

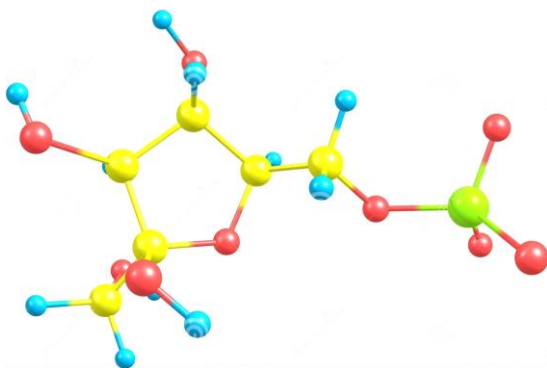


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
UNIVERSITY OF WEST ATTICA

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ

**«ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ
ΑΝΑΓΟΝΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ»**



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΛΑΤΣΗ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ
ΜΑΥΡΟΥ ΜΑΡΙΑ
ΦΡΑΓΚΟΥ ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ**

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ

ΑΘΗΝΑ 2021

Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών.

(Λάτση Παναγιώτα, Μαύρου Μαρία, Φράγκου Σταυρούλα)

[2021]- Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος

Η παρούσα πτυχιακή εργασία αφιερώνεται
στην καθηγήτριά μας Αλεξία

Διασαφήσεις εξεταστικής επιτροπής

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο «Συγκριτική μελέτη μεθόδων προσδιορισμού αναγόντων σακχάρων» και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (1^ο Μέλους Επιτροπής)	
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (2^ο Μέλους Επιτροπής)	
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (3^ο Μέλους Επιτροπής)	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι **ΦΡΑΓΚΟΥ ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ** του Δημητρίου με αριθμό μητρώου **14211**, **ΛΑΤΣΗ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ** του Παναγιώτη με αριθμό μητρώου **141061** και **Μαύρου Μαρία** του Δημητρίου, με αριθμό μητρώου **141069**, φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, δηλώνουμε η καθεμία 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».

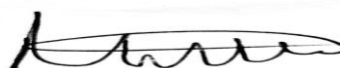
Ονοματεπώνυμο & Υπογραφή Συγγραφέα Πτυχιακής Εργασίας



Φράγκου Σταυρούλα



Λάτση Παναγιώτα



Μαύρου Μαρία

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2019-2020 στο Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, της Σχολής Επιστημών Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Θα θέλαμε πρωτίστως να ευχαριστήσουμε την επιβλέπουσα καθηγήτρια κα Ευαγγέλου Αλεξάνδρα, για όλες τις χρήσιμες γνώσεις, οδηγίες και τη βοήθεια που μας προσέφερε όλο αυτό το διάστημα, καθώς και για την εμπιστοσύνη που μας έδειξε με την ανάθεση της παρούσας πτυχιακής εργασίας.

Επιπλέον θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τους καθηγητές του τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, κ. Νικολού Βασίλη, κα. Χατζηλαζάρου Αρχοντούλα, κα Καπέλου Ελένη και όλα τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου για την συνεργασία και το κλίμα αλληλεγγύης που επικρατούσε καθ' όλη την διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής μας εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στο γλεύκος υπάρχουν διάφοροι τύποι σακχάρων. Η γλυκόζη και η φρουκτόζη είναι τα κύρια σάκχαρα των οίνων, αλλά υπάρχουν επίσης μικρές ποσότητες άλλων σακχάρων, όπως είναι οι πεντόζες. Ανάγοντα σάκχαρα ονομάζονται αυτά με ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα που μπορούν να ανάγουν ιόντα χαλκού Cu^{+2} , ενώ τα ίδια οξειδώνονται. Η φρουκτόζη και η γλυκόζη είναι ζυμώσιμα σάκχαρα. Οι πεντόζες δεν καταναλώνονται από τις ζύμες και η περιεκτικότητα σε αυτές παραμένει σταθερή κατά την διάρκεια της ζύμωσης. Μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης πολλές φορές είναι προτιμότερο να γνωρίζουμε με ακρίβεια την συγκέντρωση των σακχάρων γλυκόζη και φρουκτόζη, αφού αυτά είναι τα σάκχαρα που μπορούν να ζυμωθούν από τις ζύμες και η με ακρίβεια μέτρησή τους, εξασφαλίζει έναντι μιας ανεπιθύμητης επαναζύμωσης.

Ανάλογα με την περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα ένας οίνος χαρακτηρίζεται ως ξηρός (2–4 g/L), ημίξηρος (4,1-12g/L), ημίγλυκος (12,1-45 g/L) ή γλυκός (> 45g/L). Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι που μπορούν να προσδιορίσουν συνολικά τα σάκχαρα σε ένα δείγμα και μέθοδοι ικανοί να προσδιορίσουν ειδικά τα ανάγοντα σάκχαρα.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο προσδιορισμός αναγόντων σακχάρων σε εμπορικά διαθέσιμους οίνους με τρεις κλασικές μεθόδους και η σύγκριση των μεθόδων αυτών. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκαν τα ανάγοντα σάκχαρα σε λευκό, ημίγλυκο και γλυκό οίνο με τις μεθόδους Luff (με δύο τρόπους διαύγασης του οίνου), Rebelein και Lane&Eynon. Βάσει των αποτελεσμάτων, για το λευκό ξηρό οίνο λαμβάνονται επαναλήψιμα αποτελέσματα και με τις τρεις μεθόδους. Στη μέθοδο Luff φάνηκε πως λειτουργεί καλύτερα η διαύγαση του οίνου με θειοκυανιούχο σίδηρο και θειικό ψευδάργυρο. Για τον ημίγλυκο και γλυκό οίνο δεν μπόρεσε να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα ως προς την εφαρμογή των μεθόδων. Η εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής πραγματοποιήθηκε στο δύσκολο μεσοδιάστημα της πανδημίας του κορωνοϊού (Covid19) και λόγω των περιοριστικών μέτρων δεν υπήρχε δυστυχώς η δυνατότητα επανάληψης μετρήσεων στο εργαστήριο, ώστε να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα για τις μεθόδους στον ημίγλυκο και γλυκό οίνο.

Λέξεις κλειδιά: ανάγοντα σάκχαρα, Luff, Rebelein, Lane-Eynon

ABSTRACT

There are several types of sugars in must. Glucose and fructose are the main sugars in wines, but there are also small amounts of other sugars, such as pentoses. Reducing sugars are those with a free aldehyde or ketone group that can reduce copper ions Cu^{+2} . Fructose and glucose are fermentable sugars, whereas pentoses are not and their content remains constant during fermentation. After the fermentation is complete, it is often better to know the exact concentration of glucose and fructose sugars, as these are the sugars that can be fermented by the yeasts and their accurate measurement ensures against an unwanted re-fermentation.

Depending on the reducing sugar content, a wine is characterized as dry (2–4 g/L), semi-dry (4,1-12g/L), semi-sweet (12,1-45 g/L) or sweet (> 45g/L). There are various methods that can determine total sugars, but some are specific methods for reducing sugars determination.

The goal of the present thesis study was the determination of reducing sugars in commercially available wines by three methods and their comparison. Specifically, the reducing sugars in white, semi-sweet and sweet wine were determined by the Luff methods (with two ways of wine clarification), Rebelein and Lane & Eynon.

Based on the results of the measurements, for white dry wine repeatable results are obtained with all three methods and in the Luff method it seemed that the clarification of the wine with thiocyanate iron and zinc sulfate works better. For the semi-sweet and sweet wine it was not possible to draw a safe conclusion regarding the application of the methods, as the experimental phase of the present thesis took place during the difficult period of the coronavirus pandemic (Covid19). Due to the restrictive measures it was unfortunately not possible to repeat measurements, in order to draw a safe conclusion about the methods in semi-sweet and sweet wine.

Key-words: reducing sugars, Luff, Rebelein, Lane-Eynon

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εικόνα εξωφύλλου: Μοριακή δομή Φρουκτόζης

ΕΞΩΦΥΛΛΟ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	vi
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	vii
ABSTRACT	viii
1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	12
1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
1.2 Ο ΟΙΝΟΣ ΚΑΙ ΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ.....	12
1.2.1. ΝΕΡΟ	13
1.2.2. ΑΛΚΟΟΛΕΣ.....	13
1.2.3.ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	16
1.2.4. ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....	19
1.2.5. ΣΑΚΧΑΡΑ	20
1.2.6. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....	20
1.2.7. ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ.....	21
1.3ΤΑ ΣΑΚΧΑΡΑ ΓΕΝΙΚΑ	22
1.3.1ΜΟΝΟΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ	23
1.3.2ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ	27
1.3.3Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ.....	28
1.4ΣΑΚΧΑΡΑ ΣΤΟ ΣΤΑΦΥΛΙ	29
1.5ΣΑΚΧΑΡΑ ΣΤΟ ΓΛΕΥΚΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ	34
1.5.1 ΖΥΜΩΣΙΜΑ ΣΑΚΧΑΡΑ (ΑΝΑΓΩΓΙΚΑ).....	34
1.5.2. ΜΗ ΖΥΜΩΣΙΜΑ ΣΑΚΧΑΡΑ (ΜΗ ΑΝΑΓΩΓΙΚΑ).....	37
1.6ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΑΚΧΑΡΩΝ	39

1.6.1	ΜΕΘΟΔΟΣ LANE & EYNON.....	40
1.6.2	ΜΕΘΟΔΟΣ LUFF-SCHOORL.....	40
1.6.3	ΜΕΘΟΔΟΣ REBELEIN.....	41
1.6.4.	ΜΕΘΟΔΟΣ FEHLING.....	41
1.6.5	ΜΕΘΟΔΟΣ BENEDICT.....	42
1.6.6	ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΑΓΓΑΝΙΟΜΕΤΡΙΚΗ (ΜΕΘΟΔΟΣ G. BETRAND).....	42
1.6.7	ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ (HPLC).....	42
1.6.8	ΜΕΘΟΔΟΣ NELSON-SOMOGYI.....	43
1.6.9	ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΙΒΑΔΑΣ.....	43
1.6.10	ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΤΟΥ ΒΕΡΟΛΙΝΟΥ.....	43
1.6.11	ΜΕΘΟΔΟΣ KNIGHT&ALLEN.....	43
1.6.12	ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΔΙΝΙΤΡΟΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΤΡΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ.....	44
1.6.13	ΕΝΖΥΜΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ.....	44
	ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	46
2	ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	47
2.1	ΜΕΘΟΔΟΣ LUFF.....	47
2.2.	ΜΕΘΟΔΟΣ REBELEIN.....	52
2.3	ΜΕΘΟΔΟΣ LANE & EYNON.....	55
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	57
3.1	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΑΓΟΝΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ LUFF.....	57
3.1.1	Luff-1.....	57
3.1.2	Luff-2.....	58
3.2	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΑΓΟΝΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ Rebelein.....	61
3.3	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΑΓΟΝΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ LANE-EYNON.....	62
	ΣΥΝΟΨΙΖΟΝΤΑΣ.....	63

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....67

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία αναλύονται τα σάκχαρα που συναντώνται στα διάφορα στάδια παρασκευής του οίνου, από το αρχικό στάδιο συλλογής της πρώτης ύλης που είναι το σταφύλι, στο στάδιο της παραγωγής του γλεύκους, έως και το τελικό προϊόν που είναι ο οίνος. Σε όλα αυτά τα στάδια υπάρχουν σάκχαρα με διαφορετικές μορφές, οι οποίες αναλύονται εκτενέστερα παρακάτω. Στη συνέχεια, αναφέρονται οι τρόποι προσδιορισμού των σακχάρων που υπάρχουν γενικά και των αναγόντων σακχάρων ειδικότερα, που αποτελούν και αντικείμενο της παρούσας εργασίας. Ακολουθεί η περιγραφή των μεθόδων που εφαρμόστηκαν πειραματικά σε λευκό ξηρό οίνο, ημίγλυκο οίνο και γλυκό οίνο και τέλος τα αποτελέσματα της εργασίας.

1.2 Ο ΟΙΝΟΣ ΚΑΙ ΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ

Ο οίνος είναι ένα αλκοολούχο ποτό που παράγεται από την ολική ή μερική αλκοολική ζύμωση του μούστου (γλεύκους) των νωπών σταφυλιών. Από χημική άποψη, το κρασί είναι ένα μείγμα από 85-90% νερό, 5-14% αιθυλική αλκοόλη (οινόπνευμα) και από άλλες ουσίες, που προσδίδουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του.

Τα συστατικά του οίνου μπορούν να διακριθούν στις εξής βασικές κατηγορίες:

1. Νερό

2. Οργανικά συστατικά:

Αλκοόλες

Οργανικά οξέα

Αρωματικές ενώσεις

Σάκχαρα

Πολυσακχαρίτες

Φαινολικές ενώσεις

Ένζυμα

Βιταμίνες

Ανόργανα συστατικά: Τα ανιόντα (Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{2-}) και τα κατιόντα (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^+ , Cu^{2+}).

Αναλυτικότερα:

1.2.1. ΝΕΡΟ

Το νερό αποτελεί το 80-85% της συνολικής σύστασης του οίνου και είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνο για την πυκνότητα του οίνου. Αυτό συμβαίνει επειδή η αιθανόλη έχει πυκνότητα μικρότερη από το νερό με αποτέλεσμα να αντισταθμίζει την αύξηση της πυκνότητας που προκαλούν τα υπόλοιπα βαρύτερα συστατικά του οίνου. Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας του οίνου σε νερό υπολογίζεται μετά τον προσδιορισμό του στερεού υπολείμματος, όπου πραγματοποιείται εξάτμιση στους 100°C .

1.2.2. ΑΛΚΟΟΛΕΣ

- Αιθυλική αλκοόλη ή αιθανόλη, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$.

Η αιθανόλη έχει τη δεύτερη θέση, μετά το νερό, στη λίστα των συστατικών που υπάρχουν σε μεγαλύτερες περιεκτικότητες στον οίνο. Η συγκέντρωσή της κυμαίνεται στους 10-16% v/v και υπάρχουν περιπτώσεις, όπως οι οίνοι στους οποίους προστίθεται επιπλέον πόσιμη αλκοόλη, που το ποσοστό αυτό μπορεί να αυξηθεί. Η αιθανόλη είναι το κύριο προϊόν του μεταβολισμού των σακχάρων από τις ζύμες, οι οποίες όμως σε περιεκτικότητες αιθανόλης πάνω από 16% συνήθως απενεργοποιούνται και δεν μπορούν να συνεχίσουν την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης. Η περιεκτικότητα σε αλκοόλη αποτελεί τον αλκοολικό τίτλο του οίνου που έχει πολύ σημαντική επίδραση στην ποιότητα, τη συντήρηση και την εμπορική του αξία. Η αιθανόλη έχει πολύ σημαντική επίδραση στη γεύση του οίνου, καθώς μαζί με τη γλυκερόλη και τα αναγωγικά σάκχαρα ισοσταθμίζουν την οξύτητα άλλων συστατικών του οίνου. Επιπλέον, υψηλή περιεκτικότητα σε αιθανόλη δίνει την εντύπωση ενός οίνου με σώμα, γεγονός που συμβαίνει μόνο στους οίνους υψηλής ποιότητας, όμως η υπέρμετρη περιεκτικότητα σε αιθανόλη μπορεί να επισκιάσει τα υπόλοιπα αρώματα του οίνου. Τέλος, η αιθανόλη έχει την ικανότητα να δρα ως αντισηπτικός παράγοντας, καθώς αναστέλλει την δράση επιβλαβών μικροοργανισμών. Υπάρχουν διάφοροι μέθοδοι προσδιορισμού της αιθανόλης στα αλκοολούχα προϊόντα, συμπεριλαμβανομένου του προσδιορισμού του ειδικού βάρους καθώς και χημικές,

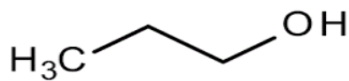
χρωματογραφικές και φασματοσκοπικές μεθόδους

➤ Μεθυλική αλκοόλη ή μεθανόλη, CH₃OH

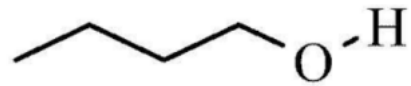
Στον οίνο βρίσκονται πηκτινικά οξέα, τα οποία αποτελούνται από αλυσίδες του γαλακτουρονικού οξέος. Οι ενώσεις αυτές όταν γίνει έκθλιψη των ραγών, έρχονται σε επαφή με το ένζυμο πηκτινο-μέθυλο-εστεράση, το οποίο σπάει την αλυσίδα του γαλακτουρονικού οξέος και απελευθερώνει την μεθανόλη. Η μεθανόλη βρίσκεται στους οίνους σε χαμηλές περιεκτικότητες που κυμαίνονται από 36-350 mg/L. Οι πηκτίνες βρίσκονται στο φλοιό του σταφυλιού και η περιεκτικότητά της μεθανόλης στον οίνο εξαρτάται από τη διάρκεια που παραμένει ο μούστος σε επαφή με τα στέμφυλα. Έτσι λοιπόν, τα κόκκινα κρασιά που πρέπει να παραμείνουν καθ' όλη τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης μαζί με τα στερεά συστατικά των ραγών, εμφανίζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε μεθανόλη. Μικρότερη περιεκτικότητα έχουν τα ροζέ κρασιά και ακόμα λιγότερη τα λευκά. Η ύπαρξη μεθανόλης στα κρασιά μεγαλύτερη από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια που ορίζει η νομοθεσία διώκεται ποινικά διότι ακόμα και μικρή κατανάλωση μεθανόλης έχει αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου, ενώ μόνο 100 mL μπορεί να προκαλέσουν ακόμα και τον θάνατο.

➤ Ανώτερες μονοσθενείς αλκοόλες

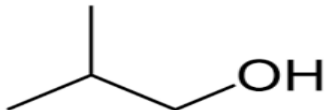
Οι ανώτερες μονοσθενείς αλκοόλες περιέχουν στο μόριό τους περισσότερα από δύο άτομα άνθρακα. Οι σημαντικότερες από αυτές είναι η προπανόλη-1, η ισοπροπανόλη, βουτανόλη-1, η ισοβουτανόλη, βουτανόλη, η μεθυλο-3-βουτανόλη-1, η μεθυλο-2-βουτανόλη-1, η πεντανόλη-1, η εξανόλη-1 και η φαινυλο-2-αιθανόλη. Οι ανώτερες αλκοόλες, με εξαίρεση την εξανόλη-1 που προέρχεται από το σταφύλι, είναι προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης. Η συνολική περιεκτικότητά τους στους οίνους κυμαίνεται από 150-500mg/L. Ο σχηματισμός τους και το ποσοστό τους στον οίνο εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως για παράδειγμα η σύσταση του γλεύκους, οι συνθήκες αερισμού του γλεύκους κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης (καλός αερισμός ευνοεί την παραγωγή τους), το είδος των ζυμών που πραγματοποιούν την ζύμωση κλπ.



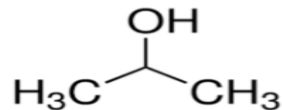
Προπανόλη-1



Βουτανόλη-1



Ισοβουτανόλη



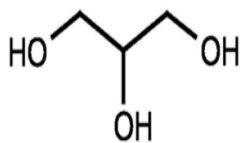
Ισοπροπανόλη

Εικόνα 1.2-1 Μερικές από τις μονοσθενείς αλκοόλες που περιέχονται στον οίνο

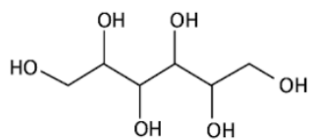
➤ Πολυσθενείς αλκοόλες

Ανάμεσα στις ενώσεις αυτές βρίσκονται η γλυκερόλη, η βουτανεδιόλη, η μαννιτόλη, η σερβιτόλη και η ινοσιτόλη. Η γλυκερόλη παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση αλλά ένα ποσοστό της προϋπάρχει στο γλεύκος γιατί είναι αποτέλεσμα της ευγενούς σήψης των σταφυλιών. Έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ότι η γλυκερόλη συμβάλει στην δημιουργία του «μυελώδους» χαρακτήρα του κρασιού και ο προσδιορισμός της επιτρέπει τη διάκριση ανάμεσα στους φυσικούς γλυκείς οίνους και στα μιστέλια. Η βουτανεδιόλη-2,3 μπορεί να βρεθεί στον οίνο σε περιεκτικότητες από 0,3-1,4g/L. Παράγεται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και δίνει μία χαρακτηριστική γλυκιά γεύση στον οίνο. Επιπλέον, η περιεκτικότητά της στον οίνο αποτελεί κριτήριο για το αν έχει προστεθεί η όχι επιπλέον αλκοόλη στο δείγμα.

