



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

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

«Κινητικές κατανάλωσης οξυγόνου παρουσία αντιοξειδωτικών σε οίνο της ποικιλίας  
Ρωμέικο»

Μαρτσάκης Εμμανουήλ  
ΑΜ: 18685104

**Επιβλέπων καθηγητής**  
Αραπίτσας Παναγιώτης

2023



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA**  
**SCHOOL OF FOOD SCIENCE**  
**DEPARTMENT OF WINE, VINE AND BEVERAGE SCIENCES**

**BACHELOR THESIS**

«Kinetics of oxygen consumption in the presence of antioxidants in Romeiko wine»

Martsakis Emmanouil

**Registration Number: 18685104**

**Supervisor**

Arapitsas Panagiotis

2023



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

**ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο: «Κινητικές κατανάλωσης οξυγόνου παρουσία αντιοξειδωτικών σε οίνο της ποικιλίας Ρωμέικο» και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

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

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία μελετήθηκαν κινητικές κατανάλωσης οξυγόνου σε οίνο της ποικιλίας Ρωμέικο χρησιμοποιώντας διαφορετικά αντιοξειδωτικά. Πιο συγκεκριμένα, σκοπός της μελέτης ήταν να βρεθεί ποιο αντιοξειδωτικό ή ποιος συνδυασμός αντιοξειδωτικών καταφέρνει να καταναλώσει πιο γρήγορα το ολικό οξυγόνο της συσκευασίας και να επηρεάσει λιγότερο τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Τα υπό εξέταση αντιοξειδωτικά στην παρούσα μελέτη ήταν το θειώδες, η γλουταθειόνη δύο είδη από οινολογικές τανίνες και συνδυασμοί αυτών. Το ολικό οξυγόνο της συσκευασίας καταγράφονταν κατά την διάρκεια των πειραμάτων με την χρήση οξύμετρου Nomasense. Με το πέρας κάθε πειραματικού κύκλου (διάρκειας δύο εβδομάδων ο καθένας) σε κάθε δείγμα έγινε ποσοτικός προσδιορισμός ελεύθερου και ολικού θειώδους με την μέθοδο RIPPER και ποσοτικός-ποιοτικός προσδιορισμός του χρώματος με την μέθοδο CIELAB. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η προσθήκη μόνο γλουταθειόνης παρουσίασε την ταχύτερη κατανάλωση σε οξυγόνο συσκευασίας και τα πιο επιθυμητά αποτελέσματα στο χρώμα του οίνου. Επιπλέον, όλες οι συνθήκες στις οποίες έγινε προσθήκη SO<sub>2</sub> είχαν χαμηλότερη χρωματική ένταση από τον μάρτυρα δηλαδή καταγράφηκε μείωση του ερυθρού χρώματος. Αντίθετα στις συνθήκες που είχε προστεθεί η γλουταθειόνη, μόνη της ή σε συνδυασμό, παρουσιάστηκε μικρότερη μείωση ή αύξηση στην χρωματική. Τέλος, οι τανίνες είχαν μια μέτρια κατανάλωση σε οξυγόνο, δίνοντας όμως οργανοληπτικά ένα πικρό χαρακτήρα στον οίνο. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα που βγήκαν αφορούν το συγκεκριμένο διάστημα ημερών του πειράματος.

**Λέξεις κλειδιά:** Ρωμέικο, Οξυγόνο, Γλουταθειόνη, Θειώδες, και Τανίνες

## **ABSTRACT**

In this thesis oxygen consumption kinetics were studied on the variety of wine Romeiko by using various antioxidants. More specifically, the purpose of the study was to find which antioxidant or which combination of antioxidants manages to consume the total oxygen of the package more quickly and affect less the quality characteristics of the wine. The antioxidants under consideration in the present study were SO<sub>2</sub>, glutathione, two types of oenological tannins, and combinations of them. The total oxygen of the package was recorded during the experiments using a Nomasense oximeter. At the end of each experimental cycle (two weeks each) in each sample a quantitative determination of free and total SO<sub>2</sub> was made with the RIPPER method and a quantitative-qualitative determination of the color with the CIELAB method. The results of the research showed that the addition of glutathione alone showed the fastest package oxygen consumption and the most desirable results in wine color. In addition, all the conditions in which SO<sub>2</sub> was added had a lower color intensity than the control, and a reduction of the red color was recorded. In contrast to the conditions in which glutathione had been added, alone or in combination, there was a smaller decrease or increase in chromaticity. Finally, the tannins had a moderate consumption of oxygen, but organoleptically gave a bitter character to the wine. In conclusion, the results obtained concern the specific period of days of the experiment.

**Keywords:** Romeiko, Oxygen, Glutathione, SO<sub>2</sub>, and Tannins

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>2</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1. ΡΩΜΕΙΚΟ.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2. ΟΞΥΓΟΝΟ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ.....</b>	<b>7</b>
<b>1.2.1.ΓΕΝΙΚΑ.....</b>	<b>7</b>
<b>1.2.2. ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ.....</b>	<b>8</b>
<b>1.2.3. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΟΞΥΓΟΝΟ.....</b>	<b>9</b>
<b>1.2.4. ΧΗΜΙΚΗ ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ.....</b>	<b>17</b>
<b>1.3.1. ΓΕΝΙΚΑ.....</b>	<b>17</b>
<b>1.3.2. ΘΕΙΩΔΕΣ.....</b>	<b>18</b>
<b>1.3.3. ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗ.....</b>	<b>20</b>
<b>1.3.4. ΟΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΑΝΝΙΝΕΣ.....</b>	<b>22</b>
<b>2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ.....</b>	<b>24</b>
<b>3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ.....</b>	<b>25</b>
<b>3.2. ΟΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.1. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.2. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΡΩΜΑΤΟΣ.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2.3. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ SO<sub>2</sub>.....</b>	<b>32</b>
<b>4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>34</b>
<b>4.1. ΠΟΡΕΙΑ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ.....</b>	<b>34</b>
<b>4.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ.....</b>	<b>37</b>
<b>4.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΟΥ SO<sub>2</sub>.....</b>	<b>39</b>
<b>4.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ.....</b>	<b>41</b>
<b>5. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ.....</b>	<b>42</b>
<b>6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>44</b>
<b>7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>46</b>

# 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1. ΡΩΜΕΙΚΟ

Το Ρωμείο είναι μια γηγενής ερυθρή ποικιλία της Κρήτης. Το όνομά της προέρχεται από την λέξη Ρωμιός που ονομάζονταν οι ελληνόφωνοι Χριστιανοί που ζούσαν στην Οθωμανική Αυτοκρατορία.<sup>1</sup> Είναι μία ποικιλία όπου απαντάται κατά κύριο λόγο στην Κρήτη και πολύ σπάνια σε νησιά των Κυκλάδων με συνολική έκταση περίπου 11.600 στρεμμάτων.<sup>2</sup> Συνώνυμα της ποικιλίας είναι το Μαύρο Ρωμείο, Μαυρορωμείο, Μαύρο Κρήτης, Τσαρδάνα, Λοΐσιμα και Ρωμείο Μαχαίρα.<sup>3</sup>



Εικόνα 1: Ρωμείο σταφύλι. ( Φωτογραφία από το [www.winesofcrete.gr](http://www.winesofcrete.gr))

Γενετικές αναλύσεις έδειξαν ότι το Ρωμείο και το Μαύρο Ρωμείο δεν έχουν καμία γενετική σχέση, ενώ μεταξύ του Μαύρου Ρωμείου και του Ρωμείου Μαχαίρα υπάρχει μόλις 34% γενετική αλληλόμορφα. Στην τελευταία αυτή περίπτωση, και οι δύο είναι οινοποιήσιμες ερυθρές ποικιλίες, με το Ρωμείο Μαχαίρα να έχει μεγαλύτερες ρώγες.<sup>4</sup> Από την άλλη, φαίνεται να σχετίζονται μεταξύ τους η Τσαρδάνα με το Μαύρο Ρωμείο (97% κοινά αλληλόμορφα) και το Κορίθι μαύρο με το μαύρο Κρήτης (97% κοινά αλληλόμορφα). Τα δυο ζεύγη μοιράζονταν 21 από τα 22 αλληλόμορφα, το οποίο υποδηλώνει έντονα ότι αυτές οι ποικιλίες θα μπορούσαν να είναι κλώνοι και ότι το ένα από τα ζευγάρια θα μπορούσε να προέρχεται από το άλλο μέσω μιας μετάλλαξης.<sup>5</sup> Η στενή σχέση μεταξύ της Τσαρδάνας και του μαύρου Ρωμείου επιβεβαιώθηκε και από αμπελογραφικά δεδομένα, και αφού οι δύο ποικιλίες καλλιεργούνται στην Κρήτη υποστηρίχθηκε περαιτέρω η υπόθεση ότι αυτές οι δύο ποικιλίες θα μπορούσαν να είναι

κλώνοι. Η Τσαρδάνα καλλιεργείται μόνο στη δυτική Κρήτη (περιοχές Χανίων και Ρεθύμνου), ενώ το μαύρο Ρωμέικο καλλιεργείται στα νησιά του Αιγαίου και στην Κρήτη, όπου και αντιπροσωπεύει το 80% των αμπελώνων της περιοχής των Χανίων.<sup>5</sup>

Το μαύρο Κρήτης, μια ποικιλία που αναφέρεται στα αρχαία ελληνικά κείμενα, σήμερα είναι μια δευτερεύουσα ποικιλία που καλλιεργείται μόνο στις Κυκλάδες και την Κρήτη, μοιράζεται επίσης 21 από τα 22 αλληλόμορφα με το μαύρο Κορίθι, που καλλιεργείται μόνο στην ηπειρωτική χώρα (κυρίως στην Πελοπόννησο και Κεντρική Ελλάδα) και τα Επτάνησα. Συμπερασματικά, το Κορίθι μαύρο είναι πιθανότατα κλώνος του μαύρου Κρητικού.<sup>5</sup>

Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία, η καλλιέργεια της ποικιλίας επιτρέπεται στο αμπελουργικό διαμέρισμα Κρήτης (ΦΕΚ 3276/Β/18-9-2017).<sup>2</sup> Η καλλιέργεια της όμως συγκεντρώνεται στον νομό Χανίων και ιδιαίτερα στην περιοχή της Κισιάμου. Ως προς τα χαρακτηριστικά της, είναι όψιμη ποικιλία, με την άνθηση να ξεκινάει στα μέσα Μαΐου ενώ η τεχνολογική ωρίμανση στα μέσα Σεπτεμβρίου. Επιπροσθέτως, παρουσιάζει ευαισθησία στο οίδιο και την ευδεμίδα. Παράγει σταφυλή μεσαίου μεγέθους, όπου παρατηρείται αριθμός πράσινων ραγών στην ωρίμανσή της. Οι ρώγες είναι μεσαίου μεγέθους και σφαιρικού σχήματος. Είναι πρέμνο ζωηρό με μέτρια έως υψηλή παραγωγικότητα. Η διαμόρφωση του γίνεται σε κύπελο και σε αμφίπλευρο Cordon de Royat. Παράγει γλεύκος υψηλής περιεκτικότητας σε σάκχαρα, μέτρια οξύτητα και ασταθές χρώμα εύκολα οξειδώσιμο.

Παλαιότερα, από την ποικιλία Ρωμέικο παρασκευάζονταν οι επιτραπέζιοι οίνοι με ονομασία 'Η Κίσσαμος', ένας ερυθρός ξηρός οίνος με περίπου 13% περιεκτικότητα σε αλκοόλ, και το Clos de Creta, ένας λευκός ξηρός οίνος με περίπου 11,5% περιεκτικότητα σε αλκοόλ. Σήμερα, συμμετέχει στο ΠΓΕ «Κίσσαμος» (Καν(ΔΚ) 1234/2007 Άρθρο 118γ, παρ.2). Επιπλέον, το Ρωμέικο χρησιμοποιείται στην παρασκευή του παραδοσιακού Χανιώτικου οίνου Μαρουβά, παρόμοιου στυλ με τα κρασιά τύπου sherry. Τα τελευταία χρόνια, γίνονται εμφιαλώσεις μονοποικιλιακών ερυθρών οίνων από την ποικιλία αυτή, με χαρακτηριστικά μεσαίου σώματος και γεμάτο γεύσεις και αρώματα φράουλας, βατόμουρου και αγριοκέρασου. Επίσης, γίνονται οινοποιήσεις λευκών, ροζέ, γλυκών και αφρωδών οίνων από την ποικιλία αυτή, εκφράζοντας έτσι τη δυναμικότητα της.<sup>1</sup>



## 1.2. ΟΞΥΓΟΝΟ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

### 1.2.1. ΓΕΝΙΚΑ

Οι πρώτες πληροφορίες σχετικά με την επίδραση του οξυγόνου στον οίνο χρονολογούνται από τις πρώτες μελέτες του Pasteur το 1866, όπου ανακάλυψε ότι το οξυγόνο από την μια μπορεί να οξειδώσει τους οίνους και να αλλοιώσει τα χαρακτηριστικά τους, αλλά από την άλλη είναι σημαντικός και αναγκαίος παράγοντας για την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης. Οι επόμενες σημαντικές μελέτες έγιναν από τον Ribereau-Gayon το 1931. Η παρουσία οξυγόνου σχετίζεται με τις μεταβολές που μπορεί να υποστεί ο οίνος κατά τις διάφορες διαδικασίες οινοποίησης, παλαίωσης και αποθήκευσης. Το οξυγόνο έχει βασικό ρόλο σε όλη τη διαδικασία οινοποίησης. Η προσθήκη οξυγόνου πριν, κατά τη διάρκεια και μετά την αλκοολική ζύμωση επηρεάζει τα χαρακτηριστικά και την εξέλιξη του οίνου τόσο θετικά όσο και αρνητικά. Η επίδραση αυτών των φαινομένων οξείδωσης εξαρτάται κυρίως από τη συγκέντρωση του οξυγόνου που υπάρχει, το χρόνο έκθεσης στο οξυγόνο, την παρουσία προστατευτικών παραγόντων, τη σύσταση και τη θερμοκρασία του. Είναι γενικά αποδεκτό ότι μια ξαφνική και ανεξέλεγκτη οξείδωση είναι ανεπιθύμητη, ενώ μια αργή και συνεχής διάλυση του οξυγόνου μπορεί να παίζει θετικό ρόλο στην εξέλιξη κάποιων οίνων.<sup>6</sup>

Μία από τις πιο μελετημένες πτυχές που σχετίζονται με την κατανάλωση οξυγόνου είναι ο ρυθμός κατανάλωσης του στον οίνο. Δηλαδή, η ποσότητα οξυγόνου που μπορούν να καταναλώσουν οι οίνοι όταν εκτεθούν στο οξυγόνο και οι αλλαγές που συμβαίνουν, τόσο χημικά όσο και οργανοληπτικά. Οι παράγοντες που επηρεάζουν περισσότερο τον ρυθμό κατανάλωσης του οξυγόνου στο οίνο είναι περιβαλλοντικοί, όπως η θερμοκρασία αποθήκευσης και η έκθεση στο φως, καθώς και η σύσταση του οίνου σε φαινολικές ενώσεις, σε αντιοξειδωτικά και σε περιεκτικότητα ιόντων μετάλλων (Cu, Fe και Mn).<sup>7</sup>

Τα φαινολικά συστατικά ανήκουν στα κύρια υποστρώματα οξυγόνου στους οίνους και η ικανότητα τους να καταναλώνουν οξυγόνο σχετίζεται με το είδος και την συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών. Η συνολική περιεκτικότητα σε φαινόλες στον οίνο είναι ένα πρόχειρο μέτρο της ικανότητάς του να προσλαμβάνει οξυγόνο, να αντέχει την οξείδωση και να εξελίσσεται χημικά και οργανοληπτικά.

### 1.2.2. ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

Το οξυγόνο αντιπροσωπεύει το 20,9% του ατμοσφαιρικού αέρα, όπου εμφανίζεται κυρίως ως μοριακό οξυγόνο O<sub>2</sub>. Η παρουσία οξυγόνου στον οίνο σχετίζεται με τις ιδιότητες των αερίων να διαλύονται στα υγρά όπου τα μόρια του οξυγόνου διαλύονται στον οίνο μέχρι να επιτευχθεί η ισορροπία. Στην ισορροπία η ποσότητα των μορίων του αερίου που είναι διαλυμένα στο υγρό είναι ανάλογη της μερικής πίεσης του. Η ποσότητα του διαλυμένου οξυγόνου σε ένα υγρό μπορεί να υπολογιστεί τόσο από τη συγκέντρωσή του στο υγρό όσο και από τη μερική του πίεση. Συνηθέστερα, χρησιμοποιούνται τιμές συγκέντρωσης στους οίνους, όπου εκφράζονται σε ppm (mg/L) ή σε ppb (μg/L).

Η μερική πίεση είναι μια βασική παράμετρος και μπορεί να οριστεί ως η πίεση που εφαρμόζεται στην επιφάνεια του υγρού για να διατηρηθεί μια δεδομένη συγκέντρωση αερίου στο υγρό. Η μερική πίεση συνήθως εκφράζεται ως Pascal (*P*). Η συγκέντρωση και η μερική πίεση σχετίζονται μέσω του νόμου του Henry: «Σε μια σταθερή θερμοκρασία, η ποσότητα ενός δεδομένου αερίου, που διαλύεται σε έναν δεδομένο τύπο και όγκο υγρού, είναι ανάλογη με τη μερική πίεση αυτού του αερίου σε ισορροπία με αυτό το υγρό:

$$P = kC$$

Όπου: *P* είναι η μερική πίεση του αερίου (atm), *C* η συγκέντρωση (mol/L) και *K* είναι η σταθερά διαλυτότητας ή σταθερά του Henry (mol/L\*atm).

