



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ IV: Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διαδικασιών
Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Σύγκριση φαινολικών συστατικών σταφυλιού και κρασιού των
ποικιλιών Malbec και Αγιωργίτικου



Βοσκίδη Ελένη

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια
Βασιλική Ωραιπούλου

Αθήνα, 2012

ΙΔΙΑΙΤΕΡΕΣ ΕΥΧΑΡΙΣΤΕΙΕΣ ΣΤΟΥΣ

κ. Τσιμογιάννη Δημήτρη και κ. Ζουμπούλη Πάνο
για την πολύτιμη βοήθειά τους

Περιεχόμενα

1	ΚΕΦΑΛΑΙΟ	6
1.1	ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ	6
1.1.1	Σύσταση του βοστρύχου (τσάμπουρου):.....	6
1.1.2	Σύσταση των κουκουτσιών (γιγάρτων):	6
1.1.3	Σύσταση της φλοιού.....	7
1.1.4	Σύσταση της σάρκας.....	7
1.2	ΟΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	7
1.2.1	ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ	7
1.2.2	ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ	8
1.3	ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΟΙΝΩΝ	13
1.4	ΚΡΑΣΙ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ.....	14
1.4.1	Βακτηριοκτόνος Δράση	14
1.4.2	Επίδραση στα καρδιαγγειακά νοσήματα.....	15
1.4.3	Επίδραση στον καρκίνο.....	15
2	ΚΕΦΑΛΑΙΟ	16
2.1	MALBEC	16
2.2	ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ.....	18
2.3	Σύγκριση των δύο ποικιλιών	20
3	ΚΕΦΑΛΑΙΟ	21
3.1	ΕΡΥΘΡΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ	21
3.1.1	ΤΑ ΣΤΑΔΙΑ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΗΣ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ.....	21
3.1.2	ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΟΙΝΩΝ	24
3.1.3	ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΝΤΑΙ ΣΤΑ ΣΤΕΜΦΥΛΑ (ΣΥΝΟΛΟ ΦΛΟΥΔΑΣ, ΚΟΥΚΟΥΤΣΙΩΝ ΚΑΙ ΒΟΣΤΡΥΧΩΝ)	30
4	ΚΕΦΑΛΑΙΟ	32
4.1	ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗ ΣΤΑΦΥΛΗ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ 32	
4.1.1	ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ	32
4.1.2	ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ	34
5	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	34
5.1	ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ	34
5.2	ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ	35
5.3	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ- ΔΙΑΛΥΤΕΣ	36
5.4	ΣΥΣΚΕΥΕΣ.....	36

5.5	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ	37
5.5.1	Προκατεργασία ρωγών σταφυλιού.....	37
5.5.2	Εκχύλιση φαινολών από σκόνη φλοιών, στεμφύλων ή απολιπασμένων γιγάρτων 37	
5.5.3	Απομάκρυνση λιπιδίων από κονιοποιημένα γίγαρτα.....	37
5.5.4	Υδρόλυση ανθοκυανινών και λοιπών φαινολικών γλυκοζιτών και ταννινών 38	
5.5.5	Καταβύθιση ταννινών	38
5.5.6	Προσδιορισμός ολικών φαινολών	38
5.5.7	Μέθοδος ανάλυσης HPLC	38
5.5.8	Προσδιορισμός ποιοτικών χαρακτηριστικών	39
6	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ	39
6.1	ΜΕΛΕΤΗ ΡΩΓΑΣ ΣΤΑΦΥΛΙΟΥ.....	39
6.2	ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΘΟΚΥΑΝΙΔΙΝΩΝ ΣΤΟ ΣΤΑΦΥΛΙ	40
6.2.1	Προσδιορισμός ανθοκυανών στα διάφορα μέρη του καρπού.....	41
6.2.2	Προσδιορισμός ταννινών στα διάφορα μέρη των ρωγών της σταφυλής	47
6.3	ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ.....	53
6.3.1	Μελέτη φαινολικών συστατικών	53
6.4	ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΕΙΣ	56
6.5	ΜΕΛΕΤΗ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ.....	61
6.5.1	Δείκτης ολικών πολυφαινολών (d280)	61
6.5.2	Ένταση (IC').....	62
6.5.3	Απόχρωση.....	63

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, μελετήθηκαν ως προς το φαινολικό τους προφίλ, οι ποικιλίες Malbec και Αγιωργίτικο. Το Malbec αποτελεί μια γαλλική ποικιλία η οποία καλλιεργείται σε μεγάλη έκταση στην Αργεντινή. Το δείγμα Malbec που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία, καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα, με σκοπό να εξεταστεί η ποιότητά του και το προφίλ του ώστε να αδειοδοτηθεί τελικά για καλλιέργεια και στην Ελλάδα. Τα αμπέλι της ποικιλίας Malbec αναπτύχθηκε, καλλιεργήθηκε και οινοποιήθηκε σε χώρο του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικών Ερευνών στο Κεφαλάρι. Το Αγιωργίτικο, αποτελεί μια από τις κύριες ελληνικές ποικιλίες που καλλιεργούνται ευρέως σε πολλές περιοχές της Ελλάδας. Το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από τη Νεμέα και το οινοποιείο Χαρλαύτη.

Η μελέτη των δύο ποικιλιών, έγινε με σκοπό να τις συγκρίνουμε ως προς το φαινολικό τους προφίλ και να αξιολογήσουμε τη δυνατότητα καλλιέργειας μιας νέας ποικιλίας, όπως το Malbec, στην Ελλάδα.

Αρχικά μελετήθηκαν οι δύο ποικιλίες ως προς κάποιους ποιοτικούς δείκτες που χρησιμοποιούνται ευρέως στην οινοποιεία για αξιολόγηση του προϊόντος κατά την πορεία της οινοποίησης αλλά και του τελικού προϊόντος. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκαν, ο δείκτης ολικών πολυφαινολών, η ένταση του χρώματος και η απόχρωση, σε δείγματα από όλα τα στάδια της οινοποίησης των δύο ποικιλιών. Οι δύο ποικιλίες παρουσίασαν την ίδια συμπεριφορά κατά τη μεταβολή των δεικτών στα διάφορα στάδια της οινοποίησης, καθώς και μεγάλη σύγκλιση στις τιμές των τελικών δειγμάτων.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις στην HPLC σε δείγματα της σταφυλής και του τελικού οίνου. Πιο συγκεκριμένα, κρίθηκε χρήσιμο να αναλυθούν ως προς το φαινολικό τους προφίλ, όλα τα μορφολογικά μέρη του καρπού των δύο ποικιλιών (φλοιοί, γίγαρτα, σάρκα) και να συγκριθούν με το φαινολικό προφίλ των δύο οίνων. Από τις αναλύσεις στους καρπούς, προκύπτει ότι η κύρια ανθοκυανιδίνη των φλοιών είναι η μαλβιδίνη, η οποία απαντάται σε μορφή γλυκοζιλωμένης ανθοκυανιδίνης ως κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης ($228,6 \pm 1,6 \text{ mg/L}$ για το Malbec και $96,5 \pm 1,3 \text{ mg/L}$ για το Αγιωργίτικο) και ως 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης ($187,0 \pm 3,0 \text{ mg/L}$ για το Malbec και $152,0 \pm 0,0 \text{ mg/L}$ για το Αγιωργίτικο). Αντίστοιχες μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν και στους δύο οίνους, με τη μαλβιδίνη να αποτελεί την κύρια ανθοκυανιδίνη των δειγμάτων. Οι δύο γλυκοζίτες της μαλβιδίνης εντοπίστηκαν και στον οίνο, σε μικρότερη περιεκτικότητα. Το συνολικό τους προφίλ ως προς τις ανθοκυάνες που αναλύθηκαν, μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το Malbec είναι πιο πλούσιο από το Αγιωργίτικο, τόσο στον καρπό όσο και στον οίνο.

Τέλος, οι δύο ποικιλίες αναλύθηκαν ως προς το πολυφαινολικό τους προφίλ και με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν επιβαιβίωσαν ξανά τη φαινολική επικράτηση της ποικιλίας Malbec σε σχέση με το Αγιωργίτικο, τόσο σε ταννίνες όσο και σε μη ταννικές φαινόλες. Πιο συγκεκριμένα, ο καρπός του Malbec περιέχει 56% περισσότερες ολικές φαινόλες και 88% περισσότερες ταννίνες, ενώ στον οίνο τα αντίστοιχα

ποσοστά είναι παρόμοιες περιεκτικότητες σε ολικές φαινόλες, 157% περισσότερες ταννίνες και στατιστικά επικράτηση του Αγιωργίτικου στις μη ταννικές φαινόλες κατά 210%.

Τα αποτελέσματα λοιπόν δείχνουν μια σύγκλιση των δύο ποικιλιών όσον αφορά στο φαινολικό τους προφίλ, ενώ το Malbec αποτελεί μια πιο ενδυναμωμένη ποικιλία σε σχέση με το Αγιωργίτικο και η οποία θα ήταν ενδιαφέρον να εξετασθεί εκτενέστερα και σε άλλες συνθήκες καλλιέργειας (μεγαλύτερο υψόμετρο).

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1 ΚΕΦΑΛΑΙΟ

1.1 ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ

Το σταφύλι αποτελείται από το βόστρυχο (τσάμπουρο ή κοτσάνι) και τις ρώγες. Κατά μέσο όρο οι βόστρυχοι αποτελούν το 2,5-7% του σταφυλιού και οι ρώγες το 93-97,5%. Οι αναλογίες αυτές εξαρτώνται από την ποικιλία του σταφυλιού, τις κλιματολογικές συνθήκες, το έδαφος, την ηλικία των πρέμνων, τον χρόνο τρυγητού κ.α.

Οι ρώγες αποτελούνται από το φλοιό, τη σάρκα και τα γίγαρτα.

1.1.1 Σύσταση του βοστρύχου (τσάμπουρου):

Οι βόστρυχοι είναι φτωχοί σε σάκχαρα με σημαντική περιεκτικότητα σε εξουδετερωμένα οξέα, γιατί περιέχουν μεγάλη ποσότητα ανόργανων ιόντων. Οι βόστρυχοι είναι ιδιαίτερα πλούσιοι σε πολυφαινόλες (ταννίνες). Η συμμετοχή τους στην εκχύλιση έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ολικής οξύτητας και την αύξηση της ενεργού οξύτητας (pH) [Τσακίρης, 1988].

1.1.2 Σύσταση των κουκουτσιών (γιγάρτων):

Τα γίγαρτα είναι τα όργανα αναπαραγωγής της αμπέλου. Κανονικά, κάθε ρώγα περιέχει 4 γίγαρτα. Συχνά υπάρχουν λιγότερα έως και καθόλου. Αποτελούν το 3-6% του συνολικού βάρους του σταφυλιού. Τα συστατικά που περιέχουν είναι νερό, σάκχαρα και πολυσακχαρίτες, έλαια, ταννίνες, αζωτούχα και ανόργανα συστατικά και λιπαρά οξέα. Η σύσταση τους σε ταννίνες είναι 4 – 6 g/100g.

Ορισμένα από τα συστατικά που βρίσκονται στην περιφέρεια όπως τα φαινολικά, τα αζωτούχα και τα φωσφορούχα είναι ιδιαίτερα διαλυτά κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Ορισμένα άλλα συστατικά που βρίσκονται στο εσωτερικό του κουκουτσιού και κυρίως τα έλαια, είναι δυνατόν να υποβαθμίσουν την ποιότητα του κρασιού στην περίπτωση που εξαχθούν και διαλυθούν στο γλεύκος. Γι αυτό το λόγο πρέπει να δίνουμε μεγάλη προσοχή

και να αποφεύγουμε με κάθε τρόπο το σπάσιμο των κουκουτσιών κατά τη διάρκεια των μηχανικών κατεργασιών του σταφυλιού [Τσακίρης, 1988] .

1.1.3 Σύσταση της φλοιού

Ο φλοιός αποτελείται από την επιδερμίδα και μερικά στρώματα κυττάρων κάτω από αυτήν. Αποτελεί το 6-9% του βάρους του σταφυλιού. Ο ρόλος του στην οινοποίηση είναι σημαντικός. Από τον τρόπο που θα τον μεταχειριστούμε εξαρτάται κατά ένα μεγάλο μέρος το είδος του κρασιού που θα φτιάξουμε. Τα στρώματα των κυττάρων προς την επιδερμίδα είναι λεπτά και γίνονται παχύτερα προς το εσωτερικό. Τα σταφύλια που προορίζονται για οινοποίηση έχουν συνήθως σκληρό φλοιό και χυμώδη σάρκα αντίθετα με τα επιτραπέζια που έχουν φλοιό λεπτό και σάρκα τραγανή.

Ο φλοιός είναι εξίσου πλούσιος με τους βοστρύχους σε πολυφαινόλες. Οι ερυθρές ποικιλίες περιέχουν διπλάσια ποσότητα πολυφαινόλων στο φλοιό τους από αυτή των λευκών ποικιλιών. Οι ανθοκυάνες βρίσκονται σε 2 ή 3 στρώματα κυττάρων κάτω από την επιδερμίδα αν και σε ορισμένες ποικιλίες υπάρχουν και στη σάρκα [Τσακίρης, 1988] .

1.1.4 Σύσταση της σάρκας

Η σάρκα είναι το πιο σημαντικό μέρος της ρώγας. Αποτελείται από μεγάλα κύτταρα. Κάτω από τη λεπτή κυτταρική μεμβράνη υπάρχει ένας πολύ λεπτός ιστός κυτοπλάσματος με τον πυρήνα προς τα τοιχώματα και ολόκληρο το εσωτερικό του καταλαμβάνεται από τον κυτταρικό χυμό, το γλεύκος. Τα στερεά μέρη της σάρκας αποτελούνται από τα κυτταρικά τοιχώματα και τις αγγειώδεις δέσμες, μέσα από τις οποίες επικοινωνεί η ρώγα με το υπόλοιπο φυτό. Τα στερεά αυτά μέρη αποτελούν το 0,5% της σάρκας και συμμετέχουν στη δημιουργία της λάσπης του γλεύκους [2]. Η σάρκα αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από νερό (65-80%), ενώ περιέχει σάκχαρα (10-30%) και λοιπές ουσίες όπως οργανικά οξέα, ανόργανα συστατικά, αζωτούχες και αρωματικές ουσίες, ταννίνες κ.α. [Σουφλερός, 2000].

1.2 ΟΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Φαινολικές καλούνται οι ενώσεις που περιέχουν στο μόριό τους την χαρακτηριστική ομάδα φαινόλης:



Τα φαινολικά συστατικά στο ερυθρό κρασί είναι υπεύθυνα για το χρώμα και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (στυφάδα, τραχύτητα στη γεύση). Παράλληλα παρέχουν στους οίνους αντιοξειδωτική και αντιβακτηριακή προστασία, ενώ παίζουν αποφασιστικό ρόλο στην ωρίμανση και παλαίωση τους. Οι ποσότητες των φαινολικών συστατικών εξαρτώνται από την ποικιλία του σταφυλιού, το χρόνο τρυγητού και τον τρόπο οινοποίησης.

Οι φαινολικές ουσίες των οίνων ομαδοποιούνται σε δύο κατηγορίες, τις φλαβονοειδείς και τις μη φλαβονοειδείς και τις μεγάλες υποομάδες τους [Τσακίρης, 1988].

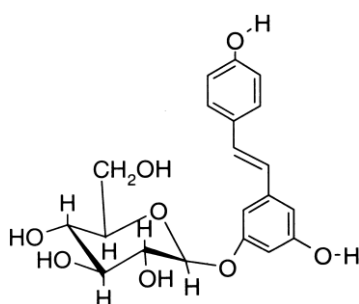
1.2.1 ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ

Στις μη φλαβονοειδείς υπάγονται μονομοριακά φαινολικά παράγωγα του βενζοϊκού οξέος, (γαλλικό οξύ, σαλικυλικό, π – υδροβενζοϊκό, βανιλικό, συριγγικό, πρωτοκατεχινικό οξύ) ή του κινναμωμικού οξέος (καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, π – κουραμικό οξύ), αλλά και άλλες

ενώσεις όπως, τα σιλβένια (ρεσβερατρόλη). Βρίσκονται στο σταφύλι υπό μορφή ετεροζιτών ή εστέρων, στα χυμοτόπια των κυττάρων του φλοιού και της σάρκας. Τα κύρια φαινολικά συστατικά της σάρκας είναι φαινολικά οξέα. Η περιεκτικότητα εξαρτάται από το είδος σταφυλιού.

Το σύνολο των φαινολικών οξέων, ελεύθερων ή με μορφή ενώσεων, φτάνει τα 100 – 150 mg/L στους ερυθρούς οίνους, ενώ στους λευκούς περιορίζεται στα 10-15 mg/L [Τσακίρης, 2005] .

Τα φαινολικά οξέα είναι σημαντικά για τον οίνο, γιατί έχουν αντιβιοτικές και αντισηπτικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση τροφίμων. Ενδέχεται τα οξέα αυτά να παίζουν κάποιο ρόλο στη μικροβιολογική κατάσταση του οίνου, έναντι κυρίως των βακτηρίων. Η οξείδωση των φαινολικών οξέων, όπως και όλων των ο- διφαινολών, οδηγεί σε ενώσεις κινόνης. Η αντίδραση αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία για το καστανό θόλωμα των λευκών κρασιών [Σουφλερός, 2000] .



Σχήμα 1: γλυκοζίτης της trans-ρεσβερατρόλης

1.2.2 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ

Σε αυτές ανήκουν οι φλαβανόνες, οι φλαβονόλες, οι κατεχίνες, οι προανθοκυανιδίνες, καθώς και οι ανθοκυάνες και οι ταννίνες.

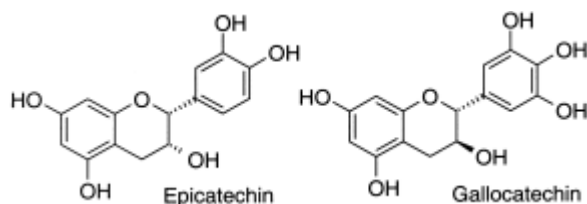
Οι φλαβανόνες δεν είναι συστατικό των σταφυλιών, αλλά του ξύλου του βαρελιού, ενώ οι φλαβονόλες είναι συστατικά των σταφυλιών και μάλιστα αποκλειστικά εντοπισμένες στο φλοιό. Έχουν κίτρινο χρώμα και βρίσκονται τόσο σε λευκά όσο και σε ερυθρά σταφύλια. Οι φλαβανόλες ή κατεχίνες και οι προανθοκυανιδίνες βρίσκονται κυρίως στα γίγαρτα και λιγότερο στο φλοιό. Οι κατεχίνες και οι προανθοκυανιδίνες, κατά την ωρίμανση των οίνων σχηματίζουν πολυμερή, τις ταννίνες [Τσακίρης, 2005] .

1.2.2.1 Φλαβανόλες (κατεχίνες)

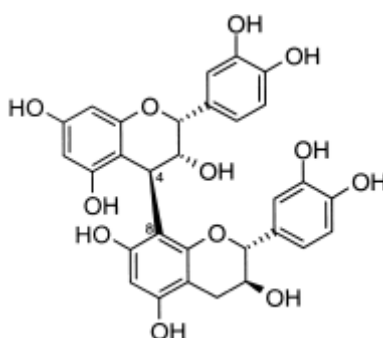
Οι φλαβανόλες είναι η πιο άφθονη κατηγορία των φλαβονοειδών στα σταφύλια και το κρασί. Στη ρώγα των σταφυλιών βρίσκονται στα γίγαρτα αλλά και στον φλοιό.

Οι πιο διαδεδομένες φλαβανόλες στο σταφύλι και στον οίνο είναι οι φλαβανόλες – 3, υδροξυλιωμένα παράγωγα των οποίων αποτελούν η (+)-κατεχίνη και η (-)-επικατεχίνη. Η συγκέντρωσή τους στους ερυθρούς οίνους φτάνει μέχρι και τα 200mg/L, ενώ στους λευκούς δεν ξεπερνά τα 50mg/L.

Οι φλαβανόλες – 3 συναντώνται σε διμερή (προκυανιδίνες) ή και σε μεγαλύτερα πολυμερή. Τα πολυμερή της φλαβανόλης – 3 αναφέρονται και ως προκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες ταννίνες. Οι κατεχίνες είναι υπεύθυνες για την αμαύρωση των λευκών και ερυθρών οίνων, όπως επίσης και την πρόσδωση πικρής γεύσης στους τελευταίους. [Waterhouse,2002]



Σχήμα 2: Cis και trans μορφές της 3-φλαβανόλης



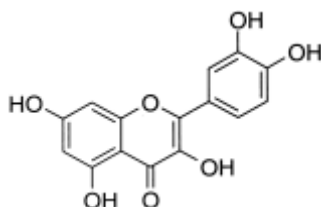
Σχήμα 3: προκυανιδίνη B1

1.2.2.2 Φλαβονόλες

Αυτή η κατηγορία, συναντάται πάντα σε μορφή γλυκοζίτη στον φλοιό του σταφυλιού. Το σάκχαρο με το οποίο συνδέονται είναι η γλυκόζη.

Στους νέους ερυθρούς οίνους, η συγκέντρωση φλαβονολών υπολογίζεται πάνω από 50mg/L, ενώ σε παλαιωμένα ερυθρά κρασιά περίπου 10mg/L.

Η κερκετίνη αποτελεί την κύρια φλαβονόλη στα σταφύλια [Waterhouse, 2002] .



Σχήμα 4: κερκετίνη

1.2.2.3 Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι οι ερυθρές χρωστικές του σταφυλιού, οι οποίες βρίσκονται στα 3 με 4 πρώτα κυτταρικά στρώματα της επιδερμίδας, στους ανθοκυανοπλάστες των χυμοτυπίων. Καθώς το σταφύλι ωριμάζει, καταλαμβάνουν διαρκώς περισσότερο χώρο και μάλιστα σε κύτταρα που βρίσκονται πιο κοντά στη σάρκα από ότι σε αυτά της επιδερμίδας. Η σύστασή τους διαφοροποιείται ανάλογα με την ποικιλία. Για την ίδια ποικιλία διαφοροποιούνται ανάλογα με τη χρονιά και το αμπέλι. Το χρώμα τους εξαρτάται από τη σύσταση του οίνου και κυρίως από το pH. Από τα σταφύλια των λευκών ποικιλιών απουσιάζουν ή υπάρχουν σε ίχνη [Τσακίρης, 2005].

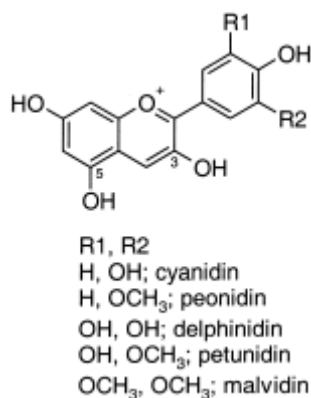
Από χημική άποψη, είναι παράγωγα του φαινυλο – 2 βενζοπυριλίου, το μόριο του οποίου παρουσιάζει κάποια ιδιαιτερότητα. Η ιδιαιτερότητα του είναι ότι περιέχει σε μορφή θετικού ιόντος έναν οξυγονούχοετεροκυκλικό δακτύλιο – το πυρύλιο – που επιτρέπει το σχηματισμό αλάτων με τα ανιόντα. Από το μόριο του φαινυλο – 2 βενζοπυριλίου προκύπτουν οι διάφορες ανθοκυανιδίνες του σταφυλιού.

Οι ανθοκυάνες είναι παράγωγα των ανθοκυανιδινινών, όπου στο μόριο των τελευταίων έχει προστεθεί μόριο ή μόρια σακχάρου. Στις ανθοκυάνες των σταφυλιών το σάκχαρο που συμμετέχει στο σχηματισμό του μορίου τους είναι η γλυκόζη. Έτσι, ανάλογα με τη θέση στην οποία προσκολλάται η γλυκόζη στο μόριο της ανθοκυανιδίνης και ανάλογα με τον αριθμό των μορίων γλυκόζης σχηματίζονται οι μονογλυκοζίτες και οι διγλυκοζίτες.

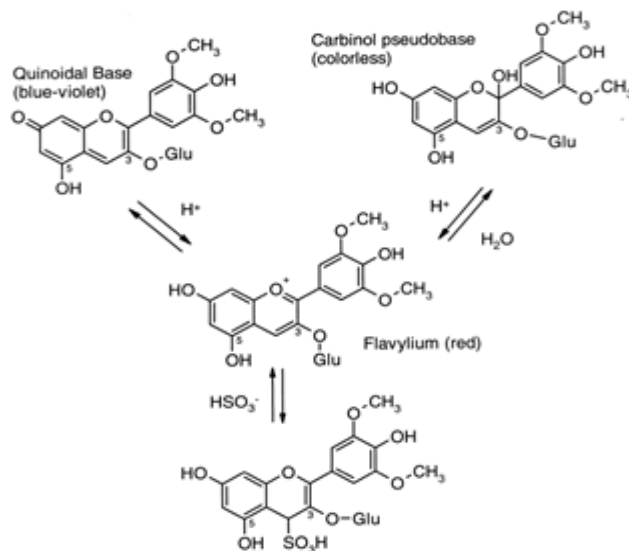
Η διάκριση των ανθοκυανών σε μονογλυκοζίτες και διγλυκοζίτες, παρουσιάζει σπουδαίο πρακτικό ενδιαφέρον, γιατί έτσι διαφοροποιούνται οι οίνοι από τα διάφορα υβρίδια, τα οποία προκύπτουν από τη διασταύρωση ευρωπαϊκών και αμερικάνικων ποικιλιών. Η παρουσία των διγλυκοζιτών ελέγχεται από ένα κυρίαρχο γονίδιο και μεταβιβάζεται σύμφωνα με τους νόμους της γενετικής. Αυτό σημαίνει ότι σε ποικιλίες σταφυλιών που γίνεται αισθητή η ύπαρξη αποκλειστικά διγλυκοζιτών ή συνύπαρξη μονό - και διγλυκοζιτών, οι ποικιλίες αυτές είναι καθαρά αμερικάνικες ή προέρχονται από διασταυρώσεις ανάμεσα σ' αυτές τις ίδιες ή ακόμα ανάμεσα σε αμερικάνικες και ευρωπαϊκές ποικιλίες. Τα υβρίδια που προέκυψαν από τη διασταύρωση ευρωπαϊκών και αμερικανικών ποικιλιών, χαρακτηρίζονται από υψηλή παραγωγικότητα και μεγάλη αντοχή στις ασθένειες, αλλά η ποσότητα του παραγόμενου οίνου είναι υποβαθμισμένη.

Οι κύριες ανθοκυανιδίνες (αγλυκόνες των ανθοκυανών) είναι η κυανιδίνη, η μαλβιδίνη, η δελφινιδίνη, η πεονιδίνη και η πετουινιδίνη. Η μαλβιδίνη είναι η σημαντικότερη, από άποψη ποσότητας, χρωστική των ερυθρών σταφυλιών και γι' αυτό ονομάζεται και οινιδίνη. Η κυανιδίνη είναι η πιο διαδεδομένη ανθοκυανιδίνη στη φύση, παρ' όλο που είναι, όπως η δελφινιδίνη, η πιο ασταθής, λόγω της ομάδας –OH σε όρθο-θέση. Συγκεκριμένα στην άμπελο, η ανθοκυάνη της κυανιδίνης είναι η πρώτη που εμφανίζεται στους φλοιούς των ρωγών των ερυθρών ποικιλιών κατά την περίοδο του περκασμού. Στην αρχή του σταδίου ωρίμανσης, η συγκέντρωσή της είναι αρκετά υψηλή φθάνοντας σε μια μέγιστη τιμή, αλλά στη συνέχεια μειώνεται ταχύτατα διότι η ασταθής αυτή ανθοκυάνη μετασχηματίζεται αφ' ενός σε ανθοκυάνη της δελφινιδίνης και αφ' ετέρου σε ανθοκυάνη της πεονιδίνης με μεθοξυλίωση. Έτσι, η συγκέντρωση της δελφινιδίνης αυξάνεται κατά πολύ περισσότερο από την κυανιδίνη. Στη συνέχεια η δελφινιδίνη, ούσα και αυτή ασταθής λόγω της

παρουσίας των υδροξυλίων σε ορθο-θέση, μετασχηματίζεται σε πετουनिδίνη με μεθοξυλίωση, με επακόλουθο την μείωση της συγκέντρωσής της. Όμως και η πετουनिδίνη έχει δύο -OH σε όρθο-θέση. Παρ'όλο που είναι σταθερότερη της κυανιδίνης και της δελφινιδίνης, το ποσοστό της εξαρτάται από τον μετασχηματισμό της σε μαλβιδίνη, η οποία συνεχώς συσσωρεύεται, με αποτέλεσμα να αποτελεί την κύρια ανθοκυάνη σε σχεδόν όλες τις ποικιλίες αμπέλου [Σουφλερός, 2000, Κουράκου-Δραγώνα, 1998]. Παρακάτω παρουσιάζονται οι δομές των βασικών ανθοκυανιδινών που με τη μορφή γλυκοζιτών συναντάμε στο σταφύλι και τον οίνο.



Σχήμα 5: δομές ανθοκυανιδινών (Anthocyanidin)



Σχήμα 6: μορφές ανθοκυανών που βρίσκονται στο κρασί (Anthocyanin)

1.2.2.4 Ταννίνες

Οι ταννίνες είναι οι πιο ευρέως συναντώμενες φαινολικές ενώσεις στους οίνους. Είναι προϊόντα πολυμερισμού των απλών φαινολών και το μοριακό τους βάρος κυμαίνεται μεταξύ 500 και 3000. Αν τα μόρια των ταννινών είναι πολύ μικρά δεν υπάρχουν αρκετές

ενεργές θέσεις και έτσι οι ενώσεις που σχηματίζονται με τις πρωτεΐνες είναι ασταθείς. Αλλά και στην περίπτωση που τα μόρια των ταννινών είναι πολύ μεγάλα, τότε αυτά δεν μπορούν να πλησιάσουν αρκετά τις πρωτεΐνες και παρεμποδίζεται έτσι ο σχηματισμός ενώσεων. Επίσης, η ιδιαίτερη στυφή γεύση ορισμένων οίνων οφείλεται στην παρουσία ορισμένων ταννινών. Οι «επιθετικές» αυτές ταννίνες έχουν την ιδιότητα να ενώνονται με τις πρωτεΐνες και να απομακρύνονται, ενώ οι «μη επιθετικές» δεν ενώνονται με τις πρωτεΐνες και παραμένουν στον οίνο.

Οι ταννίνες των σταφυλιών βρίσκονται στο φλοιό και τα γίγαρτα και κατανομή έχει σχέση με τον αντιμυκητιακό τους ρόλο καθώς παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των μικκυλίων που προσβάλλουν τη ρώγα. Η προδελφινιδίνη είναι ταννίνη που εντοπίζεται μόνο στο φλοιό.

Ανάλογα με την δομή των μορίων τους, οι ταννίνες διακρίνονται στις υδρολυόμενες και στις συμπυκνωμένες. Οι υδρολυόμενες ταννίνες αποτελούνται από ένα γλυκοσίδιο πάνω στο οποίο προσκολλώνται διάφορες φαινολικές ενώσεις, όπως το γαλλικό και το ελλαγικό οξύ. Επιπλέον, οι υδρολυόμενες ταννίνες δεν περιέχονται στα σταφύλια αλλά είναι δυνατόν να βρεθούν σε οίνους γιατί αποτελούν τις κύριες εμπορικές ταννίνες που χρησιμοποιούνται στις διάφορες κατεργασίες αυτών. Πιο συγκεκριμένα, απαντούν ως συστατικό του ξύλου. Συναντώνται μόνο σε οίνους που έχουν παλαιώσει σε δρύινα βαρέλια ή έχουν δεχθεί προσθήκη οινολογικής ταννίνης.

Οι συμπυκνωμένες ταννίνες στις οποίες αποδίδεται το σώμα των ερυθρών οίνων σχηματίζονται από αντιδράσεις πολυμερισμού 10 έως 12 μόριων μονομερών φλαβανολών-3 (κατεχινών) και μερικώς φλαβανοδιολών-3,4 (προανθοκυανιδινών - λευκοκυανιδινών). Αντιπροσωπεύουν το 30-60% των ολικών φαινολικών παραγώγων του οίνου [Τσακίρης, 2005].

