



**Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων  
Σχολή Θετικών Επιστημών  
Τμήμα Χημείας  
Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων**

## **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Επίδραση του σεληνίου στην οξείδωση λευκών οίνων**



**Αποστολία Α. Σουλτσιώτου  
Χημικός  
Ιωάννινα 2023**



## *Ευχαριστίες*

*Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλλαν στην εκπόνησή της.*

*Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέπων καθηγητή μου, κύριο Ιωάννη Ρούσση, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αναθέτοντάς μου το συγκεκριμένο θέμα, την επιστημονική του καθοδήγηση, τις υποδείξεις του και το αμείωτο ενδιαφέρον που έδειξε από την αρχή μέχρι το τέλος.*

*Επίσης, ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στις μεταπτυχιακές και διδακτορικές φοιτήτριες του εργαστηρίου τροφίμων του κυρίου Ιωάννη Ρούσση και ιδιαίτερα στην Μαριάνθη Δημητρίου, Ιωάννα Κουκουλάκη και Σοφία Χλη για τη συνεχή υποστήριξη και βοήθειά τους, καθ' όλη τη διάρκεια της ερευνητικής διαδικασίας.*

*Τέλος, θα ήθελα εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου και στους φίλους μου για όλη τη στήριξη, τη συμπαράσταση και την κατανόησή τους, καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.*

# Περιεχόμενα

<i>Ευχαριστίες</i> .....	3
<b>Περίληψη</b> .....	7
<b>Abstract</b> .....	8
<b>Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>: Χημική σύσταση του κρασιού και του γλεύκους</b> .....	9
1.1. <b>Οργανικά οξέα</b> .....	9
1.2. <b>Ιδιότητες και περιεκτικότητα των διαφόρων οξέων του κρασιού</b> .....	9
1.3. <b>Πτητική οξύτητα του κρασιού</b> .....	11
1.4. <b>Ολική και ενεργός οξύτητα (pH)</b> .....	12
1.5. <b>Οι αλκοόλες του κρασιού</b> .....	13
1.5.1. <b>Αλκοόλες που προέρχονται από μεταβολισμούς που προκαλούν οι ζύμες</b> .....	13
1.5.2. <b>Πολυαλκοόλες που προέρχονται από τα σάκχαρα</b> .....	14
1.6. <b>Τα σάκχαρα του γλεύκους και του κρασιού</b> .....	15
1.7. <b>Αζωτούχα συστατικά του κρασιού</b> .....	16
1.8. <b>Το CO<sub>2</sub> (διοξείδιο του άνθρακα ή ανθρακικός ανυδρίτης) στο κρασί</b> .....	16
1.9. <b>Φαινολικά συστατικά του κρασιού</b> .....	17
1.9.1. <b>Φαινολικά οξέα και φλαβονοειδείς φαινόλες</b> .....	17
1.10. <b>Χρήση θειώδη ανυδρίτη στη συντήρηση του κρασιού</b> .....	18
<b>Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>: Η Αμπελουργία στον Νομό Ιωαννίνων</b> .....	19
2.1. <b>Ηπειρωτικά αμπελοτόπια</b> .....	19
2.2. <b>Εξέλιξη και διάρθρωση της αμπελουργίας στην περιοχή της Ζίτσας</b> .....	20
2.3. <b>Εξέλιξη και διάρθρωση της αμπελουργίας στην περιοχή του Μετσόβου</b> .....	22
2.4. <b>Η οινοποιητική παραγωγική διαδικασία</b> .....	23
2.5. <b>Οι ποικιλίες Chardonnay και Traminer Zoinos Winery, Ορεινές Διαδρομές 2020 και Traminer Κατώγι Αβέρωφ, Alba di Munte</b> .....	25
<b>Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>: Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών</b> .....	27
3.1. <b>Γενικά για τα αντιοξειδωτικά</b> .....	27
3.2. <b>Η Διάκριση των Αντιοξειδωτικών</b> .....	28
3.3. <b>Το Σελήνιο</b> .....	29
3.4. <b>Η Δράση των Αντιοξειδωτικών</b> .....	30
3.5. <b>Οι Αντιοξειδωτικές ουσίες του Οίνου</b> .....	31
3.5.1. <b>Οι Φαινόλες</b> .....	32
3.5.2. <b>Οι Φλαβονόλες</b> .....	34

3.5.3 Υδροξυ-κινναμωμικά .....	36
3.5.4 Ο-διφαινόλες .....	38
3.5.5. Τα Χρωματικά Χαρακτηριστικά του Οίνου .....	39
3.6. Τα αντιοξειδωτικά στα Σταφύλια .....	40
3.7. Πολυφαινόλες από το Σταφύλι στο Κρασί .....	41
3.8. Η Επίδραση του Κρασιού στην Ανθρώπινη Υγεία .....	42
Κεφάλαιο 4 <sup>ο</sup> : Μέθοδοι μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας .....	50
4.1. Μέθοδος Frap .....	50
4.2. Μέθοδος Folin – Ciocalteu (FC).....	51
4.3. Μέθοδος ORAC.....	53
4.4. Μέθοδος DPPH.....	55
Κεφάλαιο 5 <sup>ο</sup> : Υλικά Και Μέθοδοι .....	58
Σκοπός του πειράματος.....	58
5.1. Υλικά .....	58
5.1.1. Οίνοι πειράματος .....	58
5.1.2. Αντιδραστήρια .....	58
5.1.3. Παρασκευή Αντιδραστηρίων –Διαλυμάτων .....	59
5.1.4. Όργανα.....	61
5.2. Μέθοδοι .....	62
5.2.1. Βασικές μέθοδοι ανάλυσης οίνου .....	62
5.2.2. Χρωματικά Χαρακτηριστικά Οίνων .....	65
5.2.3. Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών.....	65
5.2.4. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης .....	67
5.3. Ανάλυση πτητικών με Αέρια χρωματογραφία-Φασματομετρία μάζας (GC-MS) .....	68
5.4. Πειραματική πορεία προσθήκης σεληνίου στο κρασί.....	69
5.5. Οργανοληπτική αποτίμηση δειγμάτων κρασιού.....	71
Κεφάλαιο 6 <sup>ο</sup> : Αποτελέσματα και Συζήτηση.....	72
6.1. Βασική σύσταση οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020.....	72
6.2. Επίδραση σεληνίου στην οξείδωση και ποιότητα του οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 .....	73
6.3. Βασική σύσταση οίνου ποικιλίας Traminer 2020.....	83
6.4. Επίδραση σεληνίου στην οξείδωση και ποιότητα του οίνου ποικιλίας Traminer 2020 .....	84
Κεφάλαιο 7 <sup>ο</sup> : Συμπεράσματα .....	94

<b>Κεφάλαιο 8<sup>ο</sup>: Βιβλιογραφικές Αναφορές.....</b>	<b>95</b>
<b>8.1. Ελληνόγλωσσες.....</b>	<b>95</b>
<b>8.2. Ξενόγλωσσες .....</b>	<b>95</b>
<b>8.3. Ιστοσελίδες.....</b>	<b>99</b>

## Περίληψη

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία πραγματεύεται την επίδραση του σεληνίου μετά την εμφιάλωση των οίνων, ως προς την προστασία των φαινολικών και αρωματικών συστατικών λευκών οίνων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικοί εμφιαλωμένοι λευκοί ξηροί οίνοι, όπου επεξεργάστηκαν με διάφορες συγκεντρώσεις σεληνίου προς διαφοροποίηση των τεσσάρων τελικών δειγμάτων ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους 20°C και οι μετρήσεις που ακολούθησαν πραγματοποιήθηκαν σε χρόνο εικοσιπέντε ημερών με τρεις επαναλήψεις στον κάθε οίνο. Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στον δείκτη Browning (απορρόφηση στα 420nm), στα αρωματικά και φαινολικά συστατικά των προϊόντων, στην αντιοξειδωτική τους ικανότητα, καθώς και στις πτητικές ενώσεις. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αναλύθηκαν με τη μέθοδο ANOVA σε σύγκριση ζευγών ώστε να εκτιμηθούν οι αποκλίσεις μεταξύ των δειγμάτων.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το σελήνιο στη μεγαλύτερη συγκέντρωση προσφέρει αντιοξειδωτική προστασία και στους δύο οίνους που μελετήθηκαν κατά τη διατήρησή τους στους 20°C για εικοσιπέντε ημέρες. Αυτό προκύπτει από το ότι η απορρόφηση στα 420 nm (Δείκτης Browning) αύξανε σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με τον μάρτυρα όσο και με τα υπόλοιπα δείγματα μικρότερης εξ αυτού συγκέντρωσης. Παράλληλα, τα επίπεδα των φλαβονολών, των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων και ο-διφαινολών ήταν υψηλότερα σε σχέση με τον μάρτυρα όσο και με τα υπόλοιπα δείγματα. Επιπρόσθετα, η αναγωγική ισχύς με τη μέθοδο Frap ήταν μεγαλύτερη τόσο σε σχέση με τον μάρτυρα όσο και σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα χαμηλότερης συγκέντρωσης και τα επίπεδα των εστέρων και των τερπενίων είναι υψηλότερα σε σχέση με τον μάρτυρα. Ο ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης δεν φάνηκε να επηρεάζεται με την προσθήκη σεληνίου, σε καμία από τις συγκεντρώσεις στις οποίες προστέθηκε, καθώς δεν υπήρχαν διαφοροποιήσεις μεταξύ των δειγμάτων. Τέλος, το σελήνιο στη μεγαλύτερη συγκέντρωση κατά την διατήρησή του στους 20°C φαίνεται να μειώνει την οργανοληπτική αλλοίωση των οίνων σε σύγκριση με τον μάρτυρα και τα υπόλοιπα δείγματα.

## **Abstract**

The present dissertation deals with the effect of selenium after bottling of wines, in terms of the protection of phenolic and aromatic constituents of white wines. For this purpose, two different bottled white dry wines were used, where they were treated with different concentrations of selenium to differentiate the four final samples in terms of their antioxidant capacity. The samples were stored in 20°C and the measurements that followed were performed over a period of twenty-five days with three repetitions in each wine. Particular attention was paid to the Browning index (absorption at 420nm), the aromatic and phenolic components of the products, their antioxidant capacity, as well as the volatile compounds. The results of the measurements were analyzed by the ANOVA method in comparison of pairs in order to assess the differences between the samples.

The results showed that selenium at the highest concentration offers antioxidant protection to both wines studied when kept at 20°C for twenty-five days. This results from the fact that the absorbance at 420 nm (Browning index) increased to a lesser extent in relation to the control as well as to the rest of the samples with a lower concentration. At the same time, the levels of flavanols, hydroxy-cinnamic acids and o-biphenols were higher compared to the control and to the other samples. In addition, the Frap reducing power was greater than both the control and the other lower concentration samples, and the levels of esters and terpenes are higher than the control. Free sulfuric anhydride did not appear to be affected by the addition of selenium at any of the concentrations at which it was added, as there were no differences between samples. Finally, selenium at the highest concentration during storage at 20°C seems to reduce the organoleptic deterioration of the wines compared to the control and the rest of the samples.



# Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>: Χημική σύσταση του κρασιού και του γλεύκους

## 1.1. Οργανικά οξέα

Ένα από τα βασικότερα συστατικά του σταφυλιού, αλλά και γενικότερα όλων των φρούτων, είναι τα οξέα, τα οποία και παίζουν κύριο ρόλο στη φρεσκάδα, στη γεύση και στην ποιότητα των κρασιών. Τα οξέα βρίσκονται σε μεγαλύτερες ποσότητες όταν τα σταφύλια είναι άγουρα και παράγονται απευθείας μέσα στις ρόγες του σταφυλιού, σε αντίθεση με τα σάκχαρα. Τα πιο σημαντικά οξέα του σταφυλιού είναι το τρυγικό οξύ, το μηλικό οξύ και το κιτρικό οξύ. Άλλα οξέα του σταφυλιού είναι το γαλακτουρονικό, το οξαλικό, το γλυκουρονικό και το ασκορβικό οξύ.

Στη διάρκεια της ζύμωσης του σταφυλιού, αλλά και μετά από αυτή, παράγονται επιπλέον οξέα με βασικότερα το γαλακτικό οξύ, το ηλεκτρικό οξύ, το διμεθυλο-2,3-γλυκερινικό οξύ και το κιτρομηλικό οξύ. Άλλα οξέα που παράγονται στη διάρκεια και μετά τη ζύμωση και χάριν σε αυτά έχουμε την πτητική οξύτητα είναι το προπιονικό, το μυρμηκικό, το βουτυρικό και το οξικό οξύ.

Μία από τις ασθένειες που προσβάλλει και τα σταφύλια είναι η μονίλια ή αλλιώς φαιά σήψη, που είναι ένας ασκομύκητας. Η ασθένεια αυτή αναπτύσσεται με γοργούς ρυθμούς, ενώ το τελικό στάδιό της είναι η μούμιοποίηση των καρπών. Όταν τα σταφύλια προσβληθούν από αυτόν τον ασκομύκητα, περιέχουν βλεννικό οξύ, γλυκονικό οξύ, κετο-2-γλυκονικό οξύ και δικετο-2,5-γλυκονικό οξύ.

## 1.2. Ιδιότητες και περιεκτικότητα των διαφόρων οξέων του κρασιού

Το τρυγικό οξύ ( $\text{COOH-CHOH-CHOH-COOH}$ ) είναι ένα φυσικό οργανικό καρβοξυλικό οξύ με χημικό τύπο  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$ . Είναι στερεό, άχρωμο και άοσμο κρυσταλλικό σώμα ή ακόμη και σε μορφή λευκής σκόνης και είναι το πιο σπουδαίο και ανθεκτικό οξύ που βρίσκεται στα σταφύλια αλλά και στο κρασί, σε συγκέντρωση από 1500-4500 mg/L ως  $\text{O}(-)$  ισομερές. Το τρυγικό οξύ βελτιώνει τη γεύση και λειτουργεί ως ρυθμιστής της οξύτητας δηλαδή του pH του κρασιού, ενώ το όνομά του οφείλεται στα άλατα (τρυγικά) που σχηματίζονται επάνω στα τοιχώματα των δεξαμενών όπου φυλάσσονται τα

κρασιά. Είναι το οξύ εκείνο που χαμηλώνει το pH και επομένως το κρασί είναι μακρύτερο, υγιεινότερο, με φρουτώδη αρώματα και λίγο πικάντικο.

Το μηλικό οξύ ( $\text{COOH-CHOH-CH}_2\text{-COOH}$ ) είναι ένα φυσικό οργανικό οξύ, με χημικό τύπο  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$  και βρίσκεται σε συγκέντρωση από 0-4000 mg/L ως D(-) ισομερές. Είναι στερεό κρυσταλλικό ή σε μορφή σκόνης, σε χρώμα υπόλευκο προς λευκό και έχει σημαντικά δραστικό ρόλο τόσο στη ζωντανή διεργασία των σταφυλιών, όσο και στο κρασί που παράγεται. Το μηλικό οξύ είναι ένα από τα οργανικά οξέα του σταφυλιού, το οποίο αυξάνει την οξύτητα του κρασιού, προέρχεται από τον μεταβολισμό των σακχάρων και βρίσκεται σε αφθονία κυρίως στα πράσινα μήλα, στα οποία μάλιστα οφείλει και το όνομά του, αλλά και στις ρώγες των σταφυλιών και βγάζει συνήθως αρώματα πράσινου μήλου. Αποτελεί το συστατικό του κρασιού στο οποίο οφείλεται η πικρή και σαν χόρτο γεύση από σταφύλια που δεν έχουν επαρκή ωρίμανση. Για να μαλακώσει και να μειώσει το κρασί την οξύτητά του διενεργούμε την μηλογαλακτική ζύμωση, που προκαλείται από γαλακτικά βακτήρια και η οποία μετατρέπει το μηλικό οξύ σε γαλακτικό οξύ. Ο μονοκύτταρος μύκητας *Schizosaccharomyces pombe* ή αλλιώς ζύμη σχάσης ή μαγιά σχάσης, είναι ένα είδος ζύμης που χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή ζυθοποιία και συγχρόνως με τη ζύμωση των σακχάρων δύναται να εξαλείψει το 1/3 από το μηλικό οξύ.

