPH και με τη μέθοδο ABTS. Επίσης, πραγματοποιήθηκε μία ποιοτική σύγκριση των δύο ειδών brandy με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης, εστιάζοντας κυρίως σε ενώσεις κατεχίνης, γνωστές για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Το plum brandy προσδιορίστηκε να έχει μεγαλύτερο ποσό φαινολικών ουσιών και μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα με τη μέθοδο DPPH. Με την υγρή χρωματογραφία HPLC, ανιχνεύθηκε πρωτοκατεχίνη μόνο στο δείγμα grape brandy, ενώ η επικατεχίνη ανιχνεύθηκε μόνο στο δείγμα plum brandy. Επίσης, κατεχίνη ανιχνεύθηκε και στα δύο είδη, σε μεγαλύτερη ποσότητα στο plum brandy, κρίνοντας από το ύψος της αντίστοιχης κορυφής.

ABSTRACT

Brandy is an alcoholic beverage derived from the distillation of fermented fruits, such as grapes, apples, pears, cherries or plums. When produced from distilled wine, derived from grapes is called grape brandy, while if the fermented juice comes from plums, then plum brandy is obtained. In the present work a comparison was made in terms of the composition of phenolic substances and in terms of antioxidant capacity of two types of ten years old brandy: a grape brandy and specifically of "Brandy Ararat", produced in Armenia and a plum brandy, specifically of Slivovitz Rudolf Jelinek", produced in the Czech Republic. The determination of total phenolic substances was performed by the Folin Ciocalteu method and the determination of their antioxidant capacity was performed by two methods, DPPH and ABTS. Also, a qualitative comparison of the two types of brandy with RP-HPLC was performed, focusing mainly on catechin compounds, known for their antioxidant capacity. Plum brandy was determined to have a higher amount of phenolic substances and greater antioxidant capacity by the DPPH method. By HPLC liquid chromatography, protocatechin was detected only in the grape brandy sample, while epicatechin was detected only in the plum brandy sample. Also, catechin was detected in both species, in larger quantities in plum brandy, judging by the height of the respective peak.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κυρία Αλεξάνδρα Ευαγγέλου για τις γνώσεις και την βοήθειά της, σε όλο το διάστημα της διεξαγωγής της πτυχιακής μου εργασίας.

Επίσης, ευχαριστώ ιδιαίτερα την κυρία Χατζηλαζάρου Αρχοντούλα που στάθηκε αρωγός στην προσπάθεια ανάλυσης των δειγμάτων με τον χρωματογράφο HPLC. Είμαι ευγνώμων απέναντι στον κύριο Σεχάντε Αντνάν για τις συνεχείς διορθώσεις και παρατηρήσεις που μας ώθησαν στην βελτίωση. Ακόμα, οφείλω να ευχαριστήσω την κυρία Ξηρογιάννη για την υλική και ψυχολογική υποστήριξη.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου και στον σύντροφο μου που πάντα είναι δίπλα μου και με εμπυχώνουν.

Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη / Abstract	2
A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
1.1 ΟΡΙΣΜΟΙ	6
1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	8
1.2.1 Grape Brandy.....	8
1.2.2 Slivovitz.....	10
1.3 ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΑΝΑ ΤΟΝ ΚΟΣΜΟ ΓΝΩΣΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ BRANDY	11
1.3.1 Αποστάγματα Σταφυλής / Grape Brandy	11
1.3.2 Αποστάγματα Δαμάσκηνου/Plum Brandy	15
1.4 ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ ΚΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΕΣ ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ BRANDY	17
1.4.1 Brandy από σταφύλι.....	17
1.4.2 Brandy από δαμάσκηνο.....	18
1.5 ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	19
1.5.1 Παραγωγή brandy από σταφύλια	19
1.5.2 Παραγωγή brandy από δαμάσκηνα	24
1.6 ΠΑΛΑΙΩΣΗ BRANDY.....	26
1.6.1 Βαρέλι για παλαίωση.....	27
1.6.2 Συνθήκες ωρίμανσης.....	27
1.6.3 Προσφορά Βαρελιού Στο Απόσταγμα.....	27
1.6.4 Ωρίμανση σε Ανοξειδωτή Δεξαμενή και Glass Demijonhs	28
1.7 ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΩΡΙΜΑΝΣΗ	31
1.8 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ GRAPE BRANDY ΚΑΙ PLUM BRANDY	33
1.8.1 Grape Brandy.....	33
1.8.2 Plum Brandy.....	34
1.9 ΓΕΥΣΙΓΝΩΣΙΑ BRANDY.....	35
2. ΧΗΜΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ	36
2.1 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ.....	36
2.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....	40
2.2.1 Οι Ελεύθερες Ρίζες.....	40
2.2.2 Ορισμός και Ενώσεις Αντιοξειδωτικών	41
2.3 ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ GRAPE BRANDY ΚΑΙ ΤΟΥ PLUM BRANDY	46
3. ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ	49

3.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ – ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN-CIOCALTEU	49
3.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ.....	50
3.2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ DDPH.....	50
3.2.2. ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS.....	51
3.3 ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΕΩΣ (HPLC).....	52
3.3.1 Γενικά	52
3.3.2 Αρχή της Μεθόδου	53
3.3.3 Οργανολογία.....	53
3.3.4. Σημαντική Ορολογία	57
ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	59
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	60
1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΣΤΙΚΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN-CIOCALTEU	60
1.1 Υλικά - Εξοπλισμός	60
1.2 Πειραματική Πορεία	60
2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ.....	62
2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ DDPH.....	62
2.1.1 Υλικά - Εξοπλισμός	62
2.1.2 Πειραματική Πορεία	62
2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS	64
2.2.1 Υλικά - Εξοπλισμός	64
2.2.2 Πειραματική Πορεία	64
3. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ RP-HPLC	66
3.1 Αντιδραστήρια - Εξοπλισμός.....	66
3.2 Συνθήκες.....	67
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	67
1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN-CIOCALTEAU	67
2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ	69
2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ DDPH	69
2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS	71
3. ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ BRANDY ΜΕ HPLC.....	73
Βιβλιογραφία	82

Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΙ

Ως μπράντι (brandy) ορίζεται το αλκοολούχο ποτό που προέρχεται από την απόσταξη ζυμούμενων φρούτων. Πιο συγκεκριμένα όταν παραχθεί από αποσταγμένο οίνο, προερχόμενο από σταφύλια ονομάζεται grape brandy ή μπράντι σταφυλιού (https://www.athinorama.gr/umami/spirits/articles/all_that_brandy-2001692.html). Αν όμως ο ζυμούμενος χυμός των φρούτων που υφίσταται απόσταξη, προέρχεται από δαμάσκηνα, τότε το τελικό οινοπνευματώδες ποτό ονομάζεται slivonitz ή plum brandy ή μπράντι δαμάσκηνου (άλλες ονομασίες: slivonka, slivonitza, slivonitsa, slibovičã, šljivonica, śliwowica, Schlivowitz, slivovice ή slivonica) (<https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Slivovitz&action=history>).

Εκτός από σταφύλια ή δαμάσκηνα, brandy μπορεί να παραχθεί με απόσταξη και άλλων φρούτων, όπως μήλα, αχλάδια, κεράσια ή ροδάκινα.



Εικόνα 1: Δαμάσκηνο slivja



Εικόνα 2: Slivovitz



Εικόνα 3: Brandy Ararat



Εικόνα 4: Σταφύλια Αρμενίας

Διαφορά Cognac – Brandy

Το cognac με το brandy παρουσιάζουν κάποιες στοιχειώδεις διαφορές. Η πρώτη σημαντική διαφορά σχετίζεται με την πρώτη ύλη. Στο Cognac χρησιμοποιούνται σταφύλια Ugni Blanc ή Trebbiano, ενώ το Brandy προκύπτει από ζυμούμενα φρούτα οποιασδήποτε προέλευσης. Έπειτα, η γεωγραφική τοποθεσία αποτελεί σημαντικό παράγοντα διαφοροποίησης. Για να ονομαστεί cognac, χρειάζεται να προέρχεται από τις παρακάτω περιοχές: «Grand Champagne» «Petite Champagne», « Borderies», «Fin bois», «Bon Bois» και «Bois Ordinaire» Σε περίπτωση που το brandy προέρχεται κατά 50% από αμπελώνες της «Grand Champagne» και κατά 50% από αμπελώνες της «Petite Champagne», τότε ονομάζεται «Fine Champagne» (WSET Spirits, “Looking behind the label”, 2017).

www.townandcountrymag.com/leisure/drinks/a14402668/cognac-vs-brandy
www.cognac.fr/decouvrir/vignoble/les-crus

Τα brandies φρούτων μπορούν να παραχθούν σε όλο τον κόσμο με αυτή την ονομασία. Επίσης ανάλογα με την ωρίμανση τους και οι δύο κατηγορίες λαμβάνουν συγκεκριμένες ενδείξεις στην ετικέτα , που είναι στοιχείο της ταυτότητας τους.
<https://www.townandcountrymag.com/leisure/drinks/a14402668/cognac-vs-brandy/>.

Επιπλέον, σε ορισμένες κορυφαίες εταιρείες, όπως η Hennessy, υπάρχει «τελετουργικό» γευσίγνωσίας 40 διαφορετικών αποσταγμάτων πριν αναμειχθούν για τον καθορισμό των αναλογιών που πρέπει να υπάρχουν στο τελικό προϊόν. Για την διαδικασία αυτή, απαιτούνται 10 χρόνια εκπαίδευσης για τον συγκεκριμένο εργαζόμενο που θα την αναλάβει.

<https://www.townandcountrymag.com/leisure/drinks/a14402668/cognac-vs-brandy/>.



Εικόνα 5. Φρούτα που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή brandy.

1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

1.2.1 Grape Brandy

Ο ολλανδικός όρος «Brandwijn» μεταφράζεται ως καμένο κρασί. Στην αγγλική γλώσσα αναφέρεται ως «burnt-wine». Επίσης το συναντά κανείς ως branntwein στη Γερμανία και Branvin στη Σουηδία και η λέξη «καμένο» παραπέμπει στην απόσταξη καθώς και την θερμότητα που αυτή εκπέμπει.

Η εκκίνηση της ιστορίας του παρόντος αλκοολούχου ποτού χρονολογείται κάπου στον 14ο αιώνα (Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007). Ως αρχαιότερο brandy, χαρακτηρίζεται το Armagnac. Ήταν το γιατρικό ενός καρδινάλιου ονόματι Prior Vital du Four περί τα 1310.

Περίπου από το 15^ο αιώνα και έπειτα, διάφορα ευρήματα μαρτυρούν την σύνδεση των Ολλανδών με την παραγωγή της αλκοόλης. Πρόκειται για μια συνάντηση καθοριστικής σημασίας. Οι Ολλανδοί ασχολούνταν με το εμπόριο, ένας τομέας που ήκμασε στην εποχή της οικονομικής ανεξαρτησίας και της ελευθερίας. Βρέθηκαν αρκετά καινοτόμοι όσων αφορά τα προϊόντα τους, λόγω της έλλειψης των αγαθών υψηλής χρηματικής αξίας. Κατά συνέπεια, δεν είχαν και ιδιαίτερους κινδύνους ζημίας λόγω μικρής διαθεσιμότητας τέτοιων προϊόντων στην αγορά. Άλλωστε δεν υπήρχε η βοήθεια μέσω των μηχανημάτων, αφού δεν είχε προέλθει ακόμα εξέλιξη σε τέτοιο βαθμό.

Λίγο μετά την αποκοπή των Ολλανδών από τον ισπανικό λαό, οι πρώτοι βρέθηκαν σε δύο γαλλικές πόλεις: τη Φλάνδρα και το Μονπελιέ. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι τα αποστάγματα χρησιμοποιούνταν από αυτούς για να διατηρηθεί ο οίνος κατά την διανομή του στους πελάτες τους. Συνεπώς, εφηύραν μεν καλύτερες μεθόδους κατεργασίας αλλά ανακάλυψαν δε και την έλξη που τους δημιουργήθηκε για τα αποστάγματα (Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Μετά από την εξάπλωση των συγκεκριμένων ποτών, οι μεγάλες ποσότητες πρώτης ύλης που δεν ήταν άλλη από το σταφύλι ήταν επιτακτικά αναγκαίες. Έτσι προέβησαν σε φυτεύσεις με ποικιλίες υψηλής ποσοτικής απόδοσης αλλά όχι ισάξιας ποιοτικής. Τα αποτελέσματα αυτών των αλλαγών οδήγησαν στην απόκτηση

τεράστιων όγκων αποστάγματος τον 17ο αιώνα. Για την διοχέτευση τους στην αγορά ήταν χρήσιμα εργαλεία, που μεταγενέστερα αποτέλεσαν παραγωγική τεχνική. Ταξιδεύοντας ως έμποροι με πλοία, φρόντισαν να τα επανδρώσουν με βαρέλια, έτσι ώστε να μπορούν να έχουν μαζί τους τα brandy (Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Τα Armagnac προσφέρονταν σε περιοχές όπως Saint-Sever, του Mont-de-Marsan και του Aire-sur-l'Adour (Independent, 2010).

(<https://www.independent.co.uk/life-style/food-and-drink/france-vaunts-40-virtues-of-armagnac-1891949.html>)

Ήδη είχε θεσπιστεί ένας ιδιαίτερος όρος που δεν ήταν άλλος από το διατλαντικό εμπόριο τριγώνων με πρωταγωνιστή της τελετής εκκίνησης το cognac ή brandy σταφυλής. Ήταν ένα είδος συναλλαγών που διαδραματιζόταν ανάμεσα σε τρία λιμάνια ή τρεις περιοχές. Αυτές ήταν η βρετανική Βόρεια Αμερική, η Δυτική Αφρική και οι Δυτικές Ινδίες. Ανάμεσα στις δύο τελευταίες, η θαλάσσια ζώνη ονομαζόταν Middle Passage ή Μέσο Πέρασμα, όπου λάμβανε χώρα το αφρικανικό δουλεμπόριο. Όσοι ήταν φύλακες αφρικανοί από την πλευρά της πατρίδας τους, για αντίτιμο στις υπηρεσίες τους εκλάμβαναν κονιάκ γαλλικό (Sandage Tom, 2006).

Ένα επιπρόσθετο συστατικό ήταν ο άρκευθος που χρησιμοποιήθηκε για αρωματισμό, με στόχο τους Άγγλους καταναλωτές. Η φορολογία λόγω καινοτομίας ήταν λιγοστή στην Οράγκη.

Οι Ολλανδοί κυρίευαν τον αποστακτικό κλάδο στον Cognac. Αφ' ενός ήλεγχαν τις συναλλαγές των παραγωγικών μονάδων αλλά παρακολουθούσαν και τις καλλιέργειες των σταφυλιών. Οι Γάλλοι ξεκίνησαν να έχουν ενασχόληση με τα αποστάγματα με την στήριξη της ηγεσίας. Αυτό αργότερα καταλήφθηκε από τον Λουδοβίκο τον 14ο. Τα κέρδη των διακινητών αυτού του είδους αλκοόλ βρέθηκαν σε υψηλά επίπεδα μετά τις διαμάχες και τον εναρμονισμό του με τους στρατιώτες. Οδηγήθηκαν στην απαγόρευση των αλκοολούχων ποτών από απόσταση μελάσας και μίλων και κατ' επέκταση στην ευρύτερη ποτοαπαγόρευση για όσα προέρχονταν από ανεξάρτητους παραγωγούς.

Στα χρόνια του Ναπολέοντα ήταν οι χρυσές εποχές για τα brandy. Η φήμη τους έφτασε μέχρι την Ρωσία και κορυφώθηκε στην Αγγλία το 1835. Παρ' όλα αυτά η φυλλοξήρα ανέστειλε αυτό το ταξίδι, εξαφανίζοντας την πλειοψηφία των σταφυλιών (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Πιο μεγάλοι όγκοι αποστάγματος παρατηρούνταν όπου άνθιζε και η παραγωγή πρέμνων της αμπέλου. Δεν ήταν μόνο οι δυτικοί Ευρωπαίοι, αλλά ενεργοποιήθηκαν και όσοι κατοικούν ανατολικότερα. Ειδικότερα, το 1884 στην πρωτεύουσα της Γεωργίας φτιάχτηκε το πρώτο εργοστασιακό αποστακτήριο από τον ποτοποιό David Sarajishvili (Alexey Pozdnyakov, 2011).

(https://www.trud.ru/article/28-04-2011/262342_istorija_kizljarskogo_konjaka_i_zavoda_ot_petra_i_do_nashix_dnej_c_hast_4.html)

Επίσης στον 19^ο αιώνα, τα αποστάγματα κρασιού έφτασαν στην Ελλάδα μαζί με τις αποστακτικές στήλες σε εργοστασιακό επίπεδο. Η αγορά είχε σχέσεις προσφοράς-ζήτησης σχετικά με τα αποστάγματα στεμφύλων (Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

1.2.2 Slivovitz

Σε αυτό το οινοπνευματώδες ποτό η ιστορική ανασκόπηση είναι λίγο πιο ιδιαίτερη. Διαφοροποιούνται τόσο τα γεγονότα όσο και οι μέθοδοι αλλά και οι συμβολισμοί που σχετίζονται με το brandy από δαμάσκηνα. Στα Βαλκάνια , οι καταγραφές για “κονιάκ από δαμάσκηνα”, εμπίπτουν από τον 7ο αιώνα μ.Χ.(N. Nikićević, 2021).

Σύμφωνα με τις πηγές της Βουλγαρίας, το plum brandy ή αλλιώς το Trojanska Slivona, είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με τις μοναστηριακές κοινότητες. Αποτέλεσε συνταγή που μεταλαμπαδεύτηκε από τις παλαιότερες γενιές μοναχών στις νεότερες, ενώ απέσπασε τον 19ο αιώνα βραβείο της τρίτης θέσης σε φεστιβάλ αλκοολούχων ποτών, το οποίο πραγματοποιήθηκε στο Βέλγιο.

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν βοτανικού χαρακτήρα, ενώ ορισμένα «Slivona» δημιουργούνται από τα «Madzharkini Plums», που είναι δαμάσκηνα πλούσια σε χυμό και αρώματα, αλλά και δομή που καθιστά εύκολη την εξαγωγή του κουκουτσιού. Φύονται στην τοποθεσία Trojan, γνωστή για την αυτοκρατορία της από τον Ρωμαίο Ηγεμόνα Τραϊανό. Επίσης συναντάται και η ποικιλία δαμάσκηνου «Teteven».

Ως αξιόλογο επίτευγμα θα μπορούσε να αποκαλεστεί το γεγονός της διασφάλισης εμπορικού σήματος το 2007 στην Ευρωπαϊκή Ένωση , που κατάφερε το αποσταγματοποιείο Rudolf Jelinek με έδρα την Τσεχία μαζί με τους Βούλγαρους αρμόδιους. Αυτό σημαίνει ότι στην καταχώρηση αυτή ανήκουν οι βουλγάρικες ονομασίες «Trojaska Slivona» όσο και «Tetevenska slivona».

Βέβαια αργότερα οι αλκοολικοί τίτλοι των παραγόμενων αποσταγμάτων κατακρημνίστηκαν με σκοπό την ελάχιστη φορολογία. Οι παραδόσεις αναβιώνουν εδώ και δεκαοχτώ έτη μέσω της ετήσιας διεκπεραίωσης του Φεστιβάλ δαμάσκηνου στο χωριό Oreshak του Trojan, κάθε Σεπτέμβριο. Χώρες όπως, η Τσεχία, η Σλοβακία και η Ουγγαρία αποκαλούν, με διαφορετική ονομασία, το απόσταγμα δαμάσκηνου και αυτό είναι slivonice ή slivonica (<https://en.wikipedia.org/wiki/Slivovitz>)

Ιδιαίτερα στην Τσεχία τον 19ο αιώνα έγινε μια εκτόξευση στις επιχειρήσεις από το απόσταγμα , καθώς οι αγροτικές καλλιέργειες είχαν ως προτεραιότητα τα δαμάσκηνα (<https://rjelinek.cz/nas-pribeh/>)

Στην Πολωνία, η slivovitz βρίσκεται όχι μόνο λόγω ιστορικής σημασίας αλλά και λόγω θρησκευτικής. Η Εβραϊκή κοινότητα έχει συνδέσει αυτό το οινοπνευματώδες απόσταγμα φρούτου με την θρησκευτική γιορτή του Πάσχα. Η διάδοση του ήταν ηχηρή κατά τον Β΄ Παγκόσμιο Πόλεμο. Μέχρι το 1989 παράγονταν με ειδική τελετουργία Rejsachówka, όμως έπειτα έπαυσε.

Η τελευταία αλλά υψίστης σημασίας διασύνδεση της είναι με τη Σερβία. Πρόκειται για τη χώρα που έχει εξασφαλίσει την Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης της Šljivovica (шљивовица) ή rakija. Έχει κατοχυρώσει το εμπορικό σήμα της, το 2007 με ονομασία "Serbian Slivovitz" (<https://en.wikipedia.org/wiki/Slivovitz>).

1.3 ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΑΝΑ ΤΟΝ ΚΟΣΜΟ ΓΝΩΣΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ BRANDY

1.3.1 Αποστάγματα Σταφυλής / Grape Brandy

- **ΓΑΛΛΙΑ (Cognac, Armagnac)**

Πρωταγωνίστρια στην παραγωγή του brandy σταφυλής είναι η Γαλλία με μοναδική ταυτότητα και επωνυμία στην εκάστοτε γεωγραφική περιοχή. Το Cognac της Γαλλίας αποτελεί «σήμα κατατεθέν» του συνδυασμού απόσταγμα με σταφύλι. Διατηρεί ολόκληρες δεκαετίες την προστατευόμενη γεωγραφική ένδειξη (Appellation d'origine controlee) «AOC Cognac» (Συλίνγκράχαμ, 2022) (<https://el.hiloved.com/%CF%84%CE%B9-%CF%80%CF%81%CE%AD%CF%80%CE%B5%CE%B9-%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CE%AD%CF%81%CE%B5%CF%84%CE%B5-%CE%B3%CE%B9%CE%B1-%CF%84%CE%B7%CE%BD-brandy/>).

Το Cognac διαβρέχεται από τον ποταμό Charente, στις όχθες του οποίου εκτείνεται. Το μικρότερο μέρος του βρίσκεται στην δεξιά πλευρά και ονομάζεται Saint-Jacques.

Εξαιρετικής σημασίας για την παραγωγή του κονιάκ, αποτελούν οι δύο αμπελώνες που ονομάζονται «Grand Champagne» και «Petite Champagne», ενώ υπάρχουν ακόμα οι παρακάτω: «Borderies», «Fin bois», «Bon Bois» και «Bois Ordinaire» («Le crus de l'appellation Cognac» Cognac France, 2020). Σε περίπτωση που το brandy προέρχεται κατά 50% από αμπελώνες της «Grand Champagne» και κατά 50% από αμπελώνες της «Petite Champagne», τότε ονομάζεται «Fine Champagne» (WSET Spirits, "Looking behind the label", 2017). Τα καλύτερης ποιότητας Cognac παράγονται στην Grand Champagne δίνοντας πιο ανθικό χαρακτήρα που αφήνει φρεσκάδα.

Μια άλλη περίφημη παραγωγή είναι αυτή του Armagnac. Εκτείνεται στην περιοχή της νοτιοδυτικής Γαλλίας, κοντά στην Γασκώνη (Συλίνγκράχαμ, 2022). Βρέχεται από δύο ποταμούς, Adour και Garonne. Επίσης είναι στην αρχή των Πυρηναίων Όρων. Διαφυλάττει την Προστατευόμενη Γεωγραφική Ένδειξη Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) από το 1936. Οι αμπελοκαλλιέργειες εκτείνονται συνολικά στα 15.000 στρέμματα. Από το 1909 και έπειτα η περιοχή χωρίζεται σε τρεις υποπεριοχές:

- Bas-Armagnac
- Armagnac-Ténaresse
- Haut-Armagnac

Όσοι αποσταγματοποιοί παράγουν μικρές ποσότητες και λίγες ετικέτες, αναφέρονται ως «Château» (<https://en.wikipedia.org/wiki/Armagnac>).

● BRANDY ΜΕ ΑΡΩΜΑ ΑΡΜΕΝΙΑΣ

Μια ακόμα πιο ξεχωριστή διαδρομή έχει κάνει το διαχρονικό αποσταγματοποιείο στην Αρμενία, με τη σημερινή επωνυμία *Yerevan Brandy Company*. Αντικατοπτρίζει την έμπνευση που είχε ο Nekren Tairyan (Tairon) μαζί με ένα συγγενικό του πρόσωπο με όραμα τη δημιουργία ενός δεσποτικού οικοδομήματος σε ένα ιστορικό σημείο. Προηγήθηκε ένα σχυρό ονόματι Εριβάν, στην εποχή της περσικής αυτοκρατορίας, στο οποίο αργότερα επέλασαν οι Ρώσοι (<https://www.advantour.com/armenia/yerevan/ararat-cognac-factory.htm>).

Γενικότερα, η λέξη «Yerevan», σημαίνει «εμφανίστηκε». Αναφέρεται στο όρος Ararat, το οποίο φάνηκε, σύμφωνα με τον θρύλο, μετά τον κατακλυσμό που έριξε ο Θεός. Βέβαια, το όνομα του όρους προέρχεται από τον μεγαλιότατο Γερβάντ Γ' του Εσχάτου (<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%93%CE%B5%CF%81%CE%B5%CE%B2%CE%AC%CE%BD>).

Το 1887 η μικρή παραγωγική μονάδα ξεκίνησε να παράγει brandy από σταφύλια, με την γαλλική τεχνογνωσία. Το όνομα που πήρε ήταν επίσης της ίδιας προέλευσης, αποκαλώντας το νέο εγχείρημα «Fine Champagne», χωρίς να τους υποβληθούν κυρώσεις παρά την διαφορετική γεωγραφική περιοχή που το φιλοξενούσε. Τρία χρόνια αργότερα, πέρασε ολοκληρωτικά στα χέρια ενός άλλου ιδιοκτήτη, του Nikolay Shustov, που ήταν ρωσικής καταγωγής. Αυτός έμελλε να του προσφέρει την κορύφωση, αφού η συμμετοχή του βραβεύτηκε με Grand Prix στην πρωτεύουσα της Γαλλίας και οι αποστακτήρες δεν σταματούσαν την λειτουργία τους για την ικανοποίηση των αναγκών της αγοράς. Ακόμη μια επιτυχία ήταν η αποκλειστική συνεργασία του αποσταγματοποιείου με τα ανάκτορα για χάρη του αυτοκράτορα.

Λίγο αργότερα το 1953, κατέκτησε το μονοπώλιο αφού μετακόμισε κοντά στον ποταμό Razdan, ενώ οι ανταγωνιστές του αναγκάστηκαν να αλλάξουν καριέρα και παραγόμενα προϊόντα. Εκεί έγινε και η επίσημη ονοματοδοσία που φέρει μέχρι και σήμερα. Πλέον το brand, η φιλοσοφία, οι συνταγές του αρμένικου κονιάκ αλλά και το ιστορικό του μουσείο ανήκουν στον όμιλο της Pernod Ricard (<https://www.advantour.com/armenia/yerevan/ararat-cognac-factory.htm>).

Ο αλκοολικός του τίτλος κυμαίνεται σε μία ευρεία κλίμακα, λαμβάνοντας τιμές από 40%vol (<https://www.qualitywines.gr/index.php/el/ar/%CE%B1r%CE%B1t-%CE%BC%CF%80%CF%81%CE%AC%CE%BD%CF%84%CF%85/ararat-brandy-10-%CE%B5%CF%84%CF%8E%CE%BD-%CE%B1%CF%87%CF%84%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%81-detail>).

- **ΙΣΠΑΝΙΑ (Brandy de Jerez)**

Εξαιρετικής σημασίας τα τελευταία χρόνια αποδεικνύεται το ισπανικό Brandy. Το *Brandy de Jerez* αποτελεί την Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης της χώρας (DO). Το τελικό απόσταγμα είναι περιεκτικότητας 36-40° σε αλκοόλ (<https://gr.nctodo.com/brandy-de-jerez>). Απαραίτητη δε προϋπόθεση αποτελεί η προέλευση του να είναι από τις παρακάτω περιοχές: Jerez de la Frontera, El Puerto de Santa María και Sanlúcar de Barrameda (https://en.wikipedia.org/wiki/Brandy_de_Jerez).

Παλαιότερα χρησιμοποιούνταν στην εναλλακτική ιατρική σαν γιατροσόφι. Το χρώμα του είναι κεχριμπαρί, ενώ παλαιώνει σε αμερικανικά βαρέλια που ως προηγούμενο περιεχόμενο είχαν μέσα «Sherry» για 3 συναπτά έτη. Η αναγκαία ποσότητα για την απόσταξη και την παραγωγή 1 λίτρου τέτοιου τύπου brandy χρειάζονται 4 λίτρα κρασιού (<https://gr.nctodo.com/brandy-de-jerez>).

Ως σύστημα ωρίμανσης χρησιμοποιείται το σύστημα «solera». Ορίζεται ως η εντατική ανάμειξη brandy αλλά και άλλων ειδών όπως κρασί, ξύδι, κατά την οποία μεταγγίζονται αποστάγματα διαφορετικής ηλικίας εκατέρωθεν, με σκοπό την επίτευξη ενός προϊόντος με ιδιαίτερο στυλ. Είναι ομογενοποιημένο έτσι ώστε να κατακτά τα χαρακτηριστικά μιας μέσης ηλικίας, γεγονός που καθιστά συνεπή την ταυτότητά του. Η μεταφερόμενη ποσότητα είναι περίπου το 40% της πρωταρχικής (<https://en.wikipedia.org/wiki/Solera>).

Αξίζει να σημειωθεί ότι συναντώνται και πάλι οι ωριμάνσεις στις ετικέτες, κατηγοριοποιώντας τα ως εξής:

- Brandy de Jerez Solera: Είναι απαραίτητη η παραμονή σε βαρέλι από Sherry για 6 μήνες, ενώ τα συστατικά που είναι πτητικά πρέπει να βρίσκονται σε αναλογία 150 mg/100cm³ αιθυλικής αλκοόλης
- Brandy de Jerez Solera Reserva: Στη συγκεκριμένη κατηγορία, αναγκαία είναι η ωρίμανση ενός έτους σε βαρέλια προερχόμενα από Sherry, ενώ οι πτητικές ενώσεις αυξανόμενες να βρίσκονται στο ύψος των 200 mg/100cm³ αιθυλικής αλκοόλης.
- Brandy de Jerez Solera Gran Reserva: Τέλος, η μεγαλύτερη παλαίωση αγγίζει τα 3 χρόνια, ενώ η πτητική σύσταση τα επίπεδα των 250 mg/100cm³ αιθυλικής αλκοόλης (<https://gr.nctodo.com/brandy-de-jerez>).