Οι ταννίνες των σταφυλιών βρίσκονται στα στερεά μέρη τους και παραλαμβάνονται είτε με εκχύλιση είτε με συμπίεση. Από την ποσότητα των ταννινών που περιέχεται στο σταφύλι, ένα ελάχιστο ποσοστό μεταφέρεται στον οίνο. Το ποσοστό αυτό μετά από τις μειώσεις που συμβαίνουν κατά τα στάδια της κατεργασίας στους ερυθρούς οίνους, κυμαίνεται μεταξύ 1,5 και 4 g/L, ενώ στους λευκούς οίνους μεταξύ 40 και 200 mg/L.

Οι ταννίνες χαρακτηρίζονται για την αντιοξειδωτική τους δράση, με την οποία προστατεύονται οι ερυθροί οίνοι από τις επιδράσεις του οξυγόνου. Επίσης, διακρίνονται για τις ενώσεις που σχηματίζουν με τον σίδηρο (Fe), λόγω των δύο -OH που βρίσκονται σε θέση ορθό- του πλάγιου δακτυλίου (κατεχολική δομή). Οι ενώσεις αυτές συμμετέχουν στο σιδηρικό θόλωμα των οίνων που είναι ανεπιθύμητο.

Από την ποικιλία των σταφυλιών, τις κλιματολογικές συνθήκες και το είδος της οινοποίησης, εξαρτάται και η ανομοιογένεια της υφής των ταννινών.

Η ικανότητα παλαίωσης, εκτός βέβαια από την ποικιλία του σταφυλιού, εξαρτάται από την ωρίμανση του σταφυλιού, από την οποία εξαρτάται ο βαθμός πολυμερισμού των ταννινών. Κατά την παλαίωση, παρατηρείται σχηματισμός μεγάλων πολυμερών, χάρη στην επίδραση του οξυγόνου, που είναι απαραίτητο για την πραγματοποίησή της. Γίνεται λοιπόν αντιληπτή, η μεγάλη σπουδαιότητα του οξυγόνου στο σχηματισμό μεγάλων μορίων

ταννινών κατά τη διάρκεια παραμονής σε ξύλινο βαρέλι. Αυτές οι μεγάλες ταννίνες μπορούν να διατηρηθούν κατά τη γήρανση και επιπλέον έχουν την ιδιότητα να μην προκαλούν στυφή αίσθηση [Τσακίρης, 1994].

1.3 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΟΙΝΩΝ

Οι φαινολικές ενώσεις είναι υπεύθυνες για το χρώμα και τη γεύση (στυφάδα) του κρασιού.

Στους λευκούς οίνους, το κανονικό φωτεινό κίτρινο χρώμα τους όπως και το ανεπιθύμητο καφετί χρώμα οφείλεται στα φαινολικά συστατικά. Επίσης, το χρώμα των ερυθρών οίνων οφείλεται στις ανθοκυάνες, τις ταννίνες και άλλα φαινολικά συστατικά, τα οποία παραλαμβάνονται από τους φλοιούς των σταφυλιών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Η σταθερότητα του χρώματος των οίνων είναι ανάλογη με τον βαθμό πολυμερισμού ανάμεσα στις ανθοκυάνες και στις άλλες φαινολικές ενώσεις.

Στους λευκούς οίνους, η όσο το δυνατόν χαμηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά θεωρείται και πιο επιθυμητή. Γι' αυτό το λόγο, έχει σημασία η διαδικασία παραλαβής γλεύκους με χαμηλές ή καθόλου πιέσεις. Επιπλέον, η δημιουργία ή μη χρωστικών στους λευκούς οίνους, οφείλεται στην επιλογή της ποικιλίας, στο χρόνο τρυγητού και στην κατάσταση ωριμότητας. Η οξειδωση των φαινολών μπορεί να οδηγήσει σε ανεπιθύμητες αλλαγές όπως στην εξασθένηση της γεύσης και του χρώματος και μάλιστα στο να γίνει η αιτία της ανάπτυξης καφέ χρώματος στα γλεύκη.

Στους ερυθρούς οίνους, τα φαινολικά συστατικά είναι επιθυμητά και η αλκοολική ζύμωση διενεργείται παρουσία των στεμφύλων για να οδηγήσει στο επιθυμητό χρώμα και στα γευστικά χαρακτηριστικά αυτών των οίνων. Στη διάρκεια της γήρανσης του κρασιού, έχουμε μια μείωση του κόκκινου χρώματος που οφείλεται στην μείωση των ανθοκυανών (που είναι οι κυρίως κόκκινες χρωστικές των νέων κρασιών), εξαιτίας της φυσιολογικής ένωσης τους με τις ταννίνες. Σ' αυτές τις πιο σύνθετες ενώσεις ανθοκυανών - ταννινών που είναι επίσης ερυθρές, οφείλεται το κόκκινο χρώμα των παλιών κρασιών όπου τελικά παύουν να περιέχονται ανθοκυάνες.

Το μέγιστο της έντασης χρώματος από ερυθρές ποικιλίες, επιτυγχάνεται αφού διατηρηθεί το ζυμούμενο γλεύκος με τα στέμφυλα επί 3 – 5 ημέρες. Κατόπιν, η σχηματιζόμενη λόγω της αλκοολικής ζύμωσης αιθανόλη, θα εκχυλίσει τις ανθοκυάνες από τους φλοιούς των ρογών, που είναι διαλυτές στο οινόπνευμα και θα δώσει το κόκκινο χρώμα στο κρασί. Αμέσως μετά το χρονικό διάστημα εκχύλισης των 3 – 5 ημερών, πρέπει να γίνει χωρισμός του γλεύκους από τα στέμφυλα, γιατί αυξάνονται άλλοι ανεπιθύμητοι παράγοντες (π.χ. ταννίνες, χορτώδεις γεύσεις κ.τ.λ.), που δίνουν τη γνωστή γευστική τραχύτητα στους οίνους. Παρ' όλα αυτά, σε πολλές περιπτώσεις που δεν έχει επιτευχθεί το επιθυμητό χρώμα στον οίνο, τα στέμφυλα παραμένουν στην δεξαμενή μέχρι το τέλος της ζύμωσης ή ακόμα και για κάποιες μέρες ακόμα, κατά τη μεταζυμωτική εκχύλιση [Bravo, 1998].

Η ένταση χρώματος εκφράζεται με το άθροισμα των απορροφήσεων που εμφανίζει ο οίνος στα 420nm και στα 520nm [ένταση (IC) = A420 + A520]. Η απόχρωση εκφράζεται με το

πηλίκο αυτών των δύο απορροφήσεων [απόχρωση (teinte) = A420/A520]. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την ευχερή παρακολούθηση της μεταβολής του ερυθρού χρώματος, κατά την κλασική ερυθρή οινοποίηση και επομένως το διαχωρισμό του γλεύκους από τα σταφύλια, όταν επιτευχθεί το επιθυμητό χρώμα. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι για τους λευκούς οίνους, η τιμή της απορρόφησης στα 420nm, πρέπει να κυμαίνεται από 0,068 έως 0,150, ενώ στους ερυθρούς οίνους, η ένταση του χρωματισμού (IC), πρέπει να βρίσκεται σε τιμές μεταξύ 1,50 έως 13,50 και ο δείκτης απόχρωσης (teinte) στις τιμές από 0,47 έως 1,02 [Zoecklein et al., 1999] .

Όσον αφορά στη γεύση των ερυθρών κρασιών και πιο συγκεκριμένα στη στυφή τους αίσθηση, οι ταννίνες είναι αυτές που την καθορίζουν. Πιο συγκεκριμένα, η δράση των ταννινών είναι χημική. Προκαλούν την συγκόλληση του σάλιου χάρη στην ένωσή τους με τις πρωτεΐνες που περιέχει το σάλιο και το τελικό φράξιμο των σιελογόνων αδένων. Έτσι το εμποδίζουν να παίζει τον ρόλο του λιπαντικού, δημιουργώντας την στυφή αίσθηση που περιγράφεται σαν σύσφιξη, συστολή, σκλήρυνση [Bravo, 1998] .

1.4 ΚΡΑΣΙ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ

Στο κρασί περιέχονται συστατικά που καθορίζουν τη θρεπτική του αξία. Αυτά είναι η αλκοόλη, που περιέχεται σε μεγάλες ποσότητες (9-17%vol), η γλυκερίνη και τα ζάχαρα, όταν πρόκειται για γλυκούς οίνους, ενώ περιέχει και διάφορα είδη βιταμινών. Επίσης κάποια οξέα όπως και τα ανόργανα και οργανικά άλατά τους, οι πολυφαινόλες κ.α. παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη θρέψη και τη λειτουργία του οργανισμού. Όσον αφορά στα φαινολικά συστατικά, η θετική επίδραση του κρασιού αποδίδεται σε μικροσυστατικά του σταφυλιού όπως η ρεσβερατρόλη, τα φλαβονοειδή και ανθοκυανίνες. Συγκεκριμένα οι μέχρι τώρα μελέτες έχουν αποδείξει ότι το κρασί εμφανίζει:

- ◆ Αγγειοδιασταλτική δράση
- ◆ Αντιμικροβιακή και αντιβακτηριαδική δράση
- ◆ Αντιφλεγμονώδη δράση
- ◆ Αντιοξειδωτική δράση
- ◆ Αντιθρομβωτική δράση
- ◆ Δράση στα επίπεδα των λιποειδών
- ◆ Αντικαρκινική δράση
- ◆ Αντιαλλεργική δράση

Πιο συγκεκριμένα:

1.4.1 Βακτηριοκτόνος Δράση

Από μελέτες, έχει προκύψει ότι οι σαλμονέλες, οι κολικοβάκιλοι και οι παθογόνοι σταφυλόκοκκοι εισαγόμενοι σε έναν ερυθρό οίνο θανατώνονται σε μερικά λεπτά. Ο ίδιος οίνος αραιωμένος με νερό σε αναλογία 1:1 ή ακόμα 1:3 διατηρεί τη βακτηριοκτόνο δράση του με την προϋπόθεση όμως να επιμηκυνθεί ο χρόνος επαφής. Επιπλέον, ένας ερυθρός οίνος που έχει βακτηριοκτόνο δράση πάνω στην *escherichia-coli*, μετά την επεξεργασία του με φυτικό άνθρακα χάνει κάθε ίχνος των αντισηπτικών ιδιοτήτων του και μετατρέπεται σε ένα καλό υπόστρωμα καλλιέργειας του βακτηρίου αυτού. Γνωρίζοντας ότι ο άνθρακας

δεσμεύει τις πολυφαινόλες, δηλαδή χρωστικές-ταννίνες, συμπεραίνουμε ότι ανάμεσα σε αυτές φαίνεται να βρίσκεται η αντιβακτηριακή ιδιότητα του οίνου [Weisse et al., 1995]

1.4.2 Επίδραση στα καρδιαγγειακά νοσήματα

Το κόκκινο κρασί και τα συστατικά του, αποτελούν παράγοντες ιδιαίτερου ενδιαφέροντος όσον αφορά την επίδρασή του σε καρδιαγγειακά νοσήματα. Πιο συγκεκριμένα, στη Ν. Γαλλία παρατηρήθηκε αυξημένη κατανάλωση λίπους και ιδιαίτερα κορεσμένου. Παρ' όλη τη συσχέτιση της πρόσληψης κορεσμένων λιπαρών με καρδιαγγειακές παθήσεις, σ' αυτήν την περιοχή της Γαλλίας, η εμφάνιση τέτοιων παθήσεων είναι σημαντικά μειωμένη σε σύγκριση με άλλες περιοχές. Αυτό το αξιοπερίεργο φαινόμενο ονομάστηκε «Γαλλικό παράδοξο» και αποδίδεται στην αυξημένη κατανάλωση κόκκινου κρασιού στην περιοχή αυτή της Γαλλίας [Renaud et al., 1992].

Τα τελευταία χρόνια, ολοένα και αυξανόμενος είναι ο αριθμός των επιδημιολογικών μελετών που υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση κόκκινου κρασιού ελαττώνει τον κίνδυνο θανάτου από στεφανιαία νόσο. Η καρδιοπροστατευτική δράση της κατανάλωσης οίνου, προέρχεται κυρίως από τις αντιοξειδωτικές και αγγειοδιασταλτικές ικανότητες του κόκκινου κρασιού.

Πιο συγκεκριμένα, η ρεσβερατρόλη, αντιοξειδωτική ουσία η οποία βρίσκεται στο κόκκινο κρασί φαίνεται να επιδρά στη χαλάρωση της εσωτερικής αρτηρίας του μυοκαρδίου σε άτομα που πάσχουν από στεφανιαία νόσο.

Οι διάφορες πολυφαινόλες που βρίσκονται στο κόκκινο κρασί, έχουν συσχετιστεί με μείωση του κινδύνου εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου, μέσω διάφορων μηχανισμών όπως η μείωση της επιδεκτικότητας της LDL σε οξειδώσεις ή μείωση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων, αλλά και η βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου. Η τελευταία αυτή δράση των συστατικών του κόκκινου κρασιού, έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς τα τελευταία χρόνια αυξάνεται σταδιακά η αποδοχή της υπόθεσης ότι η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου παίζει μείζονα ρόλο στην εμφάνιση και εξέλιξη της αθηρωματικής διαδικασίας και της στεφανιαίας νόσου γενικότερα [Novakovic et al., Karatzi et al., 2004].

1.4.3 Επίδραση στον καρκίνο

Το κρασί μπορεί να δράσει εναντίον του καρκίνου και των εκφυλιστικών νόσων.

Ερευνητές πήραν κύτταρα από καρκίνο του μαστού και του προστάτη, δηλαδή από ορμονοεξαρτώμενους καρκίνους, έκαναν καλλιέργεια και πρόσθεσαν μικρή ποσότητα από αντιοξειδωτικές ουσίες (πολυφαινόλες) που πήραν από το κόκκινο κρασί. Από τη δεύτερη μέρα οι ουσίες αυτές άρχισαν να δρουν. Μετά από 5-6 μέρες παρατηρήθηκε η μέγιστη δράση τους: τα καρκινικά κύτταρα είτε είχαν σκοτωθεί είτε είχε σταματήσει ο πολλαπλασιασμός τους.

Φαίνεται επίσης ότι οι προκυανιδίνες του κόκκινου κρασιού καθώς και του φλοιού των σταφυλιών, καταστέλλουν τη βιοσύνθεση οιστρογόνων. Τα οιστρογόνα έχουν δραστικό ρόλο στην ανάπτυξη καρκίνου του μαστού.

Παρόμοια αποτελέσματα φαίνεται να παρουσιάζονται και σε άλλες μελέτες, όπου φαίνεται ότι τα φαινολικά συστατικά του κόκκινου κρασιού και ιδιαίτερα η ρεσβερατρόλη και η

κερκετίνη, να καταπολεμούν τη δράση μιας πρωτεΐνης, η οποία προστατεύει τα καρκινικά κύτταρα του μαστού από την καρκινική δράση [Webb et al., 2004, Jing-Jing, et al., 2003].

Όταν το κρασί δεν περιλαμβάνεται στη συνολική ημερήσια κατανάλωση αλκοόλης, τότε ο καρκίνος του ανώτερου πεπτικού συστήματος έχει μεγαλύτερες πιθανότητες αύξησης. Ο καθηγητής Φαρμακολογίας των Πανεπιστημίων του Bordeaux και του Montpellier κ. Josef Vercauteren μάλιστα, αναφέρεται στην έντονη αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών, οι οποίες βρίσκονται σε ιδιαίτερα υψηλή πυκνότητα στο κόκκινο κρασί και οι οποίες έχουν τη δυνατότητα να απομακρύνουν και τις τοξικές ελεύθερες ρίζες.

2 ΚΕΦΑΛΑΙΟ

2.1 MALBEC

Το Malbec είναι μια ποικιλία η οποία παρ' όλο που προέρχεται από την Γαλλία, συναντά τις ιδανικές συνθήκες για την ανάπτυξή της στην Αργεντινή (στους πρόποδες των Άνδεων, στις οάσεις της ερήμου RioNegro, στην Παταγονία κ.α.). Στην περιοχή της Mendoza μάλιστα, το Malbec θεωρείται το καλύτερο στον κόσμο. Στη Γαλλία, η ποικιλία αυτή χρησιμοποιούταν ώστε να ενδυναμώνει το χρώμα των κόκκινων οίνων. Σε πολλά μέρη του κόσμου αποκαλείται «μαύρο σταφύλι», από το γεγονός του ότι το ανοιχτό μωβ χρώμα των πρώιμων οίνων, μετατρέπεται σχεδόν σε μαύρο κατά την ωρίμανσή του.

Η ευαισθησία του στον παγετό και ροπή για υποβάθμιση έως και καταστροφή του φυτού και του καρπού, είναι οι κύριοι λόγοι που έχει μειωθεί η καλλιέργεια του Malbec στο μεγαλύτερο μέρος της Γαλλίας. Παρ' όλα αυτά, σε κάποιες περιοχές της Γαλλίας όπως στην Cahor, το Malbec είναι σήμερα η κύρια ποικιλία για την παρασκευή κόκκινου οίνου.

Στα μέσα του 19ου αιώνα, το Malbec καλλιεργείται πρώτη φορά στην Αργεντινή και από τότε αποτελεί την κύρια κόκκινη ποικιλία στη χώρα. Το Malbec καλλιεργείται επίσης ευρέως και στη Χιλή όπως επίσης και σε μικρές εκτάσεις στην Καλιφόρνια και την Αυστραλία. Σ' αυτές τις χώρες συνήθως χρησιμοποιείται στην ανάμιξη με οίνους από άλλες κόκκινες ποικιλίες.

Οι ρώγες του έχουν μικρό μέγεθος έντονου μαύρου χρώματος και λεπτή επιδερμίδα, ενώ σαν ποικιλία είναι ευαίσθητη στο κρύο. Τα φύλλα του είναι μαλακά, ακανόνιστα και ζαρωμένα, με τρεις μικρούς λοβούς και έναν πολύ μακρύ κεντρικό λοβό.

Ο οίνος Malbec έχει πλούσια, στρογγυλή και μαλακή γεύση, σταθερή δομή και έντονη παρουσία ταννινών (σταθερότερες ταννίνες). Εμφανίζει ένα χαρακτηριστικό βαθύ σκούρο κόκκινο χρώμα και πλούσια σκοτεινά αρώματα φρούτων στο χαρμάνι. Από αμπελώνες που βρίσκονται σε μεγάλο ύψος, παράγονται κρασιά με πολύ καλή ισορροπία μεταξύ του χρώματος, της οξύτητας και των γλυκών και άφθονων ταννινών. Τα αρώματα που διακρίνονται στον οίνο Malbec είναι κυρίως από κόκκινα φρούτα όπως το μαύρο κεράσι, το βατόμουρο, η φράουλα, το δαμάσκηνο, αλλά και μια αίσθηση μαύρου πιπεριού και το

καπνιστό άρωμα του ξύλου, χαρακτηριστικά τα οποία επηρεάζονται και από τον χρόνο της συγκομιδής. Παρ' όλα αυτά τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά μεταβάλλονται ανάλογα με τον τόπο καλλιέργειας (υψόμετρο, υγρασία, χημική και φυσική σύσταση εδάφους) και τον τρόπο της καλλιέργειας (άρδευση, κλάδεμα, οργάνωση αμπελιού), καθώς και της οινοποίησης [5*, 6*, 7*, 8*].

Πίνακας 1: φαινολικό περιεχόμενο οίνου Malbec [Fanzone et al., 2010]

	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	mg/L
	TP (ολικές φαινόλες)	1932-3507
	TA (ολικές ανθοκυάνες)	261-803
	TT (ολικές ταννίνες)	2783-4943
	IC'	9-25χ.μ.
Βενζοϊκά οξέα	Γαλλικό	14-22
	Συνολικά	18-30
Υδροξυκινναμωνικά Οξέα	Καφεϊνικό	1,3-3,4
	π-κουραμικό	1,7-3,6
	Συνολικά	14-20,3
Ανθοκυάνες	Δελφινιδίνη	12-67
	Κυανιδίνη	1,6-15,5
	Πετουνιδίνη	17,7-83,5
	Πεονιδίνη	3,5-23,5
	Μαλβιδίνη	190-409
	Ακετυλιωμένημαλβιδίνη	33-70
	Κουμαρυλιωμένη μαλβιδίνη	19,3-28,4
Φλαβονόλες	Κατεχίνη	24-47
	Επικατεχίνη	14,5-20
	Προκυανιδίνη B1	2,5-11,7
	B3	Nd-6
	dimer	2,2-7,1
	Συνολικά	46-85,4
Φλαβονόλες	Μυρικετίνη	2-5
	Κερκετίνη	3,2-5,4
	Συνολικά	11-16,7

Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται κάποια ποσοτικά στοιχεία για το φαινολικό περιεχόμενο του οίνου Malbec από διάφορα υψίπεδα της Αργεντινής. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, επιβεβαιώνουν μια έντονη διακύμανση στο φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων οίνου που αναλύθηκαν, η οποία είναι ενδεικτική του πολυφαινολικού «πλούτου» των Malbec οίνων που μελετήθηκαν. Η διακύμανση αυτή οφείλεται πιθανότατα στις διαφορετικές τοποθεσίες στις οποίες καλλιεργήθηκαν τα δείγματα που μελετήθηκαν. Κάποιες περιοχές στην αργεντινική επαρχία Mendoza, διακρίνονται για το εξαιρετικό πολυφαινολικό δυναμικό τους. Τα υψηλότερα ποσοστά σε αυτές τις φαινολικές ομάδες (ολικές φαινόλες, ταννίνες, ανθοκυανίνες) εμφανίζονται κυρίως σε ζώνες που βρίσκονται σε μεγαλύτερο υψόμετρο (1000-1500m).

Επιπλέον, όλα τα δείγματα Malbec οίνου είναι ιδιαίτερα υψηλά σε συνολικό ταννικό περιεχόμενο και θα μπορούσαν ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν σε μείγματα με άλλες ποικιλίες φτωχές σε ταννίνες, με σκοπό να παραχθούν ισορροπημένα, τόσο στο χρώμα, το στόμα όσο και στη δομή και το σώμα, κρασιά.

Τέλος, παρατηρούνται σημαντικά αυξημένες τιμές στον δείκτη του χρώματος (IC=9-25), κάτι το οποίο δεν συνάδει με τις αντίστοιχες τιμές που συναντάμε στη διεθνή βιβλιογραφία, οι οποίες κυμαίνονται από 0,5 έως 3 [Fanzone et al., 1997].

Το φαινολικό περιεχόμενο και το χρώμα των οίνων όπως αναφέρθηκε παραπάνω, εξαρτάται σημαντικά από τις συνθήκες καλλιέργειας όπως το έδαφος, την υγρασία, την ακτινοβολία, το υψόμετρο κ.α. Η εξάρτηση του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου (d280) και του χρώματος (CI') από το υψόμετρο, καταγράφεται στον Πίνακα 2:

Πίνακας 2: Σχέση δείκτη ολικών πολυφαινολών και έντασης με το υψόμετρο

	1500m	1000m	500m
d280	42,06	35,43	25,24
CI'	1,72	1,69	0,51

Από τον πίνακα διαπιστώνουμε ότι το υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο, καθώς και η υψηλότερη τιμή χρώματος, παρατηρούνται στο μεγαλύτερο υψόμετρο (1500m). Σε σχέση λοιπόν με τις συνθήκες που επικρατούν στην Ελλάδα στον τομέα της καλλιέργειας αμπελιών (μεγαλύτερο ποσοστό καλλιέργειας σε χαμηλά υψόμετρα έως και 700m), θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι το Malbec είναι μια ορεινή ποικιλία [Berli et al., 2008].

2.2 ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ

Το Αγιωργίτικο θεωρείται μια από τις πιο εκλεκτές ελληνικές ποικιλίες αμπέλου. Συναντάται σποραδικά σε πολλά διαμερίσματα της χώρας, σε εκτάσεις που φτάνουν τα 25.000 στρέμματα.

Σύμφωνα με τον κανονισμό 3800/81 της Ε. Ο. Κ. και μετά τις τελευταίες τροποποιήσεις με τον 2548/99, η ποικιλία αυτή καλλιεργείται κυρίως στους Νομούς Αργολίδας, Αρκαδίας, Αττικής, Βοιωτίας, Ευβοίας, Κορινθίας, και Λακωνίας και επιτρέπεται προσωρινά στους Νομούς Αιτωλοακαρνανίας, Δράμας, Ηλείας, Λαρίσης, Λασιθίου και Φλωρίνης. Καλλιεργείται κυρίως στη ζώνη παραγωγής οίνων Ο.Π.Α.Π. «Νεμέα» καταλαμβάνοντας μια έκταση 19.000 στρεμμάτων περίπου και σε υψόμετρο 250 – 800m.

Καλλιεργείται από αρχαιότατων χρόνων στην περιοχή της Νεμέας. Είναι επίσης γνωστό με το όνομα του οίνου της εποχής αυτής ως “φλυάσιος οίνος” . Το Αγιωργίτικο ξεχωρίζει σε τρεις ποιότητες ανάλογα με το υψόμετρο καλλιέργειας :

- i. Πεδινή περιοχή με υψόμετρο έως 250 - 300 μέτρα .
- ii. Ημιορεινή περιοχή με υψόμετρο 300 - 600 μέτρα . Αυτή η ζώνη παράγει τα καλύτερα κρασιά .
- iii. Ορεινή περιοχή με υψόμετρο 650 έως 800 μέτρα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά χαμηλόβαθμα κρασιά , υψηλής οξύτητας και ανοιχτόχρωμα .

Παρατηρούνται συνήθως δυο σταφύλια ανά καρποφόρο βλαστό, κυρίως στον τέταρτο και πέμπτο κόμβο, πολλές φορές όμως παρατηρούνται μέχρι και τέσσερα σταφύλια ανά βλαστό.

Τα σταφύλια της ποικιλίας αυτής είναι συνήθως μεσαίου μεγέθους (μέσο βάρος σταφυλιού περίπου 500g), πυκνόρωγα, κυλινδροκωνικού σχήματος. Ενίοτε παρατηρούνται και πτερυγωτά σταφύλια.

Οι ρώγες είναι μικρού έως μετρίου μεγέθους, στρογγυλές, κυανομελανού χρώματος, με μαλακιά εύχυμη σάρκα. Η πλήρης ωρίμανση των σταφυλιών στην περιοχή της Αττικής παρατηρείται κατά τα μέσα Σεπτεμβρίου, ενώ στην ζώνη Ο. Π. Α. Π. της Νεμέας ο χρόνος ωρίμανσης επηρεάζεται άμεσα από το υψόμετρο της καλλιέργειας, ξεκινώντας από τις αρχές Σεπτεμβρίου στα χαμηλότερα υψόμετρα μέχρι τα μέσα Οκτωβρίου στις πιο ορεινές περιοχές.

Τα πιο κατάλληλα σχήματα μόρφωσης για την ποικιλία αυτή είναι το κυπελλοειδές (με ύψος κορμού 20- 40cm και το αμφίπλευρο γραμμοειδές Royal με ύψος κορμού 50cm και ύψος βλαστικού τείχους 120- 150cm. Οι πιο κατάλληλες πυκνότητες φύτευσης είναι 400- 500 πρεμνά ανά στρέμμα.

Η απόδοση κυμαίνεται κατά μέσο όρο στα 1000–1200 kg/στρέμμα, ενώ έχουν αναφερθεί και αποδόσεις της τάξης των 2500 kg/στρέμμα σε γραμμικά σχήματα μόρφωσης.

Το Αγιωργίτικο είναι μια από τις πιο πλούσιες σε χρώμα ελληνικές ερυθρές ποικιλίες αμπέλου. Τα ερυθρά κρασιά που παράγει είναι πλούσια σε ανθοκυάνες και χαρακτηρίζονται από βαθύ κόκκινο χρώμα, έντονα αρώματα κόκκινων φρούτων, κεράσι, μούρο. Στόμα πλούσιο, με πολύ μαλακές ταννίνες και χαμηλή οξύτητα. Χαρακτηριστικό είναι το ιώδες χρώμα των νέων οίνων που παράγονται από αυτήν την ποικιλία, το οποίο οφείλεται στον μονογλυκοζίτη της δελφινιδίνης που περιέχουν. Το Αγιωργίτικο είναι μια ποικιλία η οποία μπορεί να δώσει διαφορετικούς τύπους προϊόντων, ανάλογα με το περιβάλλον στο οποίο καλλιεργείται. Παράγονται κυρίως ερυθρά ξηρά κρασιά που έχουν ένα βαθύ ρουμπινί χρώμα και επιδέχονται παλαίωση. Η συμπαραμονή του μούστου με τα στέμφυλα κατά την οινοποίηση διαρκεί συνήθως λίγες μέρες. Κρασιά όμως που προορίζονται για παλαίωση θα πρέπει κατά την οινοποίηση να μένουν πάνω από 6 μέρες με τα στέμφυλα, οπότε η δυνατότητα παλαίωσης φτάνει τα δέκα χρόνια. Το φρέσκο κρασί έχει ένα φρουτώδες άρωμα (όπως το γεράνι). Όταν το κρασί υποστεί μηλογαλακτική ζύμωση αναπτύσσονται αρώματα καραμέλας γάλακτος. Έχει μαλακές ταννίνες και με την παλαίωση αποκτά ένα πλούσιο μπουκέτο όπου κυριαρχούν αρώματα μπαχαρικών (μοσχοκάρυδο) ή ακόμα και βαλσαμικά αρώματα (δενδρολίβανο).

Έτσι λοιπόν από τη συγκεκριμένη ποικιλία μπορούμε να πάρουμε και μεγάλη ποικιλία προϊόντων, όπως αξιόλογα ερυθρά γλυκά κρασιά, φρουτώδη ερυθρά κρασιά πρώιμης κατανάλωσης (τύπου nouveau), βαθύχρωμα ερυθρά ξηρά κρασιά, είτε νεαρά, φρουτώδη, ευκολόπιota, με μαλακή και στρογγυλή γεύση, είτε παλαιωμένα με χαρακτηριστικό σύνθετο μπουκέτο κόκκινων φρούτων, αποξηραμένων δαμάσκηνων και μπαχαρικών, και πλούσια, ισορροπημένη γεύση, με βελούδινες ταννίνες και μακρά επίγευση. Επίσης παράγονται ζηρό χρώμα ροζέ κρασιά, με φρουτώδη αρώματα, γεμάτη και δροσερή γεύση. Από την ποικιλία αυτή παράγονται τα ξηρά αλλά και τα ημίγλυκα και γλυκά ερυθρά κρασιά Ονομασίας Προελεύσεως Ανωτέρας Ποιότητας "Νεμέα". Το Αγιωργίτικο συμμετέχει στη σύνθεση αρκετών Τοπικών οίνων (Πελοποννησιακός, Πλαγιές Ορεινής Κορινθίας κ.α.)

καθώς και Επιτραπέζιων, ιδιαίτερα με τις ποικιλίες Ξινόμαυρο και Cabernet-Sauvignon [Kallithraka et al., 2006, 9*, 10*]

Στον Πίνακα 3 δίνονται στοιχεία για το φαινολικό περιεχόμενο του οίνου Αγιωργίτικο:

Πίνακας 3: φαινολικό περιεχόμενο οίνου Αγιωργίτικο [Kallithrakaetal., 2006]

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		mg/L
	TP (ολικές φαινόλες)	2283
	TA (ολικές ανθοκυάνες)	402,7
Βενζοϊκά οξέα	Γαλλικό	79,8
	Συνολικά	99,9
Υδροξυκινναμωνικά οξέα	Καφεϊνικό	11,85
	Π-κουραμικό	0,67
	Φερουλικό	-
	Συνολικά	0,98
Ανθοκυάνες	Δελφινιδίνη	2,89
	Κυανιδίνη	Δεν ανιχνεύθηκε
	Πετουνιδίνη	4,51
	Πεονιδίνη	4,36
	Μαλβιδίνη	311,26
	Ακετυλιωμένημαλβιδίνη	27,75
	Κουμαρυλιωμένημαλβιδίνη	46,50
Φλαβανόλες	Κατεχίνη	53,2
	Επικατεχίνη	108,4
	Προκυανιδίνη B1	16,9
	B2	6,95
	C1	17,16
	A2	6,63
	Συνολικά	129,15
φλαβονόλες	Μυρικετίνη	3,43
	Καιμπφερόλη	6
	Κερκετίνη	9,35
	Ισοκαιμπφερόλη	2,56
	Ρουτίνη	17,27
	Συνολικά	21,51

2.3 Σύγκριση των δύο ποικιλιών

Από τα χαρακτηριστικά που παρατέθηκαν παραπάνω, καθώς και από τους πίνακες που περιγράφουν ποσοτικά το φαινολικό φορτίο των δύο ποικιλιών, παρατηρούμε ότι και το Malbec αλλά και το Αγιωργίτικο, είναι οίνοι με σημαντικό φαινολικό περιεχόμενο και έντονο κόκκινο χρώμα. Από τα στοιχεία που παραθέσαμε μάλιστα, παρατηρούμε ότι και οι δύο ποικιλίες χρησιμοποιούνται για την ενδυνάμωση οίνων από άλλες ποικιλίες. Επίσης, εμφανίζουν κοντινά αρωματικά στοιχεία, κυρίως από κόκκινα φρούτα.