Η παράμετρος *K* επηρεάζεται από τη φύση του αερίου που εξετάζεται, από τη θερμοκρασία και από τη σύσταση του υγρού μέσου. Όσο υψηλότερη είναι η σταθερά του Henry, τόσο μικρότερη είναι η διαλυτότητα του αερίου. Ως εκ τούτου, η ποσότητα οξυγόνου που μπορεί να βρεθεί σε ένα υγρό, σε μια δεδομένη πίεση, αλλάζει ανάλογα με τη θερμοκρασία και τη σύσταση του υγρού. Στον οίνο, η συγκέντρωση οξυγόνου που μπορεί να επιτευχθεί σε κορεσμό στους 20 °C και σε ατμοσφαιρική πίεση 1 atm, είναι 8,4 mg/L.<sup>8</sup>

Η θερμοκρασία έχει ισχυρή επίδραση στη διαλυτότητα του οξυγόνου στον οίνο. Οι χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνουν τη διαλυτότητα του οξυγόνου, ενώ οι υψηλές

θερμοκρασίες έχουν το αντίθετο αποτέλεσμα. Περίπου μια μείωση της θερμοκρασίας κατά 5°C προκαλεί την αύξηση κατά 10% στη διαλυτότητα του οξυγόνου. Επίσης, η περιεκτικότητα σε αιθανόλη επηρεάζει τη διαλυτότητα του οξυγόνου. Μικρή αύξηση της αλκοόλης προκαλεί μικρή μείωση της διαλυτότητας (όπως στην περίπτωση του κρασιού) και αυξάνεται σημαντικά για αλκοόλ μεγαλύτερο από 30 % v/v (όπως στην περίπτωση των οινοπνευματωδών ποτών). Επιπλέον, η διαλυτότητα του οξυγόνου μπορεί επίσης να επηρεαστεί ελαφρώς από το στερεό υπόλειμμα. Οι οίνοι με περισσότερο στερεό υπόλειμμα έχουν γενικά λίγο χαμηλότερη διαλυτότητα.<sup>9</sup>

Ο ρυθμός διάλυσης του οξυγόνου καθορίζεται από το νόμο του Fick :

$$dC/dt = D \cdot a(C - C_1)$$

Όπου:

$C$  είναι η συγκέντρωση του αερίου (mol/L) σε ισορροπία (που σχετίζεται με τη μερική πίεση στο νόμο του Henry),  $C_1$  είναι η αρχική συγκέντρωση του διαλυμένου αερίου (mol/L),  $D$  συντελεστής διάχυσης των μορίων,  $a$  η επιφάνεια του υγρού σε επαφή με τον αέρα.

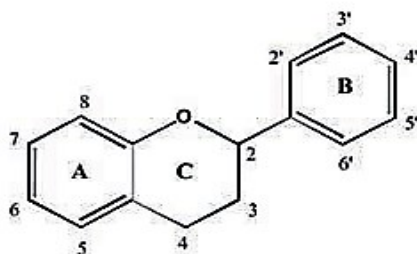
Επομένως, ο ρυθμός διάλυσης του οξυγόνου είναι ευθέως ανάλογος τόσο με την επιφανειακή επαφή υγρού-αερίου όσο και με την αρχική συγκέντρωση του αερίου στο υγρό. Ειδικότερα, η διάλυση του οξυγόνου είναι ταχύτερη καθώς αυξάνεται η επιφάνεια του υγρού και μειώνεται η αρχική συγκέντρωση του οξυγόνου.

### 1.2.3. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΟΞΥΓΟΝΟ

Οι φαινολικές ενώσεις ανήκουν στα κύρια υποστρώματα οξείδωσης στον οίνο. Η ελεγχόμενη οξείδωση (πχ με μικροοξυγόνωση) μπορεί να βελτιώσει την οργανοληπτική αίσθηση κάποιων οίνων, ενισχύοντας και σταθεροποιώντας το χρώμα και μειώνοντας τη στυπτικότητα. Αυτό συμβαίνει λόγω του πολυμερισμού που προκαλεί το οξυγόνο στις φαινολικές ενώσεις, δημιουργώντας έτσι μεγάλα και όχι τόσο στυπτικά μόρια. Τα φαινολικά συστατικά που προέρχονται από τα σταφύλια μπορούν να χωριστούν ουσιαστικά σε φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή ενώσεις. Τα φλαβονοειδή χαρακτηρίζονται από έναν πυρήνα φλαβύλιου, που αποτελείται από δύο

βενζολικούς δακτυλίους (A και B) συνδεδεμένοι με έναν δακτύλιο πυρυλίου (C). Οι διαφορές στον βαθμό οξείδωσης του ετεροκυκλικού δακτυλίου (C) και στις υδροξυλομάδες και μεθοξυλομάδες των τριών δακτυλίων, οδηγούν σε διαφορετικές οικογένειες φλαβονοειδών με ουσιαστικές χημικές διαφορές. Οι αντιδράσεις οξείδωσης μπορούν να συμβάλουν στην παραγωγή πολυμερών μεταξύ των φλαβονολών. Τα πιο σημαντικά φλαβονοειδή στον οίνο είναι οι ανθοκυάνες (μαλβιδίνη, κυανιδίνη, πεονιδίνη, πετουνιδίνη, δελφινιδίνη), φλαβαν-3-όλες (κατεχίνη, επικατεχίνη, τανίνες) και φλαβονόλες (κεμπφερόλη, κερκετίνη, μυρικετίνη).<sup>10</sup>

Η συγκέντρωση των φλαβονοειδών στον οίνο επηρεάζεται έντονα από τις πρακτικές οινοποίησης. Οι φλαβονόλες είναι η φαινολική ομάδα που υπάρχει σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις τόσο στα σταφύλια όσο και στους οίνους, με 1-3 mg/L στους λευκούς και περίπου 100 mg/L στους ερυθρούς. Οι φλαβονόλες περιλαμβάνουν φλαβανό-3-όλες (κατεχίνες) και φλαβαν-3,4-διόλες. Διαφορετικοί υποκαταστάτες -H και -OH στον δακτύλιο B δίνουν διαφορετικά μόρια: (+)-γαλλοκατεχίνη, (-)-επιγαλλοκατεχίνη, (+)-κατεχίνη, (-)-επικατεχίνη. Μόνο τα τρία τελευταία υπάρχουν στους οίνους. Αυτά τα μόρια μπορούν να συνδεθούν μέσω δεσμών C4/C6 και C4/C8 για να σχηματίσουν



Εικόνα 2: Μόριο φλαβονοειδών.

διμερή, τριμερή και ολιγομερή, τις φλαβάνες ή τις προανθοκυανιδίνες. Ένας περαιτέρω πολυμερισμός οδηγεί σε συμπυκνωμένες τανίνες. Η ποσότητα των προανθοκυανιδινών ή συμπυκνωμένων ταννινών κυμαίνεται από 1 g/L έως 4 g/L στους ερυθρούς οίνους, ενώ στους λευκούς οίνους είναι της τάξης των 100 mg/L και επηρεάζεται από τη σύνθεση των ποικιλιών και από τις τεχνικές οινοποίησης. Όσον αφορά τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά αυτών των ενώσεων, οι μονομερείς κατεχίνες είναι πικρές, ενώ τα πολυμερή τους είναι στυπτικά. Οι ανθοκυάνες προέρχονται από τον φλοιό ερυθρών ποικιλιών, όπου στον οίνο παρουσιάζουν συγκέντρωση που κυμαίνεται από 100mg/L έως πάνω από 1000 mg/L και είναι υπεύθυνες για το χρώμα.<sup>11</sup>

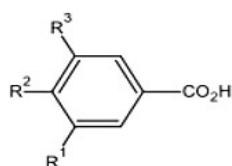
Οι μη φλαβονοειδείς ενώσεις εμφανίζονται σε υψηλότερη συγκέντρωση στο γλεύκος, επομένως, είναι τα κύρια φαινολικά μόρια στους λευκούς οίνους που δεν έχουν έρθει σε επαφή με τους φλοιούς. Η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται από 50-250 mg/L, ανάλογα με την ποικιλία και τις τεχνικές οινοποίησης. Τα μη φλαβονοειδή είναι κυρίως υδροξυβενζοϊκά και υδροξυκιναμωμικά παράγωγα, τα περισσότερα είναι εστεροποιημένα, κυρίως με τρυγικό οξύ, ενώ κάποια είναι ενωμένα με γλυκόζη. Οι εστέρες αυτοί είναι ιδιαίτερα ευοξειδωτά συστατικά του γλεύκους και ευθύνονται για το καφέτιασμα των λευκών γλευκών. Τα κιναμωμικά οξέα συνδυάζονται με ανθοκυανικούς μονογλυκοζίτες, προς σχηματισμό ακυλιωμένων ανθοκυανών, μέσω της εστεροποίησης του καφεϊκού και του *p*-κουμαρικού οξέος με τη γλυκόζη του γλυκοζίτη. Τα φαινολικά οξέα είναι άχρωμα όταν βρίσκονται σε αλκοολικό διάλυμα, αλλά αποκτούν κίτρινο χρώμα όταν οξειδωθούν. Δεν έχουν ιδιαίτερη γεύση ή οσμή, αλλά αποτελούν πρόδρομες ενώσεις πτητικών φαινολών που παράγονται από κάποιους μικροοργανισμούς. Οι αιθυλφαινόλες έχουν οσμές ζώου και απαντώνται σε ερυθρούς οίνους. Σε λευκούς οίνους υπάρχουν βινυλφαινόλες και βινυλγουαϊακόλες. Οι ενώσεις αυτές προέρχονται από το *p*-κουμαρικό και το φερουλικό οξύ. Μια άλλη κατηγορία μη φλαβονοειδών στο σταφύλι είναι τα στιλβένια, με πιο γνωστή την *trans*-ρεσβερατρόλη.<sup>10</sup>

Μια άλλη κύρια πηγή φαινολικών στον οίνο είναι από το ξύλο, όταν έρχονται σε επαφή με αυτό κατά τη ζύμωση και ιδιαίτερα κατά την παλαίωση. Αυτές οι φαινολικές ενώσεις δεν είναι φλαβονοειδή και ονομάζονται υδρολυόμενες τανίνες επειδή μπορούν να υδρολυθούν και να σχηματίσουν γαλλικό ή ελλαγικό οξύ. Οι υδρολυόμενες τανίνες είναι εστέρες γαλλικού οξέος (γαλλοτανίνες) και ελλαγικού οξέος (ελλαγιτανίνες) με γλυκόζη ή και άλλα σάκχαρα.<sup>7</sup>

Η επίδραση της προσθήκης οξυγόνου στους ερυθρούς, περιλαμβάνει μείωση σε ορισμένες φαινολικές ενώσεις όπως (+)-κατεχίνη, (-)-επικατεχίνη, κερσετίνη, καφεϊκό οξύ και ανθοκυάνες, και αύξηση των ερυθρών πολυμερών χρωστικών που βελτιώνουν την σταθερότητα του χρώματος του. Οι κατεχόλες οξειδώνονται σε κινόνες με τη διαδοχική μεταφορά δύο ατόμων υδρογόνου. Διαφορετικά φαινολικά μόρια έχουν διαφορετική τάση να οξειδώνονται. Το δυναμικό αναγωγής κάθε φαινολικής ένωσης προσδιορίζεται κυρίως από την δομή του δακτυλίου και οφείλεται στις επιδράσεις των υποκαταστατών, στην πυκνότητα και την κατανομή των ηλεκτρονίων στους

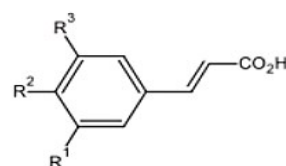
αρωματικούς δακτύλιους. Οι ηλεκτρονιοδότες -OH, -OMe, -Me, έχουν χαμηλότερο δυναμικό αναγωγής από τους ηλεκτρονιοδέκτες -COMe ή -CO<sub>2</sub>Et.<sup>10</sup>

#### Derivates of benzoic and cinnamic acid



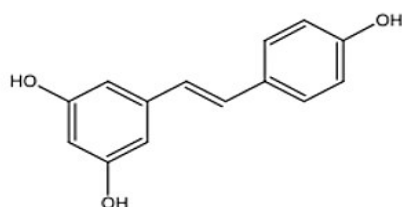
**Benzoic acid**  
*p*-Hydroxybenzoic acid  
 Protocatechuic acid  
 Vanillic acid  
 Gallic acid  
 Syringic acid

R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
H	H	H
H	OH	H
OH	OH	H
OCH <sub>3</sub>	OH	H
OH	OH	OH
OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>



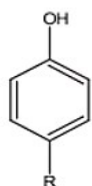
**Cinnamic acid**  
*p*-Coumaric acid  
 Caffeic acid  
 Ferulic acid  
 Sinapic acid

#### Stilbenes

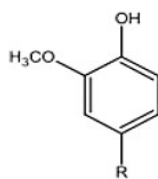


*trans*-Resveratrol

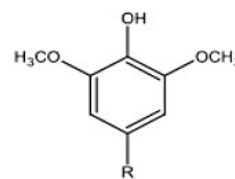
#### Volatile Phenols



**Ethylphenol** (*R*=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)  
**Vinylphenol** (*R*=CHCH<sub>2</sub>)



**Guaiacol** (*R*=H)  
**Methylguaiacol** (*R*=CH<sub>3</sub>)  
**Ethylguaiacol** (*R*=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)  
**Vinylguaiacol** (*R*=CHCH<sub>2</sub>)



**Syringol** (*R*=H)  
**Methylsyringol** (*R*=CH<sub>3</sub>)

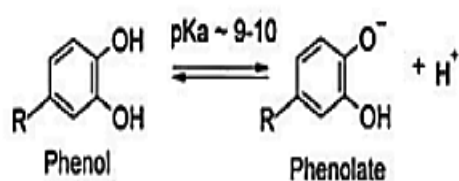
Εικόνα 3: Μη φλαβονοειδή ενώσεις του οίνου.

### 1.2.4 ΧΗΜΙΚΗ ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ

Οξείδωση είναι η χημική διαδικασία κατά την οποία ένα ηλεκτρόνιο αφαιρείται από ένα άτομο ή μόριο. Αντίθετα, αναγωγή είναι η χημική διαδικασία κατά την οποία ένα ηλεκτρόνιο προστίθεται σε ένα άτομο ή μόριο. Αυτές οι διεργασίες μπορεί να περιλαμβάνουν την προσθήκη ή αφαίρεση οξυγόνου και αφαίρεση ή προσθήκη υδρογόνου.

Στον οίνο, αν δεν έχει γίνει κάποια προσθήκη αντιοξειδωτικού, τα πρώτα μόρια που οξειδώνονται είναι οι φαινολικές ενώσεις, μια διαδικασία που ξεκινά μια αλυσίδα χημικών μετασχηματισμών. Δύο είναι οι πιθανές οδοί της φαινολικής οξείδωσης: α) η

απευθείας οξείδωση των φαινολών, που συμβαίνει σε υψηλό pH, και β) η αλυσιδωτή αντίδραση οξείδωσης που καταλύεται από μέταλλα. Το τελικό προϊόν και των δύο είναι το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Η πρώτη οδός εμφανίζεται σε συνθήκες υψηλού pH, όπου ο ασθενής όξινος χαρακτήρας των φαινολών (pKa 9-10) τους επιτρέπει να σχηματίσουν φαινολικό ανιόν που μπορεί να αντιδράσει άμεσα με το οξυγόνο. Η απομάκρυνση ενός ηλεκτρονίου από τη φαινολική ένωση οδηγεί στο σχηματισμό μιας ημικινόνης, η οποία οξειδώνεται περαιτέρω στην αντίστοιχη κινόνη. Σε pH 9-10, η φαινόλη υπάρχει ως φαινολικό ιόν σε ποσοστό πάνω από 50%, όπου τότε η οξείδωση είναι πολύ γρήγορη και τελειώνει σε 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (**Εικόνα 4**).<sup>12</sup>

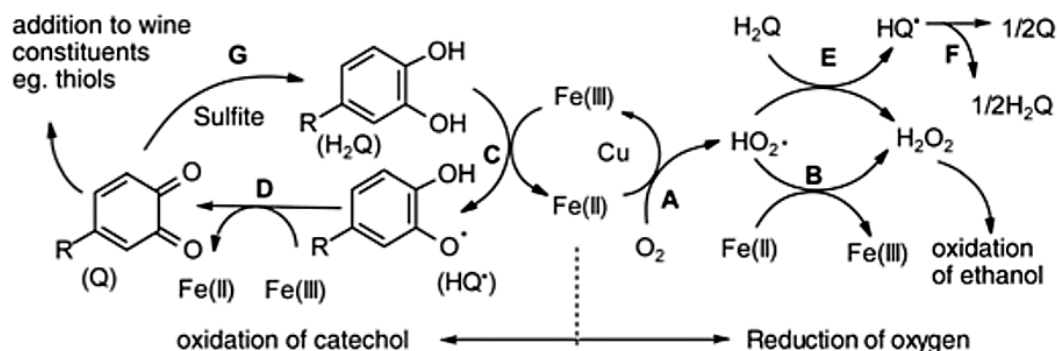


Εικόνα 4: Ισορροπία φαινόλης-φαινολικού ιόντος.<sup>12</sup>

Η οξείδωση είναι ευκολότερη σε ένα φαινολικό ιόν παρά στην πρωτονιωμένη φαινόλη. Ωστόσο, δεδομένου ότι ο οίνος έχει χαμηλό pH 3-4 και τα φαινολικά έχουν υψηλό pKa, μόνο ένα μικρό κλάσμα φαινολικών αποπρωτονιώνεται ακολουθώντας αυτό το μονοπάτι οξείδωσης, που θεωρείται αμελητέο. Όσον αφορά τη δεύτερη οδό, τα πιο γρήγορα υποστρώματα οξείδωσης του οίνου είναι τα παράγωγα κατεχόλης με φαινολικές ιδιότητες, όπως το καφεϊκό οξύ, (-)-επικατεχίνη, (+)-κατεχίνη, (+)-γαλλοκατεχίνη, γαλλικό οξύ και οι εστέρες τους.<sup>13</sup> Το οξυγόνο στην κανονική του τριπλή κατάσταση, με δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια ριζών σε διαφορετικά τροχιακά, δεν μπορεί να αντιδράσει άμεσα με τις πολυφαινόλες. Όμως, μπορεί να ενεργοποιηθεί με την

πρόσληψη ηλεκτρονίων από μέταλλα ή ελεύθερες ρίζες για να μετατραπεί σε μορφή χωρίς ασύζευκτα ηλεκτρόνια.