Το κιτρικό οξύ είναι ένα οργανικό τρικαρβοξυλικό οξύ με χημικό τύπο  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ , βρίσκεται σε συγκέντρωση από 0-500 mg/L και διατηρεί σταθερή περιεκτικότητα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Περιέχεται σε πολλά φρούτα, κυρίως όμως στα λεμόνια, στο ακτινίδιο και στις φράουλες. Αποτελεί ένα σπουδαίο φυσικό συντηρητικό που αποτρέπει την οξείδωση, ένα αρωματικό συστατικό παρόμοιο με αυτό της φλούδας λεμονιού, αλλά και έναν ρυθμιστή οξύτητας. Επειδή από τα γαλακτικά βακτήρια δύναται να μετατραπεί σε οξικό οξύ, συστήνεται να αποφεύγεται η προσθήκη του στο κρασί.

Το κιτρομηλικό οξύ είναι ένα δευτερεύον προϊόν που προέρχεται από και κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, μοιάζει σε μεγάλο βαθμό με το κιτρικό οξύ, δύναται να έρθει σε ζύμωση από τα γαλακτικά βακτήρια και βρίσκεται σε συγκέντρωση από 100-250 mg/L.

Το γαλακτικό οξύ ( $\text{CH}_3\text{CH(OH)CO}_2\text{H}$ ) είναι μία οργανική χημική ένωση, ένα στερεό λευκού χρώματος με χημικό τύπο  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ . Δεν υπάρχει στο σταφύλι, αλλά το απαντάμε σε αρκετά λευκά κρασιά και στα περισσότερα ερυθρά, γιατί το γαλακτικό οξύ είναι ένα

προϊόν μετατροπής του μηλικού οξέος μετά από ζύμωση που προκαλείται από τα γαλακτικά βακτήρια. Στη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης οι ζύμες δημιουργούν 200 mg/ID(-) γαλακτικό οξύ και 10-20mg/IL(+) γαλακτικό οξύ. Η διαδικασία της μηλογαλακτικής ζύμωσης, από όπου επίσης και δημιουργείται το γαλακτικό οξύ, σε διαφορετικές περιεκτικότητες, μειώνει την ολική οξύτητα και προσφέρει στο κρασί περισσότερα αρώματα και πιο απαλή και ήπια υφή.

Το ηλεκτρικό οξύ ή αλλιώς σουκινικό οξύ είναι ένα φυσικό οργανικό δικαρβοξυλικό οξύ, με χημικό τύπο  $C_4H_6O_4$ , με περιεκτικότητα από 500-1500 mg/L και είναι σε μορφή άχρωμης κρυσταλλικής σκόνης. Το ηλεκτρικό οξύ είναι και αυτό παράγωγο της αλκοολικής ζύμωσης, αλλά και της αναγωγής του μηλικού οξέος και προσφέρει εστέρες με αρώματα λουλουδιών. Απαντάται σε πολλά λαχανικά και φρούτα, όπως και στο ήλεκτρο, δηλαδή το γνωστό κεχρμπάρι, στο οποίο οφείλει και το όνομά του, δίνει μια αλμυρή και πικρή γεύση προσφέροντας έτσι μια πολυπλοκότητα στο κρασί, ενώ η κύρια χρήση του είναι ως ρυθμιστής της οξύτητας και ως βελτιωτικό της γεύσης.

Οι βιολογικής σημασίας υδατάνθρακες ονομάζονται και σάκχαρα, τα οποία παράγουν οξέα όπως για παράδειγμα το βλεννικό οξύ με συγκέντρωση από 0-500 mg/L, το γλυκουρονικό οξύ με συγκέντρωση από 0-600 mg/L, το γαλακτουρονικό οξύ με συγκέντρωση από 40-1000 mg/L και το γλυκονικό οξύ με συγκέντρωση από 0-200 mg/L. Τα δύο τελευταία οξέα, δηλαδή το γαλακτουρονικό και το γλυκονικό οξύ έχουν αναγωγικές ιδιότητες, δεν ζυμώνονται, δημιουργούν δεσμούς εάν προστεθούν με θειώδη ανυδρίτη και παραδίδουν με το ασβέστιο αδιάλυτα άλατα.

Εκτός από τα προαναφερόμενα οξέα που βρίσκονται στο κρασί, βρίσκονται επίσης και το κετογλυταρικό οξύ και το πυροσταφυλικό οξύ, το οποίο σχηματίζεται από τη ζύμωση σακχαρόζης.

### **1.3. Πτητική οξύτητα του κρασιού**

Η πτητική οξύτητα εκφράζει την ποσότητα του οξικού οξέος που περιέχεται σε ένα κρασί. Προέρχεται από το οξικό οξύ και δημιουργείται από βακτήρια που εμφανίζονται στο κρασί όταν αυτό έρθει σε επαφή με τον αέρα. Όλα τα κρασιά εμφανίζουν πτητική οξύτητα, η οποία εάν κυμαίνεται σε μικρές κανονικές δόσεις μεταξύ 0,30 και 0,40

γραμμάρια ανά λίτρο, είναι ευεργετική γιατί βελτιώνει τη γεύση του κρασιού. Η φυσική πτητική οξύτητα δίνει περίπου 200 mg/L οξικού οξέος και προκύπτει στη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης από τη δράση των ζυμών, αλλά και όταν στη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης το κιτρικό οξύ προσβληθεί από βακτήρια, όπου εδώ έχουμε 200-400 mg/L οξικό οξύ. Ακόμη, η πτητική οξύτητα δύναται να δημιουργηθεί από τη δράση αιθανόλης και οξικών βακτηρίων, αλλά και από τη χημική οξείδωση της αλκοόλης με την παρουσία αέρα.

Η πτητική οξύτητα στο κρασί είναι μία σπουδαία ποιοτική παράμετρος και ένα σημαντικό ποιοτικό κριτήριο του κρασιού, γιατί εξαρτάται από την παρουσία ή μη προσβολής των βακτηρίων και η εμφάνισή της σε μεγαλύτερα από τα κανονικά όρια υποβαθμίζει το κρασί και την ποιότητά του.

#### **1.4. Ολική και ενεργός οξύτητα (pH)**

Η οξύτητα είναι ο όρος για τη φρέσκια και ξινή γεύση που προέρχεται από τα φυσικά οργανικά οξέα που υπάρχουν στο κρασί (οξικό, τρυγικό, μηλικό, κιτρικό οξύ), είναι το στοιχείο αυτό που μας προσφέρει την αίσθηση της φρεσκάδας, του αρώματος και της έντασης του κρασιού, κάνοντας την γεύση του πιο αιχμηρή.

Στο κρασί και στον μούστο (γλεύκος) υπάρχουν ταυτόχρονα οργανικά και ανόργανα οξέα, ανιόντα ανόργανων οξέων και ανιόντα οργανικών οξέων και ιδίως οξέα χλωριούχα, θειικά και φωσφορικά.

Η ολική οξύτητα αντιστοιχεί στην ποσότητα των οξέων του μούστου και του κρασιού, εκφράζει δηλαδή το σύνολο των οξέων στο κρασί και στον μούστο (γλεύκος), άσχετα εάν αυτά τα οξέα είναι ή όχι σε διάσταση.

Η ενεργή οξύτητα (pH) εκφράζει την συνολική συγκέντρωση των κατιόντων υδρογόνου, είναι το σύνολο των πρωτονίων, των οξέων που είναι σε διάσταση. Η ενεργή οξύτητα (pH) είναι αυτή που μας δείχνει την δύναμη των οξέων ενός κρασιού και είναι η πραγματική οξύτητα, εφόσον αυτή μας κάνει να αντιληφθούμε στο στόμα το μέγεθος της οξύτητας ενός κρασιού.

Επομένως, η οξύτητα παίζει σπουδαίο ρόλο στην ποιότητα του κρασιού, διευκολύνει και ευνοεί το ταχύτερο καθάρισμα του κρασιού και την ορθότερη συντήρησή του. Η

σημασία της οξύτητας επηρεάζει δραστικά τον χαρακτήρα του οίνου, αποτελεί ένα από τα ουσιαστικότερα στοιχεία της δομής του και η σύστασή της επηρεάζει σημαντικότερα την ποιότητα του κρασιού.

## **1.5. Οι αλκοόλες του κρασιού**

Οι αλκοόλες, όπως και τα σάκχαρα και η γλυκερόλη, αποτελούν τα γλυκά συστατικά ενός κρασιού και είναι αυτά που αποδυναμώνουν ή και εξουδετερώνουν τη ξινή γεύση που έχουν τα οξέα, αλλά και την πικρή γεύση που έχουν οι φαινολικές ενώσεις.

Μετά το νερό, η αιθυλική αλκοόλη ή αλλιώς αιθανόλη, με χημικό τύπο  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  και σημείο ζέσεως (σημείο βρασμού) τους  $78,3^\circ\text{C}$ , είναι το σημαντικότερο συστατικό του κρασιού, αποτελώντας μάλιστα το 10-16% του όγκου του. Η αιθανόλη είναι ένα από τα βασικότερα προϊόντα που μας δίνει η αλκοολική ζύμωση.

Η μεθανόλη, με χημικούς τύπους  $\text{CH}_4\text{O}$  και  $\text{CH}_3\text{OH}$  και σημείο ζέσεως τους  $64,7^\circ\text{C}$ , είναι ένα φυσικό προϊόν που συνήθως παράγεται από και στη διάρκεια της ζύμωσης των φρούτων και είναι η πιο απλή αλκοόλη, μοιάζει δε στην οσμή με την αιθανόλη, αλλά είναι κάπως πιο γλυκιά από αυτή. Προέρχεται από την απομεθυλίωση των πηκτινών από τα πηκτινολυτικά ένζυμα, η δράση των οποίων ενισχύεται όταν το pH (ενεργή οξύτητα) είναι 4-5 και όταν η θερμοκρασία είναι  $30-35^\circ\text{C}$ . Στην και κατά τη διάρκεια της θερμοοινοποίησης, αλλά και της οινοποίησης σε ατμόσφαιρα  $\text{CO}_2$ , η περιεκτικότητα μεθανόλης στο κρασί αυξάνεται. Η περιεκτικότητα μεθανόλης, αφού δεν υπάρχει εκχύλιση, απαντάται σε πιο μικρές ποσότητες στα λευκά κρασιά σε 30-70 mg ανά λίτρο, ενώ στα ροζέ κρασιά σε 30-110 mg ανά λίτρο και τέλος στα ερυθρά κρασιά σε 70-150 mg ανά λίτρο.

### **1.5.1. Αλκοόλες που προέρχονται από μεταβολισμούς που προκαλούν οι ζύμες**

Μερικές από τις αλκοόλες του κρασιού που προέρχονται από τους μεταβολισμούς που προκύπτουν από τις ζύμες είναι :

- ▶ Η βουτανόλη-1, με περιεκτικότητα από 1 έως 8 mg ανά λίτρο.
- ▶ Η προπανόλη-1, με περιεκτικότητα από 4 έως 40 mg ανά λίτρο.

- ▶ Η μεθυλο-2-βουτανόλη-I, η οποία δεν έχει καθόλου ευχάριστη οσμή, σε συγκέντρωση αντίστοιχη με το 1/3 έως 1/4 αυτής της μέθυλο-3-βουτανόλης-1.
- ▶ Η μέθυλο-3-βουτανόλη-1, η οποία έχει και αυτή άσχημη οσμή, με περιεκτικότητα από 100 έως 400 mg ανά λίτρο.
- ▶ Η φαινυλο-2-αιθανόλη, που το άρωμά της σε διαλύματα ύδατος θυμίζει τριαντάφυλλο.
- ▶ Η τυροσόλη, που έχει μυρωδιά σαν μέλι .

Στο κάθε κρασί υπάρχουν και άλλες επιπλέον αλκοόλες εκτός αυτών που προαναφέραμε, όπως :

- ◆ Η βουτανοδιόλη-2,3 η οποία προέρχεται από και στη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, όπως άλλωστε και η ακετοΐνη.
- ◆ Η γλυκερόλη, που επίσης προέρχεται κυρίως στην αρχή, αλλά και στη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, με περιεκτικότητα από 5 έως 20 mg ανά λίτρο και η οποία περιέχεται στα γλυκά κρασιά που έχει γίνει αλκοολική ζύμωση.

Γενικότερα, όταν οι αλκοόλες του κρασιού υπάρχουν σε συνολική συγκέντρωση μεγαλύτερη των 450 mg ανά λίτρο, αυτό επηρεάζει αρνητικά το κρασί δίνοντάς του έντονη και καθόλου ευχάριστη μυρωδιά.

### **1.5.2. Πολυαλκοόλες που προέρχονται από τα σάκχαρα**

Μερικές από τις πολυαλκοόλες που περιέχονται στο κρασί και οι οποίες προέρχονται από τα σάκχαρα είναι :

- ➔ Η σορβιτόλη, η οποία είναι μια μορφή αλκοόλης σακχάρου που χρησιμοποιείται ως εναλλακτικό γλυκαντικό και είναι ένα από τα παράγωγα της γλυκόζης, με περιεκτικότητα έως 300 mg ανά λίτρο. Η σορβιτόλη παράγεται από το σιρόπι καλαμποκιού, είναι πολύ πιο γλυκιά από τη ζάχαρη κατά 60%, ενώ περιέχει μόνο το 60-66% των θερμίδων της.
- ➔ Η μανιτόλη, η οποία είναι ένας τύπος αλκοόλης σακχάρου που και αυτή χρησιμοποιείται ως γλυκαντικό χαμηλών θερμίδων και προκύπτει με απόδοση της μανόζης ή της φρουκτόζης, με περιεκτικότητα από 0,2 έως 1 mg ανά λίτρο.

Στην διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης οι ζύμες δημιουργούν 200 mg ανά λίτρο μανιτόλη.

- ➔ Η αραβιτόλη, η οποία προκύπτει από την αποικοδόμηση των σακχάρων στον κύκλο των πεντοζών.
- ➔ Η μεσοϊνοσιτόλη, η οποία προέρχεται από τα σταφύλια.
- ➔ Η ερυθριτόλη, η οποία είναι μια σακχαρο-αλκοόλη (αλκοόλη ζάχαρης) που δεν έχει καθόλου θερμίδες γιατί το σώμα δεν την μεταβολίζει, έχει παρόμοια γεύση και υφή με την ζάχαρη, είναι γλυκιά όσο η ζάχαρη σε ποσοστό 70-80%, χρησιμοποιείται ως γλυκαντικό και θεωρείται ένα ασφαλές υποκατάστατο της ζάχαρης δίχως αρνητικές συνέπειες στην υγεία μας.