Παρ' όλα αυτά, παρατηρείται μία αξιοσημείωτη φαινολική επικράτηση του οίνου Malbec. Πιο συγκεκριμένα, οι δείκτες TP (ολικές φαινόλες) και TA(ολικές ανθοκυάνες) είναι σημαντικά μεγαλύτεροι σε σχέση με τον οίνο του Αγιωργίτικου, καθώς και οι επιμέρους φαινολικές ενώσεις που αναλύθηκαν στους δύο οίνους. Η σύγκριση αυτή ωστόσο, μπορεί μόνο να μας δώσει μια ένδειξη μόνο σε σχέση με την φαινολική επικράτηση του Malbec, καθώς οι τιμές που του Αγιωργίτικου αναφέρονται σε ένα μόνο δείγμα και τοποθετούνται περίπου στη μέση της διακύμανσης των διαφόρων δειγμάτων Malbec. Το αξιοσημείωτο του Πίνακα 1 που αναφέρεται στην ποικιλία Malbec είναι η έντονη διαφοροποίηση του φαινολικού περιεχομένου σε σχέση με τις συνθήκες καλλιέργειάς του, κάτι που μπορεί να το κατατάξει στα πολύ πλούσια σε φαινολικές ενώσεις κρασιά.

3 ΚΕΦΑΛΑΙΟ

3.1 ΕΡΥΘΡΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

3.1.1 ΤΑ ΣΤΑΔΙΑ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΗΣ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ

Το πρώτο στάδιο της ερυθρής οινοποίησης αφορά στη μηχανική επεξεργασία των σταφυλιών. Αρχικά πραγματοποιείται ο εκραγισμός που λαμβάνει χώρα στο εκραγιστήριο. Το εκραγιστήριο αποτελείται από ένα διάτρητο κύλινδρο που περιστρέφεται. Στο εσωτερικό του βρίσκεται ένας άξονας με πτερύγια που περιστρέφεται με αντίθετη φορά. Εδώ οι ρώγες διαχωρίζονται από τα κοτσάνια τους και περνούν από τις τρύπες του κυλίνδρου, ενώ τα κοτσάνια βγαίνουν από το αντίθετο άκρο και απομακρύνονται (αποβοστρύχωση).

Στη συνέχεια οι ρώγες περνούν ανάμεσα από τους κυλίνδρους του θλιπτηρίου, οι οποίοι επίσης περιστρέφονται. Η ταχύτητα και η μεταξύ τους απόσταση ρυθμίζονται ανάλογα με την ποικιλία των σταφυλιών και το βαθμό ωριμότητάς τους. Έτσι ενώ σπάζουν οι φλοιοί αποφεύγεται το σπάσιμο των κουκουτσιών που θα πρόσθετε στυφή γεύση στο κρασί. Συνήθως, η διαδικασία του εκραγισμού (αποβοστρύχωση) και της έκθλιψης (σπάσιμο ραγών των σταφυλιών), συνδέονται μεταξύ τους, σε ένα ενιαίο μηχάνημα. Με την σύνθλιψη των ρωγών, απελευθερώνεται ο χυμός τους και όλος ο σταφυλοπολτός που δημιουργείται μεταφέρεται με τη βοήθεια μιας αντλίας στις ανοξείδωτες δεξαμενές. Ακολουθεί η χημική επεξεργασία της σταφυλόμαζας, δηλαδή η θείωση (προσθήκη ανυδρίτη θειώδους οξέος, SO₂) για προστασία από την οξείδωση και αν χρειαστεί κάποια διόρθωση των σακχάρων και της οξύτητας [Σουφλερός, 2000].



Σχήμα: Θλιπτήριο-εκραγιστήριο σε ενιαίο μηχάνημα

Στο σημείο αυτό της οινοποίησης, ξεκινάει η αλκοολική ζύμωση, η μετατροπή δηλαδή του φρέσκου χυμού σταφυλιών (γλεύκος) σε κρασί. Η διαδικασία αυτή προκαλείται από

τις ζύμες, μονοκύτταρους οργανισμούς που βρίσκονται στον φλοιό του σταφυλιού και έχουν πλέον περάσει στο σταφυλοπολτό. Η κυριότερη δράση των ζυμών είναι να μετατρέψουν τα σάκχαρα του σταφυλιού σε αλκοόλη. Ταυτόχρονα απελευθερώνεται διοξείδιο του άνθρακα που δημιουργεί φυσαλίδες. Αυτές ανεβάζουν τους φλοιούς στην επιφάνεια των δεξαμενών όπου σχηματίζουν πυκνό «καπέλο». Εναλλακτικά χρησιμοποιούνται επιλεγμένες ζύμες με τις οποίες εμβολιάζεται το γλεύκος, προκειμένου να υπάρχει καλύτερος έλεγχος της ζύμωσης και των επιθυμητών χαρακτηριστικών του κρασιού που θα παραχθεί. Αν δεν γίνει προσθήκη ζυμών από τον παραγωγό η αλκοολική ζύμωση λέγεται φυσική, ενώ αλλιώς ελεγχόμενη.

Η διάρκεια παραμονής των στέμφυλων με το γλεύκος, είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες που επηρεάζει την εκχύλιση των διαφόρων συστατικών του σταφυλιού. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά στις ερυθρές χρωστικές ουσίες στις οποίες οφείλεται το κόκκινο χρώμα του κρασιού, κατά κύριο λόγο βρίσκονται στο εσωτερικό των φλοιών του σταφυλιού, όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1. Μόνο η επαφή του χυμού με το φλοιό, στη σωστή θερμοκρασία και για συγκεκριμένο χρόνο, δίνει το ποθητό αποτέλεσμα του χρωματισμού του. Γι αυτό, αντλείται ο χυμός από τον πυθμένα της δεξαμενής και ανακυκλώνεται από την κορυφή της. Με αυτόν τον τρόπο, διαβρέχονται τα στέμφυλα. Ρυθμίζοντας λοιπόν το χρόνο αυτής της εκχύλισης, επιτυγχάνεται το επιθυμητό χρώμα. Στα ερυθρά κρασιά, ο χρόνος εκχύλισης μπορεί να διαρκέσει από ελάχιστες μέρες έως και αρκετές εβδομάδες.

Κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης αυξάνεται η θερμοκρασία του γλεύκους, διότι οι ζύμες παράγουν ενέργεια. Συνήθως επιδιώκεται να διατηρηθεί η θερμοκρασία ζύμωσης στο όριο των 20- 28 °C που είναι ιδανική για την παραγωγή των ερυθρών οίνων, καθώς μας επιτρέπει να παραλάβουμε τα συστατικά που διαφοροποιούν τη γεύση τους, διατηρώντας συγχρόνως τη φρεσκάδα των αρωμάτων τους. Η ψύξη των δεξαμενών γίνεται με μανδύα ψυχρού νερού ή εμβαπτίζοντας στο εσωτερικό τους ψυκτικά στοιχεία.

Μόλις ο χυμός αποκτήσει το επιθυμητό χρώμα και γευστικό χαρακτήρα, απομακρύνεται από τους φλοιούς και μεταφέρεται σε άλλη δεξαμενή.

Όταν ολοκληρωθεί η αλκοολική ζύμωση, μπορεί να εκδηλωθεί μία δεύτερη, η μηλογαλακτική. Η τελευταία ονομάζεται ζύμωση αν και προκαλείται από βακτήρια, σε αντίθεση με την αλκοολική ζύμωση που πραγματοποιείται από ζυμομύκητες. Είναι δε τόσο σημαντική για την εξέλιξη των ερυθρών κρασιών ώστε αν δεν εκδηλωθεί από μόνη της, συχνά προκαλείται με προσθήκη βακτηρίων. Η παρουσία του μηλικού οξέος στους οίνους, τους προσδίδει γεύση και οσμή πράσινων μη ώριμων φρούτων, ένα είδος στυφάδας και μια τραχύτητα ανεπιθύμητη. Τα χαρακτηριστικά αυτά αποτελούν ένα σοβαρό μειονέκτημα στην ποιότητα των λεπτών ερυθρών οίνων, καθώς επίσης και των λευκών γλυκών [Σουφλερός, 2000]. Στη φάση της μηλογαλακτικής ζύμωσης, το μηλικό οξύ μετατρέπεται σε γαλακτικό, μια αλλαγή που «μαλακώνει» το κρασί, μειώνει δηλαδή τον άγουρο χαρακτήρα του και βοηθά στην ωρίμασή του. Με αυτή τη μέθοδο επιτυγχάνεται φυσική μείωση της οξύτητας και βιολογική σταθερότητα του κρασιού [1*]. Η διαδικασία ολοκληρώνεται με την αποθήκευση του οίνου. Ακολουθεί δηλαδή εμφιάλωση είτε σε δρύινα βαρέλια για την παλαίωση του οίνου, είτε σε γυάλινες φιάλες.

Ο φρεσκοζυμωμένος οίνος είναι θολός στην όψη, τραχύς και στυφός στη γεύση, με οσμή μαγιάς και χωρίς bouquet (μπουκέτο, ευωδιά). Μπορούμε ωστόσο να διακρίνουμε διάφορα χαρακτηριστικά αρώματα που προέρχονται από την εκάστοτε ποικιλία του σταφυλιού. Τα χαρακτηριστικά αυτά αδυνατίζουν σιγά – σιγά και από την πρώτη ακόμη χρονιά παρατηρείται βελτίωση του οίνου, τόσο στην όψη όσο και στη γεύση και την οσμή, ενώ αργότερα αρχίζει και η ανάπτυξη του μπουκέτου και η εξέλιξη του χρώματος.

Όλες αυτές οι μεταβολές οφείλονται σε μια σειρά από φυσικά, χημικά, φυσικοχημικά ή βιοχημικά φαινόμενα, όπως συσσωματώσεις, καθιζήσεις, εστεροποιήσεις, οξειδώσεις, αναγωγές, ζυμώσεις κ.α. Με το πέρασμα του χρόνου, προκύπτει τελικά το χαρακτηριστικό μπουκέτο του οίνου και η πληρότητα της ποιότητάς του.

Ο απαιτούμενος χρόνος της παλαίωσης, αλλά και ο χρόνος κατά τη διάρκεια του οποίου ο οίνος παραμένει ευχάριστος για κατανάλωση, δεν είναι σταθερός για όλους τους οίνους. Ο χρόνος αυτός κυμαίνεται σημαντικά και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, μερικοί από τους οποίους είναι ο τύπος του οίνου, η προέλευσή του, η χρονιά παραγωγής, η τεχνική οινοποίησης κ.α. Στην περίπτωση των ερυθρών οίνων, η περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις και το ύψος της οξύτητας ασκούν πρωταρχικό ρόλο στη διάρκεια ζωής του οίνου [Σουφλερός, 2000].

Όταν λοιπόν η σύσταση του οίνου το επιτρέπει (ανθοκυάνες-ταννίνες) παλαιώνεται. Τόσο στους ερυθρούς όσο και στους λευκούς οίνους, η παλαίωση περιλαμβάνει:

- Την ωρίμανση των οίνων ή εκλέπτυνση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους, που οφείλεται σε οξειδωτικά φαινόμενα (βραχύχρονη παραμονή σε βαρέλι).
- Την ανάπτυξη του μπουκέτου (bouquet), που οφείλεται σε αναγωγικά φαινόμενα (παραμονή σε φιάλη)

Οι διάφοροι τρόποι παλαίωσης

- Παλαίωση σε δρύινο βαρέλι. Το ξύλο προσδίδει αρώματα όπως βανίλια και μπαχαρικά, διαμορφώνει το αρωματικό μπουκέτο προσφέροντας οίνους εξαιρετικής ποιότητας.
- Παλαίωση σε φιάλη

Για να είναι βιολογικά και χημικά σταθερός ο οίνος χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι. Στις φυσικές μεθόδους περιλαμβάνονται η θέρμανση και η ψύξη του οίνου. Στις χημικές περιλαμβάνεται η αφαίρεση του σιδήρου (Fe) και του χαλκού (Cu) και τέλος, στις φυσικοχημικές μεθόδους περιλαμβάνεται η προσθήκη του μπετονίτη, του αραβικού κόμμεως, του μετατρυγικού οξέος κ.α. Επίσης ο οίνος υποβάλλεται σε διαδικασίες όπως μεταγγίσεις, διαύγαση και φιλτράρισμα. Με τις μεταγγίσεις επιτυγχάνουμε την απομάκρυνση βιολογικών λασπών, τρυγικών αλάτων και διάφορων στερεών. Η διαύγαση βοηθάει στην απομάκρυνση σωματιδίων, ώστε να αποφύγουμε τη δημιουργία ιζήματος και πρωτεϊνικού θολώματος. Τέλος φιλτράρεται και αφού είναι απολύτως βιολογικά και χημικά σταθερός εμφιαλώνεται [Σουφλερός, 2000, 2*].

3.1.2 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΟΙΝΩΝ

Η ωριμότητα των οίνων είναι πολύ σημαντική παράμετρος για την παραλαβή κρασιών υψηλής ποιότητας.

Στις περιπτώσεις ανεπαρκούς ωριμότητας οδηγούμαστε στην παραγωγή οίνων με αδύνατο χρώμα, γυμνή γεύση και στυφή επίγευση. Αντίθετα, όταν η ωριμότητα είναι καλή, έχουμε βαθύχρωμους οίνους, με σώμα, δομή και διάρκεια καθώς και επιδεκτικότητα στην παλαίωση. Υπενθυμίζεται ότι το έντονο χρώμα των οίνων αυτών οφείλεται στο υψηλό ποσοστό συμπλόκων ταννινών - ανθοκυανών καθώς και στον υψηλό βαθμό ιονισμού των ανθοκυανών τους.

Συνεπώς, πρωταρχικός στόχος της οινοποίησης τέτοιων ποικιλιών, είναι η παραλαβή κατά την εκχύλιση του μέγιστου δυνατού ποσοστού ανθοκυανών από τους φλοιούς, ενώ στην περίπτωση των ταννινών η διαδικασία πρέπει να είναι εκλεκτική και να σταματά πριν την παραλαβή έντονα στυφών συστατικών. Οι ανθοκυάνες και οι ταννίνες των φλοιών, θεωρούνται “μαλακές” και εκχυλίζονται σε υδατικό διάλυμα. Αντίθετα, οι ταννίνες των γιγάρτων παραλαμβάνονται παρουσία αλκοόλης, αφού δηλαδή έχει προχωρήσει η αλκοολική ζύμωση.

Η εκχύλιση των φαινολικών ουσιών επηρεάζεται σημαντικά από την θερμοκρασία της ζύμωσης, τον χρόνο παραμονής του οίνου με τα στέμφυλα και από τις ανακυκλώσεις. Εναλλακτικά χρησιμοποιείται σε κάποιες περιπτώσεις (Pinot Noir) η τεχνική εμφάπτισης του καπέλου (rigage). Άλλες τεχνικές που στοχεύουν στην ενίσχυση του παραλαμβανόμενου κατά την οινοποίηση φαινολικού δυναμικού είναι η αφαιμάξη (saignée), η χρήση πηκτινολυτικών ενζύμων, η μεταζυμωτική εκχύλιση (macération post-fermentaire) και η εν θερμώ μεταζυμωτική εκχύλιση (macération finale a chaud). Η επίδραση των παραπάνω τεχνικών στη χημική σύσταση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων είναι πολύ σημαντική [Ένωση οινοπαραγωγών αμπελώνα Β.Ε.]. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες θα αναπτυχθούν στη συνέχεια.

3.1.2.1 Προζυμωτική κρυοεκχύλιση

Η κρυοεκχύλιση είναι μια τεχνική η οποία, όπως δείχνει και το όνομά της, βασίζεται στην διαδικασία της εκχύλισης και λαμβάνει χώρα σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Η βασική ιδέα αυτής της τεχνικής, που ονομάζεται και προζυμωτική κρυοεκχύλιση επειδή προηγείται από την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης, είναι η ψύξη του σταφυλοπολτού για ικανό χρονικό διάστημα, με στόχο την ενίσχυση του χρώματος, της γεύσης και των αρωματικών χαρακτηριστικών του παραγόμενου οίνου. Η διαδικασία αυτή γίνεται με απουσία οινοπνεύματος καθώς η ζύμωση δεν έχει ξεκινήσει και για την αποφυγή έναρξής της, προστίθεται ελεγχόμενη ποσότητα SO₂. Η προζυμωτική κρυοεκχύλιση είναι υδατική εκχύλιση. Έτσι, οι οίνοι που παράγονται με αυτόν τον τρόπο χαρακτηρίζονται ως περισσότερο φρουτώδεις, πιο πολύπλοκοι και με αυξημένη αρωματική και χρωματική ένταση.

Στα ερυθρά σταφύλια, η τεχνική αυτή εκφράζει την επιθυμία να αυξήσουμε την χρωματική ένταση και τις αποχρώσεις, ενώ ταυτόχρονα να πάρουμε έναν οίνο με απαλότερη και

ελαφρότερη στυπτικότητα. Ειδικά εφαρμόζεται σε ποικιλίες που παρουσιάζουν χαμηλά φαινολικά συστατικά και χαμηλή χρωματική ένταση.

Στα λευκά κρασιά αντίθετα, για τον λόγο του ότι έχουν λιγότερα φαινολικά συστατικά από τα ερυθρά, η κρυσταλλική δεν είναι τόσο χρήσιμη. Παρόλα αυτά, κάποια λευκά κρασιά και ειδικά αυτά που προέρχονται από πιο αρωματικές ποικιλίες, ωφελούνται από μια περιορισμένη κρυσταλλική. Αυτό επιτρέπει την διάχυση φρουτώδων αρωμάτων και προδρόμων αρωμάτων από τους φλοιούς των σταφυλιών.

Με τη διαδικασία της κρυσταλλικής, εκχυλίζονται επίσης κάποια επιθυμητά φαινολικά συστατικά τα οποία συνεισφέρουν στο "σώμα" και την ενδεχόμενη παλαιώση του παραγόμενου οίνου. Μια αρνητική συνέπεια είναι ότι ταυτόχρονα εκχυλίζονται λιγότερο επιθυμητά χορτώδη, πικρά και στυπτικά συστατικά. Μια ισορροπημένη εκχύλιση μεταξύ αρωματικών και κατάλληλων χορτώδων, πικρών, στυφών συστατικών μπορεί να επιτευχθεί με ελεγχόμενο χρόνο εκχύλισης και ελεγχόμενη θερμοκρασία. Η θερμοκρασία είναι προτιμότερο να διατηρείται κάτω από 15 °C και ανάμεσα σε 10-15 °C και ο χρόνος μπορεί να είναι από μερικές ώρες μέχρι και μερικές μέρες.

Ένα ακόμα πρόβλημα που μπορεί να δημιουργηθεί, είναι η μειωμένη ολική οξύτητα και το αυξημένο pH στο γλεύκος. Αυτό πιθανόν να συμβαίνει λόγω της απελευθέρωσης ιόντων καλίου από τους φλοιούς των σταφυλιών.

Στα γλεύκη που πρόκειται να πραγματοποιηθεί κρυσταλλική, προστίθεται συνήθως, αν και όχι πάντα, SO₂. Τα πιο συνηθισμένα επίπεδα θείωσης κυμαίνονται γύρω στα 30-150 mg/L. Το SO₂ δρα κυρίως σαν μικροβιακό ανασταλτικό, αλλά η παρουσία του στο γλεύκος προκαλεί σημαντική εκχύλιση φαινολικών συστατικών, έτσι δεν προστίθεται πάντα σε λευκά γλεύκη που θα περάσουν κρυσταλλική. Σε πολλές περιπτώσεις, για την προστασία της οξειδωσης, χρησιμοποιείται σαν αντικαταστάτης του SO₂, το CO₂.

Ένα άλλο σημαντικό κομμάτι κατά τη διαδικασία της κρυσταλλικής, είναι η επίδραση των γαλακτικών και οξικών βακτηρίων και των άγριων ζυμών. Θεωρείται ότι οι άγριες ζύμες και τα βακτήρια όπως είναι τα ετεροζυμώσιμα γαλακτικά και οξικά βακτήρια, *Acetobacter*, *Brettanomyces* και *Kloeckera/Hanseniaspora* μένουν ενεργά στα γλεύκη κατά τη διάρκεια της κρυσταλλικής. Η δράση τους είναι μάλλον θετική, διότι εκκρίνουν ένζυμα τα οποία αλληλεπιδρούν με τα συστατικά των προδρόμων αρωμάτων και έχουν σαν αποτέλεσμα την παραγωγή αρωματικών συστατικών τα οποία τελικά, συνεισφέρουν στην πολυπλοκότητα του κρασιού.

Συνοψίζοντας, θα μπορούσαμε να απαριθμήσουμε τις οργανοληπτικές επιδράσεις της προζυμωτικής κρυσταλλικής ως εξής :

- Αύξηση των φρουτώδων αρωμάτων και ειδικά της συγκέντρωση των τερπενίων στα λευκά γλεύκη.
- Αύξηση της αρωματικής έντασης και πολυπλοκότητας.
- Αύξηση αρώματος στόματος, πιθανόν εξ αιτίας των αυξημένων συγκεντρώσεων φαινολών και πολυσακχαριτών.
- Αύξηση χρωματικής έντασης και χροιάς (αποχρώσεις).
- Παραγωγή οίνων με απαλότερη στυφότητα και πλουσιότερο "σώμα" [2*].

3.1.2.2 Θερμοινοποίηση

Η θέρμανση του σταφυλοπολτού πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, είναι γνωστή στους οινοπαραγωγούς από τον 18ο αιώνα, οι οποίοι χρησιμοποιούσαν αυτή την τεχνική για να βελτιώσουν το χρώμα του οίνου τους σ'ένα μέρος της παραγωγής τους. Σήμερα με την ανάπτυξη των βιομηχανικών τεχνικών η θέρμανση μπορεί να εφαρμοσθεί σχεδόν στο σύνολο της παραγωγής.

Η θερμοινοποίηση είναι η τεχνική στην οποία το γλεύκος μαζί με τα στέμφυλα θερμαίνονται άμεσα σε θερμοκρασία 65 °C με 75 °C για 10 έως 20 min. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη γρήγορη και ποσοτική εκχύλιση των φαινολικών συστατικών από το φλοιό των ερυθρών σταφυλιών με συνέπεια τα γλεύκη να είναι πιο πλούσια σε φαινολικά συστατικά και συγχρόνως σε χρωματική ένταση. Η επιτυχία της τεχνικής αυτής εξαρτάται κυρίως από δύο παράγοντες :το βαθμό θέρμανσης του σταφυλοπολτού και το χρόνο εκχύλισης των ουσιών [2*].

Η θερμοινοποίηση παρουσιάζει συνοπτικά τα παρακάτω πλεονεκτήματα:

- Ταχεία εκχύλιση των χρωστικών ουσιών της σταφυλής: με τη θερμοινοποίηση επιτυγχάνεται η εκχύλιση μεγαλύτερης ποσότητας χρωστικών σε ασύγκριτα μικρότερο χρόνο, σε σχέση με την κλασική οινοποίηση.
- Αδρανοποίηση των οξειδωτικών ενζύμων: ορισμένα ένζυμα που εκκρίνονται από τον μύκητα *Botrytis cinerea*, προκαλούν οξείδωση των χρωστικών ουσιών του σταφυλιού, με αποτέλεσμα την αλλοίωση του χρώματος του οίνου. Η επιβλαβής αυτή δραστηριότητα των οξειδωτικών ενζύμων εκμηδενίζεται με τη θερμική επεξεργασία της προσβεβλημένης σταφυλόμαζας.
- Επιτάχυνση και υποβοήθηση των ζυμώσεων: η θερμοινοποίηση χαρακτηρίζεται από μια αυθόρμητη, ορμητική και ταχεία εξέλιξη της αλκοολικής ζύμωσης. Η ιδιαίτερη αυτή εξέλιξη της αλκοολικής ζύμωσης αποδίδεται στην παρουσία διαφόρων ουσιών που παίζουν το ρόλο των παραγόντων ανάπτυξης ή των δραστηριοποιητών στην ανάπτυξη των ζυμών. Οι ουσίες αυτές παράγονται ή εκλύονται κατά τη θερμική επεξεργασία της σταφυλόμαζας. Συντελεί επίσης στην ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων και στη γρήγορη εκδήλωση και εξέλιξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης, με αποτέλεσμα τη μείωση της ολικής οξύτητας του οίνου και τη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αυτού. Πράγματι, η διάσπαση του μηλικού οξέος – του οποίου η παρουσία δίνει στους οίνους οσμή και γεύση πρασινάδας – μειώνει την οξύτητα και απαλύνει και βελτιώνει τα χαρακτηριστικά του οίνου.
- Βελτίωση της σύστασης του οίνου. Με τη θερμική επεξεργασία της σταφυλόμαζας μειώνεται το παραγόμενο κατά τη ζύμωση ποσοστό μεθανόλης, ενώ παράλληλα αυξάνει η περιεκτικότητα σε γλυκερίνη.
- Δυνατότητα εμβολιασμού του γλεύκους με επιθυμητές καλλιέργειες ζυμών και γαλακτικών βακτηρίων. Πράγματι, η θερμοινοποίηση παρέχει τη δυνατότητα αυτή δεδομένου ότι η θερμική επεξεργασία της σταφυλόμαζας καταστρέφει ολότελα τους φυσικά ενυπάρχοντες μικροοργανισμούς.

Ως μειονεκτήματα ή δυσμενείς επιδράσεις της θερμοινοποίησης θεωρούνται:

- Η ενδεχόμενη υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του οίνου, όταν η εφαρμοζόμενη θερμική επεξεργασία της σταφυλόμαζας δεν είναι ενδεδειγμένη. Ως παράδειγμα αναφέρονται οι υψηλές θερμοκρασίες και ο παρατεταμένος χρόνος θέρμανσης, που δύνανται να προκαλέσουν την καραμελοποίηση των σακχάρων του γλεύκους με αποτέλεσμα την αλλοίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του παραγόμενου οίνου.
- Ο εμπλουτισμός του γλεύκους σε κάλιο, νάτριο, ασβέστιο, σίδηρο και άλλα στοιχεία, τα οποία σε μεγάλες συγκεντρώσεις επηρεάζουν δυσμενώς την ποιότητα του οίνου.
- Η τεχνική αυτή απαιτεί πολυδάπανο απαιτεί πολυδάπανο εξοπλισμό και επιπλέον σημαντική κατανάλωση ενέργειας, για τη θέρμανση της σταφυλόμαζας και την ψύξη αυτής ή του προκύπτοντος γλεύκους.
- Η χρωστική ουσία που εκχυλίζεται από τα στερεά μέρη της σταφυλόμαζας, είναι ασταθής και μειώνεται κατά τη διάρκεια της διατήρησης του οίνου. Έτσι, μετά από παλαίωση ενός έτους, ουσιαστικά δεν υπάρχει διαφορά ως προς το χρώμα ανάμεσα σε οίνους που παράγονται με την κλασική οινοποίηση και τη θερμοοινοποίηση.
- Η θερμοοινοποίηση δεν ενδείκνυται για την παραγωγή όλων των τύπων οίνου. Αποτελεσματικότερα εφαρμόζεται σε ιδιαίτερες περιπτώσεις, όπως είναι τα σταφύλια με λίγες χρωστικές και τα προσβεβλημένα από σήψη [Σουφλερός Ε., 2000].

3.1.2.3 Μεταζυμωτική εκχύλιση - επίδραση του χρόνου παραμονής με τα στέμφυλα

Στην κατεύθυνση της ενίσχυσης του φαινολικού πλούτου των οίνων και της μεγαλύτερης αντοχής στο χρόνο, κινείται και η τεχνική της μεταζυμωτικής εκχύλισης. Οι διαφορετικές προσεγγίσεις που έχουν διερευνηθεί αφορούν την απλή μεταζυμωτική εκχύλιση (*maceration postfermentaire*, παραμονή οίνου με στέμφυλα χωρίς ανακυκλώσεις) και τη μεταζυμωτική εκχύλιση εν θερμώ (*maceration finale a chaud*, παραμονή στεμφύλων-οίνου σε υψηλή θερμοκρασία για μικρό χρονικό διάστημα μετά τη ζύμωση).

Όπως ήδη έχει αναφερθεί, η παρατεταμένη παραμονή των οίνων με τα στέμφυλα αυξάνει το φαινολικό τους φορτίο (αύξηση τιμής δείκτη φαινολικών ουσιών) μέσω της αύξησης της συγκέντρωσης των ταννινών και άλλων φαινολικών ουσιών.

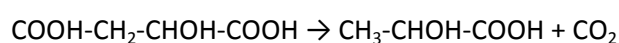
Ως προς τον ταννικό χαρακτήρα των οίνων, η μεταζυμωτική εκχύλιση προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσής των ταννινών στον οίνο, όμως, ταυτόχρονα βελτιώνει τη δομή τους (αύξηση βαθμού πολυμερισμού τους, μεγαλύτερη ποσότητα πολυσακχαριτών, μείωση στυφάδας), με αποτέλεσμα, οι οίνοι να εμφανίζονται με εντονότερο χρώμα, πλουσιότερο σώμα, δομή, διάρκεια και επιδεκτικότητα στην παλαίωση. Γενικά η συνέχιση της εκχύλισης μετά το τέλος της ζύμωσης είναι τεχνική που πρέπει να εφαρμόζεται σε κρασιά με προοπτική παλαίωσης. Όμως, πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη ο βαθμός ωριμότητας των σταφυλιών και γιγάρτων καθώς, σε χρονιές κακής ωριμότητας (με πολλές βροχοπτώσεις μετά τον περκασμό), η παρατεταμένη παραμονή με τα στέμφυλα μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή οίνων με άγριες και στυφές ταννίνες, αλλά και έντονα χορτώδεις εντυπώσεις, στοιχεία που υποβαθμίζουν την ποιότητα.

Στην ίδια κατεύθυνση κινείται και η επίδραση της μεταζυμωτικής εκχύλισης εν θερμώ, ως προς τη χημική σύσταση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων οίνων. Συγκριτικά, μπορούμε να πούμε ότι οδηγεί στην παραγωγή ακόμη πλουσιότερων οίνων, με πολυπλοκότερο άρωμα και υψηλή επιδεκτικότητα σε παλαίωση.

Πρέπει όμως να επισημανθεί ότι οίνοι που παράγονται με αυτή την τεχνική συχνά εμφανίζουν υψηλές περιεκτικότητες σε ουρεθάνη, συστατικό επικίνδυνο για την υγεία και με περιορισμούς ως προς την παρουσία του στους οίνους. Το γεγονός αυτό αποτελεί σημείο προβληματισμού στην εφαρμογή της τεχνικής. [Ένωση οινοπαραγωγών αμπελώνα Β.Ε.].

3.1.2.4 Μηλογαλακτική ζύμωση

Στην οινοποίηση του οίνου μια δεύτερη ζύμωση παίρνει μέρος μετά την αλκοολική ζύμωση κατά την οποία το L-μηλικό οξύ μετατρέπεται σε L-γαλακτικό οξύ από τα γαλακτικά βακτήρια. Η μετατροπή γίνεται άμεσα με την ύπαρξη του μηλογαλακτικού ενζύμου το οποίο βρίσκεται στα γαλακτικά βακτήρια. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται μηλογαλακτική ζύμωση, ένα φαινόμενο σχετικά απλό αλλά με μεγάλη πρακτική αξία διότι επηρεάζει όλες τις τεχνικές οινοποίησης και παλαίωσης. Μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης τα σάκχαρα έχουν καταναλωθεί από τις ζύμες με αποτέλεσμα η ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων να οφείλεται κυρίως στην αποικοδόμηση του μηλικού οξέος το οποίο βιοδιασπάται εύκολα. Η αντίδραση είναι μια απλή αποκαρβοξυλίωση:



Κάθε φορά που ένα μόριο μηλικού οξέος σε ελεύθερη μορφή ή σε μορφή άλατος αποικοδομείται προς γαλακτικό έχουμε μείωση της οξύτητας και αύξηση του pH, η οποία βελτιώνει την βιολογική σταθερότητα του οίνου. Επίσης εξαφανίζεται το μηλικό οξύ το οποίο είναι ένα βιολογικό μόριο πολύ ασταθές. Βέβαια οι χημικές μετατροπές του οίνου κατά την μηλογαλακτική ζύμωση είναι πολύ πιο πολύπλοκες. Πολλά δευτερεύοντα προϊόντα δημιουργούνται, ένα από τα πιο σημαντικά είναι το διακετύλιο που σε μικρές ποσότητες συμμετέχει στην αρωματική πολυπλοκότητα του οίνου ενώ σε ποσότητα μεγαλύτερη των 4 mg/L δίνει άσχημα αρώματα βουτύρου.