Η οξειδωτική διαδικασία ξεκινά, λοιπόν, με την οξείδωση του Fe(II) σε Fe(III) με οξυγόνο, μια διαδικασία που επιταχύνεται παρουσία χαλκού. Η αναγωγή του οξυγόνου με ένα ηλεκτρόνιο παράγει ρίζα υδροϋπεροξυλίου (**Εικόνα 5, αντίδραση A**) και ένα επιπλέον ιόν Fe(II) συμμετέχει στην οξειδωτική διαδικασία αυτής της ρίζας σε

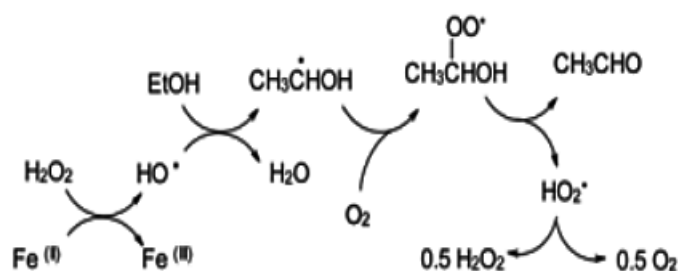


**Εικόνα 5:** Προτεινόμενος μηχανισμός για την αναγωγή του οξυγόνου σε υπεροξειδίο του υδρογόνου σε συνδυασμό με την οξείδωση μιας κατεχόλης (H<sub>2</sub>Q) σταδιακά σε ημικινόνη (HQ•) και κινόνη (Q) που προκαλείται από τον οξειδοαναγωγικό κύκλο του Fe.<sup>14</sup>

υπεροξειδίο του υδρογόνου (**Εικόνα 5, αντίδραση B**). Τα ιόντα σιδήρου Fe(III) που λαμβάνονται από αυτές τις αντιδράσεις αντιδρούν με κατεχόλες, οξειδώνοντάς τις πρώτα στις ημικινόνες και μετά στις κινόνες (**Εικόνα 5, αντιδράσεις C και D**). Όταν η οξείδωση των ιόντων σιδήρου είναι γρήγορη και είναι πιθανό να φτάσει σε ισορροπία, η οξείδωση κατεχολών από ιόντα σιδήρου δεν λαμβάνει χώρα φυσικά σε σημαντικό ρυθμό. Χρειάζεται την παρουσία μορίων που μπορούν να αντιδράσουν γρήγορα με τις κινόνες και να προάγουν μια ισορροπία που διαφορετικά είναι δύσκολο να επιτευχθεί. Αυτές οι ουσίες έχουν ονομαστεί ως «πυρηνόφιλα», τα οποία έχουν ελεύθερα ηλεκτρόνια (όπως το SO<sub>2</sub>) και προσελκύουν θετικά φορτισμένα. Οι κατεχόλες είναι οι κύριες ουσίες που αντιδρούν με τη ρίζα υδροϋπεροξυλίου παράγοντας υπεροξειδίο του υδρογόνου και ημικινόνη (**Εικόνα 5, αντίδραση E**), η οποία ημικινόνη σταδιακά μετατρέπεται σε κινόνη και κατεχόλη (**Εικόνα 5, αντίδραση F**).<sup>14</sup>



Το δεύτερο μέρος της οξειδωτικής διαδικασίας αφορά την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου από ιόντα σιδήρου για την παραγωγή ρίζας υδροξυλίου (OH) (αντίδραση Fenton), ένα ισχυρό οξειδωτικό, ικανό να οξειδώνει τα περισσότερα οργανικά συστατικά. Επομένως, τα κύρια υποστρώματα είναι η αιθανόλη και το τρυγικό οξύ, τα οποία παράγουν αντίστοιχα ακεταλδεΐδη και γλυοξυλικό οξύ.



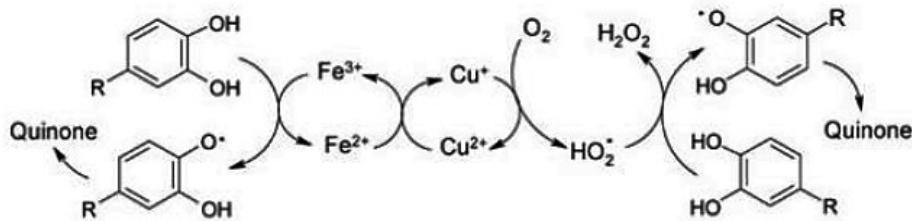
Εικόνα 6: Οξείδωση της αιθανόλης από το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η αντίδραση Fenton και η εμπλοκή του οξυγόνου στην επαναδημιουργία του υπεροξειδίου του υδρογόνου.<sup>14</sup>

Το αποτέλεσμα της όλης διαδικασίας οξείδωσης είναι η αναγωγή του οξυγόνου σε νερό, με την προσθήκη τεσσάρων ηλεκτρονίων και την οξείδωση δύο ιόντων σιδήρου για κάθε οξυγόνο που αντιδρά. Η αναγωγή ολοκληρώνεται με τη μεταφορά δύο ηλεκτρονίων. Ταυτόχρονα δύο ιόντα σιδήρου(III) ανάγονται σε ιόντα σιδήρου(II), οξειδώνοντας την κατεχόλη και ολοκληρώνοντας τη διαδικασία ανακύκλωσης.<sup>15</sup>

Όπως προαναφέρθηκε, οι φαινόλες μπορούν να υπάρχουν είτε ως φαινόλες είτε ως φαινολικά ανιόντα αναλόγως το pH. Σε pH 4, υπάρχουν 10 φορές περισσότερα φαινολικά ανιόντα από ότι σε pH 3 και ο ρυθμός οξείδωσης τους είναι 10 φορές ταχύτερος. Αυτό μπορεί να εξηγήσει γιατί οι οίνοι με υψηλό pH από ζεστές σοδειές, ακόμα κι αν έχουν σωστή ωρίμανση, οξειδώνονται εύκολα και γρήγορα. Διαφορετικά φαινολικά μόρια έχουν διαφορετική συμπεριφορά σε υψηλό pH. Το καφεϊκό οξύ και το γαλλικό οξύ είναι λιγότερο σταθερά ως προς την αποικοδόμηση, από την (-)-επικατεχίνη και (+)-κατεχίνη. Οι μοριακές δομές μπορούν να εξηγήσουν τη διαφορετική συμπεριφορά: η (+)-κατεχίνη και η (-)-επικατεχίνη δεν είναι επίπεδα και τα p ηλεκτρόνια των δύο δακτυλίων βενζολίου δεν μπορούν να αλληλοεπιδράσουν μεταξύ τους λόγω σύζευξης. Οι χωρικές διατάξεις των ομάδων -OH και των ηλεκτρονίων p επηρεάζουν την έκταση της επικάλυψης των τροχιακών p και, κατά συνέπεια, την ευαισθησία του σε χημικές αλλαγές.<sup>13</sup>

Η μέση συγκέντρωση σιδήρου και χαλκού στους οίνους κυμαίνεται από 2,70 έως 8,80 mg/L και 0,10 έως 0,36 mg/L αντίστοιχα. Αυτά τα μέταλλα στην οινολογία είναι κυρίως γνωστά ως πηγές αστάθειας του οίνου.<sup>11</sup> Η σημασία του σιδήρου (Fe) και του χαλκού (Cu) ως καταλύτες οξείδωσης του οίνου είναι γνωστή εδώ και πολύ καιρό. Στη διδακτορική του διατριβή, ο Ribereau-Gayon ανέφερε ότι όταν ένας οίνος ήταν για πολύ καιρό προστατευμένος από τον αέρα, ο Fe υπήρχε στη σιδηρούχα κατάσταση, Fe (II). Ωστόσο, όταν ο λευκός οίνος ήταν κορεσμένος με αέρα, το O<sub>2</sub> καταναλωνόταν γρήγορα για να οξειδώσει το Fe (II) σε Fe (III). Κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η συγκέντρωση του Fe (III) εξαρτιόταν τόσο από τον ρυθμό σχηματισμού από την αντίδραση του Fe (II) με το O<sub>2</sub> όσο και από τον ρυθμό απορρόφησης του από τα συστατικά του οίνου. Εφόσον ο Fe(III) επέστρεφε στην κατάσταση του Fe(II) καθώς μειώθηκαν οι συγκεντρώσεις O<sub>2</sub>, συμπέρανε ότι η οξείδωση του οίνου περιλάμβανε τον κύκλο οξειδοαναγωγής του σιδήρου που δρα ως ενδιάμεσο οξειδωτικό.

Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι το οξυγόνο δεν μπορεί να αντιδράσει άμεσα με τα συστατικά του οίνου χωρίς τη βοήθεια ιόντων σιδήρου και ιχνών χαλκού, τα οποία δρουν ως καταλύτες. Η ανάγκη καταλυτικών μορίων οφείλεται στην ηλεκτρονική διαμόρφωση του οξυγόνου στην τριπλή βασική του κατάσταση. Δεδομένου ότι το οξυγόνο περιέχει ασύζευκτα ηλεκτρόνια, δεν μπορεί να δεχτεί ηλεκτρόνια από ουσίες που περιέχουν ζεύγη ηλεκτρονίων, όπως πολυφαινόλες και θειώδη, αλλά δέχεται ηλεκτρόνια αντιδρώντας με μέταλλα μετάπτωσης και ελεύθερες ρίζες. Ο Ribereau-Gayon και οι συνεργάτες του το 2000, έδειξαν ότι η οξείδωση των θειωδών ήταν σημαντικά γρηγορότερη με παρουσία Fe και η δράση του ενισχύθηκε περαιτέρω με παρουσία Cu. Η επιταχυντική επίδραση του χαλκού στην οξείδωση του σιδήρου υποδηλώνει ότι ο χαλκός διευκολύνει τον κύκλο οξειδοαναγωγής του Fe(II)/Fe(III). Η σημασία των μετάλλων υποστηρίζεται επίσης από μελέτες που δείχνουν ότι ο ρυθμός οξείδωσης των λευκών οίνων θα μπορούσε να επιβραδυνθεί και τελικά να σταματήσει με την προοδευτική απομάκρυνση του Fe και του Cu με σιδηροκυανιούχο κάλιο.<sup>11</sup>



Εικόνα 7: Προτεινόμενη καταλυτική δράση του σιδήρου και του χαλκού στην οξείδωση των κατεχολών για την παραγωγή κινονών και υπεροξειδίου του υδρογόνου.<sup>16</sup>

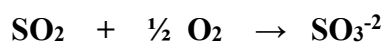
## 1.3 ANΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

### 1.3.1 ΓΕΝΙΚΑ

Παρά το γεγονός ότι οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην οξείδωση του οίνου έχουν αναθεωρηθεί σημαντικά, η προστασία του οίνου από την οξειδωτική αλλοίωση όμως παραμένει ένας από τους κύριους στόχους της σύγχρονης οινοποίησης. Στις μέρες μας, υπάρχουν διάφορες ουσίες πιστοποιημένες από τον OIV (International Organization of Vine and Wine) που λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά του οίνου. Η χρήση του διοξειδίου του θείου (SO<sub>2</sub>) είναι γνωστή πριν τα τέλη του 18<sup>ου</sup> αιώνα. Από τότε θεωρείται σχεδόν αναντικατάστατη προσθήκη στα σταφύλια, στο γλεύκος και στον οίνο. Τα τελευταία χρόνια μία άλλη προσθήκη ενός ισχυρά αναγωγικού μορίου είναι το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) προστιθέμενο κυρίως σε λευκούς ή ροζέ οίνους. Επιπροσθέτως, η γλουταθειόνη, η οποία βρίσκεται στα κύτταρα των ζυμών έχει αποδείξει τα τελευταία χρόνια και αυτή, την αντιοξειδωτική της ιδιότητα. Οι οινολογικές τανίνες που υπάρχουν στο εμπόριο, μπορούν επίσης να λειτουργήσουν επίσης ως αντιοξειδωτικό στον οίνο είτε αυτές προέρχονται από το ξύλο (ελλαγιτανίνες και γαλλοτανίνες) είτε από τα γίγαρτα (συμπυκνωμένες τανίνες). Τέλος, υπάρχουν και κάποια άλλα αντιοξειδωτικά όπως εκχυλίσματα αδρανοποιημένων ζυμών που μπορεί να περιέχουν και γλουταθειόνη.

### 1.3.2. ΘΕΙΩΔΕΣ

Το διοξείδιο του θείου (SO<sub>2</sub>) είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο πρόσθετο για τη συντήρηση των οίνων, λόγω των αντιοξειδωτικών, αντιοξειδασικών και αντισηπτικών ιδιοτήτων του. Οι ζύμες παράγουν μικρές ποσότητες SO<sub>2</sub> κατά τη ζύμωση, οι οποίες σπάνια ξεπερνούν τα 10 mg/l, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να φτάσουν τα 30 mg/l. Το θειώδες οξύ ως αναγωγικό πρόσθετο μπορεί να παρεμποδίσει αντιδράσεις του μοριακού οξυγόνου με τα ευοξειδωτα συστατικά του οίνου. Παρουσία καταλυτών δεσμεύεται με το διαλυμένο οξυγόνο σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



Αυτή η αντίδραση είναι αργή. Προστατεύει τους οίνους από χημικές οξειδώσεις και συμβάλλει στη δημιουργία ενός αρκετά χαμηλού δυναμικού οξείδωσης-αναγωγής, ευνοώντας την ομαλή εξέλιξη του αρώματος και της γεύσης του οίνου κατά την αποθήκευση και παλαίωση.<sup>10</sup> Επιπλέον, έχει αντιοξειδασικές ιδιότητες, καθώς αναστέλλει τη λειτουργία κάποιων οξειδωτικών ενζύμων (πχ. πολυφαινολοξειδάση) και μπορεί να εξασφαλίσει την καταστροφή τους παροδικά. Τέλος, οι αντισηπτικές του ιδιότητες οφείλονται στην αναστολή ανάπτυξης μικροοργανισμών με μεγαλύτερη δράση στα βακτήρια παρά στις ζύμες. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις, η αναστολή είναι παροδική, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις καταστρέφεται ένα ποσοστό του μικροβιακού πληθυσμού. Επιπροσθέτως, δεσμεύει την ακεταλδεϋδη και άλλες καρβονυλικές ενώσεις και με αυτό τον τρόπο προστατεύει το άρωμα των οίνων.

Οι προσθήκες που γίνονται στον οίνο εκφράζονται πάντα στην άνυδρη μορφή, σε mg/l ή σε ppm, ανεξάρτητα από τη μορφή που χρησιμοποιείται (αέριο ή υγρό διάλυμα διοξειδίου του θείου, όξινο θειώδες κάλιο (KHSO<sub>3</sub>) ή μεταδιθειώδες κάλιο (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Οι μορφές του θειώδη ανυδρίτη κατά την προσθήκη του στον οίνο είναι η ελεύθερη και η δεσμευμένη. Το ελεύθερο αφορά το ποσοστό του θειώδους που παραμένει ελεύθερο στον οίνο, μετά τη προσθήκη συγκεκριμένης ποσότητας θειώδους ανυδρίτη. Το ελεύθερο θειώδες οξύ στον οίνο διαμορφώνεται από τις εξής μορφές: SO<sub>2</sub>, HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Η μοριακή μορφή του SO<sub>2</sub> είναι αυτή που έχει την αντιμικροβιακή δράση απέναντι σε προσβολές από μικροοργανισμούς. Η ποσοτική παρουσία της μοριακής μορφής, στο ελεύθερο θειώδες οξύ, εξαρτάται από το pH του οίνου και είναι απαραίτητη λόγω της αποτελεσματικότητάς της, στην αντιοξειδωτική προστασία του. Μειωμένο pH στους

οίνους, αυξάνει την συγκέντρωση της μοριακής μορφής του θειώδους. Επίσης, η παρουσία του μοριακού θειώδους ενισχύεται με την αύξηση της θερμοκρασίας και του αλκοολικού τίτλου του οίνου. Η δεσμευμένη του μορφή χωρίζεται στην σταθερή (ακεταλδεΐδη) και στην μη σταθερή μορφή (πρωτεΐνες, ανθοκυάνες, πυροσταφυλικό οξύ, σάκχαρα). Γενικά, η παρουσία 0,8 mg/l ελευθέρου θειώδους οξέος, με την μοριακή του μορφή, στους οίνους, θεωρείται αποτελεσματική για την προστασία τους από διάφορες προσβολές.