## 1.6. Τα σάκχαρα του γλεύκου και του κρασιού

Τα σάκχαρα που περιέχονται στο κρασί και στον μούστο (γλεύκος) διαχωρίζονται σε :

- Αλδόζες που αποτελούνται από 5 άτομα άνθρακα στο μόριό τους, όπως η αραβινόζη και η ξυλόζη.
- Αλδόζες που αποτελούνται από 6 άτομα άνθρακα στο μόριό τους, όπως η γαλακτόζη, η μανόζη και η γλυκόζη, η οποία έχει γλυκαντική ικανότητα 0,73 και ειδική ατροφική ικανότητα +52,5°.
- Κετόζες που αποτελούνται από 5 άτομα άνθρακα στο μόριό τους, όπως η ξυλουλόζη και η ριβουλόζη.
- Κετόζες που αποτελούνται από 6 άτομα άνθρακα στο μόριό τους, όπως η φρουκτόζη, η οποία έχει γλυκαντική ικανότητα 1,73 και ειδική ατροφική ικανότητα -93°.

Τα σάκχαρα που το μόριό τους αποτελείται από 6 άτομα άνθρακα δύναται να ζυμωθούν. Όλα τα παραπάνω σάκχαρα, είτε ανήκουν σε αλδεϊδική ομάδα (αλδόζες), είτε σε κετονική ομάδα (κετόζες), δύναται να δεσμεύσουν το θειώδη ανυδρίτη. Ενώ, η σχέση ανάμεσα στη γλυκόζη και στη φρουκτόζη, που υπάρχουν στον μούστο είναι 0,95.

Το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης έρχεται όταν μετρηθεί με το φελίγγειο υγρό η περιεκτικότητα σε σάκχαρα και η τιμή αυτή είναι για τα μεν λευκά κρασιά μικρότερη από

το 1,5 g/L, ενώ για τα δε ερυθρά κρασιά μικρότερη από τα 2 g/L. Έτσι, ένα κρασί με 0,47 g/L συγκέντρωση σακχάρων που έχουν τη δυνατότητα να ζυμωθούν, δίνει περιεκτικότητα 1,5 g/L για το λευκό κρασί και αντίστοιχα 1,9 g/L για το κόκκινο κρασί.

### **1.7. Αζωτούχα συστατικά του κρασιού**

Ένα από τα συστατικά του κρασιού είναι και το άζωτο, το οποίο υπάρχει στο κρασί σε ένα μικρό ποσοστό της τάξεως του 5% σε ανόργανη μορφή ( $\text{NH}_4^+$ ), αλλά και σε οργανική μορφή σε ποσοστό 95%. Το 45% αυτής της οργανικής μορφής αποτελείται από τα ελεύθερα αμινοξέα, με βασικότερα :

- ✓ την προλίνη, με περιεκτικότητα 300 mg ανά λίτρο,
- ✓ το ασπαραγινικό οξύ,
- ✓ την αλανίνη,
- ✓ το γλουταμινικό οξύ, με περιεκτικότητα πιο μεγάλη από τα 100 mg ανά λίτρο,
- ✓ την αργινίνη, με περιεκτικότητα πιο μικρή από τα 50 mg ανά λίτρο,
- ✓ την θρεονίνη και αυτή με περιεκτικότητα πιο μικρή από τα 50 mg ανά λίτρο.

Ένα 20% του στερεού υπολείμματος του οίνου αποτελούν οι αζωτούχες ενώσεις. Λόγω της εκχύλισης των στερεών συστατικών, η περιεκτικότητα του αζώτου στο κόκκινο κρασί είναι σχεδόν η διπλάσια από την αντίστοιχη στο λευκό. Έτσι, ο λευκός οίνος περιέχει άζωτο 70-200 mg ανά λίτρο (0,5 - 1,25 g/L αζωτούχες ενώσεις), ενώ ο κόκκινος οίνος περιέχει άζωτο 100-700 mg ανά λίτρο (0,8 - 4 g/L αζωτούχες ενώσεις).

### **1.8. Το $\text{CO}_2$ (διοξείδιο του άνθρακα ή ανθρακικός ανυδρίτης) στο κρασί**

Το διοξείδιο του άνθρακα ( $\text{CO}_2$ ) ή αλλιώς ανθρακικός ανυδρίτης, χρησιμοποιείται συχνά στα οινοποιεία, με τη μορφή του ξηρού πάγου, για να πετύχουν την ταχεία ψύξη των σταφυλιών ώστε να αποφευχθεί η πρόωρη ζύμωση. Η χρήση του ξηρού πάγου είναι σαφώς προτιμότερη από τη χρήση παγωμένου νερού, γιατί έτσι έχουμε ψύξη των σταφυλιών δίχως τη προσθήκη νερού, το οποίο θα αραιώνει τα σάκχαρα στον μούστο και



όπως είναι φυσικό επακόλουθο, θα μειώνει την περιεκτικότητα αιθανόλης στο κρασί. Με την αλκοολική ζύμωση παράγονται περίπου 80g/L, ενώ όταν υπάρχει κανονική ατμοσφαιρική πίεση, τότε η διαλυτότητα στο κρασί είναι 2g/L, αφού έως την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης και με την παραμονή του κρασιού μέσα σε ξύλινα βαρέλια, η υπόλοιπη ποσότητα CO<sub>2</sub> ξεφεύγει. Το διοξείδιο του άνθρακα στο λευκό κρασί είναι 500-700 mg/L, ενώ στο κόκκινο κρασί είναι 400 mg/L.

## **1.9. Φαινολικά συστατικά του κρασιού**

Τα φαινολικά συστατικά είναι σημαντικότερα στο χώρο της οινοποίησης, επειδή έχουν σπουδαιότερο ρόλο στα κρασιά και ιδίως στα κόκκινα κρασιά. Από αυτά εξαρτάται το χρώμα των κόκκινων κρασιών, η λιπαρότητα της γεύσης και γενικότερα ο γευστικός χαρακτήρας τους. Έχουν ιδιαίτερη συμμετοχή στη σύνθεση των αρωμάτων και ευθύνονται για την ποιότητα των ερυθρών οίνων μετά το πέρας της ωρίμανσης και της παλαίωσής τους. Τα φαινολικά συστατικά των κρασιών διακρίνονται με βάση τη χημεία σε φαινολικά οξέα με συγκέντρωση 10 mg ανά λίτρο για το λευκό κρασί και 100 mg ανά λίτρο για το κόκκινο κρασί, σε φλαβονοειδείς φαινόλες με συγκέντρωση ελάχιστα mg ανά λίτρο για το λευκό κρασί και 10 mg ανά λίτρο στο κόκκινο κρασί, σε ανθοκυάνες με συγκέντρωση 0 στο λευκό κρασί και 100-700 mg ανά λίτρο στο κόκκινο και τέλος σε ταννίνες με συγκέντρωση 100 mg ανά λίτρο για το λευκό κρασί και 1-7 mg ανά λίτρο για το κόκκινο. Από τα φαινολικά συστατικά του σταφυλιού, αυτά που έχουν το σημαντικότερο ρόλο στο κρασί είναι οι ταννίνες και οι ανθοκυάνες, που και οι δύο ανήκουν στις φλαβονοειδείς φαινόλες.

### **1.9.1. Φαινολικά οξέα και φλαβονοειδείς φαινόλες**

Το κρασί περιέχει οξέα του βενζοϊκού και κινναμωμικού και το κρασί που έχει μπει και παραμένει σε ξύλινα βαρέλια για τις ανάγκες της παλαίωσής του περιέχει παράγωγα της βενζαλδεΐδης και της κινναμωμικής αλδεΐδης.

Στη κατηγορία των μονομοριακών φαινόλων, δηλαδή στις μη φλαβονοειδείς φαινόλες περιλαμβάνονται τα φαινολικά οξέα, τα οποία και έχουν αντισηπτική και αντιβακτηριακή δράση.

Στη κατηγορία των πολυμοριακών φαινόλων, δηλαδή στις φλαβανοειδείς φαινόλες ανήκουν οι ανθοκυάνες, οι οποίες είναι οι ερυθρές χρωστικές που βρίσκονται στις φλούδες των ρωγών του σταφυλιού και συμμετέχουν στο χρωματισμό των κόκκινων κρασιών, οι ταννίνες, οι οποίες είναι ουσίες φυτικής προέλευσης και συμβάλλουν και αυτές στο χρωματισμό των κόκκινων οίνων και τέλος οι φλαβονόλες, οι οποίες είναι οι κίτρινες χρωστικές που βρίσκονται μέσα στους φλοιούς και στα κουκούτσια των σταφυλιών και γι' αυτό δεν υπάρχουν στους λευκούς οίνους. Στην ίδια κατηγορία ανήκουν και οι φλαβανόνες που είναι συστατικά όχι των σταφυλιών αλλά του ξύλου της δρυός και περιέχονται μόνο στα κρασιά που έχουν τοποθετηθεί και έχουν παραμείνει σε δρύινα βαρέλια για την ολοκλήρωση της παλαίωσής τους. Εδώ ανήκουν και οι φλαβανόλες-3, δηλαδή οι κατεχίνες, που υπάρχουν κατά κύριο λόγο στις φλούδες και στα κουκούτσια, αλλά και οι φλαβανοδιόλες, δηλαδή οι λευκοανθοκυάνες ή αλλιώς προκυανιδίνες, οι οποίες υπάρχουν στις φλούδες αλλά κατά κύριο λόγο στα κουκούτσια.

### **1.10. Χρήση θειώδη ανυδρίτη στη συντήρηση του κρασιού**

Ο θειώδης ανυδρίτης δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιείται σε μεγάλες ποσότητες γιατί είναι ιδιαίτερα τοξικό για τον άνθρωπο. Το καθορισμένο, επιτρεπτό και αποδεκτό όριο για τον οργανισμό του ανθρώπου είναι μέχρι 1,5 mg/kg ανά ημέρα. Για έναν άνθρωπο δηλαδή που ζυγίζει 70 κιλά, η επιτρεπτή ποσότητα θειώδη ανυδρίτη είναι 100 mg την ημέρα.

Για τις ανάγκες συντήρησης του κρασιού, για την προφύλαξη του από την επενέργεια του οξυγόνου και για την παρεμπόδιση της εμφάνισης και ανάπτυξης μικροοργανισμών που τυχόν αλλοιώσουν την ποιότητα του κρασιού, γίνεται χρήση του θειώδη ανυδρίτη, σε πολύ μικρές όμως ποσότητες.

## **Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>: Η Αμπελουργία στον Νομό Ιωαννίνων**

### **2.1. Ηπειρωτικά αμπελοτόπια**

Στη χώρα μας μία από τις πλέον δημοφιλέστερες περιοχές που άρχισε η αμπελουργική και η οινοπαραγωγική δραστηριότητα είναι η Ήπειρος, λόγω του ιδιαίτερου κλίματος και των χαρακτηριστικών των εδαφών της, που ευνοούν και στηρίζουν την καλλιέργεια διαφόρων ποικιλιών σταφυλιών.

Κυρίως στο Νομό Ιωαννίνων, η καλλιέργεια ειδικών ποικιλιών σταφυλιών με σκοπό την παραγωγή κρασιού εμφανίζεται από τον 16<sup>ο</sup> αιώνα. Οι καλλιέργειες του σταφυλιού είναι διασκορπισμένες σε διάφορους οικισμούς των Ιωαννίνων, με πλέον διαδεδομένη τη περιοχή ή ζώνη της Ζίτσας, περιοχή η οποία προστατεύει τους αμπελώνες έξι οικισμών του δήμου, Ζίτσα, Πρωτόπαππα, Καρίτσα, Κληματιά, Γαβρισιοί και Λιγοψά (Σταυρακάκης, 2003).

Στη ζώνη της Ζίτσας έχουμε τα περισσότερα στρέμματα καλλιέργειας σταφυλιού και εκεί παράγουμε, σύμφωνα με τη διεθνή νομοθεσία κρασιών, προϊόντα κρασιού Ο.Π.Α.Π. (Ονομασία Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας) ή V.Q.P.R.D. (Vins de Qualité Produits dans des Régions Déterminées). Τον 19<sup>ο</sup> αιώνα γίνεται αναφορά στον δημοφιλή αμπελώνα της Ζίτσας και κυρίως στα αφρώδη κρασιά που παράγονται από την τοπική ποικιλία Ντεμπίνα, ποικιλία η οποία και καταλαμβάνει το μεγαλύτερο κομμάτι των καλλιεργειών σε ποσοστό 95-97%.

Στο νομό Ιωαννίνων, σταφύλια καλλιεργούνται και σε άλλες περιοχές και δήμους του, όπως στο Μέτσοβο, στη Δωδώνη, στους Μολοσσούς, στη Κόνιτσα και στο Ζαγόρι, με λιγότερα και διασκορπισμένα όμως στρέμματα καλλιέργειας σταφυλιών. Σύμφωνα με τα στοιχεία της στατιστικής υπηρεσίας, το σύνολο των στρεμμάτων καλλιέργειας σταφυλιών στις διάφορες περιοχές του νομού Ιωαννίνων είναι 3.431 (Σταυρακάκης, 2003).

Στην Ήπειρο τους θερινούς μήνες και τους μήνες που γίνεται η ωρίμανση των σταφυλιών είναι αναγκαίο το πότισμα των καλλιεργειών αφού η βροχόπτωση είναι περιορισμένη. Στα αμπελοτόπια με τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά αυτά της Ηπείρου μπορούν να περιληφθούν οι αμπελοκαλλιέργειες της Αττικής, οι πεδινές

αμπελοκαλλιέργειες της κεντρικής Ελλάδας, καθώς και οι ορεινοί μακριά από τη θάλασσα αμπελώνες, όπως για παράδειγμα αυτοί της ορεινής Νεμέας και της Μαντινείας.

Σε περιοχές με μεγάλο υψόμετρο όπου τη νύχτα επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες, ευνοείται και προτιμάται η καλλιέργεια λευκών ποικιλιών σταφυλιών, που λόγω αυτού του κλίματος και αυτών των χαμηλών θερμοκρασιών, ενισχύονται τα χαρακτηριστικά του αρώματός τους, όπως για παράδειγμα στα κρασιά της Μαντινείας. Ενώ σε περιοχές με μικρότερο και πιο χαμηλό υψόμετρο, όπου η περίοδος της βλάστησης είναι σαφώς εκτενέστερη, ευνοείται και προτιμάται η καλλιέργεια κόκκινων ποικιλιών σταφυλιών (Σταυρακάκης, 2003).

## **2.2. Εξέλιξη και διάρθρωση της αμπελουργίας στην περιοχή της Ζίτσας**

Όπως προαναφέραμε, η περιοχή της Ζίτσας ή η ζώνη της Ζίτσας προστατεύει τους αμπελώνες έξι οικισμών του δήμου, Ζίτσα, Πρωτόπαππα, Καρίτσα, Κληματιά, Γαβρισιοί και Λιγοψά. Στις 17 Μαρτίου 1972 θεσμοθετήθηκε αυτή η περιοχή σαν Αμπελουργική Ζώνη Ζίτσας, όπου παράγονται προϊόντα κρασιού Ο.Π.Α.Π. (Ονομασία Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας) ή V.Q.P.R.D. (Vins de Qualité Produits dans des Régions Déterminées) (Κούσουλας, 2002).