Μια άλλη μετατροπή είναι η αποκαρβοξυλίωση της ιστιδίνης σε ισταμίνη (τοξικό στοιχείο) από τα βακτήρια. Αυτό το φαινόμενο δημιουργείται σπάνια και από συγκεκριμένα στελέχη βακτηρίων.

Η μηλογαλακτική ζύμωση επηρεάζει και το χρώμα των οίνων. Ο οίνος χάνει την ένταση του χρώματος λόγω του αποχρωματισμού των ανθοκυανών με την αύξηση του PH. Από οργανοληπτικής άποψης, η μηλογαλακτική ζύμωση συμβάλει στη δημιουργία αρωματικών ενώσεων, όπως ο γαλακτικός αιθυλεστέρας, που βελτιώνουν το bouquet του οίνου. Οι ερυθροί οίνοι χάνουν τον κλειστό και οξύ χαρακτήρα, γίνονται λιγότερο επιθετικοί στο στόμα. Όταν η μηλογαλακτική ζύμωση πραγματοποιείται μέσα σε βαρέλια, η ποιοτική βελτίωση των ερυθρών οίνων είναι ακόμη πιο μεγάλη. Το bouquet γίνεται πιο πολύπλοκο δίνοντας αρώματα καβουρδισμένου καφέ και ξύλου.

Ο έλεγχος της μηλογαλακτικής ζύμωσης είναι πολύ σημαντικός διότι μετά το τέλος της, τα βακτήρια είναι ικανά να αποικοδομήσουν τις πεντόζες, τη γλυκερίνη, το τρυγικό οξύ με αποτέλεσμα την εμφάνιση ασθενειών στον οίνο όπως και την αύξηση της πηκτικής οξύτητας και του γαλακτικού οξέος [Τσακίρης Α., 1988, 2*].

3.1.2.5 Μικροοξυγόνωση

Παρόλο που το οξυγόνο αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους εχθρούς του κρασιού, χρησιμοποιείται ελεγχόμενα σε διάφορα στάδια της οινοποίησης. Μια τεχνική ελεγχόμενης χρήσης οξυγόνου, λέγεται μικροοξυγόνωση και έχει παρόμοια λογική με την εισχώρηση οξυγόνου από τους πόρους του βαρελιού, κατά την ωρίμαση του κρασιού μέσα σε αυτό. Πρόκειται λοιπόν για ένα σύστημα «εμπλουτισμού» του ερυθρού κρασιού με μικρές και απόλυτα ελεγχόμενες ποσότητες οξυγόνου, με σκοπό, ανάμεσα σε άλλα, τη βελτίωση της χρωματικής του σταθερότητας, της αρωματικής και γευστικής του εικόνας, μετριάζοντας ανεπιθύμητα αρώματα (όπως, για παράδειγμα, τα χορτώδη, που μπορεί να οφείλονται σε ελλιπή ωριμότητα της πρώτης ύλης), αλλάζοντας τη πολυφαινολική του σύσταση, «μαλακώνοντας» τη γεύση του κ.ά. [1*].

3.1.2.6 Επίδραση ανακυκλώσεων και θερμοκρασίας στην εκχύλιση των φαινολικών

Συγκριτικά με την κλασική τεχνική, πολλές ανακυκλώσεις στην αρχή της παραμονής του χυμού με τα στέμφυλα και σε χαμηλή θερμοκρασία, ευνοούν την διαλυτοποίηση των ανθοκυανών και τη σταθεροποίησή τους, με αποτέλεσμα τελικά να παραλαμβάνεται η μέγιστη δυνατή ποσότητα σταθερών ανθοκυανών. Όμως οι παραγόμενοι οίνοι δεν χαρακτηρίζονται ως επιδεκτικοί σε παλαίωση. Αντίθετα, οι πολλές ανακυκλώσεις στο τέλος της ζύμωσης όπου η θερμοκρασία της σταφυλομάζας είναι υψηλότερη, επιτείνουν την εκχύλιση των ταννινών των γιγάρτων και πολυσακχαριτών. Το κρασί είναι και πάλι πλούσιο και γεμάτο και αποκτά μεγαλύτερη επιδεκτικότητα παλαίωσης. Όμως, ο ταννικός χαρακτήρας γίνεται στυφός, άγριος όταν η ωριμότητα των σταφυλιών και των γιγάρτων δεν είναι ικανοποιητική.

Στην περίπτωση που η τεχνική των ανακυκλώσεων αντικατασταθεί με αυτή της εμβάπτισης του καπέλου (Pigeage: διαδικασία κατά την οποία ανοίγονται τρύπες στο καπέλο των στεμφύλων με ένα ειδικό κοντάρι), η διαδικασία εκχύλισης των φαινολικών συστατικών ενισχύεται, η συγκέντρωση των ανθοκυανών και ταννινών αυξάνει, όπως και ο βαθμός συμπλοκοποίησής τους. Γεγονός που οδηγεί σε μεγαλύτερη σταθερότητα του χρώματος στο χρόνο και αναιρεί το σχετικό μειονέκτημα της τεχνικής των πολλών ανακυκλώσεων στο τέλος της ζύμωσης [Ένωση οινοπαραγωγών αμπελώνα Β.Ε.].

3.1.2.7 Επίδραση της αφαιμάξης χυμού στην εκχύλιση των φαινολικών

Αφαιμάξη είναι μια διαδικασία κατά την οποία αφαιρείται ένα μέρος του χυμού από τον μούστο κατά τη διάρκεια της ζύμωσης έτσι ώστε αυτός που μένει να συνεχίσει να ζυμώνεται μέχρι να γίνει πιο πυκνός και να αποκτήσει πιο έντονο χρώμα.

Η τεχνική της αφαιμάξης ενός ποσοστού γλεύκους έχει ως στόχο να αυξήσει το βαθμό εκχύλισης των φαινολικών συστατικών από τα στέμφυλα, δηλαδή να αυξήσει τη συγκέντρωσή τους στο γλεύκος και να οδηγηθούμε στην παραγωγή «πυκνότερων» οίνων.

Οι επιπτώσεις της τεχνικής επί της σύστασης των οίνων είναι η ρύθμιση του όξινου χαρακτήρα τους (αύξηση του pH εξαιτίας της εκχύλισης μεγαλύτερης ποσότητας καλίου από τους φλοιούς), αύξηση του δείκτη φαινολών, της περιεκτικότητας σε ανθοκυάνες, σε ταννίνες και σε πολυσακχαρίτες, χωρίς όμως να προκαλεί μεταβολές στον δείκτη στυφάδας. Είναι φανερό ότι η αφαίμαξη του μούστου σαν τεχνική βελτιώνει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων (όξινος χαρακτήρας, χρωστικές, δομή και όγκος), χωρίς να αυξάνει την ταννικότητα [Ένωση οινοπαραγωγών αμπελώννα Β.Ε.].

3.1.3 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΝΤΑΙ ΣΤΑ ΣΤΕΜΦΥΛΑ (ΣΥΝΟΛΟ ΦΛΟΥΔΑΣ, ΚΟΥΚΟΥΤΣΙΩΝ ΚΑΙ ΒΟΣΤΡΥΧΩΝ)

Τα ερυθρά κρασιά είναι κρασιά εκχύλισης. Η εκχύλιση αυτή πρέπει να επιτρέπει την παραλαβή από τα συστατικά του σταφυλιού μόνο αυτών που είναι χρήσιμα, δηλαδή αυτά που έχουν ευχάριστο άρωμα και μαλακή γεύση στην επιθυμητή ποσότητα.

Το πέρασμα στο γλεύκος των διαφόρων συστατικών που περιέχουν τα στέμφυλα εξαρτάται από διάφορους παράγοντες.

- Παράγοντες που επηρεάζουν την εξαγωγή των συστατικών
- Παράγοντες που εξασφαλίζουν τη διάχυση αυτών των συστατικών στο σύνολο του γλεύκους.
- Παράγοντες που επηρεάζουν τη δέσμευση με προσρόφηση συστατικών που ήδη έχουν εξαχθεί από τα στέμφυλα.
- Παράγοντες που επηρεάζουν την τροποποίηση ή καταστροφή των συστατικών που έχουν εξαχθεί.

Η διάλυση, δηλαδή το πέρασμα ενός συστατικού που περιέχεται στα κύτταρα των στερεών σωμάτων (στέμφυλα) του σταφυλοπολτού μέσα στο γλεύκος, διευκολύνεται από την έκθλιψη όπως και από κάθε άλλη επέμβαση που έχει ως αποτέλεσμα τη διάρρηξη των κυττάρων των στερεών σωμάτων όπως η θείωση (ο θειώδης ανυδρίτης καταστρέφοντας τα φυτικά κύτταρα διευκολύνει την εξαγωγή συστατικών από τα στέμφυλα. Ο θειώδης ανυδρίτης επίσης προστατεύει τις χρωστικές από την επίδραση των οξειδωτικών ενζύμων). Την εκχύλιση επίσης επηρεάζει η παρουσία αιθανόλης, αύξηση του χρόνου επαφής και της θερμοκρασίας. Η αιθανόλη εξασφαλίζει καλύτερη εκχύλιση και σταθεροποίηση του χρώματος, γι' αυτό τα υψηλόβαθμα κρασιά είναι αναλογικά πιο πλούσια σε χρώμα. Είναι γενικά παραδεκτό ότι αυξημένη θερμοκρασία ζύμωσης ευνοεί την εκχύλιση των φαινολικών συστατικών. Παρ' όλα αυτά, για θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 30°C δεν έχουμε βελτίωση εκχύλισης.

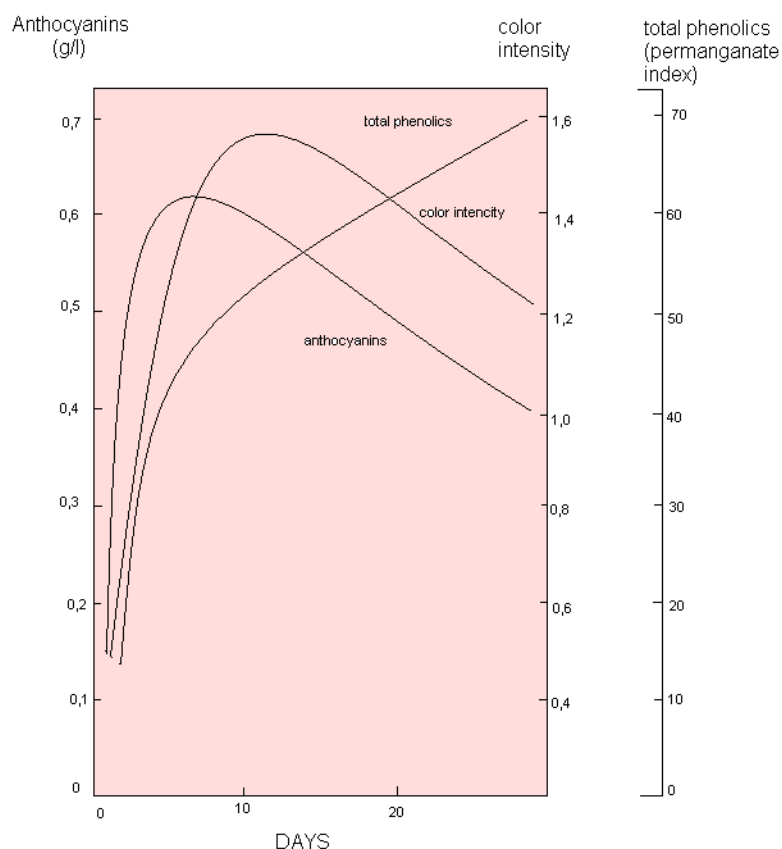
Η διάχυση των εξαχθέντων συστατικών επιταχύνεται με την ανακίνηση του γλεύκους κατά τη ζύμωση και κυρίως με την κυκλοφορία του γλεύκους ανάμεσα από τα στέμφυλα με τη βοήθεια της ανακύκλωσης ή της ενεργητικής ανάμειξης των στεμφύλων στη μάζα του γλεύκους.

Επαναπροσρόφηση ήδη διαχυθέντων συστατικών μπορεί να γίνει από τα στέμφυλα ή από τους μύκητες μετά την περίοδο της έντονης αύξησής τους.

Η περιεκτικότητα του κρασιού σε χρωστικές είναι συνδεδεμένη με την αρχική περιεκτικότητα τους μέσα στο σταφύλι. Στο κρασί δεν ξαναβρίσκουμε παρά μόνο μικρό μέρος των συστατικών που αρχικά υπάρχουν στο σταφύλι, περίπου το 20 με 30%.

3.1.3.1 Επίδραση της διάρκειας εκχύλισης

Διάρκεια εκχύλισης είναι ο χρόνος που πρέπει να παραμείνει το γλεύκος στην ίδια δεξαμενή με τα στέμφυλα. Ο χρόνος αυτός συμπαράμονής είναι βασικός παράγοντας της ποιότητας του κρασιού και των χαρακτηριστικών του. Ο βέλτιστος χρόνος παραμονής είναι συνάρτηση του τύπου του κρασιού που θέλουμε να παράγουμε, των συνθηκών της χρονιάς, δηλαδή της ωρίμανσης, της θερμοκρασίας και του τρόπου δεξαμενισμού. Όταν θέλουμε να φτιάξουμε κρασί με σκοπό να καταναλωθεί νέο έχουμε ανάγκη από ερυθρά σταφύλια καλά ωριμασμένα. Η συμπαράμονή του γλεύκους με τα στέμφυλα πρέπει να είναι σύντομη. Τα κρασιά παλαίωσης έχουν ανάγκη από μεγαλύτερο χρόνο συμπαράμονής ώστε να έχουμε μεγαλύτερο χρόνο εκχύλισης. Διακρίνουμε τρία είδη διάρκειας εκχύλισης:



- i. Διαχωρισμό του γλεύκους (γλεύκος σε ζύμωση ή κρασί σε ζύμωση) πριν από το τέλος της ζύμωσης, δηλαδή όσο ακόμα περιέχει σάκχαρα. Πρόκειται για σύντομη εκχύλιση, διάρκειας 3 – 4 ημερών που ενδείκνυται για κρασιά που προορίζονται να καταναλωθούν νέα. Αυτός ο γρήγορος διαχωρισμός έχει αποτέλεσμα τη μείωση των κινδύνων που παρουσιάζονται προς το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης αφαιρώντας μεγάλο μέρος από τα βακτήρια.
- ii. Διαχωρισμό αμέσως μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, δηλαδή τη στιγμή κατά την οποία έχουν ζυμωθεί όλα τα σάκχαρα του γλεύκους το οποίο έχει μετατραπεί σε κρασί. Εφαρμόζεται στην περίπτωση κρασιών που πρόκειται να καταναλωθούν χωρίς μεγάλη παλαίωση. Η ίδια διαδικασία ισχύει και για τις χρονιές που έχουμε καλή ωρίμανση ταννινών και το κρασί προορίζεται για παλαίωση.
- iii. Διαχωρισμό αρκετές μέρες μετά το τέλος της ζύμωσης. Εφαρμόζεται σε κρασιά που προορίζονται για παλαίωση και βέβαια είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί μόνο σε κλειστές δεξαμενές [Τσακίρης Α., 1988].

Κατά την εκχύλιση παρατηρείται ελάττωση της έντασης χρώματος ύστερα από ένα μέγιστο στην 8^η περίπου μέρα, που οφείλεται στη μεταβολή της φυσιολογικής κατάστασης των χρωστικών. Στο παράδειγμα που απεικονίζεται στο σχήμα, το μέγιστο των ανθοκυανών

είναι την 6^η μέρα. Ανάμεσα στην 6^η και την 8^η, η αύξηση της περιεκτικότητας σε ταννίνες (απορρόφηση στα 420nm) είναι πιο σημαντική από την ελάττωση των ανθοκυανών (απορρόφηση στα 520nm). Η μεταβολή της φυσικοχημικής τους κατάστασης οφείλεται στη συνεχώς μεταβαλλόμενη τιμή του pH.

Οι ταννίνες αυξάνονται διαρκώς. Έντονα στην αρχή, στις 2 – 3 πρώτες μέρες, και πιο αργά στη συνέχεια. Για τις ανθοκυανές που είναι σε σχετικά μικρή περιεκτικότητα στον φλοιό της ρώγας, πολύ γρήγορα οι παράγοντες που ελαττώνουν τη συγκέντρωσή τους γίνονται επικρατέστεροι και η περιεκτικότητά τους μειώνεται. Αντίθετα οι ταννίνες που είναι πιο άφθονες στον φλοιό του σταφυλιού αυξάνονται διαρκώς γιατί οι παράγοντες που επιδρούν στη μείωση δεν γίνονται ποτέ επικρατέστεροι.

Οι παρατεταμένες εκχυλίσσεις προκαλούν αύξηση της έντασης χρώματος. Αυτό εξηγείται με την αύξηση του κίτρινου χρώματος των ταννινών που αντισταθμίζει τη μείωση του χρώματος που οφείλεται στην ελάττωση του ερυθρού χρώματος των ανθοκυανών [Τσακίρης, 1988].

4 ΚΕΦΑΛΑΙΟ

4.1 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗ ΣΤΑΦΥΛΗ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

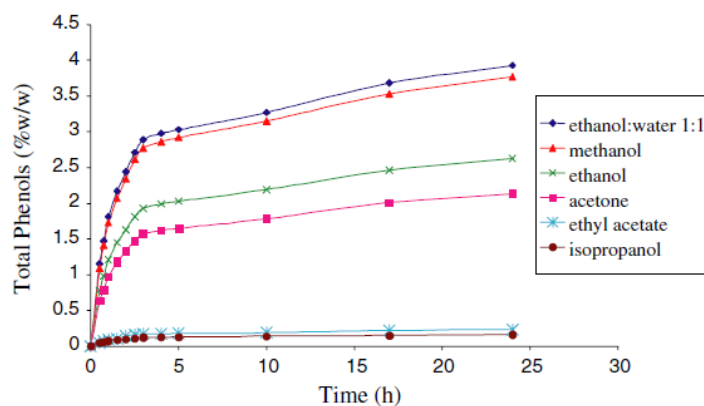
4.1.1 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ

Για την εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων από τους φλοιούς και τα κουκούτσια του σταφυλιού, χρησιμοποιείται κυρίως κάποιος αλκοολικός διαλύτης, μαζί με προσθήκη μέσου οξίνισης για την σταθεροποίηση των ανθοκυανών. Όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα, ο διαλύτης που χρησιμοποιείται είναι κυρίως η μεθανόλη και πιο σπάνια η αιθανόλη και η ακετόνη, καθώς και συνδυασμό των παραπάνω με νερό. Τα μέσα οξίνισης που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι το υδροχλωρικό οξύ με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται μεταξύ 0,5% και 10% και το μυρμηγκικό οξύ με συγκεντρώσεις από 1-5%. Μπορούν να προστεθούν επίσης τρυγικό και οξικό οξύ. Για την αποτελεσματικότερη εκχύλιση των φαινολικών στοιχείων ακολουθεί συνήθως χρήση λουτρού υπερήχων, ανάδευση και παραμονή του δείγματος σε σκοτεινό μέρος.

Εκτός από τις παραπάνω συμβατικές μεθόδους εκχύλισης, χρησιμοποιούνται και άλλες μη συμβατικές, όπως η εκχύλιση με υπερήχους (ultrasound-assisted extraction, UAE), η εκχύλιση με μικροκύματα (microwave-assisted extraction, MAE) και η εκχύλιση υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας (high pressure and temperature extraction, HPTE) με καλή αποτελεσματικότητα στην παραλαβή του φαινολικού φορτίου και ειδικά της trans-ρεσβερατρόλης [Casazza et al., 2010].

A/A	ΔΙΑΛΥΤΗΣ	ΜΕΣΟ ΟΞΙΝΙΣΗΣ	ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΚΧΥΛΙΣΕΩΝ	ΠΗΓΗ
1	MeOH/H ₂ O	HCl (0,1N, 0,5%)	ultrasonication(10min)	4	Anastasiadi et al.
2	Acetone/H ₂ O	HCl (0,1N, 10%)	ultrasonication Magnetic agitator(30min)	2	Ivanova et al.
3	EtOH (12%)	Tartaric acid (6mg/ml), SO ₂ (100μg/ml)	Kept in dark (3h, 70°C)		Berli et al.
4	MeOH	Formic acid(1%)	Ultrasonic vibration Shaking in the dark (25°C, 30min, 150rpm)	5	Zan-Min Jin et al.
5	MeOH/H ₂ O	Acetic acid (1%)	orbital shaker(300 rpm, 100min, 25°C)	3	ChangmouXu et al.
6	MeOH	Formic acid(1%)	Shaking in darkness	Several times	Zan-Min Jin et al.
7	MeOH	Formic acid(5%)	Kept in dark(30 °C, 30min)	5	Quan Zhao et al.
8	MeOH/H ₂ O	Formic acid (1,5%)	Shaking(moulinex, 2min)	2	Torresa et al.
9	EtOH/H ₂ O	Formic acid		2	Mulinacci et al.
10	MeOH	HCl(1%)	Shaking(48h)	3	Δρόσου, 2010

Η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης με βάση τον αλκοολικό διαλύτη, παρουσιάζει σημαντικές διαφορές, με τον συνδυασμό αιθανόλης/νερού 1:1 να δίνει το μέγιστο εκχυλίσιμο ποσοστό φαινολικών ουσιών. Με χρήση μεθανόλης το ποσοστό αυτό μειώνεται στο 95,9%. Ακολουθεί η αιθανόλη με αποτελεσματικότητα εκχύλισης της τάξης του 66,8% [Lafka et al., 2007].



4.1.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ

Οι μέθοδοι ανάλυσης που χρησιμοποιούνται ευρέως για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών στους καρπούς της σταφυλής και το κρασί είναι:

4.1.2.1 HPLC

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) αποτελεί την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο προσδιορισμού των φαινολικών ενώσεων. Είναι μια ενόργανη χρωματογραφική μέθοδος η οποία βασίζεται στη διαβίβαση διαλυτών μέσα από συγκεκριμένη στήλη, με χρήση αντλίας και τα διαχωριζόμενα συστατικά καταγράφονται μέσω ανιχνευτή. Με την χρήση διαφορετικών στατικών φάσεων στη στήλη της HPLC είναι εφικτός ο διαχωρισμός μεγάλης ποικιλίας ενώσεων.

Πάνω σε αυτή τη βασική αρχή, μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες μέθοδοι HPLC με κάποιες μετατροπές είτε στους διαλύτες, είτε στη στήλη, είτε στον ανιχνευτή. Έτσι προκύπτουν μέθοδοι υγρής χρωματογραφίας όπως η HPLC-DAD που κάνει χρήση diode-array ανιχνευτή. Χρησιμοποιείται επίσης και η HPLC-ESI-MS/MS (υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης-electrospray tandem φασματομετρία μάζας), μια τεχνική που συνδυάζει τη διαχωριστική ικανότητα της HPLC με την ευαισθησία και της φασματομετρίας μάζας.

4.1.2.2 CZE(τριχοειδής ηλεκτροφόρηση)

Στην παραδοσιακή ηλεκτροφόρηση, τα ηλεκτρικώς φορτισμένα προς ανάλυση στοιχεία κινούνται μέσα σε ένα αγώγιμο υγρό υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου. Με την τεχνική αυτή τα στοιχεία διαχωρίζονται με βάση το μέγεθός τους, μέσα από μια τριχοειδή στήλη με ηλεκτρολύτη.

4.1.2.3 UV-Vis (φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού)

Η φασματοσκοπία UV-Vis είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη αναλυτική μέθοδος στο κομμάτι της οινολογίας. Όλες οι αναλυτικές μέθοδοι που βασίζονται σε φασματοσκοπία UV-Vis, είναι εμπειρικές καθώς παρέχουν αναλυτικά αποτελέσματα για μεγάλες ομάδες φαινολικών ουσιών (π.χ. δείκτες ολικών πολυφαινολών, ταννινών, ανθοκυανών) και όχι για μεμονωμένα συστατικά. Παρ' όλα αυτά είναι μια φθηνή και γρήγορη μέθοδος η οποία μας παρέχει σημαντικές πληροφορίες για το φαινολικό φορτίο των αναλυόμενων δειγμάτων.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

5.1 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καρποί σταφυλιού ποικιλίας Αγιωργίτικο με ημερομηνία τρύγου 10 Σεπτεμβρίου 2010 από την περιοχή της Νεμέας και του οινοποιείου Χαρλαύτη, καθώς και οίνος από διάφορα στάδια της οινοποιητικής διαδικασίας που

ακολούθησε το παραπάνω οινοποιείο. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης καρποί από την ποικιλία Malbec, με ημερομηνία τρύγου επίσης 10 Σεπτεμβρίου 2010 που καλλιεργήθηκε πρώτη φορά πειραματικά στην Ελλάδα σε χώρο του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικών Ερευνών στο Κεφαλάρι, καθώς και δείγματα οίνου από διάφορα στάδια της οινοποιητικής διαδικασίας που ακολουθήθηκε.

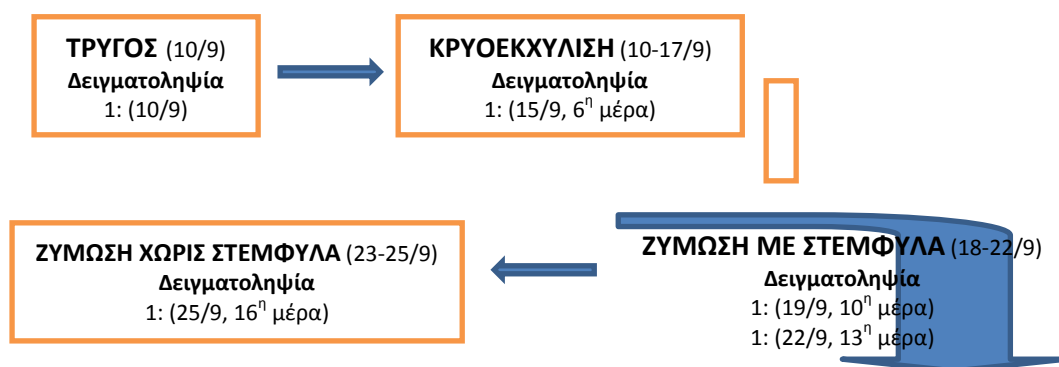
5.2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

Στόχος της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας είναι η σύγκριση των ποικιλιών Αγιωργίτικο και Malbec, σε σχέση με το φαινολικό τους περιεχόμενο και τα χρωματικά χαρακτηριστικά που εμφανίζουν.

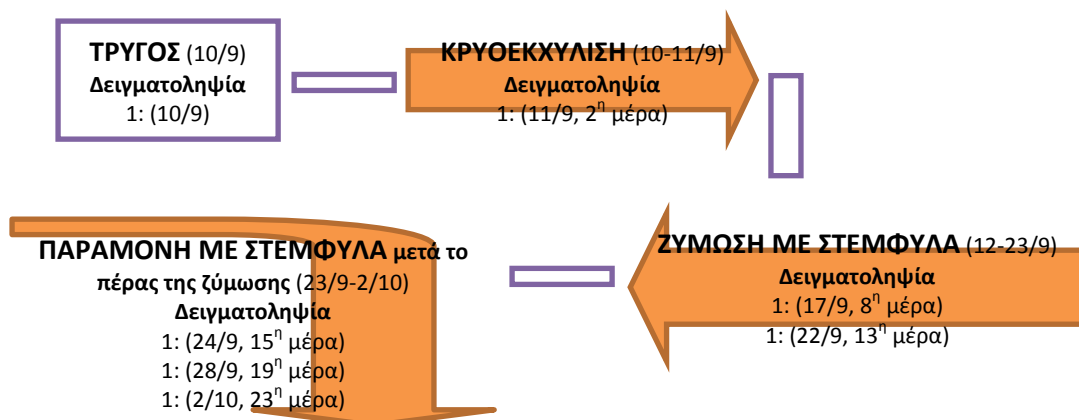
Πιο συγκεκριμένα, σε πρώτη φάση πραγματοποιήθηκε η μελέτη των καρπών τρύγου των δύο ποικιλιών. Σε κάθε δείγμα προηγήθηκε διαχωρισμός των φλοιών, της σάρκας και των γιγάρτων. Σε κάθε ένα μορφολογικό μέρος των καρπών μελετήθηκαν διάφορες ποιοτικές παράμετροι. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η περιεκτικότητα τους σε ανθοκυανίνες, ολικές φαινόλες και ταννίνες.

Σε δεύτερο στάδιο, πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις για ποιοτικά χαρακτηριστικά των δύο οίνων, κατά τη διάρκεια της οινοποιητικής τους διαδικασίας. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκαν χαρακτηριστικά όπως το χρώμα, η ένταση και ο δείκτης ολικών πολυφαινολών. Τα στάδια της οινοποιητικής διαδικασίας που ακολουθήθηκαν για τους δύο οίνους, καθώς και η δειγματοληψία που πραγματοποιήθηκε, παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα ροής.

Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε όλα τα στάδια των διεργασιών μέχρι και την τελική μέρα παραγωγής του πρώιμου οίνου.



Σχήμα 1: διάγραμμα ροής της οινοποιητικής διαδικασίας και δειγματοληψίες του οίνου Malbec



Σχήμα 2: διάγραμμα ροής της οινοποιητικής διαδικασίας και δειγματοληψίες του οίνου Αγιοργίτικο

5.3 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ- ΔΙΑΛΥΤΕΣ

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα εξής: αιθανόλη (95°), μηρυμυκικό οξύ (Merck, 98-100%), υδροχλωρικό οξύ (Panreac, 37%), ανθρακικό νάτριο (Mallinckrodt), αλβουμίνη από ορό αυγού (Bovine Serum Albumin, BSA, Biochemica, fraction V≥96%(GE), Fluka), οξικό οξύ (Panreac quimica sau), οξικό νάτριο (Panreac), γαλλικό οξύ (Arcos Organics, 98%), Folin Ciocalteu (Merck), Μαλβιδίνη (Assay (HPLC) > 97%), (τριφθοροξικό οξύ (Acros Organics, 99%), εξάνιο ποιότητας pro analysis της Merck. Οι αναλύσεις, οι φωτομετρικοί προσδιορισμοί και οι παρασκευές διαλυμάτων πραγματοποιήθηκαν με διαλύτες HPLC (gradient grade) της Merck και συγκεκριμένα με νερό, μεθανόλη και ακετονιτρίλιο.

5.4 ΣΥΣΚΕΥΕΣ

Για τις συμπυκνώσεις των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκε περιστροφικός εξατμιστής κενού Büchi RE 111 με ενσωματωμένο υδρόλουτρο Büchi 461 (Büchi Laboratoriums Technik AG, Flawil, Switzerland).

Για τον προσδιορισμό του στερεού υπολείμματος των εκχυλισμάτων, πυριατήριο κενού Heraeus vacutherm VT6025 (Heraeus Instruments, Hanau, Germany).

Οι αναλύσεις των εκχυλισμάτων και του οίνου πραγματοποιήθηκαν σε υγρό χρωματογράφο υψηλής απόδοσης (HPLC) που αποτελούνταν από αντλία βαθμωτής έκλουσης, HP 1100 και ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων (Diode Array Detector, DAD) (Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany), συνδεδεμένα με στήλη Hypersil C18 column ODS 5μm, 250x 4.6mm (MZ Analysentechnik, Mainz, Germany). Τα χρωματογραφικά δεδομένα επεξεργάστηκαν με το λογισμικό ChemStation for LC 3D software (Agilent Technologies, 1999–2000, Waldbrook, Germany).