Τα νομοθετικά όρια τη χρήσης του θειώδους που έχει ορίσει ο ΟΙV είναι:

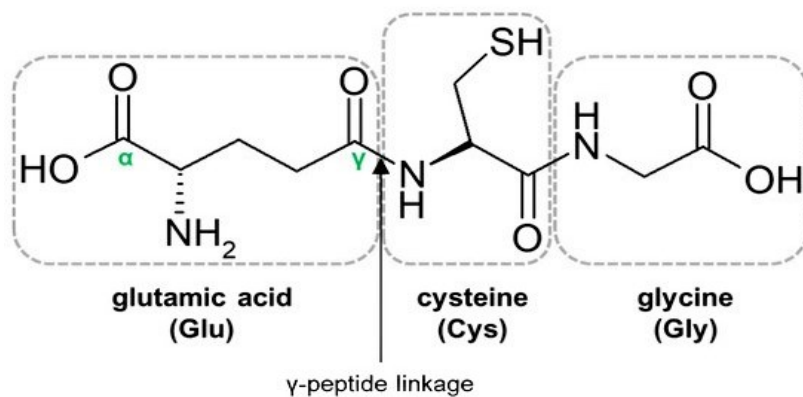
Οργανισμός	Οίνος	Όρια (mg/l)
ΟΙV	Ερυθρός <4g/l	150
	Λευκός/Ροζέ <4g/l	200
	Ερυθρός/Λευκός/Ροζέ >4g/l	300
	Γλυκός/Ειδικές κατηγορίες	400

Πίνακας 1: Όρια ΟΙV για το θειώδες στους οίνους<sup>17</sup>

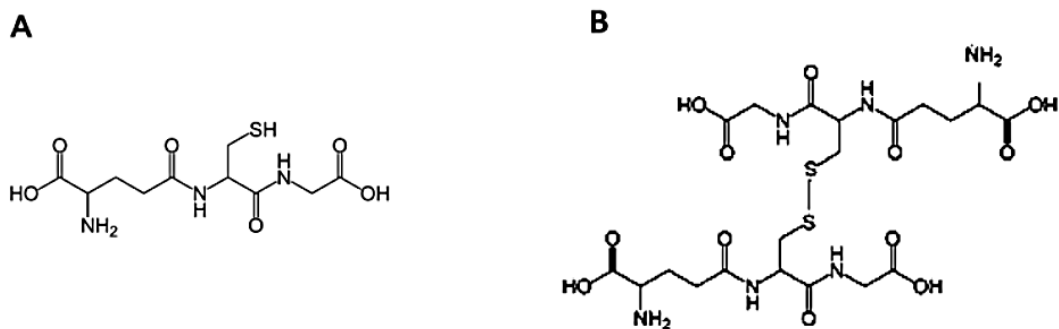
Η χρήση του θειώδους ανυδρίτη στην οινοποίηση εγείρει προβληματισμούς που σχετίζονται με την πιθανή τοξικότητα του στον ανθρώπινο οργανισμό. Για πρόσληψη 1,5 g SO<sub>2</sub>/Kg σωματικού βάρους, τέσσερις επιπλοκές έχουν αναφερθεί: α) Μείωση της θειαμίνης (βιταμίνη Β) λόγω της καταστροφής της από το θειώδες οξύ, β) ιστοπαθολογικές επιπλοκές στομάχου, γ) επιβράδυνση της ανάπτυξης, δ) αναπνευστικά προβλήματα σε καταναλωτές με χρόνια άσθμα. Έτσι ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, καθόρισε τα ανώτατα επιτρεπτά όρια ημερήσιας πρόσληψης θειώδους οξέος, ανά Kg σωματικού ανθρώπινου βάρους στα 0,7 mg SO<sub>2</sub>/Kg σωματικού βάρους.<sup>18</sup>

### 1.3.3. ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗ

Η γλουταθειόνη είναι ένα τριπεπίδιο από την L-κυστεΐνη, γλυκίνη και L-γλουταμίνη.



Εικόνα 8: Το τριπεπτίδιο της γλουταθειόνης.



Εικόνα 9: Μοριακές δομές Α) Γλουταθειόνης και Β) δισουλφιδικής γλουταθειόνης.

Η βιολογική της σημασία βασίζεται στις ελεύθερες σουλφιδικές μονάδες της κυστεΐνης που προσδίδει αντιοξειδωτικές και πυρηνόφιλες ιδιότητες. Στα ζώντα κύτταρα περιέχεται πάνω από 90% με την ανηγμένη της μορφή (GSH).<sup>19</sup> Κατά την οξείδωση της μετατρέπεται σε δισουλφιδική γλουταθειόνη (GSSG), όπου με παρουσία NADPH ανάγεται ξανά σε γλουταθειόνη.<sup>21</sup> Την εντοπίζουμε σε πολλούς οργανισμούς, φυτά και θηλαστικά, σε φυσιολογικούς και βιοχημικούς ρόλους ως αντιοξειδωτικό και αποτοξινωτικό.<sup>20</sup>

Η γλουταθειόνη (GSH) είναι σημαντικό συστατικό των σταφυλιών, των γλευκών και των οίνων. Η ποσοτικοποίηση της στα σταφύλια έγινε για πρώτη φορά το 1989.<sup>21</sup> Η συγκέντρωση της στα σταφύλια κυμαίνεται από μερικές δεκάδες έως μερικές εκατοντάδες  $\mu\text{mol/kg}$ . Η ποσότητα στον οίνο εξαρτάται από το στέλεχος του ζυμομύκητα, την ποικιλία, την χρονιά, την τοποθεσία και τις οινολογικές πρακτικές.<sup>22</sup>

Επίσης, εξαρτάται και από τις ποσότητες του αζώτου στο σταφύλι αλλά και στην διάρκεια της ζύμωσης.

Κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, μία μείωση της γλουταθειόνης είναι φυσιολογική καθώς την χρησιμοποιούν οι ζύμες, αλλά μετά το τέλος της ζύμωσης λόγω της αυτόλυσης τους αυξάνεται η περιεκτικότητα σε αυτήν ξανά.<sup>21</sup> Η περιεκτικότητα σε GSH στον οίνο μπορεί επίσης να επηρεαστεί από το στέλεχος του ζυμομύκητα που χρησιμοποιείται για την αλκοολική ζύμωση. Γενικά, η περιεκτικότητα GSH στους οίνους είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με την περιεκτικότητα στα αντίστοιχα σταφύλια που προήλθε ο οίνος.<sup>23</sup> Όμως, σε σταφύλια φτωχά σε GSH, υπάρχει πιθανότητα υψηλότερης συγκέντρωσης στον αντίστοιχο οίνο λόγω απελευθέρωσης της από τους ζυμομύκητες. Επιπλέον, η συγκέντρωση της μειώνεται κατά την παλαίωση και ο ρυθμός μείωσης της επηρεάζεται από τη διαφορετική έκθεση στο οξυγόνο. Επομένως, η συγκέντρωση της γλουταθειόνης επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις τεχνικές οινοποίησης και την έκθεση της στο οξυγόνο κατά την όλη διαδικασία οινοποίησης και παλαίωσης.

Η σημασία και ο ρόλος της γλουταθειόνης στην οινολογία έχει μελετηθεί πρώτα από όλα για την επίδρασή της στον έλεγχο των οξειδωτικών φαινομένων στους οίνους. Έχει, πράγματι, αντιοξειδωτική δράση τόσο στο χρώμα όσο και σε αρκετές αρωματικές ενώσεις του οίνου.<sup>21</sup> Θεωρείται ότι ο σημαντικός ρόλος που διαδραματίζει για την πρόληψη της οξείδωσης του γλεύκους αφορά την απομάκρυνση των ο-κινονών που σχηματίζονται από την οξείδωση των φαινόλων και συνεπώς στον περιορισμό του καφετιάσματος του οίνου. Αυτό συμβαίνει, καθώς η GSH με την μερκαπτοομάδα της χρησιμεύει ως ένα πλούσιο σε ηλεκτρόνια πυρηνόφιλο και υποκαθιστά τον ηλεκτρόφιλο δακτύλιο του καφταρικού οξέος. Το προϊόν αυτό, ένας θειοαιθέρας γνωστός ως 2-S-γλουταθειονυλοκαφταρικό οξύ ή προϊόν αντίδρασης σταφυλιού (GRP), που δεν οξειδώνεται περαιτέρω. Με αυτόν τον τρόπο, η γλουταθειόνη παγιδεύει τις ο-κινόνες σε άχρωμη μορφή και ο σχηματισμός καφέ πολυμερών περιορίζεται.<sup>22</sup>

Έχει επίσης μελετηθεί, ο ρόλος της γλουταθειόνης στην διατήρηση του αρώματος ενός οίνου και ειδικότερα στους εστέρες και στα τερπένια. Αυτή η προστασία οφείλεται στην ελεύθερη υδροθειομάδα (SH), η οποία προσδίδει οξειδοαναγωγικές και πυρηνόφιλες ιδιότητες. Επιπλέον, ορισμένες μελέτες έχουν δείξει έναν βασικό ρόλο

που διαδραματίζει η GSH στην προστασία των πτητικών θειολών (μόρια υψηλής οξειδωσης), καθώς τις προστατεύουν από την αντίδραση τους με ο-κινόνες (αντίδραση προσθήκης Michael). Τέλος, η γλουταθειόνη είναι μια πιθανή πηγή H<sub>2</sub>S στους οίνους, από την αποικοδόμηση της κυστεΐνης σε H<sub>2</sub>S ή λόγω της αντιοξειδωτικής ικανότητας της, να προκαλεί αναγωγικές συνθήκες που προάγουν την παραγωγή H<sub>2</sub>S.<sup>24</sup>

Η επιτρεπόμενη προσθήκη γλουταθειόνης δεν πρέπει να ξεπερνά τα 20mg/l στον οίνο.<sup>25</sup>

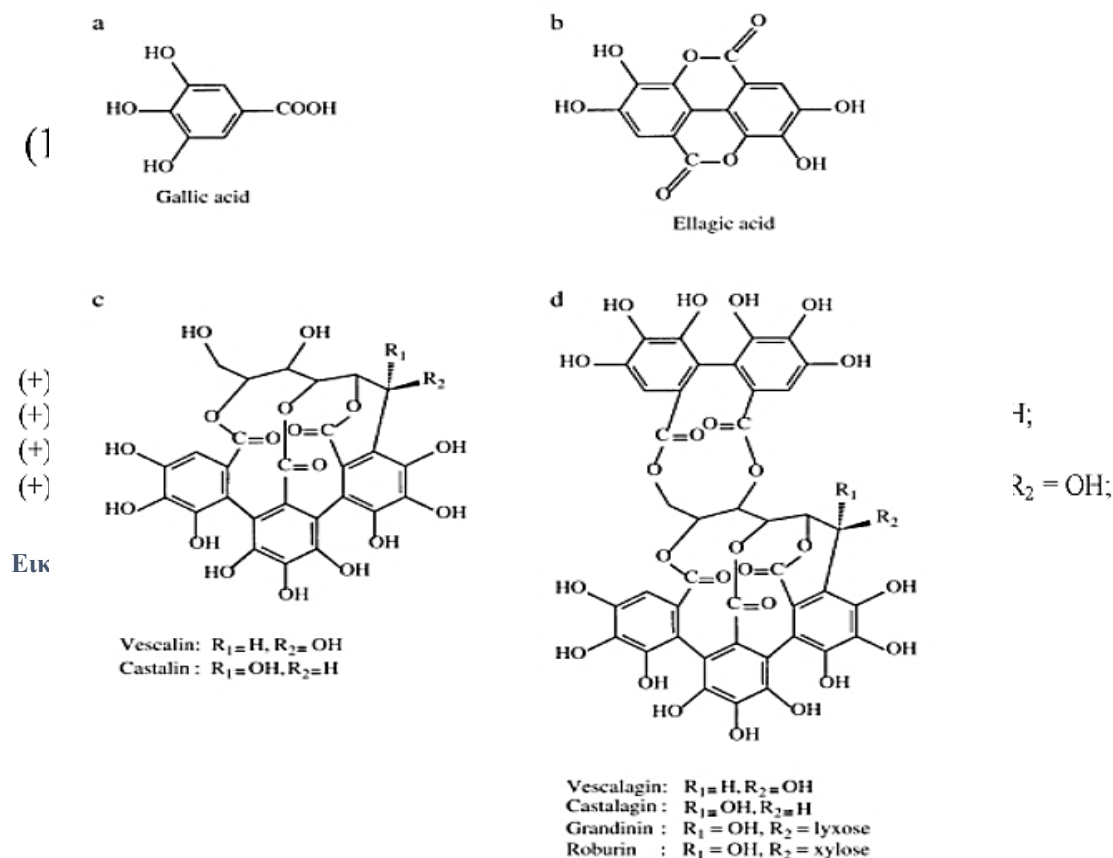
#### **1.3.4. ΟΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ TANNINES**

Στις μέρες μας, η χρήση οινολογικών ταννινών στην οινοποίηση είναι ευρέως γνωστή. Γίνεται για την αντιοξειδωτική και αντιοξειδασική τους δράση, για τη διαύγαση σε γλεύκη και οίνους, για την ικανότητα που έχουν να δημιουργούν χηλικές ενώσεις και να περιορίζουν το σιδήρου (II). Επίσης, βοηθούν στη βελτίωση της δομής και της αίσθησης του στόματος κάποιων οίνων, στην σταθεροποίηση του χρώματος των ερυθρών οίνων, καθώς και στη πρωτεϊνική σταθεροποίηση των οίνων.

Οι οινολογικές τανίνες περιέχουν πολυφαινόλες οι οποίες αποτελούνται από μονομερείς μονάδες συνδεδεμένες με ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ τους. Χωρίζονται σε συμπυκνωμένες και υδρολυόμενες τανίνες. Οι υδρολυόμενες τανίνες προέρχονται από βελανιδιές, καρυδιές ή καστανιές και περιλαμβάνουν τις ελλαγιτανίνες και τις γαλλοτανίνες, που με όξινη υδρόλυση απελευθερώνουν αντίστοιχα ελλαγικό οξύ και γαλλικό οξύ. Οι συμπυκνωμένες τανίνες ή αλλιώς προανθοκυανιδίνες, προέρχονται από φλοιούς και γίγαρτα σταφυλιών και περιλαμβάνουν πολυμερισμένα μόρια φλαβανολών (κατεχίνης, επικατεχίνης, γαλλοκατεχίνης, επιγαλλοκατεχίνης, γαλλικής κατεχίνης, γαλλικής επικατεχίνης, γαλλικής γαλλοκατεχίνης, γαλλικής επιγαλλοκατεχίνης).



Τα μοριακά βάρη των ταννινών κυμαίνονται περίπου από 600 έως 3500.<sup>26</sup> Οι τανίνες οι οποίες προέρχονται από τους φλοιούς, είναι ένα μείγμα από προκυανιδίνες και προδελφινιδίνες, ενώ αυτές που προέρχονται από τα γίγαρτα είναι μόνο προκυανιδίνες. Για τον λόγο αυτό, οι τανίνες των φλοιών έχουν μεγαλύτερο βαθμό πολυμερισμού από των γιγάρτων.<sup>27</sup> Όσον αφορά τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, οι γαλλοτανίνες έχουν την υψηλότερη ικανότητα απομάκρυνσης ελεύθερων ριζών, οι ελλαγιτανίνες χηλικοποιούνται έντονα με τον σίδηρο (II) και οι συμπυκνωμένες τανίνες έχουν εξίσου την ικανότητα να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες.<sup>28</sup> Δεδομένου ότι οι υδρολυόμενες τανίνες έχουν πολλές ομάδες υδροξυλίου (OH) στην ο-θέση, εμφανίζουν μεγαλύτερη κατανάλωση οξυγόνου από τις συμπυκνωμένες τανίνες που έχουν λιγότερες υδροξυλομάδες. Για παράδειγμα, ένα μόριο κατεχίνης έχει δύο -OH, σε αντίθεση με ένα μόριο ελλαγιταννίνης που έχει δεκαπέντε -OH.



Εικόνα 11: Δομές α) Γαλλικού οξέος, β) Ελλαγικού οξέος, γ) Γαλλοταννίνης, δ) Ελλαγιταννίνης

## 2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ

Ο σκοπός της παρούσας πτυχιακής ήταν η εύρεση της βέλτιστης αντιοξειδωτικής προστασίας σε οίνο της ποικιλίας Ρωμέικο. Αυτό έγινε μέσα από την παρατήρηση των κινητικών κατανάλωσης οξυγόνου στον εξεταζόμενο οίνο χρησιμοποιώντας τρία διαφορετικά αντιοξειδωτικά. Το οξυγόνο μετρούνταν με αναλυτή NomaSense O<sub>2</sub>, μία μη επεμβατική μέθοδος, όπου οι φιάλες παραμένουν κλειστές καθ' όλη την περίοδο των αναλύσεων. Οι αντιοξειδωτικές προσθήκες που έγιναν ήταν θειώδες, γλουταθειόνη και οινολογικές τανίνες χρησιμοποιώντας τες μεμονωμένα ή σε συνδυασμό. Επιλέχθηκε αυτή η ποικιλία, καθώς οι παραγόμενοι οίνοι είναι ευοξειδωτοι και δεν έχουν έντονο ερυθρό χρώμα. Συμπερασματικά, αυτή η άσκηση με τις διαφορετικές προσθήκες αντιοξειδωτικών, στοχεύει στην αναζήτηση της μέγιστης προστασίας των φαινολικών και αρωματικών ενώσεων της ποικιλίας αυτής από το οξυγόνο.