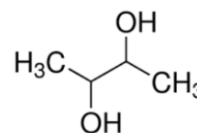
Η μαννιτόλη χαρακτηρίζεται για τη γλυκιά της γεύση και βρίσκεται σε όλους τους οίνους σε συγκέντρωση που δεν ξεπερνάει τα 40 mg/L. Τέλος, η ινοσιτόλη περιέχεται σε συγκέντρωση περίπου 0,5g/L και επειδή μερικές φορές ζυμώνεται από τα βακτήρια μπορεί να εξαφανιστεί ολοκληρωτικά.



Γλυκερόλη



Μαννιτόλη



Βουτανεδιόλη -2,3

Εικόνα 1.2-2 Μερικές από τις πολυσθενείς αλκοόλες που περιέχονται στον οίνο

1.2.3.ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ

Η ύπαρξη των οργανικών οξέων στον οίνο είναι πολύ σημαντική για τον καθορισμό της ποιότητάς του. Αρχικά λειτουργούν ως ρυθμιστές της οξύτητας, γεγονός που σημαίνει ότι η φαινομενική οξύτητα του οίνου (η οξύτητα που αντιλαμβάνεται ο καταναλωτής) εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ύπαρξη αυτών των οξέων στον οίνο. Επιπλέον, ρυθμίζουν το pH, το οποίο όταν βρίσκεται σε μικρές τιμές λειτουργεί ευνοϊκά στην ζωηρότητα του χρώματος. Πέρα από την γεύση, η υψηλή οξύτητα και το χαμηλό pH παρεμποδίζουν την ανάπτυξη βακτηρίων και μικροοργανισμών που επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητα του οίνου καθώς προκαλούν αλλοιώσεις. Τα οξέα αυτά μπορούν να βρεθούν στον οίνο είτε βρίσκονταν στα σταφύλια από τα οποία προέρχεται ο μούστος είτε παράγονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Τα κυριότερα από αυτά είναι :

Οξέα σταφυλιού:

- Τρυγικό οξύ
- Μηλικό οξύ
- Κιτρικό οξύ
- Γλυκονικό οξύ
- Οξαλικό οξύ
- Ασκορβικό οξύ

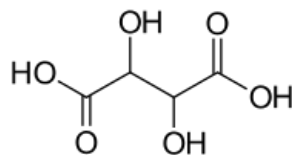
Οξέα από ζυμώσεις ή αλλοιώσεις :

- Ηλεκτρικό οξύ

- Γαλακτικό οξύ
- Διμέθυλο-γλυκερικό οξύ
- Πυρουβικό ή πυροσταφυλικό οξύ
- α-Κετογλουταρικό οξύ
- Οξικό οξύ
- Μυρμηκικό οξύ
- Προπιονικό οξύ
- Ισοβουταρικό οξύ
- Βουτυρικό οξύ

Τα σημαντικότερα από αυτά αναλύονται παρακάτω:

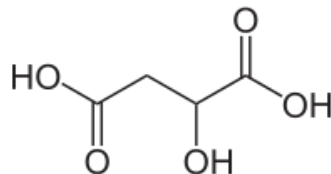
➤ Τρυγικό οξύ



Εικόνα 1.2-3 Συντακτικός τύπος τρυγικού οξέος

Είναι γνωστό και ως το χαρακτηριστικό οξύ του σταφυλιού, γιατί εκτός από το σταφύλι είναι πολύ λίγο διαδεδομένο στην φύση. Είναι από τα σημαντικότερα οξέα του οίνου και έχει τη μεγαλύτερη αντοχή απέναντι σε μικροβιακές αλλοιώσεις και για το λόγο αυτό επιτρέπεται από τη νομοθεσία να προστίθεται μία ποσότητα τρυγικού οξέος όταν κρίνεται απαραίτητη η αύξηση της οξύτητας του γλεύκους. Η προσθήκη τρυγικού οξέος προσδίδει στον οίνο σκληρότητα στην γεύση και μία αίσθηση στυφότητας.

➤ Μηλικό οξύ

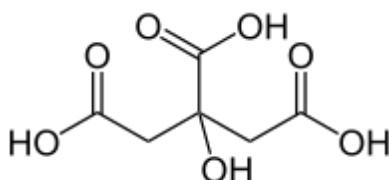


Εικόνα 1.2-4 Συντακτικός τύπος Μηλικού οξέος

Σε αντίθεση με το τρυγικό, το μηλικό είναι ιδιαίτερα διαδεδομένο στην φύση και είναι

αρκετά πιο ευπαθές, που σημαίνει ότι προσβάλλεται εύκολα από μικροοργανισμούς. Η συγκέντρωση του στο σταφύλι μεταβάλλεται έντονα ανάλογα με τον χρόνο ωρίμανσης του σταφυλιού (μειώνεται όσο ωριμάζει), την ποικιλία και τις καιρικές συνθήκες. Προσδίδει στον οίνο μία χορτώδη οσμή και γεύση, στυφότητα και λόγω της αστάθειας του απέναντι σε μικροοργανισμούς, υπάρχει η θεωρία ότι όσο ο οίνος περιέχει μηλικό οξύ, δεν μπορεί να θεωρηθεί οίνος υψηλής ποιότητας.

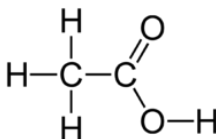
➤ Κιτρικό οξύ



Εικόνα 1.2-5 Συντακτικός τύπος κιτρικού οξέος

Είναι το χαρακτηριστικό οξύ του λεμονιού και των εσπεριδοειδών και βρίσκεται στο σταφύλι σε αρκετά μικρές ποσότητες και δεν παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση. Μαζί με το τρυγικό και το γαλακτικό οξύ, έχουν την ιδιότητα να δεσμεύουν τον σίδηρο με αποτέλεσμα να αποφεύγονται τα θολώματα που θα μπορούσαν πιθανόν να προκληθούν από το κατιόν αυτό. Το κιτρικό οξύ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αύξηση της οξύτητας του οίνου και σε αντίθεση με το τρυγικό είναι το μόνο που επιτρέπεται να προστεθεί στο τελικό στάδιο του οίνου (το τρυγικό προστίθεται μόνο στο γλεύκος). Όμως πρέπει η προσθήκη να γίνεται με προσοχή, καθώς υπάρχει κίνδυνος αποσύνθεσής του και αύξηση της πτητικής οξύτητας, λόγω της μικρής σταθερότητάς τους απέναντι στα γαλακτικά βακτήρια.

➤ Αιθανικό ή Οξικό οξύ



Εικόνα 1.2-6 Συντακτικός τύπος οξικού οξέος

Το Αιθανικό ή αλλιώς οξικό οξύ αποτελεί το 90-95% της πτητικής οξύτητας. Σε μεγάλες ποσότητες παράγεται μόνο όταν υπάρχουν βακτηριακές προσβολές του οίνου. Η παρουσία του επηρεάζει αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου και του δίνει δυσάρεστη οσμή και γεύση ξιδιού. Το οξικό οξύ αρχίζει να παράγεται στην αρχή της αλκοολικής ζύμωσης και περίπου την στιγμή που έχουν καταναλωθεί η μισή ποσότητα σακχάρων φτάνει στην μέγιστη τιμή. Μετά όμως ξεκινάει μείωση της συγκέντρωσης του και η μετατροπή του σε δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης.

1.2.4. ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

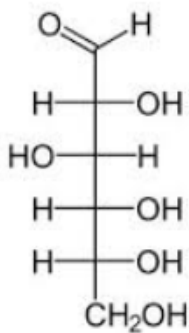
Οι αρωματικές ενώσεις παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ποιότητα του οίνου και μέσα σε αυτές συμπεριλαμβάνονται τόσο πτητικές ενώσεις (αλκοόλες, εστέρες, αλδεΐδες κλπ.) όσο και μη πτητικές (οργανικά οξέα, σάκχαρα, φαινολικά κλπ.). Όλα αυτά μαζί με τις διαφορές που παρουσιάζουν στις συγκεντρώσεις τους συνθέτουν τον ιδιαίτερο χαρακτήρα κάθε κρασιού που διαφέρει σημαντικά από τον ένα οίνο στον άλλο ακόμα και αν προέρχονται από την ίδια ποικιλία σταφυλιού. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι ένα ποσοστό των αρωματικών ενώσεων προέρχεται αποκλειστικά από το σταφύλι από το οποίο προέρχεται ο οίνος, ενώ άλλα ξεκινάνε να παράγονται κατά την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης (Lilly, M. et al., 2000). Επιπλέον, πολλά από τα αρώματα συντίθενται κατά την διαδικασία της παλαίωσης του οίνου (Schreier, P., & Jennings, W. G. 1979). Επίσης, το άρωμα σε μεγάλο βαθμό επηρεάζεται από την ζύμες που είναι υπεύθυνες για την αλκοολική ζύμωση και πολλά αρώματα παράγονται από αυτές και άλλες επιδρούν θετικά και άλλες αρνητικά στο γευστικό αποτέλεσμα του οίνου (Gil, J. V. et al., 1996). Το σύνολο των ενώσεων αυτών αποτελεί αυτό που οι οινολόγοι ονομάζουν «άρωμα» του κρασιού για τους νέους οίνους και «μπουκέτο» για τους οίνους παλαίωσης. Οι ενώσεις αυτές βρίσκονται στον οίνο σε πολύ μικρή ποσότητα και για αυτό η ανίχνευσή τους ήταν σχετικά δύσκολη και πολλά από τα συστατικά (που ξεπερνούν τα 350) ακόμα δεν μπορούν να προσδιοριστούν με ακρίβεια. Παραδειγματικά αναφέρονται μερικές αρωματικές ενώσεις παρακάτω:

- Φαινυλο-2-αιθανόλη
- Τυροσόλη

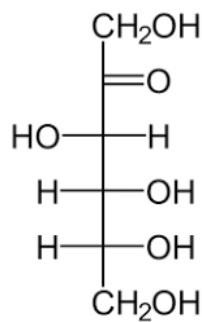
- Οξικός αιθυλεστέρας
- Ακεταλδεΐδη
- Ακετάλη
- Υδρόξυ-μέθυλο-φουρφουράλη
- Βουτανεδιόλη-2,3

1.2.5. ΣΑΚΧΑΡΑ

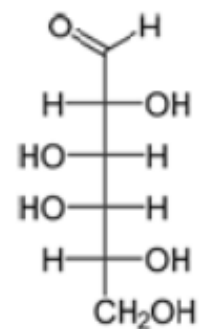
Αυτά αποτελούν ένα σημαντικό κεφάλαιο από το πρώιμο στάδιο του σταφυλιού μέχρι το τελικό στάδιο, την κατανάλωση του οίνου. Τα σάκχαρα αναλύονται παρακάτω σε χωριστή ενότητα.



D-γλυκόζη



D-φρουκτόζη



D-γαλακτόζη

Εικόνα 1.2-7 Συντακτικοί τύποι σακχάρων του οίνου

1.2.6. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Οι Φαινολικές ενώσεις που περιέχονται στον οίνο είναι ως ένα βαθμό υπεύθυνες για το χρώμα, την στυφότητα, την πικρή γεύση που έχει κάποιες φορές ο οίνος και έτσι η περιεκτικότητά τους στον οίνο αποτελεί βασική παράμετρο για να χαρακτηριστεί ένα κρασί υψηλής ποιότητας. Επίσης, οι φαινολικές ενώσεις είναι αυτές που δίνουν στον οίνο διατροφική αξία, καθώς έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες που όπως περιγράψαμε παραπάνω δρουν ιδιαίτερα ευεργετικά στην ανθρώπινη υγεία, καθώς αναστέλλουν την

οξειδωση της LDL χοληστερόλης και μειώνουν την πιθανότητα συσσώρευσης αιμοπεταλίων, γεγονός που οδηγεί σε μείωση κινδύνου καρδιαγγειακών νοσημάτων. Επιπλέον, έχουν αντικαρκινική δράση, καθώς δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται στον ανθρώπινο οργανισμό από διάφορους παράγοντες.

Ο όρος «φαινολικό» ή «πολυφαινολικό» περιγράφει τις ενώσεις που διαθέτουν βενζολικό δακτύλιο υποκατεστημένο από μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες. Η μεγάλη δραστηριότητά τους οφείλεται στον όξινο και πυρηνόφιλο χαρακτήρα του βενζολικού δακτυλίου. Με βάση τον ανθρακικό σκελετό τους, οι φαινολικές ενώσεις χωρίζονται σε φλαβονοειδείς και μη-φλαβονοειδείς. Η φαινολική σύνθεση των οίνων εξαρτάται από την ποικιλία σταφυλιών και από άλλους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των καρπών, όπως το έδαφος, η γεωγραφική θέση και οι καιρικές συνθήκες. Από την άλλη πλευρά, οι τεχνικές οινοποίησης και ο χρόνος ζύμωσης σε επαφή με τα στέμφυλα και τους σπόρους σταφυλιών παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην εκχύλιση πολυφαινολών από το σταφύλι και στην περαιτέρω σταθερότητά τους στο κρασί. Επιπλέον, η ωρίμανση και η παλαίωση της φιάλης είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν την φαινολική σύνθεση των οίνων (Monagas, M. et al., 2005).

Πέρα από την επίδραση στην ανθρώπινη υγεία, τα φαινολικά συστατικά παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση και την γεύση του κρασιού. Αρχικά, είναι υπεύθυνα για το χρώμα του οίνου, καθώς οι ανθοκυάνες, που συμπεριλαμβάνονται στην κατηγορία αυτή είναι οι ερυθρές χρωστικές του σταφυλιού και το μεγαλύτερο μέρος τους βρίσκεται στον φλοιό του σταφυλιού. Οι ταννίνες επίσης συμβάλουν στο χρώμα του οίνου και ιδιαίτερα στο στάδιο παλαίωσής του. Επιπλέον, τα φαινολικά συστατικά είναι αυτά που δίνουν στο κρασί την αίσθηση της στυφότητας που έχουν τα κόκκινα κρασιά.

1.2.7. ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Τα ανόργανα συστατικά του οίνου υπολογίζονται από το βάρος της τέφρας καθώς με την αποτέφρωση εξατμίζονται όλα τα οργανικά μέρη. Τα ανόργανα συστατικά προέρχονται από το σταφύλι και χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα ανιόντα (Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{2-}) και τα κατιόντα (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^+ , Cu^{2+}).

1.3ΤΑ ΣΑΚΧΑΡΑ ΓΕΝΙΚΑ

Τα σάκχαρα είναι μία από τις βασικές ομάδες βιομορίων. Αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των οργανικών ουσιών στη Γη, ενώ είναι η πλέον σημαντική πηγή ενέργειας για τους ζωντανούς οργανισμούς. Τα σάκχαρα είναι χημικές ενώσεις του άνθρακα που περιέχουν υδρογόνο και οξυγόνο με αναλογία ατόμων 2:1, όση δηλαδή και το νερό και έχουν τον γενικό τύπο $C_k(H_2O)_k$. Για το λόγο αυτό τα σάκχαρα ονομάζονται και υδατάνθρακες.



Εικόνα 1.3-1 Διάγραμμα κατηγοριοποίησης σακχάρων

Οι υδατάνθρακες είναι είτε πολυυδροξυαλδεΐδες είτε πολυυδροξυκετόνες, ή ουσίες οι οποίες όταν αντιδρούν με νερό δίνουν τέτοιες ενώσεις. Μερικοί υδατάνθρακες, όπως η κυτταρίνη και η χιτίνη, αποτελούν δομικά συστατικά σε φυτά και ζώα. Άλλοι υδατάνθρακες, όπως η γλυκόζη, παρέχουν ενέργεια και πρώτες ύλες για δραστηριότητες των κυττάρων. Οι υδατάνθρακες ανάλογα με την ικανότητά τους να διασπώνται ή όχι σε άλλους υδατάνθρακες διακρίνονται αντίστοιχα α) σε διασπώμενα σάκχαρα και β) σε απλούς υδατάνθρακες ή απλά σάκχαρα ή μονοσακχαρίτες (απλά σάκχαρα που το καθένα περιέχει έως εννέα άτομα άνθρακα, συνδεδεμένα όλα, εκτός από ένα, με μια υδροξυλομάδα). Τα διασπώμενα σάκχαρα με την σειρά τους διακρίνονται σε ολιγοσακχαρίτες (μικρού μήκους πολυμερή αποτελούμενα από δύο μέχρι δέκα μονάδες απλού σακχάρου) και πολυσακχαρίτες (πολυμερή αποτελούμενα από περισσότερες των δέκα μονάδων απλού

σακχάρου) ανάλογα, με τον αριθμό των απλών σακχάρων από τα οποία αποτελούνται και τα οποία μπορούν να σχηματίσουν κατά τη διάσπαση τους.

1.3.1 ΜΟΝΟΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

Ονοματολογία, στερεοδομή και διαμόρφωση

Από χημική άποψη, οι μονοσακχαρίτες είναι ενώσεις που περιέχουν πολλές υδροξυλομάδες και μία καρβονυλομάδα. Ανάλογα με το αν η καρβονυλομάδα είναι αλδεΰδομάδα ή κετονομάδα διακρίνονται σε αλδόζες και κετόζες, αντίστοιχα. Οι μονοσακχαρίτες υπάρχουν ως D- και L-ισομερή, επειδή κάθε μόριο έχει τουλάχιστον ένα άτομο άνθρακα ενωμένο με τέσσερις διαφορετικές ομάδες.

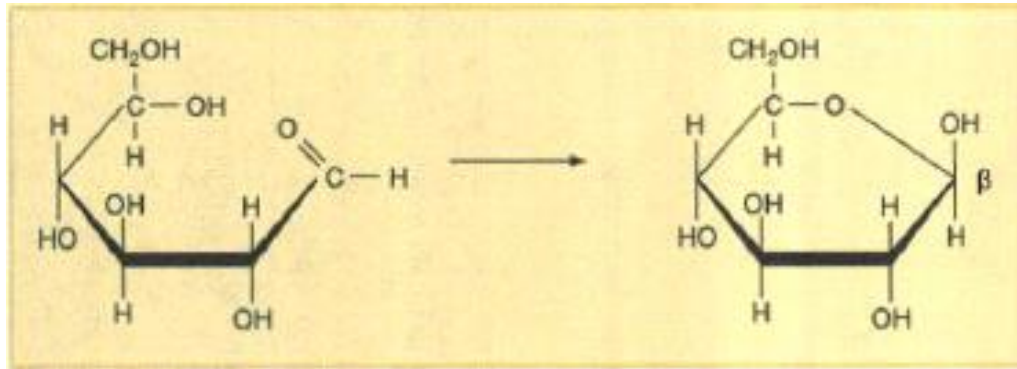
Οι χαρακτήρες D και L, καθορίζουν την απόλυτη διαμόρφωση ανάλογα με τη θέση που κατέχει το υδροξύλιο του πιο απομακρυσμένου από την αλδευδομάδα ή την κετονομάδα ασύμμετρου ατόμου άνθρακα.

- Όταν το υδροξύλιο βρίσκεται προς τα δεξιά τότε έχουμε τα D-σάκχαρα
- Όταν το υδροξύλιο βρίσκεται προς τα αριστερά έχουμε τα L-σάκχαρα.