Η ζώνη της Ζίτσας βρίσκεται βορειοδυτικά των Ιωαννίνων, το κλίμα της είναι ξηρό και θερμό το καλοκαίρι ενώ τον χειμώνα είναι ψυχρό και υγρό, το έδαφός της είναι σχιστολιθικά ασβεστολιθικής προέλευσης και λίγο πετρώδες, η βροχόπτωση ανά έτος έχει ύψος 1.200 mm) και αποτελείται από πολλούς λόφους με υψόμετρο 450 - 750 μέτρων. Η περιοχή της Ζίτσας είναι ένα τέλειο οικοσύστημα, μια ιδανική βασική οικολογική μονάδα με το φυσικό της περιβάλλον και τους οργανισμούς που ζουν σε αυτό. Στην περιοχή αυτή ευδοκimeί η καλλιέργεια ξηρών οινοποιήσιμων ποικιλιών σταφυλιών, όπως για παράδειγμα η τοπική λευκόκαρπη ποικιλία Ντεμπίνα, για λευκό κρασί, αλλά και για κόκκινο κρασί, όπως για παράδειγμα οι ερυθρόκαρπες ποικιλίες Μπεκιάρη και Βλάχικο, οι οποίες όμως καλύπτουν ένα μικρό μέρος της τάξεως του 5% περίπου της συνολικής έκτασης των αμπελοκαλλιεργειών (Κούσουλας, 2002).

Η Ντεμπίνα είναι μια ποικιλία σταφυλιού που τη βρίσκουμε κυρίως στην αμπελουργική ζώνη της Ζίτσας και από αυτή παράγεται το λευκό ξηρό κρασί, αλλά και

το αφρώδες και ημιαφρώδες κρασί. Αποτελεί μια ποικιλία αμπελιού με αργή ωρίμανση, ενώ οι ρώγες του σταφυλιού της είναι μεγάλες, πυκνές και σε σχήμα κώνου. Χαρακτηρίζεται σαν όψιμη ποικιλία γιατί η βλάστησή της αρχίζει γύρω στο τέλος Μαρτίου, η ανθοφορία της γίνεται το τελευταίο δεκαπενθήμερο του Μαΐου, ενώ η ωρίμανση του καρπού της γίνεται από τα τέλη Σεπτεμβρίου και κυρίως τον Οκτώβριο. Όμως το ιδιαίτερο άρωμα που χαρακτηρίζει τον καρπό της δηλώνει και διαφαίνεται στην άριστη και εκλεκτή ποιότητα των κρασιών που παράγεται από αυτή τη ποικιλία.

Σύμφωνα με στοιχεία μελετών, το 1952 οι αμπελοκαλλιέργειες στη περιοχή της Ζίτσας εξαπλώνονταν σε περίπου 6.000 στρέμματα. Περίπου είκοσι χρόνια αργότερα, το 1971 τα αντίστοιχα στρέμματα μειώθηκαν στις 4.000 και η μείωση αυτή συνεχίζεται ακόμη και σήμερα, υπολογίζοντας να υπάρχουν στη περιοχή περίπου 1.500 στρέμματα. Η σταδιακή αυτή μείωση προκλήθηκε κυρίως με τη φυλλοξήρα που έπληξε τις αμπελοκαλλιέργειες της περιοχής το 1952, αλλά και με τον τεμαχισμό της γόνιμης γης, με τις μικρές ιδιοκτησίες γεωργικής εκμετάλλευσης και με το γεγονός ότι ένας μεγάλος αριθμός από τους κατοίκους επέλεξε να ασχοληθεί με άλλα επαγγέλματα άσχετα με την γεωργία (Κούσουλας, 2002).

Έως το 1980 δόθηκαν σημαντικές οικονομικές υποστηρίξεις και επιδοτήσεις για την αναγέννηση των αμπελώνων της Ηπείρου, που ενώ στην αρχή πραγματοποιήθηκε με γοργούς ρυθμούς, σχεδόν 500 στρέμματα ανά έτος, μετά το 1980 σημείωσε εξαιρετικά αργή εφαρμογή, με μέσο όρο σχεδόν 40 στρέμματα ανά έτος. Αιτία ώστε να μην καταφέρει αυτή η προσπάθεια αναγέννησης των αμπελώνων να προχωρήσει, στάθηκε το ότι (Κούσουλας, 2002):

- η δημιουργία και η τοποθέτηση νέων αμπελώνων κόστιζε πολύ ακριβά,
- οι αρμόδιοι φορείς της οινοπαραγωγικής δραστηριότητας έχοντας προβλήματα στη διάθεση των κρασιών, έδιναν στους αμπελουργούς πολύ μικρή τιμή για να αγοράσουν το προϊόν τους,
- το χαμηλό και καθόλου επαρκή και ικανοποιητικό εισόδημα των αμπελοκαλλιεργητών, το οποίο και ήταν φυσικό επακόλουθο του προαναφερόμενου προβλήματος.

### **2.3. Εξέλιξη και διάρθρωση της αμπελουργίας στην περιοχή του Μετσόβου**

Το Μέτσοβο είναι η πατρίδα πολλών ευεργετών του έθνους μας, όπως του Μιχαήλ Τσοσίτσα, του Γεωργίου Αβέρωφ, του Νικολάου Στουρνάρα αλλά και του Ευάγγελου Αβέρωφ. Το 1961 ο Ευάγγελος Αβέρωφ συντελεί δραστικά στην ανασύσταση και αναγέννηση των αμπελώνων του Μετσόβου, εισάγοντας για πρώτη φορά από τη Γαλλία και φυτεύοντας σε μια άκαρπη πλαγιά της Πίνδου στο Μέτσοβο, τα πρώτα κλήματα των γαλλικών ποικιλιών Cabernet Sauvignon, Merlot και Cabernet Franc. Η οиноποίηση του πρώτου ερυθρού οίνου έγινε στο κατώγι της οικίας του και ονομάστηκε «Κατώγι Μετσόβου», η ετικέτα του οποίου σχεδιάστηκε από τον ίδιο τον Ευάγγελο Αβέρωφ σε ένα επιστολόχαρτο από το πολιτικό του γραφείο. Το «Κατώγι Μετσόβου» πολύ γρήγορα πήρα χαρακτήρα εμβλήματος και ταυτίστηκε με την έννοια της άριστης ποιότητας. Το όραμά του πραγματοποιήθηκε και κατάφερε με τεράστια επιτυχία να «παντρέψει» τις ξένες ποικιλίες με αυτές του τόπου μας, αλλά και να προβάλλει και να αναδείξει τις ασύλληπτες δυνατότητες των ελληνικών αμπελώνων. Ο ερυθρός οίνος Κατώγι Μετσόβου μετά τον θάνατο του Ευάγγελου Αβέρωφ και προς τιμή του, μετονομάστηκε σε «Κατώγι Αβέρωφ».

Μία εικοσαετία αργότερα, το 1981, οι μηχανικοί του Πολυτεχνείου Γιάννης Μαλτέζος και Αχιλλέας Λαμψίδης και λίγο αργότερα ο Βασίλης Βλάχος, επίσης μηχανικός του Πολυτεχνείου, όλοι φίλοι μεταξύ τους και ασχολούμενοι με την αμπελουργία και μόνο, ιδρύουν το εντευκτήριο οίνου «Στροφιλιά». Το 1985 πρωτοστατούν και πρωτοτυπούν με την ίδρυση του πρώτου wine bar στην Ελλάδα την «Στροφιλιά» στο κέντρο της Αθήνας, μέσω του οποίου προβλήθηκαν διάφοροι οινοποιοί και κυρίως αναδύθηκε, διαδόθηκε και διασκορπίστηκε στην πρωτεύουσα η «αναβίωση» του ελληνικού ποιοτικού οίνου.

Οι οίνοι «Κατώγι ερυθρός» και «Στροφιλιά λευκός» διατηρούν ακλόνητα την πρώτη πάντα θέση στις επιλογές των πελατών και η κοινή τους συνεργασία με το Δίκτυο Διανομής της Σάντα Μάουρα οδήγησε το 2001 τα δύο αυτά μεγάλα ονόματα να ενωθούν και έτσι το «Κατώγι Αβέρωφ» μαζί τη «Στροφιλιά» μετά την ένωση δημιουργούν την «Κατώγι & Στροφιλιά ΑΕ». Αυτή η νέα εταιρεία που προέκυψε με την ένωση αυτή έχει ιδιόκτητους αμπελώνες σε Αττική, Θεσσαλία, Ήπειρο και Πελοπόννησο και οινοποιεί σε Ανάβυσσο, Μέτσοβο και Νεμέα, αλλά και δικό της δίκτυο διανομής, συνεχίζοντας με

δυναμικότητα μέχρι σήμερα να προβάλλει και να προωθεί τα χαρακτηριστικά προϊόντα της, τόσο στον τόπο μας, όσο και στο εξωτερικό.

## 2.4. Η οινοποιητική παραγωγική διαδικασία

Η οινοποίηση είναι μια φυσική διεργασία, η οποία με την εφαρμογή ειδικών μεθόδων επιτυγχάνει τη μετατροπή των σταφυλιών σε κρασί, παίρνοντας από τα σταφύλια όλα τα ποιοτικά στοιχεία του και αφαιρώντας ασφαλώς εκείνα που θα μπορούσαν να χαλάσουν την ποιότητα του κρασιού. Η σωστή οινοποίηση σε συνδυασμό με την καλή ποιότητα του σταφυλιού καθορίζει πάντα τη ποιότητα του κρασιού που θα προκύψει.

Η οινοποιητική παραγωγική διαδικασία ακολουθεί τα εξής στάδια (Σταυρακάκης, 2003).:

- ✓ **Αποβοστρύχωση ή αλλιώς εκραγισμός :** γίνεται στο εκραγιστήριο και διαχωρίζει τις ράγες από τα κοτσάνια, με σκοπό την απομάκρυνση αυτών των άγουρων και πράσινων κομματιών του τσαμπιού που περιέχουν στυφές και κακής ποιότητας τανίνες και μάλιστα σε μεγάλη συγκέντρωση.
- ✓ **Σύνθλιψη των σταφυλιών :** γίνεται σε ειδικούς περιστρεφόμενους κυλίνδρους του θλιπτηρίου, από όπου περνούν ανάμεσα οι ράγες του σταφυλιού και σπάνε. Αποσκοπεί στο σπάσιμο των φλοιών και στην απελευθέρωση του χυμού, χωρίς όμως να σπάσουν τα κουκούτσια του καρπού και πάρει έτσι το κρασί στυφή γεύση.
- ✓ **Η πίεση :** η σταφυλόμαζα που προκύπτει μετά τη σύνθλιψη των σταφυλιών οδηγείται για πίεση σε ειδικό πιεστήριο, όπου πιέζεται ελεγχόμενα και ήπια σε ειδικούς κυλίνδρους απελευθερώνοντας έτσι ότι υπόλοιπο χυμού είχε κρατηθεί στο προηγούμενο στάδιο και αποσκοπεί στην ολοκλήρωση της αποχύμωσης.
- ✓ **Η απολάσπωση :** είναι η διαδικασία διαύγασης του μούστου (γλεύκου), δηλαδή το να κατακαθίσουν όλα τα αιωρούμενα σωματίδια που υπάρχουν στον μούστο, γίνεται με ψύξη αυτών των σωματιδίων, πραγματοποιείται πάντα πριν την αλκοολική ζύμωση και διαρκεί περίπου 12-14 ώρες, ανάλογα φυσικά με το ποσοστό της υπάρχουσας λάσπης.

- ✓ **Αλκοολική ζύμωση :** είναι η διαδικασία τροποποίησης του φρέσκου χυμού των σταφυλιών σε οίνο, προκύπτει από τη ζύμωση μονοκύτταρων οργανισμών που υπάρχουν στις φλούδες των σταφυλιών και αποσκοπεί στη μετατροπή των σακχάρων τους σε αλκοόλη, δηλαδή συμβάλλουν στο να αποκτήσει ο οίνος μια πιο γλυκιά γεύση και ένα πιο ιδιαίτερο άρωμα.
- ✓ **Μηλογαλακτική ζύμωση:** γίνεται ταυτόχρονα ή μετά την αλκοολική ζύμωση, προκύπτει από τη ζύμωση βακτηρίων και αποσκοπεί στη μετατροπή του άγριου μηλικού οξέος των σταφυλιών και του κρασιού σε ένα ηπιότερο γαλακτικό οξύ, μειώνοντας έτσι την οξύτητα του κρασιού και συμβάλλοντας στην πιο μαλακή ωρίμανσή του.
- ✓ **Παλαίωση – Ωρίμανση:** είναι μια πολύ σημαντική διαδικασία, που αφορά κυρίως τα λευκά και κόκκινα κρασιά υψηλής ποιότητας, κατά την οποία μεταβάλλεται το χρώμα, η γεύση και το άρωμα του κρασιού και όλα έρχονται σε μια τέλεια ισορροπία. Τα λευκά κρασιά παίρνουν έντονο κίτρινο σαν το κεχριμπάρι χρώμα, ενώ τα κόκκινα κρασιά ένα έντονο κεραμιδί χρώμα. Το στάδιο αυτό πραγματοποιείται ή σε ανοξειδωτες δεξαμενές ή σε βαρέλια. Στις ανοξειδωτες δεξαμενές, εφόσον δεν έρχεται το κρασί σε επαφή με οξυγόνο, δεν αποκτά τα ιδιαίτερα αρώματα, ούτε μεταβάλλονται τα χαρακτηριστικά γνωρίσματά του. Στην αντίθετη περίπτωση, τα βαρέλια και κυρίως τα δρύινα από ξύλο βελανιδιάς που είναι τα καλύτερα και αυτά που χρησιμοποιούνται ευρύτερα, επιδρούν στο άρωμα του οίνου δίνοντάς του αρώματα και γευστικά χαρακτηριστικά του ξύλου, αλλά και μέσω των πόρων των βαρελιών δεν εμποδίζεται η σταδιακή και ελεγχόμενη επαφή του οίνου με το οξυγόνο, επομένως έχουμε και πιο σύντομη ωρίμανση. Σημαντικό ρόλο έχει η ηλικία και το μέγεθος του βαρελιού παλαίωσης, όσο πιο καινούργιο και όσο πιο μικρού μεγέθους είναι το βαρέλι, τόσο η ποιότητα όσο και η διάρκεια της παλαίωσης είναι καλύτερη και συντομότερη αντίστοιχα, ενώ ενισχύονται και τα αρώματα της δρυός που αποκτά ο οίνος. Η διάρκεια της ωρίμανσης και της παλαίωσης ενός κρασιού είναι ανάλογη με το κρασί και διαφοροποιείται από μερικές εβδομάδες έως και αρκετά χρόνια, ενώ οι ιδανικές συνθήκες παλαίωσης είναι σε θερμοκρασία 12-16° C και σε υγρασία 70-80%. Μετά το πέρας της



παλαιώσης, το κρασί μεταφέρεται από τα βαρέλια σε ειδικές δεξαμενές, όπου γίνεται η τελική διαύγαση, η τελική διήθηση και η ομοιογενοποίηση του οίνου.

- ✓ **Εμφιάλωση :** είναι μια απλή μηχανική διαδικασία με την οποία έχουμε την τελική μορφή του οίνου. Τα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται σε αυτό το τελευταίο στάδιο είναι το αυτόματο πλυντήριο των μπουκαλιών, το σύστημα γεμίσμάτος τους με κρασί, το μηχάνημα που τοποθετεί το πάμα στα μπουκάλια, το μηχάνημα που κολλάει τις ετικέτες του κρασιού και το αντίστοιχο που τοποθετεί τις φιάλες σε κιβώτια για την μεταφορά τους. Όλα αυτά όμως έχουν απλή χρήση, δεν απαιτούν ιδιαίτερα εξειδικευμένο προσωπικό και συντελούν στη τελική εμφάνιση του προϊόντος.