## 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 3.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Στο πειραματικό μέρος της εργασίας, σε όλα τα δείγματα χρησιμοποιήθηκε ο ίδιος οίνος, προερχόμενος από την ποικιλία Ρωμέικο. Ο πειραματιζόμενος οίνος είχε ολοκληρώσει την αλκοολική ζύμωση σύμφωνα με πρωτόκολλο ερυθρής οινοποίησης σε δεξαμενή inox. Πριν την έναρξη της πειραματικής πορείας έγιναν οι βασικές αναλύσεις του οίνου.

<b>Αιθυλική Αλκοόλη:</b>	13,5% vol
<b>Ολική οξύτητα:</b>	6,4 g/L σε τρυγικό οξύ
<b>Πτητική οξύτητα:</b>	0,8 g/L σε οξικό οξύ
<b>pH:</b>	3,47
<b>Ελεύθερο SO<sub>2</sub>:</b>	15 mg/L
<b>Ολικό SO<sub>2</sub>:</b>	92 mg/L

Πίνακας 2: Βασικές αναλύσεις του οίνου πριν την έναρξη της πειραματικής πορείας.

Στην αρχή της πειραματικής πορείας με την βοήθεια ογκομετρικής φιάλης των 200 mL έγινε μετάγγιση του οίνου σε γυάλινες φιάλες των 200mL. Σε κάθε φιάλη προστέθηκε η αντίστοιχη προσθήκη ενός ή παραπάνω αντιοξειδωτικών προς δημιουργία της κάθε συνθήκης. Οι απαιτούμενες μάζες των προσθηκών μετρήθηκαν με την βοήθεια ζυγού ακριβείας. Κάθε συνθήκη πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν και έπειτα, οι φιάλες τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου. Την πρώτη μέρα, οι μετρήσεις για το ολικό οξυγόνο της κάθε φιάλης γίνονταν πολύ συχνά (ανά μία ώρα) λόγω του ότι η κατανάλωση του οξυγόνου στην αρχή είναι πιο γρήγορη. Για τις επόμενες δυο βδομάδες που διήρκτησε το πειραματικό, οι μετρήσεις για το οξυγόνο γίνονταν δύο φορές την ημέρα. Τα αντιοξειδωτικά που προστέθηκαν στο πειραματικό ήταν τα εξής: 1) 30 mg/L θειώδες σε μορφή μεταδιθειώδους καλίου (metabisulfite), 2) 20 mg/L καθαρή γλουταθειόνη, 3) 10 mg/L σκευάσματος του εμπορίου με ελλαγικές και προ-ανθοκυανιδικές τανίνες, 4) 10 mg/L καθαρές τανίνες γιγάρτων.

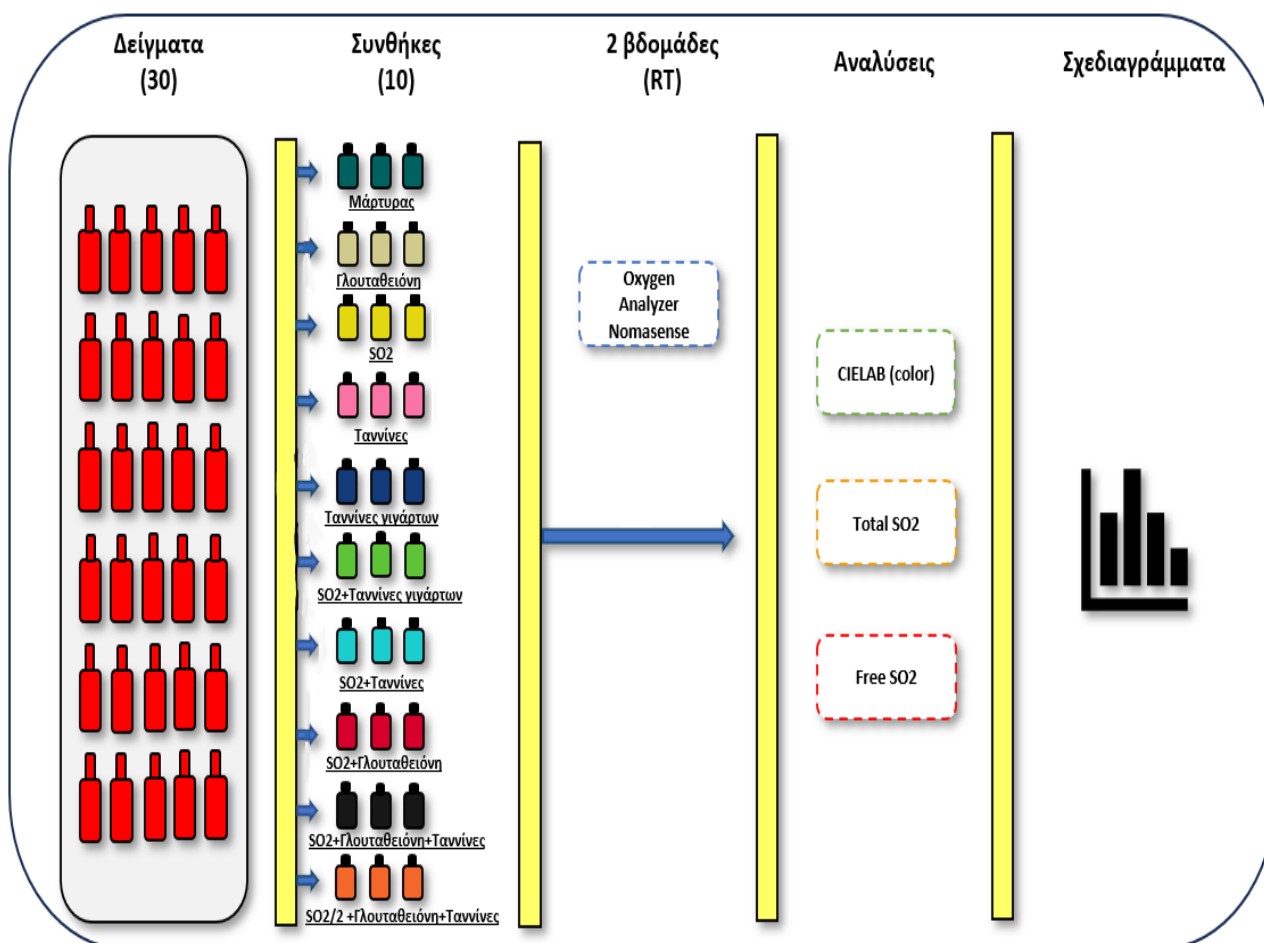
Μετά τις δύο βδομάδες που ολοκληρώθηκε το πείραμα, έγιναν στο κάθε δείγμα οι εξής μετρήσεις: 1) χρώματος μέσω CIELAB, 2) ελεύθερου και ολικού θειώδους με την μέθοδο RIPPER.<sup>29</sup>



Εικόνα 12: Οι πειραματικές φιάλες και το οξύμετρο.

Οι προσθήκες των αντιοξειδωτικών που έγιναν στις φιάλες των 200mL προς δημιουργία των δέκα διαφορετικών συνθηκών ήταν:

- Μάρτυρας
- 4 mg /200 mL Γλουταθειόνη
- 2 mg/200 mL Τανίνες ( Ελλαγικές + Προανθοκυανιδικές)
- 2 mg/200 mL Τανίνες γιγάρτων
- 10,4 mg/200 mL  $K_2S_2O_5$
- 10,4 mg/200 mL  $K_2S_2O_5$  + 2 mg/200 mL Τανίνες γιγάρτων
- 10,4 mg/200 mL  $K_2S_2O_5$  + 2 mg/200 mL Τανίνες
- 10,4 mg/200 mL  $K_2S_2O_5$  + 4 mg/200 mL Γλουταθειόνη
- 10,4 mg/200 mL  $K_2S_2O_5$  + 4 mg/200 mL Γλουταθειόνη + 2 mg/200 mL Τανίνες
- 5,2 mg/200 mL  $K_2S_2O_5$  + 4 mg/200 mL Γλουταθειόνη + 2 mg /200 mL Τανίνες



Εικόνα 13:Σχεδιάγραμμα της πειραματικής διαδικασίας.

## 3.2 ΟΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

### 3.2.1 ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

Η πορεία καταναλώσης του οξυγόνου στις φιάλες μετρήθηκε με την βοήθεια του οξύμετρου της PreSens τεχνολογίας NomaSense. Οι αναλυτές NomaSense O<sub>2</sub> βασίζονται στην τεχνολογία φωταύγειας που επιτρέπει την ακριβή και μη καταστροφική μέτρηση του οξυγόνου στον οίνο. Το όργανο παράγει ένα μπλε φως (υψηλής ενέργειας) το οποίο αποστέλλεται μέσω μιας οπτικής ίνας στους αισθητήρες οξυγόνου Pst3 που έχουν τοποθετηθεί μέσα στην φιάλη στον λαιμό και στο μέσο της,

για την μέτρηση του οξυγόνου στο διάκενο και του διαλυμένου στον οίνο αντίστοιχα. Η φωτεινή ενέργεια απορροφάτε από τον αισθητήρα που είναι εσωτερικά τις φιάλης, γεγονός που οδηγεί σε διέγερση των ηλεκτρονίων σε ένα υψηλότερο επίπεδο ενεργειακής κατάστασης. Καθώς αυτή η κατάσταση δεν είναι σταθερή, τα ηλεκτρόνια επιστρέφουν στη βασική κατάσταση. Αυτή η απώλεια ενέργειας πραγματοποιείται με την εκπομπή ενός κόκκινου φωτός που επιστρέφει στη συσκευή μέσω της οπτικής ίνας. Η καθυστέρηση μεταξύ της εκπομπής του μπλε φωτός και της ανάκτησης του κόκκινου φωτός σχετίζεται με τη συγκέντρωση οξυγόνου στο περιβάλλον που περιβάλλει τον αισθητήρα. Οι αναλυτές NomaSense O<sub>2</sub> μετρούν αυτή την καθυστέρηση (και όχι την ένταση του φωτός) που παρέχει καλύτερη σταθερότητα της μέτρησης με την πάροδο του χρόνου.

Δεδομένου ότι οι αισθητήρες είναι τοποθετημένοι εσωτερικά και η μέτρηση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας οπτική ίνα εξωτερικά από τη γυάλινη φιάλη, η μέθοδος είναι εντελώς μη επεμβατική και οι φιάλες παρέμειναν κλειστές καθ' όλη την περίοδο των αναλύσεων. Το οξυγόνο μπορεί να μετρηθεί τόσο σε αέρια όσο και σε υγρή φάση. Οι αναλυτές NomaSense επιτρέπουν τη μέτρηση του διαλυμένου οξυγόνου στον οίνο (δεξαμενή, βαρέλι, σωλήνας, μπουκάλι ή ασκό) καθώς και το οξυγόνο που υπάρχει σε μια αέρια φάση (κενό χώρο στη φιάλη, ασκό, δεξαμενή κ.λπ.).

Η συνολική ποσότητα οξυγόνου (total package in oxygen (TPO)) που υπάρχει σε μία συσκευασία είναι το άθροισμα του:

1. οξυγόνου που έχει διαλυθεί στον οίνο (dissolved oxygen (DO))
2. του οξυγόνου που υπάρχει στο διάκενο (head space oxygen (HSO))
3. του οξυγόνου που είναι εγκλωβισμένο στο ίδιο το πώμα.

Οι συνεισφορές στο TPO από το οξυγόνο που εγκλωβίζεται στο ίδιο το πώμα εμφανίζονται κυρίως όταν χρησιμοποιούνται πώματα όπως ο φελλός. Η συγκέντρωση του εγκλωβισμένου οξυγόνου μπορεί να είναι σημαντικά υψηλότερη από αυτή που περιέχεται στο διάκενο, ανάλογα με τον τύπο του φελλού που χρησιμοποιείται.<sup>30</sup> Τα επίπεδα DO στη φιάλη μπορεί συχνά να αντανakλούν τη λήψη οξυγόνου κατά τη διάρκεια της εμφιάλωσης, ενώ οι τιμές HSO συνδέονται κυρίως με την απόδοση των μηχανών αδρανοποίησης που είναι ενεργές σε μια γραμμή εμφιάλωσης πριν την εισαγωγή του πώματος (π.χ. εισαγωγή αζώτου, κενό, κ.λπ.).

Το οξυγόνο στο διάκενο (HSO) και γενικά σε μια αέρια φάση, επειδή ασκεί πίεση στον χώρο όπου βρίσκεται, μετριέται σε hPa , ενώ το διαλυμένο οξυγόνο (DO) μετριέται σε ppm. Το συνολικό οξυγόνο της συσκευασίας (TPO) είναι το άθροισμα του DO και του HSO. Όμως, για να γίνει η πρόσθεση μεταξύ τους πρέπει η περιεκτικότητα σε οξυγόνο στο διάκενο πρέπει να υπολογιστεί σε ppm. Αρχικά, υπολογίζονται τα mg του O<sub>2</sub> στο διάκενο από τον νόμο του ιδανικού αερίου. Έπειτα, αυτή μάζα του O<sub>2</sub> διαιρείται στη συνέχεια με τον όγκο του οίνου της φιάλης για να ληφθεί ένα αποτέλεσμα σε ppm (mg/L).

Η θερμοκρασία, η ατμοσφαιρική πίεση, η περιεκτικότητα σε αιθανόλη και σάκχαρα μπορεί να επηρεάσουν τις μετρήσεις οξυγόνου. Όλες αυτές οι παράμετροι αντισταθμίζονται χάρη σε διαφορετικά εργαλεία και ενσωματωμένους τύπους της συσκευής. Η επίδραση της θερμοκρασίας αντισταθμίζεται χρησιμοποιώντας τον αισθητήρα θερμοκρασίας. Η ατμοσφαιρική πίεση, η περιεκτικότητα σε αιθανόλη και τα σάκχαρα αντισταθμίζονται χάρη στις ενσωματωμένες φόρμουλες που είναι στην συσκευή.



*Εικόνα 14: Συσκευή Nomasense.*

### 3.2.2 ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

Το χρώμα ενός οίνου είναι ένα από τα πιο σημαντικά οπτικά χαρακτηριστικά που έχουμε στη διάθεσή μας, δεδομένου ότι παρέχει έναν όγκο σχετικών πληροφοριών. Το χρώμα είναι μια αίσθηση που αντιλαμβανόμαστε οπτικά από τη διάθλαση ή την ανάκλαση του φωτός στην επιφάνεια των αντικειμένων. Ο οίνος απορροφά ένα μέρος της ακτινοβολίας του φωτός που πέφτει σε αυτό και ανακλά ένα άλλο το οποίο φτάνει στα μάτια του παρατηρητή, δημιουργώντας την αίσθηση του χρώματος. Για παράδειγμα, η αίσθηση των πολύ σκούρων κόκκινων οίνων οφείλεται στο γεγονός ότι η προσπίπτουσα ακτινοβολία απορροφάτε από αυτόν.

Με γνώμονα το σύστημα χρώματος CIELab, το χρώμα ενός οίνου μπορεί να περιγραφηθεί χρησιμοποιώντας 3 χαρακτηριστικά: απόχρωση, φωτεινότητα και ένταση. Απόχρωση εννοούμε το ίδιο το χρώμα να είναι πιο χαρακτηριστικό στα τέσσερα βασικά χρώματα κόκκινο, κίτρινο, πράσινο ή μπλε. Η φωτεινότητα είναι η ιδιότητα της οπτικής αίσθησης όπου το κρασί φαίνεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο φωτεινό. Ωστόσο, η ένταση σχετίζεται με την υψηλότερη ή χαμηλότερη ένταση του χρώματος. Ο συνδυασμός αυτών των τριών εννοιών μας δίνει τη δυνατότητα να ορίσουμε τις αποχρώσεις που παρουσιάζουν οι οίνοι.

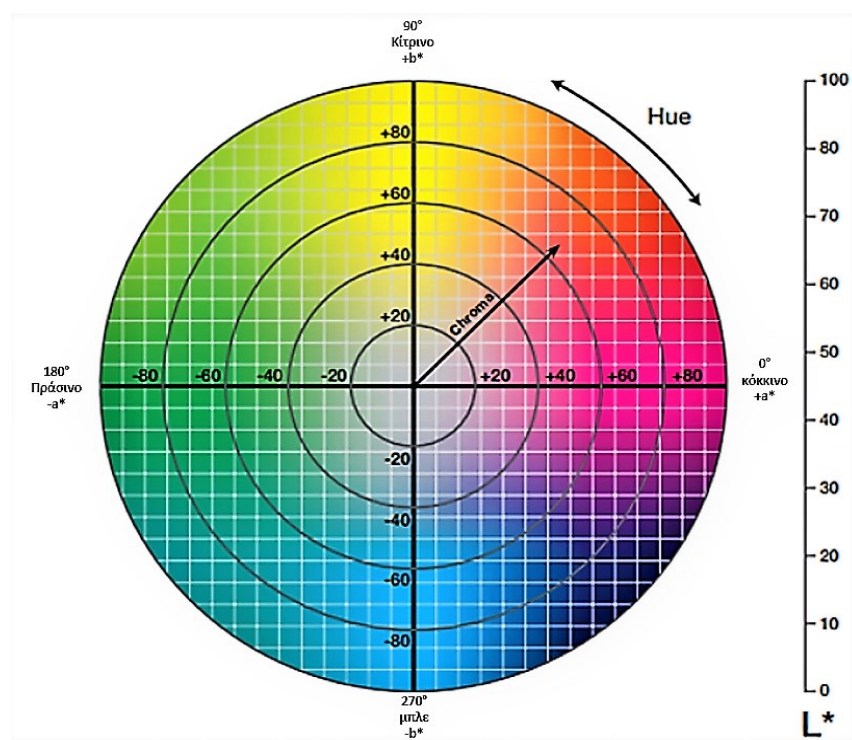
Τα χρωματικά χαρακτηριστικά ενός οίνου ορίζονται από τις χρωματικές συντεταγμένες: φωτεινότητα ( $L^*$ ), κόκκινο/πράσινο χρώμα ( $a^*$ ), μπλε/κίτρινο χρώμα ( $b^*$ ) και από τα παράγωγα μεγέθη του: ένταση ( $C^*$ ), απόχρωση ( $H$ ). Με άλλα λόγια, αυτό το σύστημα χρώματος CIELab βασίζεται σε καρτεσιανή αναπαράσταση 3 ορθογωνικών αξόνων:  $L^*$ ,  $a^*$  και  $b^*$ . Η συντεταγμένη  $L^*$  αντιπροσωπεύει την φωτεινότητα ( $L^* = 0$  μαύρο και  $L^* = 100$  άχρωμο), το  $a^*$  αντιπροσωπεύει το πράσινο/κόκκινο ( $a^* > 0$  κόκκινο,  $a^* < 0$  πράσινο) και το  $b^*$  αντιπροσωπεύει το μπλε/κίτρινο ( $b^* > 0$  κίτρινο,  $b^* < 0$  μπλε).