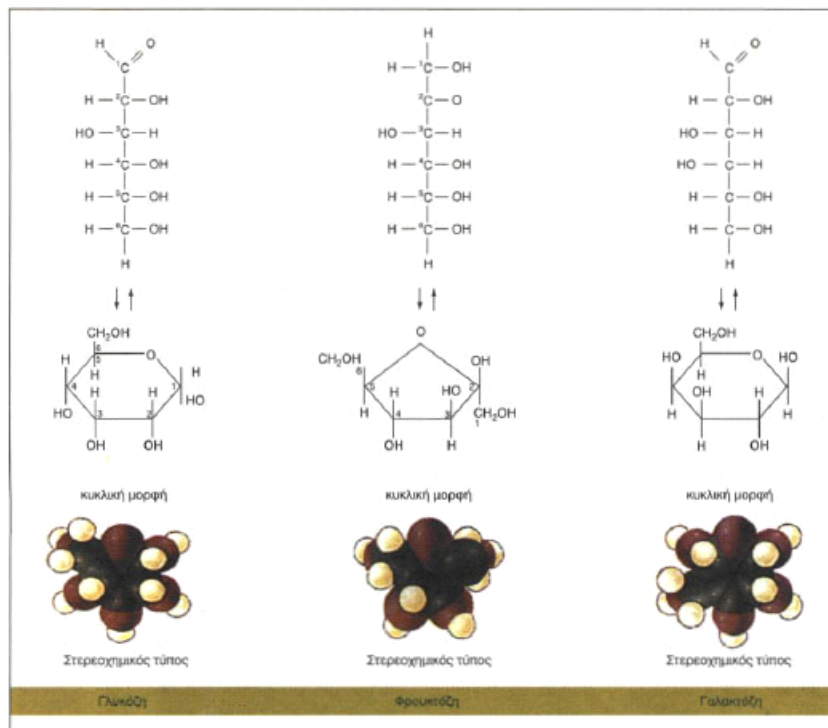
Λίγοι μόνο από τους πολλούς μονοσακχαρίτες έχουν μείζονα βιολογική σημασία. Όλοι είναι D-σάκχαρα και οι περισσότεροι από αυτούς αποτελούνται από 3-6 άτομα C και ονομάζονται αντίστοιχα τριόζες, τετρόζες, πεντόζες και εξόζες. Από τον συνδυασμό της ενεργούς ομάδας και του αριθμού των ατόμων άνθρακα προκύπτει επίσης ονοματολογία των σακχάρων, όπως για παράδειγμα αλδοεξόζη για την γλυκόζη (6 άνθρακες=εξόζη και αλδεΰδική ομάδα=άλδο), ή κετοεξόζη για την φρουκτόζη, αντίστοιχα. Τα πλέον σημαντικά σάκχαρα είναι η D-γλυκόζη, η D-φρουκτόζη, η D-ριβόζη και η 2-δεοξυ-D-ριβόζη. Η D-γλυκόζη είναι το κοινό σάκχαρο του αίματος, μια σπουδαία πηγή ενέργειας για τη λειτουργία του κυττάρου. Η D-φρουκτόζη είναι το κοινό σάκχαρο των φρούτων (όπως τα σταφύλια) και μια πηγή τροφής. Η D-ριβόζη και η 2-δεοξυ-D-ριβόζη αποτελούν μέρη των νουκλεϊκών οξέων.

Παρόλο που συχνά σχεδιάζουμε τα απλά σάκχαρα ως μόρια ανοικτής αλυσίδας, αυτά δεν υφίστανται κατ' εξοχήν υπό αυτή την μορφή. Στα υδατικά τους διαλύματα τα σάκχαρα απαντώνται σε κυκλική μορφή. Αυτό οφείλεται σε μία εσωτερική αντίδραση και

συγκεκριμένα σε μία αντίδραση προσθήκης ενός ατόμου H από το 4° ή 5° άτομο C στον διπλό δεσμό του καρβονυλίου (1° ή 2° άτομο C), οπότε σχηματίζεται ημιακεταλικό υδροξύλιο και το μόριο παίρνει την κυκλική του μορφή.

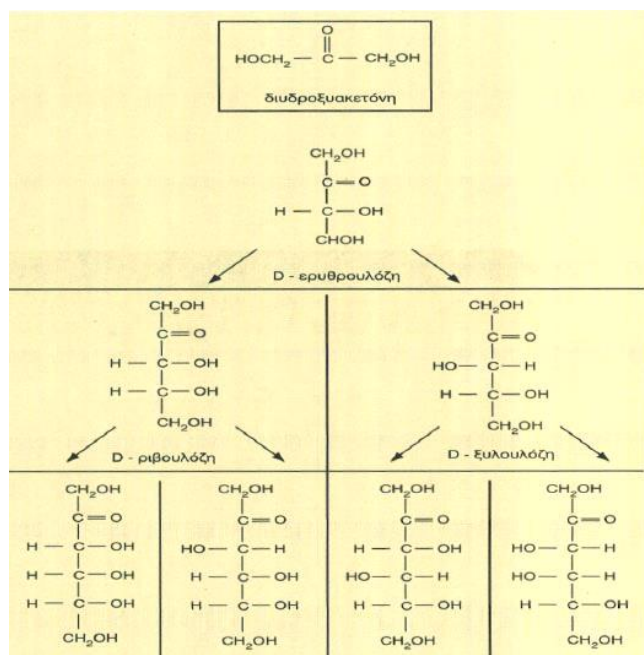


Εικόνα 1.3-2 κυκλική μορφή μονοσακχαρίτη



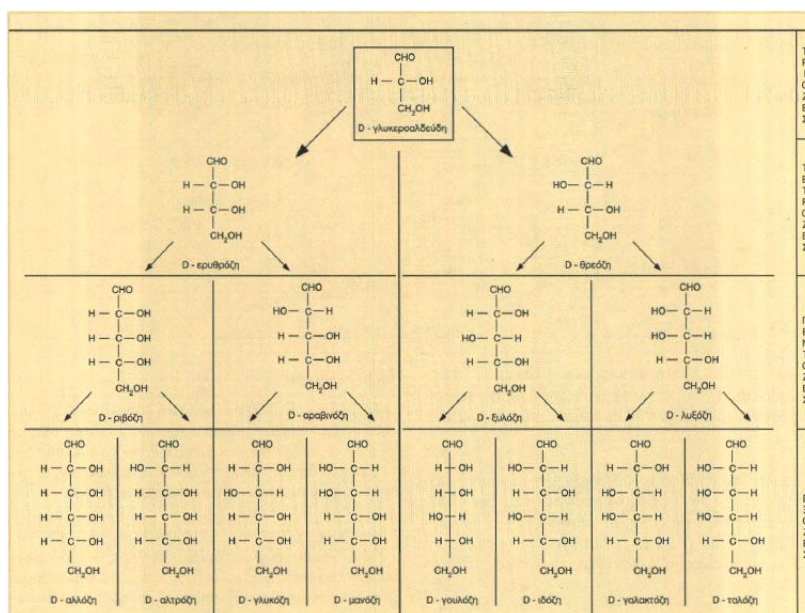
Εικόνα 1.3-3 Διαμόρφωση κυκλικής δομής Γλυκόζης, φρουκτόζης και Γαλακτόζης.

Στους παρακάτω πίνακες φαίνονται οι χημικοί τύποι των μονοσακχαριτών, κετοζών και αλδοζών αντίστοιχα.



Εικόνα 1.3-4 κετόζες.

https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/932/1/02_chapter_20.pdf Σπηλιόπουλος Ι. (2008). Βασική Οργανική Χημεία. Αθήνα: Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης.



Εικόνα 1.3-5 Αλδόζες

(https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/932/1/02_chapter_20.pdf, Σπηλιόπουλος Ι. 2008)

Γενικές αντιδράσεις μονοσακχαριτών και γλυκοζιτικός δεσμός

Οι μονοσακχαρίτες διαλύονται εύκολα στο νερό και έχουν γλυκιά γεύση. Οι χημικές ιδιότητες των μονοσακχαριτών οφείλονται στις πολλές υδροξυλομάδες τις οποίες έχουν. Οι κυριότερες ιδιότητες των μονοσακχαριτών είναι:

Αναγωγικός χαρακτήρας

Οι μονοσακχαρίτες εμφανίζουν αναγωγική δράση. Αυτή η ιδιότητα των μονοσακχαριτών εκδηλώνεται με αντίδραση ακόμη και με ήπια οξειδωτικά μέσα, όπως είναι το αντιδραστήριο Fehling (διάλυμα CuSO_4 σε NaOH) και το αντιδραστήριο Tollen (διάλυμα AgNO_3 σε NH_3). Οι παραπάνω αντιδράσεις χρησιμεύουν στην ανίχνευση και στον προσδιορισμό των σακχάρων.

Σχηματισμός γλυκοζιτικού δεσμού

Μεταξύ δύο σακχάρων είναι δυνατό να αποσπαστεί ένα μόριο νερού από δύο υδροξύλια διαφορετικών μορίων. Ο δεσμός που δημιουργείται λέγεται **γλυκοζιτικός δεσμός**.

Οι σχηματιζόμενες ενώσεις ανήκουν σε μία κατηγορία ενώσεων που λέγονται γλυκοζίτες. Στην κατηγορία των γλυκοζιτών ανήκουν οι ολιγοσακχαρίτες και οι πολυσακχαρίτες. Οι γλυκοζίτες διασπώνται με τη βοήθεια οξέων ή ενζύμων που ονομάζονται *γλυκοζιδάσες*

Οι ολιγοσακχαρίτες και οι πολυσακχαρίτες αποτελούνται αντίστοιχα από μικρό ή μεγάλο αριθμό απλών σακχάρων, ενώ μπορούν να διασπαστούν σχηματίζοντας τα απλά σάκχαρα από τα οποία αποτελούνται. Οι κυριότεροι ολιγοσακχαρίτες είναι οι δισακχαρίτες.

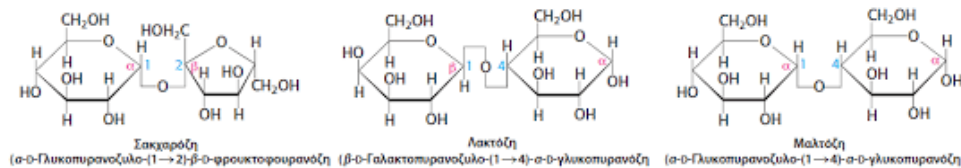
Οι δισακχαρίτες σχηματίζονται από δύο μόρια μονοσακχαριτών με ταυτόχρονη απόσπαση ενός μορίου νερού. Είναι δηλαδή ανυδριτικά παράγωγα των μονοσακχαριτών.

Οι σημαντικότεροι δισακχαρίτες είναι οι ακόλουθοι:

Καλαμοσάκχαρο ή σακχαρόζη ή ζάχαρη. Το καλαμοσάκχαρο είναι ο πλέον διαδεδομένος δισακχαρίτης και προέρχεται από τη συνένωση ενός μορίου γλυκόζης και ενός μορίου φρουκτόζης.

Μαλτόζη. Η μαλτόζη προέρχεται από την συνένωση δύο μορίων γλυκόζης και σχηματίζεται κατά την υδρόλυση του αμύλου ως ενδιάμεσο προϊόν.

Γαλακτοσάκχαρο ή λακτόζη. Η λακτόζη είναι το κύριο σάκχαρο που συναντάται στο γάλα των θηλαστικών και προέρχεται από τη συνένωση ενός μορίου γλυκόζης και ενός μορίου γαλακτόζης.



Εικόνα 1.3-6 Δομές Σακχαρόζης, Λακτόζης και Μαλτόζης

(<http://www.biology.uoc.gr/courses/BIOL154/documents/Lecture7.pdf>)

1.3.2 ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

Το μόριο των πολυσακχαριτών αποτελείται από μεγάλο αριθμό μορίων μονοσακχαριτών ενωμένα μεταξύ τους με γλυκοζιτικούς δεσμούς. Με την υδρόλυσή τους οι πολυσακχαρίτες σχηματίζουν κατ' αρχάς ολιγοσακχαρίτες και στη συνέχεια μονοσακχαρίτες.

Οι σημαντικότεροι πολυσακχαρίτες είναι οι ακόλουθοι:

Γλυκογόνο. Το γλυκογόνο αποτελεί την κύρια αποταμιευτική μορφή της γλυκόζης των ζωικών κυττάρων. Είναι ένα μεγάλο διακλαδισμένο πολυμερές, που αποτελείται από μόρια γλυκόζης ενωμένα με γλυκοζιτικούς δεσμούς.

Άμυλο. Το άμυλο είναι ένας πολυσακχαρίτης που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες γλυκόζης. Είναι η κύρια εφεδρική ουσία των φυτών και εναποτίθεται σε μεγάλες ποσότητες στα σπέρματα (δημητριακά) και στους βολβούς (πατάτες). Εμφανίζεται με δύο μορφές, την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη. Η αμυλόζη αποτελεί το 20%-30% του αμύλου

και σχηματίζεται από μονάδες γλυκόζης (250-300) γραμμικά διατεταγμένες, ενώ η αμυλοπηκτίνη αποτελεί το υπόλοιπο ποσοστό του αμύλου και εμφανίζει διακλαδώσεις ανά 25 περίπου μονάδες γλυκόζης. Η δομή του μορίου μοιάζει με εκείνη του γλυκογόνου. Το σημαντικότερο πεπτικό ένζυμο του αμύλου είναι η α-αμυλάση, που βρίσκεται στο σάλιο και στο λεπτό έντερο.

Κυτταρίνη. Η κυτταρίνη είναι ένας πολυσακχαρίτης που αποτελείται από 8.000 - 12.000 επαναλαμβανόμενες μονάδες γλυκόζης. Είναι δηλαδή ένας γλυκοζίτης με Μ.Β. περίπου 1-2.000.000. Συναντάται στα φυτά και αποτελεί δομικό συστατικό. Τα ένζυμα που διασπούν την κυτταρίνη ονομάζονται κυτταρινάσες. Οι κυτταρινάσες είναι διαδεδομένες στους μικροοργανισμούς που αποτελούν την μικροχλωρίδα του στομάχου των μηρυκαστικών ενώ δεν απαντώνται στον άνθρωπο. Για το λόγο αυτό η κυτταρίνη πέπτεται από τα μηρυκαστικά, όχι όμως από τον άνθρωπο.

1.3.30 ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ

Τα σάκχαρα, σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς, επιτελούν την βασική λειτουργία της παραγωγής ενέργειας, καιόμενα προς CO₂ και νερό. Στα κύτταρα η αντίδραση αυτή εκδηλώνεται κατά την κυτταρική αναπνοή με βραδύ ρυθμό, ώστε η απελευθέρωση της ενέργειας να είναι ελεγχόμενη. Η ενέργεια που απελευθερώνεται κατά την καύση 1g υδατάνθρακα είναι 4 Kcal.

Οι υδατάνθρακες διαδραματίζουν ποικίλους ρόλους στον οργανισμό. Κατά πρώτον αποτελούν τα κυριότερα καύσιμα του οργανισμού. Το 50% περίπου των θερμίδων που λαμβάνει ο άνθρωπος προέρχεται από την καύση υδατανθράκων, ενώ ο σημαντικότερος ίσως υδατάνθρακας, η γλυκόζη, είναι η μοναδική πηγή ενέργειας του εγκεφάλου και του κεντρικού νευρικού συστήματος. Επιπλέον, η γλυκόζη αλλά και άλλα σάκχαρα, όπως και ενδιάμεσα προϊόντα του μεταβολισμού τους, αποτελούν την πρώτη ύλη για τη βιοσύνθεση διάφορων βιομορίων μεγάλης βιολογικής σημασίας, όπως συνένζυμα, αμινοξέα, νουκλεϊνικά οξέα, λιπαρές ύλες κ.ά, καθώς τα σάκχαρα ριβόζη και δεοξυριβόζη αποτελούν δομικά συστατικά του δομικού πλαισίου των DNA και RNA. Η παρουσία της γλυκόζης σε φυσιολογικά επίπεδα, μέσα και έξω από το κύτταρο, επηρεάζει σημαντικά όλες σχεδόν τις λειτουργίες του οργανισμού, συμβάλλοντας αποφασιστικά στη μεταφορά ουσιών, στην

ρύθμιση της ωσμωτικής πίεσης κτλ.

Εκτός από αυτούς, άλλοι υδατάνθρακες έχουν ειδικό ρόλο. Για παράδειγμα, η κυτταρίνη αν και δεν πέπτεται, αφού ο ανθρώπινος οργανισμός δε διαθέτει τα κατάλληλα ένζυμα για τη διάσπασή της (όπως συμβαίνει με τα μηρυκαστικά) έχει καθοριστικό ρόλο στη λειτουργία του παχέος εντέρου, καθόσον ενεργοποιεί τη διαδικασία αποβολής των κοπράνων.

Η λακτόζη βοηθά στην απορρόφηση του ασβεστίου, ενώ, όπως και το άμυλο, υδρολύεται σχετικά αργά και έτσι παραμένει στο έντερο πολύ περισσότερο από άλλους υδατάνθρακες, βοηθώντας έτσι στην ανάπτυξη μικροοργανισμών οι οποίοι συνθέτουν χρήσιμα για τον άνθρωπο συστατικά, όπως π.χ. διάφορες βιταμίνες του συμπλέγματος Β.

Η περίσσεια υδατανθράκων αποθηκεύεται κατά κύριο λόγο στο συκώτι και δευτερευόντως στους μύς με την μορφή γλυκογόνου. Η ικανότητα όμως αυτή του οργανισμού είναι περιορισμένη. Για το λόγο αυτό αν ο οργανισμός δε παραλάβει με την τροφή υδατάνθρακες για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από 6-7 ώρες, αρχίζει η διαδικασία παραγωγής γλυκόζης από άλλα θρεπτικά συστατικά όπως π.χ. από πρωτεΐνες.

1.4 ΣΑΚΧΑΡΑ ΣΤΟ ΣΤΑΦΥΛΙ

Υπάρχουν δυο ειδών σάκχαρα στο σταφύλι, οι πεντόζες και οι εξόζες.

Πεντόζες είναι τα σάκχαρα που δεν είναι ζυμώσιμα, όπως για παράδειγμα η ξυλόζη, η ραμνόζη και η αραβινόζη. Τα σάκχαρα αυτά δεν ξεπερνούν ποτέ τα 2 g/L. Οπωσδήποτε, όμως, στο σταφύλι υπάρχουν και άλλα ζάχαρα που βρίσκονται σε ίχνη και δεν παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον.

Sugars naturally present in grapes:

Glucose and fructose

- Fermentable
- By far the most abundant
- Together they represent about 95% of the total dissolved solids
- Around 100 g/L each
- Fructose sweeter than Glucose

Sucrose

- Fermentable (yeast hydrolysis)
- Sucrose = Glucose + Fructose
- Around 2-10 g/L (in the grapes only)
- Trace amounts after fermentation (negligible)

Pentose

- Non-fermentable
- Arabinose, xylose, ribose, rhamnose
- Around 0.4-2 g/L
- Contribute very little to perceived sweetness

Εικόνα 1.4-1 Σάκχαρα στο σταφύλι

(<https://vinlab.com/blog/2018/03/12/sugars-in-grapes-and-wines-demystified>)

Οι εξόζες είναι τα ζυμώσιμα σάκχαρα δηλαδή η γλυκόζη και η φρουκτόζη που παράγονται από το φυτό κατά την φωτοσύνθεση. Ξεκινούν, λοιπόν, να συσσωρεύονται στο σταφύλι από το στάδιο του περκασμού της αμπέλου και μετά, διότι κατά την διάρκεια της ανάπτυξης, μέχρι και την στιγμή της ξυλοποίησης, τα σάκχαρα αυτά χρησιμοποιούνται από το φυτό για την κυτταρική αναπνοή στην μορφή αμύλου. Όταν η ανάπτυξη θα σταματήσει, τα σάκχαρα θα αρχίσουν να συσσωρεύονται στις ράγες των σταφυλιών. Η συσσώρευσή τους στη ρόγα είναι κατά κάποιο τρόπο το πλεόνασμα της διατροφής των κουκουτσιών, που είναι τα όργανα της εγγενούς αναπαραγωγής του φυτού. Στο πρώτο στάδιο ωρίμανσης, η περιεκτικότητα σε σάκχαρα είναι 10-15g/1000g πράσινων σταφυλιών. Στην ωρίμανση φτάνει γύρω στα 200g/1000g σταφυλιών. Η περιεκτικότητα σε σάκχαρα ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία και το βαθμό ωρίμανσης. Εκτός από την γλυκόζη και την φρουκτόζη στο σταφύλι έχουμε μια μικρή περιεκτικότητα σε σακχαρόζη της τάξεως του 1-3g/l μούστου. Οι ρόγες που είναι πιο κοντά στις κληματόβεργες είναι πιο πλούσιες σε σάκχαρα. Η κατανομή των σακχάρων στις ράγες είναι ανόμοια, γι' αυτό τον λόγο άλλωστε παίρνουμε και γλεύκη με διαφορετική περιεκτικότητα σε σάκχαρα ανάλογα με την πίεση που ασκούμε στα στέμφυλα.