- **ΠΕΡΟΥ – ΧΙΛΗ (Pisco)**

Ένα μοντέρνο brandy που κυριαρχεί στις τάσεις είναι το «Pisco», το οποίο παράγεται από διάφορες αρωματικές και μη ποικιλίες σταφυλιού. Αποστάζεται ο ζυμούμενος χυμός του σταφυλιού. Η ταυτότητά του η αρωματική προέρχεται τόσο από τις αλκοόλες και τα τερπένια όσο και από διάφορους εστέρες αλλά και αλδεΐδες όπως η φουρφουράλη (Ahmed Menevseoglu, Didem P. Aykas, Beatriz Hatta-Sakoda, Victor Hugo Toledo - Herrera, Luis E. Rodriguez- Saona, 2021).

Οι χώρες προέλευσης του αφ' ενός είναι το Περού, και η Χιλή. Προσφέρονται τέσσερα είδη pisco στο Περού, τα οποία είναι «Pisco puro», «Pisco aromatico», «Pisco mosto verde» και «Pisco acholado». Στην Χιλή παρέχονται τα εξής: Pisco Corriente ο

Tradicional, Pisco Especial, Pisco Reservado, Gran Pisco. Το χρώμα του είναι άχρωμο ή ελαφρώς κιτρινωπό σε περίπτωση που προέρχεται από τη Χιλή(<https://en.wikipedia.org/wiki/Pisco>).

Η βασική τους διαφορά είναι ότι το Περού απαγορεύει τη χρήση βαρελιού για την ωρίμανση του ποτού , ενώ η Χιλή το επιτρέπει για μικρό χρονικό διάστημα (WSET, “Looking behind the label”, 2017).



Εικόνα 6: Μια συλλογή από Pisco στο Περού

- **ΙΤΑΛΙΑ (Vecchia Romagna, Grappa)**

Στον ιταλικό κόσμο υπάρχει ευρεία δημιουργικότητα τόσο από σταφυλοχυμό όσο και από τα στέμφυλα των σταφυλιών ή ακόμα και τους πυρήνες. Πιο συγκεκριμένα στις περιοχές του Veneto και της Emilia-Romagna παράγεται το απόσταγμα σταφυλής Stravecchio. Ο αλκοολικός του τίτλος είναι 60%vol (<https://en.wikipedia.org/wiki/Brandy>, www.krasiagr.com/top-10-pio-dinatwn-potwn-ston-kosmo/).

Όμως σημαντικότερο προϊόν απόσταξης αποτελεί η Grappa, καθώς εκμεταλλεύεται τα απόβλητα της οινοποίησης. Αυτά μπορεί να είναι υπολείμματα από ρώγες, δηλαδή την σάρκα και τις φλουδές ενός σταφυλιού, αλλά και των πυρήνων τους.

(<https://el.hiloved.com/%CF%84%CE%B9-%CF%80%CF%81%CE%AD%CF%80%CE%B5%CE%B9-%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CE%AD%CF%81%CE%B5%CF%84%CE%B5-%CE%B3%CE%B9%CE%B1-%CF%84%CE%B7%CE%BD-brandy/>).

- **ΕΛΛΑΔΑ**

Στην Ελλάδα, υπάρχουν επίσης αποσταγματοποιεία με κεντρικό άξονα τα brandy. Πιο σημαντικό είναι το ΜΕΤΑΧΑ, το οποίο είναι ένα brandy από ζυμωμένο σταφυλοχυμό που έχει παλαιώσει σε βαρέλια (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007). Έπειτα, ένα δεύτερο μίγμα Μοσχάτου Αλεξανδρείας και Μοσχάτου Σάμου ωριμάζει το λιγότερο για 2 έτη. Παράλληλα, προετοιμάζεται ένα ακόμα μείγμα από

βότανα. Τα τρία διαφορετικά υγρά διαλύματα αναμειγνύονται και προκύπτει το τελικό μίγμα , που θα παλαιωθεί εκ νέου (<https://www.elenianna.gr/metaxas>).

- **Άλλες περιοχές**

Τα κυπριακά brandy φτάνουν τον αλκοολικό τίτλο των 32%vol. Στα **μολδαβικά** εδάφη η ονομασία του Brandy είναι «Divin» , ενώ στη Ρουμανία το παρουσιάζουν ως «Vinars». Προέρχονται από δύο διαδοχικές αποστάξεις. Τα cognac της **Νότιας Αφρικής** παρουσιάζονται ως παραδείγματα ποιότητας, αφού αποστάζονται μεν σε άμβυκες από χαλκό και ωριμάζουν για τουλάχιστον 3 χρόνια σε επαφή με τη δρυ (<https://www.krasiagr.com/top-10-pio-dinatwn-potwn-ston-kosmo/>).

1.3.2 Αποστάγματα Δαμάσκηνου/Plum Brandy

- **ΤΣΕΧΙΑ**

Με κατεύθυνση προς την Τσεχία, μπορεί κανείς να διαπιστώσει την ύπαρξη ενός παλιού αποσταγματοποιείου που διατηρείται μέχρι και σήμερα με ιδρυτή τον Rudolf Jelinek. Διαθέτει επίσης και ιστορικό μουσείο με την ακριβή διαδρομή της slivonice , ή slivonica. Η Μοραβία είναι η γεωγραφική έκταση στην οποία συναντάται η πρώτη ύλη. Οι χρωματισμοί κυμαίνονται από ωχρό λεμονί μέχρι και κεχριμπαρένιο. Ο αλκοολικός βαθμός βρίσκεται στην κλίμακα από 37,5-42 % vol. Πάντα το βρίσκουμε σε ειδικές μικροσκοπικά μπουκαλάκια , τα čokanjčiči.

- **ΣΕΡΒΙΑ**

Η Σερβία είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την παραγωγή plum brandy, που αποτελεί το παραδοσιακό της ποτό. Εν έτει 2004 ξεπεράστηκαν τα 400.000 λίτρα παραγόμενου αποστάγματος. Η Σουμάντια είναι το σημείο αναφοράς της. Συνήθως έχει αλκοολικό τίτλο 40%vol. Είναι αναπόσπαστο κομμάτι της κουλτούρας των Σέρβων τόσο το απόσταγμα όσο και η πρώτη ύλη από την οποία προέρχεται, το δαμάσκηνο. Διάφορες σημαντικές γιορτές συνοδεύονται από αυτήν όπως ο γάμος ή η βάπτιση, αλλά η σερβική ορθοδοξία γιορτάζει τον πολιούχο τους, Slava. Καλλιεργείται σε μια γεωγραφική τοποθεσία με μεγάλες δασικές εκτάσεις, την Šumadija, στη Δυτική Σερβία. Η καθημερινότητα τους κατακλύζεται από το συγκεκριμένο απόσταγμα δαμάσκηνο, αφού προσφέρεται σαν απεριτίφ σε οποιαδήποτε στιγμή του γεύματος(<https://en.wikipedia.org/wiki/Slivovitz>).

- **ΒΟΥΛΓΑΡΙΑ**

Επίσης, στην Βουλγαρία υπάρχει μεγάλη παραγωγή «Slivona», με ειδικότερη ενασχόληση να παρουσιάζουν οι περιοχές: Τετέβεν , Ελένα, Λεσηντρέν και Κιουστεντίλ(<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CE%BB%CE%B9%CE%B2%CE%B%CE%B2%CE%AF%CF%84%CF%83%CE%B1>). Είναι γνωστές οι παραγωγικές

δραστηριότητες των μοναχών με τα αποστάγματα με φρούτα αλλά και ο επιπρόσθετος αρωματισμός με 40 διαφορετικά βότανα. Ο αλκοολικός του τίτλος βρίσκεται συνήθως στους 39-41%vol, όπου δίνει πιο αντιπροσωπευτικό απόσταγμα.

- **ΠΟΛΩΝΙΑ**

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η επίδραση της Slivovitz, είναι αρκετά εκτενής με απολήξεις και στην Πολωνία. Ακόμα γνωστή και συνδεδεμένη με την πόλη Łąsko είναι η Śliwowica Łąska. Μέχρι και σήμερα, η Πολωνία αντικατοπτρίζεται από τις Śliwowica Paschalna και Śliwowica Strykowska (Strykover Slivovitz).

- **ΚΡΟΑΤΙΑ**

Επίσης, ηχηρή παραγωγικότητα έχει και η Κροατία αφού βρίσκεται στις κορυφαίες θέσεις των πωλήσεων Slavonska Šljivovica .



Εικόνα 7 : Maraska Slivovica 10 ετών , από την Κροατία

Ακόμα μπορεί κάποιος να συναντήσει ένα brandy δαμάσκηνου στην Βοσνία και Ερζεγοβίνη, Σλοβενία, Ουγγαρία και Σλοβακία (<https://en.wikipedia.org/wiki/Slivovitz>).

- **ΓΑΛΛΙΑ**

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το απόσταγμα με πρώτη ύλη το Mirabelle, δίνει ένα απόσταγμα , το οποίο καταστεί αναγκαία την 2-3 χρόνια παλαίωση. (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007). Στην Γαλλία, τα αποστάγματα φρούτων ονομάζονται eau-de-vie. Οι μονάδες παρασκευής τους βρίσκονται στις περιοχές Saintois και στην Côtes de Meuse. Η ευρεία παραγωγή ξεκίνησε όταν αφαιρέθηκε η δυνατότητα στους αμπελουργούς να αποστάζουν τα κρασιά τους, τον 18ο αιώνα. Ο αλκοολικός του τίτλος δεν ξεπερνά τις 45 μοίρες. Έχει διασφαλιστεί και εδώ η αντίστοιχη AOC, με την εφαρμογή της κατά γράμμα στα παραγωγικά στάδια ([https://fr.wikipedia.org/wiki/Mirabelle_de_Lorraine_\(eau_de_vie\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Mirabelle_de_Lorraine_(eau_de_vie))).

Αν κατευθυνθούμε προς την πλευρά του Quetshe, τότε είναι απαραίτητη η 8ετής-10ετής ωρίμανση (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

1.4 ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ ΚΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΕΣ ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ BRANDY

1.4.1 Brandy από σταφύλι

Τα αποστάγματα συμπεριφέρονται παρόμοια με τα κρασιά. Αυτό σημαίνει ότι το terroir της πρώτης ύλης, το μικροκλίμα που επικρατεί στην παραγωγή των σταφυλιών αλλά και η επίδραση του φωτός θα επιδράσουν σημαντικά στην ποιότητα του τελικού προϊόντος. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί τόσο στις οινοποιητικές τεχνικές όσο και στις συνθήκες διατήρησης.

Δεν είναι θεμιτό να υπάρχουν υπερβολικά πρωτογενή αρώματα. Για αυτό και δεν επιλέγονται ποικιλίες αμπελοοινικές με έντονα αρώματα, εκτός και αν χρειάζεται να δοθεί ένα συγκεκριμένο άρωμα που εκφράζει την σταθερότητα και τη συνέπεια του προϊόντος. Τα λεπτεπίλεπτα αρώματα αγγίζουν εύκολα το κατώφλι αναγνωρισιμότητας.

Οι ποσότητες πρέπει να είναι ελεγχόμενες ώστε να αποφευχθούν οι πολύ μικρές ποσότητες και κατ' επέκταση η συγκέντρωση των χαρακτηριστικών ποικιλιακών αρωμάτων. Η μεσαία απόδοση είναι η πλέον κατάλληλη. Η ταννικότητα του αγγίζει τα χαμηλά επίπεδα σε συγκεντρώσεις μικρότερες από 0,2 g/l. Αυτό συμβαίνει γιατί οι ταννίνες διασπώνται κατά την κατεργασία της απόσταξης με αποτέλεσμα την εκτόξευση της στυφύτητας και των σκληρών χαρακτηριστικών. Για να κατευθυνθούμε προς αυτό το στυλ είναι θεμιτή η χρήση ασυνεχούς πιεστηρίου.

Επίσης το επίπεδο των ανθοκυανών και της χρωματικής έντασης πρέπει να είναι μικρό. Έτσι, εξηγείται η χρήση λευκών και η αποφυγή κόκκινων κρασιών. Τα αποστάγματα αυτά που γεννιούνται από σταφύλια με υψηλές ανώτερες αλκοόλες και εστερικές ενώσεις παρουσιάζουν έναν οινικό χαρακτήρα και είναι αρκετά ευχάριστα σε αντιδιαστολή με εκείνα που παράγονται στα βορειότερα ευρωπαϊκά κράτη, χαρακτηριζόμενα ως έντονα, δυσλειτουργικά και άκαμπτα. Ακόμη λόγω κλιματικών αποκλίσεων, τα τελευταία, χρειάζονται και πολύ περισσότερο χρόνο παλαίωσης.

Αρκετά αποστάγματα ακόμα και μετά το πέρας των 60 ετών, έχουν ακόμα περιθώριο να προσφέρουν τρομερούς συνδυασμούς τριτογενών αρωμάτων.

Η σακχαροπεριεκτικότητα των σταφυλιών πρέπει να βρίσκεται σε κανονικά επίπεδα. Δεν χρησιμοποιείται θειώδης ανυδρίτης γιατί αν ξεφύγει η συγκέντρωσή

του , θα περάσει στο απόσταγμα καθώς είναι πιο πτητικός από την αιθυλική αλκοόλη, υποβαθμίζοντας το νεοσύστατο brandy (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Υπάρχουν διάφορα είδη grape brandy, τα οποία παράγονται από συγκεκριμένες ποικιλίες σταφυλιών (Πίνακας 1) (Menevseoglou et al, 2021).

Πίνακας 1. Διάφορα είδη grape brandy και ποικιλίες σταφυλιών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους.

GRAPE BRANDY	VARIETY
Cognac	Ugni Blanc
Armagnac	Ugni Blanc, Folle Blanche, Baco, Colombard
Armenian grape brandy	Voskehat, Banants, Kangun, Mskali, Garandmak
Pisco	Quebranta, Mollar, Negra Criolla, Univa, Italia, Torontel, Albilla, Moscatel, Pedro Ximenez
Brandy de Jerez	Airen, Palomino
Stravecchio	Sangiovese, Grignolino
Metaxa	Σαββατιανό, Ροδίτης

www.elenianna.gr/metaxas, <https://it.wikitonghop.com/332010-brandiy-JXJMDD>, www.plaisirsdegascogne.com/blog/en/cepapes-armagnac/, www.qualitywines.gr/index.php/en/history/14-ararat-brandiy, www.sherrynotes.com/2015/background/brandiy-de-jerez/,

1.4.2 Brandy από δαμάσκηνο

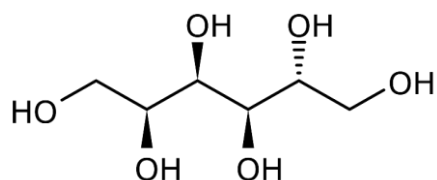
Το έδαφος, όπως είναι γνωστό, παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση του αρωματικού προφίλ του φρούτου. Η διάρκεια του είναι πολυετής.

Στη φύση βρίσκονται πολλές και διαφορετικές ποικιλίες από δαμάσκηνο. Η περιεκτικότητα σε σάκχαρο κυμαίνεται από 6-150 g/L. Όσον αφορά τη διαθεσιμότητα των οξέων ανέρχεται στα 9 g/L.

Ο αποβουτυρωτής και ο εκκραγιστής σταφυλιών είναι ικανός να πιέσει τα δαμάσκηνα. Η παρέμβαση πρέπει να είναι απαλή μέχρι και το σπάσιμο του πυρήνα. Τα σάκχαρα των δαμάσκημων θα φτάσουν να ζυμώσουν για 15 ημέρες χωρίς την επίδραση θέρμανσης (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Μέσα στα δαμάσκηνα εμπεριέχεται η σορβιτόλη , που είναι μια αλκοόλη-σάκχαρο. Είναι γλυκαντική ουσία, ενώ αποτελεί υποκατάστατο ζάχαρης, αφού το επίπεδο γλυκύτητας ισούται με το 60% της γλυκύτητας της σακχαρόζης.

(<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CE%BF%CF%81%CE%B2%CE%B9%CF%84%CF%8C%CE%BB%CE%B7>)



Εικόνα 8: Δομή της σορβιτόλης

Πίνακας 2. Διάφορα είδη plum brandy και ποικιλίες δαμάσκηνων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους.

PLUM BRANDY	VARIETY
Šljivovica (Σερβία)	Stanley, Madarka, Pozegaca, Cacak Beauty , Cacak Best, Cacak Rich, Denerika, Ringlov and Trnovaca
Slivovitz (Πολωνία)	Węgierka Zwtkła, Węgierka Dąbrowichka, Čačanska Lepotica, Stanley
Slivovice/Slivovica(Τσεχία)	Čačanska lepotica, Čačanska najbolja, Stanley, Domáci velkoplodá
Šljivovica (Κροατία)	Bistrica
Troyaska slivova	Madzarkini Plums
Tetevenska slivova	Tetevan Plums
Mirabelle de Lorraine (eau-de-vie)	Mirabelle de Metz , Mirabelle de Nancy
Quetshe	Quetshe

Πηγές: www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.springer-doi-10_1007-S00217-016-2762-5 , <https://zahradnictvi-jelinek.cz/nas-sortiment/slivone/> , <https://en.wikipedia.org/wiki/Slivovitz> , www.verger-mirabelle.fr/les-differentes-varietes-de-mirabelle/ , www.fructidor.com/newsDetailP.aspx?idn=3203 , www.nataliemaclean.com/wine-reviews/badel-hrvatska-stara-slijivovica-plum-brandy-/319439

1.5 ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1.5.1 Παραγωγή brandy από σταφύλια

Τρύγος

Ο τρύγος των σταφυλιών στο Βόρειο Ημισφαίριο πραγματοποιείται το φθινόπωρο, τον μήνα Σεπτέμβριο. Σε πιο θερμές περιοχές ξεκινά τον Αύγουστο , ενώ οι όψιμες ποικιλίες μπορεί να τρυγηθούν έως και τον Οκτώβριο. Στην περίπτωση του brandy, προτιμάται ο πρώιμος τρύγος για την εκμετάλλευση της αυξημένης συγκέντρωσης των οξέων. Επιπρόσθετα, θα αποφευχθεί και η μεγάλη συγκέντρωση αναγόντων σακχάρων στο τελικό προϊόν (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Προετοιμασία Της Πρώτης Ύλης

Σε αυτό το σημείο υπάρχουν δύο επιλογές. Η μία εξ αυτών είναι ο εφοδιασμός με σταφύλια και η άλλη η απόκτηση έτοιμου παραγμένου κρασιού. Ιδανικότερη θα ήταν η πρώτη επιλογή για να μπορέσει ο αποσταγματοποιός να έχει πλήρη εικόνα για την

εξέλιξη του ποτού. Επιπρόσθετα, αν ο οίνος έχει προσθήκη υψηλής ποσότητας θειώδους ανυδρίτη, τότε αυτός θα περάσει και στο brandy λόγω της πτητικότητας του και θα προκληθούν αλλοιώσεις στην ταυτότητα του προϊόντος. Προτιμώνται λευκές ποικιλίες σταφυλιών έναντι των ερυθρών (Αργύρης Τσακίρης, «Κάνω το δικό μου τσίπουρο», 2006).

Επαφή Με Τον Υδραυλικό Εξοπλισμό

Η επιλογή του καρπού πρέπει να είναι τέτοια έτσι ώστε να αποφεύγονται τα παραγόμενα αρνητικά αρωματικά χαρακτηριστικά κατά την αλκοολική ζύμωση, αλλά και ενδεχόμενες βιολογικές επιμολύνσεις από μικροοργανισμούς (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007). Τα σταφύλια θα πρέπει να περάσουν από εκτενή έλεγχο για να απομακρυνθούν τυχόν σάπια φρούτα, έλικες, φύλλα ή άλλες ακαθαρσίες που μπορεί να φέρουν. Έπειτα αφαιρούνται οι βόστρυχοι των σταφυλιών. Αμέσως μετά θα υποστούν σπάσιμο (εκραγισμό). Στο στάδιο που επέρχεται η σύνθλιψη, θα χρησιμοποιηθούν ειδικά συνεχή ή ασυνεχή πιεστήρια. Πρέπει να είναι αρκετά ευγενής, καθώς δεν επιθυμείται η υψηλή συγκέντρωση των ταννινών.

Τα συμβατικά συνεχή πιεστήρια παρουσιάζουν κάποιες αρνητικές κατευθύνσεις. Πρώτα απ' όλα υπάρχει σοβαρή πιθανότητα να συνθίψουν τα γίγαρτα των σταφυλιών, τα οποία απελευθερώνουν μη θεμιτές ενώσεις. Έπειτα, κλιμακώνεται η υποστάθμη(οινολάσπες) του γλεύκους(Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Όπως σε όλες τις οινοποιήσεις, είναι απαραίτητη η προστασία του γλεύκους. Για το λόγο αυτό πραγματοποιούνται μικρές δόσεις εφοδιασμού με θειώδη ανυδρίτη, ο οποίος έχει αντιοξειδωτική, αντιοξειδασική και αντιβακτηριακή δράση. Όμως η υπερδοσολογία του μπορεί να οδηγήσει σε καταστρεπτικά αποτελέσματα. Για τον λόγο αυτό δεν πρέπει να θειωθούν καθόλου οι οίνοι που θα υποστούν απόσταξη. Το μόνο που μπορεί να κάνει κάποιος είναι να φροντίσει για την υγιή κατάσταση και διατήρηση των σταφυλιών. Ένα μεγάλο πλεονέκτημα για την επίτευξη της παραπάνω συνθήκης είναι τα υψηλά επίπεδα οξύτητας. Επίσης, η έλλειψη ποικιλομορφίας των μικροοργανισμών θα αποτρέψει τις επιμολύνσεις αλλά θα καθυστερήσει και την μηλογαλακτική μετατροπή των γαλακτικών βακτηρίων. Σε αυτή την έκφανση η πτητική οξύτητα θα εκτοξευθεί, χαρακτηριστικό που δεν είναι άλλο παρά ανεπιθύμητο (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Τα επίπεδα των σακχάρων πρέπει να έχουν μία μέση τιμή στην κλίμακα. Ίσως και λιγότερα σάκχαρα να έχουν την εύνοια στην σύντομη ολοκλήρωση της ζύμωσης αλλά και στην αποζύμωση τους. Έτσι θα συντηρηθεί ακόμα περισσότερο ο προς απόσταξη οίνος. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ένας οίνος με υψηλό αλκοολικό τίτλο θα έχει τη δυνατότητα προστασίας από τους μικροοργανισμούς (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Οι διαδικασίες πριν την αλκοολική ζύμωση, πρέπει να χαρακτηρίζονται από μέγιστη ταχύτητα, αφού η έλλειψη θειώδους κάνει το γλεύκος αρκετά επιρρεπές σε οποιοδήποτε κίνδυνο. Πρέπει να είναι καθαρό και απαλλαγμένο από στερεά

υπολείμματα, που ευνοούν χαρακτηριστικά φυτικότητας. Η υψηλή ποιότητα προέρχεται από το 80% των αρχικών πιέσεων ενώ αυτές που βρίσκονται κοντά στον τερματισμό της διαδικασίας θα μετατραπούν σε οινόπνευμα. Η περιεκτικότητα σε οινολάσπες είναι ευεργετική σε παρακάτω παραγωγικό στάδιο και για αυτό δεν συμβαίνει κάποια απολάσπωση(Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Αλκοολική Ζύμωση

Φτάνοντας σε αυτή τη διαδικασία, οι ζύμες που θα πραγματοποιήσουν την αλκοολική ζύμωση μπορεί να είναι «γηνγενείς» ή «άγριες» και να εκκινήσουν αυθόρμητα την αλκοολική ζύμωση ή να αποτελούν επιλεγμένα στελέχη για μια ελεγχόμενη αλκοολική ζύμωση. Μία άλλη επιλογή είναι η μετάγγιση γλεύκους εν ζυμώσει σε φρεσκοεκχυλισμένο γλεύκος πριν την έναρξη (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Η θερμοκρασία της ζύμωσης πρέπει να βρίσκεται στους 20°C και η ρύθμιση γίνεται με σύστημα ψύξης. Έτσι θα παραχθούν τα περισσότερα δυνατά εστερικά αρώματα. Αν η θερμοκρασία δεν σταθεροποιηθεί σε αυτές τις τιμές, και ξεπεράσει τους 40 °C τότε οι ζύμες δεν θα αντέξουν τις αντιξοότητες και θα πεθάνουν. Τη θέση του θα πάρει η δράση των βακτηρίων, τα οποία είναι υπεύθυνα για την απότομη αύξηση των δεικτών της πτητικής οξύτητας(Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Το χρονικό διάστημα που διαρκεί η αλκοολική ζύμωση είναι από 5 έως 10 ημέρες. Η πορεία της αλκοολικής ζύμωσης ελέγχεται με την μείωση της πυκνότητας του γλεύκους. Τελικά παραλαμβάνεται οίνος με υψηλή θολερότητα, που οφείλεται στις ζύμες που έχουν υποστεί αποσύνθεση. Μόλις συμβεί αυτό, τα υπολείμματα από τη δομή τους κατακρημνίζονται, σχηματίζοντας μια λευκή «πούδρα». Το στρώμα αυτό ονομάζεται «οινολάσπη» και τοποθετείται σε παρτίδες μαζί με τα επιμέρους τμήματα του φρέσκου οίνου προς απόσταξη(Αργύρης Τσακίρης, «Κάνω το δικό μου τσίπουρο», 2006).

Ο οίνος βάσης θα πρέπει να παραμείνει σε ανοξειδωτες δεξαμενές από χάλυβα και να αποσταχθεί το γρηγορότερο δυνατό. Το μεγαλύτερο χρονικό περιθώριο είναι 5 ημέρες παραμονής πριν το επόμενο στάδιο. Επειδή τα ανοξειδωτα αυτά δοχεία θα αδειάζουν σε παρτίδες, πρέπει να χρησιμοποιούνται μικρού μεγέθους δεξαμενές για να αποφεύγεται η οξειδωση της υπόλοιπης ποσότητας οίνου(Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Τα στελέχη ζυμών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή brandy από σταφύλια ποικίλλει ανάλογα με το τελικό προϊόν που θέλει να δημιουργήσει ο κάθε ποτοποιός. Στο Cognac της Γαλλίας χρησιμοποιείται ευρέως το στέλεχος *Saccharomyces Cerevisiae* FC9. Στόχος είναι η δημιουργία αρωμάτων που αντιστοιχούν σε αρώματα όπως μπανάνια και αχλάδι που προδίδουν το σχηματισμό εστέρων. Επίσης, αισθητή είναι η παρουσία τριαντάφυλλου, άνθους φλαμουριάς.

Υπάρχει πάντα η περίπτωση απόκτησης ακεταλδεϋδης και οξικού αιθυλεστέρα, δίνοντας μη επιθυμητά αρώματα σε υψηλές συγκεντρώσεις. (L'Encycopedie du

Cognac, Bureau National Interprofessionnel du Cognac Entreprise | © Janvier 2009).
(<http://www.pediacognac.com/en/weinbereitungvinificationvinification/die-alkoholische-garungalcoholic-fermentationla-fermentation-alcoolique/>)

Επίσης απαντάται το ανθεκτικό στέλεχος *Saccharomyces bayanus*. Αυτό το στέλεχος παρέχει υψηλότερη συγκέντρωση ηλεκτρικού οξέος και γλυκερίνης, αλλά λιγότερο οξικό οξύ και 2-φαινυλαιθανόλη (Riponi et al, 2007).

Τέλος, στη Γεωργία πραγματοποιήθηκε έρευνα που έδειξε ότι σε δύο τοπικές ποικιλίες που προορίζονταν για brandy, μία λευκή και μία ερυθρή, προηγήθηκε ξανά εμβολιασμός με επιλεγμένες ζύμες (Vigentini et al, 2016) . Αυτά ήταν τα παρακάτω:

1. *Kluyveromyces marxianus* UMY207
2. *Saccaromyces cerevisiae* UMY255
3. *Torulaspora delbruekii* UMY196

Δημιούργησαν κάποια αρώματα στην εκάστοτε ποικιλία , τα οποία φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3. Παραγόμενες αρωματικές ενώσεις έπειτα από την επιλογή συγκεκριμένων στελεχών σε διαφορετικές τοπικές ποικιλίες σταφυλιών της Γεωργίας (Vigentini et al, 2016)

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ	ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΖΥΜΗΣ	ΠΑΡΑΓΩΜΕΝΕΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ
Saperavi (ερυθρή ποικιλία)	<i>Kluyveromyces marxianus</i> UMY207	4-αιθοξυ-4-οξοβουτανικό οξύ (ηλεκτρικός μονοαιθυλεστέρας)
		2-μεθυλπροπαν-1-όλη
		2-υδροξυπροπανοϊκός αιθυλεστέρας
		2-φαινυλαιθανόλη
Goruli Mtsvane (λευκή ποικιλία)	<i>Saccaromyces cerevisiae</i> UMY255	Εξανοϊκός αιθυλεστέρας
		Διϋδροφουραν-2(3H)-όνη
		Οξικός 3-μεθυλβουτυλεστέρας

[Πηγή: Ileana Vigentini et al, 2016) David Maghradze, Maurizio Petrozziello, Federica Bonello, Vito Mezzapelle, Federica Valdetara, Osvaldo Failla, Roberto Foschino,)
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00352>

Απόσταξη

Η απόσταξη μπορεί να πραγματοποιηθεί με τρεις τρόπους. Ο πρώτος είναι σε άμβυκα ασυνεχούς λειτουργίας, ο δεύτερος είναι σε άμβυκα συνεχούς λειτουργίας και ο τρίτος είναι σε αποστακτική στήλη. Ανάλογα με τα πτητικά συστατικά που φέρει το κρασί παραλαμβάνεται αντίστοιχα πλούσιος ή λιτός χαρακτήρας του αποστάγματος.

Στην παραγωγή brandy χρησιμοποιείται ευρέως ο άμβυκας από χαλκό. Ο άμβυκας χωρίζεται σε δύο μέρη τα οποία εμπεριέχουν γυαλί. Το πρώτο είναι ο βραστήρας, όπου τοποθετούμε το προς απόσταξη υγρό σε θερμοκρασία όσο το δυνατό πιο κοντά στη θερμοκρασία βρασμού. Έχει σχήμα σφαίρας και κάτω από αυτό τοποθετείται η γυμνή φλόγα η οποία παρέχει θερμότητα. Το δεύτερο μέρος είναι ένας σωλήνας που συνδέεται με το βραστήρα. Η διάμετρος του ξεκινάει από φαρδύ μέγεθος και καταλήγει σε στενότερο στο τελείωμά της με κατηφορική κατεύθυνση. Σχηματίζει γωνιακό σχήμα στη συνολική διάταξη. Ονομάζεται αποστακτικό κέρασ. Ακόμη και σήμερα οι άμβυκες φτιάχνονται έτσι ώστε να ζεσταίνεται ολόκληρη η ποσότητα του προς απόσταξη υγρού.