Η συσκευή μέτρησης είναι ένα φασματοφωτόμετρο που διεξάγει μετρήσεις διαπερατότητας σε μήκος κύματος μεταξύ 300 και 800 nm. Υπάρχουν γυάλινες κυψελίδες οπτικού πάχους 1, 2 και 10 mm. όπου η καθεμιά χρησιμοποιείται ανάλογα



με την ένταση του χρώματος του οίνου (10 mm στους λευκούς και ροζέ και 1 και 2 mm στους ερυθρούς οίνους ανάλογα την χρωματική τους ένταση).

Στην περίπτωση μας, χρησιμοποιήσαμε κυψελίδα πάχους 2mm λόγω ότι το Ρωμείο δεν είχε έντονο κόκκινο χρώμα. Η δειγματοληψία πρέπει να είναι ιδιαίτερα προσεκτική ώστε ο οίνος να είναι ομοιογενές και το δείγμα αντιπροσωπευτικό. Επίσης δεν χρειαστήκαμε φυγοκέντρηση καθώς ο οίνος μας ήταν διαυγής.<sup>31</sup>



Εικόνα 15: Χρωματικός χώρος CIELAB. (www.xrite.com)

### 3.2.3 ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ SO<sub>2</sub>

Ο ποσοτικός προσδιορισμός του ελεύθερου και του ολικού θειώδους του εξεταζόμενου οίνου μας έγινε με την συνήθη μέθοδο του OIV, μέθοδο Ripper.<sup>17</sup> Τα όργανα και τα αντιδραστήρια που χρειαστήκαμε ήταν:

#### Όργανα:

- Ογκομετρικές φιάλες των 250 ml (με εσφυρισμένο πώμα) .
- Σιφόνια των 5 -10 - 20 -50 ml) .
- Προχοΐδα των 50 ml .

### Αντιδραστήρια:

- Διάλυμα  $H_2SO_4$  αραιωμένο 1/10 .
- Διάλυμα NaOH 4M .
- Διάλυμα αμύλου 2,5‰ που περιέχει NaCl 20% .
- Διάλυμα ιωδίου ( $I_2$ ) 0,01 N .

### Προσδιορισμός ελευθέρου θειώδους οξέος

Σε κωνική φιάλη των 250 ml μεταφέραμε με σιφόνιο πληρώσεως των 50 ml τον προς εξέταση οίνο, αποφεύγοντας την ανάδευση και τον αερισμό. Έπειτα, προσθέσαμε 3 ml διαλύματος  $H_2SO_4$  και 3 ml διαλύματος αμύλου (πρόσφατα παρασκευασμένο). Τιτλοδοτήσαμε άμεσα με το διάλυμα ιωδίου 0,01 N μέχρι εμφάνισης κυανού χρώματος (διάρκεια παραμονής χρώματος περίπου 10 sec). Σημειώσαμε κατανάλωση  $\Pi_0$  ml.

### Προσδιορισμός ολικού θειώδους οξέος

Σε κωνική φιάλη των 250 ml μεταφέραμε με σιφόνιο πληρώσεως των 20 ml τον προς εξέταση οίνο, αποφεύγοντας την ανάδευση και τον αερισμό. Έπειτα, προσθέσαμε 10 ml διαλύματος NaOH 4M και την πωματίσαμε για 10 min. Στην συνέχεια, προσθέσαμε 6ml διαλύματος  $H_2SO_4$  1/10 και 3 ml διαλύματος αμύλου (πρόσφατα παρασκευασμένο). Τιτλοδοτήσαμε άμεσα με το διάλυμα ιωδίου 0,01 N μέχρι εμφάνισης κυανού χρώματος (διάρκειας παραμονής χρώματος περίπου 10 sec). Σημειώσαμε κατανάλωση  $\Pi_1$  ml.

### Υπολογισμοί:

Γενικός τύπος για θειώδες οξύ (mg/l) =  $n * N * 32,033 * 1000 / V_{οίνου}$

Όπου:

- 1)  $n$  = Ο όγκος του διαλύματος ιωδίου που καταναλώθηκε για την τιτλοδότηση (ml).
- 2)  $N$  = Η κανονικότητα του Ιωδίου.
- 3)  $V_{οίνου}$  = Ο όγκος του δείγματος του οίνου που χρησιμοποιήθηκε στον προσδιορισμό.

## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 ΠΟΡΕΙΑ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

Αρχικά, μελετήθηκε η πορεία κατανάλωσης του οξυγόνου στις δέκα διαφορετικές συνθήκες που υποβάλαμε τον πειραματιζόμενο οίνο μας. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, οι συγκέντρωση του ολικού οξυγόνου κάθε φιάλης του πειράματος μετρούνταν την πρώτη μέρα ανά μία ώρα και τις επόμενες δεκατρείς μέρες δύο φορές την ημέρα. Στην κάθε συνθήκη έχουν γίνει τρεις επαναλήψεις δειγμάτων.

Στον χρόνο 0 του πειράματος, οι απόλυτες τιμές του ολικού οξυγόνου συσκευασίας της κάθε φιάλης ήταν:

ΣΥΝΘΗΚΗ	ΤΙΜΗ (mg/l)		
Μάρτυρας	17,03	16,23	16,92
SO <sub>2</sub>	13,42	12,53	14,47
Τανίνες	20,82	20,81	17,29
Τανίνες γιγάρτων	17,01	17,34	16,57
Γλουταθειόνη	16,68	16,33	15,90
SO <sub>2</sub> + Γλουταθειόνη	18,56	15,51	18,53
SO <sub>2</sub> + Τανίνες	15,18	14,80	15,36
SO <sub>2</sub> + Γλουταθειόνη + Τανίνες	17,47	14,45	16,64
SO <sub>2</sub> /2 + Γλουταθειόνη + Τανίνες	15,34	16,14	16,05
SO <sub>2</sub> + Τανίνες γιγάρτων	16,79	15,54	16,22

Πίνακας 3: Αρχικές τιμές ολικού οξυγόνου συσκευασίας.

Στο τέλος του πειράματος, αποφασίστηκε η κατανάλωση του ολικού οξυγόνου συσκευασίας να εκφράζεται σε σχετική τιμή % του αρχικού, καθώς έτσι γίνεται πιο διακριτή και εύκολα συγκρίσιμη η κατανάλωση του οξυγόνου από την αρχή έως το τέλος της διάρκειας του πειράματος.

Στο παρακάτω σχεδιάγραμμα (Σχήμα 1) απεικονίζεται η κατανάλωση του ολικού οξυγόνου (% του αρχικού) σε συνάρτηση με τον χρόνο, στις δέκα διαφορετικές συνθήκες που είχαμε σε τριπλή επανάληψη. Έχει γίνει ομαδοποίηση των συνθηκών αυτών ανάλογα με την κύρια προσθήκη που έχει γίνει σε αυτές. Η διάρκεια του πειράματος ήταν 14 μέρες σε περιβάλλον με θερμοκρασία δωματίου. Από το Σχήμα 1 παρατηρούμε ότι, η συνθήκη της γλουταθειόνης είχε την μεγαλύτερη κατανάλωση οξυγόνου συσκευασίας επί του αρχικού. Έπειτα, μεγάλη κατανάλωση είχε και η συνθήκη SO<sub>2</sub>+Τανίνες+Γλουταθειόνη παρόλο που παρατηρήθηκε μία ανεπιθύμητη αύξηση του οξυγόνου συσκευασίας τις δύο πρώτες ώρες του πειράματος, προφανώς λόγω εισαγωγής οξυγόνου από το πάμα. Στην συνέχεια, μία μείωση του οξυγόνου με

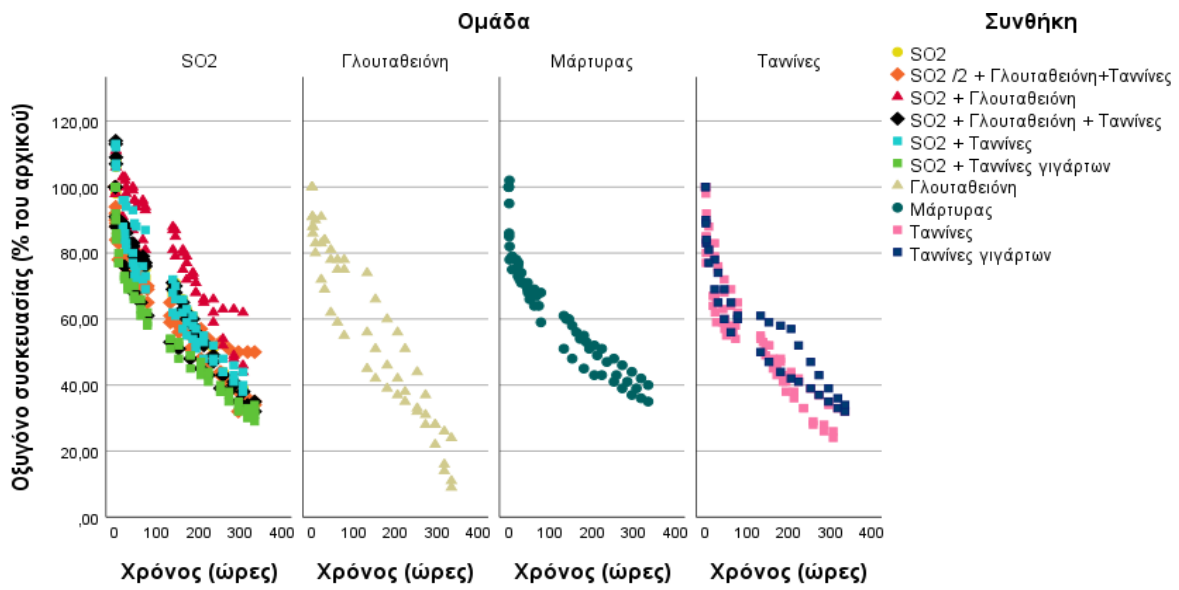
παρόμοιο ρυθμό φαίνεται να είχαν οι συνθήκες: 1) SO<sub>2</sub>+Τανίνες, 2) SO<sub>2</sub>+Τανίνες γιγάρτων, 3) Τανίνες, 4) Τανίνες γιγάρτων. Ύστερα, ακολουθεί η συνθήκη SO<sub>2</sub>/2+Τανίνες+Γλουταθειόνη βλέποντας έτσι ότι η μείωση του SO<sub>2</sub> στην μισή ποσότητα συγκριτικά με την προ αναφέρουσα παρόμοια συνθήκη παίζει καθοριστικό ρόλο στην δράση τους. Τέλος, την χαμηλότερη απορρόφηση σε οξυγόνο είχαν οι συνθήκες: 1) SO<sub>2</sub>, 2) SO<sub>2</sub>+Γλουταθειόνη, 3) Μάρτυρας, με αυτή της SO<sub>2</sub>+Γλουταθειόνης να καταλήγει στο υψηλότερο ποσοστό επί του αρχικού οξυγόνου συσκευασίας.

Μετά από δύο βδομάδες στο τέλος του πειράματος, οι απόλυτες τελικές τιμές του ολικού οξυγόνου συσκευασίας της κάθε φιάλης ήταν:

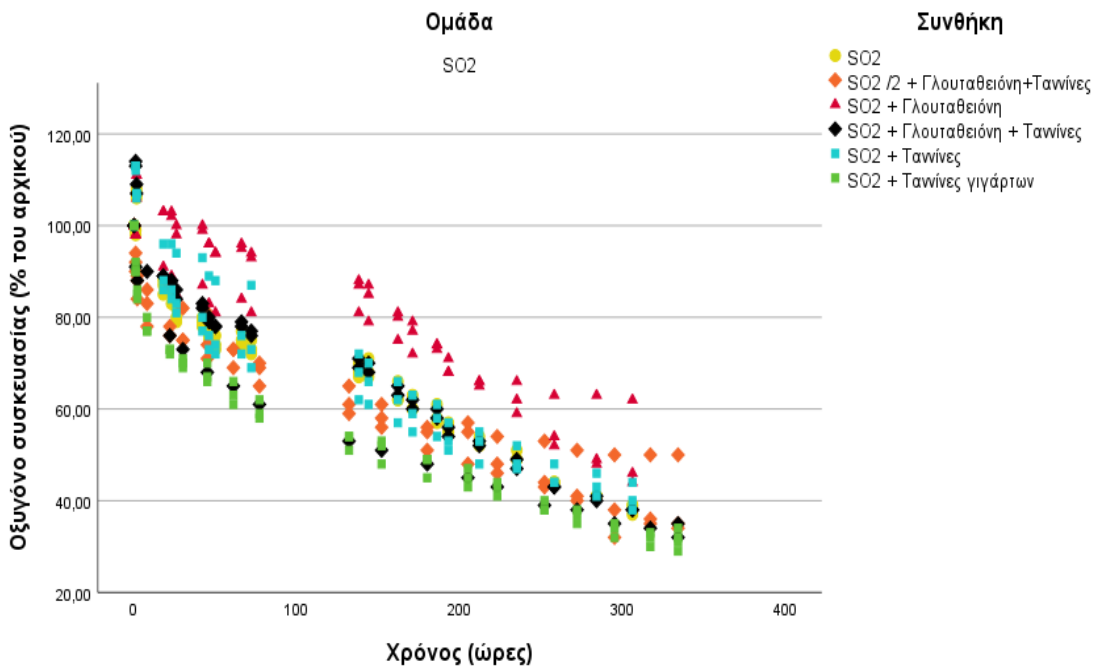
ΣΥΝΘΗΚΗ	ΤΙΜΗ (mg/l)		
Μάρτυρας	5,91	6,54	4,41
SO <sub>2</sub>	4,97	4,63	5,16
Τανίνες	4,89	5,24	5,22
Τανίνες γιγάρτων	5,37	5,98	9,98
Γλουταθειόνη	1,42	4,05	1,73
SO <sub>2</sub> + Γλουταθειόνη	7,86	9,25	8,11
SO <sub>2</sub> + Τανίνες	6,33	5,32	5,17
SO <sub>2</sub> + Γλουταθειόνη + Τανίνες	6,12	5,28	6,01
SO <sub>2</sub> /2 + Γλουταθειόνη + Τανίνες	7,67	5,62	5,46
SO <sub>2</sub> + Τανίνες γιγάρτων	5,72	4,45	5,22

Πίνακας 4: Τελικές τιμές ολικού οξυγόνου συσκευασίας.

Στην πορεία του πειράματος, παρατηρήθηκε μία μεταβλητότητα στις τιμές του οξυγόνου μεταξύ των φιαλών της κάθε συνθήκης. Αυτό πιθανόν συνέβη καθώς ξεκίνησαν από διαφορετική αρχική συγκέντρωση σε ολικό οξυγόνο συσκευασίας και στο ότι σε κάποιες φιάλες πιθανόν να εισερχόταν οξυγόνο από το πάμα και να υπήρξε σφάλμα. Σε όποια φιάλη παρατηρήθηκε πιθανή εισροή οξυγόνου από το πάμα, απορρίφθηκε σαν δείγμα στα σχεδιαγράμματα.



Σχήμα 1: Πορεία κατανάλωσης ολικού οξυγόνου συσκευασίας.



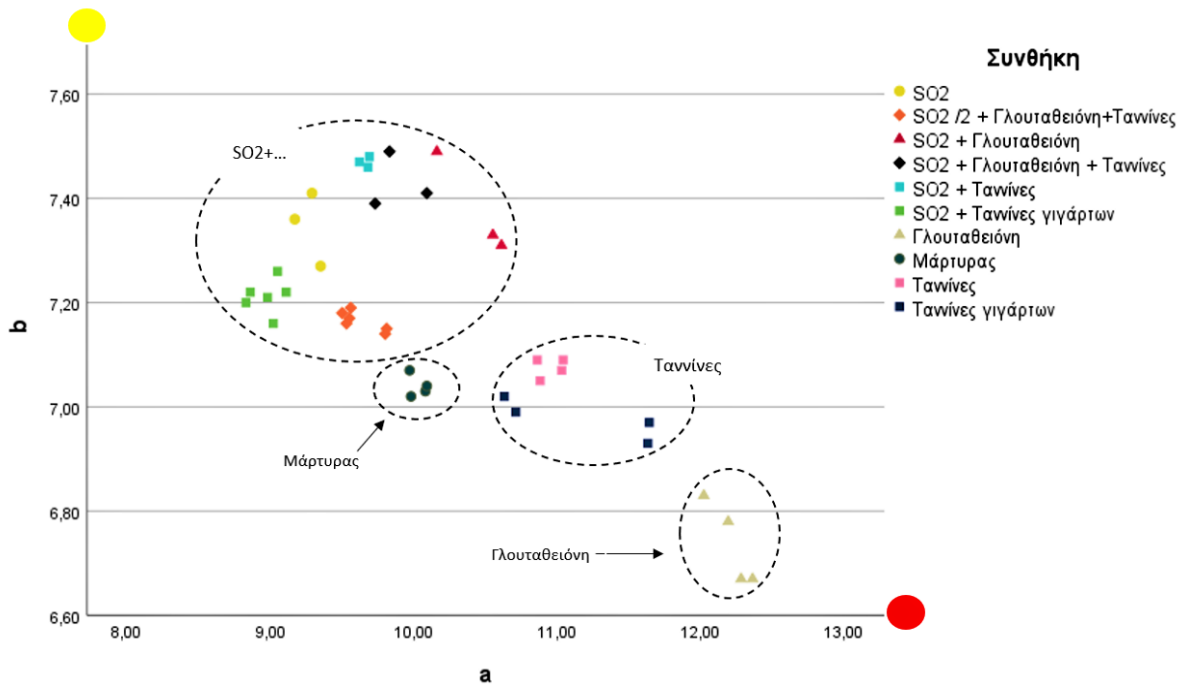
Σχήμα 2: Πορεία κατανάλωσης ολικού οξυγόνου συσκευασίας ΟΜΑΔΑΣ SO2.