Πιο αναλυτικά προκύπτει ότι η προέλευση των ζαχάρων του σταφυλιού φαίνεται να είναι διπλή. Ένα μέρος από αυτά προέρχεται από τα ξυλώδη μέρη του φυτού και κυρίως το βλαστό, ενώ η μεγαλύτερη ποσότητα προέρχεται από τα φύλλα. Αναλυτικότερα, η προέλευσή τους έχει ως εξής:

Προέλευση από τα ξυλώδη μέρη: Όπως προαναφέρθηκε κατά το σχηματισμό τους οι ράγες δεν περιέχουν περισσότερα από 15 έως 20 γραμμάρια ζαχάρων ανά κιλό σταφυλιών. Όμως μετά από λίγες εβδομάδες κατά την περίοδο του περκασμού, παρατηρείται ότι οι ράγες εμπλουτίζονται σχεδόν μονομιάς με ποσότητες ζαχάρων που είναι 10 έως 15 φορές μεγαλύτερες από την αρχική. Το φαινόμενο αυτό δημιουργεί πολλά ερωτηματικά σχετικά με την προέλευση των ζαχάρων. Υπάρχουν θεωρίες που αναφέρουν ότι τα γίγαρτα, για να φτάσουν στη φυσιολογική τους ωριμότητα, έχουν ανάγκη από μεγάλες ποσότητες θρεπτικών συστατικών. Επειδή, όμως, η ημερήσια σύνθεση των συστατικών αυτών - που είναι κυρίως υδατάνθρακες - στο “εργοστάσιο” του φυλλώματος δεν μπορεί να ικανοποιήσει τις ανάγκες αυτές, γίνεται έκκληση στα αποθέματα που βρίσκονται εντοπισμένα στα ξυλώδη μέρη του φυτού και ιδιαίτερα στον κορμό. Οι πηγές αυτές φαίνεται να είναι οι μόνες, που μπορούν να ικανοποιήσουν γρήγορα και με τις απαραίτητες ποσότητες τις ανάγκες των γιγάρτων. Το υπόλοιπο των θρεπτικών αυτών συστατικών αποθέτεται στη σάρκα της ράγας. Γεγονός είναι πάντως, ότι η θεωρία αυτή ευσταθεί τουλάχιστον μερικώς, διότι έχει αποδειχθεί ότι η ποσότητα των ζαχάρων - που συσσωρεύονται στις ράγες - είναι τόσο μικρότερη, όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των γιγάρτων. Ένα μέρος, δηλαδή, καταναλώνεται από τα γίγαρτα. Νεότερες θεωρίες, όμως, βάζουν σε αμφισβήτηση τη θεωρία αυτή. Ένα στοιχείο, που μπορεί να συνηγορήσει υπέρ της θεωρίας που αναφέραμε είναι ότι ο κορμός, οι ρίζες και οι διάφοροι βλαστοί του κλίματος, την περίοδο της πράσινης ράγας, περιέχουν ήδη γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη και άμυλο που υδρολύεται τελικά σε γλυκόζη.

Εφόσον θεωρήσουμε σωστή την άποψη περί μετακίνησης των αποθεμάτων των σακχάρων από τα ξυλώδη μέρη του φυτού στις ράγες, αντιλαμβανόμαστε τη σπουδαιότητα που παρουσιάζει το παρελθόν ενός αμπελώνα - δηλαδή η ηλικία και η υγιεινή κατάσταση των κλημάτων - στην ποιότητα των παραγόμενων σταφυλιών. Επιβεβαιώνεται, δηλαδή, η λαϊκή ρήση που λέει ότι < ένα παλιό και γερό αμπέλι δίνει καλό

κρασί>. Οι αποθησαυριστικές του ουσίες θα αναπληρώσουν, κατά τη διάρκεια μιας υγρής και δροσερής χρονιάς, την αδυναμία του φυτού για μία καλή ωρίμανση των σταφυλιών, έτσι ώστε να έχουμε κάθε χρόνο ικανοποιητική ωρίμανση και καλύτερη και σταθερότερη ποιότητα στην πρώτη ύλη.

Προέλευση από τα φύλλα του φυτού : είναι γνωστό ότι τα πράσινα μέρη του φυτού και κυρίως τα φύλλα - που είναι πλούσια σε χλωροφύλλη - με τη βοήθεια του CO₂ του αέρα, του νερού που απορροφούν οι ρίζες και της ηλιακής ενέργειας σχηματίζουν όλα τα οργανικά συστατικά που έχει ανάγκη το φυτό. Με τον τρόπο αυτό σχηματίζονται τα σάκχαρα, τα οργανικά οξέα, τα αμινοξέα κ.τ.λ. Με άλλα λόγια, Τα φύλλα αποτελούν το εργοστάσιο του φυτού που τροφοδοτεί τον καρπό με τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά. Το ίδιο φαινόμενο, φωτοσύνθεση όπως λέγεται επίσης, συμβαίνει και στο φυτό της αμπέλου και είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση του μεγαλύτερου μέρους των ημερήσιων αναγκών του φυτού. Τα σάκχαρα μεταναστεύουν προοδευτικά από τα φύλλα προς τα σταφύλια και έτσι επιτυγχάνεται ο εμπλουτισμός τους στα γλυκά αυτά συστατικά. Όσο πιο πολύ επομένως, χρόνο εκτίθεται ο αμπελώνας στον ήλιο, τόσο πιο έντονο είναι το φαινόμενο της φωτοσύνθεσης και συνεπώς και το ποσοστό των σακχάρων που περιέχονται στο σταφύλι, Με τη θεωρία αυτή εξηγείται και η ευνοϊκή επίδραση στη σύσταση του σταφυλιού, που ασκεί η εγκατάσταση αμπελώνων και πλαγιές με ανατολική έκθεση. Αντίθετα με τα προηγούμενα, κατά τη διάρκεια της νύχτας, η φωτοσύνθεση διακόπτεται, ενώ η μετανάστευση προς το σταφύλι συνεχίζεται, έτσι ώστε κατά το χρονικό αυτό διάστημα να παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης των σακχάρων στο φύλλωμα.

Είναι γνωστό η μετανάστευση των σακχάρων γίνεται με μορφή μικρών μορίων, τα οποία είναι περισσότερο ευκίνητα. Έτσι, η σακχαρόζη - μετά την έξοδό της από τα φύλλα - υδρολύεται σε ανάστροφα σάκχαρα και με τη μορφή αυτή μετακινείται στα ενδιάμεσα μέρη του φυτού, για να φτάσει τελικά στο σταφύλι.

Προέλευση από το μηλικό οξύ: Συμπληρωματικά αναφέρεται ότι, προς το τέλος της ωρίμανσης, μία μικρή ποσότητα σακχάρων προέρχεται από μετατροπή του μηλικού οξέος. Πάντως, η μετατροπή αυτή δεν μπορεί να θεωρηθεί ως μία τρίτη πηγή προέλευσης σακχάρων γιατί πρόκειται για ασήμαντο ποσοστό.

Η τελική συγκέντρωση των σακχάρων στο σταφύλι, από τις πηγές που προαναφέραμε, μπορεί να φτάσει κατά την ωρίμανση 200 έως 250 γραμμάρια ανά λίτρο γλεύκους. Η κατανομή τους, όμως, δεν είναι ομοιόμορφη ούτε στο βότρυ ως σύνολο, αλλά ούτε στη ράγα ειδικότερα. Στην πρώτη περίπτωση, έχει παρατηρηθεί ότι οι ράγες, που βρίσκονται στο πάνω μέρος ενός μεγάλου σχετικά βότρυ, είναι πιο πλούσιες σε σάκχαρα σε σχέση με τις υπόλοιπες. Φαίνεται ότι αυτές - που είναι πιο κοντά στον ποδίσκο - δέχονται πρώτες τα σάκχαρα, που μετακινούνται προς το σταφύλι. Πιο αξιοπερίεργη είναι, όμως, η κατανομή των σακχάρων στο εσωτερικό μιας ράγας. Σήμερα, επικρατεί η αντίληψη ότι οι ράγες ωριμάζουν από το εξωτερικό προς το εσωτερικό. Η σάρκα που βρίσκεται κοντά στο φλοιό έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σάκχαρα και μικρότερη σε οξέα από 'τι εκείνη που βρίσκεται κοντά στα γίγαρτα. Με μεγαλύτερη ακρίβεια η ράγα μπορεί να χωριστεί σε τρεις συγκεντρικές ζώνες, από τις οποίες η εξωτερική ζώνη είναι αρκετά γλυκιά και πολύ λίγο όξινη. Η ενδιάμεση ζώνη είναι περισσότερο ξινή και συνήθως πιο γλυκιά από την εξωτερική. Τέλος η εσωτερική ζώνη, δηλαδή η ζώνη που περιέχει τα γίγαρτα, είναι ακόμα πιο πολύ όξινη σε σχέση με τις άλλες και πολύ λιγότερο γλυκιά.

Η κατανομή αυτή των σακχάρων, και των οξέων αποτελεί σημαντικό τεχνολογικό ενδιαφέρον στη διαμόρφωση της ποιότητας του παραγόμενου οίνου. Πράγματι, ο πρώτος χυμός - που εκρέει κατά την εφαρμογή βαθμιαίας πίεσης των ραγών, προέρχεται από τη ζώνη που βρίσκεται κάτω από τον φλοιό και η οποία είναι πλούσια σε σάκχαρα και φτωχή σε οξέα. Αν συνεχιστεί η πίεση, ο χυμός θα πέφτει θα προέρχεται διαδοχικά από την ενδιάμεση και στη συνέχεια από την εσωτερική ζώνη, με αποτέλεσμα να γίνεται προοδευτικά λιγότερο γλυκός και περισσότερο όξινος.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, θα ήταν δυνατόν να κλιμακωθούν οι πιέσεις της σταφυλόμαζας και να διαχωριστεί ο παραλαμβανόμενος χυμός, με αποτέλεσμα να έχουμε γλεύκη με διαφορετική ποιότητα. Οι παραπάνω σκέψεις βρίσκουν ικανοποιητική εφαρμογή στην πράξη, αυτή την παραγωγή όλων των τύπων οίνου και ιδιαίτερα του Καμπανίτη οίνου, για τον οποίο απαιτείται και ειδικός τύπος πιεστηρίου.

Πέρα από όλους αυτούς τους παράγοντες, η τελική συγκέντρωση των σακχάρων για συγκεκριμένη ποικιλία εξαρτάται από την ένταση της φωτοσύνθεσης κατά τη διάρκεια της

ωρίμανσης, η οποία είναι συνάρτηση της ηλιοφάνειας κατά τους μήνες Ιούλιο έως Σεπτέμβριο. Σε γενικές γραμμές, τα πιο ζεστά κλίματα και για την ίδια περιοχή τα πιο ζεστά καλοκαίρια δίνουν τα πλουσιότερα σε ζάχαρα σταφύλια και τους πιο υψηλόβαθμους σε αλκοόλη οίνους. Οι υπερβολικά υψηλές, όμως, θερμοκρασίες, που συνοδεύονται από μεγάλες ξηρασίες, συχνά οδηγούν σε αντίθετα αποτελέσματα. Στην περίπτωση αυτή, η φωτοσύνθεση σταματά και παρεμποδίζεται η ομαλή ωρίμανση των σταφυλιών. Επιζήμια, εξάλλου, για την ποιότητα των σταφυλιών είναι και η υψηλή εδαφική ατμοσφαιρική υγρασία κατά την περίοδο της ωρίμανσης. | Σελ. 108-112 |

1.5 ΣΑΚΧΑΡΑ ΣΤΟ ΓΛΕΥΚΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

Τα σάκχαρα του γλεύκους διακρίνονται σε αλδόζες με 6 άτομα άνθρακα (γλυκόζη, γαλακτόζη, μανόζη) σε αλδόζες με 5 άτομα άνθρακα (αραβινόζη, ξυλόζη), σε κετόζες με 6 άτομα άνθρακα (φρουκτόζη) και σε κετόζες με 5 άτομα άνθρακα (ξυλουλόζη, ριβουλόζη). Τα σάκχαρα με 6 άτομα άνθρακα μπορούν να ζυμωθούν. **Ανάγοντα σάκχαρα** είναι αυτά που έχουν ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα. Όπως θα δούμε, τα σάκχαρα με αλδεϋδική ή κετονική ομάδα μπορούν να δεσμεύσουν το θειώδη ανυδρίτη. Η γλυκόζη είναι λιγότερο σταθερή από τη φρουκτόζη, γι' αυτό μεταβολίζεται κατά προτίμηση από τις ζύμες. Η σχέση γλυκόζης προς φρουκτόζη στα γλυκά κρασιά είναι πολύ κατώτερη από τη μονάδα. Όταν η σχέση πλησιάζει τη μονάδα, είναι δείγμα προσθήκης σακχαρόζης (νοθεία) ή γλεύκους. Η αραβινόζη και η ξυλόζη είναι σάκχαρα που δεν μπορούν να ζυμωθούν. Είναι δυνατό να αποικοδομηθούν από τα γαλακτικά βακτήρια με αντίστοιχη αύξηση της πτητικής οξύτητας. Στα μη ανάγοντα σάκχαρα ανήκει η σακχαρόζη από την οποία αποτελείται η γνωστή μας ζάχαρη (1,2-α-O-γλυκόζη-1-β-O-φρουκτόζη), η οποία υδρολύεται σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Όταν ολοκληρωθεί η αλκοολική ζύμωση, δεν έχουν μείνει στο κρασί καθόλου εξόζες.

1.5.1 ΖΥΜΩΣΙΜΑ ΣΑΚΧΑΡΑ (ΑΝΑΓΩΓΙΚΑ)

Τα γλεύκη που προέρχονται από ώριμα σταφύλια περιέχουν κυρίως γλυκόζη και φρουκτόζη, σε ίσες περίπου ποσότητες ($G : F = 0.95$). Η αναλογία όμως αυτή μεταβάλλεται κατά την αλκοολική ζύμωση με αποτέλεσμα – στις περισσότερες περιπτώσεις – ανάμεσα στο υπόλειμμα των ζαχάρων να υπερτερεί η φρουκτόζη. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται με

την προτίμηση που εκδηλώνει η πλειοψηφία των ζυμών να ζυμώνει τη γλυκόζη πιο γρήγορα απ' τη φρουκτόζη. Υπάρχουν, όμως, και ορισμένα είδη ζυμών που προσβάλλουν κατεξοχήν τη φρουκτόζη έτσι ώστε –όταν έχει ζυμωθεί το 50% του ζαχάρου– να παραμένει ακόμα σχεδόν ανέπαφη η γλυκόζη.

Εκτός από τα δύο βασικά ζάχαρα, βρέθηκε ότι μέσα στους οίνους υπάρχουν ακόμα και πολύ μικρές ποσότητες D-γαλακτόζης (100mg/L). Σε δόσεις που μπορούν να φθάσουν από 0,3 έως 2g/l. Συναντάμε, επίσης, και διάφορες πεντόζες, στις οποίες κυρίως περιέχεται αραβινόζη. Οι πεντόζες είναι ζάχαρα που παραμένουν αζύμωτα απ' τους ζυμομύκητες, αλλά προσβάλλονται από διάφορα βακτήρια.

Τελευταία, με χρωματογραφικές μεθόδους βρέθηκε ότι στα γλεύκη περιέχεται και σακχαρόζη σε ποσότητες που κυμαίνονται ανάλογα με την ποικιλία της αμπέλου και που φθάνουν στα 2-5 g/l. Το ζάχαρο αυτό από τις πρώτες στιγμές της αλκοολικής ζύμωσης υδρολύεται και μετατρέπεται στα ζυμώσιμα ζάχαρα, γλυκόζη και φρουκτόζη, έτσι ώστε να μην υπάρχει στους οίνους σε ποσότητες που να μπορούν να προσδιορισθούν, εκτός εάν υπάρχει μετέπειτα. Για το λόγο αυτό οποιαδήποτε ύπαρξη σακχαρόζης στους οίνους αποτελεί νοθεία.

Όλα αυτά τα ζάχαρα – που αναφέραμε παραπάνω καθώς και άλλα που περιέχονται σε πολύ μικρές ποσότητες (ίχνη) και χαρακτηρίζονται από ελεύθερες ομάδες αλδεϋδης ή κετόνης – ονομάζονται αναγωγικά ζάχαρα και προσδιορίζονται κάνοντας χρήση της ιδιότητας των ομάδων αυτών να ανάγουν το αλκαλικό διάλυμα του χαλκού (φελίγγειο υγρό).

Ανάλογα με τις περιεκτικότητες των ζαχάρων αυτών που περιέχει ο οίνος, από εμπορικής σκοπιάς χαρακτηρίζεται ως:

Ξηρός (sec), όταν περιέχει αναγωγικά ζάχαρα όχι περισσότερα από 2g/l. Η ελληνική νομοθεσία θέτει ως όριο τα 4g/l.

Ημίξηρος (demi-sec), όταν περιέχει αναγωγικά ζάχαρα από 4,1-12g/l.

Ημίγλυκος (demi-doux), όταν περιέχει αναγωγικά ζάχαρα από 12,1-45 g/l και

Γλυκός (doux), όταν περιέχει ποσότητες αναγωγικών ζαχάρων υψηλότερες από 45g/l.

Σε γενικές γραμμές οι ερυθροί οίνοι είναι πλουσιότεροι σε πεντόζες από τους λευκούς και αυτό σχετίζεται με το γεγονός ότι τα σάκχαρα αυτά περιέχονται σε μεγαλύτερη

αναλογία στους βόστρυχες των σταφυλιών και τους φλοιούς των ραγών παρά στη σάρκα τους. Συνολική συγκέντρωση των πεντοζών μεγαλύτερη από 2 γραμμάρια στο λίτρο δίνει υποψίες για την ανάμειξη με οίνους από άλλα φρούτα (π.χ. μηλίτης οίνος).

Κυρίες ιδιότητες των αναγωγικών σακχάρων

Τα αναγωγικά σάκχαρα χαρακτηρίζονται από τις ακόλουθες βασικές ιδιότητες:

- Ανάγουν το φελίγγειο υγρό: Η αναγωγική αυτή ιδιότητα που συνδέεται με την παρουσία της αλδευδικής ή κετονικής ομάδας που χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό τους .
- Είναι βιολογικά ασταθή: Τα αναγωγικά σάκχαρα προσβάλλονται από τα γαλακτικά βακτήρια με αποτέλεσμα το σχηματισμό του γαλακτικού οξέος και την αύξηση της πτητικής οξύτητας. Ο κίνδυνος αυτός υπαγορεύει η ταχεία ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης των σακχάρων με ισχυρό πληθυσμό ζυμών και την προσπάθεια να αποφευχθεί κάθε διακοπή της ζύμωσης που θα είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της πτητικής οξύτητας. Η παρέμβαση του οινολόγου, σε περίπτωση διακοπής της ζύμωσης, πρέπει να είναι αστραπιαία .
- Δεσμεύουν το θειώδη ανυδρίτη: Η ιδιότητα των αναγόντων σακχάρων να σχηματίζουν ενώσεις με το θειώδη ανυδρίτη είναι πάλι αποτέλεσμα της αλδευδικής ή κετονικής ομάδας αυτών. Ο θειώδης ανυδρίτης που συμμετέχει στις ενώσεις αυτές χάνει τις αντισηπτικές του ιδιότητες.
- Αντιδρούν με τη φαινυλυδραζίνη και δίνουν ουσίες με ιδιαίτερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, όπως το σημείο τήξης, που επιτρέπει την ταυτοποίηση των αντίστοιχων σακχάρων.
- Συμμετέχουν σε αντιδράσεις μεθυλίωσης και ακετυλίωσης δίνοντας παράγωγα πτητικά που δύνανται να προσδιοριστούν με αέρια-χρωματογραφία.

(Σουφλερός, ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ Επιστήμη & Τεχνογνωσία)

1.5.2. ΜΗ ΖΥΜΩΣΙΜΑ ΣΑΚΧΑΡΑ (ΜΗ ΑΝΑΓΩΓΙΚΑ)

➤ Σακχαρόζη

Η σακχαρόζη είναι ένας δισακχαρίτης μη αναγωγικός, αποτελούμενος από ένα μόριο γλυκόζης και ένα μόριο φρουκτόζης.

Παράγεται κατά τη φωτοσύνθεση της φυλλικής επιφάνειας των φυτών της αμπέλου και περιέχεται στα σταφύλια σε ποσότητες που κυμαίνονται από 2 μέχρι 5 γραμμάρια στο λίτρο.