Εικόνα 9: Αποστακτήρας Cognac

Επίσης πάνω από το βραστήρα υπάρχει ένα άλλο κομμάτι που ονομάζεται «κώδωνας», «κράνος», «καπέλο», «chariteau». Εκεί, βρίσκεται ο σωλήνας που ενώνει τον βραστήρα με την σερπαντίνα ψύξης. Στην ουσία εκεί πραγματοποιείται απόσταξη με επαναρροή με το καπέλο να έχει το ρόλο του ψυκτήρα. Έτσι το απόσταγμα τμηματοποιείται, αφού οι πτητικές ενώσεις ανεβαίνουν κατακόρυφα και οι μη πτητικές κατακρημνίζονται. Ενδέχεται να υπάρχει και ένας προθερμαντήρας, με σκοπό την προθέρμανση του προς απόσταξη οίνου στη επιθυμητή θερμοκρασία.

Το σύστημα ψύξης δημιουργείται χάρη σε σπυρωτή, οφιοειδή σερπαντίνα που η διάμετρος της όσο κατεβαίνει προς τα κάτω όλο και μειώνεται. Το δοχείο που την περιβάλλει ισούται με δύο φορές τον όγκο που φέρει ο βραστήρας. Σε αυτό το σημείο έχει καθοριστική σημασία η ρύθμιση της θερμοκρασίας. Το νέο προϊόν πρέπει βρίσκεται γύρω στους 20 °C. Το νερό που χρησιμοποιείται δεν πρέπει να εμπεριέχει άλατα, τα οποία εναποτίθενται μέσα στην σερπαντίνα. Η θερμοκρασία του πρέπει να είναι $\geq 16^{\circ}\text{C}$. Πάντα πρέπει να υπάρχει ένα ψυκτικό μηχάνημα για παν ενδεχόμενο.

Συνήθως τα brandy παράγονται από διπλή απόσταξη. Αυτή χωρίζεται στην πρώτη και τη δεύτερη απόσταξη. Επειδή συνήθως η παραγωγή πραγματοποιείται σε batches (παρτίδες), ο άμβυκας πρέπει να αδειάζεται μετά από κάθε απόσταξη και να καθαρίζεται.

Στην πρώτη απόσταξη λαμβάνεται τη σούμα , το οποίο φτάνει μέχρι τους 24-32%vol. Τα υπολείμματα που παραμένουν ονομάζονται βινάσα. Στην δεύτερη απόσταξη πραγματοποιείται κλασματικός διαχωρισμός της σούμας. Έτσι το πρώτο κλάσμα είναι οι κεφαλές, πλούσιες σε μεθανόλη. Ακολουθεί το κλάσμα της καρδιάς , το οποίο είναι το πιο ποιοτικό και συνθέτει το νέο απόσταγμα με αλκοολικό τίτλο περίπου 70%vol. Τέλος , τα μη πτητικά στοιχεία συλλέγονται ως ουρές. Αν επαναποστάξουμε τις κεφαλές με τις ουρές, θα ληφθεί ένα προϊόν με χαμηλή ποιότητα. (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Κατά την απόσταξη λαμβάνουν χώρα τα εξής: υδρολύονται οι χημικές ενώσεις του κρασιού, σχηματίζεται οξικός αιθυλεστέρας, σχηματίζεται φουρφουράλη και δεσμεύονται λιπαρά οξέα από τον χαλκό του άμβυκα (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

1.5.2 Παραγωγή brandy από δαμάσκηνα

Η γραμμή παραγωγής ξεκινά με τη συγκομιδή του δαμάσκηνο. Έπειτα , συνεχίζεται με τη σύνθλιψη και ακολουθεί η αλκοολική ζύμωση είτε του ζυμούμενου φρούτου είτε του χυμού του. Στο επόμενο στάδιο λαμβάνει χώρα η διαδικασία της απόσταξης και ολοκληρώνεται με την ωρίμανση.

Συγκομιδή και επεξεργασία

Όταν έρχεται η περίοδος της συγκομιδής , το εδάφος γύρω από τα δεντρίλια είναι καλυμμένο με καλύμματα νάιλον. Η συγκομιδή πραγματοποιείται χειρωνακτικά.

Είναι απαραίτητο το πλύσιμο τους για να αποφευχθούν οι επιμολύνσεις από ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς. Όταν το φρούτο δεν προορίζεται για νωπή κατανάλωση, αλλά για μεταποίηση σε άλλο είδος αμέσως μετά το μάζεμα, θα πρέπει να υποστεί ψύξη μέσα σε ειδικές αποθήκες που φέρουν μηχανισμούς για την διατήρηση χαμηλών θερμοκρασιών. Οι περισσότερες παραγωγικές μονάδες, έχουν υδραυλικά μηχανήματα για την αυτοματοποίηση των διαδικασιών.

Η αφαίρεση των πυρήνων είναι απαραίτητη. Είναι δυνατή η συγκέντρωση ενός ελάχιστου ποσοστού από θρυμματισμένο κουκούτσι, το οποίο δεν πρέπει να ξεπερνά το ποσοστό του 1,5%. Αυτή η προϋπόθεση ισχύει μόνο για τα δαμάσκηνα που θα γίνουν brandy.

Το κουκούτσι θα απελευθερώσει λαετρίλιο που θα δίνει την αίσθηση αρώματος αμυγδάλου. Η αμυγδαλίνη τροφοδοτεί την δημιουργία βενζαλδεϋδης, καρβαμιδικού αιθυλεστέρα και πρωσικό οξύ. Το τελευταίο είναι αρκετά επικίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία(<https://www.sljivovica.net/slivovitz.html>).

Αλκοολική Ζύμωση

Κατά την είσοδο των δαμάσκηνων στις ανοξειδωτες δεξαμενές, η πληρότητα πρέπει να αγγίζει το 70%. Πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης το γλεύκος του φρούτου μαζί με τον καρπό, εφοδιάζεται με άζωτο αλλά και κάποιες βιταμίνες.

Η συγκέντρωση των οξέων κυμαίνεται μεταξύ του 3,8-4 g/L. Για να διορθωθεί η συστοιχία της με το pH, προστίθενται είτε θειϊκό είτε φωσφορικό οξύ. Η επιθυμητή τιμή είναι pH=3,2. Επίσης η θερμοκρασία της ζύμωσης βρίσκεται συνήθως στους 16-20°C. Το απαιτούμενο χρονικό διάστημα για την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης είναι 15 ημέρες.

Όπως σε όλες τις ζυμώσεις έτσι και εδώ, το προϊόν της ζύμωσης είναι το διοξείδιο του άνθρακα. Για να σιγουρευτεί κάποιος ότι έχει γίνει η εκκίνηση της αλκοολικής ζύμωσης, χρησιμοποιείται η κλίμακα Oesle. Οι τιμές που λαμβάνονται είναι από 8-20° Oe. Η μονάδα μέτρησης είναι βαθμοί Oesle (<https://www.sljivovica.net/slivovitz.html>).

Το συνολικό αλκοόλ θα είναι 14%vol στο προς απόσταξη κρασί από δαμάσκηνο (<https://rjelinek.us/our-story/production/>).



Εικόνα 10: Δεξαμενές όπου τα δαμάσκηνα υφίστανται αλκοολική ζύμωση

Στελέχη Ζυμών

Συνήθως χρησιμοποιούνται στελέχη του είδους *Saccharomyces cerevisiae*. Το πληθυσμιακό ποσοστό τους στο φρέσκο χυμό είναι εξαιρετικά χαμηλό. Παρ' όλα αυτά αρκετές φορές χρησιμοποιούνται αυθόρμητες ζυμώσεις με στελέχη που βρίσκονται ήδη επάνω στον καρπό.

Πρώτα καταγράφονται υψηλές συγκεντρώσεις σε στελέχη όπως *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia* spp. καθώς και *Pichia kudriavzevii*. Στο τέλος της ζύμωσης υπερτερούν τα στελέχη του *Saccharomyces cerevisiae*. (Monika Cioch-Skoneczny, Katarzyna Pańcyszyn, Magdalena Skotniczny, Pawel Satora, 2020).

Ένα αντίθετο παράδειγμα πραγματοποιήθηκε στην ανάλυση της πολωνικής ποικιλίας Wegierka Zwycia, παρατηρώντας ότι στην αρχή της αλκοολικής ζύμωσης

δρούσαν σε υψηλές συγκεντρώσεις των *Kloeckera apiculata* και των *Candida pulcherrima* (killer yeast)(Pawel Satora, Tadeusz Tuszyński, 2010).

Απόσταξη

Η απόσταξη πραγματοποιείται σε χάλκινους άμβυκες. Η πληρότητα φτάνει μέχρι το 60% του χώρου, για την διευκόλυνση της διεργασίας. Το ζυμούμενο διάλυμα είναι αυτό που θα δώσει το πρώτο απόσταγμα. Οι αλκοολικοί του βαθμοί θα είναι περίπου στους 14%vol(<https://rjelinek.us/our-story/production/>). Το αλκοόλ του είναι μαλακό στην αίσθηση του, καθώς έτσι εκφράζει την τυπικότητα του ως plum brandy.

Σε μια παρτίδα ποσότητας 120 λίτρων, πρέπει να αφαιρεθούν τα πρώτα εξερχόμενα 10 λίτρα. Αυτή η ποσότητα περιέχει μεγάλη ποσότητα μεθανόλης, η οποία είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία νευρολογικών και ιδιαίτερα οφθαλμολογικών προβλημάτων. Το ποιοτικό απόσταγμα προέρχεται από το επόμενο κλάσμα. Έχει τα περισσότερα τυπικά και θεμιτά αρωματικά και γευστικά χαρακτηριστικά. Ονομάζεται «καρδιά» της απόσταξης. Οι ουρές της απόσταξης δεν λαμβάνονται καθόλου και δεν τοποθετούνται σε κάποια επόμενη απόσταξη. Πρέπει όπως και στα περισσότερα Brandy, να ακολουθήσει και μια δεύτερη απόσταξη.(<https://www.sljivovica.net/slivovitz.html>).

Έτσι αυξάνεται ο αλκοολικός τίτλος στους 70-75%vol (<https://rjelinek.us/our-story/production/>).

1.6 ΠΑΛΑΙΩΣΗ BRANDY

Ένα νεοσύστατο απόσταγμα αποτελείται από κάποια αρωματικά χαρακτηριστικά που χάρη στην πτητικότητα τους το διέπουν μαζί με την αιθυλική αλκοόλη και το νερό. Οι ενώσεις αυτές ονομάζονται congeners. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι οι ανώτερες αλκοόλες, η φαινυλο-2-αιθανόλη και διάφοροι εστέρες.

Ο σκοπός της παλαίωσης είναι να εξευγενιστούν οι σκληρές ενώσεις και να στρογγυλέψει το αλκοόλ. Έτσι τα αποστάγματα τοποθετούνται σε δρύινα βαρέλια. Μάλιστα υπάρχουν brandies που μπαίνουν σε χρησιμοποιημένα βαρέλια από άλλο ποτό για να προσδοθεί σε αυτά το τυπικό τους άρωμα (p.e. Brandy de Jerez in oak barrel of Sherry). Υπάρχει η γαλλική και η αμερικάνικη δρυς. Συνήθως υπάρχουν ονομαστά δάση επιλογής όπως τα Limousin, Allier, Tronçais, Never, Vosges. Ενώ πολύ γνωστό αμερικάνικο δάσος είναι το Michigan (<http://www.infowine.gr/el/winepedia/enology/Aging/?nid=538>).

1.6.1 Βαρέλι για παλαίωση

Όταν ένα δέντρο προορίζεται για την παραγωγή βαρελιού κόβεται με συγκεκριμένο τρόπο. Οι λωρίδες ξύλου, αφήνονται να ξεραθούν και μετατρέπονται σε δούγιες. Τη στιγμή του σχηματισμού, τοποθετείται γύρω τους ένα τσέρκι. Τότε το βαρέλι ξεκινά να καίγεται (WSET 2017). Υπάρχουν βαθμίδες καψίματος, που επηρεάζουν την εκδήλωση αυτής της ομάδας αρωμάτων. Αυτές είναι οι παρακάτω: ελαφρύ βαθμό καψίματος βαρελιού, μεσαίο βαθμό κάψιμο βαρελιού, προχωρημένο βαθμό μεσαίου καψίματος βαρελιού και βαρύ βαθμό κάψιματος βαρελιού (<http://www.infowine.gr/el/winepedia/enology/Aging/?nid=538>).

1.6.2 Συνθήκες ωρίμανσης

Γνωρίζουμε ότι συνήθως οι συνθήκες θερμοκρασίας και γρασίας πρέπει να είναι σταθερές, έτσι ώστε οι περιβαλλοντικές μεταβολές να μην επηρεάζουν το ποτό. Στην περίπτωση του brandy, τα βαρέλια είναι σε υπέργειες αποθήκες. Έτσι γίνονται αντιληπτές όλες οι αλλαγές των καιρικών συνθηκών (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

1.6.3 Προσφορά Βαρελιού Στο Απόσταγμα

Χρώμα & Τριτογενή Αρώματα

Με το πέρας του καιρού τα αποστάγματα παίρνουν χρώμα, κίτρινο απαλό και χρυσό. Τα αρώματα του ξύλου εκχυλίζονται μέσα στο απόσταγμα και τροποποιούν τον ήδη υπάρχοντα αρωματικό κύκλο. Αυτές οι ενώσεις είναι γνωστές ως τριτογενή αρώματα (congeners) και ποικίλλουν δίνοντας μια εξαιρετική πολυπλοκότητα.

Αρώματα παλαίωσης γνωστά και ως oak maturation aromas and flavours είναι: η βανίλια, ο καφές, ο κέδρος, η αίσθηση του καπνιστού, η καρύδα, το φουντούκι, άρωμα από πριονίδι, μπαχαρικά και αρώματα καυτερού. Επίσης μετά από πολλά έτη ωρίμανσης δημιουργούνται τα rancio αρώματα, τα οποία είναι το κέικ φρούτων, τα αποξηραμένα φρούτα, το βερνίκι ξύλου, τα μανιτάρια, τα βρεγμένα φύλλα, το ταμπάκο, το δέρμα, το κρέας και το εκχύλισμα των ζυμών.

Επίδραση Οξυγόνου

Το απόσταγμα υφίσταται μικροοξυγόνωση, αφού το οξυγόνο εισέρχεται από τις χαραμάδες του βαρελιού. Σε αυτό το στάδιο δημιουργούνται έπειτα από μακροσκελή ωρίμανση τα rancio αρώματα όπως δέρμα, μανιτάρια. Το χρώμα μπορεί να μετατραπεί σε κεχριμπαρένιο ή καφέ (WSET, “Looking behind the label”, 2017).

Εξάτμιση κατά την ωρίμανση

Όσο ωριμάζει το brandy στο βαρέλι είναι αναπόφευκτη η εξάτμιση κάποιου μέρους του. Λόγω των πόρων του βαρελιού, παρατηρείται μια μικρή πτώση της ποσότητας. Αυτό έχει να κάνει με το μέγεθος, την πληρότητα του βαρελιού και την

προέλευση του ξύλου. Αυτό συμβαίνει γιατί λόγω της ατμοσφαιρικής υγρασίας, έχει τη δυνατότητα να εξατμιστεί μόνο το αλκοόλ με αποτέλεσμα την πτώση του αλκοολικού τίτλου. Μπορεί να χαθεί από 6-8% σε 15 έτη. Αντίθετα, σε περιοχές με υψηλή ξηρασία, τα μόρια του νερού απελευθερώνονται, και κατά συνέπεια ο αλκοολικός τίτλος αυξάνεται (Αργύρης Τσακίρης, Ποτογραφία, 2007).

1.6.4 Ωρίμανση σε Ανοξειδωτή Δεξαμενή και Glass Demijohns

Συχνά ορισμένοι παραγωγοί διαλέγουν να αφήσουν για μικρό χρονικό διάστημα σε ανοξειδωτες δεξαμενες τα αποστάγματα τους για να στρογγυλέψει και να γίνει πιο απαλό το αλκοόλ τους. Αν είναι πολύ λίγος ο χρόνος, τότε θα αλλάξει ελάχιστα. Έχουν πάντα την ένδειξη «unaged». Επίσης αρκετά συχνά, οι παραγωγοί cognac, που δεν επιθυμούν περαιτέρω εξέλιξη στα αποστάγματά τους, τα τοποθετούν σε γυάλινες νταμιτζάνες ή glass demijohns (WSET, “Looking behind the label”, 2017).



Εικόνα 11 : Βαρέλια στο κελάρι της Hennessy

1.6.5 Χαρακτηρισμός Ωριμότητας (Παλαίωσης) Brandy

Τα **cognac** που παράγονται από αμπελώνες στην ευρύτερη περιοχή του, χαρακτηρίζονται ανάλογα με την ωριμότητά και την ηλικία του νεότερου συστατικού ως εξής:

- VS (Very Special): όταν έχουν υποστεί ωρίμανση για τουλάχιστον 2 έτη. Έχουν φρουτώδη χαρακτήρα και αρώματα από το βαρέλι, ενώ το αλκοόλ είναι σχετικά απαλό.
- VSOP (Very Superior Old Pale): όταν έχουν ωριμάσει για 4 έτη. Είναι περισσότερο πλούσιο γευστικά και αρωματικά από ένα VS, αλλά παρουσιάζει και αρώματα ωριμότητας από το βαρέλι.
- Ναρολέον: Η ωριμότητα εδώ έγκειται στα 6 έτη

- XO, Hors d'Age: Έχουν παλαιώσει για 10 έτη. Το XO είναι αρκετά ξεχωριστό αφού βρίσκεται στο βέλτιστο χαρακτήρα του. Με αρώματα σταφίδας , λουλουδιών , βαρελιού αλλά και γανξιο αρώματα συνυπάρχει άψογα με το πιο στρογγυλεμένο αλκοόλ.(WSET,



Εικόνα 12: Cognac Hors d'Age της εταιρείας Godet



Εικόνα 13 : Cognac XO της εταιρείας Godet

Υπάρχει επίσης διαχωρισμός στα αρμένικα κονιάκ ανάλογα με την ωρίμανση τους:

- ❖ Simple Brandy: Brandy Ararat 3 ετών
Brandy Ararat 5 ετών.
- ❖ Premium Brandies: Ani 6 ετών
Otborny 7 ετών
Aktamar 10 ετών
- ❖ Super Premium: Vaspurakan 15 ετών
Nairi 20 ετών
- ❖ Αποκλειστική Συλλογή: Dvin 10 ετών
Armenia 20 ετών

Το **Armagnac**, το οποίο όπως αναφέρθηκε παράγεται από σταφύλι, μπορεί να διαφοροποιηθεί ανάλογα με τις ποσότητες, την επιπρόσθετη χρήση και άλλων

ποικιλιών σταφυλιού, τον τρόπο της απόσταξης, αλλά και σε δύο εκ των ετικετών. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν οι εξής κατηγορίες:

- Blanche : Απαιτείται η παραμονή σε ανοξειδωτή δεξαμενή για 3 μήνες. Πρόκειται για ένα άχρωμο υγρό που δεν έχει βρεθεί καθόλου σε βαρέλι.
- VS (Very Special): Απαιτείται η ωριμότητα του αποστάγματος να λάβει χώρα για τουλάχιστον 1 έτος στο βαρέλι.
- VSOP (Very Superior Old Pale): Για να χαρακτηριστεί VSOP απαιτούνται 4 έτη παραμονής σε δρύινα βαρέλια.
- XO (Extra Old): Έτσι χαρακτηρίζεται το Armagnac που παλαιώνει για 6 έτη σε δρυ
- Hors d'Age, Vintage: Για να αποδοθεί αυτή η ετικέτα είναι αναγκαία η ωρίμανση σε βαρέλι για 10 χρόνια.

Στη Μολδαβία και την Ρουμανία έχουν δικές τους προδιαγραφές για τα αναγραφόμενες ετικέτες. Αυτές είναι οι εξής:

- ❖ VS : Έγκειται στην παλαίωση των 3 ετών
- ❖ VSOP: Είναι απαραίτητη η ωρίμανση σε βαρέλια για 6 έτη.
- ❖ XO: Για να χαρακτηριστεί έτσι ένα απόσταγμα θα πρέπει να είναι ηλικίας 7 ετών.
- ❖ XXO: Ανήκει σε όσα έχουν την μακρογενέστερη παλαίωση των 20 ετών.

Όσον αφορά τα brandy από δαμάσκηνα, συνήθως παραμένουν από 8-12 μήνες σε ανοξειδωτες δεξαμενές για να μαλακώσει λίγο το αλκοόλ τους παρότι είναι και μετέπειτα άχρωμα. Άλλες Slivovitz περνούν από παλαίωση σε δρύινα βαρέλια. Η μικρότερη παλαιωμένη ηλικία είναι 5 έτη. Ακόμη μπορεί να ωριμάζουν για 10 ή 20 έτη, πριν βγουν στην αγορά.

(www.zufanek.cz/en/product/slivovitz, <https://rjelinek.us/our-story/production/>
<https://confettissimo.com/el/%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D1%8C%D0%B7%D0%B0-%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%BE%D0%B2/%D0%B0%D0%BB%D0%BA%D0%BE%D0%B3%D0%BE%D0%BB%D1%8C/%D1%81%D0%B%D0%B8%D0%B2%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%86%D0%B0.html>).

1.7 ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΩΡΙΜΑΝΣΗ

BLENDING

Αρκετά συχνά, αναμιγνύονται brandies για να επιτύχουν την καλύτερη δυνατή ποιότητα (Αργύρης Τσακίρης, Ποτογραφία, 2007). Σήμερα, αποτελεί τεχνική που εφαρμόζεται σε πολλές χώρες.

Οι διαφορετικοί παράγοντες έχουν να κάνουν με την ηλικία, τον τρόπο απόσταξης ή τον τρόπο ωρίμανσης. Το αποτέλεσμα παρουσιάζει αρκετά πολύπλοκα αποστάγματα και συνέπεια απέναντι στον καταναλωτή (WSET, “Looking behind the label”, 2017).



Εικόνα 14 : Blending of Armagnac

ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΝΕΡΟΥ

Μετά την απόσταξη, το προϊόν έχει αρκετά υψηλό αλκοολικό τίτλο, ακόμα και μετά την ωρίμανση. Για να είναι σε θέση διάθεσης στην αγορά προς κατανάλωση, πρέπει να αραιωθεί με νερό. Στη Slivovitz, ο τελικός αλκοολικός τίτλος είναι 42-45%. Το αρμένικο κονιάκ έχει αλκοολικό τίτλο 40%.

(<https://rudolfjelinek.com/our-story/production/>).

ΚΑΡΑΜΕΛΟΧΡΩΜΑ & ΓΛΥΚΑΝΣΗ

Το καραμελόχρωμα είναι μία τεχνητή χρωστική. Εντοπίζεται σε αποχρώσεις από ανοιχτό κίτρινο και πορτοκαλί έως και σκούρο καφέ. Η προέλευση του οφείλεται στην θερμική κατεργασία που υφίστανται οι υδατάνθρακες. Πιο συγκεκριμένα, προέρχεται από τον συνδυασμό ενώσεων της γλυκόζης όπως η δεξτρόζη και η σάκχαρη και το σιρόπι της γλυκόζης με ένα διάλυμα από αμμώνιο και θείο. Τοποθετούνται σε τρόφιμα και ποτά με σκοπό την αποκατάσταση και τη βελτίωση του χρώματος μετά από τις κατεργασίες που υφίστανται. Συνήθως στα ποτά

χρησιμοποιείται το καραμελόχρωμα 150 b, με το οποίο επιτυγχάνεται και ο σχηματισμός θειϊκού άλατος για τον ρόλο του αντιδραστηρίου.

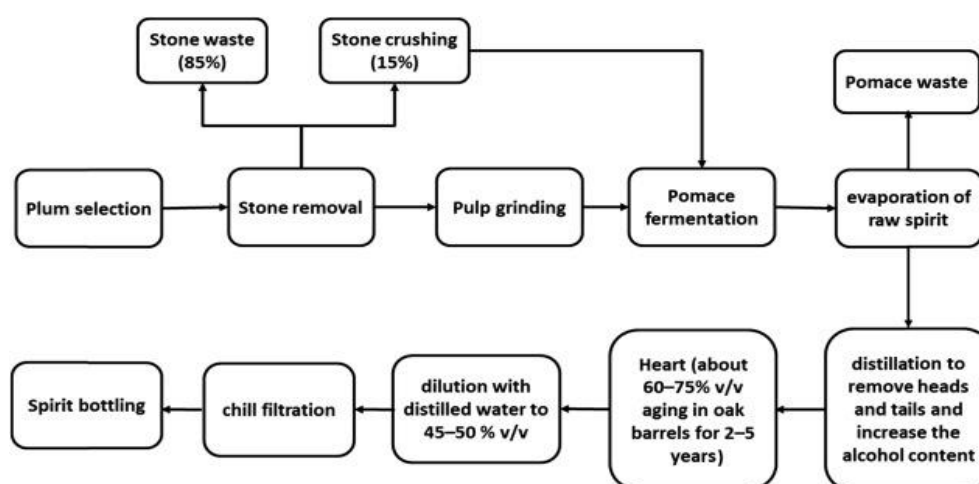
(<https://www.mednutrition.gr/portal/efarmoges/leksiko-diatrofis/5052-karameloxromata-asfali-i-oxi>).



Εικόνα 15: Διαφορετικά αποχρώσεις αποσταγμάτων

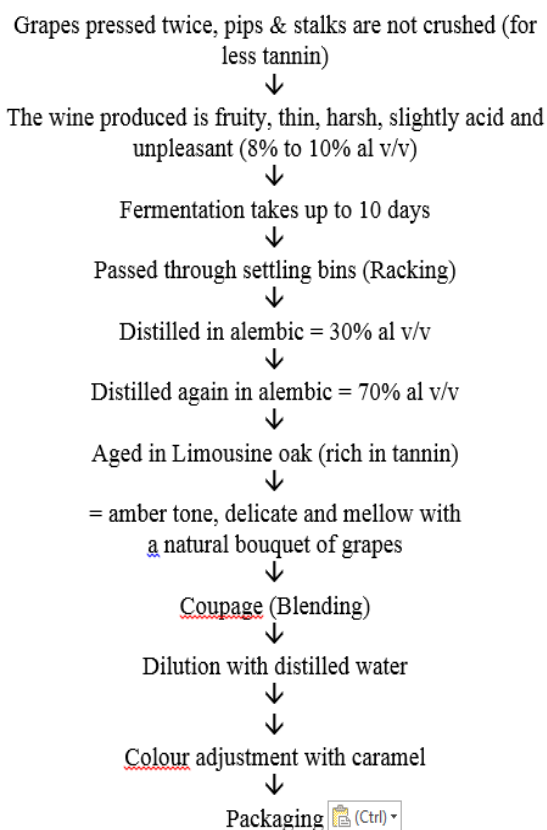
Όλα τα νέα αποστάγματα είναι άχρωμα και άγλυκα. Υπάρχουν κατηγορίες που πρέπει να υποστούν γλύκανση, γιατί έτσι εκφράζεται η τυπικότητά τους. Στα brandies, προστίθεται ζάχαρη για να αποκτήσουν πιο γλυκιά γεύση και να είναι πιο ευχάριστο στον καταναλωτή (WSET, “Looking behind the label”, 2017). Η προστιθέμενη ζάχαρη πρέπει να έχει ήδη ενυδατωθεί σε νερό (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).

Το διάλυμα ζάχαρης, το νερό απαλλαγμένο από τη σκληρότητα και το καραμελόχρωμα θα πρέπει να προστεθούν όλα μαζί στο απόσταγμα τη στιγμή που αυτό ωριμάζει και να διαχυθούν παντού. Το καραμελόχρωμα είναι ένας τρόπος εξασφάλισης και σταθεροποίησης του χρώματος έτσι ώστε να υπάρχει η ταυτότητα του κάθε προϊόντος αναλλοίωτη (Αργύρης Τσακίρης, «Ποτογραφία», 2007).



Εικόνα 16 : Διάγραμμα ροής παραγωγής plum brandy

PRODUCTION OF COGNAC



Εικόνα 17 : Διάγραμμα ροής παραγωγής grape brandy

1.8 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ GRAPE BRANDY ΚΑΙ PLUM BRANDY

1.8.1 Grape Brandy

Αποτελεί ένα από τα ωφέλιμα αποστάγματα, αν καταναλωθεί υπεύθυνα. Οι παρακάτω αναφορές επεξηγούν τα πλεονεκτήματα ενός brandy από σταφύλι:

- 1) Είναι σύμμαχος στην επίτευξη της ισορροπίας της θετικής και της αρνητικής χοληστερόλης στην περιοχή της καρδιάς. Ακόμη προλαμβάνουν την αθηροσκλήρωση, η οποία ενδέχεται να συμβεί στα τοιχώματα που φέρουν οι αρτηρίες. Μέσω των τελευταίων πραγματοποιείται ο εφοδιασμός του ανθρώπινου σώματος με θρεπτικά συστατικά και οξυγόνο. Μία φυσιολογική προσλαμβάνουσα ποσότητα brandy θα μπορούσε να είναι ένα ποτήρι.
- 2) Η προσφορά του συγκεκριμένου αλκοολούχου ποτού σε αντιοξειδωτικά είναι αδιαπραγμάτευτη. Πηγάζουν συνήθως από τον οίνο, από τον οποίο και προέρχονται. Για κάποιους από τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς που εντοπίζονται σε αυτά τα παλαιωμένα αποστάγματα, υπεύθυνη είναι η ύπαρξη χαλκού. Η ανίχνευση των αντιοξειδωτικών σε brandy, μειώνει την γήρανση και τα προβλήματα όρασης. Επιπρόσθετα, αποφεύγεται η απώλεια της μνήμης. Κατά συνέπεια ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα, αφού δύναται να

καταστρέψει παθογόνους μικροοργανισμούς υπεύθυνους για την εκδήλωση κάποιας γρίπης ή κρυολογήματος.

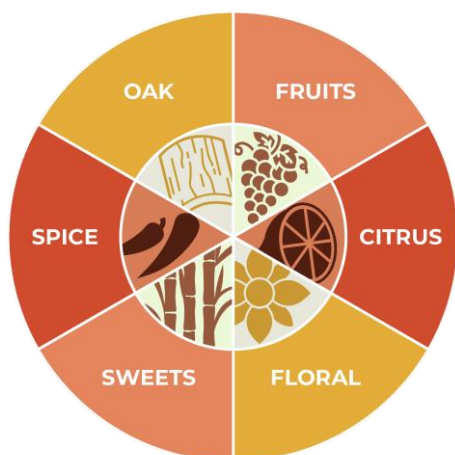
- 3) Είναι σε θέση να αποτρέψει την εμφάνιση καρκινικών δεικτών. Σημαντικό εργαλείο αυτής της ιδιότητας χρίζεται το ελλαγικό οξύ, το οποίο αναστέλλει τον ενδεχόμενο πολλαπλασιασμό των κυττάρων του καρκίνου. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ο καρκίνος στα γεννητικά όργανα. Συνεπώς συμβάλει στην παρεμπόδιση των μεταστάσεων.
- 4) Οι διάφορες αναταραχές στον ύπνο/αϋπνίες εξαλείφονται, αφού το αλκοόλ θερμαίνει τον εκάστοτε οργανισμό. Έτσι ευνοείται η επιθυμία για ύπνο.
- 5) Το γεγονός της έλλειψης των υδατανθράκων στο συγκεκριμένο ποτό , αποτελεί μεγάλο πλεονέκτημα καθώς δεν δημιουργεί εναλλαγές βάρους. Πίνοντας το ως απεριτίφ , το στομάχι προσαρμόζεται στην αναμονή πριν από ένα ενδεχόμενο γεύμα.
- 6) Τέλος, αναλαμβάνει τον ρόλο αποχρεμπτικού. Αυτό σημαίνει ότι λόγω της αιθυλικής αλκοόλης που ανιχνεύεται σε υψηλή συγκέντρωση, εξολοθρεύει όλα τα βακτήρια και αδρανοποιεί τις επερχόμενες βλέννες. Ανακουφίζει από πονόλαιμο και βήχα και εξαλείφει ενδεχόμενους ερεθισμούς (<https://www.itrofi.gr/pota/alkooloyha/article/778/mpranti-o-alkooloyhos-symmahos-tis-ygeias-mas>).