## 4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

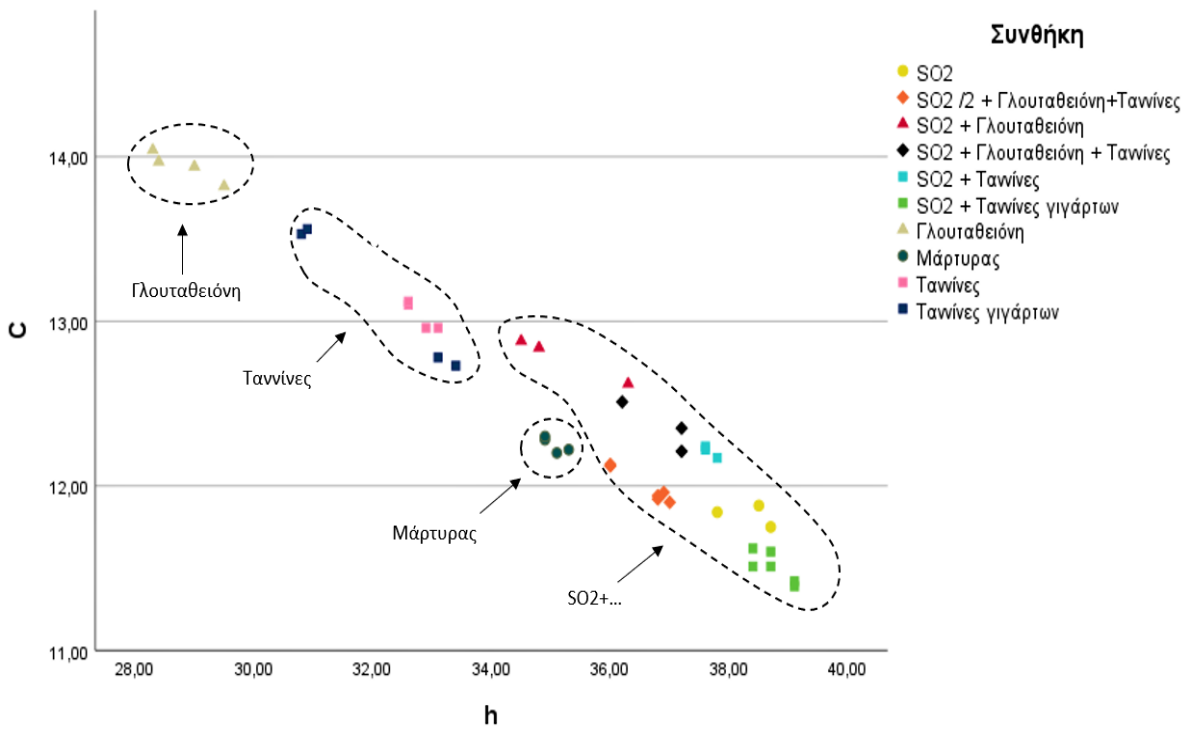
Στο τέλος της διάρκειας του πειράματος, έγινε ανάλυση του χρώματος των δειγμάτων με την βοήθεια ενός χρωματόμετρου Minolta που μετράει τις συντεταγμένες του CIELAB. Στο σχήμα 3, ανάλογα με το σημείο που βρίσκεται το κάθε δείγμα στον καρτεσιανό σύστημα, βγαίνουν συμπεράσματα και για το ίδιο του το χρώμα. Δηλαδή, όσο πιο μεγάλη τιμή έχουμε στον άξονα  $+a^*$  ισοδυναμεί και με πιο έντονο κόκκινο χρώμα, ενώ όσο μεγαλύτερη τιμή έχουμε στον άξονα  $+b^*$  τόσο εντονότερο θα είναι το κίτρινο χρώμα του δείγματος.

Αρχικά στο Σχήμα 3, συγκριτικά με την συνθήκη του μάρτυρα, η συνθήκη της γλουταθειόνης έχει την υψηλότερη τιμή  $a^*$  (M.O=12,21) και την χαμηλότερη τιμή  $b^*$  (M.O=6,73). Οπότε από όλες τις συνθήκες είχε το περισσότερο κόκκινο χρώμα και το λιγότερο κίτρινο. Στην συνέχεια, οι δυο συνθήκες των ταννινών έχουν υψηλότερη τιμή σε  $a^*$  (M.O=11,05) αλλά περίπου το ίδιο  $b^*$  (M.O=7,02) συγκριτικά με τον μάρτυρα. Από την άλλη, παρατηρείται ότι σε όλα τα δείγματα στα οποία έχει προστεθεί  $SO_2$ , έχει παρουσιαστεί μείωση του κόκκινου  $a^*$  (M.O=9,55) σε σύγκριση με τον μάρτυρα (M.O=10,03) και αύξηση του κίτρινου χρώματος  $b^*$  (M.O=7,30) σε σύγκριση με τον μάρτυρα (M.O=7,03).

Στο Σχήμα 4, παρατηρείται ότι η συνθήκη της γλουταθειόνης έχει την υψηλότερη τιμή έντασης χρώματος C (M.O=13,94) και την μικρότερη απόχρωση  $h^*$  (M.O=28,8). Επιπροσθέτως, ακολουθούν οι δυο συνθήκες των ταννινών με υψηλή ένταση C (M.O=13,09) και χαμηλή απόχρωση  $h^*$  (M.O=32,42). Όμως, οι συνθήκες στις οποίες έχει γίνει προσθήκη  $SO_2$ , τα δείγματα έχουν λιγότερη χρωματική ένταση C (M.O=12,02) δηλαδή φαίνονται πιο διάφανα σε σύγκριση με τον μάρτυρα C (M.O=12,25) και έχουν εντονότερη απόχρωση  $h^*$  (M.O=37,33) σε σύγκριση με τον μάρτυρα  $h^*$  (M.O=35,05).



Σχήμα 3: Άξονας +a\* (κόκκινο) συναρτήσει του +b\* (κίτρινο).



Σχήμα 4: Άξονας h\* (τόνος) συναρτήσει του C\* (χρώμα).

### 4.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΟΥ SO<sub>2</sub>

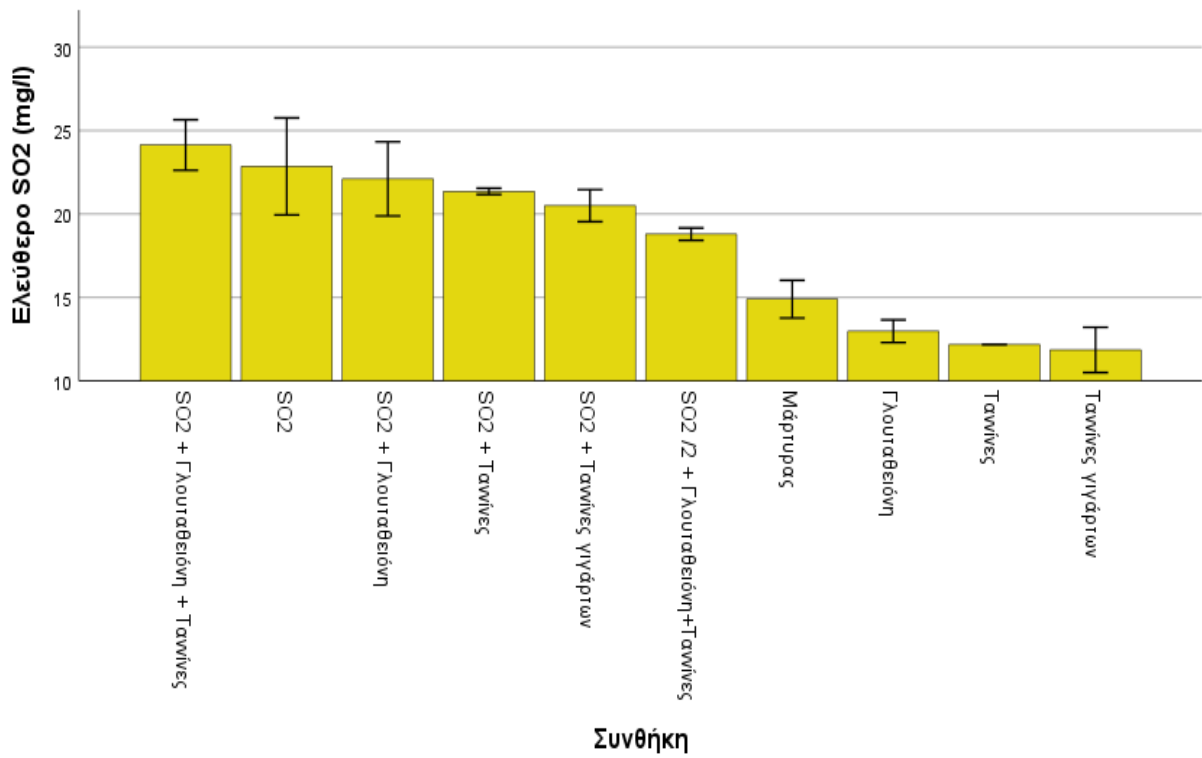
Στα παρακάτω σχεδιαγράμματα (σχήμα 5 και σχήμα 6) απεικονίζονται οι συγκεντρώσεις του ελεύθερου και του ολικού SO<sub>2</sub> στις 10 διαφορετικές συνθήκες με τις τρεις επαναλήψεις η κάθε μια. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, η συνθήκες στις οποίες αναφέρουν ως προσθήκη SO<sub>2</sub> στην αρχή του πειράματος, εννοούν μία προσθήκη 30 mg/l σε σχέση με τον μάρτυρα.

Αρχικά, στο σχήμα 5 με τις τιμές του ελεύθερου SO<sub>2</sub>, παρατηρείται ότι οι 3 συνθήκες γλουταθειόνη, τανίνες και τανίνες γιγάρτων έχουν ελεύθερο SO<sub>2</sub> (M.O=12,97 mg/l, M.O=12,17 mg/l, M.O=11,85 mg/l αντίστοιχα) χαμηλότερο σε σχέση με τον μάρτυρα (M.O=14,9 mg/l). Φαίνεται ότι οι προσθήκες τους μειώνει την ελεύθερη μορφή του άρα και την δράση του. Επίσης, η συνθήκη με την τριπλή προσθήκη SO<sub>2</sub>+Γλουταθειόνη+Τανίνες έχει την υψηλότερη τιμή σε ελεύθερο SO<sub>2</sub> (M.O=24,13 mg/l) και έπειτα ακολουθεί η συνθήκη μόνο με SO<sub>2</sub> (M.O=22,85 mg/l). Οι συνθήκες που έχουν προσθήκη SO<sub>2</sub> μαζί με κάποιο είδος από τανίνες έχουν μειωμένο ελεύθερο θειώδες (M.O=21,35 mg/l, M.O=20,50 mg/l) συγκριτικά με την συνθήκη SO<sub>2</sub> (M.O=22,85 mg/l), δείχνοντας έτσι την δεσμευτική τους ικανότητα στο SO<sub>2</sub>.

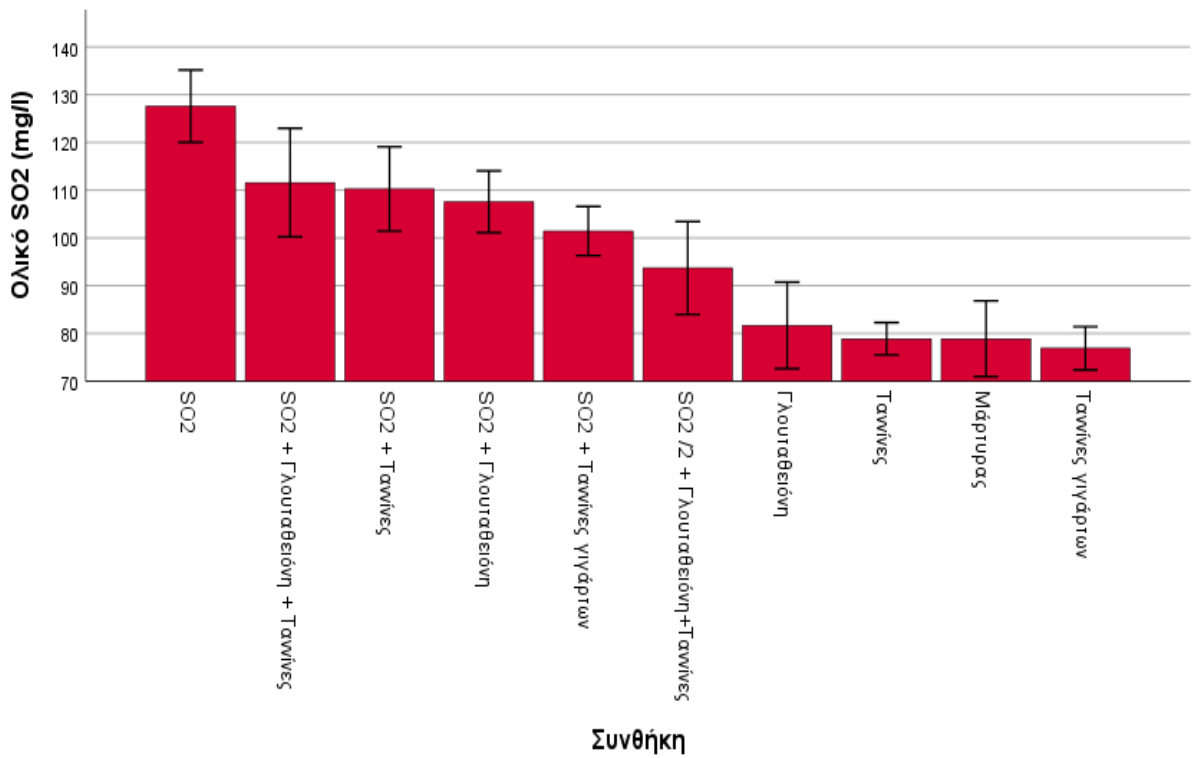
Στο σχήμα 6 με τα ολικά SO<sub>2</sub>, παρατηρείται ότι η συνθήκη SO<sub>2</sub> έχει την υψηλότερη τιμή σε ολικό θειώδες (M.O=127,60 mg/l) σε σχέση με τις υπόλοιπες συνθήκες που έχει προστεθεί η ίδια ποσότητα. Οπότε, φαίνεται να έχουν επηρεάσει η προσθήκες της γλουταθειόνης και των ταννινών στην συγκέντρωση του. Επίσης, οι δυο συνθήκες με τις τανίνες γιγάρτων φαίνεται να επηρεάζουν με μικρή μείωση στο ολικό θειώδες.

Ολες οι μετρήσεις σε κάθε δείγμα έγιναν στο τέλος της διάρκειας του πειράματος με την μέθοδο Ripper.





Σχήμα 5: Επίδραση της συγκέντρωσης του ελεύθερου SO<sub>2</sub>.



Σχήμα 6: Επίδραση της συγκέντρωσης του ολικού SO<sub>2</sub>.

#### 4.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ

Με βάση τη γευστική δοκιμή που πραγματοποιήθηκε με περιγραφική ανάλυση και σειρά προτίμησης των παραγόμενων οίνων παρατηρήθηκε αρχικά διαφοροποίηση τόσο μεταξύ των δειγμάτων της κάθε συνθήκης, αλλά και μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών που υπήρχαν.