## **2.5. Οι ποικιλίες Chardonnay και Traminer Zoinos Winery, Ορεινές Διαδρομές 2020 και Traminer Κατόγι Αβέρωφ, Alba di Munte**

Οι διεθνείς ποικιλίες Chardonnay και Traminer Zoinos Winery, Ορεινές Διαδρομές 2020, που η καλλιέργειά τους γίνεται στους ορεινούς αμπελώνες της Ηπείρου, είναι ένα εξαιρετικό λευκό κρασί, με μεθυστικό άρωμα και ιδιαίτερα γνωρίσματα.

- **Ανήκει στην κατηγορία :** Οίνος λευκός ξηρός.
- **Η κατάταξή του είναι :** Ποικιλιακός οίνος Ηπείρου.
- **Η ποικιλία αποτελείται από :** 70% Chardonnay και 30% Traminer.
- **Η καλλιέργειά του γίνεται :** στην περιοχή Δραγατσούρα της Ζίτσας στους αμπελώνες Chardonnay & Traminer, σε υψόμετρο 700 μέτρων.
- **Η ημερομηνία τρύγου είναι :** το δεύτερο δεκαπενθήμερο του Σεπτεμβρίου.
- **Η οиноποίηση και η ωρίμανσή του γίνεται :** αρχικά με προζυμωτική κρυοεκχύλιση στους 10 °C η οποία έχει διάρκεια 8 ώρες και μετά με πίεση στα ειδικά πειστήρια και τέλος με απολάσπωση και ζύμωση, η οποία έχει διάρκεια 20-30 ημέρες και γίνεται μέσα στις ειδικές ανοξείδωτες δεξαμενές στις οποίες η θερμοκρασία ελέγχεται να κυμαίνεται πάντα στους 13-16 °C.
- **Ο αλκοολικός του τίτλος :** είναι 12.00%.
- **Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του είναι :** μεθυστικά αρώματα, κυρίως από άνθη λουλουδιών, εσπεριδοειδή αλλά και εξωτικά φρούτα, ροδάκινο,

πεπόνι, που του προσδίδουν ιδιαίτερη και εξαιρετική αρωματική γεύση, αλλά και μια ισορροπημένη οξύτητα που προκαλεί ευχαρίστηση και ένα αίσθημα δροσιάς.

Η ποικιλία Traminer Κατώγι Αβέρωφ Alba di Munte εμφανίστηκε το 1959 με την πραγματοποίηση του οράματος του εθνικού μας ευεργέτη Ευάγγελου Αβέρωφ να αναγεννήσει τους αμπελώνες της γενέτειρας γης του, στις πλαγιές της Πίνδου στο Μέτσοβο, αρχικά με την εισαγόμενη γαλλική ποικιλία Cabernet Sauvignon και μετά με πολλές άλλες ποικιλίες ντόπιες και του εξωτερικού. Όπως προαναφέραμε, το πρώτο κρασί ο Ευάγγελος Αβέρωφ το οινοποίησε στο κατώγι του σπιτιού του και για αυτό άλλωστε ονομάστηκε «Κατώγι Αβέρωφ». Το μεγάλο υψόμετρο των 1000 μέτρων όπου βρίσκεται ο αμπελώνας Γινιέτς και καλλιεργούνται οι ποικιλίες Cabernet Sauvignon και Traminer, ταυτόχρονα με την εκχύλιση που πραγματοποιείται σε αρκετά χαμηλές θερμοκρασίες, αλλά και την παραμονή σε οινολάσπες, συμβάλλουν και προσδίδουν στο κρασί την ιδιαίτερη σαν κρύσταλλο αυτή οξύτητα και αρωματική γεύση που χαρακτηρίζει έντονα το κρασί αυτών των ποικιλιών.

Άλλωστε, Alba di Munte σημαίνει «η ψυχή του βουνού» και η μοναδικά δροσερή γεύση του κρασιού «Κατώγι Αβέρωφ» ταξιδεύει όποιον το γευτεί να ταξιδέψει με τη φαντασία του στο πανέμορφο ορεινό χιονισμένο Μέτσοβο.

## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>: Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών

### 3.1. Γενικά για τα αντιοξειδωτικά

Αντιοξειδωτικές είναι οι ουσίες που παρεμποδίζουν την οξείδωση την καταστροφή των κυττάρων και συστατικών των τροφίμων γενικότερα. Το οξυγόνο οξειδώνει τη σύσταση των τροφίμων η οποία εμποδίζεται από τα αντιοξειδωτικά, τα οποία είναι κυρίως ενώσεις αρωματικές που έχουν το λιγότερο μία αμινική ή υδροξυλική ομάδα ελεύθερη, προστίθενται στα τρόφιμα και ανήκουν στις πολυκλικές φαινόλες που έχουν υδροξυλομονάδες. Τα αντιοξειδωτικά δηλαδή είναι οι φυσικές ουσίες που περιέχουν τα τρόφιμα, οι οποίες δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες στον οργανισμό, αλλά και τα χημικά ή φυσικά πρόσθετα που περιέχουν τα τρόφιμα του εμπορίου με κύριο σκοπό τη συντήρησή τους.

Για την βέλτιστη και ενεργή αντιοξειδωτική δράση των αντιοξειδωτικών συνήθως γίνεται χρήση αυτών συνδυαστικά με σταθεροποιητές, κάνοντας με αυτόν τον τρόπο τη χρήση τους πιο απλή και εύκολη, αλλά και σε πιο πολλές κατηγορίες τροφίμων. Σε αυτές τις συνδυαστικές ουσίες είναι και τα οξέα και τα άλατα που χρησιμοποιούνται για αυτόν τον σκοπό (Φουρτουνόπουλος, 2004).

Ανάλογα με τις λειτουργίες τους τα αντιοξειδωτικά διακρίνονται στις ακόλουθες κατηγορίες :

- ▶ **Πρωτογενή Αντιοξειδωτικά :** είναι κυρίως φαινολικές ενώσεις που έχουν άμεση επίδραση στις βλαβερές για τον ανθρώπινο οργανισμό ελεύθερες ρίζες και δίνουν ένα τέλος στις αλυσιδωτές αντιδράσεις τους. Όπως για παράδειγμα το βουτυλιωμένο υδροξυτολουένιο BHT (butylated hydroxytoluene), οι τοκοφερόλες, η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη BHA (butylated hydroxyanisole) και άλλες.
- ▶ **Δευτερογενή Αντιοξειδωτικά :** εδώ μοιράζονται και επισκευάζονται οι ήδη κατεστραμμένες πρωτεΐνες, λιπίδια και DNA, διαχωρίζονται δηλαδή τα υδροϋπεροξειδία των λιπιδίων σε τελικά προϊόντα τα οποία είναι σταθερά και χωρίς αντιδράσεις. Όπως για παράδειγμα τα ένζυμα του οργανισμού υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, καταλάση, υπεροξειδική δισμουτάση, αλλά και τα θρεπτικά

συστατικά όπως οι σημαντικότερες βιταμίνες C και E, τα φλαβονοειδή, οι θειόλες, οι πολυφαινόλες, τα καροτενοειδή και άλλα.

- ▶ **Ενώσεις που δημιουργούν ενεργειακά σύμπλοκα :** οι ενώσεις αυτές δημιουργούν χημικά σύμπλοκα με τον σίδηρο, τον χαλκό και άλλα μεταλλικά ιόντα, εμποδίζοντας και απομακρύνοντας με αυτό τον τρόπο όλα εκείνα τα σωματίδια που θα ξεκινήσουν την οξειδωση. Όπως για παράδειγμα τα αμινοξέα, το κιτρικό οξύ και άλλα.
- ▶ **Ενώσεις που απομακρύνουν το οξυγόνο :** οι ενώσεις αυτές αντιδρούν με το οξυγόνο και δημιουργούν κατάλληλες ενώσεις που παρακωλύουν την οποιαδήποτε αντίδραση με λιπίδια και επομένως διακόπτεται με αυτόν τον τρόπο η αρχή της αυτοοξειδωσης. Όπως για παράδειγμα το ασκορβικό οξύ και άλλα.

### 3.2. Η Διάκριση των Αντιοξειδωτικών

Η διάκριση των αντιοξειδωτικών ανάλογα με την προέλευσή τους είναι οι εξής κατηγορίες :

- \* **Τα Σύνθετα Αντιοξειδωτικά :** είναι αυτά που η σύνθεσή τους είναι βιοχημική, η δράση τους είναι δυνατά αντιοξειδωτική, αλλά ένας μεγάλος αριθμός τους δεν δύναται να χρησιμοποιηθεί στα τρόφιμα εξαιτίας των βλαβερών επιδράσεων που έχουν στον άνθρωπο. Η χρήση τους είναι πιο εύκολη και πρακτική, όμως έχουν δημιουργηθεί υπόνοιες ότι τα συνθετικά αντιοξειδωτικά επάγουν την καρκινογένεση. Τα επιτρεπόμενα συνθετικά αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα σαν πρόσθετα είναι η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη BHA (butylated hydroxyanisole), το Trolox, το βουτυλιωμένο υδροξυτολουένιο BHT (butylated hydroxytoluene), η τεταρτοταγής βουτυλική υδροκινόνη TBQH (tertbutylhydroquinone) και η υδροφοβική ένωση PG.
- \* **Τα Φυσικά Αντιοξειδωτικά :** που είναι κυρίως φαινολικές ενώσεις τριών κατηγοριών, των φλαβονοειδών ενώσεων, των τοκοφερόλων και των φαινολικών οξέων. Καλό είναι να προτιμώνται αντιοξειδωτικά από φυσικές πηγές που περιέχουν πρωτεΐνες, αμινοξέα, ασκορβικό οξύ, στερόλες, τοκοφερόλες, φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, φωσφολιπίδια και καροτενοειδή. Το ιδανικότερο

όμως όλων είναι η χρήση αντιοξειδωτικών απευθείας από τα λαχανικά, τα φρούτα, τα φυτά, τα βότανα και τα αιθέρια έλαιά τους, που είναι εντελώς φυσικές πηγές και οι πλέον ασφαλέστερες για τον οργανισμό του ανθρώπου.

### 3.3. Το Σελήνιο

Το σελήνιο, με χημικό σύμβολο Se, είναι ένα ισχυρό μέταλλο και ένα ζωτικής σημασίας θρεπτικό συστατικό, που το παίρνει ο άνθρωπος από την διατροφή του. Είναι ένα ιχνοστοιχείο και ένα από τα βασικότερα συστατικά των αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως για παράδειγμα των TrxRs (αναγωγάσεων της θειορεδοξίνης), των GPxs (υπεροξειδάσεων της γλουταθειόνης και των IDD (δειοδινάσεων της ιωδοθυρονίνης), αλλά και άλλων σεληνοενζύμων και σεληνοπρωτεϊνών που έχουν αντιοξειδωτική δράση (Tinggi, 2008). Αυτή η αντιοξειδωτική δράση τους επηρεάζεται από την πρόσληψη σεληνίου για διαιτητικούς σκοπούς και αυξάνεται στις περιπτώσεις που το σελήνιο χορηγείται σαν συμπληρωματικό στοιχείο, σύμφωνα με την EFSA, δηλαδή την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA Panel on Dietetic Products, 2009b).

Το σελήνιο έχει πολλαπλά οφέλη για την ανθρώπινη υγεία, όπως δρα σαν ισχυρό αντιοξειδωτικό, συμβάλλει στην προστασία των κυττάρων απ' το οξειδωτικό στρες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2009b), συμβάλλει στον μεταβολισμό αλλά και στην καλή λειτουργία του θυρεοειδούς, συμβάλλει στην πρόληψη της πνευματικής φθοράς, ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα, προστατεύει από καρδιακές παθήσεις και βλαβερές συνέπειες του οξειδωτικού στρες, βοηθάει στη μείωση των συμπτωμάτων του άσθματος, αλλά και στην πρόληψη σοβαρών παθήσεων.

Η πρόσληψη του σεληνίου γίνεται μέσω της τροφής και βρίσκεται συνήθως με τη μορφή οργανικών ενώσεων, όπως για παράδειγμα η L-σεληνοκυστεΐνη και η L-σεληνομεθειονίνη. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων, η κατάλληλη ποσότητα που συστήνεται ανά ημέρα είναι τα 70μg για τους ενήλικες, είτε είναι άντρες, είτε γυναίκες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2014a).

Το σελήνιο δεν περιέχεται τόσο στα φρέσκα λαχανικά και φρούτα, όσο στα ζωϊκά προϊόντα και τα δημητριακά ολικής άλεσης. Τρόφιμα που είναι πλούσιας περιεκτικότητας

σε σελήνιο είναι τα θαλασσινά, τα στρείδια, οι σαρδέλες, το κρέας, τα γαλακτοκομικά, τα αυγά, ο τόνος, τα καρύδια Βραζιλίας, οι ηλιόσποροι, τα μανιτάρια Shiitake, το μαγειρεμένο καφέ ρύζι, το στήθος από το κοτόπουλο και το λευκό ψωμί.

### 3.4. Η Δράση των Αντιοξειδωτικών

Όλοι γνωρίζουμε πως χωρίς οξυγόνο είναι αδύνατο να υπάρχει ζωή. Όταν όμως ο άνθρωπος αναπνέει, το σώμα του αντιδρά με το οξυγόνο για να μεταβολίσει τις τροφές, ώστε ο ανθρώπινος οργανισμός να πάρει την απαραίτητη ενέργεια. Όμως, με αυτή την οξειδωτική διαδικασία ο ανθρώπινος οργανισμός παράγει «τοξικά απόβλητα», τα οποία λέγονται ελεύθερες ρίζες και οι οποίες αντιστοιχούν περίπου στο 2-3% του οξυγόνου που εισπνέουμε. Όταν οι ελεύθερες ρίζες μπουν στον ανθρώπινο οργανισμό έρχονται σε αλληλεπιδράσεις με άλλα μόρια και κάνουν επίθεση στα κύτταρα του οργανισμού, αλλοιώνοντας έτσι τη φυσιολογική τους λειτουργία.

Τα αντιοξειδωτικά είναι φυσικές ουσίες που δύναται να παρακωλύσουν ή και ακόμα να αποδυναμώσουν και να εξοντώσουν τις ελεύθερες ρίζες. Αποτελούν δηλαδή μία «ασπίδα προστασίας» του ανθρώπινου οργανισμού. Η δράση τους βασίζεται στην καταπολέμηση και εξόντωση των ROO και R ελεύθερων ριζών, ακόμη και της οξείδωσης. Λόγω του ότι τα πιο πολλά από τα αντιοξειδωτικά κάνουν αλυσιδωτές αντιδράσεις, συμβάλλουν στην επίσπωση της παραγωγής ελεύθερων ριζών R και ROO, μαζί με τη δημιουργία μιας ανίσχυρης μη ενεργής αντιοξειδωτικής ελεύθερης ρίζας. Η αναβολή στην δράση της ελεύθερης ρίζας συμβάλλει στην ανύψωση της αλυσιδωτής αντίδρασης.