1.8.2 Plum Brandy

Ιδιαίτερης διατροφικής σημασίας είναι και το απόσταγμα με πρώτη ύλη τα δαμάσκηνα. Πολλαπλά οφέλη παρατηρούνται και σε αυτό το είδος brandy.

- 1) Αρχικά , θεωρείται ότι ευνοεί το μεταβολισμό και το πεπτικό σύστημα.
- 2) Είναι ένα σημαντικό μέσο που καταπραΰνει την ακμή ενός προσώπου.
- 3) Χρησιμοποιείται ως βάμμα φαρμακευτικών φυτών για την περιποίηση πληγών.
- 4) Δρα εξαλείφοντας ενδεχόμενους πόνους που προκαλούνται από την ουρική αρθρίτιδα.
- 5) Μπορεί να σταματήσει δυσλειτουργίες που εμφανίζουν τα δόντια. Με τη χρήση της slivonitz , εξαφανίζονται φλεγμονές των ούλων.
- 6) Τέλος, μπορεί να βοηθήσει την αντιμετώπιση της κόπωσης των ματιών εφαρμόζοντας μικρές σταγόνες σε κλειστά βλέφαρα στα πλαίσια της αρωματοθεραπείας.

1.9 ΓΕΥΣΙΓΝΩΣΙΑ BRANDY



Εικόνα 18 : Αρώματα αποστάγματος ανάλογα με την προέλευση της πρώτης ύλης

Σύμφωνα με την ωριμότητα του φρούτου αλλά και την παλαίωση του προκύπτει ο αρωματικός χαρακτήρας του κάθε brandy. Γενικότερα, εμφανίζει υψηλότερη γλυκύτητα από τα whiskey. Τα αρώματα του προσανατολίζονται προς τα ανθικά , αλλά και στα ώριμα, φρέσκα ή αποξηραμένα φρούτα. Αισθητή είναι η παρουσία των εσπεριδοειδών. Λόγω της ωρίμανσης , εντοπίζονται αρώματα γλυκών μπαχαρικών, δρυός και καραμέλας.

Εξαιρετικά κομψή υψή εμφανίζουν premium αποστάγματα όπως το Cognac και το Armagnac. Η διαφοροποίησή τους με τα φρέσκα eau-de-vie είναι ότι τα μεν αποπνέουν φρέσκα φρουτώδη αρώματα και , ενώ τα παλαιωμένα επηρεάζονται από τα εκχυλίσματα δρυός όσο γερνάνε (<https://alkypal.com.au/spirits/cognac-and-brandy.html>).

2. ΧΗΜΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

2.1 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

2.1.1 Φαινολικές Ενώσεις

Οι πολυφαινόλες ή φαινολικές ενώσεις είναι μία από τις μεγαλύτερες χημικές ομάδες αφού σε αυτές ανήκουν 8.000 διαφορετικές ουσίες (Gorzynik-Debicka M. et al, 2018).

Ο σχηματισμός τους στα σταφύλια, ειδικότερα του γένους Vitis οφείλεται στην ποικιλία σταφυλιού από το μικροκλίμα της περιοχής, τις καλλιεργητικές συμπεριφορές και τις τεχνολογικές κατεργασίες. Εντοπίζονται αρκετές πολυφαινόλες και στους λευκούς οίνους (Ribereau-Gayon, 1964, Gonzalez-Neves et al, 2004).

Η δράση των φαινολικών συστατικών αποτελείται από 3 μέρη. Αρχικά προσφέρει τις διάφορες αποχρώσεις και χρωματικές εντάσεις στον οίνο αλλά και την αίσθηση της στυφότητας. Ενισχύουν την παρεχόμενη προστασία μέσω της αντιοξειδωτικής και της αντιμικροβιακής τους δράσης. Τέλος, συνεισφέρουν στο στάδιο της ωρίμανσης.

Σε αυτήν την κατηγορία ομαδοποιούνται 4 οικογένειες χημικών ενώσεων (Κουράκου-Δραγώνα 1998, Κοτσερίδης 2005, P.Ribereau et al, Volume 2, 2006):

- a) Οι ανθοκυάνες
- b) Οι ταννίνες
- c) Οι φλαβόνες
- d) Τα φαινολικά οξέα
- e) Στιλβένια
- f) Κατεχίνες - Προκυανιδίνες

Φαινολικά οξέα και παράγωγά τους: Αλλιώς συναντώνται και ως μη φλαβονοειδή φαινόλες/φαινολικές ενώσεις. Προέρχονται από παράγωγα δύο οξέων, του κινναμωμικού και του βενζοϊκού οξέος. Περιέχεται μόνο ένα μόριο στη δομή τους. Πιο συγκεκριμένα, το χρονικό διάστημα που το σταφύλι βρίσκεται στο αμπέλι, έχουν παρατηρηθεί τέσσερις τύποι κινναμωμικού οξέος. Αυτά είναι τα παρακάτω:

1. Καφεϊκό Οξύ
2. Φαιλουρικό Οξύ
3. p – Κουμαρικό Οξύ
4. Χλωρογενικό Οξύ

Όσον αφορά το βενζοϊκό οξύ, συναντώνται 6 διαφορετικά είδη:

1. Συριγγικό Οξύ
2. Βανιλλικό Οξύ
3. Πρωτοκατεχινικό Οξύ
4. Σαλικυλικό Οξύ

5. p-Υδροξυβενζοϊκό Οξύ
6. Γαλλικό Οξύ

Για τον σχηματισμό των παραγώγων αντικαθίσταται το υδρογόνο με κάποια μεθοξυ- ή υδροξυ- ομάδα.

Απαντώνται σε διάφορα στάδια της οινοποιητικής διαδικασίας, όπως την γλευκοποίηση και την παλαίωσή τους. Το γαλλικό οξύ βρίσκεται στα κουκούτσια και στην επιδερμίδα των σταφυλιών. Το ελαγικό οξύ θα το συναντήσει κανείς στο δρυ ή από τον εμπλουτισμό του οίνου με ελλαγιταννίνες.

Ανιχνεύονται σε συγκεντρώσεις του ύψους των 10-20 mg/L σε λευκούς οίνους και του ύψους των 100-200 mg/L σε ερυθρούς οίνους. Στους τελευταίους βρίσκονται οι ελεύθερες μορφές των μη φλαβονοειδών φαινολικών ενώσεων διότι συμβαίνουν χημικές αντιδράσεις όπως αυτές της θερμικής διάσπασης και της υδρόλυσης. Στα κινναμωμικά παράγωγα, είναι ελάχιστες οι ελεύθερες μορφές, διότι τα περισσότερα υφίστανται αντιδράσεις εστεροποίησης με το τρυγικό οξύ.

Όσο αφορά την προσωπικότητά τους, τα φαινολικά οξέα δεν δίνουν οσμές ή γεύσεις χαρακτηριστικές και είναι είτε άχρωμα είτε αποκτούν αποχρώσεις του κίτρινου μετά από τη διενέργεια οξειδωτικής αντίδρασης. Όμως, αποτελούν τη βάση των χημικών ενώσεων με ιδιαίτερη πτητικότητα που συνίστανται από τα βακτήρια και τον *Bretanomyces*. Είναι γνωστές ως ετεροριζίδια ή εστέρες. Για να μπορέσουν να γίνουν αντιληπτές, φτάνει κανείς στο στάδιο της οινοποίησης και ιδανικότερα αργότερα της παλαίωσης, όπου λόγω της αργής αντίδρασης της υδρόλυσης απελευθερώνονται οι ελεύθερες μορφές τους (Νικολάου, 2011).

Στιλβένια ή stilbenes : Η συγκεκριμένη κατηγορία φέρει τα πιο σύνθετα φαινολικά στοιχεία. Η δομή ενός στιλβενίου διαρθρώνεται από δύο δακτυλίους βενζολικούς και ένα αιθυλένιο ή αιθάνιο, το οποίο τους ενώνει.

Το πιο γνωστό παράδειγμα είναι η ρεσβερατρόλη. Σε συνδυασμό με το 3,5,4' τριυδροξυστιλμπένιο αποτελούν δύο *trans*-ισομερή που εντοπίζονται στα σταφύλια. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι δρουν ως μηχανισμός προστασίας απέναντι στις μολύνσεις που μπορεί να επιφέρει ένας μύκητας. Πάνω σε αυτό το φαινόμενο εναπόθεσαν τις παρατηρήσεις τους οι Langcake και Pryce, όταν παρατήρησαν τα διαμορφωμένα αμυντικά πλαίσια σε σταφύλι προσβεβλημένο από *Botrytis cinerea*. Έτσι κατατάσσονται στην κατηγορία *Viniferins* (Langcake and Pryce 1977). Η ρεσβερατρόλη δημιουργείται στις φλούδες της αμπέλου, κυρίως *Vitis Vinifera* και εκχυλίζεται κυρίως σε κόκκινα κρασιά λόγω της παραμονής μαζί με τους χυμούς. Επίσης υπάρχει περίπτωση να σχηματιστεί λόγω της υπερϊώδους ακτινοβολίας του περονόσπορου ή μύκητα *Plasmopara Viticola* (Langcake 1981). Η απαντώμενη συγκέντρωση της στους οίνους είναι 1-3 mg/L. Επίσης η συντριπτική πλειοψηφία των

στιλβενίων βρίσκεται στις ποικιλίες του είδους *Vitis Riparia* συγκριτικά με *Vitis Vinifera*. Ένα τέτοιο στιλβένιο είναι η ε-βινιφερίνη (Langcake 1981).

Ανθοκυάνες: Οι ανθοκυάνες ανιχνεύονται:

- Στα φύλλα της αμπέλου μετά το πέρας της βλάστησης
- Στο εξωτερικό περίβλημα του σταφυλιού ή φλούδα
- Σε λιγότερη συχνότητα στην σάρκα του καρπού (teinturies , είναι σταφύλια με χρώμα στο εσωτερικό τους)

Στην ουσία, είναι χρωστικές ερυθρών αποχρώσεων. Το μοντέλο εμφάνισής των ανθοκυανών στο φυσικό περιβάλλον είναι οι ερεροζίτες (ακετάλες). Διαμορφώνονται δομικά από ένα άγλυκο μέρος και από ένα ή και παραπάνω σάκχαρο. Η δομή του άγλυκου μέρους συνθέτει μια ανθοκυανιδίνη με τα παρακάτω επιμέρους τμήματα: ένας ακόρεστος ετεροκυκλικός δακτύλιος με θετικό φορτίο ενώνει δύο βενζενικούς δακτυλίους.

Η ανθοκυάνη ή το γλυκοζίδιο σχηματίζεται όταν οι άνθρακες των θέσεων 3 και 5 μιας ανθοκυανιδίνης ενωθούν με κάποιο σάκχαρο.

Τα 5 γνωστά είδη ανθοκυανιδινών είναι τα εξής:

- I. Κυανιδίνη
- II. Πεονιδίνη
- III. Πετουνιδίνη
- IV. Μαλβιδίνη
- V. Δελφινίνη

Τα 5 παραπάνω παραδείγματα συγκρατούν με καλύτερη σταθερότητα τη δομή τους (φλαβύλιο), σαν ανθοκυάνες. Με βάση την ποικιλία αλλάζει και η αλληλουχία τους (Mazza and Miniati 1993, Baldi et al 1995).

Ταννίνες: Οφείλουν την σύστασή τους στους πολυμερισμούς βασικών μορίων με φαινολικές ιδιότητες. Αποτελούν συσσωματώματα προερχόμενα από πολυφαινόλες. Το μέγεθος τους είναι μεγάλο, όμως συνθέτουν ως πολυμερή διάφορα σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες. Διακρίνονται σε υδρολυόμενες (δυνάμενες) και μη υδρολυόμενες ως προς την αντίδραση της υδρόλυσης. Παράδειγμα υδρολυόμενων είναι οι γαλλοταννίνες, οι οποίες υδρολύονται και δίνουν γαλλικό οξύ.

Τα συσσωματώματα των ταννινών αποτελούνται από διαφόρων μεγεθών φλαβονοειδή και κατεχινών. Τα δύο είδη της τελευταίας κατηγορίας είναι η επικατεχίνη και η κατεχίνη. Οι προκυανιδίνες και οι κατεχίνες κάνουν αισθητή την παρουσία τους τόσο στα κοτσάνια και τη φλούδα όσο και στα κουκούτσια. Η συγκέντρωση των ταννινών είναι συνήθως 1-4 gr/L.

Φλαβονοειδείς φαινόλες: Η δομή αυτών των ενώσεων μορφοποιείται από την ένωση ενός οξειδωμένου ετεροκυκλικού δακτυλίου με δύο βενζολικούς δακτύλιους. Στην εξωτερική επιδερμίδα των σταφυλιών εντοπίζονται κυρίως οι φλαβονόλες ως γλυκοσίδια. Αυτές οι χρωστικές έχουν συνήθως χρωματισμούς κίτρινους. Επίσης μία άλλη υποομάδα είναι οι φλαβανόνες, οι οποίες εκχυλίζονται από τη δρυ. Διακρίνονται σε καιμπφερόλη, κερκετίνη και μυρικετίνη.

Κατεχίνες – προκυανιδίνες: Οι κατεχίνες ορίζονται ως υδροξυλιωμένα παράγωγα μόρια των φλαβονολών. Αν μια κατεχίνη βρίσκεται σε όξινο περιβάλλον και υποστεί θέρμανση, λαμβάνει χώρα ο πολυμερισμός της, με αποτέλεσμα την δημιουργία ενώσεων με σκούρο καφέ χρώμα. Ένα παράδειγμα των παραγώγων της φλαβονόλης είναι η ανίχνευση τους σε διάφορα φυτικά μέρη. Μόλις λοιπόν βρεθούν σε αντίστοιχες συνθήκες, με όξινο pH, θερμαινόμενα, επέρχεται αντίδραση διάσπασης προσδίδοντας επικατεχίνη, κατεχίνη και κυανιδίνη. Λόγω της ύπαρξης της τελευταίας, τα παραπάνω μόρια ονομάζονται προκυανιδίνες. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το πιο γνωστό άγλυκο τμήμα είναι η ανθοκυανιδίνη.

Σε φρέσκα κρασιά, παρουσιάζονται συνήθως ως σύμπλοκα με δύο τμήματα (διμερή) και λιγότερο συχνά με τρία τμήματα (τριμερή). Γενικότερα εντοπίζονται με μικρό μοριακό βάρος, αλλά όταν παρατηρηθούν στην ωρίμανση σε βαρέλια, το μοριακό τους βάρος εκτοξεύεται φτάνοντας τα 2.000-3.000. Βασίζονται στη δημιουργία συμπυκνωμένων ταννινών.

2.1.2 ΩΦΕΛΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ

Χρώμα στις ράγες του σταφυλιού

Οι ανθοκυάνες αποτελούν το βασικό παράγοντα καθορισμού του χρώματος. Όμως, στους λευκούς οίνους η χρωματική ένταση προέρχεται από τα καροτενοειδή κατά το πλείστον. Έγκειται στην ποικιλία, η ευκολία και ο βαθμός με τα οποία θα χρωματιστεί ο καρπός. Επιπρόσθετα, σημαντικό είναι και το pH, που φέρει το διάλυμα με τις ανθοκυάνες.

Γευστικά πλεονεκτήματα

1. Οι ταννίνες σε συνδυασμό με τις πρωτεΐνες ρυθμίζουν την ένταση της πικρής γεύσης. Η δριμεία και στυπτική γεύση οφείλεται είτε σε ανώριμο καρπό ως προς τη συνολική του δομή, είτε σε τετραμερή συσσωματώματα ταννικής προέλευσης, ιδίως γιγάρτων.
2. Στην περίπτωση συμπλοκοποίησης πρωτεϊνών με κατεχίνες και προκυανιδίνες, θα προσδοθούν περισσότερα όξινα στοιχεία στους γευστικούς κάλυκες. Τα τριμερή και διμερή τους στρογγυλεύουν το σώμα και το ενισχύουν μαζί με την στυφύτητα και την πικράδα. Συνεπώς, δημιουργούνται συνδυασμοί ταννινών και πολυσακχαριτών που πληρούν την

στοματική κοιλότητα. Τα συσσωματώματα των ταννινών με τις ανθοκυάνες προσφέρουν περισσότερη πικρή γεύση.

3. Η πορεία των φαινολικών συστατικών στα φυτικά κύτταρα είναι απλή. Σχηματίζονται στο κυττόπλασμα σε ίχνη. Έπειτα προχωρούν προς τα χυμοτόπια όπου και λαμβάνει χώρα η συσσώρευσή τους. Αργότερα, θα πολυμεριστούν και θα πάρουν την μορφή λιγνινών. Με αυτή τη μορφολογία θα φυλαχθούν στον αποπλάστη. Τα φαινολικά οξέα συναντώνται συνήθως στη επιδερμίδα του σταφυλιού, ενώ οι ανθοκυάνες και οι προκυανιδίνες στην σάρκα του (Νικολάου, 2011).

2.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΑΩΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

2.2.1 Οι Ελεύθερες Ρίζες

Ελεύθερη ρίζα είναι ένα μόριο ή άτομο που υπάρχει ανεξάρτητο και που ενδέχεται να περιέχει ένα ή περισσότερα μονήρη ηλεκτρόνια στην εξωτερική στοιβάδα. Έτσι ένα μονήρες ηλεκτρόνιο κατέχει ένα μοριακό τροχιακό.

Οι ελεύθερες ρίζες σχηματίζονται κατά την ομολυτική σχάση ομοιοπολικού δεσμού και καθένα από το ζεύγος ηλεκτρονίων παραμένει στην κατοχή ενός ατόμου (Halliwell, 2006). Δηλαδή, μπορεί να δημιουργηθεί με την απομάκρυνση ενός εκ των δύο ηλεκτρονίων από το εξωτερικό μοριακό τροχιακό (Mylonas and Kouretas, 1999). Λόγω της αστάθειάς τους μπορούν να οξειδώσουν και άλλα μόρια. Η αντίδραση της οξείδωσης θα συμβεί με την συμπλήρωση της εξωτερικής στοιβάδας με ένα ακόμα ηλεκτρόνιο (Halliwell, 2006).

Διακρίνονται σύμφωνα με το κεντρικό άτομο σε (Veskoukis et al, 2012):

1. Δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS)
2. Δραστικές μορφές θείου (Reactive Sulphur Species, RSS)
3. Δραστικές μορφές χλωρίου (Reactive Chlorine Species, RCS)
4. Δραστικές μορφές αζώτου (Reactive Nitrogen Species)

Παραδείγματα ελευθέρων ριζών φαίνονται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4. Παραδείγματα ελευθέρων ριζών

ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ	ΣΥΜΒΟΛΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ
Ρίζα υδροξυλίου	OH·
Μονήρες Οξυγόνο	O ₂
Ρίζα Σουπεροξειδίου	O ₂ ·
Ρίζα Αλκοξυλίου	RO·
Ρίζα Περοξυλίου	ROO·
Υπεροξείδιο του Υδρογόνου	H ₂ O ₂
Υδρουπεροξείδιο	ROOH
Όζον	O ₃

ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ ΑΖΩΤΟΥ	ΣΥΜΒΟΛΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ
Περοξυνιτρίτης	ONOO'
Μονοξειδίου του αζώτου	NO.
Διοξείδιο του αζώτου	NO2
Περοξυνιτρώδες οξύ	ONOOH

Πηγή: <https://core.ac.uk/download/pdf/323472325.pdf>

Ο σχηματισμός ελευθέρων ριζών μπορεί να οφείλεται είτε σε ενδογενείς πηγές, δηλαδή σε χημικές αντιδράσεις εντός των ζώντων οργανισμών, είτε σε εξωγενείς πηγές, όπως οι περιβαλλοντικοί παράγοντες. Τέτοιοι είναι το όζον, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία και η ατμοσφαιρική ρύπανση. Τοξίνες, ξενοβιοτικά και διάφορες φαρμακευτικές ουσίες μπορούν να δημιουργήσουν επίσης δραστικές ομάδες. Το αλκοόλ και τα εντομοκτόνα αποτελούν επίσης ευνοϊκή συνθήκη (Halliwell and Gutteridge 2015).

Η συσσώρευση ελευθέρων ριζών στον οργανισμό μπορεί να επιφέρει αρνητικές συνέπειες, όπως εξασθένιση του ανοσοποιητικού συστήματος ή προβλήματα στο μυϊκό σύστημα (Halliwell and Gutteridge 2015, Nikolaidis et al, 2008).

2.2.2 Ορισμός και Ενώσεις Αντιοξειδωτικών

Ως αντιοξειδωτικά ορίζονται χημικές ενώσεις οι οποίες καταστέλλουν την οξειδωση με στόχο την καθυστέρηση ή την αποτροπή του οξειδωτικού stress (Willcox et al, 2004).

Η συγκεκριμένη ομάδα ενώσεων φροντίζει να ενεργοποιεί μηχανισμούς έναντι στις δυσλειτουργίες που μπορεί να δημιουργηθούν από τις ελεύθερες ρίζες (<https://www.medicinenet.com/antioxidant/definition.htm>).

Για να επιτευχθεί αυτό, θα πρέπει να ανασταλούν οι ελεύθερες ρίζες και ο οργανισμός να αποκρίνεται θετικά ως προς την αντιμετώπιση όλο και περισσότερων ασθενειών (<https://core.ac.uk/download/pdf/323472325.pdf>).

Αυτό συμβαίνει μέσω της αδρανοποίησης των μορίων αυτών. (https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/BIO_P_116/%CE%95%CE%A1%CE%93%CE%91%CE%A3%CE%A4%CE%97%CE%A1%CE%99%CE%91%CE%9A%CE%9F%CE%A3%20%CE%9F%CE%94%CE%97%CE%93%CE%9F%CE%A3%202021.pdf).

Οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί διακρίνονται σε ενζυμικούς και μη ενζυμικούς. Συναντώνται επίσης τα φυσικά και τα συνθετικά αντιοξειδωτικά.

Ένζυμα που έχουν αντιοξειδωτική ικανότητα είναι:

- Η αναγωγία της γλουταθειόνης (Glutathione Reductase, GR)
- Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Glutathione Peroxidase GPx)
- Η καταλάση (Catalase, CAT)

- Η υπεροξειδική δισμουτάση (Superoxide Dismutase, SOD)

Επίσης, ορισμένες μη ενζυμικές ενώσεις που συμμετέχουν σε αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς είναι οι ακόλουθες:

- ✓ Γλουταθειόνη: πρόκειται για ένα τριπεπτίδιο, αποτελούμενο από κυστεΐνη, γλουταμινικό οξύ και γλυκίνη. Προστατεύει τα ερυθροκύτταρα από δυσλειτουργίες που μπορεί να προκληθούν από την διεργασία της οξειδωσης. Έχει την ικανότητα να δημιουργήσει έναν αέναο κύκλο οξειδωσης και αναγωγής. Οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί είναι ενεργοί όταν η γλουταθειόνη υφίσταται αναγωγή (Halliwell and Gutteridge 2015).
- ✓ Συνένζυμο Q10: Ο ρόλος του είναι καθοριστικός κατά την διεργασία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Δρα συμμετοχικά στη σύνθεση του ATP.
- ✓ B-Καροτένιο: Μαζί με το σελήνιο, την βιταμίνη E και την βιταμίνη C συμβάλλουν στο ανοσοποιητικό σύστημα (Halliwell and Gutteridge, 2015).
- ✓ Βιταμίνη E: Δομικά στοιχεία της είναι οι τοκοφερόλες. Σε πλειοψηφία συναντάται η α-τοκοφερόλη. Οι ελεύθερες ρίζες οξειδώνουν την βιταμίνη A και τα λιπίδια. Η σύνθεση τους λαμβάνει χώρα στη μιτοχονδριακή και κυτταροπλαστική μεμβράνη (Halliwell and Gutteridge 2015).
- ✓ Βιταμίνη C: Ονομάζεται και ασκορβικό οξύ. Ευθύνεται για την εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών. Ο χαρακτήρας της είναι υδατοδιαλυτός (Halliwell and Gutteridge 2015).
- ✓ Ουρικό Οξύ : Προέρχεται από το μεταβολισμό μιας ομάδας χημικών ενώσεων που ονομάζονται πουρίνες. Όσο ένας οργανισμός γυμνάζεται, το πλάσμα του αίματος εμπλουτίζεται με υψηλότερη συγκέντρωση με ουρικού οξέος (Green and Fraser 1988). Το επόμενο στάδιο είναι η διάχυσή του στο μυϊκό σύστημα και δρα αντιοξειδωτικά έναντι των δραστικών ομάδων του οξυγόνου.
- ✓ Σελήνιο: Ταξινομείται μαζί με το β-καροτένιο στην ευρύτερη κατηγορία των ιχνοστοιχείων. Όταν συνδυάζεται μαζί με την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης ενισχύει την αντιοξειδωτική δράση του ανθρώπινου οργανισμού.

https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/BIO_P_116/%CE%95%CE%A1%CE%93%CE%91%CE%A3%CE%A4%CE%97%CE%A1%CE%99%CE%91%CE%9A%CE%9F%CE%A3%20%CE%9F%CE%94%CE%97%CE%93%CE%9F%CE%A3%202021.pdf

Οξειδωτικό Stress

Το οξειδωτικό stress ορίζεται ως μία μεταβολή στο δομικό σύστημα μεταξύ των αντιοξειδωτικών και των οξειδωτικών με τα οξειδωτικά να πλεονεκτούν.

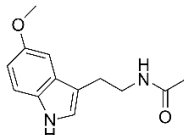
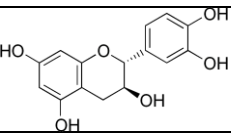
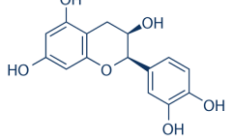
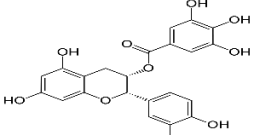
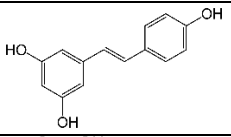
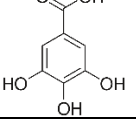
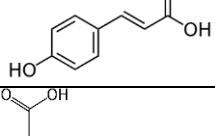
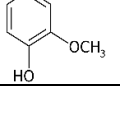
Το οξειδωτικό στρες ενδεχομένως, προέρχεται από το υπέρμετρο ενεργό άζωτο και το νιτροζωτικό οξυγόνο. Όταν τα λιπίδια αυτοοξειδωθούν, τότε παράγεται μια ευρεία γκάμα από χημικές ενώσεις αποσύνθεσης όπως είναι α, β ακόρεστες αλδεΐδες. Χαρακτηριστικά εμφανή παραδείγματα είναι η μηλονοδιαλδεΐδη, η 2-προπενάλη και η 4-υδροξυ-2-εννεανάλη. Οι παραπάνω μπορούν να ληφθούν και ως

δείκτες στις ανθρώπινες απεκρίσεις (Elgul Belge Kurutas, 2016). Εκτός από το οξειδωτικό στρες, τα αντιοξειδωτικά μπορούν να προβούν ως αποτελεσματική θεραπεία έναντι της περιοδοντίτιδας και των καρδιαγγειακών νοσών (Shinde et al, 2012).

ΣΤΕΡΕΟΪΣΟΜΕΡΕΙΑ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Αντιοξειδωτικά συστατικά του σταφυλιού παρουσιάζονται στον Πίνακα 5, ενώ στον Πίνακα 6 παρουσιάζονται αντιοξειδωτικές ενώσεις του δαμάσκηγου.

Πίνακας 5 :Αντιοξειδωτικές ενώσεις στο σταφύλι

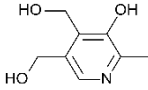
Αντιοξειδωτική ένωση	Χημικός Τύπος	Δομή των μορίων
Μελατονίνη	$C_{13}H_{16}N_2O_2$	
Κατεχίνη	$C_{15}H_{14}O_6$	
Επικατεχίνη	$(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4 \cdot 2NaCl$	
Γαλλική επικατεχίνη	$C_{22}H_{18}O_{10}$	
Ρεσβερατρόλη	$C_{14}H_{12}O_3$	
Γαλλικό Οξύ	$C_7H_6O_5$	
p-Κουμαρικό Οξύ	$C_9H_8O_3$	
Βανιλικό Οξύ	$C_8H_8O_4$	

Συριγγικό Οξύ	$C_9H_{10}O_5$	
Καφεϊκό Οξύ	$C_9H_8O_4$	
Φερουλικό Οξύ	$C_{10}H_{10}O_4$	
Ρουτίνη	$C_{27}H_{30}O_{16}$	

Πηγές: 1)*

Πίνακας 6: Αντιοξειδωτικά συστατικά του δαμάσκηνου

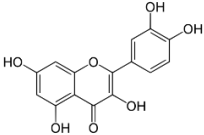
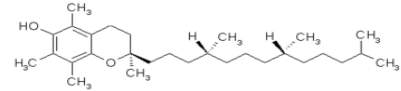
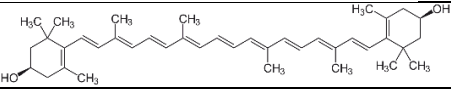
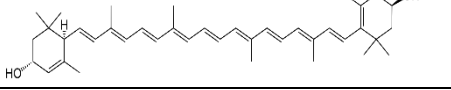
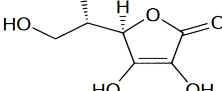
Β-Καροτένιο	$C_{40}H_{56}$	
Φυλλικό οξύ	$C_{19}H_{19}N_7O_6$	
Β-Κρυπτοξανθίνη	$C_{40}H_{56}O$	
Καμφερόλη	$C_{15}H_{10}O_6$	
Θειαμίνη	$C_{12}H_{17}N_4OS^+$	
Ριβοφλαβίνη	$C_{17}H_{20}N_4O_6$	
Νιασίνη	$C_6H_5NO_2$	
Παντοθενικό Οξύ	$C_9H_{17}NO_5$	
Μυρεκιτίνη	$C_{15}H_{10}O_8$	
Χλωρογενικό Οξύ	$C_{16}H_{18}O_9$	

Πυριδοξίνη	$C_8H_{11}NO_3$	
------------	-----------------	---

Πηγές:2)**

Στον ακόλουθο Πίνακα 7, εμφανίζονται κοινά αντιοξειδωτικά και των δύο καρπών, σταφυλιού και δαμάσκηνου.