Η σακχαρόζη με τη μορφή του δισακχαρίτη δεν είναι ζυμώσιμη. Κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, υδρολύεται, με τη βοήθεια του ενζύμου ιμπερτάση, σε D-γλυκόζη και D-φρουκτόζη. Αποτέλεσμα της διαδικασίας αυτής είναι να μην περιέχεται τους οίνους σακχαρόζη σε ποσότητες ικανές να προσδιοριστούν παρά μόνο αν έχει προστεθεί μεταγενέστερα οπότε και αποτελεί νοθεία. Στο σταφύλι, εκτός από τη σακχαρόζη, περιέχονται επίσης και άλλα δύο μη αναγωγικά και μη ζυμώσιμα σάκχαρα:

- Η σταχυόζη, που αποτελείται από δύο μόρια γαλακτόζης και ένα μόριο σακχαρόζης.
- Η ραφινόζη, που αποτελείται από ένα μόριο γαλακτόζης και ένα μόριο σακχαρόζης.

Τα σάκχαρα αυτά υδρολύονται κατά την αλκοολική ζύμωση στους μονοσακχαρίτες τους, οι οποίοι είναι σάκχαρα ζυμώσιμα.

Εκτός από τα μέχρι τώρα αναφερόμενα, ορισμένοι ερευνητές παρατηρούν ότι στα σταφύλια περιέχονται σε ίχνη και άλλα σάκχαρα, όπως:

- Η επτόζη και η οκτόζη, που αποτελείται από 7 και 8 άνθρακες αντίστοιχα.
- Η μελιβιόζη, που αποτελείται από ένα μόριο γλυκόζης και ένα μόριο γαλακτόζης.
- Η λακτόζη, που αποτελείται επίσης από ένα μόριο γλυκόζης και ένα μόριο γαλακτόζης.
- Η μαλτόζη, που αποτελείται επίσης από ένα μόριο γλυκόζης και ένα μόριο γαλακτόζης.

Τα σάκχαρα αυτά, λόγω της ελάχιστης περιεκτικότητάς τους, δεν παρουσιάζουν

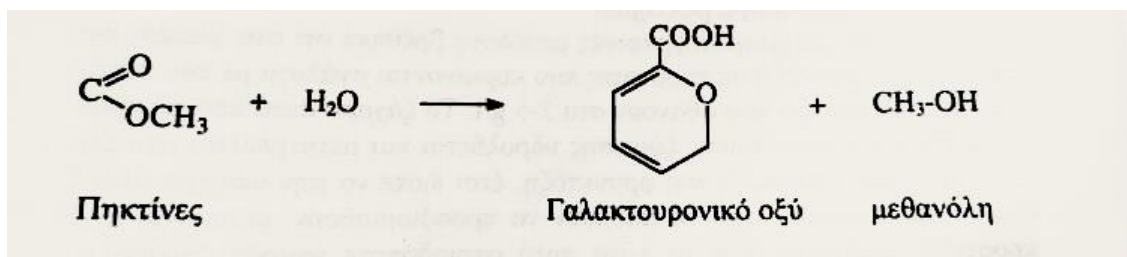
κανένα τεχνολογικό ενδιαφέρον για τους οίνους, αλλά συχνά χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση και ταξινόμηση ορισμένων ζυμών.

Οι προτεινόμενες απ' το Διεθνές γραφείο Αμπέλου και Οίνου (O.I.V.) μέθοδοι ανάλυσης είναι πολυάριθμοι, αλλά καμία δεν δίνει αποτελέσματα με απόλυτη ακρίβεια. Για το λόγο αυτό απαιτείται μεγάλη σχολαστικότητα στην τήρηση των συνθηκών οξειδοαναγωγής.

Δυο παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται, επίσης υπόψη είναι:

- 1) Η διαύγαση των οίνων. Έχει ως σκοπό να αφαιρέσει τις χρωστικές και τανινοειδείς ουσίες, που έχουν τις ίδιες αναγωγικές ιδιότητες με τα ζάχαρα, χωρίς ωστόσο να αφαιρεί αυτά τα τελευταία, και
- 2) Η περιεκτικότητα των οίνων σε γαλακτουρονικό οξύ.

Το οξύ αυτό προέρχεται από την υδρόλυση των πηκτινών, όπως φαίνεται στο ακόλουθο σχήμα και περιέχεται σε μικρές ποσότητες στους λευκούς οίνους (0,2-0,4g/L), αλλά ανέρχεται σε 1g/L στους ερυθρούς και μέχρι 2 g/L στους οίνους που προέρχονται από σταφύλια προσβεβλημένα από σήψη. Το γαλακτουρονικό οξύ, επειδή διαθέτει ελεύθερη αλδεϋδική ομάδα όπως και τα ζάχαρα, υπολογίζεται μαζί μ' αυτά με αποτέλεσμα να αλλοιώνει τα αποτελέσματα. Η αφαίρεση του οξέος αυτού με τη χρήση ανταλλακτικών ρητινών είναι δυνατή χωρίς καμία κατακράτηση ζαχάρων.



Σκοπός του υπολογισμού των ζαχάρων

Εκτός από την εμπορική σκοπιμότητα, την οποία έχει ο προσδιορισμός των ζαχάρων για την ταξινόμηση των οίνων σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σ' αυτά, παρουσιάζει και τεχνολογικό ενδιαφέρον.

Είναι γνωστό ότι εάν παραμείνουν αζύμωτα ζάχαρα σ' έναν οίνο, υπάρχει κίνδυνος ακόμα και μετά την εμφιάλωση του να συμβεί μια δευτερεύουσα ζύμωση. Το αποτέλεσμα της ζύμωσης αυτής είναι να καταστήσει τη φιάλη αυτή του οίνου ακατάλληλη προς πώληση, σύμφωνα με την οινική νομοθεσία, και να προβεί ο παραγωγός της σ' επιπλέον έξοδα για τη συγκέντρωση όλων αυτών των φιαλών που παρουσιάζουν το ίδιο μειονέκτημα, με σκοπό την κατάλληλη επεξεργασία.

Η γνώση της περιεκτικότητας των ζαχάρων “εκ των προτέρων” θα οδηγούσε τον παραγωγό στη λήψη των κατάλληλων μέτρων, ώστε να αποφύγει όλη αυτή την ιστορία και ταυτόχρονα τη δυσφήμιση.

Η ευαισθησία επίσης των οίνων, που περιέχουν ζάχαρα, στις βακτηριολογικές προσβολές είναι ανάλογη με την περιεκτικότητά τους σ' αυτά. Για το λόγο αυτό πρέπει κατά περίπτωση να παίρνουμε τα αντίστοιχα μέτρα.

Διαύγαση ή αποχρωματισμός του οίνου

Η διαύγαση του οίνου είναι απαραίτητη για τον προσδιορισμό των σακχάρων σε αυτόν και πραγματοποιείται:

- Για τους ερυθρούς οίνους, με βασικό οξικό μόλυβδο.
- Για τους λευκούς και γενικά για τα ελαφριά χρωματισμένα οινικά προϊόντα, με σιδηροκυανιούχο ψευδάργυρο.

1.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΑΚΧΑΡΩΝ

Υπάρχουν μέθοδοι που μπορούν να προσδιορίσουν συνολικά τα σάκχαρα σε ένα δείγμα και μέθοδοι ικανοί να προσδιορίσουν ειδικά τα ανάγοντα σάκχαρα.

Ο προσδιορισμός των ολικών σακχάρων του γλεύκους είναι ιδιαίτερα σημαντικός στην οινοποίηση, καθώς αποτελεί δείκτη εξέλιξης της ζύμωσης. Τα ολικά σάκχαρα μπορούν εύκολα να προσδιοριστούν με τη μέθοδο του ειδικού βάρους (αραιόμετρο, μπουμόμετρο) είτε με τη βοήθεια σακχαροδιαθλασιμέτρου. (<https://slideplayer.gr/slide/13291662/>)

Προσδιορίζοντας τα ανάγοντα σάκχαρα (γλυκόζη και φρουκτόζη) έχουμε μια σαφή εικόνα των ζυμώσιμων σακχάρων.

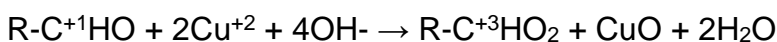
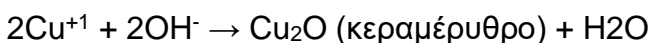
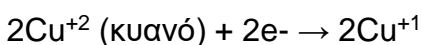
(https://fabe.gr/images/stories/ERGASTHRIO/ea_002.pdf)

Για τον προσδιορισμό των αναγόντων σακχάρων, που είναι και αντικείμενο της παρούσας εργασίας, ακολουθούνται διάφοροι μέθοδοι, που παρατίθενται ακολούθως. Σε πολλές από αυτές, χρησιμοποιούνται διαλύματα χαλκού.

1.6.1 ΜΕΘΟΔΟΣ LANE & EYNON

Οξειδοαναγωγική μέθοδος προσδιορισμού των αναγόντων σακχάρων στην οποία χρησιμοποιείται ειδικό αντιδραστήριο (διάλυμα Soxhlet) που είναι μίγμα ίσων όγκων: από το διάλυμα Fehling A, το οποίο είναι ένυδρος θειικός χαλκός και το διάλυμα Fehling B, το οποίο είναι τρυγικό καλιονάτριο με καυστικό καλιονάτριο. Η μέθοδος περιλαμβάνει την αντίδραση των αναγόντων σακχάρων που υπάρχουν στο δείγμα με περίσσεια αλκαλικού δ/τος χαλκού (Cu^{+2}). Η ποσότητα του Cu^{+2} που απομένει μετά την αντίδραση ανάγεται από δ/μα ιωδίου ($2\text{Cu}^{+2} + 2\text{I}^- \rightarrow 2\text{Cu}^+ + \text{I}_2$), και το ιώδιο που παράγεται τιτλοδοτείται με διάλυμα θειοθειικού νατρίου. ($\text{I}_2 + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow 2\text{I}^- + \text{S}_4\text{O}_6^{2-}$).

Οι χημικές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται:

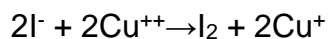


https://www.researchgate.net/profile/Celia-Koutrafour/publication/276057585_Food_Chemistry/links/554f3cb008ae739bdb8fd507/Food-Chemistry.pdf

1.6.2 ΜΕΘΟΔΟΣ LUFF-SCHOORL

Είναι μέθοδος για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των αναγόντων σακχάρων σε ένα δείγμα. Βασίζεται, όπως και η Lane-Eynon, στην αναγωγή των ιόντων χαλκού(II) από τα σάκχαρα και ογκομέτρηση με θειοθειικό νάτριο. Γνωστή ποσότητα οίνου αντιδρά με γνωστή ποσότητα αλκαλικού διαλύματος χαλκού. Η περίσσεια των ιόντων

Cu⁺⁺ που δεν αντέδρασαν με τα σάκχαρα προσδιορίζονται ιωδομετρικά. Μετατρέπονται σε ιόντα Cu⁺ με προσθήκη KI το οποίο σε όξινο περιβάλλον δίνει I₂:



Το σχηματιζόμενο I₂ προσδιορίζεται με τιτλοδοτημένο διάλυμα θειοθειϊκού νατρίου σύμφωνα με την αντίδραση: $I_2 + 2S_2O_3^{2-} \rightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$.

Το τέλος της αντίδρασης προσδιορίζεται με δείκτη αμύλου. Το άμυλο με το I₂ δίνει ένα σύμπλοκο κυανού χρώματος το οποίο αποχρωματίζεται στο σημείο αλλαγής. Ο δείκτης προστίθεται όταν το μεγαλύτερο ποσοστό του I₂ έχει αναχθεί για να είναι πιο σαφής η αλλαγή του χρώματος.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την ανάλυση ενός οίνου είναι να έχει προηγηθεί διαύγαση. Η διαύγαση γίνεται για την απομάκρυνση των ουσιών που έχουν αναγωγική δράση και επηρεάζουν τη μέτρηση όπως χρωστικές, ταννίνες κ.ά.

Κοτσερίδης, σημειώσεις...

Dekker, K. D., The Luff-Schoorl method for determination of reducing sugar in juices, molasses and sugar, South African Sugar Journal 1950 Vol.34 pp.157-71

1.6.3 ΜΕΘΟΔΟΣ REBELEIN

Η μέθοδος αυτή συνήθως χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των αναγόντων σακχάρων σε οίνους και περιλαμβάνει, όπως και στην μέθοδο Lane-Eynon, αντίδραση με δισθενή χαλκό (Cu²⁺) σε αλκαλικές συνθήκες. Τα σάκχαρα οξειδώνονται καθώς ανάγουν τον χαλκό από Cu²⁺ σε Cu⁺. Ο χαλκός είναι σε περίσσεια και μετά την αντίδραση με τα σάκχαρα, το υπόλοιπο ποσό του Cu²⁺ αντιδρά με ιόντα ιωδίου και ακολουθεί ογκομέτρηση με θειοθειϊκό νάτριο (Rebelein 1971).

1.6.4. ΜΕΘΟΔΟΣ FEHLING

Ο χημικός προσδιορισμός των σακχάρων με την μέθοδο Fehling, στηρίζεται στην ιδιότητά τους να ανάγουν το φελίγγειο υγρό καθώς τα ίδια οξειδώνονται. Το φελίγγειο υγρό αποτελείται από δυο διαλύματα το Fehling A, που είναι υδατικό διάλυμα CuSO₄ και το Fehling B, που είναι αλκαλικό διάλυμα τρυγικού καλιονατρίου. Κατά την ανάμιξη των δύο παραπάνω διαλυμάτων σχηματίζονται σύμπλοκα που παραμένουν διαλυμένα στο

αλκαλικό περιβάλλον που απαιτείται για την οξειδωση των σακχάρων. Οι αλδεϋδομάδες αντιδρούν με το αντιδραστήριο Fehling και καταβυθίζεται Cu_2O ως κεραμέρυθρο ίζημα. Τα σάκχαρα θερμαίνονται με το φελίγγειο υγρό, οπότε ο δισθενής χαλκός μετατρέπεται σε μονοσθενή. Αρχικά σχηματίζεται το κιτρινωπό αδιάλυτο CuOH , το οποίο με την αποβολή του νερού μεταπίπτει γρήγορα στο κεραμέρυθρο υποξειδίο του χαλκού.

Το γλεύκος περιέχει και άλλες ουσίες που ανάγουν το φελίγγειο υγρό όπως οι δεσικές και οι χρωστικές οι οποίες πρέπει να απομακρυνθούν για τον διαχωρισμό των σακχάρων. Για αυτό χρησιμοποιείται ο οξικός μόλυβδος που σχηματίζει ογκώδες ίζημα με τις ουσίες αυτές. Το τέλος της αντίδρασης ελέγχεται με την προσθήκη του δείκτη κυανού του μεθυλενίου, ο οποίος σε αλκαλικό περιβάλλον ανάγεται στην αντίστοιχη λευκοένωση. Η αναγωγή αυτή δεν είναι σταθερή, γιατί το οξυγόνο της ατμόσφαιρας επανοξειδώνει το κυανού του μεθυλενίου με αποτέλεσμα το χρώμα του διαλύματος να γίνεται πάλι μπλε.

(Fehling, H, 1858)

1.6.5 ΜΕΘΟΔΟΣ BENEDICT

Είναι παρόμοια μέθοδος με τη Fehling αλλά περιέχει κιτρικά ιόντα αντί για τρυγικά ιόντα (Simonietal, 2002).

1.6.6 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΑΓΓΑΝΙΟΜΕΤΡΙΚΗ (ΜΕΘΟΔΟΣ G. BETRAND)

Η ποσότητα του χαλκού που καθιζάνει με μορφή διοξειδίου κατά την επίδραση περίσσειας αλκαλικού διαλύματος χαλκού πάνω στον αποχρωματισμένο οίνο, διαλύεται με θετικό σίδηρο (FeII), και ακολουθεί ογκομέτρηση των σχηματισθέντων θειικών αλάτων του σιδήρου (FeII) με υπερμαγγανικό κάλιο.

(<http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/cyp41052-2.pdf>)

1.6.7 ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ (HPLC)

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό σακχάρων σε γλεύκος και οίνους, συγκέντρωσης έως 20g/L, και παραπάνω έπειτα από κατάλληλη αραίωση. Με τον ίδιο τρόπο μπορούν να προσδιοριστούν η γλυκερόλη (από 0,5 έως 15g/L) και η σακχαρόζη (από 1 έως 40g/L). Τα σάκχαρα μπορούν να διαχωριστούν με

χρήση στήλης αλκυλαμίνης και με ανιχνευτή δείκτη διάθλασης (Method OIV-MA-AS311-03 Typellmethod 1).

1.6.8 ΜΕΘΟΔΟΣ NELSON-SOMOGYI

Αποτελεί μία γρήγορη φασματοφωτομετρική μέθοδο, η οποία βασίζεται στην απορρόφηση στα 520nm ενός έγχρωμου αρσενομολυβδαινικού συμπλόκου που σχηματίζεται έπειτα από την οξειδωση των σακχάρων με αναγωγή χαλκού (Somogyi, 1952).

1.6.9 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΙΒΑΔΑΣ

Με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας μπορεί να επιτευχθεί γρήγορος ποιοτικός προσδιορισμός γλυκόζης, φρουκτόζης, σακχαρόζης, μαλτόζης, ραφινόζης με χρήση κατάλληλου συστήματος διαλυτών, όπως ακετονιτρίλιο/νερό σε αναλογία 85/15, όπου στο νερό έχει προστεθεί και ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών σε pH 5.5-6.5, καθώς και 1-10% μεθανόλη για την αύξηση του Rf. Η εμφάνιση των κηλίδων στο χρωματογράφημα μπορεί να γίνει με μίγμα διφαινυλαμίνης και ανιλίνης σε μεθανόλη (Pukl, M. and Prošek, M., 1990).

1.6.10 ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΤΟΥ ΒΕΡΟΛΙΝΟΥ

Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τον προσδιορισμό των αναγόντων σακχάρων εκφρασμένων σε ιμπερτοσάκχαρο στην ημίλευκη ζάχαρη. Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή ενός διαλύματος χαλκού με ένα διάλυμα αναγόντων σακχάρων. Το οξείδιο του χαλκού που σχηματίζεται οξειδώνεται με διάλυμα ιωδίου του οποίου η περίσσεια προσδιορίζεται με επανογκομέτρηση με τιτλοδοτημένο διάλυμα θειοθειϊκού νατρίου. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται για να εφαρμοστεί η μέθοδος είναι το διάλυμα χαλκού και διάλυμα οξικού οξέος.

<http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/cyp41052-2.pdf>

1.6.11 ΜΕΘΟΔΟΣ KNIGHT&ALLEN

Η μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε ιμπερτοσάκχαροτης ζάχαρης ή της λευκής ζάχαρης της υπέρλευκης ζάχαρης

Αντιδραστήριο με χαλκό (II) προστίθεται σε περίσσεια στο διάλυμα για ανάλυση με αποτέλεσμα την αναγωγή του χαλκού. Η ποσότητα που δεν επανογκομετρείται με την βοήθεια διαλύματος EDTA.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/HTML/?uri=CELEX:31979L0796&from=ES>

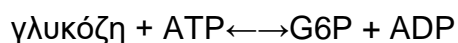
1.6.12 ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΔΙΝΙΤΡΟΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΤΡΗΣΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Η μέτρηση αναγωγικών σακχάρων πραγματοποιείται με τη φωτομετρική μέθοδο του δινιτροσαλικυλικού οξέος(DNS). Ως αναγωγικό σάκχαρο ορίζεται το σάκχαρο εκείνο που έχει ελεύθερο το ημιακεταλικό υδροξύλιο. Η μέθοδος βασίζεται στο σχηματισμό συμπλόκου ανάμεσα στο προαναφερθέν υδροξύλιο και το δινιτροσαλικυλικό οξύ κατά τη θέρμανση σε θερμοκρασία πάνω από τους 70 °C. Το σύμπλοκο αυτό, εμφανίζει μέγιστο απορρόφησης στα 540 nm. Η γλυκόζη είναι αναγωγικό σάκχαρο και κατά συνέπεια είναι δυνατό να μετρηθεί με τη μέθοδο αυτή.

1.6.13 ΕΝΖΥΜΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

Η γλυκόζη και η φρουκτόζη μπορούν να προσδιοριστούν ποσοτικά με ενζυμική μέθοδο, χωριστά, με σκοπό μόνο τον υπολογισμό του λόγου γλυκόζη/φρουκτόζη.