Το αντιοξειδωτικό (AH) όταν αντιδρά άμεσα με ένα υπόστρωμα ελεύθερης ρίζας R, φαίνεται από την ακόλουθη αντίδραση :  $R + AH \longrightarrow RH + A'$

Μοιάζει σαν να μην έχει καμία σχέση με την ακόλουθη αντίδραση, όταν το αντιοξειδωτικό αντιδράει με την ελεύθερη ρίζα ενός υπεροξειδίου ROO :  $ROO + AH \longrightarrow ROOH + A'$  (όπου R = λιπαρή αλυσίδα).

Ανάμεσα στο μόριο του αντιοξειδωτικού και της ελεύθερης ρίζας του υπεροξειδίου, με τον ίδιο τρόπο παράγεται ένα σύμπλοκο, το οποίο οδηγεί στην αναβολή της οξείδωσης, μετά τη δράση του με άλλες ελεύθερες ρίζες :  $ROO + AH \longrightarrow (ROO AH)$ .

Όταν χωριστεί η αλυσίδα της ελεύθερης ρίζας, τότε δημιουργείται σύγκρουση δυο ελεύθερων υπεροξειδίων ριζών :  $2ROO \cdot + 2ROOR + O_2$

Από όλα τα παραπάνω γίνεται κατανοητά αποδεδειγμένο ότι όλοι οι αναστολείς της οξειδωσης χρειάζονται :

- ➔ Να είναι ενεργοί για να μπορούν οι ελεύθερες ρίζες να αντιδράσουν μαζί τους και έτσι μέσω αυτών των αντιδράσεων να διαχωριστεί και διαλυθεί η αλυσίδα.
- ➔ Να είναι μεταφορικά ενεργοί, ώστε το οξυγόνο να εμποδιστεί να έχει άμεση αντίδραση με την εκάστοτε αντίστοιχη ελεύθερη ρίζα.

Επομένως, τα αντιοξειδωτικά πρέπει να προστίθενται αρκετά πολύ νωρίτερα από τη φάση της προαγωγής, γιατί εάν ο όγκος των ελεύθερων ριζών αυξηθεί τότε το αντιοξειδωτικό θα δαπανηθεί με γοργό ρυθμό και έτσι δεν θα μπορέσει να παρεμποδιστεί η αλυσιδωτή αντίδραση.

### 3.5. Οι Αντιοξειδωτικές ουσίες του Οίνου

Οι κατηγορίες στις οποίες διακρίνονται τα συστατικά του κρασιού είναι :

- α. Το νερό, το οποίο είναι και το βασικότερο χημικό συστατικό του κρασιού που χαρακτηρίζει τα ιδιαίτερα γνωρίσματά του, συνήθως βρίσκεται σε ποσοστό 80-85% της μάζας ενός κρασιού και είναι βιολογικά καθαρό, εφόσον προέρχεται από το χυμό των σταφυλιών. Αποτελεί ένα από τα πιο χρήσιμα και αναγκαία συστατικά που απαιτούν οι ποικίλες χημικές αντιδράσεις που σχετίζονται με την ανάπτυξη των σταφυλιών, αλλά και τη ζύμωση και ωρίμανση των κρασιών.
- β. Τα οργανικά συστατικά.
- γ. Τα ανόργανα συστατικά, τα οποία είναι άλατα ανόργανων και οργανικών οξέων και περιέχονται στο κρασί στα 2-4g ανά λίτρο.

Τα οργανικά συστατικά του κρασιού προέρχονται από τις φλούδες και τα κουκούτσια των σταφυλιών και σε αυτά ανήκουν τα φαινολικά συστατικά του κρασιού, δηλαδή οι αντιοξειδωτικές ουσίες του. Τα οργανικά συστατικά του κρασιού είναι :

- ο Τα οργανικά οξέα, με βασικότερα το τρυγικό, μηλικό και κιτρικό οξύ, είναι υπεύθυνα για τη ξινή γεύση των κρασιών, τη διατήρηση του χρώματος των

κρασιών και παράλληλα προστατεύουν το κρασί από χημικούς και μικροβιολογικούς κινδύνους.

- Οι αλκοόλες και τα σάκχαρα, που αποδυναμώνουν τη ξινή γεύση των οξέων αλλά και την πικρή των φαινολικών ενώσεων, αφού αποτελούν τα γλυκά συστατικά των οίνων.
- Οι αρωματικές ενώσεις, στις οποίες οφείλεται το άρωμα του οίνου, με κύριες τις ανώτερες αλκοόλες, τους εστέρες, αλλά και δευτερεύουσες ενώσεις όπως οι κετόνες, οι αλδεΐδες, τα τερπένια και άλλες.
- Οι αζωτούχες ενώσεις, όπως οι πρωτεΐνες, τα αμινοξέα και τα πολυπεπίδια, τις βρίσκουμε στα στερεά μέρη των σταφυλιών και δίνουν το κρασί ιδιαίτερες αρωματικές ιδιότητες, ενώ ταυτόχρονα είναι και θρεπτικά στοιχεία των βακτηρίων και των ζυμών.
- Τα ένζυμα που περιέχονται σε πολυποίκιλο αριθμό στο κρασί, όπως οι καταλάσες, οι πρωτεάσες, οι οξειδάσες και άλλα.
- Οι βιταμίνες, που ενώ υπάρχουν ελαχιστότατα στο κρασί με τη μορφή οργανικών ενώσεων, αποτελούν απαραίτητο στοιχείο για την δημιουργία και διατήρηση των άκρως αναγκαίων οργανισμών για την αποφυγή των γνώριμων διαταραχών κατανάλωσης οίνων. Το κρασί είναι πλούσιο σε βιταμίνες με βασικότερες τις βιταμίνες C, B1, B2, B3, B4, B5, B6, B12 και άλλες.
- Οι φαινολικές ενώσεις, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη ρύθμιση της στυφάδας και τη γεύση των οίνων, συμβάλλουν στην παλαίωση των οίνων και προσφέρουν αντιβακτηριδιακή αλλά και αντιοξειδωτική προστασία. Αποτελούν ενώσεις της ομάδας της φαινόλης και διακρίνονται στα φαινολικά οξέα, τις φλαβόνες, τις ανθοκυάνες και τις ταννίνες.

Αυτά τα φαινολικά συστατικά του κρασιού διαχωρίζονται χημικά στις απλές φαινόλες και στις φλαβονοειδείς ενώσεις όπου και περιέχονται οι φλαβονόλες.

### **3.5.1. Οι Φαινόλες**

Οι Φαινόλες ή φαινολικά οξέα έχουν ιδιαίτερα σημαντική αξία γιατί προσφέρουν στο κρασί αντισηπτικές ιδιότητες, συμβάλλουν στη σωστή συντήρησή του και παρέχουν αντιβακτηριακή, αντιοξειδωτική και αντιβιοτική δράση και προστασία στο κρασί. Στις



κυριότερες φαινόλες περιέχονται τα βενζοϊκά οξέα, τα κινναμωμικά οξέα και τα στυλβένια, που συναντώνται στα κρασιά εκείνα όπου έχει γίνει παλαίωση σε δρύινα βαρέλια. Στα λευκά κρασιά οι φαινόλες είναι σε μικρή ποσότητα και περιεκτικότητα, δηλαδή περίπου στα 10 - 15 mg ανά λίτρο, ενώ στα κόκκινα κρασιά είναι περίπου στα 100 - 150 mg ανά λίτρο (Cejudo-Bastante et al., 2015).

Τα φαινολικά μπορούν να ταξινομηθούν στα флаβονοειδή (π.χ. ανθοκυανίνες, флаβαν-3-όλες, флаβονόλες) και στα μη флаβονοειδή (π.χ. φαινολικά οξέα, στυλβένια) (Cejudo-Bastante et al., 2015; Ragusa et al., 2017).

Οι φαινολικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται συνήθως για την αξιολόγηση της ποιότητας και της γνησιότητας του κρασιού είναι τα φαινολικά οξέα, τα флаβονοειδή, οι τανίνες και τα στυλβένια (Merkytė et al., 2020).

Υπάρχουν δύο κύριες ομάδες φαινολικών οξέων που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της ποιότητας και της αυθεντικότητας και είναι σημαντικά για τα λευκά σταφύλια και κρασιά:

- υδροξυβενζοϊκά οξέα (που περιέχουν επτά άτομα άνθρακα) και
- υδροξυκινναμωμικά οξέα (εννέα άτομα άνθρακα).

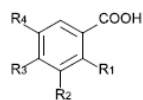
Τα κινναμωμικά οξέα (π.χ. καφεϊκό, κουμαρικό, φερουλικό και σιναπικό) μπορούν να σχηματίσουν cis και trans ισομερή λόγω της παρουσίας διπλού δεσμού. Τα υδροξυβενζοϊκά και υδροξυκινναμωμικά οξέα δεν απαντώνται μόνο στις ελεύθερες μορφές τους αλλά και ως συζευγμένα παράγωγα ή εστεροποιημένες μορφές (Merkytė et al., 2020). Για παράδειγμα, τα υδροξυκινναμωμικά οξέα στο κρασί παράγονται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης από την υδρόλυση του υδροξυκινναμωμικού εστέρα του τρυγικού οξέος (Pavloušek & Kumšta, 2013; Di Lecce et al., 2013).

Τα οξέα αυτά μπορούν να αποτελούν υποστρώματα οξειδωσης, δηλαδή πρόδρομες ουσίες οι οποίες μετά από οξείδωση οδηγούν στον καφέ χρωματισμό των λευκών οίνων και αποδίδουν μία πικρή γεύση (Pavloušek & Kumšta, 2013; Boselli, et al., 2010).

Τα флаβονοειδή είναι ενώσεις αποτελούμενες από 15 άτομα άνθρακα που περιλαμβάνουν δύο αρωματικούς δακτυλίους, οι οποίοι συνδέονται μέσω μιας ανθρακικής αλυσίδας C6-C3-C6. Τα флаβονοειδή είναι η πιο άφθονη οικογένεια φαινολικών ενώσεων στα σταφύλια και τους οίνους, στην οποία ανήκουν οι флаβόνες, οι флаβονόλες, οι

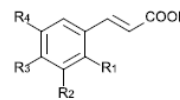
φλαβανόνες, οι φλαβανόλες και οι ανθοκυανίνες. Απαντώνται τόσο σε ελεύθερη μορφή, όσο και συζευγμένα, π.χ. μορφή γλυκοζιτών (Merkytė et al., 2020; Lorrain et al., 2013).

#### Hydroxybenzoic acids

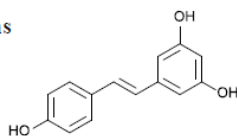


	R1	R2	R3	R4	
<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	H	H	OH	H	<i>p</i> -coumaric acid
protocatechuic acid	H	OH	OH	H	caffeic acid
vanillic acid	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	ferulic acid
gallic acid	H	OH	OH	OH	
syringic acid	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	sinapic acid

#### Hydroxycinnamic acids

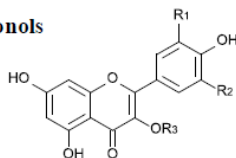


#### Stilbens



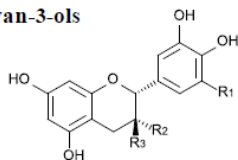
Trans-resveratrol

#### Flavonols

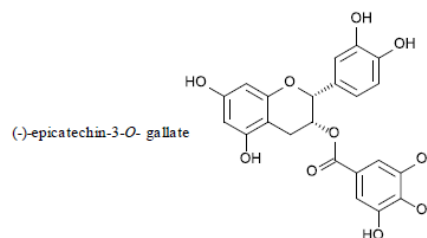


	R1	R2	R3
kaempferol	H	H	H
quercetol	OH	H	H
myricetol	OH	OH	H
isorhamnetol	OCH <sub>3</sub>	H	H

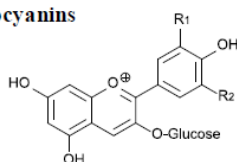
#### Flavan-3-ols



	R1	R2	R3
(+)-catechin	H	H	OH
(-)-epicatechin	H	OH	H
(+)-gallocatechin	OH	H	OH
(-)-epigallocatechin	OH	OH	H



#### Anthocyanins



	R1	R2
cyanidin-3-O-gluc	OH	H
delphinidin-3-O-gluc	OH	OH
paeonidin-3-O-gluc	OCH <sub>3</sub>	H
petunidin-3-O-gluc	OCH <sub>3</sub>	OH
malvidin-3-O-gluc	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

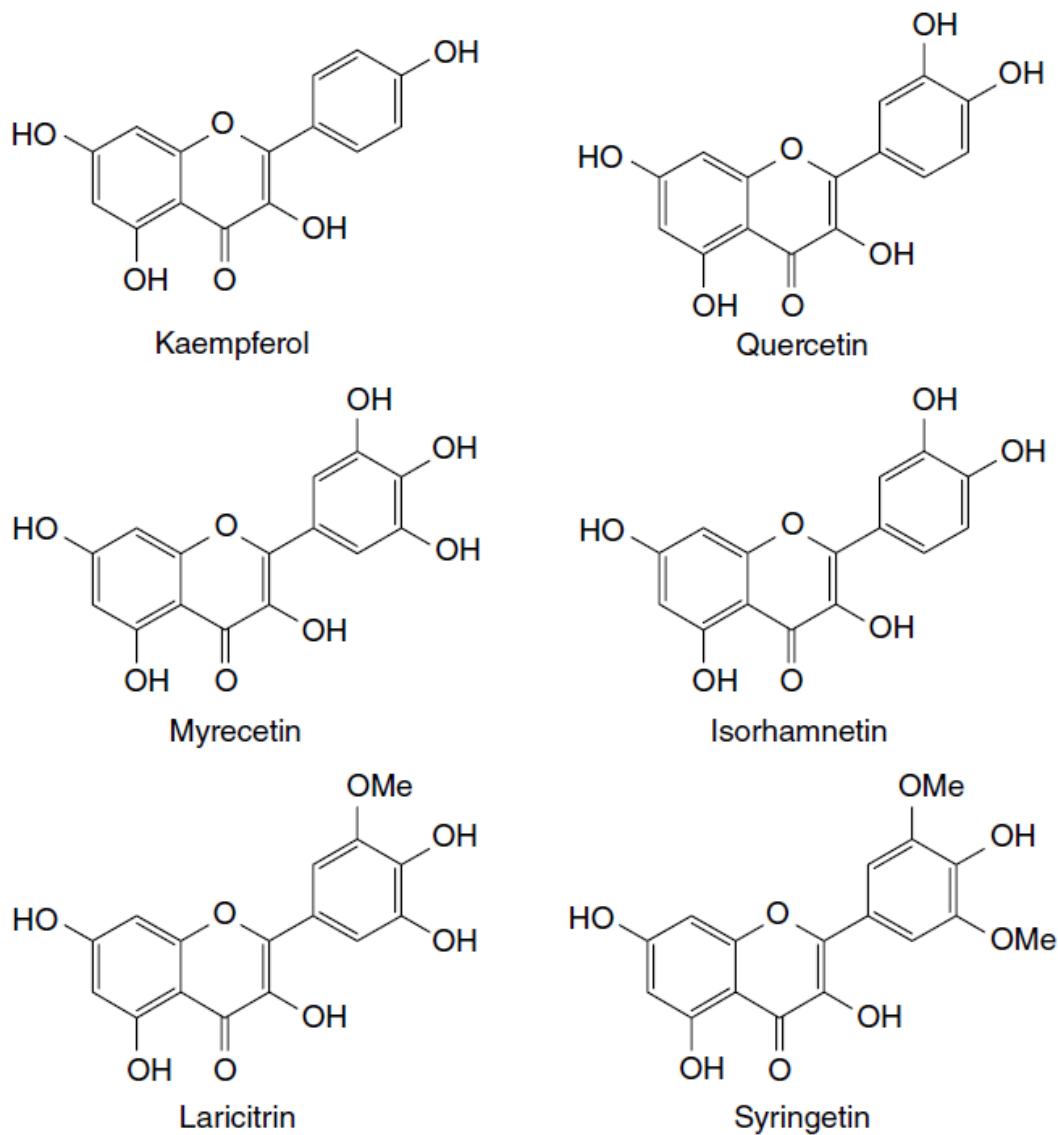
Εικόνα 1: Δομές μονομερών φαινολικών ενώσεων στα σταφύλια και στους οίνους [7].