Πίνακας 7: Κοινά αντιοξειδωτικά των δύο φρούτων

Κουερσετίνη	$C_{15}H_{10}O_7$	
Βιταμίνη E/ Α-Τοκοφερόλη	$C_{29}H_{50}O_2$	
Ζεαξανθίνη	$C_{40}H_{56}O_2$	
Λουτεΐνη	$C_{40}H_{56}O_2$	
Βιταμίνη C/C- ασκορβικό οξύ	$C_6H_8O_6$	

Πηγές: 3)***

2.3 ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ GRAPE BRANDY ΚΑΙ ΤΟΥ PLUMP BRANDY

Μέσα από διάφορες συγκρίσεις μεταξύ των grape brandy , προκύπτει η ύπαρξη των παρακάτω ενώσεων.

Εικόνα 19: Χημικές ενώσεις του grape brandy

Identified compounds	Amount of established compounds in the examined brandies, mg/dm ³		
	Grape brandy 1	Grape brandy 2	Grape brandy 3
Ethyl alcohol, vol. %	41.06	41.88	44.10
Acetaldehyde	113.73	77.36	73.14
Methanol	71.35	103.33	151.17
1. Esters			
Ethyl acetate	51.46	180.16	78.03
Propyl acetate	62.01	81.85	50.48
Ethyl butyrate	25.56	31.54	17.21
Hexyl acetate	≈ 0.05	ND	ND
Ethyl hexanoate	ND	≈ 0.05	ND
Phenyl acetate	ND	≈ 0.05	≈ 0.05
Ethyl caprylate	ND	ND	≈ 0.05
TOTAL	<u>139.08</u>	<u>293.65</u>	<u>145.82</u>
2. Higher alcohols			
2-methyl-1-butanol	34.05	ND	ND
3-methyl-1-butanol	≈ 0.05	ND	≈ 0.05
1-hexanol	5.75	6.62	27.27
1-heptanol	5.65	ND	ND
TOTAL	<u>45.50</u>	<u>6.62</u>	<u>27.32</u>
3. Terpenic alcohols			
Linalool oxide	ND	≈ 0.05	ND
α-terpineol	≈ 0.05	≈ 0.05	ND
Geraniol	0.18	≈ 0.05	ND
β-citronellol	ND	≈ 0.05	≈ 0.05
TOTAL	<u>0.23</u>	<u>0.20</u>	<u>0.05</u>
TOTAL CONTENT OF IDENTIFIED VOLATILE COMPOUNDS	<u>369.89</u>	<u>481.16</u>	<u>397.50</u>

Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Amounts-of-volatile-compounds-identified-in-grape-brandies_tbl1_322854489

Ακολουθεί πίνακας με τα εντοπιζόμενα χημικά συστατικά του plum brandy.

Εικόνα 20: Χημικές ενώσεις του plum brandy

Parameter	4-Ethylphenol	Eugenol	4-Vinylanisole	4-Allylanisole	4-Propenylanisole
Retention time (min)	9.9	10.7	13.4	14.4	15.8
Detection ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$, nm)	280/317	280/323	280/331	280/314	280/316
Intercept (b)	15.3	3.0	1.3	2.8	0.09
Slope (a)	83.0	71.0	244.6	44.4	46.7
Coefficient of correlation (<i>r</i>)	0.997	0.998	0.999	0.997	0.997
Linear range (mg/L)	0.04–12	0.003–50	0.003–15	0.002–10	0.002–10
Detection limit (mg/L)	0.01	0.001	0.001	0.0007	0.0007
Quantification limit (mg/L)	0.04	0.003	0.003	0.002	0.002

Πηγή: <https://www.semanticscholar.org/paper/Classification-of-plum-brandies-based-on-phenol-and-Jakub%3%ADkov%3%A1-%3%A1deck%3%A1/ab664ab6f61c2421d60675d1da76f0a2d2147400>

Εικόνα 21: Φαινολικά στοιχεία στο plum brandy

Phenolic compound	Retention time min	Sample			MRM parameters			
		Crvena ranka	Požegača	Trnovača	ESI mode	Quantification transition	Cone voltage V	Collision energy eV
Gallic acid	0.7	< 0.01	< 0.01	< 0.01	–	169→125	30	20
Protocatechuic acid	1.1	0.84	1.18	1.03	–	153→109	30	20
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	1.9	0.48	0.48	0.80	–	137→93	30	20
Catechin	2.4	7.99	7.11	7.41	+	291→139	26	20
Chlorogenic acid	2.5	15.03	11.66	18.17	+	355→163	20	12
Vanillic acid	2.6	0.60	0.76	0.59	+	169→93	15	30
Caffeic acid	2.7	3.01	8.27	3.22	–	179→135	30	20
<i>p</i> -Coumaric acid	3.4	0.12	0.15	0.16	–	163→119	15	30
Ferulic acid	3.7	< 0.01	0.75	0.13	+	195→145	20	16
Quercetin	5.4	1.47	3.91	4.66	–	301→179	30	20
Naringenin	6.0	0.01	0.02	0.12	–	271→151	24	24
Kaempferol	6.1	0.07	0.16	0.24	+	287→153	56	36

Πηγή: <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0352-5139/2019/0352-51391800096L.pdf>

Επίσης, εφόσον πραγματοποιείται συγκριτική μελέτη, παρουσιάζεται και ο παρακάτω πίνακας, εξίσου αντιπροσωπευτικός.

Πίνακας 22: Συγκριτικά αποτελέσματα ουσιών που εμφανίζονται από κοινού και στα δύο είδη brandy

Identified compounds	Quantity of identified compounds, mg/dm ³	
	Grape brandy	Fruit (plum) brandy
Acetaldehyde	162.00	106.70
Methanol	453.00	973.00
<i>1. Esters</i>		
Ethyl acetate	170.80	155.90
Propyl acetate	Traces	120.70
Isobutyl acetate	52.20	39.70
Ethyl butyrate	ND	5.60
Pentyl acetate	Traces	Traces
Hexyl acetate	71.10	Traces
<i>TOTAL</i>	<u>294.10</u>	<u>321.90</u>
<i>2. Higher alcohols</i>		
Isobutanol	57.90	ND
1-pentanol	16.80	31.90
2-methyl-1-butanol	ND	Traces
1-heptanol	14.80	32.10
<i>TOTAL</i>	<u>89.50</u>	<u>64.00</u>
<i>3. Terpene alcohols</i>		
Linalool oxide	0.29	0.21
α-terpineol	ND	Traces
Geraniol	2.60	0.60
β-citronellol	0.60	0.20
<i>TOTAL</i>	<u>3.49</u>	<u>1.01</u>

Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Quantity-of-volatile-aromatic-compounds-identified-in-the-studied-brandies_tbl1_313109543

3. ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

3.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ – ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN-CIICALTEU

Η συγκεκριμένη τεχνική είναι μια φωτομετρική μέθοδος, η οποία στηρίζεται στην οξείδωση που υφίστανται τα φαινολικά συστατικά από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Σκοπός της είναι ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών ενώσεων. Δεν πραγματοποιείται διαχωρισμός ανάλογα με την δομή των ουσιών, δηλαδή δεν ξεχωρίζει τις μονομερείς από τις διμερείς και τις τριμερείς ή και τις εκτενέστερα πολυμερείς φαινολικές ενώσεις.

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu αποτελείται από ένα μίγμα οξέων, από φωσφο-βολφραμικά ($H_3PW_{12}O_{40}$) και φωσφο-μολυβδαινικά ($H_3PMo_{12}O_{40}$) οξέα. Συνθέτουν ένα μείγμα ετεροπολυμερών ιόντων. Κατά τη διάρκεια που τα φαινολικά συστατικά οξειδώνονται, τα οξέα που συνιστούν το αντιδραστήριο ανάγονται. Κατά συνέπεια, προκύπτει ένα κυανό διάλυμα. Το Folin-Ciocalteu, αφού έχει αναχθεί, μετατρέπεται σε οξείδια του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}) και του βολφραμίου (W_8O_{23}). Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας του κυανού διαλύματος κυμαίνεται από 750-765 nm.

Η εκάστοτε κυανή απόχρωση του διαλύματος προκύπτει από την συγκέντρωση ανίχνευσης των φαινολικών ουσιών και μεταβάλλεται ανάλογα με αυτήν. Οι αναγωγικές ιδιότητες εξισώνονται με τις αντίστοιχες διαθέσιμες αντιοξειδωτικές.

Για να πραγματοποιηθούν αυτές οι αντιδράσεις είναι απαραίτητη η εξασφάλιση αλκαλικού περιβάλλοντος και η ρύθμιση του pH σε εκείνη την περιοχή μέσω της παρουσίας διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3). Οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται με το δείκτη F-C, εκφράζονται συνήθως σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος.

Ύψιστης σημασίας είναι οι προδιαγραφές για την πραγματοποίηση της αντίδρασης. Αυτές έγκειται: στους ισόποσους όγκους του Folin-Ciocalteu και του Na_2CO_3 , στην επίτευξη της καλύτερης δυνατής ταχύτητας και θερμοκρασίας έτσι ώστε να προκύψει η επιθυμητή κυανή απόχρωση, το μήκος κύματος να φτάνει έως τα 765 nm και τέλος τα πρότυπα διαλύματα να προέρχονται από διαφορετικές συγκεντρώσεις γαλλικού οξέος.

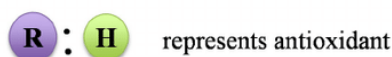
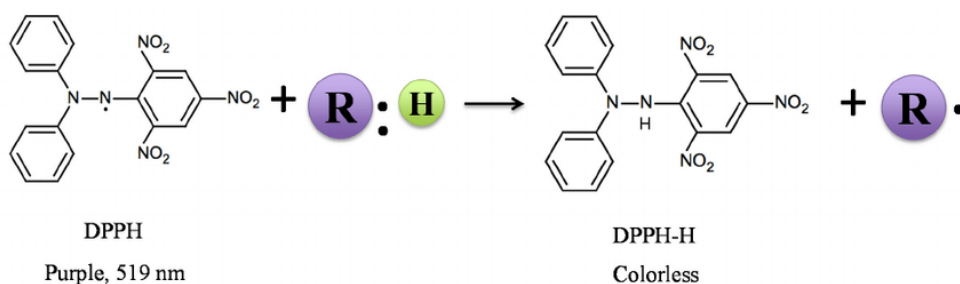
3.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

3.2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH

Πρόκειται για μια μέθοδο αποχρωματισμού, η οποία έχει ως στόχο την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός δείγματος. Βασίζεται στην αδρανοποίηση της ελεύθερης ρίζας 2,2-δι-φαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH) από αντιοξειδωτικές ουσίες που συνδέονται απευθείας με τη ρίζα (Bondet et al, 1997). Αρχικά το διάλυμα του DPPH σε μεθανόλη εμφανίζει έντονα μωβ χρώμα. Το χρώμα αυτό θα μεταβληθεί μόλις επέλθει η αντίδραση με το αντιοξειδωτικό δυναμικό, μετατρέπόμενο από μωβ σε κίτρινες αποχρώσεις. Αρκετά υψηλή απορρόφηση λαμβάνεται αν μετρηθεί η μωβ ελεύθερη ρίζα 2,2-δι-φαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου στα 517 nm.

Ο αποχρωματισμός που παρατηρείται, είναι ανάλογος του βαθμού αναγωγής και συνεπώς της αντιοξειδωτικής δράσης της ουσίας. Η σταδιακή μείωση της απορρόφησης συνεπάγεται με χαμηλή συγκέντρωση των σχηματιζόμενων υπεροξειδίων και συνεπώς, μεγάλη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Η ελεύθερη ρίζα DPPH είναι μία σταθερή, οργανική, ελεύθερη ρίζα αζώτου. Παρά το γεγονός ότι είναι παραλήπτης ηλεκτρονίων, η οξείδωση του είναι εξαιρετικά δύσκολη. Όσο μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα έχει το αναλυόμενο δείγμα, τόσο περισσότερο αποχρωματίζεται και το διάλυμα όπου συμβαίνει η αντίδραση. Ο αποχρωματισμός αυτός οφείλεται σε αντιδράσεις που αφορούν είτε στην μεταφορά ενός ηλεκτρονίου είτε σε μια ενδεχόμενη μεταφορά ενός υδρογόνου (Prior et al, 2005). Πιο συγκεκριμένα, όσο ελαχιστοποιείται η οπτική πυκνότητα, τόσο λιγότερα υπεροξείδια σχηματίζονται με αποτέλεσμα να αγγίζουν χαμηλά επίπεδα συγκέντρωσης. Συμπερασματικά, αυτό το φαινόμενο δείχνει ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα είναι υψηλή.



Εικόνα 23 : Αντίδραση του αντιδραστηρίου 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) με αντιοξειδωτική ουσία, όπου παρατηρείται αποχρωματισμός του διαλύματος DPPH.

Για να υπολογισθεί το μέγεθος του αντιοξειδωτικού μηχανισμού, η μέθοδος που ακολουθείται προϋποθέτει την αντίδραση της ελεύθερης ρίζας DPPH με το αναλυόμενο ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα διάλυμα. Έτσι, θα πρέπει να καταγράφονται οι τιμές της απορρόφησης ανά 30 min μέχρις ότου να σταθεροποιηθεί η τιμή της στο φασματοφωτόμετρο (steady state).

Η δημιουργία των ελεύθερων ριζών παρεμποδίζεται από το διάλυμα της DPPH. Η παρεμπόδιση αυτή συμβολίζεται με (%) και αποτυπώνεται με τον εξής τρόπο:

$$\% \Delta A = [A_{(\text{blank})} - A_{(\text{sample})}] / A_{(\text{blank})} \times 100$$

όπου:

$A_{(\text{blank})}$: η οπτική πυκνότητα του τυφλού σε $t=0$

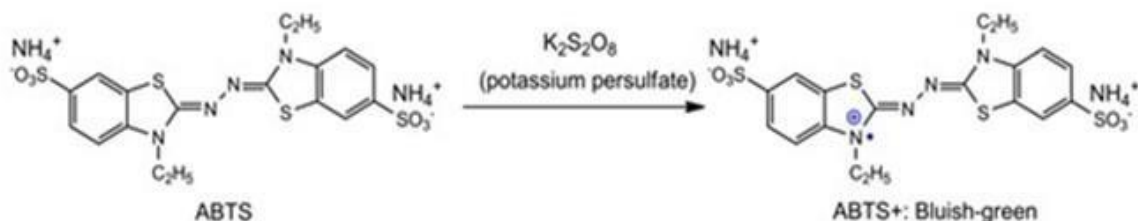
$A_{(\text{sample})}$: η οπτική πυκνότητα του διαλύματος μετά το πέρας των 30 min.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε τιμές TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), δηλαδή σε συγκέντρωση (nM) Trolox (6-υδροξυ-2,5,7,8-τετραμεθυλοχρωμαν-2-ικό οξύ), που έχει δράση ανάλογη με εκείνη ενός διαλύματος αντιοξειδωτικού συγκέντρωσης 1 μM .

Η μέθοδος DPPH είναι μια γρήγορη και αξιόπιστη μέθοδος προσδιορισμού αντιοξειδωτικών σε τρόφιμα και ποτά και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε δείγματα σε στερεή και υγρή κατάσταση. Το μειονέκτημα που παρουσιάζει είναι ότι χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των ολικών αντιοξειδωτικών, χωρίς τη δυνατότητα να περιορίζεται στη μέτρηση ενός συγκεκριμένου συστατικού.

3.2.2. ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS

Η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας στον τομέα των τροφίμων και των ποτών. Περιλαμβάνει την παραγωγή του κατιόντος της ρίζας ABTS \cdot^+ (ABTS \cdot^+) χρώματος μπλε ή πράσινου, που προκύπτει από την αντίδραση του ABTS (2,2' αζινο-δις-3-αιθυλοβενζοθειαζολινο-6-σουλφονικού οξέος) με το υπερθειικό κάλιο ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (Εικόνα 24) (Fan et al, 2020).



Εικόνα 24 .Σχηματισμός του κατιόντος της ρίζας ABTS \cdot^+ (ABTS \cdot^+) χρώματος μπλε ή πράσινου, που προκύπτει από την αντίδραση του ABTS με το υπερθειικό κάλιο ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$).

Η οπτική πυκνότητα του ABTS^{•+} εμφανίζεται ιδιαίτερα έντονη στη φασματική περιοχή των 600-700 nm. Σε περίπτωση που αντιδράσει με μία ένωση που αποτελεί δότη ατόμων, μετατρέπεται ευθύς σε ένα άχρωμο διάλυμα. Η δράση του είναι παρόμοια με τα φαινολικά ιόντα, παρ' όλα αυτά απουσία αυτών αποκτά σταθερότητα. Σε περίπτωση που παρατηρηθεί ισχυρός αποχρωματισμός, αυτό σημαίνει ότι υφίσταται υψηλή συγκέντρωση του φαινολικού δυναμικού. Το καταναλωθέν ABTS^{•+} δηλώνεται μέσω των ισοδυνάμων του γαλλικού οξέος και των μονάδων συγκέντρωσης Trolox. Με τον παραπάνω τρόπο προκύπτει η αντιοξειδωτική ικανότητα του εξεταζόμενου διαλύματος (Villano et al, 2004).

3.3 ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΕΩΣ (HPLC)

3.3.1 Γενικά

Ως υγρή χρωματογραφία (Liquid Chromatography), ορίζεται κάθε τύπος χρωματογραφίας που βασίζεται στον διαχωρισμό των ουσιών με κριτήριο την πολικότητα τους, παρουσία ενός υγρού διαλύτη που αποτελεί την κινητή φάση. Η στατική φάση ενδέχεται να είναι είτε υγρή και ακινητοποιημένη σε κάποιο στερεό υπόστρωμα είτε στερεή από πορώδες υλικό. Συνήθως εντοπίζεται έγκλειστη σε στήλη. Διακρίνεται σε κλασική υγρή χρωματογραφία και σε υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης. Η πρώτη έγκειται στο γεγονός ότι η διέλευση της κινητής φάσης από την στατική είναι ευκολότερη με τη βοήθεια της βαρύτητας, διότι τα σωματίδια της δεύτερης έχουν αρκετά μεγάλο μέγεθος και κατ' επέκταση αντιστέκονται λιγότερο. Στην υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης είναι απαραίτητη η παρουσία της αντλίας υψηλής πίεσης, αφού για να διαχωριστούν οι ουσίες επέρχεται έντονη αντίσταση των σωματιδίων ως προς το ρέον υγρό (Μπρατάκος, 2003).

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής αποδόσεως (High Performance Liquid Chromatography), παρέχει διάφορα είδη χρωματογραφίας και ο καθοριστικός παράγοντας επιλογής διαχωρισμού είναι η φύση της στατικής φάσης. Έτσι προκύπτουν οι παρακάτω μέθοδοι:

- **Χρωματογραφία κατανομής**, η οποία διαχωρίζεται σε υγρή- υγρή χρωματογραφία και σε χρωματογραφία συνδεδεμένης ή δεσμευμένης φάσεως.
- **Χρωματογραφία προσροφήσεως**, με βάση την διαδικασία προσροφήσεως-εκροφήσεως.
- **Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής**, στην οποία το ηλεκτρικό φορτίο που φέρει η προσδιοριζόμενη ποσότητα είναι το αντίθετο του ηλεκτρικού φορτίου της στατικής φάσης.

- Χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού , που έγκειται στην διαφοροποίηση της διαμέτρου των μορίων. Απαραίτητο εργαλείο είναι μια στήλη που εμπεριέχει συγκεκριμένης διαμέτρου πόρους για τον διαχωρισμό.
- Χρωματογραφία Οπτικής ισομέρειας (Chiral) και η Χρωματογραφία Συγγένειας (Affinity) αποτελούν χρωματογραφικές μεθόδους με ιδιαίτερη εξειδίκευση (Μπρατάκος, 2003). Πιο συγκεκριμένα η χρωματογραφία συγγένειας σχετίζεται με τα εναντιομερή που ενώνονται με υποκαταστάτες, οι οποίοι ενοπίζονται στην στατική φάση.

➤

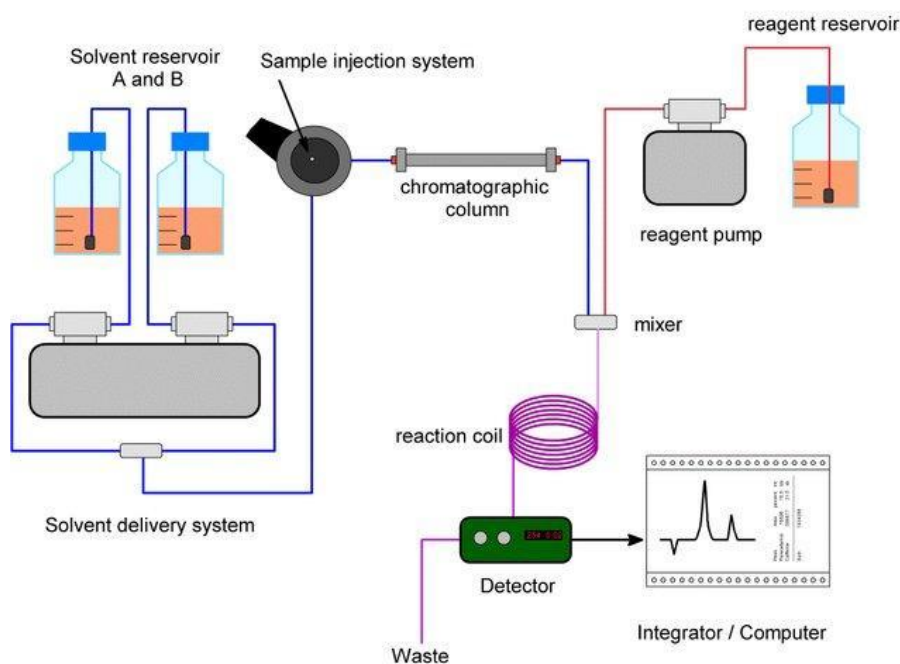
3.3.2 Αρχή της Μεθόδου

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής αποδόσεως (HPLC), βασίζεται στην πολικότητα των ενώσεων που οδηγούν προς τον διαχωρισμό των ουσιών ανάμεσα σε μία στατική φάση (stationary phase) και σε μία υγρή φάση (mobile phase). Το εκλουστικό μέσο παρασύρει τις ενώσεις του δείγματος αναπτύσσοντας ξεχωριστές ταχύτητες για την καθεμία, διαπερνώντας την στατική φάση, που ουσιαστικά είναι καθηλωμένη. Όσες ουσίες έχουν προσδεθεί εντονότερα στην ακίνητη φάση, είναι περισσότερο πολικές και μεταφέρονται με χαμηλότερο ρυθμό/ταχύτητα σε σχέση με μία άλλη, λιγότερο πολική , που εμφανίζει πιο χαλαρή προσρόφηση/δέσμευση. (<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/PHA1610/%CE%91%CE%BD%CE%BF%CE%B9%CE%BA%CF%84%CE%AC%20%CE%9C%CE%B1%CE%B8%CE%AE%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1/%CE%A5%CE%B3%CF%81%CE%AE%20X%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%BF%CE%B3%CF%81%CE%B1%CF%86%CE%AF%CE%B1.pptx>). Κατά συνέπεια εμφανίζεται μια δυναμική ισορροπία , η οποία οφείλεται στον ταυτόχρονο διαχωρισμό. Ο τρόπος με τον οποίο διαχωρίζονται και κατανέμονται τα διάφορα συστατικά καθορίζεται από τον συντελεστή κατανομής κ. Ο λόγος $k=C_A/C_B$, δείχνει την συσχέτιση του συντελεστή κατανομής και των επιμέρους συγκεντρώσεων της προσδιοριζόμενης ουσίας τόσο στην κινητή (C_B) όσο και στην στατική φάση (C_A) . Στόχος είναι η ταυτοποίηση ενώσεων ενός δείγματος και η εύρεση της συγκέντρωσης τους στην προς ανάλυση ουσία (Μπρατάκος, 2003).

3.3.3 Οργανολογία

Ένας χρωματογράφος υγρής χρωματογραφίας υψηλής αποδόσεως (Εικόνα 25) αποτελείται από τα παρακάτω επιμέρους βασικά τμήματα:

- Το σύστημα εισαγωγής του δείγματος
- Το σύστημα παροχής της κινητής φάσης, το οποίο αποτελείται από τους διαλύτες και από την αντλία
- Τον ανιχνευτή
- Την στήλη
- Τον καταγραφέα



Εικόνα 25 : Σχηματική παράσταση οργάνολογίας HPLC

https://www.researchgate.net/publication/307971644_Impurity_Profiling_of_Challenging_Active_Pharmaceutical_Ingredients_without_Chromophore

○ **Σύστημα εισαγωγής (sample injection system)**

Το υπό προσδιορισμό δείγμα μέσω μιας σύριγγας οδηγείται σε ένα «βαθμονομημένο βρόχο» ή αλλιώς «loop» (Μπρατάκος, 2003). Το τμήμα αυτό ονομάζεται βαλβίδα εισαγωγής και είναι ουσιαστικά μία περιστρεφόμενη βαλβίδα στην οποία ασκείται υψηλή πίεση. Με κατάλληλη στροφή του μοχλού της βαλβίδας πραγματοποιείται η έγχυση του δείγματος απευθείας στην κινητή φάση και κατά συνέπεια η προσδιοριζόμενη ποσότητα παρασύρεται προς την στήλη (Μπρατάκος, 2003). Η χωρητικότητα του «loop» κυμαίνεται από 10-20 μL . Έτσι μόνο με λίγα μL επιτυγχάνεται ακριβής ανάλυση υπό πίεση έως και 41 Pa (Χατζηγιάννου & Κουππάρης, 1990).

○ **Σύστημα παροχής κινητής φάσης**

Αποτελείται από ένα σύστημα για βαθμιαία εναλλαγή της σύστασης της κινητής φάσης αλλά και από μία αντλία στην οποία υφίσταται υψηλή πίεση. Για να επιτευχθούν αλλαγές στην κατανομή της κινητής φάσης χρησιμοποιούνται είτε χαλύβδινες είτε γυάλινες φιάλες. Οι εμπειροχόμενοι διαλύτες διαφέρουν ως προς :

- ✓ Την πολικότητα
- ✓ Τη συγκέντρωση αλάτων
- ✓ Το pH
- ✓ Την ιονική τους ισχύ (Χατζηιωάννου & Κουπάρης, 1990)

Αναμιγνύονται πριν την διαδρομή τους προς την αντλία σύμφωνα με τον τύπο του ακολουθούμενου διαχωρισμού. Όταν οι ουσίες διαχωρίζονται σε μία κινητή φάση που παραμένει σταθερή ως προς τη σύστασή της, τότε λαμβάνει χώρα «ισοκρατική έκλυση». Αν το σύστημα διαλυτών εναλλάσσεται από διαλύτες με διαφοροποιήσεις ως προς την πολικότητα, τότε συμβαίνει «βαθμιαία ή βαθμιδωτή έκλυση» (Μπρατάκος, 2003).

Η αντλία υψηλής πίεσης (pump) έχει το ρόλο της διαβίβασης της κινητής φάσεως εντός του συστήματος του χρωματογράφου. Η συνηθέστερη ταχύτητα είναι 1 mL/min.

Η αντλία υψηλής πίεσης (pump) έχει το ρόλο της διαβίβασης της κινητής φάσεως εντός του συστήματος του χρωματογράφου. Η συνηθέστερη ταχύτητα είναι 1 mL/min.

ο **Ανιχνευτής**

Οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται είναι ποικίλοι. Στην υγρή χρωματογραφία χρησιμοποιούνται ανιχνευτές όπως απορροφήσεως, υπεριώδους-ορατού, φθορισμού, αμπερομετρικοί ή ηλεκτροχημικοί, διαφορικοί ανιχνευτές δείκτη διαθλάσεως και αγωγιμότητας. Επίσης, σημαντικοί είναι οι ανιχνευτές σκεδάσεως του φωτός, μάζας, ιξώδους, υπερίθρου, μεταφοράς, ραδιενεργοί και ανιχνευτές χημειοφωταύγειας αζώτου .

Τα χαρακτηριστικά ενός ιδανικού ανιχνευτή πρέπει να είναι τα εξής:

1. Η ευαισθησία του κυμαίνεται από 10^{-8} έως και 10^{-15} g ουσίας/s
2. Η ίση ανταπόκριση προς όλα τα στοιχεία που βρίσκονται στο διάλυμα
3. Να είναι εκλεκτικός ως προς συγκεκριμένες ουσίες
4. Η διαμόρφωση ευρείας κλίμακας της γραμμικής δυναμικής
5. Η συσχέτιση σήματος & συγκέντρωσης να παρουσιάζεται ως γραμμική
6. Να μην υφίσταται η ανταπόκριση του ως προς την κινητή φάση
7. Το κατώφλι ανίχνευσης να διαμορφώνεται σε χαμηλά επίπεδα
8. Να παραμένει ανεξάρτητος από την ταχύτητα με την οποία ρέει το υγρό έκλυσης.
9. Να είναι επίσης ανεπηρέαστος από ενδεχόμενες εναλλαγές της θερμοκρασίας.

Αυτός που συγκεντρώνει τα περισσότερα δυνατά χαρακτηριστικά , αποτελεί τον πλέον κατάλληλο για ακριβέστερα αποτελέσματα.

Στους ανιχνευτές UV-Vis περιοχής πραγματοποιείται η μέτρηση της απορρόφησης του προσδιοριζόμενου δείγματος στην περιοχή ορατού-υπεριώδους.

Η πλειοψηφία των χρωματογράφων HPLC, φέρουν ανιχνευτές με φασματοφωτόμετρο σαρώσεως, το οποίο διαθέτει οπτικά φράγματα. Ο καθορισμός του μήκους κύματος για την εκάστοτε ουσία προκύπτει από έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή. Τα όργανα με «φωτοδίοδο-array» (diode array), ανήκουν σε αυτή την κατηγορία ανιχνευτών.

Σε τέτοιου είδους ανιχνευτές, εμπεριέχεται ένα φράγμα και μία συστοιχία φωτοδίοδων. Μόλις η πολυχρωματική ακτινοβολία εξέλθει από το προσδιοριζόμενο δείγμα, τότε επέρχεται η διασπορά της στο φράγμα και τέλος η πρόσπτωση της στις φωτοδίοδους. Η κάθε μία εξ αυτών υπολογίζει μία δέσμη αποτελούμενη από διάφορα μήκη κύματος. Συμπερασματικά, στον ίδιο χρόνο η συστοιχία των δίοδων (diode array) έχει λάβει όλες τις πληροφορίες που φέρουν τα επιμέρους σημεία του εξεταζόμενου φάσματος. Έπειτα όλα τα δεδομένα του φάσματος θα περάσουν στην μνήμη του υπολογιστή και θα αντικατοπτρίζονται στο χρωματογράφημα μετά την ολοκλήρωση της ανάλυσης (Μπρατάκος, 2003).