Η γλυκόζη και η φρουκτόζη φωσφορυλιώνονται με αδενοσινωτριφωσφορικό οξύ (ATP) κατά τη διάρκεια ενζυμικής αντίδρασης που καταλύεται από την εξοκινάση (HK), παρέχοντας 6-φωσφογλυκόζη (G6P) και 6-φωσφοφρουκτόζη (F6P):

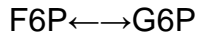


Στο πρώτο στάδιο, η 6-φωσφογλυκόζη οξειδώνεται προς 6-φωσφογλυκονικό οξύ από το φωσφορικό νικοτιναμιδοαδενινο-δινουκλεοτίδιο (NADP) παρουσία του ενζύμου αφυδρογονάση της 6-φωσφογλυκόζης (G6PDH). Η παραγόμενη ποσότητα ανηγμένου φωσφορικού νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτιδίου (NADPH) αντιστοιχεί στην ποσότητα της 6-φωσφογλυκόζης και, συνεπώς, στην ποσότητα της γλυκόζης.



Το ανηγμένο φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο προσδιορίζεται ποσοτικά με μέτρηση της απορρόφησής του σε μήκος κύματος 340 nm.

Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης αυτής, η 6-φωσφοφρουκτόζη μετατρέπεται σε 6-φωσφογλυκόζη υπό την επίδραση της ισομεράσης της φωσφογλυκόζης (PGI):



Η 6-φωσφογλυκόζη αντιδρά πάλι με το φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο προς σχηματισμό 6-φωσφογλυκονικού οξέος και ανηγμένου φωσφορικού νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτιδίου, το οποίο και προσδιορίζεται ποσοτικά.

(OIV, Vol 1, 2006, MA-E-AS311-02-GLUFRU5, p4)

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010R0118&from=EN>

Γενικά, τα τελευταία χρόνια, ο προσδιορισμός των σακχάρων σε δείγματα οίνου αναφέρεται κυρίως στον προσδιορισμό της γλυκόζης/φρουκτόζης, η οποία γίνεται με ακρίβεια κυρίως με ενζυματικές μεθόδους και μεθόδους HPLC (Wilkes, 2016). Οι παλαιότερες μέθοδοι που στηρίζονται στην αντίδραση των αναγόντων σακχάρων με ιόντα χαλκού, έχουν το μειονέκτημα ότι δεν είναι υψηλής ακριβείας, δεν είναι εκλεκτικές για τον προσδιορισμό γλυκόζης και φρουκτόζης, αλλά μπορούν να προσδιορίσουν και πεντόζες, με αποτέλεσμα την εξαγωγή ψευδώς υψηλότερων τιμών.

ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να χρησιμοποιηθούν σε δείγματα οίνου συγκεκριμένες μέθοδοι προσδιορισμού των αναγόντων σακχάρων, οι οποίες βασίζονται σε κλασικές μεθόδους ανάλυσης, καθώς χρησιμοποιούνται ευρέως στο πλαίσιο των προπτυχιακών σπουδών του Τμήματός μας και να γίνει σύγκριση μεταξύ τους, προκειμένου να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα κάθε μεθόδου.

Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα οίνου από εμπορικά διαθέσιμο λευκό ξηρό οίνο, ημίγλυκο οίνο και γλυκό οίνο. Οι μέθοδοι προσδιορισμού των αναγόντων σακχάρων που επιλέχθηκαν είναι μέθοδοι που ήταν διαθέσιμοι στο εργαστήριο του Τμήματος: η μέθοδος Luff, η μέθοδος Rebelein και η μέθοδος Lane-Eynon, όλες κλασικές μέθοδοι που στηρίζονται στην αντίδραση των αναγόντων σακχάρων με ιόντα χαλκού. Ειδικά για την μέθοδο Luff, πραγματοποιήθηκε με δύο διαφορετικούς τρόπους, οι οποίοι διέφεραν ως προς τον τρόπο διαύγασης του οίνου.

2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ LUFF

Αντιδραστήρια:

- Λεπτόκοκκος ενεργός άνθρακας
- PVPP (πολυβινυλπολυπυρρολιδόνη)
- διάλυμα σιδηροκυανιούχου καλίου 10%
- διάλυμα θειικού ψευδαργύρου 10%
- αλκαλικό διάλυμα χαλκού
- πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0.1M
- ιωδιούχου καλίου 30% και 25ml θειικού οξέος 25%
- δείκτης αμύλου

Υλικά – Όργανα:

- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 250mL
- Φιάλες βρασμού
- Προχοίδα
- Κωνική φιάλη 250ml με εσμύρισμα
- Πιπέτες
- Κάθετος ψυκτήρας
- Θερμαντικός μανδύας
- Χωνιά υάλου
- Ποτήρια ζέσεως
- Πτυχωτός ηθμός από διηθητικό χαρτί

Πειραματική Πορεία

Σε σφαιρική φιάλη 300mL με εσμύρισμα, φέρονται 25mL αλκαλικού διαλύματος χαλκού, x mL διαυγασμένου οίνου και 25-x mL ύδατος σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα: (Πίνακας 2.1). Η ποσότητα αυτή δεν πρέπει να περιέχει περισσότερο από 60mg ιμβερτοσάκχαρου.

Πίνακας 2.1 Πίνακας εύρεσης του συντελεστή διαίρεσης, ανάλογα την ποσότητα οίνου που χρησιμοποιείται, το ποσό σακχάρων και την αραίωση που έχει γίνει

Ποσότητα οίνου Αραιώσεις	Σάκχαρα	Συντελεστής διαίρεσης
25 mL	<2g/L	25
20 mL	<3 g/L	20
10 mL	<6 g/L	10
5 mL	<12 g/L	5
20 mL → 200 mL ↓ 20 mL	<30 g/L	2
10 mL → 200 mL ↓ 20 mL	<60 g/L	1
10 mL → 200 mL ↓ 10 mL	<120 g/L	0,5
10 mL → 200 mL ↓ 5 mL	<240 g/L	0,25

Προστίθεται μερικά τεμάχια ελαφρόπετρας. Η φιάλη προσαρμόζεται σε κάθετο ψυκτήρα και φέρεται σε βρασμό που πρέπει να επιτευχθεί μέσα σε δύο λεπτά. Ο βρασμός διατηρείται για 10 λεπτά ακριβώς. Ακολουθεί άμεση και ταχεία ψύξη με τρεχούμενο νερό και προστίθενται 10 mL διαλύματος ιωδιούχου καλίου 30% και 25mL θειικού οξέος 25% (προσεκτικά και αργά, γιατί αφρίζει). Ακολουθεί ογκομέτρηση με πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0.1M. Όταν το καφέ χρώμα του I_2 έχει εξασθενήσει αρκετά προστίθενται 2mL δείκτη αμύλου και συνεχίζεται η ογκομέτρηση μέχρι τέλους. Το τελικό σημείο της ογκομέτρησης προσδιορίζεται με την αλλαγή του χρώματος σε λευκό. Έστω n τα ml που καταναλώθηκαν.

Παράλληλα, γίνεται προσδιορισμός δείγματος μάρτυρα για να βρεθεί η ολική οξειδωτική ικανότητα των 25 mL του διαλύματος H_2SO_4 . Στο δείγμα αυτό, αντί για διαυγασμένο οίνο, χρησιμοποιούνται 25mL ύδατος και ακολουθείτε η παραπάνω διαδικασία. έστω n' τα mL θειοθειικού νατρίου που καταναλώθηκαν.

Διαύγαση Οίνου

Για τον προσδιορισμό των αναγόντων σακχάρων με την μέθοδο Luff, θα πρέπει πρώτα να γίνει διαύγαση του οίνου. Η διαύγαση γίνεται για την απομάκρυνση των ουσιών που έχουν αναγωγική δράση και επηρεάζουν την μέτρηση, όπως χρωστικές, ταννίνες, κ.ά.

Στη παρούσα εργασία, δοκιμάστηκαν δύο τρόποι διαύγασης του οίνου:

1. Με ενεργό άνθρακα και PVPP (συμβολίζουμε ως **Luff-1**)
2. Με σιδηροκυανιούχο κάλιο και θειικό ψευδάργυρο(συμβολίζουμε ως **Luff-2**)

1^{ος} ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΥΓΑΣΗΣ ΟΙΝΟΥ (Luff-1)

Ετοιμάζονται τρεις ογκομετρικοί κύλινδροι των 250mL και τοποθετείται στο πάνω μέρος τους γυάλινο χωνί με ηθμό. Στον πρώτο ηθμό προστίθεται μία κουταλιά ενεργός άνθρακας, στον δεύτερο και τρίτο ηθμό προστίθεται από μία κουταλιά PVPP. Έπειτα, δείγμα του οίνου προστίθεται στον πρώτο κύλινδρο με τον ενεργό άνθρακα και έπειτα το

διαυγές διηθημένο δείγμα μεταγγίζεται στον δεύτερο και έπειτα, κατά τον ίδιο τρόπο, στον τρίτο κύλινδρο με τη σειρά. Έπειτα από την τρίτη διήθηση, λαμβάνεται δείγμα του διαυγασμένου οίνου για τον προσδιορισμό, όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

2^{ος} ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΥΓΑΣΗΣ ΟΙΝΟΥ(Luff-2)

Λαμβάνονται 50mL δείγματος οίνου, στη συνέχεια τοποθετείται σε ογκομετρική φιάλη των 100mL και προστίθεται σε αυτή 1mL διαλύματος σιδηροκυανιούχου καλίου 10% και 1ml θειικού ψευδαργύρου 10%. Αραιώνεται μέχρι τα 100 mL με απιονισμένο νερό και ακολουθεί διήθηση του δείγματος σε ογκομετρικό κύλινδρο με την βοήθεια ηθμού. Το διήθημα αποτελεί τον διαυγασμένο οίνο, ποσότητα του οποίο λαμβάνεται για τον προσδιορισμό, όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Έκφραση των αποτελεσμάτων:

Η ποσότητα του σακχάρου που περιέχεται στον όγκο του σακχαρούχου διηθήματος που χρησιμοποιήθηκε για ανάλυση, βρίσκεται από τον Πίνακα 2, ο οποίος δίνει την ποσότητα του σακχάρου, εκφρασμένη σε ιμβερτοσάκχαρο, σε συνάρτηση με τα καταναλωθέντα mL ($n'-n$) θειοθειικού νάτριου. Το αποτέλεσμα του πίνακα διαιρείται με τον συντελεστή διαίρεσης που αναγράφεται στον Πίνακα1. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε γραμμάρια ιμβερτοσάκχαρου ανά λίτρο οίνου με προσέγγιση ενός δεκαδικού ψηφίου.

π.χ.: Έστω χρησιμοποιήθηκαν 20mL δείγματος και καταναλώθηκαν για το τυφλό $n'= 25$ mL και το δείγμα $n=12.2$ mL, οπότε προκύπτει : $n'-n=25-12.2=12.8$ από τον ακόλουθο πίνακα βρέθηκε ότι το 12,8 αντιστοιχεί σε 32,46mg αναγόντων σακχάρων. Διαιρώντας με τον συντελεστή που αντιστοιχεί στα 20mL διαυγούς διηθήματος δηλαδή $32.46/20=1.62$ g ανάγοντα σάκχαρα/L οίνου.

Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε γραμμάρια ιμβερτοσάκχαρου ανά λίτρο οίνου με προσέγγιση ενός δεκαδικού ψηφίου.

Πίνακας 2.2. Πίνακας μετατροπής των καταναλωθέντων mL Na₂S₂O₃ 0,1 N (n' - n) σε ανάγοντα σάκχαρα (mg)

Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N(ml)		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
0	0	0,24	0,48	0,72	0,96	1,20	1,44	1,68	1,92	2,16
1	2,40	2,64	2,88	3,12	3,36	3,60	3,84	4,08	4,32	4,56
2	4,80	5,05	5,30	5,55	5,80	6,05	6,30	6,55	6,80	7,05
3	7,20	7,45	7,70	7,95	8,20	8,45	8,70	8,95	9,20	9,45
4	9,70	9,95	10,20	10,45	10,70	10,95	11,20	11,45	11,70	11,95
5	12,20	12,45	12,70	12,95	13,20	13,45	13,70	13,95	14,20	14,45
6	14,70	14,95	15,20	15,45	15,70	15,95	16,20	16,45	16,70	16,95
7	17,20	17,46	17,72	17,98	18,24	18,50	18,76	19,02	19,28	19,54
8	19,80	20,06	20,32	20,58	20,84	21,10	21,36	21,62	21,88	22,14
9	22,40	22,66	22,92	23,18	23,44	23,70	23,96	24,22	24,48	24,74
10	25,00	25,26	25,52	25,78	26,04	26,30	26,56	26,82	27,08	27,34
11	27,60	27,87	28,14	28,41	28,68	28,95	29,22	29,49	29,76	30,03
12	30,80	30,57	30,84	31,11	31,38	31,65	31,92	32,19	32,46	32,73
13	33,00	33,27	33,54	33,81	34,08	34,35	34,62	34,98	35,16	35,43
14	35,70	35,98	36,26	36,54	36,82	37,10	37,38	37,66	37,94	38,22
15	38,50	38,78	39,06	39,34	39,62	39,90	40,18	40,46	40,74	41,02
16	41,80	41,59	41,88	42,17	42,46	42,75	43,04	43,33	43,62	43,91
17	44,20	44,49	44,78	46,07	45,36	45,65	45,94	46,23	46,52	46,81
18	47,10	47,39	47,68	47,97	48,26	48,55	48,84	49,13	49,42	49,71
19	50,00	50,30	50,60	50,90	51,20	51,50	51,80	52,10	52,40	52,70
20	53,00	53,30	53,60	53,90	54,20	54,50	54,80	55,10	55,40	55,70
21	56,00	56,31	56,62	56,93	57,24	57,55	57,86	58,17	58,48	58,79
22	59,10	59,41	59,72	60,03	60,34	60,65	60,95	61,27	61,58	61,89
23	62,20	62,52	62,84	63,15	63,46	63,77	64,09	64,39	64,40	64,70
24	65,00	65,30	65,60							67,50
25	67,5									70,00

2.2. ΜΕΘΟΔΟΣ REBELEIN

Προσδιορισμός αναγόντων σακχάρων με Τιτλοδότηση

Αντιδραστήρια:

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (πενταένυδρος θειϊκός χαλκός)
- $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ (τρυγικό καλιονάτριο)
- NaOH (υδροξείδιο του νατρίου)
- KI (ιωδιούχο κάλιο)
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (θειοθειϊκό νάτριο)

Σκεύη - Όργανα:

- Ογκομετρικοί κύλινδροι 1L
- Σιφώνια 5mL, 10mL, 2mL
- Πιπέτες
- Ογκομετρικές φιάλες 1L
- Πλαστικά μπουκάλια 1,5L
- Προχοΐδα
- Ποτήρια ζέσεως
- Γυάλινη ράβδος
- Πέτρες βρασμού
- Μαγνητάκια ανάδευσης
- Θερμαντική πλάκα

Διαλύματα Rebelein

Διάλυμα Z1: 1.0 mL πυκνού θειϊκού οξέος προστίθεται σε 600 mL αποσταγμένο νερό και αναμιγνύεται καλά. Ζυγίζονται με ακρίβεια 41,92g ένυδρου θειϊκού χαλκού $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, τα οποία σε μικρή ποσότητα του παραπάνω όξινου διαλύματος. Μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη του 1,0L, χρησιμοποιώντας το υπόλοιπο όξινο διάλυμα. Συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι την χαραγή με αποσταγμένο νερό. Το διάλυμα ανακινείται

καλά.

Διάλυμα Z2: Ζυγίζονται με ακρίβεια 250g τρυγικό καλιονάτριο και διαλύονται σε περίπου 600 mL αποσταγμένο νερό. Με ιδιαίτερη προσοχή προστίθενται 80g NaOH (εκλύεται θερμότητα!). Το μίγμα αφήνεται να κρυώσει και έπειτα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη του 1.0L. Συμπληρώνεται με αποσταγμένο νερό έως την χαραγή και ανακινείται καλά. Το διάλυμα αποθηκεύεται σε πλαστικό μπουκάλι.

Διάλυμα Z3: Προστίθενται με προσοχή 100 mL διαλύματος NaOH 1M σε περίπου 600 mL αποσταγμένο νερό ώστε να αναμειχθούν καλά. Ζυγίζονται με ακρίβεια 300g ιωδιούχο κάλιο. Το ιωδιούχο κάλιο διαλύεται σε ένα μέρος του αλκαλικού διαλύματος, μεταφέρεται ποσοτικά σε μία ογκομετρική φιάλη του 1.0L. Συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι την χαραγή με αποσταγμένο νερό, αναμιγνύεται καλά και αποθηκεύεται σε πλαστικό δοχείο.

Διάλυμα Z4: Αργά και με προσοχή προσθέτονται 175 mL συμπυκνωμένο θειικό οξύ σε περίπου 825 mL κρύο αποσταγμένο νερό. (Προσοχή: αναπτύσσεται θερμότητα!). Το διάλυμα αναμιγνύεται καλά και αφήνεται να κρυώσει. Αποθηκεύεται σε αεροστεγές γυάλινο δοχείο.

Διάλυμα Z5: Ζυγίζονται με ακρίβεια 20g ιωδιούχο κάλιο και 10g άμυλο σε ξεχωριστά ποτήρια ζέσεως. Προστίθενται 10mL από 1M υδροξειδίου του νατρίου σε κατά προσέγγιση 500mL αποσταγμένο νερό και αναμιγνύονται καλά. Το διάλυμα του υδροξειδίου χρησιμοποιείται για να διαλυθεί το ιωδιούχο κάλιο και το άμυλο σε ξεχωριστά ποτήρια ζέσεως. Μεταφέρονται και τα δύο διαλύματα ποσοτικά στην ίδια ογκομετρική φιάλη 1.0L. Προσθέτεται οποιοδήποτε απομένον διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου και αραιώνεται σε όγκο με αποσταγμένο νερό. Αναμιγνύεται καλά και αποθηκεύεται σε πλαστικό δοχείο.

Διάλυμα Z6: Ζυγίζονται με ακρίβεια 13.78g θειοθειικό νάτριο $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ και διαλύεται σε αποσταγμένο νερό. Μεταφέρεται ποσοτικά σε μία ογκομετρική φιάλη 1.0L. Προσθέτονται 50 mL υδροξειδίου νατρίου 1M και συμπληρώνεται έως τη χαραγή με αποσταγμένο νερό. Αναμιγνύεται καλά και αποθηκεύεται σε πλαστικό δοχείο.

Υδροξειδίου του Νατρίου, NaOH 1M: Ζυγίζονται με ακρίβεια 40g υδροξειδίου του νατρίου. Με προσοχή προσθέτονται και ανακατεύονται αργά σε περίπου 800 mL αποσταγμένο νερό.

(Προσοχή: αναπτύσσεται θερμότητα!). Αφού διαλυθεί όλο το υδροξείδιο του νατρίου, αφήνεται να κρυώσει, μεταφέρεται σε μία ογκομετρική φιάλη 1.0L και συμπληρώνεται έως τη χαραγή με αποσταγμένο νερό. Αναμιγνύεται καλά και αποθηκεύεται σε πλαστικό δοχείο.

Πειραματική Πορεία:

- Σε κωνική φιάλη προστίθενται με σιφώνιο 10.0 mL από το διάλυμα Z1 και 5.0 mL από το διάλυμα Z2. Προστίθενται και μερικές πέτρες βρασμού.
- Με σιφώνιο προστίθενται στη φιάλη 2.0 mL δείγματος οίνου.
- Ακολουθεί βρασμός σε θερμαντική πλάκα και αφήνεται προς βρασμό για 30 δευτερόλεπτα. Η κωνική φιάλη απομακρύνεται από τη φωτιά και αφήνεται να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου.
- Προσθέτονται 10.0 mL από κάθε διάλυμα με την εξής σειρά: Z3, Z4, Z5.
- Γεμίζεται η προχοΐδα με Z6 (πρότυπο θειοεικό διάλυμα).
- Καταγράφεται η αρχική τιμή της προχοΐδας.
- Ογκομετρείται/τιτλοδοτείται το μίγμα της φιάλης Erlenmeyer, ανακινώντας καλά τη φιάλη για να αναμιχθεί εντελώς η τιτλοδότηση
- Το τελικό σημείο ογκομέτρησης είναι κρεμ. Το διάλυμα θα ξεθωριάσει από κίτρινο-καφέ (ελεύθερο ιώδιο) σε μπλε-γκρι από το άμυλο, πριν γίνει κρεμ.
- Καταγράψτε η τελική τιμή της προχοΐδας.
- Διενεργείται ένα τυφλό αντιδραστήριο χρησιμοποιώντας 0,2 mL αποσταγμένο νερό αντί για κρασί ταυτόχρονα με τη δοκιμή του δείγματος. Ακολουθούνται επακριβώς τα ίδια βήματα (1-9) και για το τυφλό αντιδραστήριο.
- Υπολογίζονται οι καθαροί τίτλοι και για το δείγμα και για το τυφλό με το αποσταγμένο νερό. Ο τίτλος του τυφλού θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 29-31 mL. Ο τίτλος του δείγματος θα είναι μικρότερος.
- Το ποσό των αναγόντων σακχάρων στο δείγμα υπολογίζεται από τον τύπο:

Ανάγοντα σάκχαρα (g/L) =

συντελεστής αραίωσης \times [V_{πρωτύπου τυφλό(mL)} – V_{πρωτύπου δείγματος (mL)}] (2.1)

Εάν δεν έχει γίνει αραίωση το δείγμα, ο συντελεστής αραίωσης είναι 1.