Η λυοφιλίωση των μορφολογικών μερών του σταφυλιού πραγματοποιήθηκε σε συσκευή λυοφιλίωσης (Freeze Dry, Christ, Alpha 1-4 LD plus).

Χρησιμοποιήθηκε φυγόκεντρος (Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 16R Centrifuge).

Για αποτελεσματικότερη εκχύλιση χρησιμοποιήθηκε λουτρό υπερήχων (Sonication, Elma, S30H Elmasonic).

Οι φασματοφωτομετρικές μέθοδοι πραγματοποιήθηκαν στο ψηφιακό φασματοφωτόμετρο Unicam Helios (Spectronic Unicam EMEA, Cambridge, United Kingdom).

Για τον υπολογισμό των δεικτών χρώματος (a, b, L), χρησιμοποιήθηκε χρωματόμετρο Minolta (Konica Minolta, CR-200, Japan).

5.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

5.5.1 Προκατεργασία ρωγών σταφυλιού

Αρχικά, παραλαμβάνονται ρώγες 500 g και προσδιορίζεται το μέσο βάρος 100 ρωγών εις τριπλούν. Προσδιορίζεται με παχύμετρο η μέση διάμετρος σε 20 ρώγες τυχαία επιλεγμένες. Στη συνέχεια κάθε ρώγα τεμαχίζεται με πριονωτό μαχαίρι στη μέση κατά το μήκος της μεγαλύτερης διάστασής της. Η σάρκα μαζί με τα γίγαρτα απομακρύνεται με σπάτουλα με κοίλη άκρη και οι φλοιοί στραγγίζονται σε διηθητικό χαρτί. Τόσο οι φλοιοί όσο και οι σάρκες ζυγίζονται σε ζυγό δύο δεκαδικών ψηφίων. Τα δείγματα τοποθετούνται σε κατάλληλα δοχεία, καταψύχονται και λυοφιλιώνονται. Μετά την αφυδάτωση ακολουθεί σταθμική ανάλυση. Ακολουθεί η κονιοποίηση σε blender τόσο των φλοιών όσο και της σάρκας και των διαχωρισμένων γιγάρτων. Η διαδικασία ολοκληρώνεται με τη ζύγιση των δειγμάτων.

5.5.2 Εκχύλιση φαινολών από σκόνη φλοιών, στεμφύλων ή απολιπασμένων γιγάρτων

Αρχικά ζυγίζονται 8 g δείγματος και διαμοιράζονται σε δύο σωλήνες φυγοκέντρου των 70 mL. Προστίθενται 40 mL μεθανολικού διαλύματος με HCOOH 1% w/v (οξιμισμένη μεθανόλη) σε κάθε σωλήνα. Ακολουθεί sonication σε λουτρό υπερήχων για 10 min και στη συνέχεια φυγοκέντρηση στις 10.000 rpm για 10 min. Το εκχύλισμα αποχύνεται σε ποτήρι ζέσεως των 400 mL και το στερεό υποβάλλεται στην ίδια διαδικασία άλλες δύο φορές. Τα εκχυλίσματα αναμιγνύονται και μεταφέρονται σε σφαιρική φιάλη των 500 mL. Ακολουθεί συμπύκνωση του εκχυλίσματος σε περιστροφικό εξατμιστήρα μέχρις όγκου περίπου 70 mL. Η διαδικασία ολοκληρώνεται με διήθηση και μεταφορά του εκχυλίσματος σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL και πλήρωση με τον μεθανολικό διαλύτη μέχρι τη χαραγή.

5.5.3 Απομάκρυνση λιπιδίων από κονιοποιημένα γίγαρτα

Ζυγίζονται 10 g δείγματος και μεταφέρονται σε ποτήρι ζέσεως των 100 mL. Προστίθενται 50 mL εξανίου και το μίγμα αναδεύεται με μαγνήτη για 20 min, ενώ στο τέλος παραμένει σε ηρεμία για 10 min. Ακολουθεί απόχυση του εξανικού εκχυλίσματος σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 250 mL, ενώ το στερεό επανεκχυλίζεται εις διπλούν. Οι οργανικές φάσεις των τριών εκχυλίσεων αναμιγνύονται και συμπυκνώνονται σε περιστροφικό εξατμιστήρα μέχρι ξηρού. Στη συνέχεια το δείγμα ζυγίζεται και πραγματοποιείται σταθμική ανάλυση. Ακολουθεί η απομάκρυνση του εξανίου από το στερεό υπόλειμμα σε φούρνο κενού και εν συνεχεία διαβιβάζεται άζωτο.

5.5.4 Υδρόλυση ανθοκυανινών και λοιπών φαινολικών γλυκοζιτών και ταννινών

Σε τρίλαιμη φιάλη των 100 mL τοποθετούνται 8.5 mL διαλύματος πυκνού HCl-EtOH 1:1, θερμομέτρο, κάθετος ψυκτήρας με κυκλοφορία νερού και ακροφύσιο για διαβίβαση αζώτου. Η σφαιρική φιάλη βυθίζεται σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 75 °C και ακολουθεί η προσθήκη του δείγματος (20 mL οίνου ή εκχυλίσματος φλοιών, σάρκας ή γιγάρτων). Το μίγμα υδρολύεται για 2 ώρες σε θερμοκρασία 75 °C και ροή αζώτου περίπου 4 mL/min. Μετά το πέρας της υδρόλυσης ακολουθεί ψύξη σε παγόλουτρο και προσθήκη 14.9 mL υδατικού διαλύματος Na₂CO₃ 20%w/v και πραγματοποιείται μαγνητική ανάδευση. Το διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL και αραιώνεται μέχρι τη χαραγή με EtOH 96°. Ο βαθμός αραιώσης του αρχικού οίνου είναι τώρα 1:2.5.

5.5.5 Καταβύθιση ταννινών

Τα απαιτούμενα διαλύματα για την διαδικασία είναι τα εξής: διάλυμα BSA 3 g/L σε buffer οξικού οξέος-οξικού νατρίου 0,2 M, δείγμα αναφοράς (διάλυμα ταννικού οξέος 2,25 g/L). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η εξής: αρχικά αναμιγνύονται 20 mL εκχυλίσματος ή οίνου με 30 mL διαλύματος BSA σε σωλήνα φυγοκέντρου και παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min για καταβύθιση των ταννινών. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 10.000 rpm για 5 min και απόχυση του διαλύματος.

5.5.6 Προσδιορισμός ολικών φαινολών

Το φαινολικό περιεχόμενο τόσο του οίνου, όσο και των εκχυλισμάτων των φλοιών, της σάρκας και των γιγάρτων, υπολογίστηκε με τη μέθοδο Folin - Ciocalteu. Η διαδικασία έχει ως εξής: σε δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται 1,58 mL απιονισμένου νερού και 20 μL του δείγματος προς ανάλυση (ή 20 μl απιονισμένου νερού για το τυφλό), καθώς και 100 μL αντιδραστηρίου Folin Ciocalteu Reagent. Μετά από ανάδευση και σε χρόνο μεταξύ 30s και 8min, προστίθενται 300 μL κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου και ακολουθεί ανάδευση και παραμονή των δοκιμαστικών σωληνίων (και το τυφλό) σε υδρόλουτρο θερμοκρασίας 40°C για 30min. Μετά το πέρας του χρόνου αυτού πραγματοποιείται φωτομέτρηση του δείγματος έναντι του τυφλού, στα 765 nm. Η συσχέτιση τις τιμές της απορρόφησης του δείγματος με το φαινολικό περιεχόμενο έγινε με καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος σε συγκεντρώσεις 50, 100, 150, 250, 500 ppm σε απιονισμένο νερό με 12% αιθανόλη.

5.5.7 Μέθοδος ανάλυσης HPLC

Τα εκχυλίσματα από τους φλοιούς, τα γίγαρτα και τη σάρκα, καθώς και τα δείγματα οίνου, αναλύθηκαν με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) και συγκεκριμένα με τη μέθοδο της βαθμωτής έκλυσης.

Το σύστημα διαλυτών αποτελούνταν από νερό (διαλύτης Α), μεθανόλη (διαλύτης Β) και ακετονιτρίλιο (διαλύτης Γ), έκαστος των οποίων περιείχε τριφθοροξικό οξύ (TFA) 0,2%. Ο ρόλος του τριφθοροξικού είναι αφενός η δημιουργία όξινου περιβάλλοντος, ώστε οι φαινολικές ενώσεις (ασθενή οξέα) να βρίσκονται εξολοκλήρου στη μη ιοντισμένη τους μορφή αφετέρου η παραλαβή οξειών κορυφών με περιορισμένες «ουρές» στα χρωματογραφήματα.

Η αρχική σύσταση της κινητής φάσης ήταν 90% Α, 6% Β και 4% Γ ενώ μεταβαλλόταν γραμμικά σε 85% Α, 9% Β και 6% Γ στα πρώτα 5 min της ανάλυσης, 71% Α, 17,4% Β και 11,6% Γ στα 30min και τέλος 0% Α, 85% Β και 15% Γ στα 60 min. Εν συνεχεία επανερχόταν γραμμικά στην αρχική σύσταση στα 61 min και ολοκληρωνόταν η ανάλυση. Η ροή του διαλυτικού συστήματος παρέμενε σε όλα τα στάδια στο 1mL/min ενώ ο όγκος του εισαγόμενου δείγματος ήταν 20μL. Ως βασικά μήκη κύματος για την ανίχνευση των συστατικών επιλέχθηκαν τα 280, 360, 420, 520 nm που ανταποκρίνονται σε χαρακτηριστικά σημεία των ζωνών απορρόφησης των φλαβονοειδών και λοιπών φαινολικών συστατικών.

5.5.8 Προσδιορισμός ποιοτικών χαρακτηριστικών

Κατά τη διάρκεια της διπλωματικής εργασίας προσδιορίστηκαν ποιοτικοί δείκτες στα δείγματα οίνου που παραλάβαμε κατά την οινοποιητική διαδικασία. Οι δείκτες αυτοί αφορούν στα εξής:

Δείκτης ολικών πολυφαινολών (d280): οι χαρακτηριστικοί βενζολικοί δακτύλιοι των φαινολικών ενώσεων του γλεύκους και του οίνου παρουσιάζουν ισχυρή απορρόφηση στο υπεριώδες φως, το μέγιστο της οποίας παρατηρείται γύρω στα 280nm. Έτσι η διαδικασία που ακολουθείται είναι αρχικά η αραίωση του οίνου 100 φορές και η οπτική του πυκνότητα (D.O.) μετριέται σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis στα 280nm. Τελικά ο δείκτης ολικών πολυφαινολών προκύπτει ως εξής: $d280=D.O.*\text{αραίωση}$

Ένταση (IC, IC'): τα φάσματα των νέων, κόκκινων κρασιών, παρουσιάζουν μια μέγιστη απορρόφηση στα 520nm (χαρακτηριστικό του κόκκινου χρώματος) και μια ελάχιστη στα 420 (χαρακτηριστικό του κίτρινου χρώματος), καθώς και μια αρκετά σημαντική απορρόφηση στα 620nm (χαρακτηριστικό του μωβ χρώματος). Οι δείκτες αυτοί λοιπόν, εμπιριέχοντας τις παραπάνω απορροφήσεις, προσδιορίζουν το σύνολο του χρώματος του οίνου: $IC=d420+d520$, $IC'=d420+d520+d620$

Απόχρωση (teinte): η σχέση της οπτικής πυκνότητας στα 420nm και αυτής στα 520nm, καταδεικνύει την αναλογία του κίτρινου χρώματος σε σχέση με το κόκκινο, και προσδιορίζει την απόχρωση των κόκκινων οίνων: $teinte=d420/d520$

Δείκτες χρώματος: προσδιορίζουν τη συνεισφορά του κάθε χρωματισμού στο συνολικό χρώμα του οίνου: κίτρινο $d420\% = d420/IC' * 100$, κόκκινο $d520nm\% = d520/IC' * 100$, μωβ $d620\% = d620/IC' * 100$, ενώ ο δείκτης που υποδεικνύει το κόκκινο χρώμα του οίνου είναι $dA\% = [1 - (d420 + d620) / (2 * d520)] * 100$.

6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1 ΜΕΛΕΤΗ ΡΩΓΑΣ ΣΤΑΦΥΛΙΟΥ

Τα χαρακτηριστικά των καρπών του σταφυλιού των δύο ποικιλιών παρατίθενται στον Πίνακα 1.1:

Πίνακας 1.1: στοιχεία ρωγών των ποικιλιών Malbec και Αγιωργίτικο

	Malbec	Αγιωργίτικο
Γίγαρτα (ποσοστό επί ξηρής μάζας καρπού)	2,7%	2,7%
Φλοιοί (ποσοστό επί ξηρής μάζας)	7,7%	7,5%
Σάρκα (ποσοστό επί ξηρής μάζας)	15,5%	28%
Ποσοστό γιγαρτέλαιου (επί ξηρής μάζας γιγάρτων)	9,8%	8,8%
Ποσοστό υγρασίας	72,2%	72,3%
d_{μέση} ρώγας (mm)	12,48	15,63
m_{μέση} ρώγας (g)	1,27	1,96

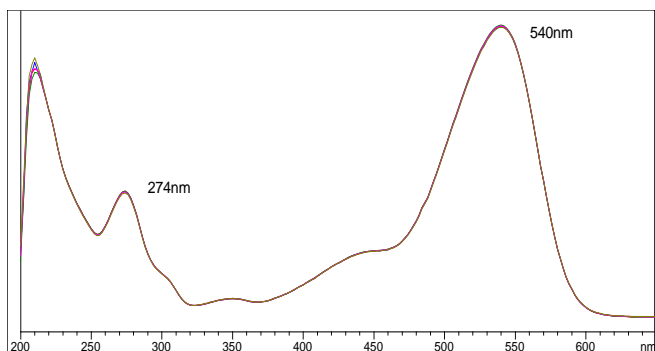
Η ξήρανση των μορφολογικών μερών της ρώγας πραγματοποιήθηκε με λυοφιλίωση. Η απόδοσή της διεργασίας της λυοφιλίωσης που επιτεύχθηκε και για τις δύο ποικιλίες είναι 30%.

Από τα στοιχεία των δύο σταφυλιών, οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι ο καρπός του Αγιωργίτικου είναι μεγαλύτερος και πιο βαρύς κατά 25% και 54% αντίστοιχα, δηλαδή περιέχει μεγαλύτερο ποσοστό νερού, κάτι που φαίνεται και από το μεγαλύτερο ποσοστό σάρκας που εμφανίζει σε σχέση με το Malbec (28% έναντι 15,5%). Τα ποσοστά της σάρκας και των φλοιών στη συνολική μάζα του καρπού είναι παρόμοια, ενώ η περιεκτικότητα των γιγάρτων του Malbec σε έλαιο είναι περισσότερη κατά 11% σε σχέση με το Αγιωργίτικο.

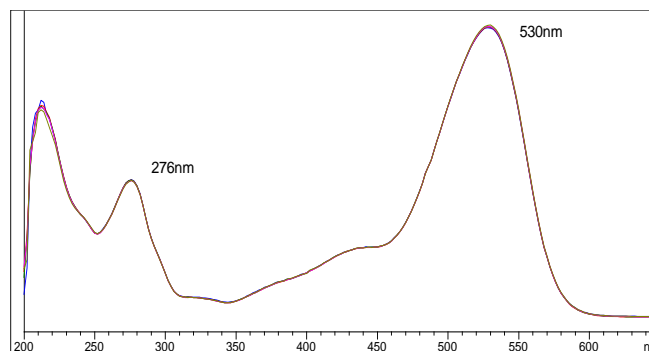
6.2 ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΘΟΚΥΑΝΙΔΙΝΩΝ ΣΤΟ ΣΤΑΦΥΛΙ

Το φάσμα που δίνουν τα ερυθρά κρασιά παρουσιάζει ένα μέγιστο απορρόφησης στα 520 nm που είναι χαρακτηριστικό του κόκκινου χρώματος τους. Το μέγιστο της απορρόφησης που παρουσιάζουν οι νέοι ερυθροί οίνοι στα 520nm οφείλεται στο καθαρό ερυθρό χρώμα των ελεύθερων ανθοκυανών. Συνεπώς, για τον εντοπισμό και την ταυτοποίηση των ανθοκυανών στα διάφορα δείγματα προς ανάλυση, έγινε χρωματογραφική ανάλυση.

Για την ταυτοποίηση των αντίστοιχων ανθοκυανιδινών, μελετήσαμε τα χρωματογραφήματα των υδρολυμένων δειγμάτων και έγινε σύγκριση τόσο με τα φάσματα που δίνουν πρότυπες ανθοκυανιδίνες, όσο και με τους χρόνους έκλουσής τους στα 520nm. Έτσι πραγματοποιήσαμε στο εργαστήριο αναλύσεις στην HPLC-DAD και παραλάβαμε τα φάσματα και τους χρόνους έκλουσης για δύο βασικές πρότυπες ανθοκυανιδίνες, την μαλβιδίνη και την κυανιδίνη.



Εικόνα 2.1: φάσμα πρότυπης μαλβιδίνης στο UV-Vis



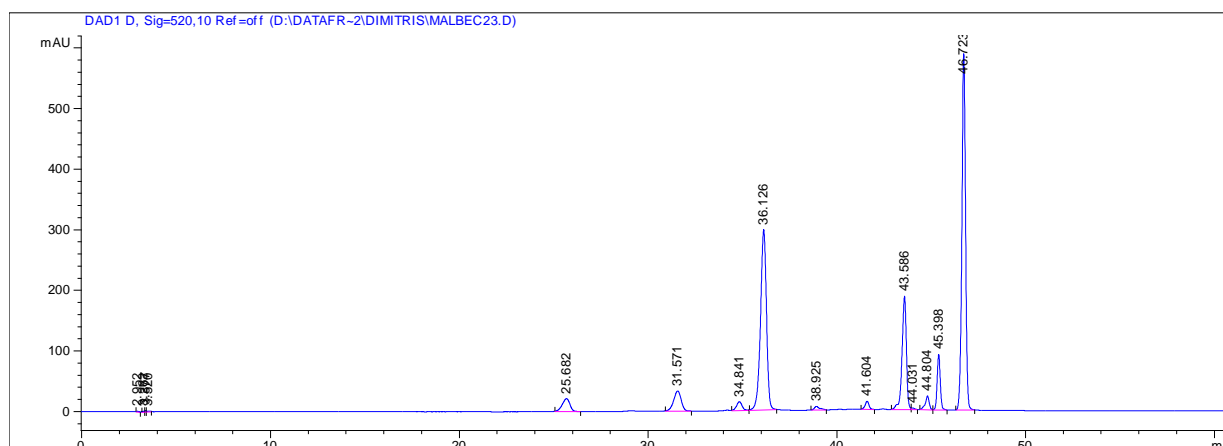
Εικόνα 2.2: φάσμα πρότυπης κυανιδίνης στο UV-Vis

6.2.1 Προσδιορισμός ανθοκυανών στα διάφορα μέρη του καρπού

6.2.1.1 Φλοιοί

Το χρώμα των ερυθρών οίνων, οφείλεται στις ανθοκυάνες, οι οποίες βρίσκονται κατά κύριο λόγο στους φλοιούς των σταφυλιών. Με βάση τα παραπάνω λοιπόν μελετήσαμε τα χρωματογραφήματα στα 520nm που ελήφθησαν από τα εκχυλίσματα των φλοιών που παρασκευάσαμε για τις δύο ποικιλίες.

MALBEC



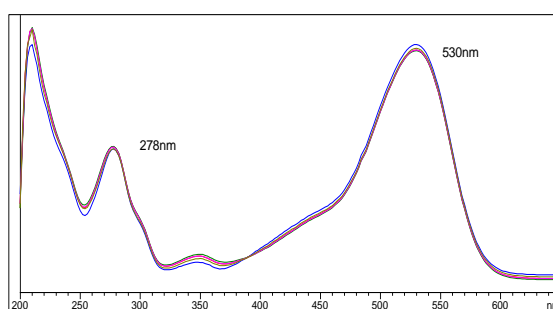
Σχήμα 2.1: Χρωματογραφική ανάλυση εκχυλίσματος φλοιών Malbec στα 520nm

Από το χρωματογράφημα που παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.1, παρατηρούμε ότι έχουμε τρεις κύριες κορφές και μία αρκετά σημαντική, μικρότερη όμως από τις υπόλοιπες. Καταγράφοντάς τες κατά σειρά έκλουσης προκύπτει ο Πίνακας 1:

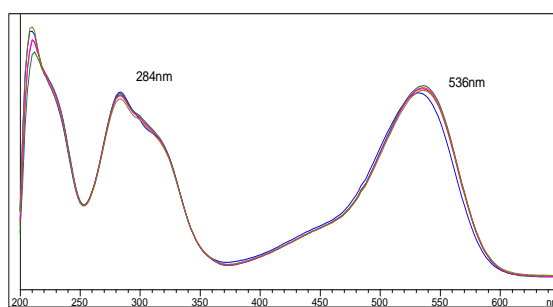
Πίνακας 2.1: Στοιχεία κορυφών χρωματογραφήματος του ακατέργαστου και υδρολυμένου εκχυλίσματος φλοιών Malbec

α/α	τ_{έκλουσης} (min)	Εμβαδόν	λ_{min}-λ_{max}
I	36,126	16196,5	278-530
II	43,586	7,522,3	280-534
III	45,398	2611,8	282-534
IV	46,723	19849,5	284-536
Μαλβιδίνη	44,816	20643,8	274-540

Τα φάσματα απορρόφησης στο UV-Vis των δύο κύριων ([κορυφή I, 36,126min], [κορυφή IV, 46,723min]), δίνονται στο Σχήμα 2.2 και Σχήμα 2.3 αντίστοιχα.



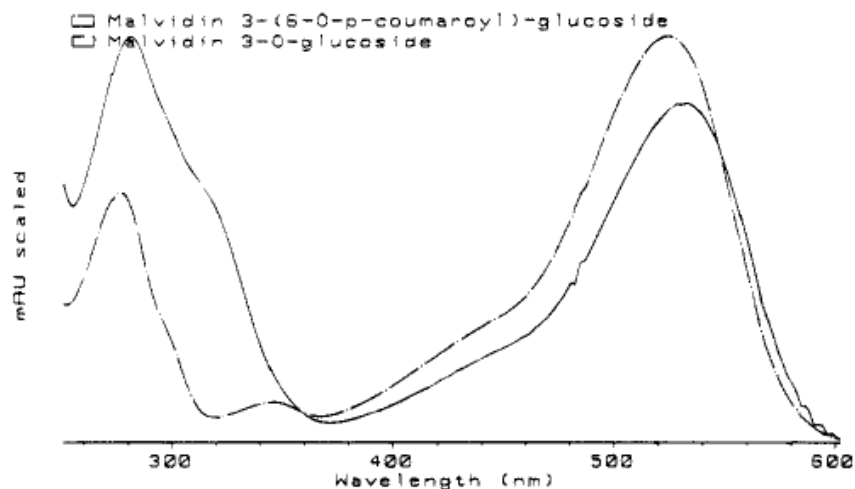
Σχήμα 2.2: φάσμα UV-Vis [κορυφή I] 36,126min



Σχήμα 2.3: φάσμα UV-Vis [κορυφήIV] 46,723 min

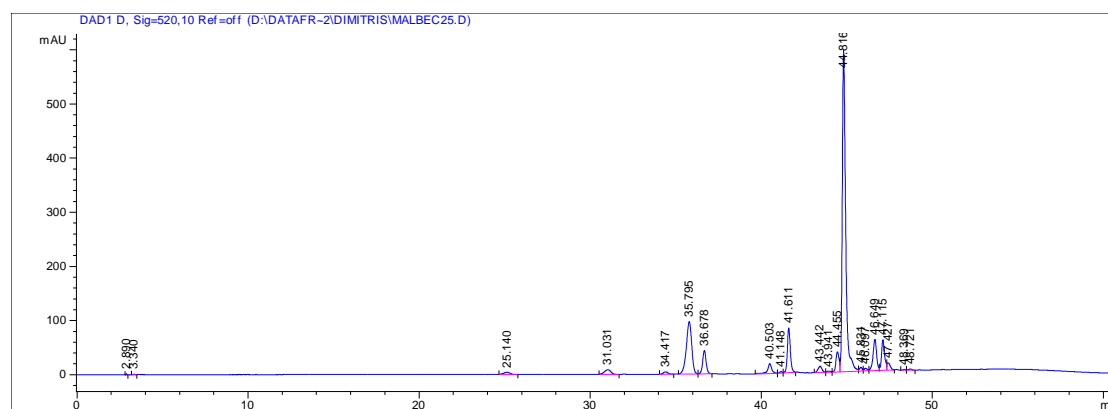
Από τα παραπάνω φάσματα και σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι οι κορυφές αυτές ανήκουν σε γλυκοζυλιωμένες ανθοκυανιδίνες και πιο συγκεκριμένα γλυκοζίτες της μαλβιδίνης [Giusti et al., 2001, Baldi et al., 1995]. Σύμφωνα με τη μορφολογία των φασμάτων που αντιστοιχούν στις κορυφές αυτές, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι πιθανότατα οι γλυκοζίτες αυτοί είναι για τη μεν [κορυφή I] ο 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης (Malvidin 3-O-glucoside), ενώ για τη δε [κορυφή IV], οκουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης (Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside). Πιο συγκεκριμένα, τα φάσματα που λάβαμε από τις κορυφές του χρωματογραφήματος, συμπίπτουν με αυτά των χαρακτηριστικών φασμάτων στο UV-Vis των δύο αυτών γλυκοζιτών μαλβιδίνης της διεθνούς βιβλιογραφίας, τόσο στα μέγιστα και ελάχιστα μήκη κύματος όσο και στη χαρακτηριστική μορφολογία των καμπυλών τους. Όπως φαίνεται και από το Σχήμα 2.4 [Baldietal., 1995], ο κουμαρυλιωμένος γλυκοζίτης εμφανίζει μια χαρακτηριστική ασύμμετρη καμπυλότητα μεταξύ 300-320nm, κάτι που δεν συμβαίνει με τον 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης, ο οποίος στο διάστημα αυτό εμφανίζει συμμετρία, ενώ εμφανίζει μία

επιπλέον μικρή κορυφή μεταξύ 320-360nm [Manhita et al., 2006, Pomar et al., 2005, Baldi et al., 1995].



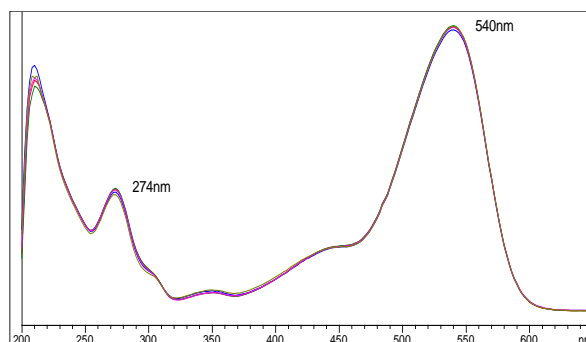
Σχήμα 2.4: πρότυπα φάσματα στο UV-Vis του κουμαρυλιωμένου γλυκοζίτη της μαλβιδίνης και του 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης [Baldi et al., 1995]

Για να επιβεβαιωθούν οι παραπάνω υποθέσεις, προσπαθήσαμε να ταυτοποιήσουμε την ανθοκυανιδίνη (αγλυκόνη) που αντιστοιχεί στις παραπάνω ανθοκυανίνες. Έτσι, μελετήσαμε το χρωματογράφημα που παραλάβαμε από την υδρόλυση του εκχυλίσματος των φλοιών στα 520nm.



Σχήμα 2.5: Χρωματογράφημα υδρολυμένων φλοιών Malbec στα 520nm

Από το παραπάνω χρωματογράφημα του υδρολυμένου εκχυλίσματος συμπεραίνουμε ότι οι δύο κύριες κορυφές [I και IV] που εμφανίστηκαν στο χρωματογράφημα του ακατέργαστου δείγματος φλοιών, αποτελούν την ίδια ανθοκυανιδίνη, αφού στο χρωματογράφημα των υδρολυμένων φλοιών εμφανίζεται μόνο μία κορυφή. Μελετώντας μάλιστα το φάσμα αυτής της κορυφής (Σχήμα 2.6) και συγκρίνοντάς το με το πρότυπο της μαλβιδίνης που παρουσιάζεται στο Σχήμα 1, καθώς και τον χρόνο έκλουσής της (44,816 min), διαπιστώνεται ότι όντως είναι η μαλβιδίνη.

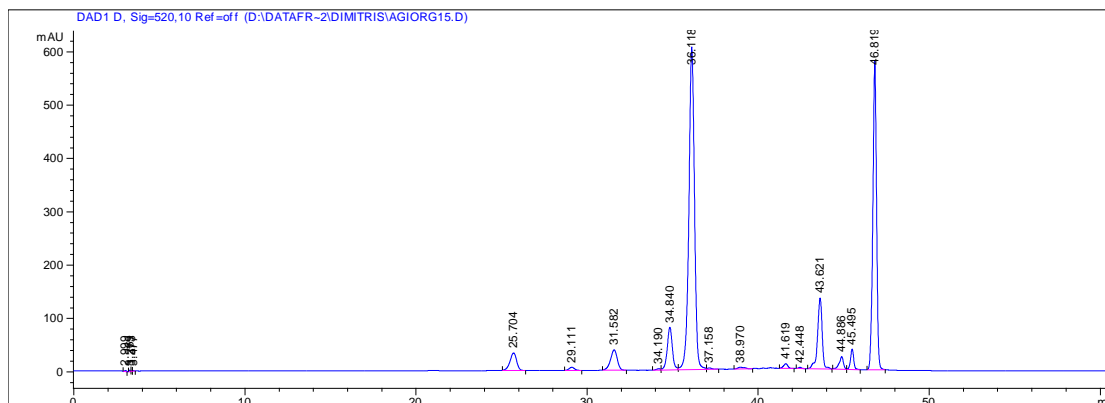


Σχήμα 2.6: φάσμα στο UV-Vis της κύριας κορυφής του Σχήματος 5, χρόνος έκλουσης 44,816min

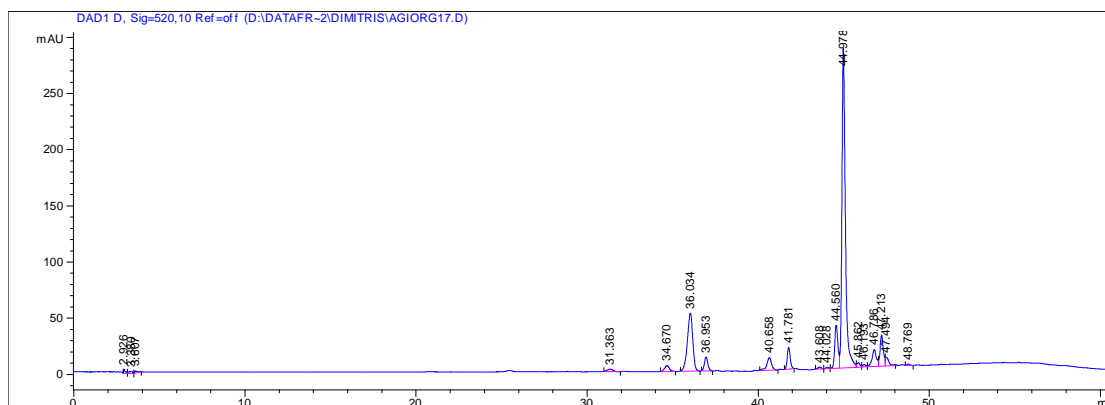
Τα παραπάνω συμπεράσματα επιβεβαιώνονται μάλιστα, λαμβάνοντας υπ' όψιν διπλωματική εργασία, στην οποία ταυτοποιήθηκαν οι δύο γλυκοζίτες της μαλβιδίνης, ο κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης (Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside) και ο 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης (Malvidin 3-O-glucoside) με τη μέθοδο LC-MS, με τις ίδιες μεθόδους και πρωτόκολλα ανάλυσης που χρησιμοποιήσαμε στην παρούσα διπλωματική εργασία [Μυλωνά Κ.,2011].

ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ

Αντίστοιχα, παρατίθενται τα χρωματογραφήματα στα 520nm από το ακατέργαστο και το υδρολυμένο εκχύλισμα των φλοιών Αγιωργίτικου.