ο **Χρωματογραφικές Στήλες**

Οι στήλες που χρησιμοποιούνται προέρχονται από διάφορα υλικά όπως: χάλυβας, τηγμένο SiO₂, ενισχυμένο γυαλί ανθεκτικό σε υψηλές πιέσεις, ρητίνη και τιτάνιο. Όσες στον εσωτερικό τους χώρο έχουν διαμετρικές διαστάσεις 0,5-2 mm, ονομάζονται «microbore». Ενώ εκείνες που διαθέτουν διάμετρο < 0,5 mm ή ανοιχτό σωλήνα, είναι γνωστές ως «μικροστήλες». Οι στήλες που προπορεύονται της βασικής αναλυτικής στήλης ονομάζονται «προστήλες» Σχετικά με το υλικό πλήρωσης των στηλών, υπάρχουν τρεις τύποι σωματιδίων πληρωτικών υλικών: τα υμενοειδή σωματίδια (pellicular particles), διαμέτρου 30-40μm, τα μικροπορώδη σωματίδια (microporous particles), διαμέτρου 5-10μm και τα μακροπορώδη σωματίδια (macroporous), διαμέτρου >60μm. Οι πιο συνήθεις στήλες που χρησιμοποιούνται είναι στήλες C18, C8 ή C4, δηλαδή στήλες που αποτελούνται από Silica ενωμένη με ανθρακική αλυσίδα από 18, 8 ή 4 άτομα άνθρακα, αντίστοιχα.

ο **Καταγραφέας**

Ο καταγραφέας αποτελεί το μέσο απεικόνισης ενός χρωματογραφήματος. Οι διάφορες διεργασίες επιτελούνται χάρη στην παρουσία ενός ηλεκτρονικού ολοκληρωτή (electronic integrator). Διαβάζοντας το σήμα που εκπέμπει ο ανιχνευτής, υπολογίζει την εκκίνηση, την μέγιστη απεικόνιση και την ολοκλήρωση κάθε κορυφής. Μέσω αυτών των στοιχείων προκύπτει το εμβαδόν της εκάστοτε κορυφής και ο χρόνος συγκράτησης. Τα δύο παραπάνω δεδομένα συγκεντρώνονται μαζί με την εκατοστιαία αναλογία του εμβαδού στο σύνολό του σε καταλόγους. Σε περίπτωση

βαθμονομημένου συστήματος, οι διάφορες ταυτοποιήσεις μπορούν να προκύψουν από μια βάση δεδομένων πρότυπων διαλυμάτων και έτσι να συντελέσουν στον υπολογισμό των συγκεντρώσεων των στοιχείων του προσδιοριζόμενου δείγματος. Μπορεί να αποτελεί ένα αυτοτελές μηχάνημα ή ένα σύστημα που αποτελείται από τον ολοκληρωτή και έναν υπολογιστή (Μπρατάκος, 2003).

3.3.4. Σημαντική Ορολογία

Χρωματογράφημα: είναι η γραφική αναπαράσταση που αντικατοπτρίζει την συνάρτηση του χρόνου με το εξεταζόμενο μέγεθος του δείγματος, το οποίο διαβάζεται από τον ανιχνευτή μετά την προσθήκη του αναλυόμενου υγρού στη χρωματογραφική στήλη. Όταν μία χημική ένωση, εισαχθεί σε μία τέτοια στήλη, αφότου διαλυθεί μέσα στο εκλουστικό μέσο(κινητή φάση), τα μόρια της αρχίζουν να κατανέμονται εναλλάξ, τότε σε αυτή και τότε στην ακίνητη(στατική) ανάλογα με την δέσμευση και την προσρόφηση τους σε καθεμία. Συνεπώς διαμορφώνεται η συμπεριφορική τους δραστηριότητα . Επίσης, ανάλογα με την διαδρομή και τις διαφοροποιήσεις ταχυτήτων που μπορεί να έχουν τα μόρια μεταξύ τους, διαμορφώνεται και ο χρόνος παραμονής στην κινητή φάση. Η μέση συμπεριφορά των μορίων μιας χημικής ένωσης προκύπτει από τον τρόπο διασποράς τους και κατά συνέπεια της συνισταμένης συμμετρίας τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα , την δημιουργία κορυφών σε κωνοειδές σχήμα στο χρωματογράφημα , προσεγγίζοντας κατά αυτό τον τρόπο την κατανομή κατά Gauss.

Χρόνος Συγκράτησης(retention time, t_R): είναι ο απαιτούμενος χρόνος που χρειάζεται να διανύσει μία ουσία από την αρχή της εισαγωγής της στην στήλη έως τον ανιχνευτή. Πιο συγκεκριμένα , το χρονικό διάστημα από την είσοδο του δείγματος μέχρι της εμφάνιση της μεγαλύτερης κορυφής που παρουσιάζει μια ένωση, ονομάζεται **χρόνος συγκράτησης**. Ο χρόνος ενεργοποιείται από την στιγμή του εφοδιασμού της στήλης με το δείγμα μέσω ένεσης. Καθορίζεται από τους παρακάτω παράγοντες:

- Το πληρωτικό υλικό και ο όγκος των σωματιδίων που το αποτελούν (στατική φάση)
- Την πίεση της στήλης(από την οποία προκύπτει η ταχύτητα ροής του εκλουστικού μέσου)
- Διαστάσεις της στήλης
- Τη θερμοκρασία της στήλης
- Την σύσταση των ουσιών που παρουσιάζει η κινητή φάση

Οι δύο τελευταίες επηρεάζουν τον συντελεστή κατανομής.

- **Νεκρός χρόνος:** είναι ο χρόνος που χρειάζεται για να εξέλθει από την χρωματογραφική στήλη μία ουσία , η οποία δεν υφίσταται κάποια αλληλεπίδραση από την στατική φάση. Η μέση ταχύτητα που αναπτύσσει η ουσία στην κινητή φάση ισούται με την ταχύτητα εξόδου της από την χρωματογραφική στήλη.

- **Ανηγμένος χρόνος κατακράτησης(T_R'):** Αν μια χημική ένωση υφίσταται κάποια αλληλεπίδραση κατά την διέλευση της από την στατική φάση, τότε το χρονικό διάστημα παραμονής της στην στατική φάση είναι η διαφορά του νεκρού χρόνου και του χρόνου κατακράτησης. $T_R' = T_R - T_0$.

(https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/5388/2/02_chapter_08.pdf)

Κατά την διαδικασία της χρωματογραφικής ανάλυσης ενός δείγματος μέσα σε μια χρωματογραφική στήλη, λαμβάνουν χώρα τα εξής:

- Το εισαγόμενο δείγμα ενσωματώνεται εντός της κινητής φάσης(συστήματος διαλυτών) μέσα στην χρωματογραφική στήλη.
- Έπειτα διαχέεται κατά μήκος της στήλης διαμέσου του εκλουστικού μέσου σύμφωνα με την ροή του.
- Ξεκινά ο διαχωρισμός των μορίων της ουσίας εκατέρωθεν της κινητής και της στατικής φάσης.
- Το κάθε μόριο συνεχίζει την πορεία του στο εκλουστικό μέσο.
- Λαμβάνει χώρα νέα κατανομή μεταξύ των δύο φάσεων.
- Η ταχύτητα μετανάστευσης των μορίων είναι ανάλογη του λόγου του χρόνου κατακράτησης της κινητής φάσης προς τον χρόνο κατακράτησης της στατικής φάσης. Η ταχύτητα ροής είναι εξαρτώμενο μέγεθος του συντελεστή κατακράτησης της ουσίας των δύο φάσεων.
- Το εκάστοτε διαχωριζόμενο στοιχείο έχει ξεχωριστό συντελεστή κατανομής και μέση ταχύτητα ροής. Με βάση αυτό το γεγονός δημιουργείται από μια ξεχωριστή εκτεταμένη ζώνη για το καθένα.
- Μόλις εξέλθουν από τη χρωματογραφική στήλη τα εξεταζόμενα συστατικά, τότε οδηγούνται σε έναν ανιχνευτή (Τσότσου Γεωργία, 2017).

ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η σύγκριση ως προς την σύσταση των φαινολικών ουσιών και ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα δύο ειδών brandy: ενός brandy από σταφύλια και συγκεκριμένα του “Brandy Ararat”, που παράγεται στην Αρμενία και ενός brandy από δαμάσκηνα και συγκεκριμένα του “Slivovitz Rudolf Jelinek”, που παράγεται στην Τσεχία. Η ιδέα προήλθε από το ενδιαφέρον για την μελέτη των αντιοξειδωτικών των αυτών αλκοολούχων ποτών , αφού προέρχονται από πρώτες ύλες πλούσιες σε τέτοιου είδους ενώσεις. Για να προκύψει όμως, σύγκριση μεταξύ των δύο ήταν απαραίτητη η επιλογή ενός κοινού στοιχείου και αυτό ήταν η 10ετής παλαίωση.

Ο προσδιορισμός των συνολικών φαινολικών ουσιών στα δύο δείγματα brandy πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Folin Ciocalteu και ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο DPPH και τη μέθοδο ABTS . Επίσης, πραγματοποιήθηκε μία ποιοτική σύγκριση των δύο ειδών brandy με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης, εστιάζοντας κυρίως σε ενώσεις κατεχίνης, γνωστές για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα.

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΣΤΙΚΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN-CIOCALTEU

1.1 Υλικά - Εξοπλισμός

- Δείγματα brandy: Brandy Ararat (grape brandy)
Slivovitz Rudolf Jelinek (plum brandy)
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu
- Γαλλικό οξύ
- Na₂CO₃ 20%w/v
- Απιονισμένο H₂O

- Αναλυτικός ζυγός (με ένδειξη έως και τέσσερα δεκαδικά ψηφία)
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis ακτινοβολίας
- Γυάλινα σιφώνια πλήρωσεως των 5, 10, 20 ml και μετρήσεως των 20 ml
- Ποτήρια ζέσεως των 100 ml και 250 ml
- Πλάκα και μαγνητάκι ανάδευσης
- 3 αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου χωρητικότητας 2-20 μl, 50-200 μl και 250-1000 μl αντίστοιχα
- Ογκομετρικές φιάλες των 25 ml, 50 ml, 200 ml και 250 ml
- Πλαστικές κυψελίδες χαλαζία με b=1 cm
- Αναδευτήρας Vortex

1.2 Πειραματική Πορεία

Αρχικά, παρασκευάστηκε διάλυμα 20% w/v Na₂CO₃ σε ογκομετρική φιάλη των 200 mL. Έπειτα παρασκευάστηκε πρότυπο διάλυμα γαλλικού οξέος συγκέντρωσης 0,125 g/250mL. Στην συνέχεια, από το παραπάνω πρότυπο διάλυμα γαλλικού οξέος, λαμβάνονται οι ποσότητες των 5,10,20, 30, 40 ml σε ογκομετρικές φιάλες των 50 ml με στόχο την παρασκευή πρότυπων αραιωμένων δειγμάτων γαλλικού οξέος. Οι επιθυμητές συγκεντρώσεις είναι αντίστοιχα 5,10,20,30,40 και 50 mg/100 ml.

Ακολουθως, σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml , εισάγονται κατά σειρά:

- ✓ 0,25 mL (250 μL) πρότυπου διαλύματος γαλλικού οξέος
- ✓ 12,5 ml απιονισμένου H₂O
- ✓ 1,25 ml (1.250 μl) αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu

Αναδεύεται το διάλυμα με τον αναδευτήρα Vortex και παραμένει στο σκοτάδι για 3 λεπτά. Μετά το πέρας του χρονικού διαστήματος, προστίθενται 5 ml διαλύματος 20%w/v Na₂CO₃ και συμπληρώνεται η ογκομετρική φιάλη με απιονισμένο H₂O μέχρι

την χαραγή της. Ακολουθεί παραμονή σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά. Μετά το πέρας των 30 λεπτών, λαμβάνεται η μέτρηση της απορρόφησης του δείγματος στα 750 nm. Παράλληλα, εκτελείται τυφλό διάλυμα, με ίσο όγκο απιονισμένου νερού αντί δείγματος, με στόχο να διορθωθούν άμεσα ενδεχόμενες αποκλίσεις του οργάνου. Η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται τρεις φορές, και από τις 3 διαφορετικές μετρήσεις απορρόφησης A για κάθε δείγμα λαμβάνεται ο μέσος όρος. Από τις λαμβανόμενες τιμές, κατασκευάζεται η καμπύλη αναφοράς.

Ακολουθώντας την παραπάνω πορεία και για τα δείγματα brandy, λαμβάνουμε τις αντίστοιχες τιμές απορρόφησης (μέσος όρος μετρήσεων.) Η συγκέντρωση σε ολικές φαινολικές ενώσεις θα προκύψει από την πρότυπη καμπύλη αναφοράς του γαλλικού οξέος και θα εκφράζεται σε ισοδύναμα αυτού με μονάδες μέτρησης mgCAEs/L brandy.

Επίσης, τα αποτελέσματα εκφράζονται και υπό τη μορφή δείκτη, μέσω της σχέσης: **Δείκτης FC=A₇₅₀*20.**

Σημειώνεται, ότι στην περίπτωση που τα δείγματα έχουν αραιωθεί σε στην παραπάνω σχέση υπολογίζεται ο συντελεστής αραιώσεως:

Δείκτης FC=A₇₅₀*20*10(συντελεστής αραιώσεως)*10, προκειμένου να γίνει η αναγωγή σε mg/L.



Εικόνα 26: Διαλύματα γαλλικού οξέος μετά την αντίδραση τους με Folin-Ciocalteu

2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ DDPH

2.1.1 Υλικά - Εξοπλισμός

- Μεθανόλη (CH₃OH)
- Αντιδραστήριο DDPH(60μM)
- Αντιδραστήριο Trolox(2,0nM)
- Δείγματα brandy : Brandy Ararat (grape brandy)
Slivovitz Rudolf Jelinek (plum brandy)

- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis ακτινοβολίας
- Αναλυτικός ζυγός (με ένδειξη έως και τέσσερα δεκαδικά ψηφία)
- Ποτήρια ζέσεως των 100 ml
- Μία θερμαντική πλάκα μόνο για την ανάδευση
- Ένα μαγνητάκι ανάδευσης
- 3 αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου χωρητικότητας 2-20 μl, 50-200 μl και 250-1000 μl αντίστοιχα
- Πλαστικές κυψελίδες χαλαζία με b=1,00 cm
- Πλαστικά κωνικά φιαλίδια
- Αναδευτήρας Vortex
- 1 σπάτουλα για το ζύγισμα
- Γυάλινη ράβδος
- Ογκομετρικές φιάλες με πώμα(25 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL)

2.1.2 Πειραματική Πορεία

Παρασκευή Διαλύματος DDPH/CH₃OH (60μM)

Ζυγίζονται σε ποτήρι ζέσεως 0,0059 g DDPH και διαλυτοποιούνται σε ρευστή μεθανόλη (CH₃OH) εμπορίου. Αμέσως μετά, το μείγμα μεθανόλης και DDPH μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 250 mL και με αραιώνεται μέχρι την χαραγή με μεθανόλη.

Διεξαγωγή πειράματος:

Αρχικά αραιώνονται τα δείγματα brandy, 25 μl δείγματος με προσθήκη μεθανόλης σε τελικό όγκο 500μl (αραίωση 1/20). Έπειτα, στο εκάστοτε κωνικό φιαλίδιο, εισάγονται κατά σειρά:

- ✓ 3000 μL (3 mL) του αραιωμένου διαλύματος DDPH/CH₃OH (60 μM)
- ✓ 80 μL μεθανόλη
- ✓ Μετά από 2 λεπτά, προστίθενται 20 μL αραιωμένου δείγματος brandy
- ✓ Αναδεύεται το κωνικό φιαλίδιο στο Vortex

- ✓ Φυλάσσεται στο σκοτάδι για 30 λεπτά, έτσι ώστε να αντιδράσουν τα αντιδρώντα

Μετά το πέρας της μισής ώρας, λαμβάνεται μέτρηση της απορρόφησης στα 515 nm. Η κυψελίδα στην οποία μεταφέρονται τα δείγματα έχει οπτική διαδρομή $b=1,00$ cm. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται τρεις φορές και ως τελική τιμή απορρόφησης λαμβάνεται ο μέσος όρος των τιμών των απορροφήσεων. Εκτός από τα δείγματα, πραγματοποιείται μέτρηση και σε ένα διάλυμα Control που περιέχει : 3000 μ L διαλύματος 60 μ M DDPH/ CH_3OH και 100 μ L μεθανόλης. Ο μηδενισμός του φασματοφωτόμετρου πραγματοποιείται με μεθανόλη (blank solution).

Παρασκευή Πρότυπου Διαλύματος Trolox (0,2nM)

Σε αναλυτικό ζυγό, ζυγίζονται σε ποτήρι ζέσεως 0,0125 g αντιδραστηρίου Trolox και διαλύονται με μεθανόλη. Η ποσότητα μεταφέρθηκε ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και αραιώνεται μέχρι την χαραγή με μεθανόλη. Κατόπιν σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml, προστέθηκαν 10 μ L του διαλύματος αυτού (Trolox 2,0 nM), τα οποία εν συνεχεία αραιώθηκαν με διαλύτη μεθανόλη. Έτσι παραλήφθηκε τελικό διάλυμα Trolox 0,2 nM.

Πρότυπη Καμπύλη Αναφοράς Trolox

Σε πλαστικά κωνικά φιαλίδια, εισάγονται με τη σειρά:

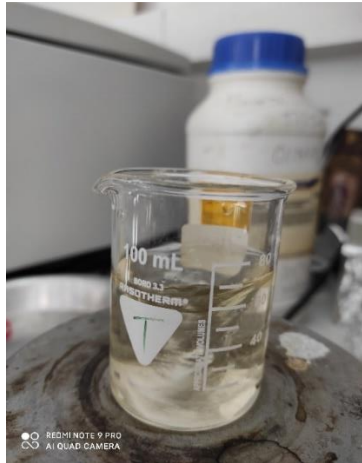
- 3000 μ L (3mL) του αραιωμένου διαλύματος DDPH/ CH_3OH (60 μ M)
- Μεθανόλη σε όγκους των: 100 μ L, 90 μ L, 80 μ L, 70 μ L, 60 μ L, 50 μ L, 40 μ L, 30 μ L, 20 μ L, 10 μ L.
- Διάλυμα Trolox σε όγκους των : 0 μ L, 10 μ L, 20 μ L, 30 μ L, 40 μ L, 50 μ L, 60 μ L, 70 μ L, 80 μ L, 90 μ L, αντίστοιχα με τους όγκους την μεθανόλη

Ακολούθησε μικρή ανάδευση και έπειτα το περιεχόμενο των φιαλιδίων παρέμεινε σε σκοτεινό χώρο, έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση για 30 min. Μετέπειτα, το περιεχόμενο του κάθε δείγματος μεταφέρθηκε σε πλαστική κυψελίδα ($b=1,00$ cm) και μετρήθηκε η απορρόφηση με φασματοφωτόμετρο, στα 515 nm. Το Control περιείχε 3000 μ L του διαλύματος 60 μ M DDPH/ CH_3OH και 100 μ L CH_3OH . Ο μηδενισμός του φασματοφωτόμετρου ολοκληρώθηκε με μεθανόλη.

Λαμβάνοντας υπόψιν, την αραιώση του δείγματος σε μεθανόλη 1/20, καθώς και το ό,τι παίρνουμε 20 μ L από το αραιωμένο δείγμα, η συγκέντρωση των δειγμάτων εκφρασμένη σε ισοδύναμα Trolox, προκύπτει από τη σχέση:

$$C = 500 \cdot X / (20 \cdot 25)$$

όπου X = η τιμή των nMole Trolox, που προκύπτει από την εξίσωση της καμπύλης αναφοράς.



Εικόνα 27: Διάλυμα Trolox/ CH₃OH



Εικόνα 28: Διάλυμα DDPH/ CH₃OH

2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS

2.2.1 Υλικά - Εξοπλισμός

Δείγματα brandy : Brandy Ararat (grape brandy)
Slivovitz Rudolf Jelinek (plum brandy)

- Αντιδραστήριο ABTS σε σκόνη
- Υπερθειϊκό κάλιο (K₂S₂O₈)
- Απιονισμένο H₂O
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis ακτινοβολίας
- Αναλυτικός ζυγός (ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων)
- Ποτήρια ζέσεως των 100 ml
- 3 αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου, 2-20 μl, 50-200 μl και 250-1000 μl
- κυψελίδες με b=1,00 cm
- Πλαστικά κωνικά φιαλίδια
- Γυάλινη ράβδος
- Ογκομετρικές φιάλες των 50 mL

2.2.2 Πειραματική Πορεία

Παρασκευή διαλύματος ριζικού κατιόντος ABTS^{•+}

Ζυγίζονται σε ποτήρι ζέσεως 0,1801 gr ABTS και 0,0331 gr K₂S₂O₈ και προστίθενται 20mL απιονισμένου H₂O. Ακολουθεί ανάδευση μέχρι πλήρους διαλυτοποίησης και στη συνέχεια το περιεχόμενο του ποτηριού μεταφέρεται σε μία ογκομετρική φιάλη των 50 ml και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι την χαραγή με νερό.

Το διάλυμα που προκύπτει έτσι περιέχει τις εξής συγκεντρώσεις: 2,45 mM K₂S₂O₈ και 7 mM ABTS. Αμέσως μετά την παρασκευή του αποθηκεύεται σε σκοτεινό μέρος και σε θερμοκρασία δωματίου, όπου παραμένει για 16 ώρες, ώστε να προκύψει ένα έντονο βαθύ κυανό χρώμα. Για να παραληφθεί το διάλυμα του ριζικού κατιόντος ABTS^{•+}, θα πρέπει να πραγματοποιηθεί κατάλληλη αραιώση του πυκνού διαλύματος ABTS. Αυτό προκύπτει από την αραιώση 1 mL πυκνού διαλύματος ABTS με 69 ml

διαλύτη μεθανόλης. Η απορρόφηση που θα προκύψει στα 734nm είναι κοντά στο 0,700.

Πειραματική πορεία:

Δημιουργία Πρότυπης Καμπύλης Trolox

Αρχικά ζυγίζονται 0,0188 gr αντιδραστηρίου Trolox σε σκόνη. Διαλύονται στη μεθανόλη και εν συνεχεία τοποθετούνται στην ογκομετρική φιάλη με σκοπό την αραίωση του διαλύματος με προσθήκη διαλύτη ως τη χαραγή. Συνεπώς έτσι προκύπτει το διάλυμα Trolox/CH₃OH συγκέντρωσης 3,0 mM. Σε ογκομετρικές φιάλες των 50 ml προσθέτω, μικρούς όγκους των: 4.2 ml, 8.4 ml, 12.5 ml, 16.7 ml, 20.8 ml. Στόχος είναι να επιτευχθούν οι παρακάτω συγκεντρώσεις: 0.5,1.0,2.0,2.5 mM από ένα πρότυπο διάλυμα Trolox/CH₃OH με συγκέντρωση 3,0 mM. Οι επιλεγμένες ποσότητες έχουν στόχο να εμπίπτουν στο γραμμικό τμήμα καμπύλης-βαθμονόμησης. Σε πλαστικά κωνικά φιαλίδια τοποθετούνται 100 μL δείγματος brandy (αν αραιωθεί το δείγμα τότε η αναλογία είναι 10 μl δείγματος και 90 μl νερού) και ανά 30 δευτερόλεπτα, προστίθενται 2,4 ml από το αραιωμένο διάλυμα του ABTS^{•+}. Ακολουθεί ανάδευση με Vortex. Τα δείγματα επώάζονται σε σκοτεινό μέρος για 6 λεπτά και έπειτα μετράται η απορρόφηση στα 734nm. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Χρησιμοποιείται διάλυμα αναφοράς (Control) που περιέχει 2,4 ml από το αραιωμένο διάλυμα του ABTS^{•+}, και 100 μl νερό αντί δείγματος. Παράλληλα κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς trolox. Σε κάθε κωνικό φιαλίδιο, προστίθενται:

- ✓ 100 μl του εκάστοτε προτύπου διαλύματος Trolox διαφορετικής συγκέντρωσης
- ✓ Αφήνεται σε ηρεμία για 30 δευτερόλεπτα
- ✓ 2,4 ml αραιωμένο διάλυμα του ABTS^{•+}
- ✓ Ανάδευση με αναδευτήρα Vortex
- ✓ Επώαση για 6 λεπτά

Έχοντας ολοκληρώσει τον χρόνο αναμονής, μεταφέρεται το περιεχόμενο του φιαλιδίου σε μια κυψελίδα με οπτική διαδρομή $b=1,00$ cm. Το control συμπεριλαμβάνει 2,4 ml από το αραιωμένο διάλυμα του ριζικού κατιόντος ABTS^{•+}, ενώ αντικαθίστανται η προστιθέμενη ποσότητα προτύπου διαλύματος Trolox με απιονισμένο νερό.

Η πορεία πραγματοποιήθηκε 3 φορές.

Σε περίπτωση που έχει αραιωθεί το δείγμα θα πρέπει να πολλαπλασιαστεί η τελική σχέση με το 10, καθώς τόσες φορές αραιώθηκε το δείγμα. Συνεπώς θα ισχύει:

$$C = 10 \cdot X(\text{mM}).$$



Εικόνα 29: Παρασκευή κατιόντος ABTS^{•+}

3. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ RP-HPLC

3.1 Αντιδραστήρια - Εξοπλισμός

Φιαλίδια για την εισαγωγή των δειγμάτων

Χρωματογραφική Στήλη Column Pinnacle II C 18 • 3 μm 150x4,6 mm RESTEK

Ακετονιτρίλιο CH₃CN (HPLC grade)

Φωσφορικό Οξύ H₃PO₄ (27 ml H₃PO₄ σε 2 L H₂O)

Δείγματα brandy : Brandy Ararat (grape brandy)

Slivovitz Rudolf Jelinek (plum brandy)

Υγρός χρωματογράφος υψηλής αποδόσεως HPLC:

VWR-HITACHI-HPLC-LaChrom-Elite (New Generation)

Συμπεριλαμβάνει τα παρακάτω επιμέρους τμήματα:

- Pump (αντλία) L-2130 with piston flushing, low-pressure gradient accessory and in-line degasser(με έκπλυση εμβόλου, εφοδιασμένο με χαμηλή πίεση και κατάλληλα αξεσουάρ αλλά και με απαερωτήρα σε σειρά)
- Dad Diode Array (ανιχνευτής) L-2455
- Autosampler(αυτόματος δειγματολήπτης) L-2200 {with or without sample cooling(με ψύξη ή χωρίς)}
- Column Oven(φούρνος ή θερμοστατούμενος χώρος)L-2300
- PC with data system EZ Chrom Elite chromatography(χρωματογραφική βάση δεδομένων σε ηλεκτρονικό υπολογιστή)
- Organizer(οργανωτής)
- Manual injector(χειροκίνητο ψεκαστήρα, μπεκ)
- Keyboard(πληκτρολόγιο)

- Usb interface(θύρα για usb)

3.2 Συνθήκες

Η ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε κάτω από τις ακόλουθες παραμέτρους:

- Ισοκρατικό σύστημα έκλουσης με σύστημα διαλυτών 78% H₃PO₄:22% CH₃CN
- Πίεση κινητής φάσης: 244-245 psi
- Ταχύτητα ροής : 1mL/min
- Θερμοκρασία χρωματογραφικής ανάλυσης :25°C
- Διάρκεια χρωματογραφικής ανάλυσης : 55 min
- Όγκος ενέσιμου δείγματος: 20 μl (μέσω του βρόγχου του συστήματος εισαγωγής)
- Μήκος κύματος (wavelength): 201, 365 nm
- Απορρόφηση (Amplitude):53,2658 mAU

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN-CIICALTEAU

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος

Προκειμένου να κατασκευαστεί η πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος, παρασκευάστηκαν πρότυπα υδατικά διαλύματα γαλλικού οξέος συγκεντρώσεων 5, 10, 20, 30,40 και 50 mg ανά 100 mL. Ακολουθήθηκε η πειραματική πορεία που περιγράφηκε στο πειραματικό μέρος. Κάθε διάλυμα μετρήθηκε εις τριπλούν και στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η μέση τιμή απορρόφησης για κάθε πρότυπο διάλυμα.

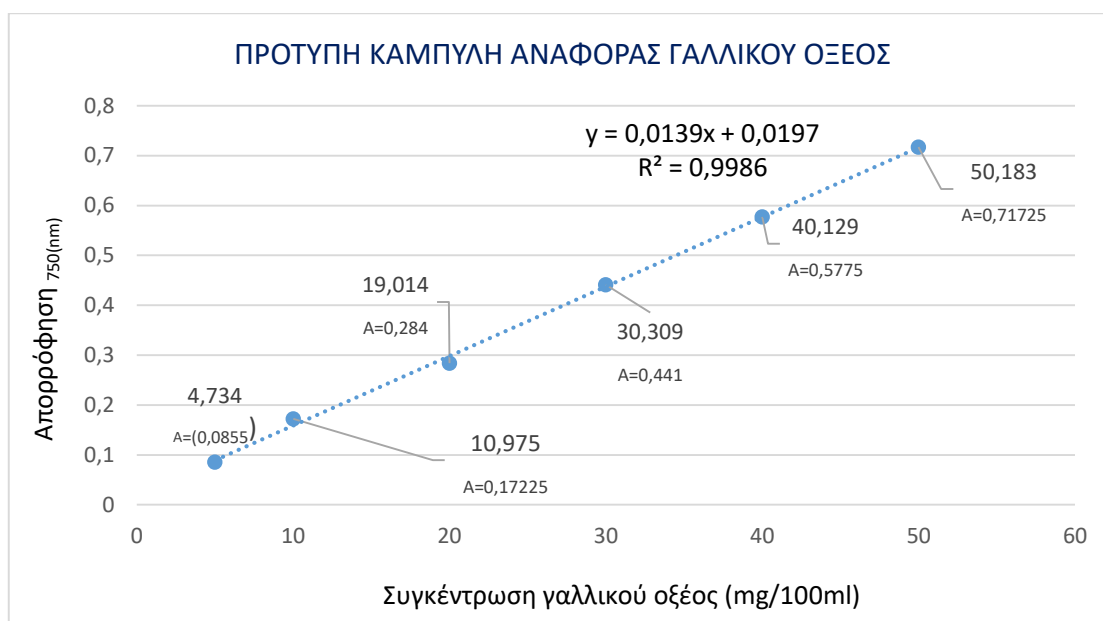
Πίνακας 12. Απορροφήσεις προτύπων διαλυμάτων γαλλικού οξέος, μεθόδου Folin-Ciocalteu.