2.3 ΜΕΘΟΔΟΣ LANE & EYNON

Υλικά και όργανα:

- Διάλυμα A: Διαλύονται 34,639 g θειικού χαλκού ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) σε ογκομετρική φιάλη 500 mL με απεσταγμένο νερό. Αφήνεται προς διαύγαση και διηθείται από άσβεστο.
- Διάλυμα B: Διαλύονται 173 g τρυγικό καλιονάτριο και 50g υδροξείδιο του νατρίου σε ογκομετρική φιάλη των 500 mL με απεσταγμένο νερό. Αφήνεται προς διαύγαση και διηθείται από άσβεστο.
- Διάλυμα γλυκόζης 0.5%
- Διάλυμα κυανού του μεθυλενίου 1% (υδατικό) κεκορεσμένο διάλυμα ουδέτερου οξικούμόλυβδου.
- Άνθρακας αποχρωματισμού κατεργασμένος με οξύ.
- Κωνικές, προχοΐδα, ογκομετρική φιάλη, πιπέτες,

Τιτλοδότηση φελιγγείου υγρού

α) Εισάγονται 25mL φελίγγειου υγρού (μείγμα ίσων όγκων διαλύματος A και B) σε κωνική φιάλη των 250mL και προστίθενται 20 mL διαλύματος γλυκόζης 0,5%.

β) Τοποθετήθηκε η κωνική φιάλη σε διάτρητο πλέγμα αμιάντου και το περιεχόμενο τέθηκε σε βρασμό εντός τριών λεπτών. Διατηρήθηκε ο βρασμός και προστέθηκαν από προχοΐδα διάλυμα 0,5 % μέχρι να παραμείνει ασθενής κυανή χροιά. Προστέθηκαν ακολούθως 5 σταγόνες κυανό του μεθυλενίου και συνεχίστηκε η ογκομέτρηση μέχρι να απομακρυνθεί η κυανή χροιά του δείκτη. Το σβήσιμο της κυανής χροιάς φαίνεται καλύτερα στον αφρό του δείγματος. Η ογκομέτρηση πρέπει να τελειώσει μέσα σε τρία λεπτά από την έναρξη του βρασμού.

γ) Σημειώθηκε η κατανάλωση του σακχαρούχου διαλύματος

Το φελίγγειο χαρακτηρίζεται κατάλληλο για τη μέθοδο εφόσον για τα 25 ml του φελιγγείου καταναλωθούν γύρω στα 24 ml διαλύματος γλυκόζης.

Ο προσδιορισμός επαναλαμβάνεται μέχρι το αποτέλεσμα δύο μετρήσεων να μη διαφέρει περισσότερο από $\pm 0,2\text{mL}$.

Για τον προσδιορισμό των αναγόντων σακχάρων στα δείγματα οίνου της παρούσας εργασίας με τη μέθοδο Lane-Eynon, πραγματοποιήθηκε αρχικά διαύγαση των οίνων, με βάση τον 2^ο τρόπο διαύγασης, που περιγράφηκε παραπάνω στη μέθοδο Luff.

Πειραματική Πορεία:

α) Τοποθετήθηκαν 20mL δείγματος οίνου διαυγασμένου σε κωνική φιάλη που περιέχει 25mL φελιγγείου υγρού. Το μίγμα τέθηκε σε βρασμό και ογκομετρήθηκε με διάλυμα γλυκόζης 0,5%, όπως αναφέρθηκε παραπάνω στην τιτλοδότηση του φελιγγείου υγρού.

β) Η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα στο δείγμα οίνου σε g/L, υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{ζάχαρα(g/L)} = \frac{(\Phi - \Delta) \times 5}{O} \quad (2.2)$$

Όπου:

Φ = η κατανάλωση διαλύματος γλυκόζης 0,5% για το φελίγγειο υγρό

Δ = η κατανάλωση διαλύματος γλυκόζης 0,5% για το διήθημα

O = ο όγκος αρχικού δείγματος που αντιστοιχεί το διήθημα προσδιορισμού, π.χ. τα 20ml διηθήματος είναι το 1/5 του όγκου του δείγματος που σημαίνει $O = 10$ ή 1 ή $0,4$ mL για αντίστοιχες ποσότητες αρχικού δείγματος 50ml ή 5 ml ή 2ml.

Παρατήρηση: Εάν τα 20 mL διηθήματος περιέχουν περισσότερα σάκχαρα για τη δύναμη του φελιγγείου υγρού, λαμβάνεται για ανάλυση μικρότερος όγκος διηθήματος (διαυγασμένου οίνου) π.χ. 5mL ή 10mL και αραιώνεται στα 20 mL με απεσταγμένο νερό.

3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Να σημειωθεί ότι για τον προσδιορισμό των αναγόντων σακχάρων σε όλα τα δείγματα οίνου της παρούσας εργασίας με όλες τις μεθόδους, πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές μετρήσεις σε κάθε δείγμα και στα αποτελέσματα εμφανίζονται οι μέσες τιμές αυτών.

3.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΑΓΟΝΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ LUFF

3.1.1 Luff-1

Εφαρμόζοντας την μέθοδο Luff με τον πρώτο τρόπο διαύγασης των οίνων που περιεγράφηκε στο εργαστηριακό μέρος, ελήφθησαν τα εξής αποτελέσματα:

Ξηρό δείγμα: Χρησιμοποιήθηκαν 20mL δείγματος οίνου και καταναλώθηκαν για το τυφλό $n' = 24.9$ mL και το δείγμα $n = 2.5$ mL,

οπότε : $n' - n = 24.9 - 2.5 = 22,4$

Από τον Πίνακα 2, τα 22,4 αντιστοιχούν σε 60,34mg αναγόντων σακχάρων. Διαιρώντας με τον συντελεστή που αντιστοιχεί στα 20ml διαυγούς διηθήματος προκύπτει ότι η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα είναι $60,34/20 = 3,01$ g ανάγοντα σάκχαρα/L οίνου.

Ημίγλυκο δείγμα:

Στον ημίγλυκο οίνο πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:20 του διαυγασμένου οίνου και χρησιμοποιήθηκαν 20mL για τον προσδιορισμό. Καταναλώθηκαν για το τυφλό $n' = 24.9$ mL και το δείγμα $n = 7.25$ mL,

οπότε : $n' - n = 24.9 - 7.25 = 17.65$

Από τον Πίνακα 2, τα 17.65 αντιστοιχεί σε 45.94 mg αναγόντων σακχάρων. Με βάση τον Πίνακα 1, ο συντελεστής που αντιστοιχεί στα 20mL διαυγούς διηθήματος έπειτα από την αραίωση είναι 1, οπότε η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα είναι $45.94/1 = 45.94$ g ανάγοντα σάκχαρα/L οίνου.

Γλυκό δείγμα: Στον γλυκό οίνο πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:20 του διαυγασμένου οίνου και χρησιμοποιήθηκαν 5ml δείγματος για τον προσδιορισμό. Καταναλώθηκαν για το τυφλό $n' = 24.9$ ml και το δείγμα $n = 1.65$ ml,

οπότε : $n' - n = 24.9 - 1.65 = 23.25$

από τον Πίνακα 2 προκύπτει ότι το 23.25 αντιστοιχεί σε 62.84 mg αναγόντων σακχάρων. Διαιρώντας με τον συντελεστή που αντιστοιχεί στα 20mL διαυγούς διηθήματος προκύπτει ότι η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα είναι $62.84/0,25=$ **251,36 g ανάγοντα σάκχαρα/L οίνου.**

3.1.2 Luff-2

Εφαρμόζοντας την μέθοδο Luff με τον δεύτερο τρόπο διαύγασης των οίνων που περιεγράφηκε στο εργαστηριακό μέρος, ελήφθησαν τα εξής αποτελέσματα:

Ξηρό δείγμα: για τον προσδιορισμό του δείγματος λευκού οίνου, 50 mL διαυγασμένου οίνου αραιώθηκαν στα 100mL, και από εκεί χρησιμοποιήθηκαν 25mL για τον προσδιορισμό. Καταναλώθηκαν για το τυφλό $n'= 28,5$ mL και το δείγμα $n=11,3$ mL, Οπότε: $n'-n=28,5 - 11,4 = 17,2$ και από τον Πίνακα 2 προκύπτει ότι το 17.2 αντιστοιχεί σε 44,78 mg αναγόντων σακχάρων. Διαιρώντας με τον συντελεστή που αντιστοιχεί στα 25mL διαυγούς διηθήματος προκύπτει ότι η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα στα 25mL $44,78/25=1,7912$ g/L.

Υπολογίζοντας την περιεκτικότητα στο αρχικό δείγμα οίνου των 50mL, βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα είναι **3,6g ανάγοντα σάκχαρα /L οίνου.**

$$(1,7912\text{g/L} * 100 = C * 50 \Rightarrow C = 3,6\text{g/L})$$

Ημίγλυκο δείγμα: για τον προσδιορισμό του δείγματος ημίγλυκου οίνου, πραγματοποιήθηκαν δύο αραιώσεις:

20 mL οίνου αραιώθηκαν στα 100mL, και από εκεί ελήφθησαν 20mL τα οποία διαυγάστηκαν και αραιώθηκαν στα 100mL. Από το τελικό διάλυμα χρησιμοποιήθηκαν 25mL για τον προσδιορισμό

Καταναλώθηκαν για το τυφλό $n'= 28,5$ mL και για το δείγμα $n= 5,6$ mL,

Οπότε: $n'-n=28,5 - 5,6 = 22,9$ και από τον Πίνακα 2.2 προκύπτει ότι το 22,9 αντιστοιχεί σε 61,89mg αναγόντων σακχάρων. Διαιρώντας με τον συντελεστή που αντιστοιχεί στα 25mL διαυγούς διηθήματος προκύπτει ότι η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα στα 25mL είναι $61,89/25= 2,4756$ g/L.

Υπολογίζοντας την περιεκτικότητα στο αρχικό δείγμα οίνου των 20mL, βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα είναι **61,89g ανάγοντα σάκχαρα /L οίνου.**

$(2,4756\text{g/L} * 100 = x * 20 \Rightarrow x = 12,378\text{g/L}$ και $12,378\text{g/L} * 100 = C * 20 \Rightarrow C = 61,89\text{g/L}$)

Γλυκό δείγμα: για τον προσδιορισμό του δείγματος γλυκού οίνου, πραγματοποιήθηκαν δύο αραιώσεις:

10 mL οίνου αραιώθηκαν στα 100mL, και από εκεί ελήφθησαν 10mL τα οποία διαυγάστηκαν και αραιώθηκαν στα 100mL. Από το τελικό διάλυμα χρησιμοποιήθηκαν 25mL για τον προσδιορισμό.

Καταναλώθηκαν για το τυφλό $n' = 28,5$ mL και για το δείγμα $n = 5.9$ ml,

οπότε προκύπτει : $n' - n = 28,5 - 5.9 = 22,9$

Από τον Πίνακα 2.2, βρέθηκε ότι το 22,9 αντιστοιχεί σε 60,9mg αναγόντων σακχάρων. Διαιρώντας με τον συντελεστή που αντιστοιχεί στα 25ml διαυγούς διηθήματος προκύπτει ότι η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα στα 25mL είναι $60,9/25 = 2,436\text{g}$ ανάγοντα σάκχαρα/L οίνου.

Υπολογίζοντας την περιεκτικότητα στο αρχικό δείγμα οίνου των 20mL, βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα είναι **243,6g ανάγοντα σάκχαρα /L** οίνου.

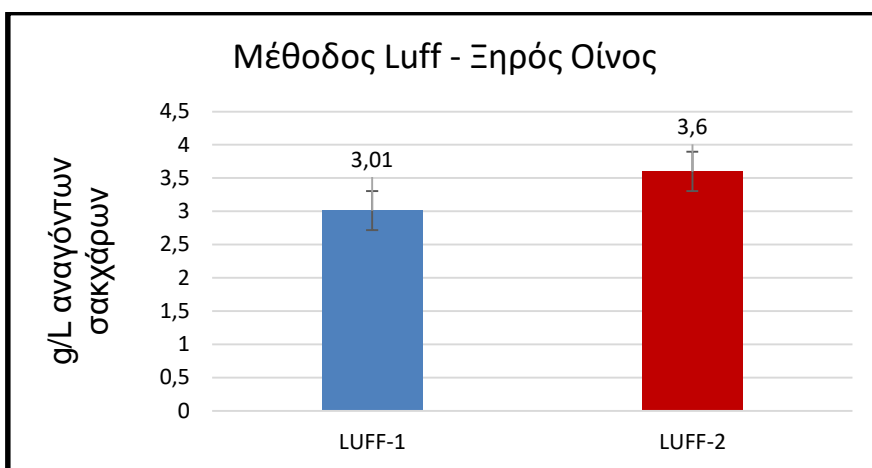
$(2,436\text{g/L} * 100 = x * 10 \Rightarrow x = 24,36\text{g/L}$ και $24,36\text{g/L} * 100 = C * 20 \Rightarrow C = 243,6\text{g/L}$)

Τα αποτελέσματα για όλα τα δείγματα οίνου με την μέθοδο Luff συνοψίζονται στον Πίνακα 3

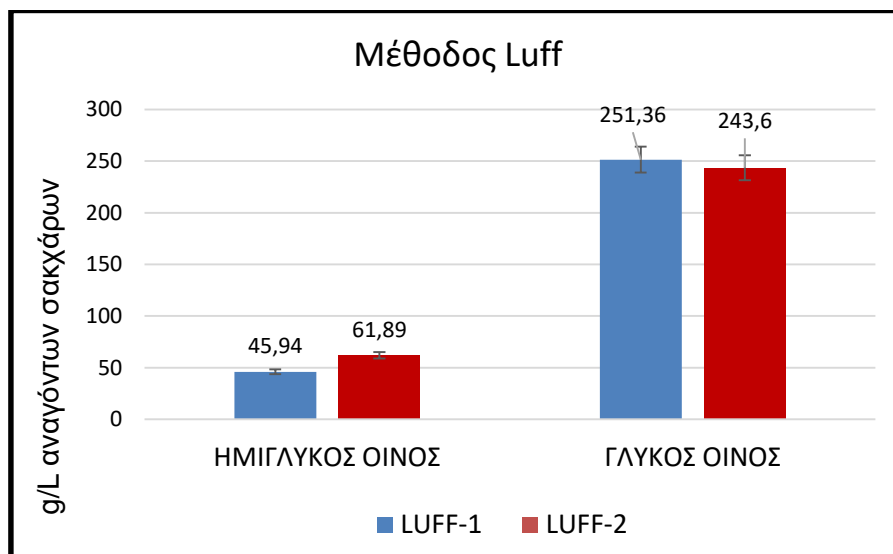
Πίνακας 3.1 Αποτελέσματα προσδιορισμού αναγόντων σακχάρων με την μέθοδο LUFF.

	Συγκέντρωση Αναγόντων σακχάρων	
	LUFF-1	LUFF-2
ΞΗΡΟΣ ΟΙΝΟΣ	3,01g/L	3,6 g/L
ΗΜΙΓΛΥΚΟΣ ΟΙΝΟΣ	45,94g/L	61.89 g/L
ΓΛΥΚΟΣ ΟΙΝΟΣ	251,36g/L	243,6g/L

Τα παραπάνω αποτελέσματα μπορούν να παραστούν και στα ακόλουθα ραβδογράμματα.



Εικόνα 3.1 αποτελέσματα με μέθοδο Luff σε ξηρό οίνο



Εικόνα 3.2 αποτελέσματα με μέθοδο Luff σε ημίγλυκο οίνο

3.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΑΓΟΝΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ Rebelein

Όπως αναφέρθηκε στο εργαστηριακό μέρος, ο προσδιορισμός των αναγόντων σακχάρων με τη μέθοδο Rebelein στο δείγμα υπολογίζεται από τον τύπο 2.1:

Ανάγοντα σάκχαρα (g/L) =

$$\text{συντελεστής αραίωσης} \times [V_{\text{προτύπου τυφλό}}(\text{mL}) - V_{\text{προτύπου δείγματος}}(\text{mL})]$$

Εάν δεν έχει γίνει αραίωση το δείγμα, ο συντελεστής αραίωσης είναι 1.

Στην παρούσα εργασία, η μέθοδος Rebelein εφαρμόστηκε στα δείγματα οίνου έπειτα από διαύγαση τους (όπως περιγράφηκε στην Luff-2). Στα δείγματα του ημίγλυκου οίνου πραγματοποιήθηκε αραίωση των δειγμάτων 1:10, ενώ στα δείγματα γλυκού οίνου πραγματοποιήθηκε αραίωση των δειγμάτων 1:25.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από τις πειραματικές μετρήσεις έχουν ως εξής:

- **Δείγματα ξηρού οίνου**

$$33,4 - 29,8 = 3,6 \text{ γανάγοντα σάκχαρα/ L οίνου}$$

- **Δείγματα ημίγλυκου οίνου**

$$31,3 - 24,95 = 6,35 * 10 = 63,5 \text{ γανάγοντα σάκχαρα/ L οίνου}$$

- **Δείγματα γλυκού οίνου**

$$31,3 - 19,0 = 12,3 * 25 = 307,5 \text{g ανάγοντα σάκχαρα / L οίνου}$$

Πίνακας 3.2 Αποτελέσματα προσδιορισμού αναγόντων σακχάρων με την μέθοδο Rebelein.

	g αναγόντων σακχάρων / L οίνου
ΞΗΡΟΣ ΟΙΝΟΣ	3,6 g/L
ΗΜΙΓΛΥΚΟΣ ΟΙΝΟΣ	63,5 g/L
ΓΛΥΚΟΣ ΟΙΝΟΣ	307,5g/L

3.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΑΓΟΝΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ LANE-EYNON

Όπως αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος, ο προσδιορισμός των αναγόντων σακχάρων γίνεται με την εξίσωση 2.2: $\text{ζάχαρα(g/L)} = \frac{(\Phi - \Delta) \times 5}{O}$,

όπου:

Φ = η κατανάλωση διαλύματος γλυκόζης 0,5% για το φελλίγγειο υγρό

Δ = η κατανάλωση διαλύματος γλυκόζης 0,5% για το διήθημα

O = ο όγκος αρχικού δείγματος που αντιστοιχεί το διήθημα προσδιορισμού

Κατά τον προσδιορισμό των δειγμάτων βρέθηκαν τα εξής αποτελέσματα:

- **Για το ξηρό δείγμα:** χρησιμοποιήθηκαν 20mL διαυγασμένου οίνου και βρέθηκε:

$\Phi = 29.5$, $\Delta = 22.5$, $O = 10$

Άρα προκύπτει: $[(29.5 - 22.5) \times 5] / 10 = 35 / 10 = \mathbf{3,5 \text{g ανά γοντα σάκχαρα/L οίνου}}$

- **Για το ημίγλυκο δείγμα:** πραγματοποιήθηκε αραίωση του δείγματος, 2 φορές 1:10.