Πηγή: Lorrain et al., 2013

### 3.5.2. Οι Φλαβονόλες

Αυτή η κατηγορία ενώσεων απαντάται πάντα σε γλυκοζυλιωμένη μορφή στα φυτά, συμπεριλαμβανομένων των σταφυλιών, όπου οι φλαβονόλες εντοπίζονται στο φλοιό τους (Andrew et al., 2016). Οι κύριοι γλυκοζίτες στα σταφύλια περιλαμβάνουν τους 3-O-γλυκοζίτες καθώς και τα 3-O-γλυκουρονίδια (Castillo-Munoz et al., 2007). Οι φλαβονόλες έχουν ένα ακόρεστο δεσμό μεταξύ των θέσεων C2 και C3, υδροξυλιώνονται στη θέση C3 και έχουν μια καρβονυλική ομάδα στη θέση C4 του κεντρικού δακτυλίου της δομής τους (Merkytė et al., 2020). Στα σταφύλια και το κρασί εντοπίζονται και άγλυκες μορφές των φλαβονολών, με τις κυριότερες ενώσεις τις κερκετίνη, μυρικετίνη, λαρικιτρίνη και

καμφερόλη. Επιπλέον, στα κρασιά έχουν ανιχνευτεί σε μικρότερα επίπεδα και οι ενώσεις ισοραμνετίνη και συριγκετίνη (Andrew et al., 2016).



**Εικόνα 2:** Δομές φλαβονολών

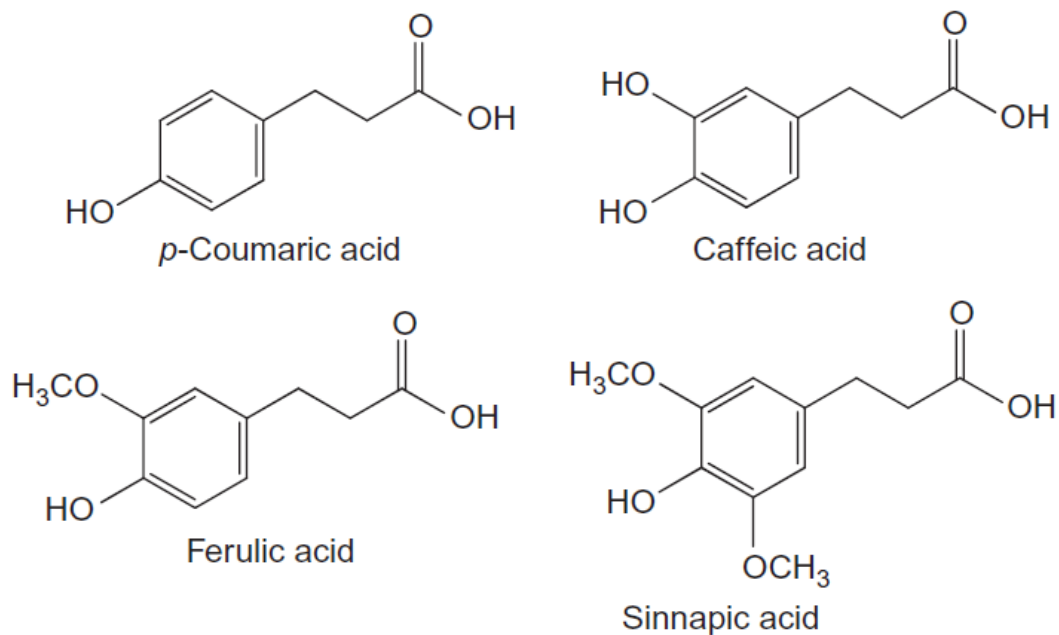
Πηγές: Andrew et al., 2016

Αποτελούν κίτρινες χρωστικές (flavus=κίτρινο στα λατινικά) και προκύπτουν μετά από εκχύλιση του φλοιού των σταφυλιών. Επομένως, η συγκέντρωσή τους στους κόκκινους οίνους είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τους λευκούς. Δεδομένου ότι οι φλαβονόλες απορροφούν έντονα το υπεριώδες φως στα 360 nm και βρίσκονται κυρίως στον εξωτερικό φλοιό των ραγών, φαίνεται ότι το φυτό παράγει αυτές τις ενώσεις για προστασία από την ηλιακή ακτινοβολία (Andrew et al., 2016). Επειδή οι φλαβονόλες συσχετίζονται με την

έκθεση του σταφυλιού στον ήλιο, τα επίπεδα συγκεντρώσεών τους μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης ποιότητας για τα κόκκινα σταφύλια (Ritchey & Waterhouse, 1999).

### 3.5.3 Υδροξυ-κινναμωμικά

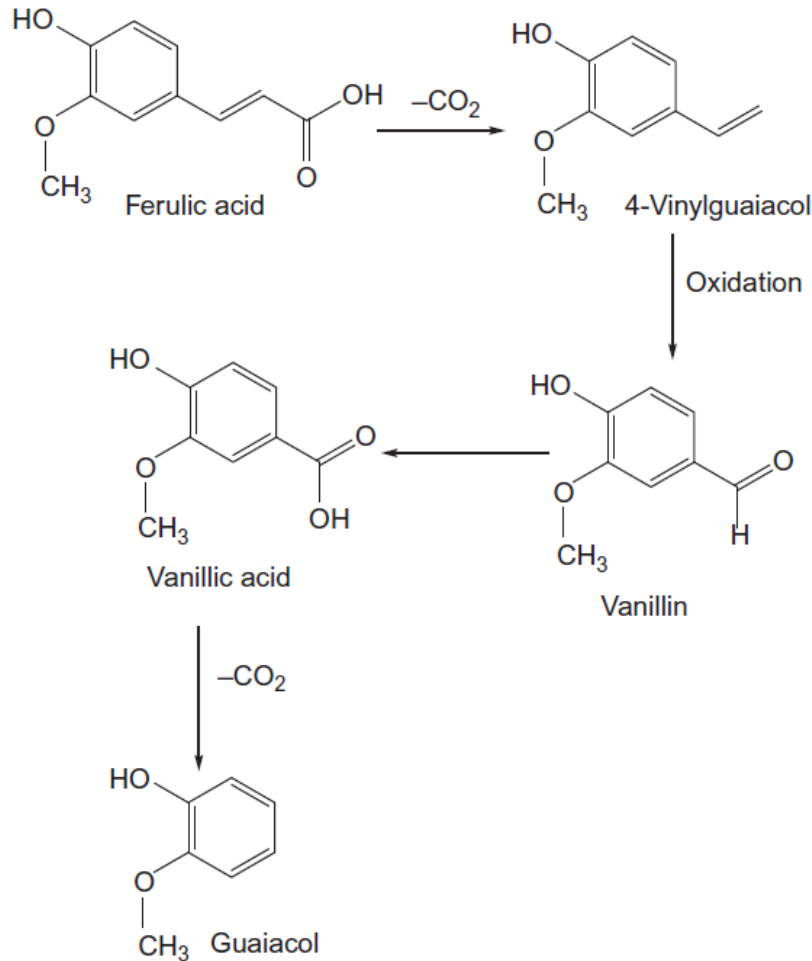
Δομικά, τα υδροξυκινναμωμικά οξέα έχουν ένα σκελετό C6-C3. Παράδειγμα των ενώσεων αυτών είναι το *p*-κουμαρικό οξύ που αποτελεί και τη μητρική ένωση, καθώς και το καφεϊκό οξύ, το φερουλικό οξύ, το σινναπικό οξύ και τα παράγωγά τους (Hesham R. El-Seedi et al., 2018).



**Εικόνα 3:** Δομές υδροξυ-κινναμωμικών οξέων

Πηγή: Hesham R. El-Seedi et al., 2018

Οι ενώσεις αυτές μπορούν να επηρεάσουν τη γεύση και το άρωμα στα τρόφιμα με πολλούς διαφορετικούς μηχανισμούς. Για παράδειγμα, μπορούν να αποικοδομηθούν προς σχηματισμό περισσότερο δραστικών ως προς το άρωμα και τη γεύση ενώσεων (Hesham R. El-Seedi et al., 2018).



**Εικόνα 4:** Σχηματισμός γουαϊακόλης μετά από θερμική αποικοδόμηση του φερουλικού οξέος Πηγή: (Hesham R. El-Seedi et al., 2018).

Τα υδροξυκινναμωμικά είναι οργανικά οξέα που υπάρχουν φυσικά στα σταφύλια και στους οίνους ως εστέρες τρυγικού οξέος. Η περιεκτικότητά τους ποικίλλει ευρέως ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας των σταφυλιών (Hesham R. El-Seedi et al., 2018). Τα υδροξυκινναμωμικά υπάρχουν στο λευκό κρασί και μπορούν να απελευθερωθούν από το τρυγικό οξύ με υδρόλυση κατά την διάρκεια αποθήκευσης και την ωρίμανσης, με ή χωρίς τη βοήθεια ενζυμικής κατάλυσης (Hixson et al., 2012).

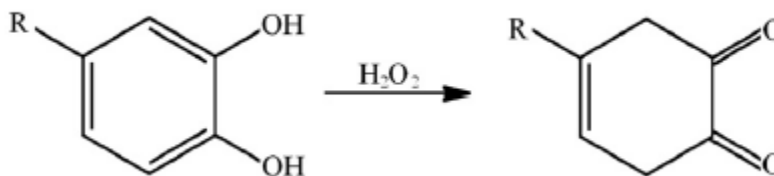
Τα υδροξυκινναμωμικά επηρεάζουν το χρώμα και τη γεύση των κρασιών. Συγκεκριμένα, μπορούν να λειτουργήσουν ως χρωστικές ουσίες που συνδέονται με τις ανθοκυανίνες και έτσι σταθεροποιούν την το χρώμα του κρασιού (Hernández, et al., 2006). Μπορούν, επίσης, να ενισχύουν τη συντηρητική δράση του διοξειδίου του θείου, το οποίο βοηθά στην προστασία του κρασιού από τις επιδράσεις του οξυγόνου

(Bradshaw et al., 2011; Clark, et al., 2010). Το 2007, οι Roussis et al. έδειξαν ότι το καφεϊκό οξύ ή/και η γλουταθειόνη μείωσαν τις απώλειες αρκετών πτητικών αρωματικών ενώσεων από τα κρασιά ακόμη και όταν περιείχαν σχετικά χαμηλά επίπεδα ελεύθερου διοξειδίου του θείου ιδέα (δηλαδή, 35 mg/L αντί 55 mg/L) (Roussis et al., 2007).

#### 3.5.4 Ο-διφαινόλες

Οι φαινόλες ιδιαίτερα οι ο-διφαινόλες είναι υπεύθυνες για την οξειδωτική καστάνωση του κρασιού. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να διαχωριστεί σε ενζυμική και μη ενζυμική καστάνωση. Η πρώτη περίπτωση λαμβάνει χώρα σχεδόν εξ ολοκλήρου στο γλεύκος των σταφυλιών ενώ η δεύτερη περίπτωση μπορεί να συμβεί τόσο στον μούστο, όσο και στο κρασί, ως αποτέλεσμα της ζύμωσης και περαιτέρω διεργασιών. Η ενζυμική οξείδωση των φαινολών, παρουσία ατμοσφαιρικού οξυγόνου και πολυφαινολοοξειδάσης, λαμβάνει χώρα στα αρχικά στάδια της επεξεργασίας. Η πολυφαινολοοξειδάση είναι ένα ένζυμο που περιέχει χαλκό και είναι ικανό για την οξείδωση υποστρωμάτων χαρακτηριστικών για την τυροσινάση και τη λακκάση. Η τυροσινάση, που ονομάζεται επίσης κατεχολάση, παράγεται φυσικά στα σταφύλια και μπορεί να καταλύσει την οξείδωση μονοφαινολών και ο-διφαινολών (Hua et al., 2008).

Κατά τη διαδικασία της μη ενζυμικής οξείδωσης (χημική οξείδωση) του κρασιού οι ο-διφαινόλες οξειδώνονται σε ο-κινόνες και ημι-κινόνες και μπορεί να παραχθούν ελεύθερες ρίζες, ενώ το οξυγόνο ανάγεται σε  $H_2O_2$  (Hua et al., 2008).ο-διφαινόλες, όπως το καφεϊκό οξύ και οι εστέρες του, η κατεχίνη, η επικατεχίνη, οι ανθοκυανίνες και τα παράγωγά τους, και το γαλλικό οξύ, είναι πιο ευαίσθητες στην μη ενζυμική οξείδωση. Οι παραγόμενες κινόνες δεν είναι σταθερές ενώσεις και μπορούν να υποστούν περαιτέρω αντιδράσεις, οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν σχηματισμό χρωστικής, παρόμοια με τη καστάνωση που δημιουργείται από την ενζυμικά καταλυόμενη διαδικασία (Mitic et al., 2014).



Εικόνα 5: Οξείδωση ο-διφαινόλης

Πηγή: Mitic et al., 2014

### 3.5.5. Τα Χρωματικά Χαρακτηριστικά του Οίνου

Τα χρωματικά χαρακτηριστικά του το κρασί τα οφείλει στα φαινολικά συστατικά του, ενώ τη σταθερότητα του χρώματός του σχετίζεται ανάλογα με το επίπεδο πολυμερισμού που υπάρχει μεταξύ των ανθοκυάνων και των φαινολικών ενώσεων.

Επειδή το χρώμα στα κόκκινα κρασιά οφείλεται κυρίως στις ανθοκυάνες που προκύπτουν στη διάρκεια της ζύμωσης από τις φλούδες των σταφυλιών, τα φαινολικά συστατικά είναι ευεργετικά και έτσι πραγματοποιείται η αλκοολική ζύμωση μαζί με τα σταφύλια και έχουμε το έντονο κόκκινο χρώμα που επιθυμούμε και την ιδιαίτερη γεύση που χαρακτηρίζει τα κόκκινα κρασιά.

Ενώ στα λευκά κρασιά, ιδανικότερο είναι να έχουμε την όσο πιο δυνατό χαμηλότερη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών και ασφαλώς των χρωστικών, κάτι που επιτυγχάνεται με τη σωστή και ιδανική ποικιλία σταφυλιού, τον σωστά συγχρονισμένο χρόνο του τρύγου, στον βαθμό ωριμότητας του σταφυλιού, αλλά και με το να παραλαμβάνουμε μούστο (γλεύκος) με απαλές ή και καθόλου εάν είναι εφικτό πίεση.

Μέγιστη και ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στην οξείδωση των φαινολών, ώστε να μην προκληθούν στο κρασί δυσάρεστες αλλοιώσεις, όπως η αποδυνάμωση τόσο στη γεύση όσο και στο χρώμα του, το οποίο παρουσιάζει μια καφέ απόχρωση η οποία είναι σχετική με την περιεκτικότητα που είχαν αρχικά τα υδροξυκινναμωμικά οξέα στο γλεύκος.