Συγκέντρωση γαλλικού οξέος (mg/100mL)	Απορρόφηση 750 nm
50	0,717
40	0,578
30	0,441
20	0,284
10	0,172
5	0,086

Η πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος που προέκυψε φαίνεται στο Διάγραμμα 1. Έπειτα από τις μετρήσεις των προτύπων διαλυμάτων γαλλικού οξέος και την

κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, ακολούθησε μέτρηση των δύο ειδών brandy, του grape brandy *Brandy Ararat* και του plum brandy *Slivovitz Rudolf Jelinek*.

Ο μέσος όρος των απορροφήσεων των δύο brandy βρέθηκε 0,357 και 0,514, αντίστοιχα. Από την εξίσωση της καμπύλης αναφοράς ($y = 0,0139x + 0,0197$), υπολογίστηκε το ποσό των φαινολικών ουσιών στους οίνους, εκφρασμένο σε mg γαλλικού οξέος/L (Πίνακας 12).



Διάγραμμα 1. Καμπύλη αναφοράς πρότυπου διαλύματος γαλλικού οξέος.

Πίνακας 13.Σύνολο φαινολικών ουσιών στα δείγματα brandy που μελετήθηκαν.

Δείγμα Brandy	A (750nm)	Σύνολο φαινολικών ουσιών (mg γαλλικού οξέος/L)
grape brandy <i>Brandy Ararat</i>	0,357	242,66 mg/L
plump brandy <i>Slivovitz Rudolf Jelinek</i>	0,514	355,61 mg/L

2.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH

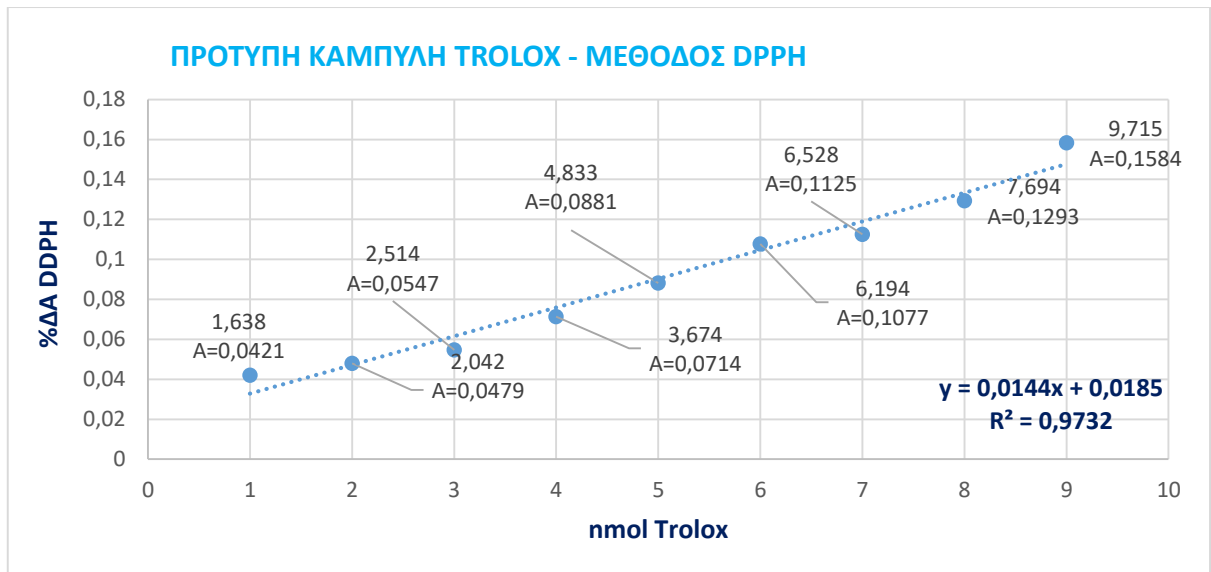
Αρχικά, παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα trolox και έγινε μέτρηση με τη μέθοδο DPPH, για την κατασκευή καμπύλης αναφοράς. Οι μετρήσεις των προτύπων διαλυμάτων φαίνονται στον Πίνακα 14 και η καμπύλη αναφοράς στο Διάγραμμα 2.

Έπειτα, μετρήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων brandy.

Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν και στους πίνακες δίνεται και ο μέσος.

Πίνακας 14. Ποσότητες αντιδραστηρίων προτύπων διαλυμάτων Trolox και τιμές απορρόφησης όρος των τιμών, για τη μέθοδο DPPH.

A/A	Όγκος DDPH/CH ₃ OH	Όγκος CH ₃ OH μL	Όγκος δ/τος Trolox μL	nmoles Trolox	A1	A2	A3	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ A	% ΔΑ [$\frac{A_{control}-A_{trolox}}{A_{control}}$ x100]
1	3.000 μL	100	0	0	0,834	0,835	0,837	0,8353	
2	3.000 μL	90	10	2	0,807	0,808	0,787	0,8001	0,0421
3	3.000 μL	80	20	4	0,806	0,801	0,779	0,7953	0,0479
4	3.000 μL	70	30	6	0,801	0,799	0,769	0,7896	0,0547
5	3.000 μL	60	40	8	0,799	0,784	0,744	0,7757	0,0714
6	3.000 μL	50	50	10	0,793	0,764	0,728	0,7617	0,0881
7	3.000 μL	40	60	12	0,787	0,747	0,702	0,7453	0,1077
8	3.000 μL	30	70	14	0,783	0,742	0,699	0,7413	0,1125
9	3.000 μL	20	80	16	0,778	0,713	0,691	0,7273	0,1293
10	3.000 μL	10	90	18	0,747	0,689	0,673	0,703	0,1584
11	3.000 μL	Grape brandy			0,820	0,807	0,808	0,8117	0,0283
12	3.000 μL	Plum brandy			0,777	0,787	0,755	0,773	0,0746



Διάγραμμα 2. Καμπύλη αναφοράς πρότυπου διαλύματος trolox, για τη μέθοδο DPPH.

Ο μέσος όρος των απορροφήσεων των δύο brandy βρέθηκε 0,0283 και 0,0746, αντίστοιχα. Από την καμπύλη αναφοράς έχουμε την εξίσωση: $y = 0,0144x + 0,0185$, επομένως $\% \Delta A = 0,0144 \text{ nmol}(\text{trolox}) + 0,0185$.

Από τις μετρήσεις απορρόφησης των δειγμάτων brandy και από τις αντίστοιχες τιμές %ΔA, προκύπτει ότι:

- ✓ για το grape brandy “Brandy Ararat”: nmol trolox = 0,68
- ✓ για το plump brandy “Slivovitz Rudolf Jelinek”: nmol trolox = 3,90

Πίνακας 15. Έκφραση αντιοξειδωτικής ικανότητας στα δείγματα brandy που μελετήθηκαν με τη μέθοδο DPPH σε ισοδύναμα Trolox (mM).

Δείγμα Brandy	A (515nm)	nmol Trolox	Αντιοξειδωτική Ικανότητα σε Ισοδύναμα Trolox (mmol/L)
grape brandy <i>Brandy Ararat</i>	0,357	0,68	0,68
plump brandy <i>Slivovitz Rudolf Jelinek</i>	0,514	3,90	3,90

Όπως αναφέρθηκε και στο πειραματικό μέρος, η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων εκφρασμένη σε ισοδύναμα Trolox (mM), προκύπτει από τη σχέση: C

= $500 \cdot X / (20 \cdot 25)$, όπου X είναι η τιμή των nMole Trolox, που προκύπτει από την εξίσωση της καμπύλης αναφοράς.

2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS

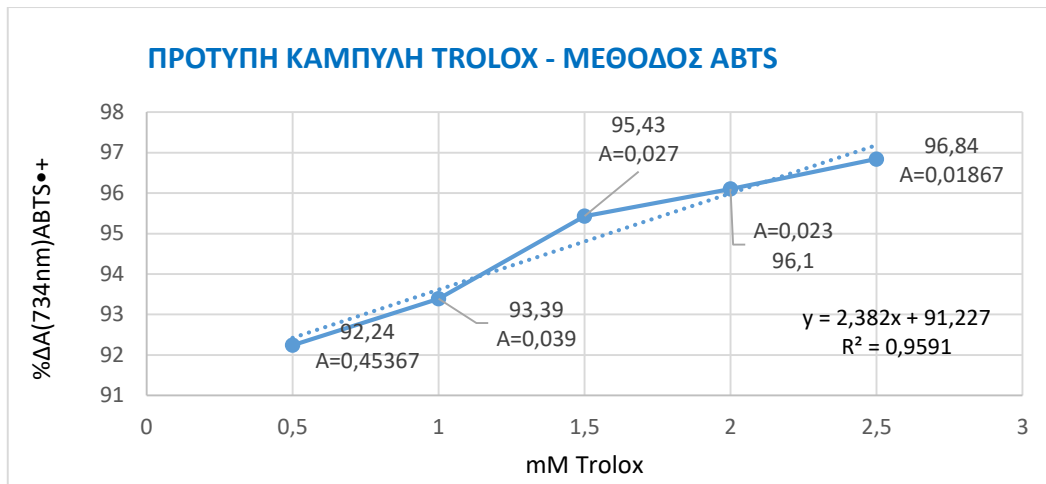
Όπως και στην μέθοδο DPPH, αρχικά παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα trolox και έγινε μέτρηση με τη μέθοδο ABTS, για την κατασκευή καμπύλης αναφοράς. Οι μετρήσεις των προτύπων διαλυμάτων φαίνονται στον Πίνακα 16 και η καμπύλη αναφοράς στο Διάγραμμα 3.

Έπειτα, μετρήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων brandy.

Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν και στους πίνακες δίνεται και ο μέσος όρος των τιμών.

Πίνακας 16. Ποσότητες αντιδραστηρίων προτύπων διαλυμάτων Trolox και τιμές απορροφήσεων, για τη μέθοδο ABTS

C trolox (mM)	A1	A2	A3	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ A	% ΔΑ [$\frac{A_{control} - A_{trolox}}{A_{control}} \times 100$]
0 (ΤΥΦΛΟ)	0,656	0,608	0,508	0,591	
0,5	0,047	0,045	0,044	0,045	92,24
1	0,049	0,033	0,035	0,039	93,39
1,5	0,023	0,026	0,032	0,027	95,43
2	0,021	0,024	0,024	0,023	96,10
2,5	0,017	0,018	0,021	0,019	96,84
grape brandy	0,030	0,025	0,030	0,028	95,21
plump brandy	0,034	0,022	0,037	0,031	94,75



Διάγραμμα 3. Καμπύλη αναφοράς πρότυπου διαλύματος trolox για τη μέθοδο ABTS.

Ο μέσος όρος των απορροφήσεων των δύο brandy βρέθηκε 0,0283 και 0,031, αντίστοιχα. Από την καμπύλη αναφοράς έχουμε την εξίσωση: $y = 2,382x + 91,227$, επομένως $\% \Delta A = 2,382 \text{ mM}(\text{trolox}) + 91,227$. Από τις μετρήσεις απορρόφησης των δειγμάτων brandy και από τις αντίστοιχες τιμές $\% \Delta A$, προκύπτει ότι:

- ✓ για το grape brandy "*Brandy Ararat*": mM trolox = 1,67
- ✓ για το plump brandy "*Slivovitz Rudolf Jelinek*": mM trolox = 1,48

Πίνακας 17. Έκφραση αντιοξειδωτικής ικανότητας στα δείγματα brandy που μελετήθηκαν με τη μέθοδο ABTS σε ισοδύναμα Trolox (mM).

Δείγμα Brandy	$A_{734\text{nm}}$	% ΔA	mM Trolox	Αντιοξειδωτική Ικανότητα σε Ισοδύναμα Trolox (mM)
grape brandy <i>Brandy Ararat</i>	0,357	95,21	1,67	1,67
plump brandy <i>Slivovitz Rudolf Jelinek</i>	0,514	94,75	1,48	1,48

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις ολικών φαινολικών ουσιών στα δύο είδη brandy με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και από τις μετρήσεις προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Πίνακας 18. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα προσδιορισμών στα δύο είδη brandy που μελετήθηκαν.

Δείγμα Brandy	Σύνολο φαινολικών ουσιών (mg γαλλικού οξέος/L)	Αντιοξειδωτική Ικανότητα σε Ισοδύναμα Trolox (mM)	
		Μέθοδος DPPH	Μέθοδος ABTS
Grape brandy <i>Brandy Ararat</i>	242,66 mg/L	0,68	1,67
Plump brandy <i>Slivovitz Rudolf Jelinek</i>	355,61 mg/L	3,90	1,48

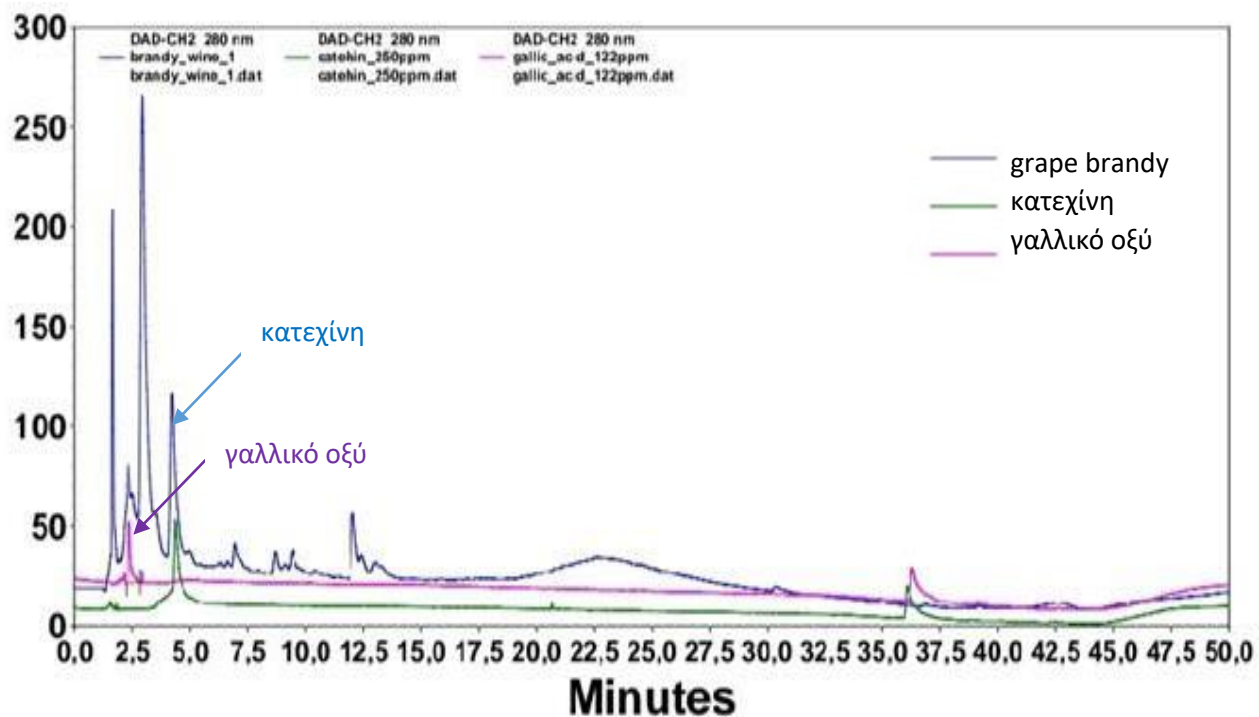
Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα της παρούσας εργασίας για τα δύο συγκεκριμένα brandy που χρησιμοποιήθηκαν, παρατηρήθηκε ότι το brandy από δαμάσκηνα παρουσιάζει μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών ενώσεων σε σχέση με το brandy από σταφύλια. Με την μέθοδο DPPH παρατηρείται μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα στο plump brandy, ενώ με τη μέθοδο ABTS δεν παρατηρείται ιδιαίτερα μεγάλη διαφορά μεταξύ των δύο ειδών.

3.ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ BRANDY ΜΕ HPLC

Έπειτα από τον προσδιορισμό ολικών φαινολικών ενώσεων και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δύο ειδών παλαιωμένων brandy, ακολούθησε ποιοτική σύγκρισή τους με υγρή χρωματογραφία, εστιάζοντας κυρίως στην ύπαρξη ενώσεων των κατεχινών, γνωστές για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Τα χρωματογραφήματα που προέκυψαν φαίνονται ακολούθως.

Αρχικά αναλύθηκε το grape brandy (Χρωματογράφημα 1 και 2). Σε αυτό το απόσταγμα ταυτοποιήθηκαν τρεις ενώσεις σε καθορισμένο χρόνο και μήκος κύματος:

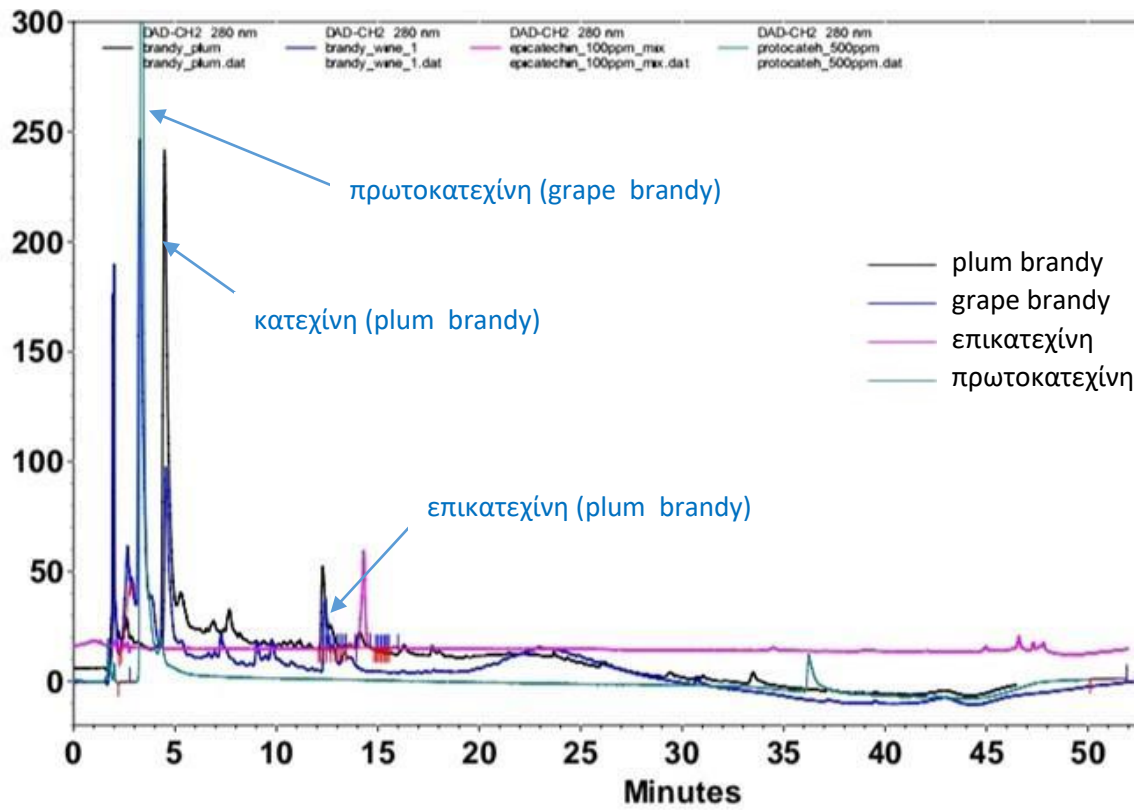
1. Αρχικά ανιχνεύθηκε το γαλλικό οξύ, στα 280 nm, ενώ ο χρόνος έκλουσης είναι στα 2,34 λεπτά. Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε με πρότυπο διάλυμα γαλλικού οξέος 244ppm (Χρωματογράφημα 1).
2. Η επόμενη ταυτοποιήσιμη ουσία ήταν η κατεχίνη, στα 250 και στα 280 nm και ο χρόνος έκλουσης έφτασε στα 5 λεπτά (Χρωματογράφημα 1).
3. Επίσης, ταυτοποιήθηκε η πρωτοκατεχίνη, που ανιχνεύθηκε στα 280 nm και είχε χρόνο έκλουσης 3 λεπτά. Ο μάρτυρας της πρωτοκατεχίνης είχε συγκέντρωση 1000 ppm (Χρωματογράφημα 2).



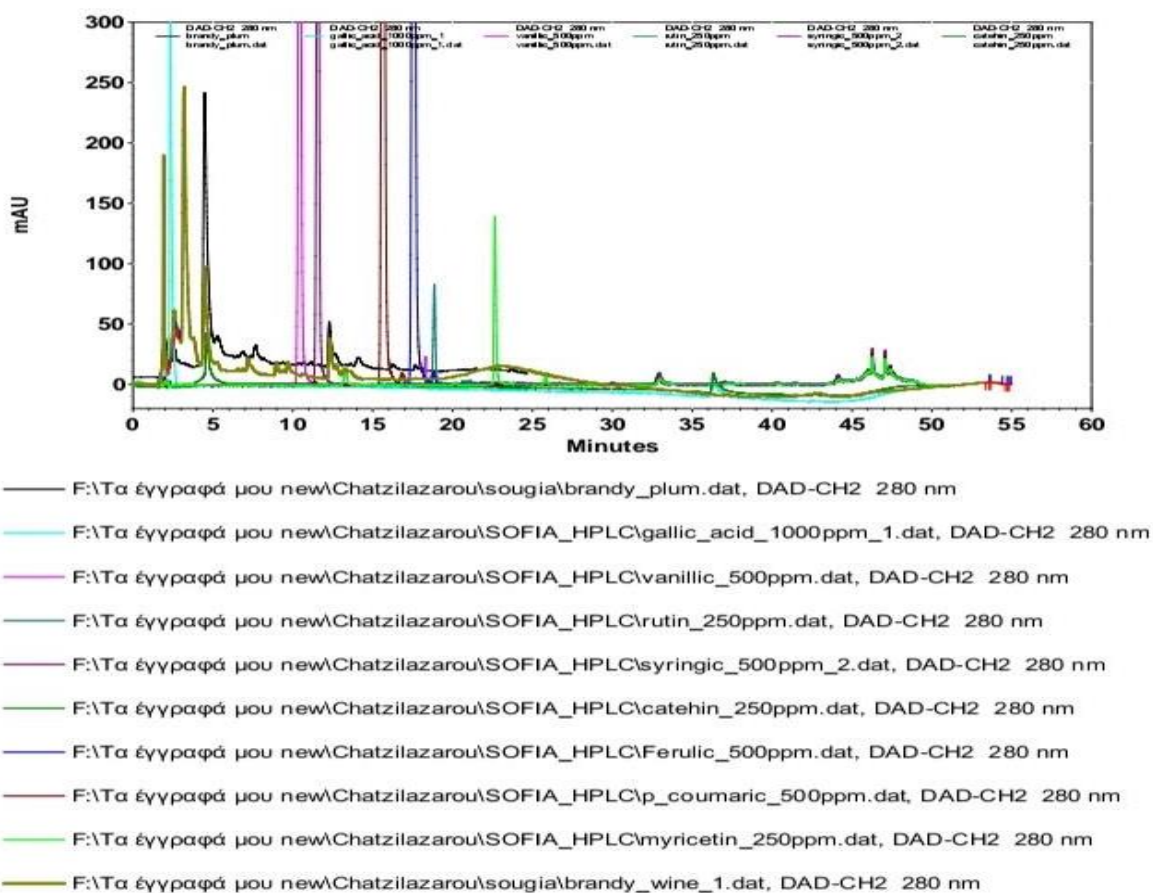
Χρωματογράφημα 1. Grape brandy: ανίχνευση κατεχίνης και γαλλικού οξέος

Έπειτα, αναλύθηκε το plum brandy (Χρωματογράφημα 2 και 3). Ανιχνεύθηκαν οι εξής ουσίες:

1. Η επικατεχίνη, με χρόνο έκλουσης τα 12 λεπτά. Το μήκος κύματος ήταν στα 280 nm. Η συγκέντρωση της επικατεχίνης του πρότυπου διαλύματος ήταν 500 ppm.
2. Η κατεχίνη στα 280 nm, με χρόνο έκλουσης 5 λεπτά. Η πρότυπη κατεχίνη είχε συγκέντρωση 250ppm.



Χρωματογράφημα 2: Plum brandy: ανίχνευση κατεχίνης και επικατεχίνης
Grape brandy: ανίχνευση πρωτοκατεχίνης

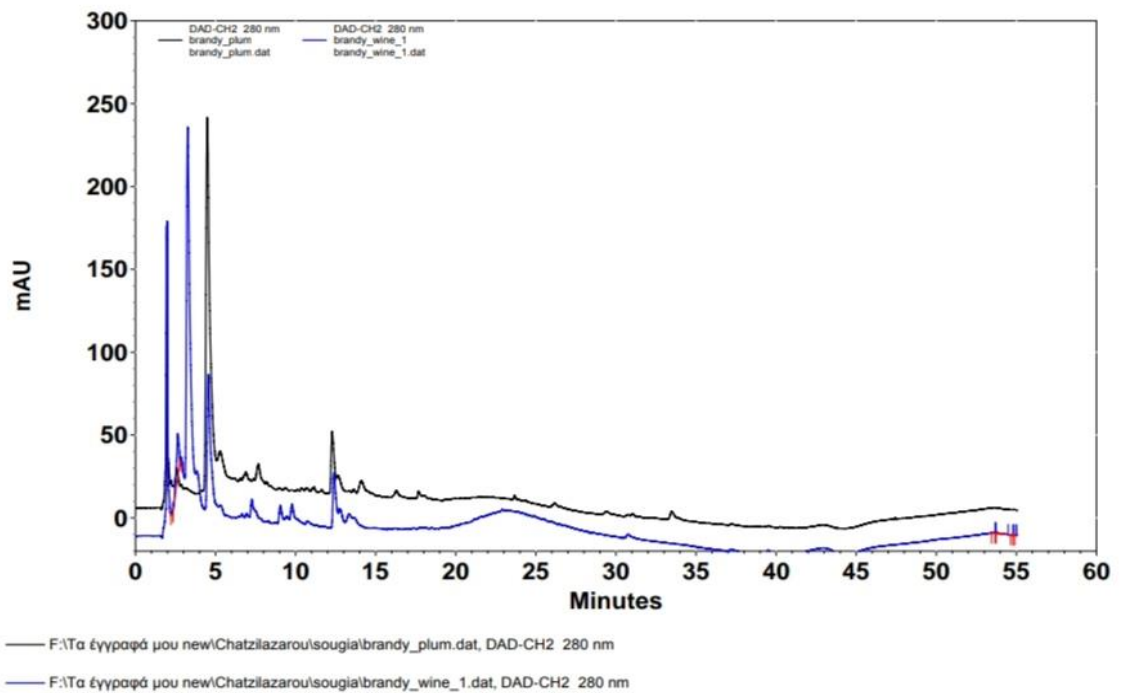


Χρωματογράφημα 3. Συγκριτικά τα δύο παλαιωμένα brandy μαζί με τις χημικές ενώσεις που ανιχνεύτηκαν είτε σε ίχνη είτε σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις

Από τα παραπάνω χρωματογραφήματα, φαίνεται πως η πρωτοκατεχίνη ανιχνεύεται μόνο στο δείγμα grape brandy, ενώ η επικατεχίνη ανιχνεύεται μόνο στο δείγμα plum brandy. Επίσης, φαίνεται πως η συγκέντρωση της κατεχίνης στο plum brandy είναι μεγάλη, κρίνοντας από το ύψος της αντίστοιχης κορυφής και μεγαλύτερης από αυτήν στο grape brandy.

Η ανάλυση με χρωματογραφία που έγινε στην παρούσα εργασία των δύο δειγμάτων είχε μόνο ως στόχο μία πρώτη εκτίμηση στο αν εντοπίζονται διαφορές μεταξύ των δύο ειδών brandy ως προς τις κατεχίνες. Το ενδιαφέρον αποτέλεσμα σχετικά με την ύπαρξη ή μη πρωτοκατεχίνης και επικατεχίνης στα δύο είδη brandy θα πρέπει αναλυτικότερα να διερευνηθεί και να γίνει και ποσοτική ανάλυση των συστατικών των εν λόγω brandy.

Στο χρωματογράφημα 4 φαίνονται συγκριτικά τα δύο χρωματογραφήματα των δύο ειδών μπράντι.

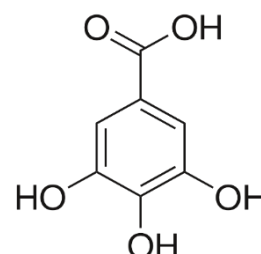


Χρωματογράφημα 4: Σύγκριση του plum & του grape brandy

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

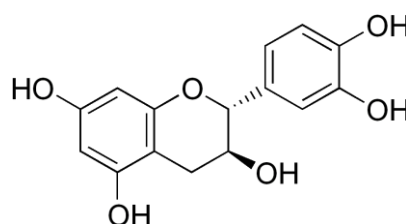
Πληροφορίες για τις βασικές ουσίες που ανιχνεύθηκαν στα μπράντι που μελετήθηκαν με RP-HPLC.

Γαλλικό Οξύ: Ανήκει στα φαινολικά οξέα. Αλλιώς ονομάζεται 3,4,5 τριυδροβενζοϊκό οξύ. Ο μοριακός του τύπος είναι $C_6H_2(OH)_3CO_2H$. Επιπρόσθετα, το χαρακτηριστικό του χρώμα είναι λευκό αν και όταν οξειδωθεί παρουσιάζει καφέ αποχρώσεις. Ανιχνεύεται συχνά στο τσάι, στα καρύδια, στη φλούδα της βελανιδιάς, Απαντάται συνήθως και σε ιδιαίτερα φυτά όπως είναι το γαλαζοπράσινο φύκι *Microcystis aeruginosa*, που συντίθεται από κυανοβακτήρια. Τα φρούτα τα οποία εντοπίζεται είναι τα σταφύλια, οι μπανάνες και οι φράουλες.



https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%93%CE%B1%CE%BB%CE%BB%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%BF%CE%BE%CF%8D#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:Gallic_acid.svg

Κατεχίνη : Ορίζεται ως παράγωγο φλαβονοειδούς ένωσης. Επίσης αποτελεί δευτερογενή μεταβολίτη των φυτών. Ο μοριακός της τύπος είναι $C_{15}H_{14}O_6$. Είναι σημαντικός παράγοντας που διαμορφώνει την γευστική αίσθηση του χρώματος, δηλαδή την πικράδα, την στυφύτητα και την ελαφριά γλυκύτητα. (Vuong, 2014) Είναι ισχυρό αντιοξειδωτικό. Επίσης η δομή της παρουσιάζει αστάθεια και είναι αρκετά ευοξειδωτή. Αναστέλλουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων (Graham, 1984). Αποτρέπουν τα αιμοπετάλια από την τάση τους να συσσωρευτούν με αποτέλεσμα την βέλτιστη λειτουργικότητα του ενδοθυλίου.