Σχήμα 2.7: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φλοιών Αγιωργίτικου



Σχήμα 2.8: Χρωματογράφημα υδρολυμένου εκχυλίσματος φλοιών Αγιωργίτικου

Από το χρωματογράφημα των φλοιών, παρατηρούμε την εμφάνιση δύο κορυφών οι οποίες είναι με διαφορά οι επικρατέστερες, καθώς και μία τρίτη η οποία εμφανίζεται, αλλά σε μικρότερη έκταση. Καταγράφοντας τις λοιπών προκύπτει ο Πίνακας 2.2:

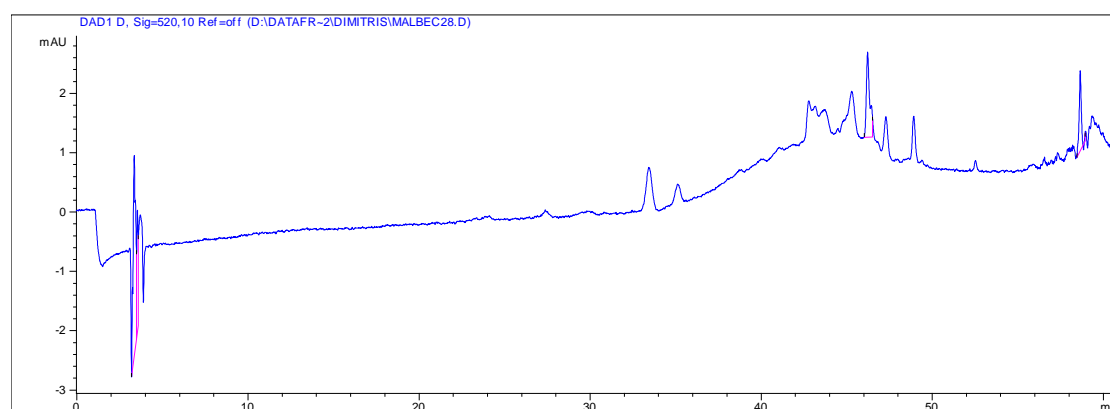
Πίνακας 2.2: Στοιχεία κορυφών χρωματογραφήματος του ακατέργαστου και υδρολυμένου εκχυλίσματος φλοιών Αγωγίτικου

α/α	τ _{έκλουσης} (min)	Εμβαδόν	λ _{min} -λ _{max}
I	36,118	13688,7	278-530
II	43,621	2511,2	280-532
III	46,819	8701,1	284-536
Μαλβιδίνη	44,978	10037,0	274-540

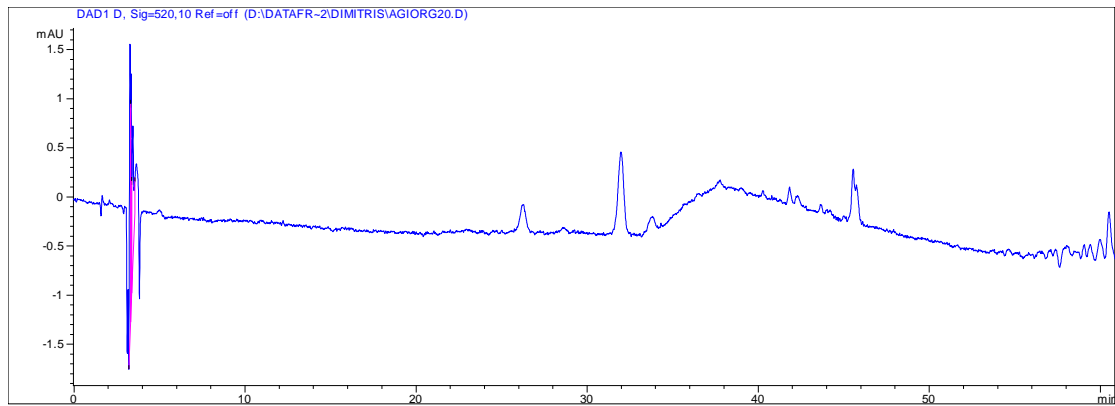
Σε αντιστοιχία με το σκεπτικό που αναλύσαμε για την ποικιλία Malbec, μπορούμε να βγάλουμε τα εξής συμπεράσματα: οι δύο κορυφές [I και III] αποτελούν γλυκοζυλιωμένες μορφές της μαλβιδίνης, ενώ μελετώντας τα φάσματα και τους χρόνους έκλουσης που ταυτίζονται με τα αντίστοιχα των κορυφών I και IV του Malbec, οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι η μεν [κορυφή I] είναι ο 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης (Malvidin 3-O-glucoside), ενώ η δε [κορυφή III] ο κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης (Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside).

6.2.1.2 Γίγαρτα

Τα γίγαρτα των σταφυλιών είναι πολύ πλούσια σε ταννίνες και πολύ φτωχά σε ανθοκυάνες. Αυτό διαπιστώνεται και από την απουσία χρώματος (κυρίως όσων αφορά στο κόκκινο) στα εκχυλίσματα των γιγάρτων. Από τα χρωματογραφήματα που πήραμε από τα εκχυλίσματα των γιγάρτων, η υπόθεση αυτή επαληθεύτηκε και για τις δύο ποικιλίες. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε μηδενική περιεκτικότητα των γιγάρτων και των δύο ποικιλιών σε ανθοκυάνες, όπως παρουσιάζεται στα Σχήματα 2.8 και 2.9.



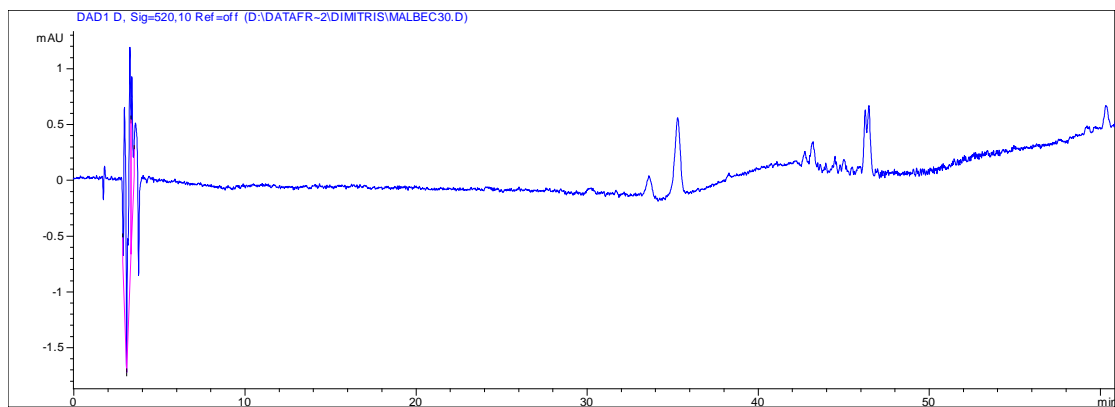
Σχήμα 2.8: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος γιγάρτων Malbec



Σχήμα 2.9: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος γιγάρτων Αγιωργίτικου

6.2.1.3 Γ. Σάρκα

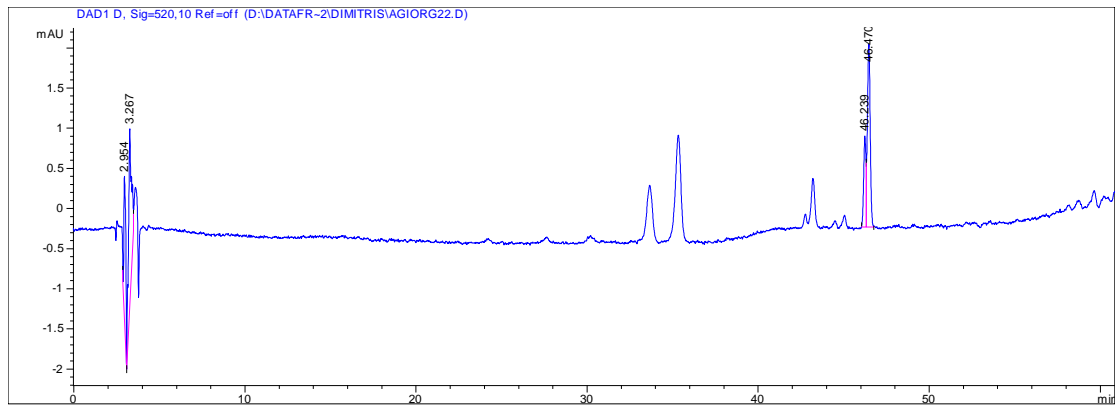
Όπως ήδη έχει αναφερθεί στο θεωρητικό τμήμα, η σάρκα των σταφυλιών είναι τελείως φτωχή σε φαινολικά συστατικά. Η απουσία χρώματος είναι ένα πρώτο δείγμα που επαληθεύει την παραπάνω άποψη. Η χρωματογραφική ανάλυση των εκχυλισμάτων σάρκας των δύο ποικιλιών παρουσιάζεται στα Σχήματα 2.10 και 2.11.



Σχήμα 2.10: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος σάρκας Malbec

Από το χρωματογράφημα του εκχυλίσματος σάρκας Malbec, είναι εμφανής η απουσία ανθοκυανών.

Αντίστοιχα αποτελέσματα προκύπτουν και για το Αγιωργίτικο. Κάποια ίχνη που εμφανίζονται στο χρωματογράφημα, οφείλονται πιθανότατα σε ένα φαινολικό φορτίο που μεταφέρθηκε στις σάρκες κατά τον διαχωρισμό τους από τους φλοιούς.



Σχήμα 2.11: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος σάρκας Αγιοργίτικου

6.2.1.4 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΔΥΟ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ

Από τα χρωματογραφήματα που παραθέσαμε και με βάση το σκεπτικό που αναλύθηκε παραπάνω, μπορούμε αρχικά να παρατηρήσουμε ότι η κύρια ανθοκυανιδίνη στους φλοιούς και των δύο ποικιλιών είναι η μαλβιδίνη, ενώ οι δύο κύριοι γλυκοζίτες της είναι ο 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης και ο κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης. Οι περιεκτικότητες των δύο γλυκοζιτών θα αναλυθούν στη συνέχεια.

Όσον αφορά στα γίγαρτα και τη σάρκα, από τα χρωματογραφήματα των δύο ποικιλιών συμπεραίνουμε ότι το περιεχόμενό τους σε ανθοκυάνες είναι μηδενικό. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τη διεθνή βιβλιογραφία.

6.2.2 Προσδιορισμός ταννινών στα διάφορα μέρη των ρωγών της σταφυλής

Η ανίχνευση των ταννινών στα δείγματα πραγματοποιήθηκε έμμεσα, με καταβύθιση τους με διάλυμα BSA, ενώ για την ταυτοποίησή τους χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της όξινης υδρόλυσης και της ανάλυσης μέσω της υγρής χρωματογραφίας.

Πιο συγκεκριμένα, οι ταννίνες δημιουργούν σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες και καταβυθίζονται. Χρησιμοποιώντας λοιπόν μια πρωτεΐνη και καταβυθίζοντας τις ταννίνες από το διάλυμα του εκάστοτε δείγματος, λαμβάνουμε ένα επιπλέον δείγμα, το υπερκείμενο υγρό το οποίο είναι πια ελεύθερο από ταννίνες. Με σύγκριση των δύο χρωματογραφημάτων στα 280nm – μήκος κύματος στο οποίο παρουσιάζουν τη μέγιστη απορρόφηση οι ταννίνες – του ακατέργαστου δείγματος (εκχυλίσματος ή οίνου) και του διαλύματος μετά την καταβύθιση των ταννινών, μπορούμε να βγάλουμε ένα πρώτο συμπέρασμα σχετικά με την ύπαρξη ή όχι ταννινών στα δείγματα. Στις εργαστηριακές μας αναλύσεις χρησιμοποιήσαμε την αλβουμίνη (BSA) για την καταβύθιση των ταννινών.

Στη συνέχεια πραγματοποιήσαμε την ταυτοποίηση των ταννινών με τη μέθοδο της όξινης υδρόλυσης. Πιο συγκεκριμένα, όπως έχει αναφερθεί στο θεωρητικό μέρος, οι ταννίνες είναι πολυμερή κατεχινών και επικατεχινών. Για να ταυτοποιήσουμε λοιπόν τη φύση των ταννινών που βρίσκονται στα δείγματα, πραγματοποιήσαμε διάσπαση των πολυμερών στα μονομερή τους με όξινη υδρόλυση. Λαμβάνουμε έτσι ένα καινούριο διάλυμα προς ανάλυση

το οποίο περιέχει τα μονομερή των ταννινών. Η ανάλυση του νέου αυτού δείγματος στην HPLC και στα 520nm θα εμφανίσει δύο είδη ανθοκυανιδινών:

♦ ανθοκυανιδίνες (αγλυκόνες πια) οι οποίες προ υδρόλυσης βρισκόντουσαν σε μορφή γλυκοζίτη

♦ ανθοκυανιδίνες οι οποίες αποτελούσαν τα μονομερή ή διμερή των ταννινών.

Για τον λόγο αυτό θα μελετήσουμε συγκριτικά και τα δείγματα με το υπερκείμενο υγρό που λάβαμε μετά την καταβύθιση των ταννινών. Με τον τρόπο αυτό θα διαπιστώσουμε ποιο ποσοστό αφορά μόνο στις ανθοκυανιδίνες των ανθοκυανινών που βρίσκονται στα αρχικά δείγματα. Από τα παραπάνω λοιπόν, βγαίνει το συμπέρασμα ότι συγκρίνοντας τα χρωματογραφήματα στα 520nm των δειγμάτων στα οποία πραγματοποιήθηκε απευθείας υδρόλυση και τα χρωματογραφήματα των υδρολυμένων δειγμάτων ελεύθερων ταννινών, θα διαπιστώσουμε έμμεσα (με αφαίρεση) τη φύση των μονομερών ή διμερών που αποτελούν τις ταννίνες των αρχικών δειγμάτων.

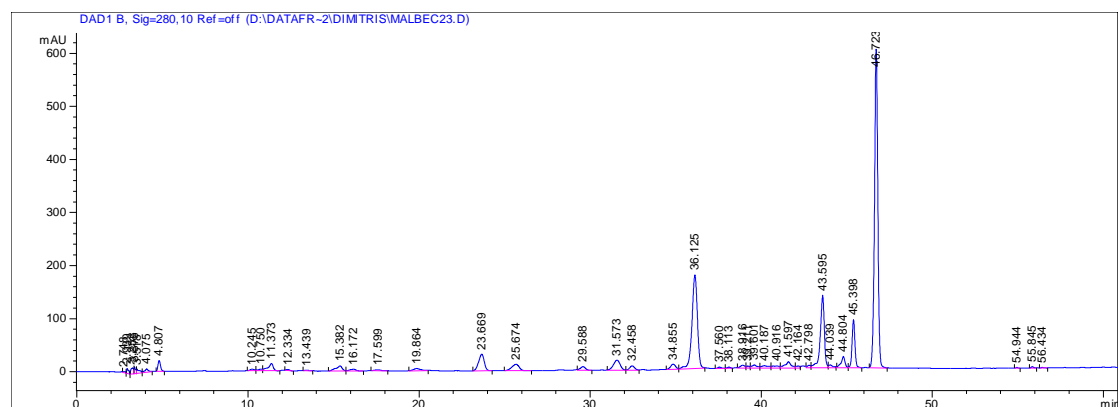
Παρ' όλα αυτά, δεν μπορούμε να πραγματοποιήσουμε ποσοτικοποιήσεις ταννινών με τη μέθοδο της HPLC παρά μόνο να βγάλουμε κάποια ενδεικτικά συμπεράσματα για την ύπαρξη ή μη των ταννινών στα δείγματα.

Έτσι λαμβάνουμε για κάθε μορφολογικό μέρος της σταφυλής τα εξής συμπεράσματα:

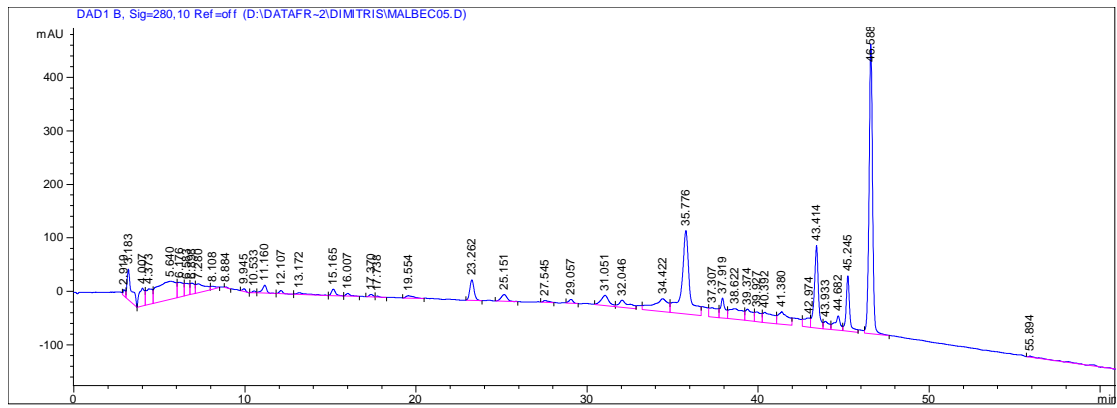
6.2.2.1 Φλοιοί

MALBEC

Από τα χρωματογραφήματα στα 280nm του ακατέργαστου δείγματος φλοιών και του υπερκείμενου υγρού μετά την καταβύθιση των ταννινών, διαπιστώνουμε ότι στους φλοιούς δεν περιέχονται μετρήσιμα ποσά ταννινών, παρά μόνο ίχνη. Αυτό το συμπεραίνουμε από την πολύ μικρή μεταβολή μεταξύ των δύο χρωματογραφήματων σε σχέση με τις επικρατούσες κορυφές, που σημαίνει ότι στο αρχικό δείγμα δεν υπήρχαν αρκετές ταννίνες ώστε να παρατηρηθεί ορατή διαφορά μετά την καταβύθισή τους.



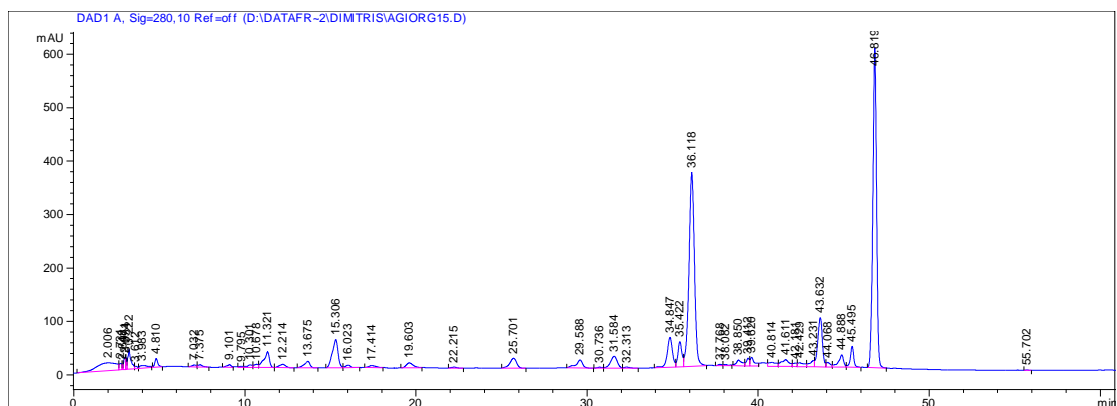
Σχήμα 2.12: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φλοιών Malbec στα 280nm



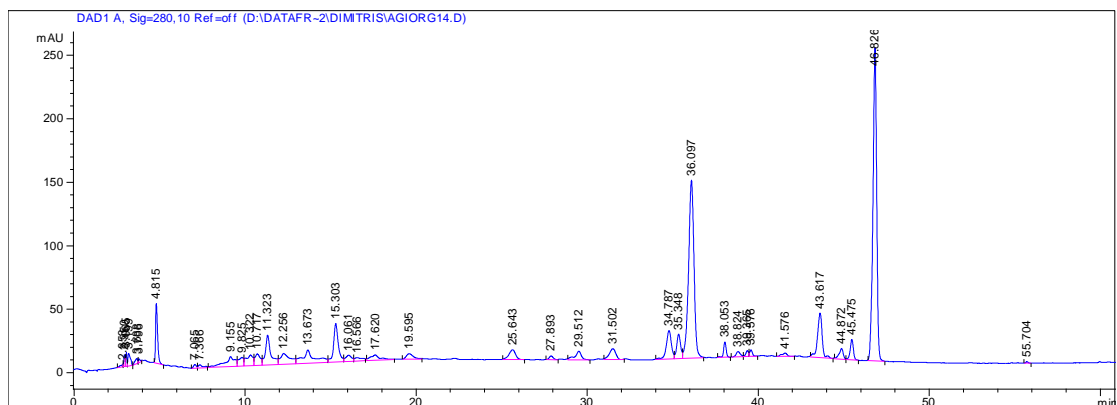
Σχήμα 2.13: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φλοιών Malbec μετά την καταβύθιση των ταννινών στα 280nm

ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ

Το ίδιο συμπέρασμα προκύπτει και κατά την παρατήρηση των αντίστοιχων χρωματογραφημάτων για το Αγιωργίτικο. Οι κύριες κορυφές δεν μεταβλήθηκαν ορατά μετά τη διαδικασία της καταβύθισης, αφού δεν υπήρχαν μετρήσιμα ποσά ταννινών ώστε να παρατηρηθεί σημαντική διαφορά μετά την καταβύθισή τους.



Σχήμα 2.14: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φλοιών Αγιωργίτικου στα 280nm



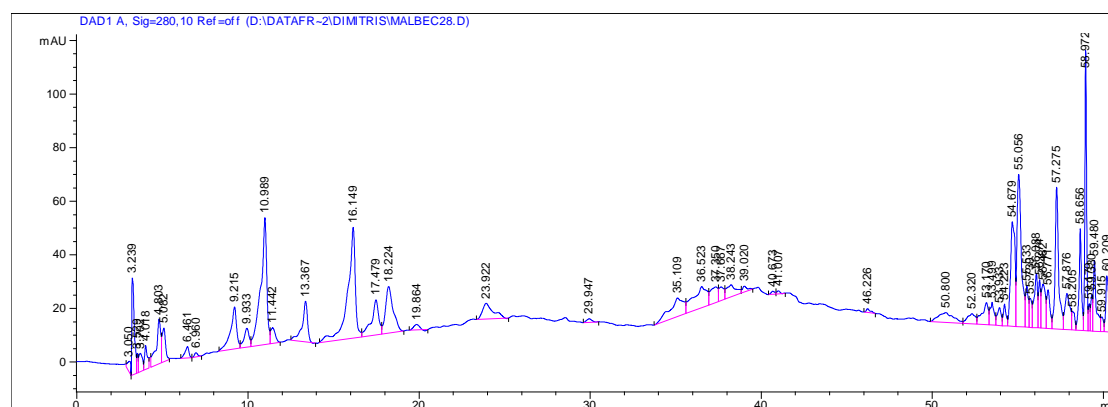
Σχήμα 2.15: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φλοιών Αγιωργίτικου μετά την καταβύθιση των ταννινών στα 280nm

6.2.2.2 Γίγαρτα

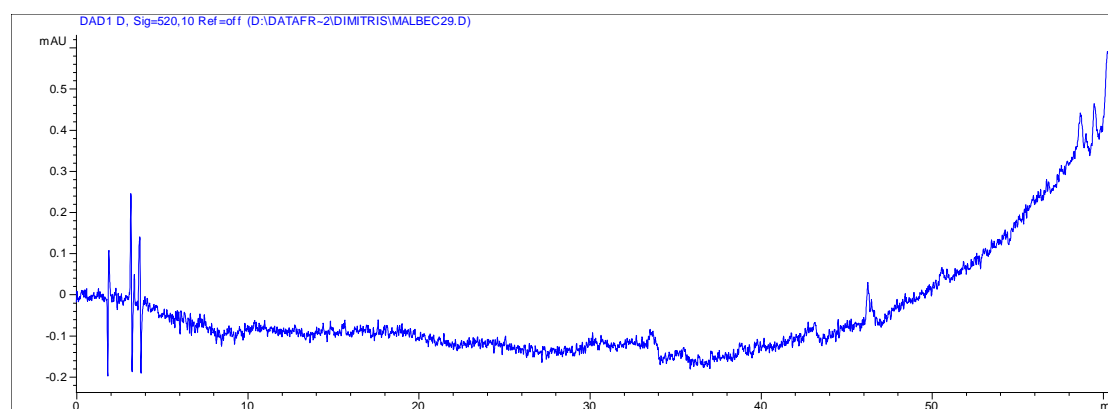
Οι ταννίνες που βρίσκονται στον οίνο, προέρχονται κατά κύριο λόγο από τα γίγαρτα, τα οποία είναι πολύ πλούσια σε ταννίνες. Η παραπάνω υπόθεση επαληθεύτηκε με τη μελέτη των χρωματογραφημάτων των δύο ποικιλιών από τα εκχυλίσματα των γιγάρτων.

MALBEC

Το χρωματογράφημα από το εκχύλισμα γιγάρτων στα 280nm, παρουσιάζει αρκετές κορυφές, κάτι που δείχνει την έντονη παρουσία ταννινών σε αυτά. Από το χρωματογράφημα μάλιστα του δείγματος μετά την καταβύθισή τους, παρατηρούμε σχεδόν μηδενική παρουσία ταννινών, αφού όσες υπήρχαν στο αρχικό δείγμα καταβυθίστηκαν.

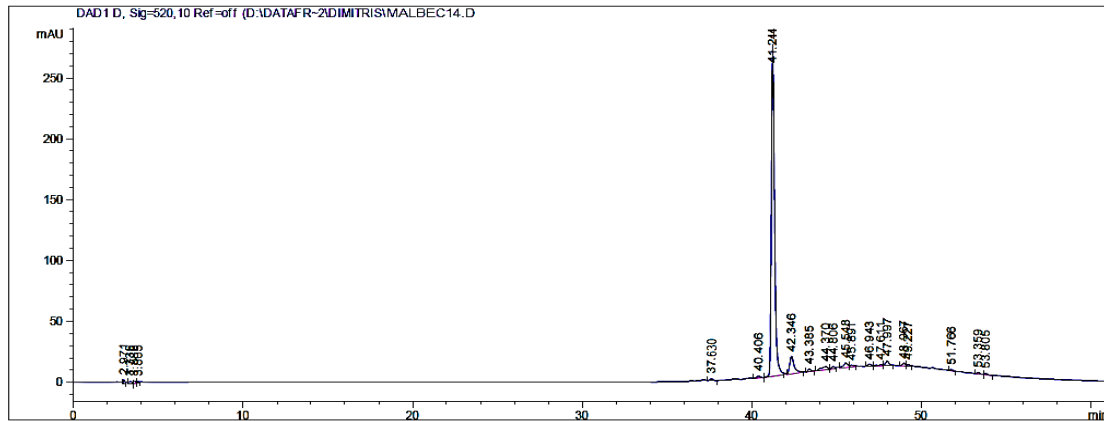


Σχήμα 2.16: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος γιγάρτων Malbec στα 280nm

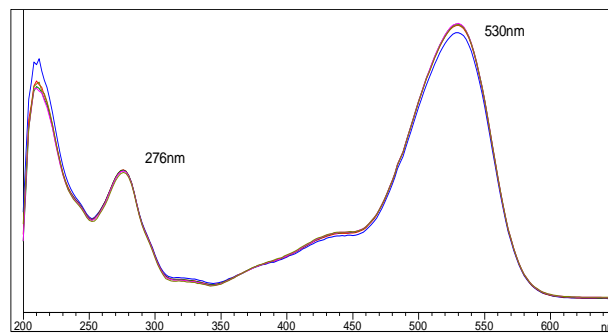


Σχήμα 2.17: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος γιγάρτων Malbec μετά την καταβύθιση των ταννινών στα 280nm

Μετά από την όξινη υδρόλυση του εκχυλίσματος των γιγάρτων παρατηρήθηκε η ύπαρξη μιας μόνο κορυφής στα 41,244min (Σχήμα 2.18), η οποία συμπεραίνουμε ότι είναι μια ανθοκυανιδίνη. Το φάσμα της κορυφής αυτής, δίνεται στο Σχήμα 2.19.



Σχήμα 2.18: Χρωματογράφημα υδρολυμένου εκχυλίσματος γιγάρτων Malbec στα 520nm

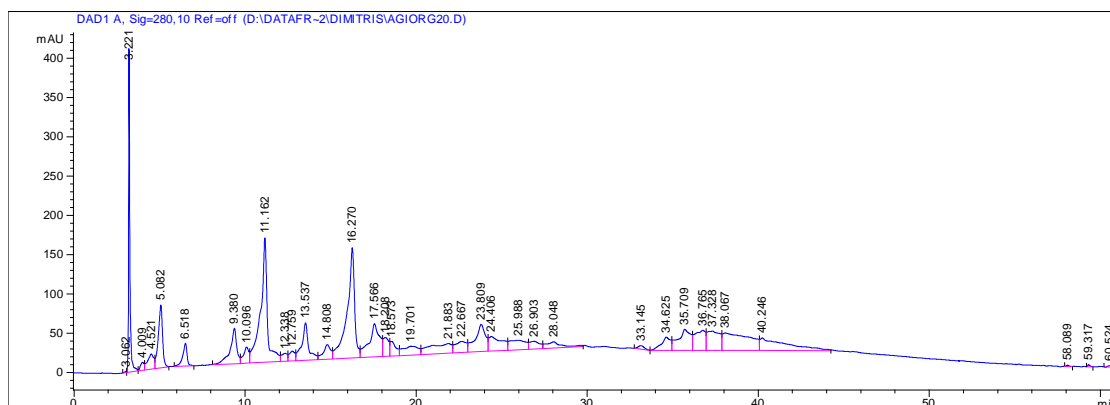


Σχήμα 2.19: φάσμα στο UV-Vis της κορυφής του Σχήματος 18

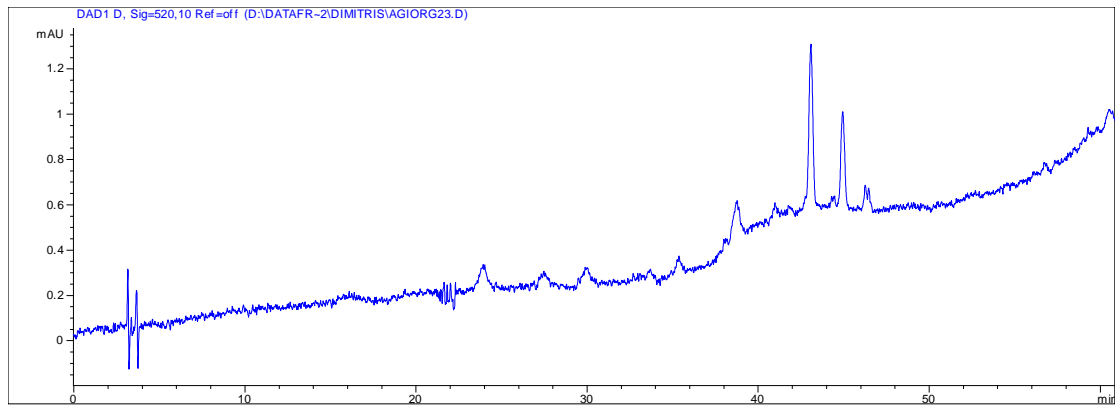
Από τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του φάσματος, καθώς και από τον χρόνο έκλουσής του, οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι η ανθοκυανιδίνη των ταννινών είναι η κυανιδίνη.

ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ

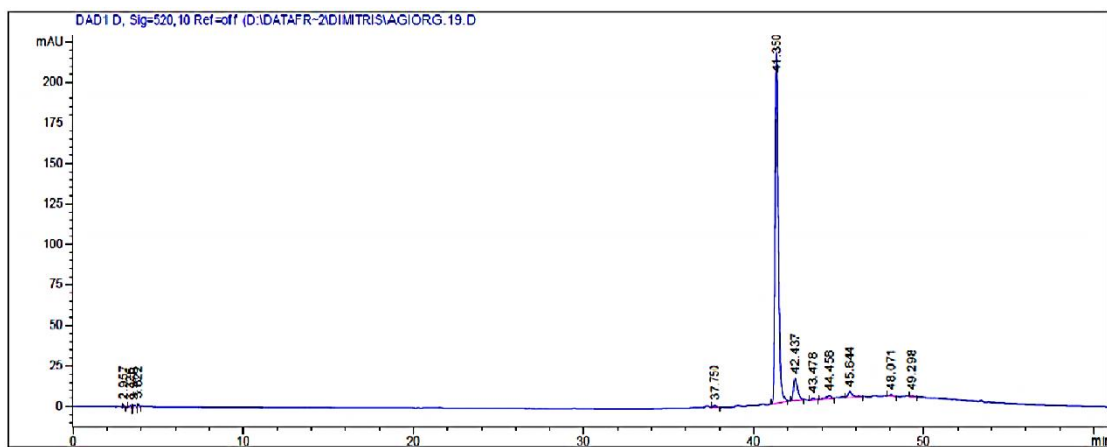
Στα Σχήματα 2.20 και 2.21 παρατίθενται τα χρωματογραφήματα του εκχυλίσματος των γιγάρτων της ποικιλίας Αγιωργίτικο πριν και μετά την καταβύθιση των ταννινών, ενώ στο Σχήμα 2.22 το χρωματογράφημα του υδρολυμένου εκχυλίσματος γιγάρτων.