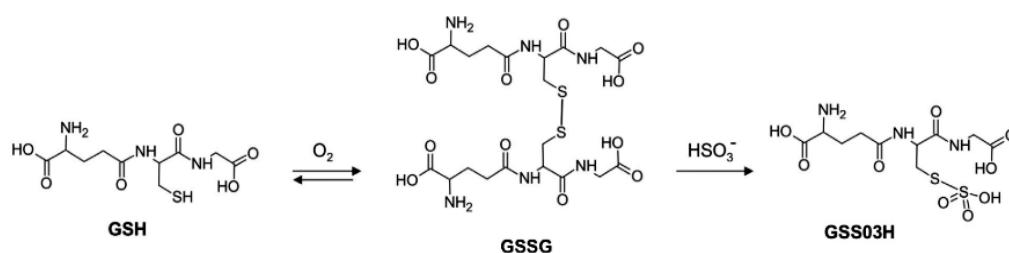
Αρχικά, η συνθήκη του μάρτυρα είχε χρώμα λίγο κεραμιδί, με φρέσκα αρώματα από φράουλα, κεράσι και στόμα ισορροπημένο. Η συνθήκη της γλουταθειόνης είχε πιο έντονο κόκκινο χρώμα συγκριτικά με τον μάρτυρα και με αρώματα ώριμων φρούτων. Επίσης, η συνθήκη τανίνες γιγάρτων είχε πιο πορφυρό ερυθρό χρώμα από τον μάρτυρα, άλλα με πιο χαμηλό αρωματικό προφίλ. Η συνθήκη τανίνες, μπορεί να έδιναν στην μύτη αρώματα μπαχαρικών, αλλά στο στόμα διαρκούσαν περισσότερο και έδιναν μία πικράδα την οποία από την άλλη δεν την έδιναν οι τανίνες γιγάρτων. Στην συνθήκη SO<sub>2</sub>/2 + Γλουταθειόνη + Τανίνες, η χρωματική ένταση φαινόταν πιο χαμηλή, με πολύπλοκη μύτη από ψητό μήλο, κεράσι, φράουλα και μπαχαρικά. Η συνθήκη SO<sub>2</sub> + Τανίνες γιγάρτων είχε χαμηλότερη χρωματική και αρωματική ένταση από τον μάρτυρα. Η τριπλέτα των δειγμάτων με προσθήκη SO<sub>2</sub>, οργανοληπτικά ήταν πιο κλειστή από τον μάρτυρα και με αρωματικά χαρακτηριστικά θείου. Οι συνθήκες SO<sub>2</sub> + Γλουταθειόνη και SO<sub>2</sub> + Τανίνες υστερούσαν οπτικά από τον μάρτυρα με περισσότερο πορτοκαλί χρώμα και λιγότερο άρωμα. Ομοίως με την συνθήκη SO<sub>2</sub>/2 + Γλουταθειόνη + Τανίνες, η SO<sub>2</sub> + Γλουταθειόνη + Τανίνες είχε μεγάλη πολυπλοκότητα οργανοληπτικά, με αρώματα από κόκκινα φρούτα, μπαχαρικά και με στόμα ισορροπημένο και καθαρό.

Συμπερασματικά, η τριπλέτα SO<sub>2</sub> + Γλουταθειόνη + Τανίνες ήταν η καλύτερη οργανοληπτικά από όλες τις συνθήκες.

## 5. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία μελετήθηκε η κατανάλωση του οξυγόνου σε 10 διαφορετικές συνθήκες, συνδυάζοντας τρεις διαφορετικές αντιοξειδωτικές ενώσεις. Αυτές ήταν το θειώδες, η γλουταθειόνη και δύο οινολογικές τανίνες. Από τις κινητικές κατανάλωσης οξυγόνου που προέκυψαν και από τις μετρήσεις του χρώματος, τα καλύτερα αποτελέσματα είχε η συνθήκη της γλουταθειόνης. Οργανοληπτικά δεν ήταν η προτιμότερη από όλες, παρόλα αυτά είχε πιο έντονο κόκκινο χρώμα συγκριτικά με τον μάρτυρα και με αρώματα πιο ώριμων κόκκινων φρούτων από αυτόν.

Όμως, η προσθήκη γλουταθειόνης (GSH) ως αντιοξειδωτικό, χρειάζεται παραπάνω διερεύνηση στον ρόλο τον οποίο παίζει. Γενικά, η οξείδωση της γλουταθειόνης οδηγεί στο σχηματισμό του δισουλφιδίου της (GSSG).<sup>22</sup> Ωστόσο, μελέτες σχετικά με την οξείδωση των θειολών στους οίνους, δεν αναφέρουν σχηματισμό δισουλφιδίων, με αποτέλεσμα να υποδηλώνουν την ύπαρξη άλλων μηχανισμών ανταγωνιστικής δράσης.<sup>32</sup> Θειόλες όπως η γλουταθειόνη έχει αναφερθεί ότι αντιδρούν γρήγορα με τις κινόνες που προκύπτουν από την οξείδωση των ορθο-διφαινολών μέσω της πυρηνόφιλης προσθήκης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό σταθερών προϊόντων. Από την άλλη, η δισουλφιδική γλουταθειόνη που προκύπτει από την οξείδωση της γλουταθειόνης, αντιδρά με το  $\text{-HSO}_3^-$  προς σχηματισμό της S-σουλφονικής γλουταθειόνης (GSSO<sub>3</sub>H). Έχει παρατηρηθεί ότι η S-σουλφονική γλουταθειόνη ανιχνεύεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε οίνους με υψηλή συγκέντρωση σε οξυγόνο.



Εικόνα 16: Η Γλουταθειόνη (GSH) με παρουσία οξυγόνου σχηματίζει το δισουλφίδιο της (GSSG), το οποίο αντιδρά με το θειώδες ( $\text{HSO}_3^-$ ) προς σχηματισμό της S-σουλφονικής γλουταθειόνης (GSSO<sub>3</sub>H).<sup>32</sup>

Επομένως, θα μπορούσε να υποτεθεί ότι σε τέτοιες συνθήκες με υψηλή συγκέντρωση σε οξυγόνο, μια μεγάλη ποσότητα της γλουταθειόνης μετατρέπεται στο σουλφονικό

ανάλογό της, μειώνοντας ταυτόχρονα τη συγκέντρωση και την δράση των δύο αντιοξειδωτικών, θειώδους και γλουταθειόνης.<sup>32</sup>

Σε συμφωνία με τα παραπάνω συμπεράσματα, και στην δικιά μας περίπτωση παρατηρήθηκε ότι η συνθήκη SO<sub>2</sub>+ Γλουταθειόνη είχε την χαμηλότερη κατανάλωση σε οξυγόνο από όλες τις συνθήκες (52% μείωση). Αντιθέτως, η συνθήκη Γλουταθειόνη παρόλο που το δείγμα είχε περιεκτικότητα σε SO<sub>2</sub> (15 mg/l) λόγω ύπαρξης στον οίνο βάσης, είχε την μέγιστη κατανάλωση σε οξυγόνο (85% μείωση). Έτσι παρατηρούμε την περιοριστική δράση που ασκούν τα δύο αντιοξειδωτικά μεταξύ τους, όταν αυτά βρίσκονται σε ποσότητες οι οποίες είναι ικανές να ενωθούν στο μεγαλύτερο τους ποσοστό. Οπότε παίζουν καθοριστικό ρόλο οι ποσότητες των δύο αυτών αντιοξειδωτικών στην δράση τους.

Τέλος, ένας άλλος καθοριστικός παράγοντας στην δράση της γλουταθειόνης είναι το pH του οίνου. Έχει βρεθεί ότι ο σχηματισμός της S-σουλφονικής γλουταθειόνης (GSSO<sub>3</sub>H) από GSSG και SO<sub>3</sub>H<sup>-</sup> είναι πιο αργός σε χαμηλότερα pH.<sup>32</sup> Επομένως, χρειάζεται παραπάνω μελέτη για την σωστή χρήση της γλουταθειόνης ως αντιοξειδωτικό στους οίνους.

Στην συνέχεια, παρατηρήθηκε ότι οι συνθήκες με προσθήκη θειώδους είχαν αισθητά λιγότερο κόκκινο χρώμα και περισσότερο κίτρινο. Αυτό οφείλεται στην αντιστρεπτή αντίδραση μεταξύ θειώδους και ανθοκυανών προς δημιουργία ενός προσωρινά άχρωμου μορίου. Στην συνέχεια, αυτός ο αποχρωματισμός των ανθοκυανών ενισχύει από την άλλη το κίτρινο χρώμα που έχουν οι τανίνες και το κάνει να διακρίνεται πιο αισθητά στον οίνο.<sup>33</sup>

Συγκρίνοντας μεταξύ τους τις δυο συνθήκες των ταννινών, δηλαδή το εμπορικό σκεύασμα με ελλαγιτανίνες και προανθοκυανιδίνες (αναφερόμενο ως τανίνες) και των ταννινών από γιγάρτα (αναφερόμενο ως τανίνες γιγάρτων), παρατηρείται ότι η συνθήκη τανίνες είχε μεγαλύτερη κατανάλωση σε οξυγόνο (74% μείωση) σε σχέση με τις τανίνες γιγάρτων (66% μείωση). Παρόμοια αποτελέσματα για την δραστηκότερη αντιοξειδωτική δράση των ελλαγιταννινών και προανθοκυανιδινών από τις τανίνες γιγάρτων αναφέρονται και σε άλλες παρόμοιες εργασίες.<sup>27</sup>

Οργανοληπτικά, η προτιμότερη συνθήκη ήταν η SO<sub>2</sub>+ Τανίνες+ Γλουταθειόνη λόγω της πολυπλοκότητας που εμφάνιζε το δείγμα με αρώματα από κόκκινα φρούτα, μπαχαρικά και με στόμα ισορροπημένο και καθαρό. Αντίθετα, στα δείγματα που είχε προστεθεί το εμπορικό παρασκεύασμα με το μείγμα ταννινών (ελλαγιταννινών και προανθοκυανιδινών) παρατηρήθηκε μια δυσάρεστη πικράδα στο στόμα, φαινόμενο που δεν συναντήσαμε στα δείγματα που είχε προστεθεί το παρασκεύασμα με τις τανίνες γιγάρτων.

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα πτυχιακή αναζητήθηκε η βέλτιστη αντιοξειδωτική προστασία που μπορεί να εφαρμοστεί, με χρήση ενός ή συνδυασμό από τρία αντιοξειδωτικά, σε οίνο της ποικιλίας Ρωμέικο. Τα τρία αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το θειώδες, η γλουταθειόνη και δύο είδη από οινολογικές τανίνες. Από τον συνδυασμό τους δημιουργήθηκαν δέκα διαφορετικές συνθήκες, οι οποίες τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για δεκατέσσερις μέρες. Οι κινητικές κατανάλησης οξυγόνου της κάθε συνθήκης δημιουργήθηκαν από τις μετρήσεις του ολικού οξυγόνου συσκευασίας με την βοήθεια οξυγονόμετρου. Στο τέλος της διάρκειας του πειράματος, μετρήθηκε το χρώμα και το ελεύθερο και ολικό SO<sub>2</sub> στο κάθε δείγμα.

Από την παρατήρηση των αποτελεσμάτων παρατηρείται ότι η συνθήκη της γλουταθειόνης είχε την καλύτερη κινητική κατανάλησης οξυγόνου, το πιο έντονο κόκκινο χρώμα και οργανοληπτικά ήταν αρεστό. Στην διάρκεια των δύο εβδομάδων του πειράματος καταναλώθηκε το περίπου το 85% του ολικού οξυγόνου συσκευασίας στα δείγματα που είχε προστεθεί γλουταθειόνη, ενώ στα οίνους δείγματα χωρίς προσθήκη περίπου το 63%. Έπειτα, όλες οι συνθήκες με προσθήκη SO<sub>2</sub> είχαν χαμηλότερη χρωματική ένταση από τον μάρτυρα, αν και στην συνθήκη που προστέθηκαν συνδυαστικά θειώδες και γλουταθειόνη η μείωση της χρωματικής έντασης ήταν περιορισμένη. Τέλος, οι τανίνες είχαν μια μέτρια κατανάληση σε οξυγόνο (66% για τις τανίνες γιγάρτων και 74% για το μείγμα τανινών), προδίνοντας όμως οργανοληπτικά ένα πικρό χαρακτήρα στον οίνο (πιο συγκεκριμένα οι τανίνες από φλοιούς και ξύλο).

Κατά αυτό τον τρόπο καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι με σωστή διαχείριση του οξυγόνου στην οινοποίηση (όπως αυτής των λευκών ή ροζέ οίνων, δηλαδή σε περιβάλλον με απουσία οξυγόνου), με έμφαση στο pH του οίνου (χαμηλά pH) και με προσεκτική αναλογία προσθήκης SO<sub>2</sub>/GSH, θα μπορέσουμε να χρησιμοποιήσουμε και την γλουταθειόνη ως αντιοξειδωτικό εκτός από το θειώδες, που είδαμε ότι είχε πολύ θετικά αποτελέσματα. Έτσι, θα πετύχουμε μία καλή προστασία έναντι σε χρωματικές αστάθειες στους ερυθρούς οίνους του Ρωμέικου.

Τέλος, θα ήταν ενδιαφέρον να δούμε πως θα ήταν τα ίδια δείγματα ένα χρόνο μετά τις προσθήκες, αφού το παρόν πειραματικό περιορίστηκε στις δύο εβδομάδες.

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Konstantinos Lazarakis. *The wines of Greece*. Εκδόσεις: Infinite Ideas Limited. (2018).
2. Σταύρακας Ευστ. Δημήτριος. *Αμπελογραφία* - Εκδόσεις Ζήτη. (2015).
3. VIVC ROMEIKO  
<https://www.vivc.de/index.php?r=cultivarname%2Findex&CultivarnameSearch%5Bcultivarnames%5D=&CultivarnameSearch%5Bcultivarnames%5D=cultivarn&CultivarnameSearch%5Btext%5D=romeiko>.  
<https://www.vivc.de/index.php?r=cultivarname%2Findex&CultivarnameSearch%5Bcultivarnames%5D=&CultivarnameSearch%5Bcultivarnames%5D=cultivarn&CultivarnameSearch%5Btext%5D=romeiko>.
4. Boutaris Mihalīs. *Greek Wine Grape Varieties: A Microsatellite DNA Marker Analysis*. University of California (2000).
5. Roubelakis-Angelakis Kalliopi & Lefort, F. *Genetic Comparison of Greek Cultivars*. *Am. J. Enol. Vitic* vol. 52 (2001).
6. The Australian Wine Research Institute. *Influencing wine style through management of oxygen during winemaking*. [www.wineaustralia.com](http://www.wineaustralia.com) (2017).
7. Waterhouse, A. L., Sacks, G. L. & Jeffery, D. W. *Understanding Wine Chemistry*. John Wiley & Sons (2016).
8. Ghidossi, R. & Meunier, F. *Vinification and aging: how much oxygen to add and when?* IVES Technical Reviews (2020).
9. Moutounet M & Vidal JC. *La mesure de l'oxygene dissous au chai: Nouveau critere de l'assurance qualite? L'innovation en viticulture/oenologie* - Décembre 2005 (2006).
10. Ribéreau-Gayon, Pascal. *Handbook of enology 1*. John Wiley & Sons (2006).
11. Ribéreau-Gayon, Pascal. *Handbook of enology 2*. John Wiley & Sons (2006).
12. Waterhouse L. Andrew and Laurie V. Felipe. *Oxidation of Wine Phenolics: A Critical Evaluation and Hypotheses*. *American Journal of Enology and Viticulture* (2005).

13. W.J. du Toit et. al. *Oxygen in Must and Wine: A review*. South African Journal of Enology and Viticulture (2006).
14. Danilewicz, J. C. Reactions involving iron in mediating catechol oxidation in model wine. *Am J Enol Vitic* **64**, 316–324 (2013).
15. Hoang, T., Dissertation, N., Waterhouse, A. L., Oberholster, A. & Toney, M. D. Controlling Wine Oxidation: Redox Cycling of Iron and the Formation of Acetaldehyde. Preprint at (2021).
16. Danilewicz. *Interaction of Polyphenols, Oxygen, and SO<sub>2</sub>*. Journal of Agriculture and Food Chemistry (2008).
17. SO<sub>2</sub> OIV. OIV collective expertise document SO<sub>2</sub> and wine. (2021).
18. World Health Organization (WHO). <https://www.who.int/>.
19. Li, Y., Wei, G. & Chen, J. Glutathione: A review on biotechnological production. 233–242 Preprint at (2004).
20. Pastore, A., Federici, G., Bertini, E. & Piemonte, F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta* 19–39 (2003).
21. Dubourdieu, D. & Lavigne-Cruege, V. The role of glutathione on the aromatic evolution of dry white wine. [www.infowine.com](http://www.infowine.com) (2004)
22. Kritzinger, E. C., Bauer, F. F. & Du Toit, W. J. Role of glutathione in winemaking: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 269–277 Preprint at (2013).
23. Du Toit et al. *A Technical Guide for Wine Producers Effect of different oxygen levels on glutathione levels in South African white must and wines*. South African Journal of Enology and Viticulture (2007).
24. Roussis, I. G., Lambropoulos, I. & Tzimasr, P. Protection of Volatiles in a Wine with Low Sulfur Dioxide by Caffeic Acid or Glutathione. *Am J Enol Vitic* (2007).
25. Glutathione OIV. oiv-oen-445-2015-en. (2015).
26. Jeremic, J., Vongluangam, I., Ricci, A., Parpinello, G. P. & Versari, A. The Oxygen Consumption Kinetics of Commercial Oenological Tannins in Model Wine Solution and Chianti Red Wine. *Molecules* **25**, (2020).
27. Pascual, O. *et al.* Oxygen consumption rates by different oenological tannins in a model wine solution. *Food Chem* **234**, 26–32 (2017).



28. Jeremic, J., Vongluanggam, I., Ricci, A., Parpinello, G. P. & Versari, A. The Oxygen Consumption Kinetics of Commercial Oenological Tannins in Model Wine Solution and Chianti Red Wine. *Molecules* **25**, (2020).
29. OIV. Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis | OIV.
30. The Australian Wine Research Institute. Understanding total package oxygen. (2019).
31. CIELAB color space - Wikipedia.  
[https://en.wikipedia.org/wiki/CIELAB\\_color\\_space](https://en.wikipedia.org/wiki/CIELAB_color_space)
32. Arapitsas, P. *et al.* Wine metabolomics reveals new sulfonated products in bottled white wines, promoted by small amounts of oxygen. *J Chromatogr A* **1429**, 155–165 (2016).
33. Zhao, J., Khan, I. A. & Fronczek, F. R. Gallic acid. *Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online* **67**, (2011).