Με κατανάλωση $\Delta = 9,5$ βρέθηκε ότι:

$[(29.5 - 9.5) \times 5] / 2 = 100 / 2 = \mathbf{50,0 \text{g ανά γοντα σάκχαρα/L οίνου}}$

- **Για το γλυκό δείγμα:** πραγματοποιήθηκε αραίωση του δείγματος, 2 φορές 1:10

Με κατανάλωση $\Delta = 4,9$ βρέθηκε ότι:

$[(29.5 - 4.9) \times 5] / 2 = 123 / 2 = \mathbf{61,5 \text{g ανά γοντα σάκχαρα/L οίνου}}$

Συγκεντρωτικά, τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 3.3 Αποτελέσματα σακχάρων με την μέθοδο LANE&EYNON

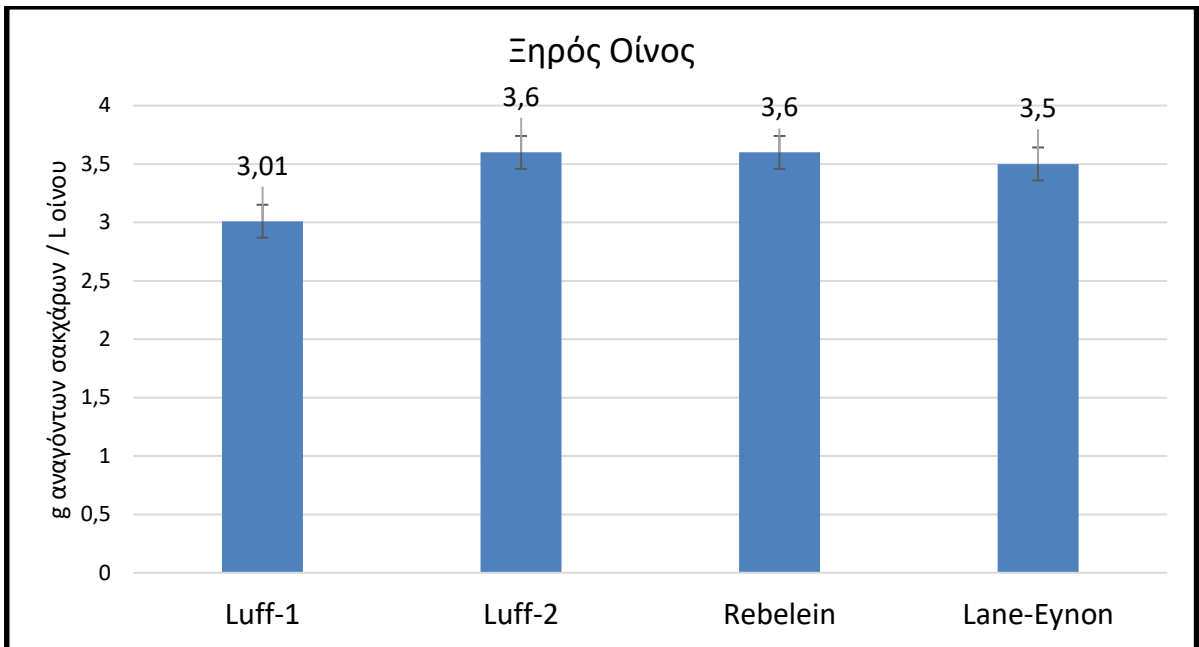
	Συγκέντρωση αναγόντων σακχάρων(g/L)
ΞΗΡΟΣ ΟΙΝΟΣ	3,5g/ L
ΗΜΙΓΛΥΚΟΣ ΟΙΝΟΣ	50g/L
ΓΛΥΚΟΣ ΟΙΝΟΣ	61,5g/L

ΣΥΝΟΨΙΖΟΝΤΑΣ

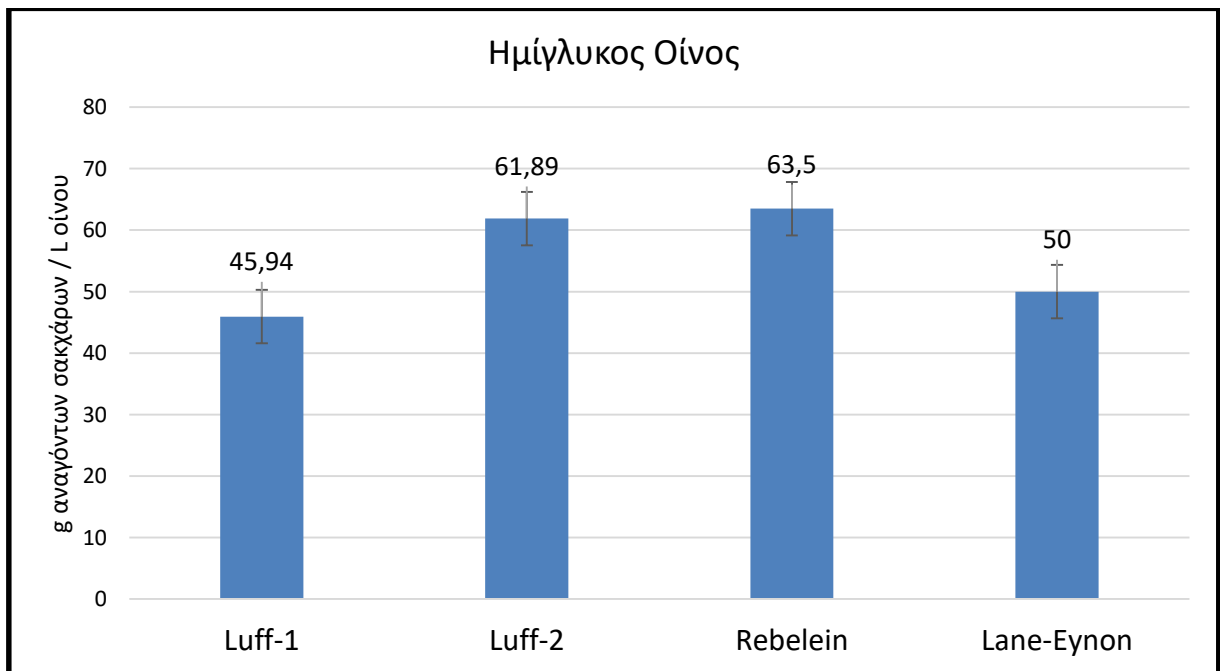
Τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τον προσδιορισμό αναγόντων σακχάρων για όλα τα δείγματα οίνου εφαρμόζοντας όλες τις μεθόδους, φαίνονται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 6, καθώς και στα ακόλουθα ραβδογράμματα.

Πίνακας 3.4 Αποτελέσματα μεθόδων προσδιορισμού αναγόντων σακχάρων/Λοίνου.

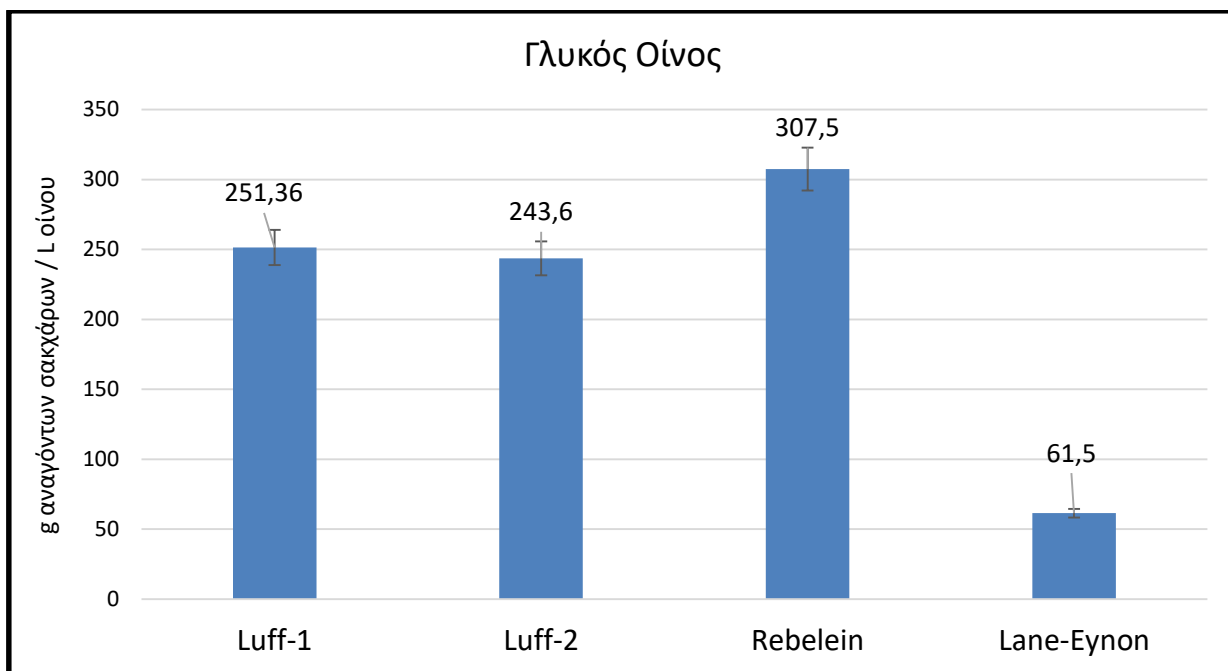
	Luff-1	Luff-2	Rebelein	Lane-Eynon
Ξηρός Οίνος	3,01	3,6	3,6	3,5
Ημίγλυκος Οίνος	45,94	61,89	63,5	50
Γλυκός Οίνος	251,36	243,6	307,5	61,5



Εικόνα 3.3 αποτελέσματα όλων των μεθόδων για ξηρό οίνο



Εικόνα 3.4 αποτελέσματα όλων των μεθόδων για ημίγλυκο οίνο



Εικόνα 3.5 αποτελέσματα όλων των μεθόδων για γλυκό οίνο

Για το λευκό ξηρό οίνο, πραγματοποιήθηκε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων που ελήφθησαν από όλες τις μεθόδους, με ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (onewayANOVA), καθώς μόνο στην περίπτωση του ξηρού οίνου σημειώνονται παραπλήσια αποτελέσματα μεταξύ των μεθόδων. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης παρουσιάζονται ακολούθως:

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ομάδες	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
Luff-1	4	12,02	3,005	0,000166667
Luff-2	4	14,4	3,6	6,66667E-05
Rebelein	4	14,38	3,595	0,000166667
Lane-Eynon	4	14	3,5	6,66667E-05

ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P
Μεταξύ ομάδων	0,9662	3	0,322066667	2760,571429	2,69E-17
Μέσα στις ομάδες	0,0014	12	0,000116667		
Σύνολο	0,9676	15			

Για τον ξηρό οίνο, από την στατιστική ανάλυση που έγινε φαίνεται πως η τιμή- $p < 0,05$, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα οι τιμές διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά.

Τα αποτελέσματα της Luff-2, Rebelein και της Lane-Eynon είναι αριθμητικά παραπλήσια. Στη μέθοδο Luff φαίνεται όμως πως λειτουργεί καλύτερα η διαύγαση του οίνου να γίνεται με θειοκυανιούχο σίδηρο και θειικό ψευδάργυρο.

Όσον αφορά τον ημίγλυκο οίνο παρατηρούνται τα αποτελέσματα της Luff-2 και της Rebelein να είναι πανομοιότυπα, ενώ της Lane-Eynon και της Luff-1 φανερώνουν μεγάλη απόκλιση. Δεν μπορεί, επομένως, να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα ως προς την εφαρμογή των μεθόδων.

Ακολούθως, για τον γλυκό οίνο, το αποτέλεσμα της μεθόδου Lane-Eynon είναι μη αποδεκτό, καθώς είναι εκτός των ορίων ενός γλυκού οίνου. Τα αποτελέσματα δείχνουν μεγάλη απόκλιση σε όλες τις μεθόδους, με παραπλήσια αποτελέσματα να σημειώνονται μόνο στις Luff.

Στο σημείο αυτό, θα πρέπει να τονιστεί ότι η εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής εργασίας πραγματοποιήθηκε στο δύσκολο μεσοδιάστημα της πανδημίας του κορωνοϊού (Covid19). Δυστυχώς, λόγω των περιοριστικών μέτρων, δεν υπήρχε η δυνατότητα να επαναληφθούν πάλι ορισμένα πειράματα στο εργαστήριο, κυρίως με τον ημίγλυκο και γλυκό οίνο, ώστε να προκύψει ένα ασφαλές συμπέρασμα ως προς την επαναληψιμότητα και αξιοπιστία της κάθε μεθόδου. Στον ξηρό οίνο, μόνο, φαίνεται πως και οι τρεις κλασικές μέθοδοι προσδιορισμού των αναγόντων σακχάρων μπορούν να εφαρμοστούν με αξιοπιστία.

Ως επόμενο βήμα, θα μπορούσε να γίνει η ανάλυση των αναγόντων σακχάρων στα ίδια δείγματα εκ νέου με τις μεθόδους που ακολουθήθηκαν αλλά και με υγρή χρωματογραφία (HPLC) ή ενζυματικές μεθόδους -που έχουν μεγαλύτερη ακρίβεια από τους κλασικούς τρόπους προσδιορισμού- και η σύγκριση αυτών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Άρθρα σε επιστημονικά περιοδικά

A Maquieira, M D Luque de Castro, M Valcarcel, Determination of reducing sugars in wine by flow injection analysis, *Analyst*. **1987** Nov;112(11):1569-72

Alberto N. Araujo, Jose´ L.F.C. Lima, Antonio O.S.S. Rangel, Marcela A. Segundo, Sequential injection system for the spectrophotometric determination of reducing sugars in wines, *Talanta* 52 (**2000**) 59–6

António M. Jordão, Alice Vilela and Fernanda Cosme, From Sugar of Grape to Alcohol of Wine: Sensorial Impact of Alcohol in Wine, Review Article, *Beverages* **2015**, 1, 292-310; doi:10.3390/beverages1040292

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS-OIV, Dosage of sugars in wine by HPLC, Method OIV-MA-AS311-03 Type II method1 (Resolution Oeno 526/**2016**)

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS-OIV, Method OIV-MA-AS311-01A Type IV method Reducing substances (Resolution Oeno377/**2009**)

Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis OIV, Vol 1, **2006**, MA-E-AS311-02-GLUFRU5, p4

Dekker, K. D., The Luff-Schoorl method for determination of reducing sugar in juices, molasses and sugar, *South African Sugar Journal*, **1950** Vol.34 pp.157-71

Fehling, H.: Die quantitative Bestimmung von Zucker, *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, Volume 106, Issue 1, © Wiley-VCH Verlag, GmbH & Co. KGaA, **1858**, pp. 75-79

Gil, J. V., Mateo, J. J., Jimenez, M., Pastor, A., & Huerta, T. (**1996**). Aroma Compounds in Wine as Influenced by Apiculate Yeasts. *Journal of Food Science*, 61 (6), 1247–1250.

H. Rebelein, Correction de l'acidité des moûts et des vins, *Bulletin de l'OIV*, 480 (44) (**1971**), pp. 136-141

Lilly, M., Lambrechts, M. G., & Pretorius, I. S., (2000). Effect of Increased Yeast Alcohol Acetyltransferase Activity on Flavor Profiles of Wine and Distillates. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (2), 744–753

Marcos A. S. Brasil and Boaventura F. Reis, An Automated Multicommuted Flow Analysis Procedure for Photometric Determination of Reducing Sugars in Wine Employing a Directly Heated Flow-Batch Device, *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 28, No. 10, 2013-2020, **2017**

Monagas, M., Bartolome, B., & Gomez-Cordoves, C. (2005). Updated Knowledge About the Presence of Phenolic Compounds in Wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45 (2), 85–118.

Paulo A. B. Da Silva, Gustavo C. S. De Souza, Ana Paula S. Paim, André F. Lavorante, Spectrophotometric determination of reducing sugar in wines employing in-line dialysis and a multicommuted flow analysis approach, *J. Chil. Chem. Soc.*, 63, N° 2 (2018)

Pukl, M. ;Prošek, M., Rapid quantitative TLC analysis of sugars using an improved commonly used solvent system., *Journal of Planar Chromatography*, 1990 Vol.3 No.3 pp.173-176 ref.13

Schreier, P., & Jennings, W. G. (1979). Flavor composition of wines: A review. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 12 (1), 59–111.

Simoni Robert D., Hill Robert L. and Vaughan Martha, Benedict's Solution, a Reagent for Measuring Reducing Sugars: the Clinical Chemistry of Stanley R. Benedict, *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY* Vol. 277, No. 16, Issue of April 19, p. e5, **2002**

Somogyi, M (1952) Notes on sugar determination, *Journal of Biological Chemistry* 1952 Vol.195 pp.19-23

T. Kunz, E. J. Lee, V. Schiwiek, T. Seewald, F.-J. Methner, Glucose – a Reducing Sugar? Reducing Properties of Sugars in Beverages and Food, *Brewing Science*, July / August **2011** (Vol. 64)

Wilkes Eric, Technical Review No.223, August **2016**

ΒΙΒΛΙΑ - ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ

Κατσούρας Γιώργος, *ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΙΝΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ-Εργαστηριακές ασκήσεις φυσικοχημικών μεθόδων ανάλυσης*- Σημειώσεις Τμήματος Οινολογίας και Τεχνολογίας Ποτών, ΤΕΙ Αθήνας, 1993

Κοτσερίδης Γ., Εργαστηριακές ασκήσεις, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Εργαστήριο Μηχανικής Τροφίμων, επεξεργασίας και συντήρις γεωργικών προϊόντων.

Κουράκου – Δραγώνα Σ., Θέματα Οινολογίας. Εκδόσεις Τροχαλία. Αθήνα 1998

Σουλής Θ. (1992). Μαθήματα οινοποίησης, Μέρος Α' . Α.Π.Θ., Υπηρεσία Δημοσιευμάτων, Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο.

Σουφλερός Ευάγγελος, *ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ – Επιστήμη και Τεχνογνωσία*, Γ' Έκδοση, Θεσσαλονίκη

Σουφλερός, *ΟΙΝΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΑ*, Ανατύπωση 2009. Θεσσαλονίκη

Σπηλιόπουλος Ι. (2008). Βασική Οργανική Χημεία. Αθήνα: Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης.

ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΟ ΥΛΙΚΟ

- https://www.researchgate.net/profile/Celia-Koutrafour/publication/276057585_Food_Chemistry/links/554f3cb008ae739bdb8fd507/Food-Chemistry.pdf
- <http://www.psarikorinthias.gr/myimages/%CE%92%CE%91%CE%A3%CE%99%CE%9A%CE%91%20%CE%A3%CE%A4%CE%9F%CE%99%CE%A7%CE%95%CE%99%CE%91%20%CE%9F%CE%99%CE%9D%CE%9F%CE%A0%CE%9F%CE%99%CE%97%CE%A3%CE%97%CE%A3.pdf>
- <http://oinanthos.blogspot.com/2015/08/blog-post.html>
- <http://www.biology.uoc.gr/courses/BIOL154/documents/Lecture7.pdf>
- <https://docplayer.gr/37420866-Ydatanthrakes-methodoi-prosdiorismoy.html>

- <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/cyp41052-2.pdf>
- https://de.wikipedia.org/wiki/Methode_nach_Luff-Schoorl
- https://www.mt.com/gb/en/home/supportive_content/ana_chem_applications/titration/AP038.html
- <https://blogs.sch.gr/3ekfekyk/files/2013/02/HYDRO.pdf>
- <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/cyp41052-2.pdf>
- <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/HTML/?uri=CELEX:31979L0796&from=ES>
- <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010R0118&from=EN>
- https://fabe.gr/images/stories/ERGASTHRIO/ea_002.pdf
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6262339/>
- <https://docplayer.gr/37420866-Ydatanthrakes-methodoi-prosdiorismoy.html>
- <https://vinlab.com/blog/2018/03/12/sugars-in-grapes-and-wines-demystified/>
- <https://slideplayer.gr/slide/13291662/>
- <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>
- https://biocyclopedia.com/index/plant_protocols/carbohydrates/reducing_sugars_by_Nelson-Somogyi_method.php
- <http://www.krasiagr.com/%CF%80%CF%8C%CF%83%CE%B7-%CE%B6%CE%AC%CF%87%CE%B1%CF%81%CE%B7-%CE%AD%CF%87%CE%B5%CE%B9-%CF%84%CE%BF-%CE%BA%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%AF/>
- <https://eclass.teiwm.gr/modules/document/file.php/TEG240/%CE%95%CE%A1%CE%93%CE%91%CE%A3%CE%A4%CE%97%CE%A1%CE%99%CE%9F%208%20%CE%91%CE%9D%CE%91%CE%93%CE%A9%CE%93%CE%99%CE%9A%CE%91%20%CE%A3%CE%91%CE%9A%CE%A7%CE%91%CE%A1%CE>

%91.pdf

- <https://www.google.com/url?sa=t&q=&esrc=s>
https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/4693/1/%CE%9A%CE%95%CE%A6_5_%CE%93%CE%95%CE%9D%CE%99%CE%9A%CE%95%CE%A3%20%CE%99%CE%94%CE%99%CE%9F%CE%A4%CE%97%CE%A4%CE%95%CE%A3%20%CE%A4%CE%A9%CE%9D%20%CE%A5%CE%94%CE%91%CE%A4%CE%91%CE%9D%CE%98%CE%A1%CE%91%CE%9A%CE%A9%CE%9D.pdf