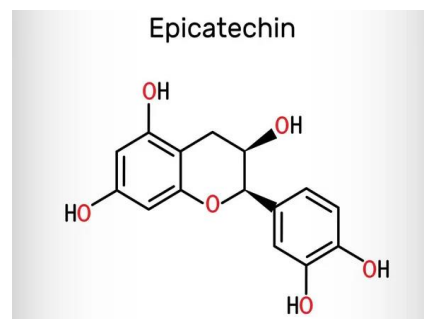


(Vuong et al, 2010, Sharangi 2009, Kao et al. 2000). Βοηθούν στην απώλεια βάρους. Συναντάται σε μεγάλη πλειοψηφία στο πράσινο τσάι (~10-12% φλαβονοειδή στα φύλλα της *Camelia sinencis*) αλλά και στα φρούτα όπως στα μαύρα σταφύλια, φράουλες, βερίκοκα, ροδάκινα, βατόμουρα, μήλα, πορτοκάλια, κεράσια, λεμόνια και ροδάκινα. (Gadkari & Balaraman, 2015, Pedro, Maciel, Ramprazo, Ribeiro & Haminiuk, 2020)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Catechin>

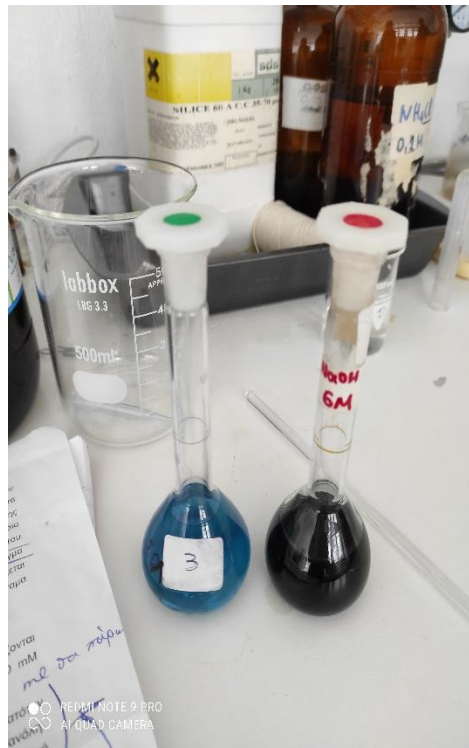
Πρωτοκατεχίνη: Ανήκει και αυτή στην ομάδα των πολυφαινολών. Προσφέρει υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα. Συναντάται στο μοσχοκάρυδο.

Επικατεχίνη: Η επικατεχίνη ανήκει επίσης στην ομάδα των φλαβονολών. Ο μοριακός της τύπος είναι $(C_6H_{14}NO_5)2SO_4 \cdot 2NaCl$. Εντοπίζεται στη σοκολάτα, το κρασί και το τσάι. Η πλειοψηφία των αντιοξειδωτικών έχει βρεθεί στην μαύρη σοκολάτα (Selmi et al, 2008). Αναστέλλει εξίσου την λειτουργία των αιμοπεταλίων. (Rein et al, 2000) Επίσης, είναι ρυθμιστικός παράγοντας του οξειδωτικού stress.



<https://gr.depositphotos.com/vector-images/epicatechin.html>

Φωτογραφίες από την πειραματική διαδικασία





Βιβλιογραφία

BIBΛΙΑ

Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. (2015), Free Radicals in Biology and Medicine, Fifth Edition, Oxford

Ribereau P. et al (2006), Handbook of Enology Volume 2, The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments, 2nd Edition, John Wiley & Sons Ltd

WSET SPIRITS: Looking behind the label, International wine & spirits

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

Κουράκου-Δραγώνα Σ. (1998) Θέματα Οινολογίας, Επιστήμη και Τεχνολογία στον τομέα της οινοποιητικής τεχνικής, Εκδόσεις Τροχαλία, Αθήνα

Μπρατάκος Μ.Σ. (2003), Σημειώσεις Ενόργανης Χημικής Ανάλυσης σε Τρόφιμα & Ποτά, Μέρος Β, Αθήνα

Νικολάου Ν.Α., Αμπελουργία, Β΄ Έκδοση, 2011

Τσακίρης Αργύρης, Οινολογία, Έρευνα & Ανάπτυξη, ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΨΥΧΑΛΟΣ

Τσακίρης Αργύρης, ΠΟΤΟΓΡΑΦΙΑ , ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΨΥΧΑΛΟΣ

Χατζηιωάννου Θ. Π. και Κουμπάρης Μ.Α. (2010), Ενόργανη Ανάλυση, Εκδ. Πανεπιστημίου Αθηνών

ΑΡΘΡΑ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

Baldi et al (1995), HPLC/MS Application to Anthocyanins of *Vitis vinifera* L., J. Agric. Food Chem. 1995, 43, 2104-2109

Bondet V. et al. (1997), Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH.Free Radical Method, LWT - Food Science and Technology, Volume 30, Issue 6, September 1997, Pages 609-615, <https://doi.org/10.1006/food.1997.0240>

Cioch-Skoneczny M. et al (2020), *Growth Dynamics and Diversity of Yeasts during Spontaneous Plum Mash Fermentation of Different Varieties*, 4 August 2020 <https://doi.org/10.3390/foods908105>

Fan X. et al. (2020), Guidelines for antioxidant assays for food components, Food Frontiers. 2020; 1:60–69. DOI: 10.1002/fft2.10

González-Neves et al. (2004), Phenolic potential of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition, *Analytica Chimica Acta*, Vol.513, Issue 1, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.11.042>

Gorzynik-Debicka M. et al. (2018), Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols, *Int J Mol Sci.* 2018 Feb 28;19(3):686, doi: [10.3390/ijms19030686](https://doi.org/10.3390/ijms19030686)

Granato D. et al (2011), Phenolic Composition of South American red wines according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality, 15 November 2011, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.085>

Halliwell B. (2006), Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life, *Plant Physiology*, Volume 141, Issue 2, June 2006, Pages 312–322, <https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15462130/>

Kurutas E.B. (2016), The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/ nitrosative stress: current state, 25 July 2016 |doi: [10.1186/s12937-016-0186-5](https://doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5)

Langcake and Pryce (1977), A new class of phytoalexins from grapevines, *Experientia* volume 33, pages151–152

Langcake P. (1981), Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol, ϵ -viniferin, α -viniferin and pterostilbene, *Physiological Plant Pathology*, Volume 18, Issue 2, Pages 213-226

Lombardi-Boccia G. et al (2004), *Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (Prunus domestica L.) from conventional and organic productions: a comparative study*, 14 January 2004, DOI: [10.1021/jf0344690](https://doi.org/10.1021/jf0344690)

Mazza G. and Miniati, E. (1993), Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains; CRC Press: Boca Raton, FL, 1993; p 57

Menevseoglou A. et al. (2021), *Non-Invasive Monitoring Of Ethanol and Methanol Levels in Grape- Derived Pisco Distillate by Vibrational Spectroscopy* , 21 September 2021 | <https://doi.org/10.3390/s21186278>

Mylonas C. and Kouretas D. (1999), Lipid peroxidation and tissue damage, *In Vivo* (Athens, Greece), 01 May 1999, 13(3):295-309, PMID: 10459507

Nikićević N. (2021) *Production of superior quality plum brandy in small domestic distilleries in Serbia*, ISHS Acta Horticulturae 1322: XII International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology

Nikolaidis et al. (2008), The Effect of Muscle-Damaging Exercise on Blood and Skeletal Muscle Oxidative Stress, *Sports Medicine* volume 38, pages579–606 (2008)

Pawel Satora, Tadeusz Tusznýski (2010), Influence of indigenous yeasts on the fermentation and volatile profile of plum brandies, May 2010, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.12.005>

Prior R.L. et al. (2005), Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 10, 4290–4302, <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

Ribereau-Gayon P. (1964), L'acetate c'ethyle dans les vins, son dosage par chromatographie en phase gazeuse, *Qualitas plantarum et materiae vegetabiles* volume 11, pages249–255

SE-Na Kim, Mee-Ree Kim, Soo-Muk Cho , So-Young Kim, Jung-Bong Kim, Young –Sook Cho, **2012**, *Antioxidant activities and determination of phenolic compounds isolated from oriental plums (Soldam , Oishiwase and Formosa)*, 31 August 2012 |doi [10.4162/nrp.2012.6.4.277](https://doi.org/10.4162/nrp.2012.6.4.277)

Shinde A. et al. (2012), Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review, *Journal of Dental & Allied Sciences*, 2012, Volume 1, Issue 2, Page : 63-66

Veskoukis et al. (2012), Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration, *Cell Stress and Chaperones* volume 17, pages11–21

Vigentini I. et al. (2016), *Indigenous Georgian Wine-Associated Yeasts and Grape Cultivars to Edit the Wine Quality in a Precision Oenology Perspective*, *Front. Microbiol.*, 22 March 2016, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00352>

Villano et al. (2004), The antioxidant activity of wines determined by the ABTSradical dot+ method: influence of sample dilution and time, *Talanta*, Vol. 64, Issue 2, Pages 501-509, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.03.021>

Willcox J.K. et al (2010), *Antioxidants and Prevention of Chronic Disease*, 10 August 2010, <https://doi.org/10.1080/10408690490468489>

Willcox J.K. et al. (2004), DOI: 10.1080/10408690490468489

Young I and Woodside J. (2001), *Antioxidants in health and disease* , 1 March 2001 |DOI: [10.1136/jcp.54.3.176](https://doi.org/10.1136/jcp.54.3.176)

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

https://www.athinorama.gr/umami/spirits/articles/all_that_brandy-2001692.html

https://scholar.google.gr/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=QXTeLU4AAAAJ&citation_for_view=QXTeLU4AAAAJ:Y0pCki6q_DkC

<https://en.wikipedia.org/wiki/Slivovitz>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9C%CF%80%CF%81%CE%AC%CE%BD%CF%84%CF%85>

https://archive.org/details/isbn_9780802715524/page/n7/mode/2up

<https://en.wikipedia.org/wiki/Armagnac>

<https://www.independent.co.uk/life-style/food-and-drink/france-vaunts-40-virtues-of-armagnac-1891949.html>

https://www.trud.ru/article/28-04-2011/262342_istorija_kizljarskogo_konjaka_i_zavoda_ot_petra_i_do_nashix_dnej_chast_4.html

<https://el.hiloved.com/%CF%84%CE%B9-%CF%80%CF%81%CE%AD%CF%80%CE%B5%CE%B9-%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CE%AD%CF%81%CE%B5%CF%84%CE%B5-%CE%B3%CE%B9%CE%B1-%CF%84%CE%B7%CE%BD-brandyl/>

https://en.wikipedia.org/wiki/Cognac,_France

<https://en.wikipedia.org/wiki/Slivovitz>

<https://www.advantour.com/armenia/yerevan/arat-cognac-factory.htm>

<https://www.qualitywines.gr/index.php/el/ar%CE%B1r%CE%B1t-%CE%BC%CF%80%CF%81%CE%AC%CE%BD%CF%84%CF%85/arat-brandyl-10-%CE%B5%CF%84%CF%8E%CE%BD-%CE%B1%CF%87%CF%84%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%81-detail>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%93%CE%B5%CF%81%CE%B5%CE%B2%CE%AC%CE%BD>

<https://gr.nctodo.com/brandyl-de-jerez>

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

<https://en.wikipedia.org/wiki/Solera>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Pisco>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Brandy>

<https://www.krasiagr.com/top-10-pio-dinatwn-potwn-ston-kosmo/>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9C%CE%B5%CF%84%CE%B1%CE%BE%CE%AC>

<https://www.krasiagr.com/top-10-pio-dinatwn-potwn-ston-kosmo/>

<https://rjelinek.us/our-story/history/>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CE%BB%CE%B9%CE%B2%CE%BF%CE%B2%CE%AF%CF%84%CF%83%CE%B1>

<https://www.armagnac.com/en/content/les-cepages.html>

<http://www.infowine.gr/el/winepedia/enology/Aging/?nid=538>

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Mirabelle_de_Lorraine_\(eau_de_vie\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Mirabelle_de_Lorraine_(eau_de_vie))

<https://www.sljivovica.net/slivovitz.html>

<http://www.pediagnac.com/en/weinbereitungvinificationvinification/die-alkoholische-garungalcoholic-fermentationla-fermentation-alcoolique/>

<https://rjlinek.us/our-story/production/>

<https://confettissimo.com/el/%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D1%8C%D0%B7%D0%B0-%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%BE%D0%B2/%D0%B0%D0%BB%D0%BA%D0%BE%D0%B3%D0%BE%D0%BB%D1%8C/%D1%81%D0%BB%D0%B8%D0%B2%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%86%D0%B0.html>

<https://alterlife.gr/diatrofi/%CF%80%CE%BF%CE%BB%CF%85%CF%86%CE%B1%CE%B9%CE%BD%CF%8C%CE%BB%CE%B5%CF%82-%CF%84%CE%B9-%CE%B5%CE%AF%CE%BD%CE%B1%CE%B9-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CF%80%CE%BF%CE%B9%CE%B1-%CF%84%CE%B1-%CE%BF%CF%86%CE%AD%CE%BB/>

<https://eclass.hua.gr/modules/document/file.php/DIET162/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%9B%CE%95%CE%9E%CE%95%CE%99%CE%A3/%CE%A0%CE%B1%CF%81%CE%B1%CE%B3%CF%89%CE%B3%CE%AE%20%CE%9F%CE%AF%CE%BD%CE%BF%CF%85.pdf>

<https://www.jdas.in/article.asp?issn=2277-4696;year=2012;volume=1;issue=2;spage=63;epage=66;aulast=Shinde;type=0>

<https://core.ac.uk/download/pdf/323472325.pdf>

<https://www.medicinenet.com/antioxidant/definition.htm>

https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/BIO_P_116/%CE%95%CE%A1%CE%93%CE%91%CE%A3%CE%A4%CE%97%CE%A1%CE%99%CE%91%CE%9A%CE%9F%CE%A3%20%CE%9F%CE%94%CE%97%CE%93%CE%9F%CE%A3%202021.pdf

<https://athenslab.gr/exetaseis-prolipsis/detoxscan-elegxos-oxeidotikou-stres/dismoutasi-uperoxeidiou-sod-692>

https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/BIO_P_116/%CE%95%CE%A1%CE%93%CE%91%CE%A3%CE%A4%CE%97%CE%A1%CE%99%CE%91%CE%9A%CE%9F%CE%A3%20%CE%9F%CE%94%CE%97%CE%93%CE%9F%CE%A3%202021.pdf

<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/catechin>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Catechin>

<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/epicatechin>

<https://www.diyetz.com/el/muskat-hint-cevizi-nedir-faydalari/>

<https://confettissimo.com/el/%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D1%8C%D0%B7%D0%B0-%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%BE%D0%B2/%D0%B0%D0%BB%D0%BA%D0%BE%D0%B3%D0%BE%D0%BB%D1%8C/%D1%81%D0%BB%D0%B8%D0%B2%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%86%D0%B0.html>

<https://greekpress.ca/%CE%BC%CE%B5%CE%B8%CF%85%CF%83%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%B1-%CF%86%CF%81%CE%BF%CF%8D%CF%84%CE%B1/>

https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/5388/2/02_chapter_08.pdf

<https://www.pharmagel.gr/page.php?pid=269>
<https://www.mednutrition.gr/portal/lifestyle/diatrofi/1091-to-stafyli-tis-apolafsis-alla-kaitis-apatoksinosis>

<https://www.ypharmacy.gr/el/%CF%84%CE%BF-%CF%83%CF%84%CE%B1%CF%86%CF%85%CE%BB%CE%B9-%CE%BA%CE%B1%CE%BD%CE%B5%CE%B9-%CE%B8%CE%B1%CF%85%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1-%CE%B3%CE%B9%CE%B1-%CF%84%CE%BF-%CE%B4%CE%B5%CF%81%CE%BC%CE%B1-%CF%83%CE%BF%CF%85>

<https://www.tofarmakeiomou.gr/el-gr/blog/ugeia-diatrofh/7-euergetikes-idiothtes-tou-stafyliou>

<https://positivelife.gr/evexia/ygeia/giati-na-trwme-stafilia/>

<https://www.vita4you.gr/blog-vita4you/el/item/vitamini-c-me-koyersetini-enas-syndyasmos-me-xechoristes-idiotites.html>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Catechin>

[https://en.wikipedia.org/wiki/Catechin#/media/File:\(+\)-Catechin.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Catechin#/media/File:(+)-Catechin.png)

https://en.wikipedia.org/wiki/Epicatechin_gallate#/media/File:Epicatechin_gallate.svg

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

<https://www.selleckchem.com/products/-epicatechin.html>

https://en.wikipedia.org/wiki/P-Coumaric_acid#/media/File:Coumaric_acid_acsv.svg

2)**<https://en.wikipedia.org/wiki/%CE%92-Carotene>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Myricetin>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A0%CF%85%CF%81%CE%B9%CE%B4%CE%BF%CE%BE%CE%AF%CE%BD%CE%B7>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A0%CF%85%CF%81%CE%B9%CE%B4%CE%BF%CE%BE%CE%AF%CE%BD%CE%B7>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%98%CE%B5%CE%B9%CE%B1%CE%BC%CE%AF%CE%BD%CE%B7>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Myricetin#/media/File:Myricetin.png>

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A0%CF%85%CF%81%CE%B9%CE%B4%CE%BF%CE%BE%CE%AF%CE%BD%CE%B7#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:Pyridoxine_structure_ver2.svg

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%98%CE%B5%CE%B9%CE%B1%CE%BC%CE%AF%CE%BD%CE%B7#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:Thiamin.svg>

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9D%CE%B9%CE%B1%CF%83%CE%AF%CE%BD%CE%B7#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:Niacin_structure.svg

<https://en.wikipedia.org/wiki/Kaempferol#/media/File:Kaempferol.svg>

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A0%CE%B1%CE%BD%CF%84%CE%BF%CE%B8%CE%B5%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%BF%CE%BE%CF%8D

[https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A0%CE%B1%CE%BD%CF%84%CE%BF%CE%B8%CE%B5%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%BF%CE%BE%CF%8D#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:\(R\)-Pantothenic_acid_Formula_V.1.svg](https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A0%CE%B1%CE%BD%CF%84%CE%BF%CE%B8%CE%B5%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%BF%CE%BE%CF%8D#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:(R)-Pantothenic_acid_Formula_V.1.svg)

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A1%CE%B9%CE%B2%CE%BF%CF%86%CE%BB%CE%B1%CE%B2%CE%AF%CE%BD%CE%B7>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A1%CE%B9%CE%B2%CE%BF%CF%86%CE%BB%CE%B1%CE%B2%CE%AF%CE%BD%CE%B7#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:Riboflavin.svg>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Kaempferol>

https://en.wikipedia.org/wiki/Chlorogenic_acid#/media/File:Chlorogenic-acid-2D.svg

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A0%CE%B1%CE%BD%CF%84%CE%BF%CE%B8%CE%B5%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%BF%CE%BE%CF%8D

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9D%CE%B9%CE%B1%CF%83%CE%AF%CE%BD%CE%B7>

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9D%CE%B9%CE%B1%CF%83%CE%AF%CE%BD%CE%B7#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:Niacin_structure.svg

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

https://en.wikipedia.org/wiki/Chlorogenic_acid#/media/File:Chlorogenic-acid-2D.svg

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CF%85%CE%BB%CE%BB%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%BF%CE%BE%CF%8D

<https://en.wikipedia.org/wiki/%CE%92-Cryptoxanthin#/media/File:Cryptoxanthin.svg>

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CF%85%CE%BB%CE%BB%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%BF%CE%BE%CF%8D#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:Folic_acid.svg

<https://en.wikipedia.org/wiki/%CE%92-Carotene#/media/File:Beta-Carotin.svg>

<https://en.wikipedia.org/wiki/%CE%92-Cryptoxanthin>

<https://efdiatrofin.gr/prunesandplums/>

<https://www.onmed.gr/diatrofi/story/392460/apoxiramena-damaskina-7-spydaia-ofeli-giatin-ygeia-video>

<https://www.iatropedia.gr/diatrofi/damaskina-ofeli-kai-pithanes-parenergeies-ygeias-thermidis-vitamines-kai-threptika-stoicheia/149976/>

<https://www.mednutrition.gr/portal/efarmoges/leksiko-diatrofis/15668-damaskina>

<https://www.mydiatrofi.gr/trofi/trofima/frouta/damaskina-vanilies-idiotites-thermides-threptika-systatika>

<https://restriviera.ru/el/chernosliv-uglevody-na-100-gramm-polezen-li-chernosliv-dlya-pohudeniya.html>

<https://efdiatrofin.gr/nutrient-value-of-plums/>

3)***<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9A%CE%BF%CF%85%CE%B5%CF%81%CF%83%CE%B5%CF%84%CE%AF%CE%BD%CE%B7>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vitamin-E>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Zeaxanthin>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Zeaxanthin#/media/File:Zeaxanthin2.svg>

http://195.134.76.37/chemicals/chem_ascorbicacid.htm

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9A%CE%BF%CF%85%CE%B5%CF%81%CF%83%CE%B5%CF%84%CE%AF%CE%BD%CE%B7#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:Quercetin.svg>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Lutein>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Lutein#/media/File:Luteine - Lutein.svg>

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%92%CE%B9%CF%84%CE%B1%CE%BC%CE%AF%CE%BD%CE%B7_%CE%95#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:RRR_alpha-tocopherol.png

https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_E#/media/File:Alpha-Tocopherol_Structural_Formulae_V.1.svg

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CE%BF%CF%81%CE%B2%CE%B9%CF%84%CF%8C%CE%BB%CE%B7>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CE%BF%CF%81%CE%B2%CE%B9%CF%84%CF%8C%CE%BB%CE%B7#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:D-sorbitol.svg>

<https://gr.dreamstime.com/%CE%BC%CE%B5%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%BF-%CE%BA%CF%8C%CE%BA%CE%BA%CE%B9%CE%BD%CE%BF-%CE%B3%CE%BB%CF%85%CE%BA%CF%8C-%CE%B4%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%83%CE%BA%CE%B7%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BC%CE%B9%CF%83%CF%8C-%CF%83%CE%B5-%CE%AD%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CF%8D%CE%BB%CE%BF-image102808106>

<https://gr.dreamstime.com/%CE%BC%CE%B5%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%BF-%CE%BA%CF%8C%CE%BA%CE%BA%CE%B9%CE%BD%CE%BF-%CE%B3%CE%BB%CF%85%CE%BA%CF%8C-%CE%B4%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%83%CE%BA%CE%B7%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BC%CE%B9%CF%83%CF%8C-%CF%83%CE%B5-%CE%AD%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CF%8D%CE%BB%CE%BF-image102808106>

<https://gr.dreamstime.com/%CE%BC%CE%B5%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%BF-%CE%BA%CF%8C%CE%BA%CE%BA%CE%B9%CE%BD%CE%BF-%CE%B3%CE%BB%CF%85%CE%BA%CF%8C-%CE%B4%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%83%CE%BA%CE%B7%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BC%CE%B9%CF%83%CF%8C-%CF%83%CE%B5-%CE%AD%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CF%8D%CE%BB%CE%BF-image102808106>

<https://gr.dreamstime.com/%CE%BC%CE%B5%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%BF-%CE%BA%CF%8C%CE%BA%CE%BA%CE%B9%CE%BD%CE%BF-%CE%B3%CE%BB%CF%85%CE%BA%CF%8C-%CE%B4%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%83%CE%BA%CE%B7%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BC%CE%B9%CF%83%CF%8C-%CF%83%CE%B5-%CE%AD%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CF%8D%CE%BB%CE%BF-image102808106>

<https://gr.dreamstime.com/%CE%BC%CE%B5%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%BF-%CE%BA%CF%8C%CE%BA%CE%BA%CE%B9%CE%BD%CE%BF-%CE%B3%CE%BB%CF%85%CE%BA%CF%8C-%CE%B4%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%83%CE%BA%CE%B7%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BC%CE%B9%CF%83%CF%8C-%CF%83%CE%B5-%CE%AD%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CF%8D%CE%BB%CE%BF-image102808106>

<https://gr.dreamstime.com/%CE%BC%CE%B5%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%BF-%CE%BA%CF%8C%CE%BA%CE%BA%CE%B9%CE%BD%CE%BF-%CE%B3%CE%BB%CF%85%CE%BA%CF%8C-%CE%B4%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%83%CE%BA%CE%B7%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BC%CE%B9%CF%83%CF%8C-%CF%83%CE%B5-%CE%AD%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CF%8D%CE%BB%CE%BF-image102808106>

<https://gr.dreamstime.com/%CE%BC%CE%B5%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%BF-%CE%BA%CF%8C%CE%BA%CE%BA%CE%B9%CE%BD%CE%BF-%CE%B3%CE%BB%CF%85%CE%BA%CF%8C-%CE%B4%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%83%CE%BA%CE%B7%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BC%CE%B9%CF%83%CF%8C-%CF%83%CE%B5-%CE%AD%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CF%8D%CE%BB%CE%BF-image102808106>

<https://www.beowein.de/Jelinek-Slivovitz-Gold-Aged-3-Years-07->

: <https://www.totalwine.com/spirits/brandy-cognac/brandy/ararat-10-yr-brandy/p/126193750>

<https://m.facebook.com/slicetoursarmenia/photos/a.2235895526732555/2407052062950233/?type=3>

<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/plums>

<https://ihmkolkatafoodandbeveragenotes.blogspot.com/2015/05/brandy.html>

https://www.athinorama.gr/umami/spirits/articles/koniak_to_eugenes_apostagma-2503140.html

<http://mixologyexperts.gr/2019/09/11/cognac-brandy-%CF%84%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%AF/>

<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/PHA1610/%CE%91%CE%BD%CE%BF%CE%B9%CE%BA%CF%84%CE%AC%20%CE%9C%CE%B1%CE%B8%CE%AE%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1/%CE%A5%CE%B3%CF%81%CE%AE%20X%CF%81%CE%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%BF%CE%B3%CF%81%CE%B1%CF%86%CE%AF%CE%B1.pptx>

<https://it.wikitonghop.com/332010-brandy-JXJMDD>

<https://www.plaisirsdegascogne.com/blog/en/cepages-armagnac/>

<https://www.qualitywines.gr/index.php/en/history/14-ararat-brandy>

<https://www.sherrynotes.com/2015/background/brandy-de-jerez/>

<https://www.elenianna.gr/metaxas>

<https://www.qualitywines.gr/index.php/el/ar%CE%B1r%CE%B1t-%CE%BC%CF%80%CF%81%CE%AC%CE%BD%CF%84%CF%85/ararat-brandy-10-%CE%B5%CF%84%CF%8E%CE%BD-%CE%B1%CF%87%CF%84%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%81-detail>

https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.springer-doi-10_1007-S00217-016-2762-5

<https://zahradnictvi-jelinek.cz/nas-sortiment/slivone/>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Slivovitz>

<https://www.verger-mirabelle.fr/les-differentes-varietes-de-mirabelle/>

<https://www.fructidor.com/newsDetailP.aspx?idn=3203>

<https://www.nataliemaclean.com/wine-reviews/badel-hrvatska-stara-slijivovica-plum-brandy-/319439>

<https://www.mednutrition.gr/portal/efarmoges/leksiko-diatrofis/5052-karameloxromata-asfali-i-oxi>

<https://andeanorigins.com/en/perus-top-destinations/paracas-ica-nazca/pisco-and-peru/>

<https://www.drinkhacker.com/2020/02/18/review-maraska-slivovitz-10-years-old-and-orahovac-green-walnut-liqueur/>

<https://23wineandwhiskey.com/godet-extra-hors-d-age-cognac-70cl.html>

<https://whiskyauctioneer.com/lot/305275/godet-xo-terre-cognac>

<https://www.luxurylifestylemag.co.uk/food-and-drink/armagnac-the-ultimate-guide-to-frances-oldest-brandy/>

<https://drinkrituals.com/what-is-brandy-and-how-do-you-drink-it/>

Πηγές Εικόνων:

Εικόνες 1 και 2:

<https://gr.dreamstime.com/%CE%BC%CE%B5%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%BF-%CE%BA%CF%8C%CE%BA%CE%BA%CE%B9%CE%BD%CE%BF-%CE%B3%CE%BB%CF%85%CE%BA%CF%8C-%CE%B4%CE%B1%CE%BC%CE%AC%CF%83%CE%BA%CE%B7%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%B9-%CE%BA%CE%BF%CE%BC%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BC%CE%B9%CF%83%CF%8C-%CF%83%CE%B5-%CE%AD%CE%BD%CE%B1-%CE%BE%CF%8D%CE%BB%CE%BF-image102808106>
<https://www.beowein.de/Jelinek-Slivovitz-Gold-Aged-3-Years-07->

Εικόνες 3 και 4:

<https://www.totalwine.com/spirits/brandy-cognac/brandy/ararat-10-yr-brandy/p/126193750>
<https://m.facebook.com/slicetoursarmenia/photos/a.2235895526732555/2407052062950233/?type=3>

Εικόνα 5: <https://alkypal.com.au/spirits/cognac-and-brandy.html>

Εικόνα 6: <https://andeanorigins.com/en/peru-top-destinations/paracas-ica-nazca/pisco-and-peru/>

Εικόνα 7 : <https://www.drinkhacker.com/2020/02/18/review-maraska-slivovitz-10-years-old-and-orahovac-green-walnut-liqueur/>

Εικόνα 8:

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CE%BF%CF%81%CE%B2%CE%B9%CF%84%CF%8C%CE%BB%CE%B7#/media/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:D-sorbitol.svg>

Εικόνα 9:

https://www.athinorama.gr/umami/spirits/articles/koniak_to_eugenes_apostagma-2503140.html

Εικόνα 10:

<https://rudolfjelinek.com/ourstory/production/?c9234d62fb1cf048ac32bd74658edfac#accept>

Εικόνα 11 : <http://mixologyexperts.gr/2019/09/11/cognac-brandy-%CF%84%CE%BF-%CE%BA%CE%B1%CE%BC%CE%AD%CE%BD%CE%BF-%CE%BA%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%AF/>

Εικόνα 12: <https://23wineandwhiskey.com/godet-extra-hors-d-age-cognac-70cl.html>

Εικόνα 13 : <https://whiskyauctioneer.com/lot/305275/godet-xo-terre-cognac>

Εικόνα 14 : <https://www.luxurylifestylemag.co.uk/food-and-drink/armagnac-the-ultimate-guide-to-frances-oldest-brandy/>

Εικόνα 15: <https://drinkrituals.com/what-is-brandy-and-how-do-you-drink-it/>

Εικόνα 16 <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/plums>

Εικόνα 17 <https://ihmkolkatafoodandbeveragenotes.blogspot.com/2015/05/brandy.html>

Εικόνα 18: <https://alkypal.com.au/spirits/cognac-and-brandy.html>

Εικόνα 23 : *Molecules* 2014, 19(11):19180-19208, DOI: [10.3390/molecules191119180](https://doi.org/10.3390/molecules191119180)

Εικόνα 25 :

https://www.researchgate.net/publication/307971644_Impurity_Profiling_of_Challenging_Active_Pharmaceutical_Ingredients_without_Chromophore