Σχήμα 2.20: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος γιγάρτων Αγιωργίτικου στα 280nm



Σχήμα 2.21: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος γιγάρτων Αγιωργίτικο μετά την καταβύθιση των ταννινών στα 280nm

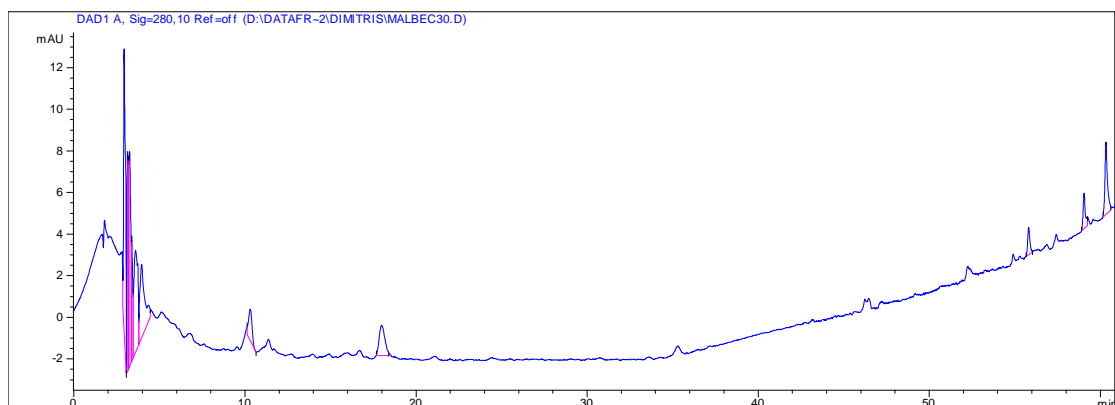


Σχήμα 2.22: Χρωματογράφημα υδρολυμένου εκχυλίσματος γιγάρτων Αγιωργίτικο στα 520nm

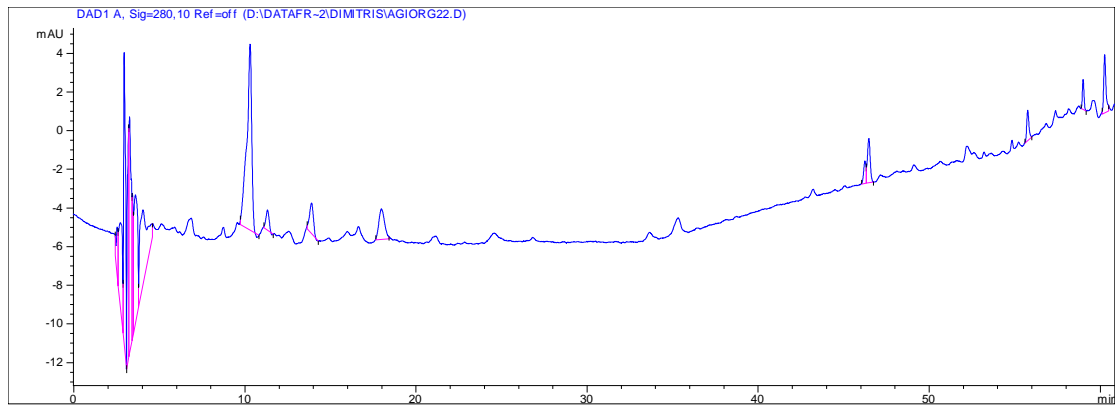
Από τα παραπάνω φαίνεται ότι και για την ποικιλία Αγιωργίτικο, οι υδρόλυση οδηγεί σε ένα μονομερές. Ο χρόνος έκλουσης και το φάσμα της κορυφής συμπίπτουν με τα αντίστοιχα του Malbec. Επομένως, οδηγούμαστε στο συμπέρασμα η ανθοκυανιδίνη που αποτελεί την «πρώτη ύλη» των ταννινών είναι η κυανιδίνη.

6.2.2.3 Σάρκα

Όπως έχει αναφερθεί στο θεωρητικό, στη σάρκα των καρπών της σταφυλής δεν περιέχονται ταννίνες, κάτι που επιβεβαιώθηκε για τις δύο ποικιλίες σύμφωνα με τα χρωματογραφήματα που παρατίθενται στα Σχήματα 2.23 και 2.24.



Σχήμα 2.23: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος σάρκας Malbec στα 280nm



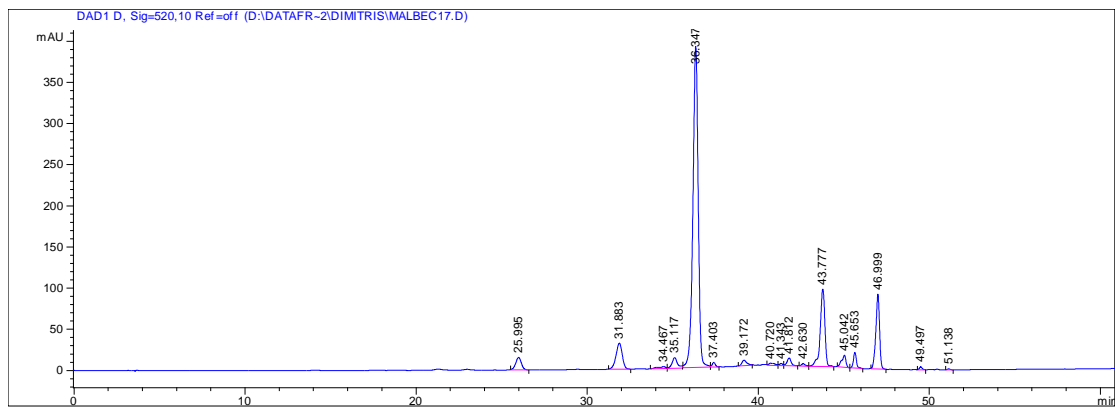
Σχήμα 2.24: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος σάρκας Αγιωργίτικου στα 280nm

6.3 ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ

6.3.1 Μελέτη φαινολικών συστατικών

MALBEC

Η χρωματογραφική ανάλυση του οίνου Malbec έδειξε την ύπαρξη τριών κύριων κορυφών, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.1. Τα χαρακτηριστικά των κορυφών δίνονται στον Πίνακα 3.

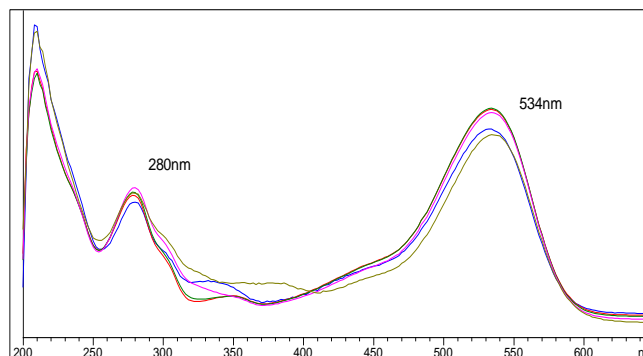


Σχήμα 3.1: Χρωματογράφημα οίνου Malbec

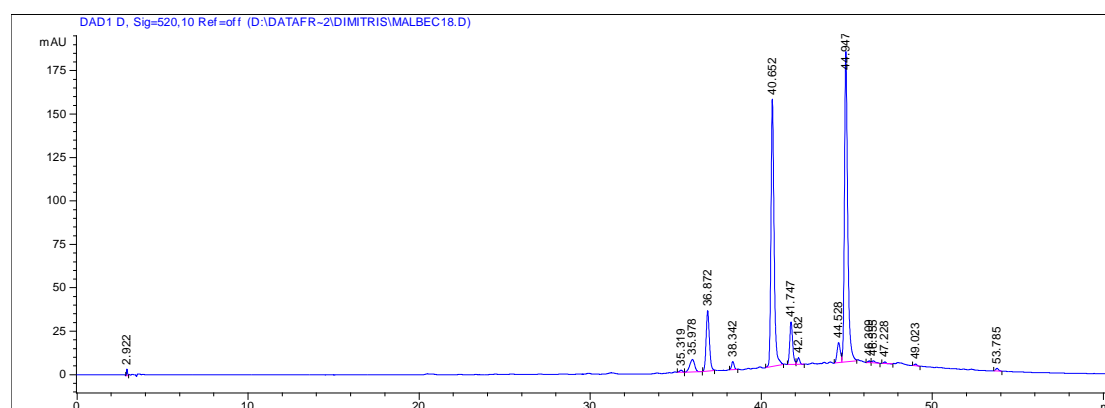
Πίνακας 3: Στοιχεία κορυφών χρωματογράφηματος του ακατέργαστου οίνου Malbec

α/α	τέκλουσης (min)	Εμβαδόν	λmin-λmax
I	36,347	8413,4	278-530
II	43,777	1794,3	280-534
III	46,999	1379,6	284-530

Οι κορυφές [I] και [III] αφορούν στους γλυκοζίτες της μαλβιδίνης (3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης, κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης αντίστοιχα) που εκχυλίστηκαν από τους φλοιούς. Η τρίτη κορυφή [II] θα αφορά λοιπόν πιθανώς σε μία ανθοκυάνη που εμφανίστηκε λόγω της ζύμωσης. Το συμπέρασμα αυτό όμως επιδέχεται περαιτέρω διερεύνησης. Το φάσμα της κορυφής αυτής παρατίθεται παρακάτω:



Σχήμα 3.2: φάσμα στο UV-Vis της κορυφής [II]



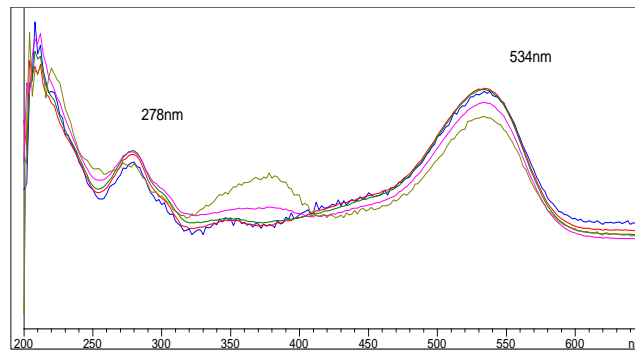
Σχήμα 3.3: Χρωματογράφημα υδρολυμένου οίνου Malbec στα 520nm

Από το χρωματογράφημα του υδρολυμένου οίνου Malbec, παρατηρούμε την εμφάνιση τριών κορυφών που καταγράφονται στον Πίνακα 4:

Πίνακας 4: Στοιχεία κορυφών χρωματογραφήματος του υδρολυμένου οίνου Malbec

α/α	τέκλουσης (min)	Εμβαδόν	λmin-λmax
I	36,872	1155,5	270-534
II (κυανιδίνη)	40,652	4841,0	276-528
III (μαλβιδίνη)	44,947	5850,8	274-540

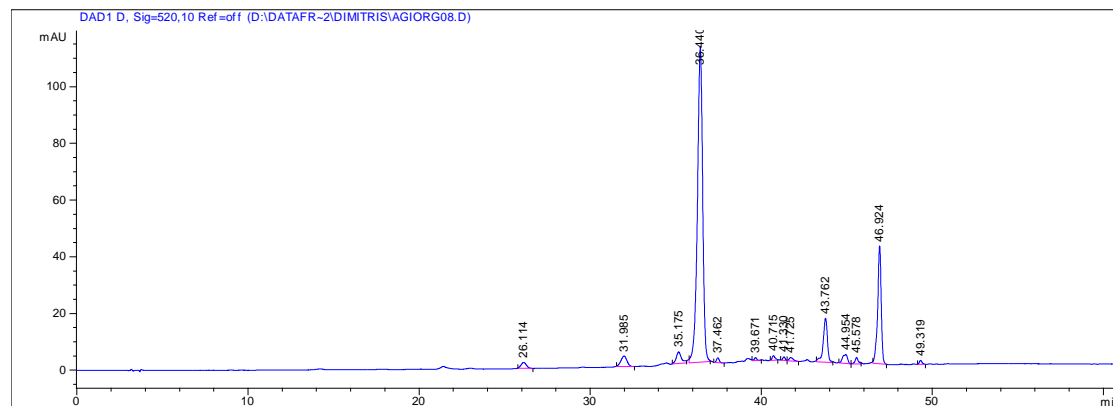
Η κορυφή III αντιστοιχεί στη μαλβιδίνη, ενώ η κορυφή II στην κυανιδίνη που προέρχεται από υδρόλυση των ταννινών του οίνου. Εμφανίζεται επιπλέον μια κορυφή που αντιστοιχεί πιθανώς σε μια ανθοκυανιδίνη η οποία οφείλεται όπως έχει προαναφερθεί στη διαδικασία της ζύμωσης. Με ανάλυση του φάσματος της κορυφής αυτής και του χρόνου έκλουσης της (36,872min), δεν ήταν δυνατό να πραγματοποιηθεί ταυτοποίησή της με κάποια από τις πρότυπες ανθοκυανιδίνες που διαθέτουμε.



Σχήμα 3.4: φάσμα στο UV-Vis της [κορυφής I]

ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ

Αντίστοιχα, στο χρωματογράφημα του ακατέργαστου οίνου Αγιωργίτικου εμφανίζονται τρεις κύριες κορυφές, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.5, των οποίων τα χαρακτηριστικά δίνονται στον Πίνακα 5:



Σχήμα 3.5: Χρωματογράφημα οίνου Αγιωργίτικο στα 520nm

Πίνακας 5: Στοιχεία κορυφών χρωματογραφήματος του ακατέργαστου οίνου Αγιωργίτικο

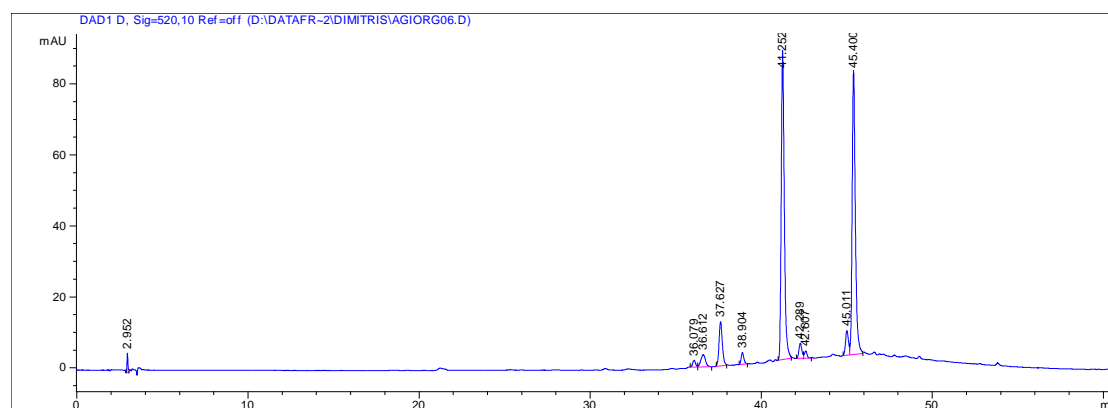
α/α	τέκλουσης (min)	Εμβαδόν	λmin-λmax
I	36,440	5942,0	278-530
II	43,762	666,0	280-534
III	46,927	1505,3	284-530

Οι κορυφές I και III αποτελούν τους γλυκοζίτες μαλβιδίνης, 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης και κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης αντίστοιχα. Η κορυφή II έχει ίδιο χρόνο έκλουσης και φάσμα με την κορυφή II που παρατηρήθηκε στον οίνο Malbec.

Η υδρόλυση του οίνου από Αγιωργίτικο έδωσε το χρωματογράφημα του Σχήματος 3.6. Όπως προκύπτει από το χρωματογράφημα, εμφανίζονται δύο κύριες κορυφές που αντιστοιχούν στη μαλβιδίνη και κυανιδίνη, σύμφωνα με τους χρόνους έκλουσης και τα φάσματά τους, καθώς και μία τρίτη σε χρόνο 37,627min, η οποία είναι ταυτόσημη με την

αντίστοιχη κορυφή I του υδρολυμένου οίνου Malbec, και δεν μπορεί να ταυτοποιηθεί με τα στοιχεία που διατίθενται για τις πρότυπες ανθοκυανιδίνες.

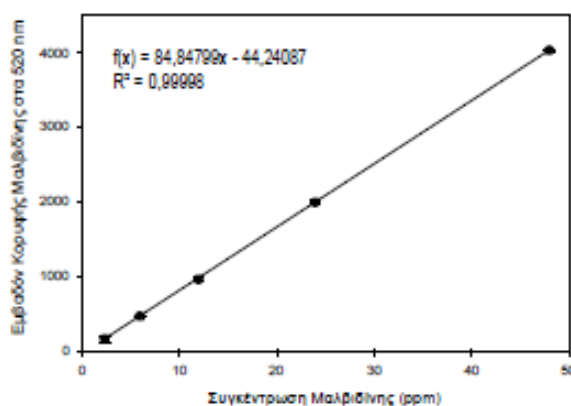
Οι κορυφές I και III αποτελούν τους γλυκοζίτες μαλβιδίνης, 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης και κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης αντίστοιχα. Η ταυτοποίηση της άγνωστης κορυφής II θα προκύψει από τη μελέτη του χρωματογραφήματος του υδρολυμένου οίνου στα 520nm και ανάλυση του φάσματος της αντίστοιχης κορυφής της αγλυκόνης. Όπως προκύπτει από το χρωματογράφημα, εμφανίζονται τρεις κορυφές (μαλβιδίνη, κυανιδίνη), καθώς και μία τρίτη σε χρόνο 37,627min, η οποία με τα στοιχεία που διατίθενται για τις πρότυπες ανθοκυανιδίνες, δεν μπορεί να ταυτοποιηθεί.



Σχήμα 3.6: Χρωματογράφημα υδρολυμένου οίνου Αγιωργίτικο στα 520nm

6.4 ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Οι ποσοτικοποιήσεις των φαινολικών συστατικών, πραγματοποιήθηκαν με βάση την καμπύλη αναφοράς πρότυπης μαλβιδίνης στην HPLC (Διάγραμμα 1), συναρτήσεως της συγκέντρωσής της. Η καμπύλη αναφοράς που παρατίθεται, ελήφθη από τη διπλωματική εργασία της Κατερίνας Μυλωνά, με βάση τις ίδιες μεθόδους κατεργασίας και ανάλυσης των δειγμάτων που ακολουθήθηκαν στην παρούσα διπλωματική. Σύμφωνα ποσοτικοποιήθηκαν οι ανθοκυανίνες που ταυτοποιήσαμε, εκφρασμένες ως μαλβιδίνη. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους Πίνακες 6.1 και 6.2 για το Malbec και 7.1, 7.2 για το Αγιωργίτικο.



Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς μαλβιδίνης (HPLC)

Πίνακας 6.1.: Ποσοτικοποιήσεις στα δείγματα φλοιών και οίνου Malbec, ppm ισοδύναμης μαλβιδίνης, φλοιοί: mg/kg νωπού καρπού, οίνος: mg/L οίνου

	3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης (ppm)	Κουμαρυλιωμένος -3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης (ppm)	Συνολικές ανθοκυάνες (ppm)	3-γλυκοζίτης μαλβιδ / Συνολ. ανθοκ	Κουμαρ-γλυκ-μαλβ / Συνολ. ανθοκ
Φλοιοί	187,0±3,0	228,6±4,2	597,2±6,2	0,31	0,38
Οίνος	99,3±0,5	17,0±0,3	167,4±0,8	0,59	0,10

Πίνακας 6.2.: Ποσοτικοποιήσεις στα δείγματα φλοιών και οίνου Malbec, ppm ισοδύναμου γλυκοζίτη της μαλβιδίνης, φλοιοί: mg/kg νωπού καρπού, οίνος: mg/L οίνου

	3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης (ppm)	Κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης (ppm)	Συνολικές ανθοκυάνες (ppm)
Φλοιοί	298,8±4,8	365,3±6,7	954,3±9,9
Οίνος	158,7±0,8	27,2±0,5	267,5±1,3

Πίνακας 7.1.: Ποσοτικοποιήσεις στα δείγματα φλοιών και οίνου Αγιωργίτικο, ppm ισοδύναμης μαλβιδίνης, φλοιοί: mg/kg νωπού καρπού, οίνος: mg/L οίνου

	3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης (ppm)	Κουμαρυλιωμένος -3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης (ppm)	Συνολικές ανθοκυάνες (ppm)	3-γλυκοζίτης μαλβιδ / Συνολ. Ανθοκ.	Κουμαρ-γλυκ-μαλβ / Συνολ. ανθοκ
Φλοιοί	151,8±0,1	96,5±1,2	353,5±6,2	0,43	0,27
Οίνος	69,4±0,5	17,3±1,4	108,1±0,7	0,64	0,16

Πίνακας 7.2.: Ποσοτικοποιήσεις στα δείγματα φλοιών και οίνου Αγιωργίτικο, ppm ισοδύναμου γλυκοζίτη της μαλβιδίνης, φλοιοί: mg/kg νωπού καρπού, οίνος: mg/L οίνου

	3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης (ppm)	Κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης (ppm)	Συνολικές ανθοκυάνες (ppm)
Φλοιοί	242,6±0,2	154,2±1,9	564,9±9,9
Οίνος	110,9±1,6	27,6±2,2	172,7±1,1

Τα συμπεράσματα που βγαίνουν από τους Πίνακες 6 και 7, είναι ιδιαίτερα ενδιαφέροντα αφού παρουσιάζουν μια στατιστικά σημαντική διαφορά της ποικιλίας Malbec σε σχέση με το Αγιωργίτικο σε χρωστικές ουσίες (ανθοκυάνες), τόσο στους φλοιούς όσο και στον οίνο.

Πιο συγκεκριμένα, το Malbec περιέχει 69% περισσότερες ανθοκυάνες στους φλοιούς και 55% περισσότερες στον οίνο, σε σχέση με το Αγιωργίτικο. Όσον αφορά στους γλυκοζίτες της μαλβιδίνης, οι φλοιοί και ο οίνος Malbec περιέχουν 23% και 43% περισσότερο 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης αντίστοιχα, ενώ όσον αφορά στον κουμαρυλιωμένο-3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης, το Malbec περιέχει στους φλοιούς 37% περισσότερο από το Αγιωργίτικο. Στον οίνο αντίθετα, το περιεχόμενο των δύο οίνων στον κουμαρυλιωμένο γλυκοζίτη δεν παρουσιάζει στατιστικά κάποια διαφοροποίηση.

Συγκριτικά με τη διεθνή βιβλιογραφία, τα συμπεράσματα που βγάζουμε είναι ότι τα δείγματα με τα οποία ασχοληθήκαμε στην παρούσα εργασία, παρουσιάζουν παρόμοιο φαινολικό περιεχόμενο με αντίστοιχες μελέτες, ταυτόχρονα όμως κάπως μειωμένο. Για να γίνουν συγκρίσιμες οι τιμές μας με αυτές της διεθνούς βιβλιογραφίας, πραγματοποιήσαμε μετατροπές των μονάδων ppm σε ισοδύναμα γλυκοζίτη της μαλβιδίνης σύμφωνα με τη διαφορά του μοριακού βάρους των δύο φαινολικών ενώσεων ως προς τις οποίες πραγματοποιήθηκαν οι ποσοτικοποιήσεις (Πίνακες 6.2. και 7.2.). Πιο συγκεκριμένα, από τις συγκρίσεις, προκύπτει ότι το Malbec που μελετήσαμε παρουσιάζει μειωμένο περιεχόμενο σε συνολικές ανθοκυάνες, καθώς και στους δύο γλυκοζίτες της μαλβιδίνης ειδικότερα, σε σχέση με εκείνα που καλλιεργήθηκαν στην Αργεντινή [Fanzone et al., 2010]. Η περιεκτικότητα του οίνου σε ανθοκυάνες όπως αναλύθηκαν με την HPLC, φαίνεται στον Πίνακα 8:

Πίνακας 8: Οίνος Malbec, φαινολικό φορτίο [Fanzone et al., 2010]

	mg/L
3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης	189,9±42,9 – 408,8±149,5
κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης	19,3±8,5 – 31,8±14,6
Συνολικές ανθοκυάνες	319,9 – 763,2

Οδηγούμαστε λοιπόν στο συμπέρασμα ότι το Malbec που μελετήσαμε είναι πιο φτωχό σε ανθοκυάνες, σε σχέση με τον οίνο Malbec που καλλιεργείται στην Αργεντινή. Παρ' όλα αυτά, πρέπει να τονισθεί ότι οι οίνοι που μελετήθηκαν στη δημοσίευση που αναφέρεται, έχουν καλλιεργηθεί σε υψηλά υψόμετρα, από 750m έως 1450m. Όπως έχει αναφερθεί και στο θεωρητικό μέρος, το Malbec είναι μια ποικιλία που καλλιεργείται στην Αργεντινή σε μεγάλο υψόμετρο, διότι δίνει πολύ καλής ποιότητας οίνο και πολύ πλούσιο σε φαινολικά συστατικά γενικά και σε ανθοκυάνες ειδικότερα. Αντίθετα, το δείγμα Malbec που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία, καλλιεργήθηκε σε αρκετά χαμηλό υψόμετρο και πιο συγκεκριμένα στα 200-300m. Αυτό το στοιχείο θα μπορούσε ενδεχομένως να δικαιολογήσει την διαφορά αυτή μεταξύ των δύο μελετών.

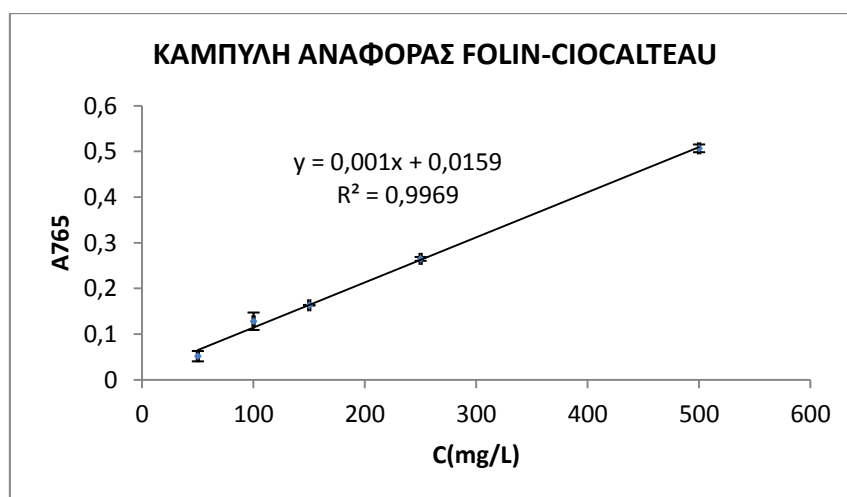
Αντίστοιχα, το Αγιωργίτικο που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία παρουσιάζει και αυτό μειωμένη περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες σε σχέση με τα στοιχεία που έχουμε από επιστημονικές δημοσιεύσεις. Πιο συγκεκριμένα, από άρθρο που ασχολήθηκε με τη φαινολική ανάλυση ελληνικών οίνων γενικά και με το Αγιωργίτικο ειδικά, με τη μέθοδο HPLC, λάβαμε τα εξής αποτελέσματα:

Πίνακας 9: Οίνος Αγιωργίτικο, φαινολικό φορτίο [Kallithraka et al., 2005]

	mg/L
κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης μαλβιδίνης	46,5±0,4
Συνολικές ανθοκυάνες	402,7

Τέλος, από τους Πίνακες 6 και 7, παρατηρούμε ότι ο 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη εκχυλισιμότητα από τον κουμαρυλιωμένο-3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης. Η διαπίστωση αυτή προκύπτει από το γεγονός ότι τα ποσοστά περιεκτικότητας σε 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης από τους φλοιούς στον οίνο είναι πιο αυξημένα από τα αντίστοιχα του κουμαρυλιωμένου. Η διαφορά αυτή δικαιολογείται από το γεγονός ότι οι εστερικές ενώσεις γενικότερα και άρα και ο κουμαρυλιωμένος-3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης ειδικότερα, είναι λιγότερο πολικές ενώσεις. Για τον λόγο αυτό δεν εκχυλίζεται στην αρχή της οινοποιητικής διαδικασίας, όπου το νερό επικρατεί κατά πολύ της αλκοόλης, αλλά παραλαμβάνεται τελευταίος και πάντα σε μικρότερο ποσοστό από τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις.

Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε και η μέθοδος Folin–Ciocalteu όπως αυτή περιγράφηκε στην πειραματική διαδικασία, για τον προσδιορισμό του συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων εκφρασμένων σε γαλλικό οξύ. Η καμπύλη αναφοράς που χρησιμοποιήθηκε, παρασκευάστηκε με γαλλικό οξύ και δίνεται στο Διάγραμμα 2.



Διάγραμμα 2: Καμπύλη Folin-Ciocalteu

Έτσι προκύπτουν τα εξής:

Πίνακας 10: Ποσοτικοποιήσεις στα δείγματα καρπών και οίνου Malbec, ppm ισοδύναμου γαλλικού οξέος στον καρπό, φλοιοί: mg/kg νωπού καρπού, οίνος: mg/L οίνου

	Ολικές Φαινόλες (ppm)	Ταννίνες (ppm)	Μη Ταννικές Φαινόλες (ppm)
Φλοιοί	2019±27	798±12	1221±10,6
Γίγαρτα	4223,9±192,2	3373±66	850,9±89,2
Σάρκα	0	0	0
Σύνολο σταφυλής	6242,9±116,8	4171±38,2	2071,9±55,6
Οίνος	2314±59	1837±71	477±8,5

Πίνακας 11: Ποσοτικοποιήσεις στα δείγματα καρπών και οίνου Αγιωργίτικο, ppm ισοδύναμου γαλλικού οξέος στον καρπό, φλοιοί: mg/kg νωπού καρπού, οίνος: mg/L οίνου

	Ολικές Φαινόλες (ppm)	Ταννίνες (ppm)	Μη Ταννικές Φαινόλες (ppm)
Φλοιοί	1102±14	138±22	964±5,7
Γίγαρτα	2894,9±213,8	2076±57	818,9±110,9
Σάρκα	0	0	0
Σύνολο σταφυλής	3996,9±141,3	2214±24,7	1782,9±38,1
Οίνος	2192±150	714±74	1478±53,7

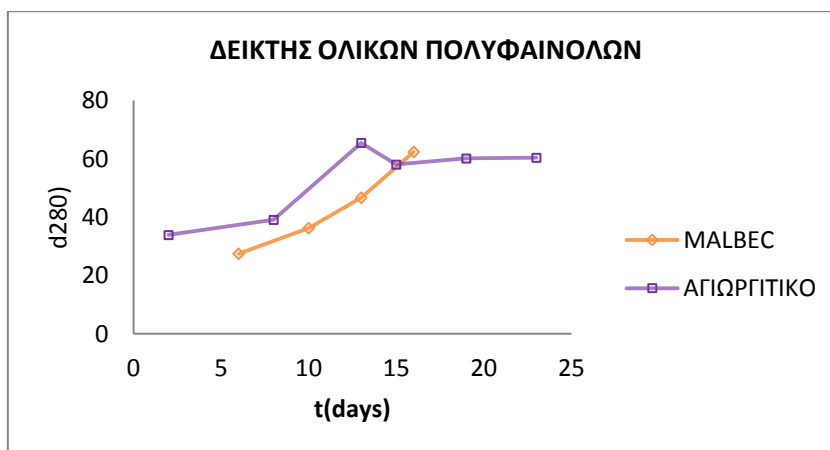
Από τους Πίνακες 10 και 11, παρατηρούμε την έντονη επικράτηση στο φαινολικό περιεχόμενο του Malbec σε σχέση με το Αγιωργίτικο, στα μορφολογικά μέρη του καρπού (φλοιοί, γίγαρτα). Πιο συγκεκριμένα έχουμε για τη σταφυλή, τα δείγματα είναι στατιστικά συγκρίσιμα και περιέχουν 56% περισσότερες ολικές φαινόλες στο Malbec καθώς και 88% περισσότερες ταννίνες. Για τις μη ταννικές φαινόλες, δεν μπορούμε να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα για τη διαφοροποίηση των δύο ποικιλιών, καθώς τα δείγματα δεν παρουσιάζουν στατιστικό συσχετισμό. Αντίστοιχα, στον οίνο οι δύο ποικιλίες εμφανίζουν στατιστικά παρόμοιες περιεκτικότητες σε ολικές φαινόλες, 157% περισσότερες ταννίνες στον οίνο Malbec και 210% περισσότερες μη ταννικές φαινόλες στο Αγιωργίτικο, καθώς και στις δύο περιπτώσεις τα δείγματα είναι στατιστικά συγκρίσιμα.

Συγκριτικά με τη διεθνή βιβλιογραφία, για το Malbec, οι τιμές τόσο για το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο, όσο και για το ταννικό, είναι της ίδιας τάξης μεγέθους. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με δημοσίευση που ασχολήθηκε με αναλύσεις στον οίνο Malbec από διάφορα μέρη της Αργεντινής [Fanzone et al., 2010], οι τιμές των ολικών φαινολών κυμαίνονται από 1932 έως 3507 mg/L εκφρασμένες ως γαλλικό οξύ. Οι τιμές που υπολογίστηκαν στην παρούσα εργασία, βρίσκονται εντός αυτού του εύρους τιμών (2314±59mg/L εκφρασμένα σε γαλλικό οξύ). Αντίστοιχα για το Αγιωργίτικο, συγκριτικά με εργασία πάνω στη συγκεκριμένη ποικιλία [Kallithraka, 2005], το περιεχόμενο σε ολικές φαινόλες που υπολογίσαμε είναι της ίδιας τάξης μεγέθους, με μικρή διαφορά (2192±150mg/L εκφρασμένα ως γαλλικό οξύ, έναντι 2283mg/L επίσης εκφρασμένα ως γαλλικό οξύ).

6.5 ΜΕΛΕΤΗ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

6.5.1 Δείκτης ολικών πολυφαινολών (d280)

Ο δείκτης ολικών πολυφαινολών αποτελεί μια γρήγορη και εύκολη ένδειξη των ολικών φαινολικών συστατικών που βρίσκονται στον οίνο. Όπως έχει αναφερθεί και στην πειραματική διαδικασία, υπολογίζεται από την απορρόφηση του ερυθρού οίνου (αραιωμένου 1/100 με νερό) σε μήκος κύματος 280nm. Η τιμή του δείκτη ολικών πολυφαινολών κυμαίνεται από 6 έως 120 [Ribereau-Gayon et al., 2006].



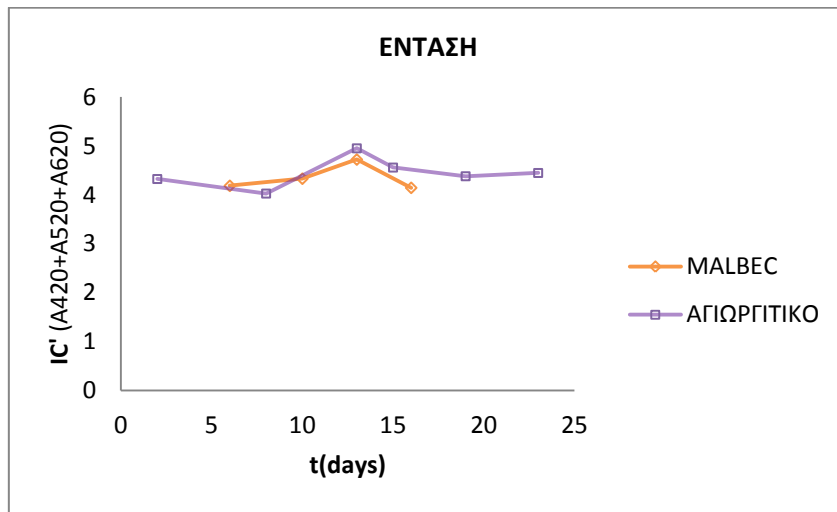
Διάγραμμα 3: Δείκτης ολικών πολυφαινολών συναρτήσει της διάρκειας οινοποίησης των οίνων Malbec και Αγιωργίτικο

Από το *Διάγραμμα 3*, παρατηρούμε ότι οι τιμές του δείκτη ολικών πολυφαινολών κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα στους οίνους των δύο ποικιλιών. Παρατηρείται μια έντονη άνοδος του δείκτη κατά τη διάρκεια της εκχύλισης-ζύμωσης (από 28 την πρώτη μέρα έως 62 την τελευταία για το Malbec και από 34 έως 60 για το Αγιωργίτικο). Η άνοδος αυτή του δείκτη οφείλεται στην αύξηση της περιεκτικότητας σε φαινόλες στον οίνο. Η κλίση της καμπύλης μάλιστα είναι πιο έντονη κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, περίοδος κατά την οποία εκχυλίζεται το μεγαλύτερο ποσοστό φαινολών στον οίνο, λόγω αύξησης του περιεχομένου σε αλκοόλη. Οι τιμές του δείκτη στα τελικά δείγματα οίνου των δύο ποικιλιών παρουσιάζουν σημαντική σύγκλιση (62 για το Malbec και 60 για το Αγιωργίτικο).

Συγκριτικά με παρόμοια μελέτη [Συμεού, 2010], που έγινε για το Αγιωργίτικο, ο δείκτης ολικών πολυφαινολών κυμαίνεται στον τελικό οίνο από 36 έως 41. Μπορούμε λοιπόν να συμπεράνουμε ότι η τιμή που λάβαμε για το τελικό δείγμα του οίνου (60,4), είναι αρκετά ικανοποιητική και μέσα στα πλαίσια τιμών που δίδονται στη διεθνή βιβλιογραφία για τον συγκεκριμένο δείκτη. Αντίστοιχα για το Malbec και σε σύγκριση με τις μελέτες των Béguin et al. και Berli et al. (2008), όπου η τιμή του δείκτη ολικών πολυφαινολών υπολογίστηκε 32,9-33,4, και 25 έως 42 αντίστοιχα, διαπιστώνουμε ότι το δείγμα οίνου Malbec που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία παρουσιάζει μεγάλη συγκριτικά περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες.

6.5.2 Ένταση (IC')

Η χρωματική ένταση μπορεί να παρουσιάσει μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών.



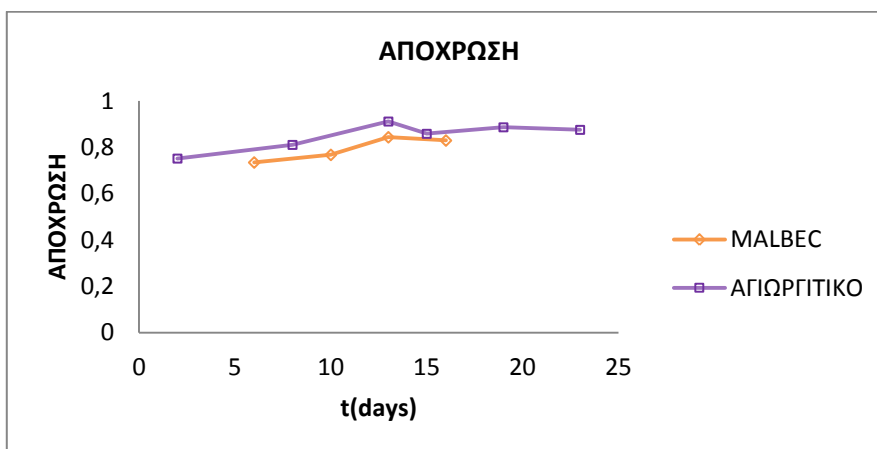
Διάγραμμα 4: Δείκτης έντασης χρώματος συναρτήσει της διάρκειας οινοποίησης των οίνων Malbec και Αγιωργίτικο

Η τιμές της έντασης των δύο ποικιλιών παρουσιάζουν σημαντική σύγκλιση (4,1 για το Malbec και 4,4 για το Αγιωργίτικο). Οι τιμές αυτές είναι αρκετά χαμηλές συγκριτικά με τη διεθνή βιβλιογραφία, όπου για μέτρια ερυθρούς οίνους η ένταση κυμαίνεται από 6 έως 10 και για βαθιά ερυθρούς από 10 και πάνω. Για τιμές 0 έως 6, οι οίνοι χαρακτηρίζονται ανοιχτόχρωμοι [Ribereau et al., 2006, Κουράκου, 1998, Συμέου, 2010]. Σε παρόμοια έρευνα μάλιστα που έγινε για το Αγιωργίτικο, οι τιμές της έντασης του χρώματός του κυμάνθηκαν από 11 έως 18. Για το Malbec στην βιβλιογραφία συναντάμε μεγάλες αποκλίσεις για το δείκτη της έντασης. Σε κάποιες δημοσιεύσεις [Fanzone et al., 2010], οι τιμές κυμαίνονται από 9 έως 25, ενώ σε κάποιες άλλες [Berli et al., 2008, Baldi et al., 1995] από 0,5 έως 2.

Παράλληλα, η μεταβολή του χρώματος κατά τη διάρκεια της εκχύλισης-ζύμωσης παρουσιάζει παρόμοια συμπεριφορά και για τις δύο ποικιλίες. Από το *Διάγραμμα 4* παρατηρούμε ότι η ένταση του χρώματος, παρουσίασε τη 13^η μέρα μια μέγιστη τιμή και μετά ελαττώθηκε. Η συμπεριφορά αυτή του δείκτη της έντασης είναι αναμενόμενη. Πιο συγκεκριμένα, η ένταση του χρώματος αυξάνεται πολύ γρήγορα στα πρώτα στάδια της εντατικής παραγωγής αιθανόλης κατά τη ζύμωση λόγω της σταδιακής εκχύλισης των ανθοκυανών από τα χυμοτόπια των κυττάρων των φλοιών και στη συνέχεια παρουσιάζει μια ελάττωση, λιγότερο ή περισσότερο απότομη. Η ελάττωση αυτή συμβαίνει όταν η αιθανόλη φτάσει σε ορισμένα επίπεδα. Τότε η εκχύλιση των ανθοκυανών έχει σχεδόν ολοκληρωθεί και αρχίζουν να ενεργοποιούνται διάφοροι μηχανισμοί οι οποίοι έχουν σαν αποτέλεσμα τη μείωση της συγκέντρωσής τους. Πρόκειται για την προσρόφηση των ανθοκυανών από τους φλοιούς των ραγών και τα κύτταρα των ζυμών, αλλά και την καταστροφή των έγχρωμων ενώσεων ταννινών - ανθοκυανών από τη σχηματιζόμενη αλκοόλη. Έτσι στην αρχή η ένταση του χρώματος φτάνει σε ένα μέγιστο, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να αυξηθεί ξανά σε επόμενο στάδιο λόγω επανασχηματισμού συμπλόκων ανθοκυανών - ταννινών [Κουράκου, 1998, Συμέου, 2010].

6.5.3 Απόχρωση

Η απόχρωση αντιπροσωπεύει την εξέλιξη του χρώματος προς το πορτοκαλί. Οι νέοι οίνοι παρουσιάζουν τιμές απόχρωσης της τάξης του 0,5-0,9.



Διάγραμμα 5: Δείκτης απόχρωσης συναρτήσει της διάρκειας οινοποίησης των οίνων Malbec και Αγιωργίτικο

Από το Διάγραμμα 5, παρατηρούμε ότι οι τιμές της απόχρωσης των δύο οίνων είναι της ίδιας τάξης μεγέθους (από 0,74 την 1^η μέρα οινοποίησης έως 0,83 την τελευταία για το Malbec και 0,75-0,88 αντίστοιχα για το Αγιωργίτικο). Οι τιμές αυτές βρίσκονται μέσα στα πλαίσια τιμών για τον συγκεκριμένο δείκτη. Με σύγκριση μάλιστα των τιμών της απόχρωσης Αγιωργίτικου με αντίστοιχη έρευνα [Συμέου, 2010], όπου οι τιμές του τελικού δείγματος οίνου υπολογίστηκαν από 0,61 έως 0,82, παρατηρούμε ότι το δείγμα Αγιωργίτικου που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία παρουσιάζει τιμές της ίδιας τάξης μεγέθους μεν, λίγο αυξημένες δε.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι δύο ποικιλίες Malbec και Αγιωργίτικο που αναλύθηκαν, παρουσιάζουν παρόμοιο φαινολικό προφίλ, τόσο όσον αφορά στη φύση των ανθοκυανών που ανιχνεύθηκαν, όσο και στα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά.

Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των δύο ποικιλιών, διαπιστώθηκε ότι ο καρπός του Αγιωργίτικου είναι μεγαλύτερος και πιο βαρύς κατά 25% και 54% αντίστοιχα από τον καρπό του Malbec.

Από τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με την HPLC, διαπιστώθηκε ότι το μορφολογικό μέρος του καρπού που είναι πολύ πλούσιο σε ανθοκυάνες και ευθύνεται για το χρώμα του τελικού οίνου, είναι οι φλοιοί. Προσδιορίστηκαν παράλληλα οι ανθοκυάνες που βρίσκονται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα στους φλοιούς και στο κρασί. Αυτές είναι ο 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης και ο κουμαρυλιωμένος γλυκοζίτης της μαλβιδίνης. Αντίστοιχα, τα γίγαρτα είναι πολύ

πλούσια σε ταννίνες, ενώσεις που προσδίδουν τη χαρακτηριστική στυφάδα στο κρασί. Για τα γίγαρτα των δύο ποικιλιών προσδιορίστηκε η ανθοκυανιδίνη που αποτελεί το μονομερές των ταννινών και βρέθηκε ότι είναι η κυανιδίνη. Οι σάρκες αντίθετα περιέχουν μηδενικό φαινολικό φορτίο.

Σύμφωνα με τις ποσοτικοποιήσεις που πραγματοποιήθηκαν για τις δύο ποικιλίες, διαπιστώσαμε ότι τόσο ο οίνος, όσο και ο καρπός Malbec, είναι πιο ενδυναμωμένος ως προς το φαινολικό περιεχόμενο, από το Αγιωργίτικο. Πιο συγκεκριμένα, το Malbec περιέχει 69% περισσότερες συνολικές ανθοκυάνες στους φλοιούς και 55% περισσότερες στον οίνο, σε σχέση με το Αγιωργίτικο. Όσον αφορά στις ολικές φαινόλες, οι δύο οίνοι παρουσιάζουν στατιστικά παρόμοιες περιεκτικότητες.

Συγκριτικά με στοιχεία από τη διεθνή βιβλιογραφία, τα συμπεράσματα που προκύπτουν είναι ότι τα δείγματα με τα οποία ασχοληθήκαμε στην παρούσα εργασία, παρουσιάζουν κάπως μειωμένο φαινολικό περιεχόμενο με αντίστοιχες μελέτες, που ασχολήθηκαν με τις δύο αυτές ποικιλίες.

Κατά την ανάλυση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των δύο οίνων, που μελετήθηκαν σε δείγματα που ελήφθησαν σε διάφορα στάδια της οινοποιητικής διαδικασίας (δείκτης ολικών πολυφαινολών, ένταση και απόχρωση χρώματος), διαπιστώθηκε ότι τόσο οι τιμές όσο και οι μεταβολές των δεικτών είναι αναμενόμενες και μέσα στα πλαίσια τιμών που εμφανίζονται στη διεθνή βιβλιογραφία.

Τα στοιχεία που αναλύθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία, μπορούν να δώσουν μια πρώτη ένδειξη για τη δυνατότητα ή μη της καλλιέργειας της ποικιλίας Malbec στην Ελλάδα. Από τα αποτελέσματα διαπιστώνουμε ότι το δείγμα Malbec που μελετήθηκε, παρουσιάζει ένα φαινολικό προφίλ πλουσιότερο από το Αγιωργίτικο, που θα μπορούσε να οδηγήσει σε ένα πολύ ποιοτικό κρασί. Το Malbec εξάλλου χαρακτηρίζεται τόσο για το εξαιρετικό αρωματικό γευστικό και χρωματικό του προφίλ, όσο και ως κατάλληλο κρασί για την ενδυνάμωση αδύναμων οίνων. Αυτό είναι και ένα στοιχείο που μπορεί να συμπεριλάβει το Malbec στις ελληνικές καλλιέργειες αμπέλων.

Παρ' όλα αυτά, θα πρέπει να μελετηθούν οι συνθήκες καλλιέργειας και οινοποίησης του που θα ήταν οι βέλτιστες για την παραγωγή ενός ποιοτικού οίνου. Πιο συγκεκριμένα, στην εργασία αυτή, μέσα από διεθνείς δημοσιεύσεις και έρευνες για την ποικιλία Malbec, παρατηρήσαμε ότι το πιο πλούσιο πολυφαινολικό περιεχόμενο εμφανίζεται σε περιοχές με μεγάλο υψόμετρο (1000-1500m). Για τον λόγο αυτό θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι το δείγμα Malbec που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία (καλλιεργημένο στα 200-300m υψόμετρο), παρουσίασε αρκετά μειωμένο φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με άλλες παρόμοιες μετρήσεις για την ποικιλία αυτή συγκριτικά με τη διεθνή βιβλιογραφία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Anastasiadi Maria, Harris Pratsinis, DimitrisKletsas, Alexios-LeandrosSkaltsounis, Serkos A. Haroutounian, Bioactive non-coloured polyphenols content of grapes, wines and vinification by-products: Evaluation of the antioxidant activities of their extracts

Baldi A., Romani A., Mulinacci N, Vincieri F and Casetta B, HPLC/MS Application to Anthocyanins of *Vitis vinifera* L., 1995

Béguin J., Cuinier C., Guyot F., Bruetschy A, Morard J.Y., Hygiene stricte des equipements et qualite des vins

Berli Federico, José D'angelo, Bruno Cavagnaro, Rubén Bottini, Rodolfo Wuilloud, M. Fernanda Silva, Phenolic Composition in Grape (*Vitisvinifera* L. cv. Malbec) Ripened with Different Solar UV-B Radiation Levels by Capillary Zone Electrophoresis

Bravo Laura, Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, Nutrition Reviews 1998

Casazza A., Bahar Aliakbarian, Stefano Mantegna, Giancarlo Cravotto, PatriziaPerego, journal of food engineering, Extraction of phenolics from *Vitisvinifera* wastes using non-conventional techniques, 2010

ChangmouXu, Yali Zhang, Lei Cao, Jiang Lu -Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China - College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing China, Center for Viticulture and Small Fruit Research, Florida Agricultural and Mechanical University of Tallahassee

Fanzone Martin, Alvaro Pena-Neira, VivianaJofre, MarielaAssof, Fernando ZamoraJournal of Agricultural and food chemistry, Phenolic Characterization of Malbec Wines from Mendoza Province (Argentina), Bakker, J. Timberlake, C. Isolation, identification and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines, J. Agric. Food Chem. 1997

Giusti, M. M., Wrolstad, R. E., Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy, 2001

Greenrod W., C.S. Stockley, P. Burcham, M. Abbey and M. Fenech, Moderate acute intake of de-alcoholised red wine, but not alcohol, is protective against radiation-induced DNA damage ex vivo—Results of a comparative in vivo intervention study in younger men, Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2005

Guendez Ramila, Stamatina Kallithraka, Dimitris P. Makris, Panagiotis Kefalas An Analytical Survey of the Polyphenols of seeds of Varieties of Grape (*Vitis vinifera*) cultivated in Greece: Implications for exploitation as a Source of Value-added phytochemicals

Highbush Blueberry, Concepción Sánchez-Moreno, Guohua Cao, Boxin Ou, Ronald L. Prior, Journal of Agricultural and food chemistry, Anthocyanin and Proanthocyanidin Content in Selected White and Red Wines. Oxygen Radical Absorbance Capacity. Comparison with Nontraditional Wines Obtained

Ivanova Violeta, Marina Stefova, Fabio Chinnici, Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods

Jingjing Ye, Elizabeth T. Eng., Dudley Williams, Sheryl Phung, Roger E. Moore, Mary K. Young, Ugis Gruntmanis, Glenn Braunstein, Shuan Chen, Suppression of estrogen biosynthesis by procyanidin dimers in red wine and grape seeds, Cancer research, December 2003

Kallithraka S., E. Tsoutsouras, E. Tzourou, P. Lanaridis, Principal phenolic compounds in Greek red wines, Food Chemistry, 2006

Karatzis P., Papamichael C., Aznaouridis K., Karatzis E., Lekakis J., Matsouka C., Boskou G., Chiou A., Sitara M., Feliou G., Kontoyannis P., Zampelas A., Mavridakis M., Constituents of red wine other than alcohol improve function in patients with coronary artery disease, Concor. Artery Dis 2004

Lafka Theodora-Ioanna, Vassilia Sinanoglou, Evangelos S. Lazos, On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes, 2007

Manhita Ana C., Dora M. Teixeira, Cristina T. da Costa. 2006. Application of sample disruption methods in the extraction of anthocyanins from solid or semi-solid vegetable samples, Journal of Chromatography A

Mulinacci Nadia, Marzia Innocenti, Anna Rita Santamaria, Giancarlo la Marca, Gabriella Pasqua, High-performance liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometric investigation of stilbenoids in cell cultures of *Vitis vinifera* L., cv. Malvasia

Novakovic Aleksandra, Ljiljina Gojkovic-Bucarica, Dusan Nezic, Bosko Djukavonic, Jasmina Marcovic-Lipkovic, Helmut Heinle, The mechanism of endothelium-independent relaxation induced by the wine polyphenol resveratrol in human internal mammary artery, J Pharmacol Science

Pomar, F., Novo, M. and Masa, A.. 2005. Varietal differences among the anthocyanin profiles of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography, Journal of Chromatography

Quan Zhao, Chang-Qing Duan, Jun Wang, Anthocyanins Profile of Grape Berries of *Vitis amurensis*, Its Hybrids and Their Wines

Renaud S., M. de Lorgeril, Wine, alcohol and French paradox for coronary heart disease, The Lancet, June 1992

Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A. and Dubourdieu D., Handbook of Enology vol.2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments, 2006

Torresa C., M.C. Diaz-Marotoa, I. Hermosin-Gutierrezc, M.S. Perez-Coello, Effect of freeze-drying and oven-drying on volatiles and phenolics composition of grape skin

Waterhouse Andrew L., Wine Phenolics, Department of Viticulture and Enology, University of California, USA, 2002

Webb Penelope, David M. Purdie, Christopher J. Bain, Adele C., Green alcohol, Wine and risk of epithelial ovarian cancer, Cancer epidemiology biomarkers and prevention, April 2004

Weisse ME, Eberly B, Person DA, Wine as a digestive aid: comparative antimicrobial effects of bismuth salicylate and red and white wine, PubMed, 1995

Zan-Min Jin, Jian-Jun He, He-Qiong Bi, Xiang-Yun Cui and Chang-Qing Duan, Phenolic Compound Profiles in Berry Skins from Nine Red Wine Grape Cultivars in Northwest China - Centre for Viticulture and Enology, College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing China

Zoecklein Bruce W., Kenneth C. Fugelsang, Barry H. Gump, Fred S. Nury, Wine analysis and production, Kluwer academic/plenum publishers, N.Y 1999

Δρόσου Ευφροσύνη Γ., Η επίδραση της άρδευσης στα φαινολικά συστατικά σταφυλιών και οίνων της ποικιλίας Αγιωργίτικο (*Vitis Vinifera L.*), μεταπτυχιακή διατριβή, Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 2010

Ένωση οινοπαραγωγών του αμπελώνα της Βορείου Ελλάδος Α.Ε., Μελέτη «Επαναπροσδιορισμός των Ζωνών Ο.Π.Α.Π. Νάουσας και Γουμένισσας», Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας, Διαδημοτικό ΕΠΤΑ

Κουράκου-Δραγώνα Σ., Θέματα Οινολογίας, Τροχαλία, Αθήνα 1998

Μυλωνά Κατερίνα, Μελέτη Μεταβολών των Ποιοτικών Χαρακτηριστικών κατά τη Ζύμωση και Ωρίμανση του Οίνου, 2011

Σουφλερός Ηρ. Ευάγγ., Οινολογία, επιστήμη και τεχνογνωσία, τόμος I και II, Θεσσαλονίκη 2000

Συμεού Ε., Μελέτη των φαινολικών συστατικών σταφυλιών και οίνου, Χίου και Νεμέας και της επίδρασης των ενζύμων και άλλων παραμέτρων σε αυτά, Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα 2010

Τσακίρης Αργύρης, Ελληνική οινογνωσία, εκδόσεις Ηνίοχος, Αθήνα 1995

Τσακίρης Αργύρης, οινολογία – από το σταφύλι στο κρασί, έκδοσεις τρόφιμα και ποτά, Αθήνα 1988

Τσακίρης Αργύρης, Οινολογία, εκδόσεις Ψυχάλου, Αθήνα 1994

ΔΙΚΤΥΑΚΟΙ ΤΟΠΟΙ

Αναφέρονται ως παραπομπή με την απεικόνιση: [αριθμός*]

1. Βιοτεχνικό Επιμελητήριο Πειραιά ,
http://www.bep.gr/index.php?option=com_frontpage&Itemid=47
2. Δικτυακός τόπος οινοποιείου οικ. Σαμαρτζή, Samartzisvineyards,
<http://www.samartziswines.gr>
3. www.comoutos.gr
4. www.pelopnet.gr
5. <http://www.nataliemaclean.com/glossary/>
6. http://www.winepros.org/wine101/grape_profiles/malbec.htm
7. <http://www.winesofargentina.org/en/vino/malbec-torrontes/malbec/>
8. <http://www.trapiche.com.ar/english/malbec.html>
9. [http://www.scribd.com/doc/2272849/-](http://www.scribd.com/doc/2272849/)
10. <http://www.wines.gr/portal/el/poikilia/%CE%B1%CE%B3%CE%B9%CF%89%CF%81%CE%B3%CE%B7%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%BF-agiorgitiko>
11. <http://pikilies.blogspot.com/>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Folin-Ciocalteu

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	9740641	1	9740641	21129,37	0,000047
"Var2"	840889	1	840889	1824,05	0,000548
Error	922	2	461		

ΦΛΟΙΟΙ

Ολικές φαινόμελες: ξεχωριστά και συγκρίσιμα δείγματα

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 461,00, df = 2,0000

	Var2	Var1	1	2
2	2	1102,000	****	
1	1	2019,000		****

Ταννίνες: ξεχωριστά και συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	874225,0	1	874225,0	2797,520	0,000357
"Var2"	435600,0	1	435600,0	1393,920	0,000717
Error	625,0	2	312,5		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 312,50, df = 2,0000

	Var2	Var1	1	2
2	2	137,5000	****	
1	1	797,5000		****

Μη ταννικές φαινόμελες: ξεχωριστά και συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	4778596	1	4778596	6283,492	0,000159
"Var2"	66049	1	66049	86,849	0,011319
Error	1521	2	761		

2	964,500	****	
1	1221,500		****

ΓΙΓΑΡΤΑ

Ολικές φαινόμελες: ξεχωριστά και συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	50678025	1	50678025	1225,815	0,000815
"Var2"	1766640	1	1766640	42,732	0,022611
Error	82685	2	41342		

2	2894,850	****	
1	4224,000		****

Ταννίνες: ξεχωριστά και συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	29697050	1	29697050	7715,022	0,000130
"Var2"	1680912	1	1680912	436,686	0,002282

Error	7698	2	3849		
--------------	------	---	------	--	--

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 3849,2, df = 2,0000

	Var2	Var1	1	2
2	2	2076,500	****	
1	1	3373,000		****

Μη ταυτικές φαινόλες: μη συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	2786729	1	2786729	60,93553	0,016018
"Var2"	1066	1	1066	0,02331	0,892665
Error	91465	2	45732		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 45732,, df = 2,0000

	Var2	Var1	1
2	2	818,3500	****
1	1	851,0000	****

ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΚΑΡΠΟΣ

Ολικές φαινόλες: ξεχωριστά και συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	104854528	1	104854528	2643,948	0,000378
"Var2"	5045190	1	5045190	127,216	0,007769
Error	79317	2	39658		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 39658,, df = 2,0000

	Var2	Var1	1	2
2	2	3996,850	****	
1	1	6243,000		****

Ταννίνες: ξεχωριστά και συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	40761840	1	40761840	11001,10	0,000091
"Var2"	3827892	1	3827892	1033,10	0,000967
Error	7410	2	3705		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 3705,2, df = 2,0000				
	Var2	Var1	1	2
2	2	2214,000	****	
1	1	4170,500		****

Μη ταννικές φαινόμελες: μη συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	14863724	1	14863724	307,7817	0,003233
"Var2"	83897	1	83897	1,7372	0,318203
Error	96586	2	48293		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 48293,, df = 2,0000				
	Var2	Var1	1	
2	2	1782,850	****	
1	1	2072,500	****	

ΟΙΝΟΣ

Ολικές φαινόμελες: μη συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	20308542	1	20308542	1549,531	0,000645
"Var2"	14762	1	14762	1,126	0,399769
Error	26213	2	13106		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 13106,, df = 2,0000

	Var2	Var1	1
2	2	2192,500	****
1	1	2314,000	****

Ταννίνες: συγκρίσιμα και ξεχωριστά δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	6505050	1	6505050	1237,584	0,000807
"Var2"	1262252	1	1262252	240,143	0,004138
Error	10513	2	5256		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 5256,3, df = 2,0000

	Var2	Var1	1	2
2	2	713,500	****	
1	1	1837,000		****

Μη ταννικές φαινόμελες: ξεχωριστά και συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	3825936	1	3825936	113,3779	0,008705
"Var2"	1004004	1	1004004	29,7527	0,032006
Error	67490	2	33745		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 33745,, df = 2,0000

	Var2	Var1	1	2
1	1	477,000	****	
2	2	1479,000		****

HPLC

ΦΛΟΙΟΙ

3-γλυκοζιτης της μαλθιδίνης: συγκρίσιμα και ξεχωριστά δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	104393,6	1	104393,6	8048,852	0,000124
"Var2"	380,3	1	380,3	29,318	0,032458
Error	25,9	2	13,0		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 12,970, df = 2,0000				
	Var2	Var1	1	2
2	2	151,8000	****	
1	1	171,3000		****

Κουμαρυλιωμένος γλυκοζιτης της μαλθιδίνης: συγκρίσιμα και ξεχωριστά δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	93086,01	1	93086,01	2766,300	0,000361
"Var2"	12566,41	1	12566,41	373,445	0,002667
Error	67,30	2	33,65		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 33,650, df = 2,0000				
	Var2	Var1	1	2
2	2	96,5000	****	
1	1	208,6000		****

Συνολικές ανθοκυάνες: συγκρίσιμα και ξεχωριστά δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	903830,5	1	903830,5	11756,38	0,000085
"Var2"	59389,7	1	59389,7	772,50	0,001292
Error	153,8	2	76,9		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 76,880, df = 2,0000

	Var2	Var1	1	2
2	2	353,5000	****	
1	1	597,2000		****

ΟΙΝΟΣ

3-γλυκοζίτης της μαλθιδίνης: συγκρίσιμα και ξεχωριστά δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	28476,56	1	28476,56	19208,47	0,000052
"Var2"	891,02	1	891,02	601,03	0,001660
Error	2,96	2	1,48		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 1,4825, df = 2,0000

	Var2	Var1	1	2
2	2	69,45000	****	
1	1	99,30000		****

Κουμαρυλιωμένος γλυκοζίτης της μαλθιδίνης: μη συγκρίσιμα δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	1176,490	1	1176,490	1131,240	0,000883
"Var2"	0,090	1	0,090	0,087	0,796347
Error	2,080	2	1,040		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:
Between MS = 1,0400, df = 2,0000

	Var2	Var1	1
1	1	17,00000	****
2	2	17,30000	****

Ολικές ανθοκυάνες: συγκρίσιμα και ξεχωριστά δείγματα

Univariate Tests of Significance for Var1 (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	83088,06	1	83088,06	860,6372	0,001160
"Var2"	4428,90	1	4428,90	45,8752	0,021110
Error	193,08	2	96,54		

Duncan test; variable Var1 (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 96,542, df = 2,0000				
	Var2	Var1	1	2
2	2	110,8500	****	
1	1	177,4000		****