Εάν διατηρήσουμε μαζί το μούστο που θα ζυμωθεί με τα σταφύλια για 3 έως 5 ημέρες, τότε θα φτάσουμε στο μέγιστο της έντασης από τα κόκκινα σταφύλια. Στη συνέχεια, με την αλκοολική ζύμωση δημιουργείται η αιθανόλη η οποία από τις φλούδες των ρωγών των σταφυλιών θα εκχυλίσει τις ανθοκυάνες, οι οποίες διαλύονται στο οινόπνευμα και με αυτόν τον τρόπο θα προσφέρει το επιθυμητό κόκκινο χρώμα στο κρασί. Μετά όμως το πέρας αυτών των 3-5 ημερών επιβάλλεται να ξεχωριστεί ο μούστος από τα σταφύλια, ώστε να μην αλλοιωθεί η γεύση του κρασιού και να μην ευνοηθούν λοιποί παράγοντες, που δίνουν στο κρασί ανεπιθύμητη τραχύτητα στη γεύση του.

Για να υπολογίσουμε την ένταση του χρώματος ενός κρασιού, θα πρέπει να αθροίσουμε τις απορροφήσεις που σημειώνει το κρασί στα 420mm και στα 520mm, ενώ για να υπολογίσουμε την απόχρωση του χρώματος ενός κρασιού, θα πρέπει να διαιρέσουμε τις δύο παραπάνω απορροφήσεις του κρασιού. Έτσι, με αυτόν τον τρόπο είναι εφικτός ο

εύκολος έλεγχος στη μεταβολή του κόκκινου χρώματος στη διάρκεια της οινοποίησης και κατά συνέπεια, όταν επέλθει το επιθυμητό κόκκινο χρώμα, να γίνει άμεσα η αφαίρεση του μούστου από τα σταφύλια. Όμως αυτά τα απαραίτητα στοιχεία και πληροφορίες για την αλλαγή στο χρώμα του κρασιού, λαμβάνονται και από λοιπές επεξεργασίες, όπως για παράδειγμα από τη διαύγαση, τη θείωση και την ανάμειξη των κρασιών.

Η τιμή απορρόφησης στα 420nm για τα λευκά κρασιά πρέπει να κυμαίνεται σε τιμές από 0,068 – 0,150. Στα κόκκινα κρασιά, η μείωση του χρωματισμού στα A420 + A520 πρέπει να βρίσκεται σε τιμή ανάμεσα 1,50 – 13,50, ενώ ο δείκτης απόχρωσης πρέπει να βρίσκεται σε τιμές από 0,47 – 1,02 (Πολίτης, 1997).

### **3.6. Τα αντιοξειδωτικά στα Σταφύλια**

Σύμφωνα με τη μελέτη του Alonso et al. (Πρεβέντη, 2007), όπου και αναλύθηκαν με τη μέθοδο HPLC τα συστατικά διαφόρων λευκών και κόκκινων ποικιλιών σταφυλιών, φάνηκε πως οι πολυφαινόλες κατεχίνη, επιγαλλοκατεχίνη, επικατεχίνη, cis-κουμαρικό οξύ, καφταρικό οξύ και trans-κουμαρικό οξύ, υπάρχουν και στους λευκούς και στους ερυθρούς οίνους.

Σε διάφορες μελέτες που έγιναν, σχετικές με τα αντιοξειδωτικά που έχουν τα σταφύλια, έχει παρατηρηθεί ότι υπάρχουν πολυφαινόλες με διάφορες δομές.

Αυτές με τις πιο απλές δομές είναι οι μονοφαινόλες, οι διφαινόλες και οι τριφαινόλες, όπως για παράδειγμα η βανιλίνη, η πυροκατεχόλη, η ρ-υδροξυβενζαλδεΐδες, η ρεσορκινόλη και τα βενζοϊκά οξέα, όπως για παράδειγμα το βανιλικό, το γαλλικό, το συριγγικό και το σαλικυλικό οξύ. Επίσης είναι και τα υδροξυκιναμωμικά οξέα, όπως για παράδειγμα το φερουλικό, το καφεϊκό και το ρ-κουμαρικό, αλλά και μετά την αντίδραση με τρυγικό οξύ, οι εστέρες ρ-κουμαρικού οξέος.

Οι πολυφαινόλες των σταφυλιών με πιο σύνθετες δομές, διαθέτουν δύο ή και περισσότερους αρωματικούς δακτύλιους, όπως για παράδειγμα οι βενζοπυρόνες, οι κουμαρίνες και τα κατιόντα φλαβυλίου και δημιουργούν ανθοκυανιδίνες, φλαβανόλες και γλυκοζίτες. Στους ερυθρούς οίνους οι γλυκοζίτες κερκετίνης, καμπφερόλης και μυρισετίνης έρχονται σε αντίδραση με τις ανθοκυανιδίνες για να δημιουργήσουν τις ταννίνες, οι οποίες και είναι οι κυρίως υπεύθυνες για το λευκό χρώμα, τόσο στα σταφύλια



όσο και στο κρασί. Στο σκελετό και στη δομή των ανθοκυανιδίων υπάρχει κατιόν βενζοπυρολλίου, το οποίο και ευθύνεται για το κόκκινο χρώμα, τόσο στα σταφύλια όσο και στο κρασί.

Επίσης, στα σταφύλια υπάρχουν και οι φλαβονοτριόλες, όπως για παράδειγμα η κατεχίνη, η επιγαλλοκατεχίνη, η γαλλοκατεχίνη και η επικατεχίνη, ενώ οι σημαντικότερες ανθοκυανιδίνες που υπάρχουν στα κρασιά είναι οι γλυκοζίτες της μαλβιδίνης, της κυανιδίνης, της δελφινιδίνης και της πετουνιδίνης (Πρεβέντης, 2007).

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν πως τα κόκκινα σταφύλια διαθέτουν πιο μεγάλο πολυφαινόλικό περιεχόμενο από ότι τα λευκά. Με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (FC) και μεταξύ λευκών και κόκκινων σταφυλιών που παρουσίαζαν τον ίδιο συνολικό πολυφαινόλικό βαθμό, προέκυψαν σημαντικές διαφορές σε σχέση με την αντιοξειδωτική δράση, με αποτέλεσμα τα κόκκινα κρασιά να είναι τα καλύτερα.

### **3.7. Πολυφαινόλες από το Σταφύλι στο Κρασί**

Οι πολυφαινόλες που έχει το κρασί του προσδίδουν αντιμικροβιακές ιδιότητες και επενεργούν στην εμφάνιση, στο άρωμα και στη γεύση του. Το ότι το κόκκινο κρασί έχει πολύ μεγαλύτερο αριθμό πολυφαινολών από ότι το λευκό, σχεδόν δεκαπλάσιο, οφείλεται στην ποικιλία των σταφυλιών και στον τρόπο παραγωγής των κρασιών ανάλογα με το είδος σταφυλιού. Οι πολυφαινόλες υπάρχουν κυρίως στις φλούδες των σταφυλιών, αλλά και στα κοτσάνια και στα κουκούτσια τους (Μάντη, 2007).

Κατά την παραγωγή των λευκών οίνων, ο μούστος διαχωρίζεται από τις φλούδες και τους σπόρους των σταφυλιών, ενώ κατά την παραγωγή των ερυθρών οίνων, ο μούστος βρίσκεται μαζί με τις φλούδες, τους σπόρους και τα κοτσάνια των σταφυλιών, επομένως έχουμε περισσότερες πολυφαινόλες στον ερυθρό οίνο (Μάντη, 2007).

### 3.8. Η Επίδραση του Κρασιού στην Ανθρώπινη Υγεία

«Το κρασί, αν χρησιμοποιηθεί κατάλληλα και με μέτρο, ανάλογα με τον άνθρωπο, είναι άριστο τόσο για την υγεία, όσο και για την αρρώστια» (Ιπποκράτης, 460-377 π.Χ., Πατέρας της Ιατρικής).

Το κρασί έχει ιδιαίτερη ευεργετική επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό και σύμφωνα με το πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής η στα λογικά πλαίσια κατανάλωσή του, περίπου 1-2 ποτήρια την ημέρα, συμβάλλει στη πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων, έχει αντικαρκινική δράση, παρέχει ισχυρή αντιφλεγμονώδη αλλά και αντιμικροβιακή δράση και προστασία και σε πολλές περιπτώσεις συμβάλλει στη μείωση του ποσοστού θανάτων από κάποιο νόσημα.

Οι ευεργετικές ενέργειες του κρασιού οφείλονται στα διάφορα μικροσυστατικά που έχει το σταφύλι, όπως για παράδειγμα στα φλαβονοειδή, στη ρεσβερατρόλη και στις ανθοκυανίνες. Η ρεσβερατρόλη καταπολεμά διάφορους τύπους καρκίνου, εμποδίζει την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων, αυξάνει την καλή χοληστερόλη μειώνοντας την κακή, εμποδίζει την καταστροφή αιμοφόρων αγγείων, επιδρά ευεργετικά στη νόσο του Alzheimer, αποτρέπει έως ένα βαθμό τον διαβήτη τύπου 2 συμβάλλοντας στη ρύθμιση της ινσουλίνης και παρέχει αντιφλεγμονώδη δράση για ψυχικές διαταραχές και ασθένειες των πνευμόνων. Οι χρωστικές ουσίες ανθοκυανίνες συμβάλλουν στην εξόντωση των κυττάρων λευχαιμίας, αλλά και στη συντήρηση του βάρους.

Για τα θετικά του κρασιού στον άνθρωπο, έχουν διενεργηθεί πολλές μελέτες και όλες έχουν δείξει πως το κρασί διαθέτει τα ακόλουθα :

- 1. Αγγειοδιασταλτική Δράση :** το 2008 οι Rathel και οι συνεργάτες διεξήγαγαν μια μελέτη σχετικά με το εάν το κρασί επιδρά στην ενδοθηλιακή συνθάση μονοξειδίου του αζώτου. Η μελέτη αυτή έδειξε πως με την ενδοθηλιακή συνθάση απελευθερώνεται NO (νιτρικό οξείδιο), το οποίο αποτελεί ένα προστατευτικό μόριο πλούσιο σε αγγειοδιασταλτικές ικανότητες, εμποδίζει την συγκέντρωση των λεμφοκυττάρων, των αιμοπεταλίων, την εκδήλωση των γονιδίων και την αύξηση των λείων μυϊκών κυττάρων, που όλα αυτά σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση και επομένως προσφέρει προστασία από την αρτηριοσκλήρυνση (Καλαθάρα,

2008). Αποτέλεσμα της μελέτης είναι πως το κρασί έχει σημαντικό ενισχυτικό ρόλο στην εκδήλωση της ενδοθηλιακής συνθήκης του νιτρικού οξειδίου.

Σε γενικές γραμμές, το κρασί συμβάλλει στα καρδιαγγειακά νοσήματα, στην καρδιακή προστασία, στη διαδικασία πήξης του αίματος, στην αγγειακή λειτουργία, αλλά και στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

- 2. Αντιθρομβωτική Δράση :** υπάρχουν στο εμπόριο διάφορα αντιπηκτικά αντιθρομβωτικά φάρμακα που αναστέλλουν τις επιδράσεις της βιταμίνης Κ, αυξάνοντας την κυκλοφορία του αίματος σε ολόκληρο το σώμα, συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο την πρόληψη των εγκεφαλικών επεισοδίων και τα καρδιακά προβλήματα. Σε ορισμένες περιπτώσεις όμως καλό θα ήταν να τα εντάξουμε στη καθημερινή διατροφή μας μέσα από τρόφιμα που είναι φυσικά αραιωτικά του αίματος, όπως είναι και το κρασί.

Η πρόωρη αποδόμηση των εξωκυτταρικών μεταλλοπρωτεϊνών, η αύξηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και η ωρίμανση των αγγείων, εκδηλώνει την αγγειογένεση ή αλλιώς την αθηρωματογένεση. Η αντιαγγειογόνος ενέργεια που διαθέτουν οι πολυφαινόλες προλαμβάνει την εκδήλωση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). Η πλασμίνη και η θρομβίνη αποτελούν φυσιολογικοί ενεργοποιητές των μεταλλοπρωτεϊνών (Καλαθάρα, 2008).

Οι πολυφαινόλες που περιέχονται στο κρασί, αναστέλλοντας την δράση της θρομβίνης, συμβάλλουν στην πρόληψη της ενεργοποίησης των μεταλλοπρωτεϊνών στα λεία μυϊκά κύτταρα. Αυτή η δράση που αναστέλλεται διακρίνεται σε περιεκτικότητα πολυφαινολών των 3 mg ανά λίτρο, ενώ σε αντίστοιχο πείραμα διάρκειας μίας εβδομάδας σε άτομα που έπιναν 300 ml ερυθρό κρασί την ημέρα, καταγράφηκε αξιόλογη μείωση της συγκέντρωσης αιμοπεταλίων.

- 3. Αντιφλεγμονώδη Δράση :** η φλεγμονή αποτελεί μία σωματική αντίδραση εξαιτίας ενός προβλήματος, μιας βλάβης και υπάρχει η πιθανότητα πως η χρόνια αλλά μικρού μεγέθους φλεγμονή σαν αντίδραση σε κάτι που δημιουργεί άγχος και στρες, όπως για παράδειγμα το αυξημένο σωματικό βάρος, το κάπνισμα, οι υψηλές τιμές χοληστερόλης και άλλα, συμβάλλει στην εμφάνιση πλακών στα εσωτερικά

μέρη των πλακών. Μια τέτοιου είδους φλεγμονή δύναται ακόμη και να προκαλέσει στις πλάκες ευαισθησία στην αιμορραγία ή ακόμη και να δημιουργήσει θρόμβους με επακόλουθο την πρόκληση κάποιου εμφράγματος. Μάλιστα έως πρόσφατα, η αθηρωματική πλάκα αλλά και η αύξηση της χοληστερόλης στο αίμα θεωρούνταν υπαίτιες για την εμφάνιση των στεφανιαίων νοσημάτων, όμως στις μέρες μας πια έχει παρατηρηθεί ότι τα στεφανιαία νοσήματα σχετίζονται και μάλιστα σε μεγάλο βαθμό, με την ύπαρξη φλεγμονής στα στεφανιαία αγγεία (Καλαθάρα, 2008).

Μία έρευνα που πραγματοποίησε το Πανεπιστήμιο της Βαρκελώνης, σε σχέση με τις πιθανές επιδράσεις του κρασιού στη φλεγμονή, κατέληξε πως οι γυναίκες που καταναλώνουν κρασί, σε μέτριες ποσότητες ασφαλώς, δύναται να έχουν μικρότερη φλεγμονή στα αιμοφόρα αγγεία τους (Καλαθάρα, 2008).

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF) αποτελεί ένα δραστικό μεσολαβητή της φλεγμονής, με πολλές βιολογικές δράσεις, όπως καρδιαγγειακές δράσεις, δράσεις στο ήπαρ και στο κεντρικό νευρικό σύστημα του ανθρώπου, συσσώρευση αιμοπεταλίων, τα οποία είναι σημαντικότερα στη περίπτωση που κάποιο αγγείο τραυματιστεί και σχηματίσει θρόμβο, δηλαδή πήξιμο του αίματος, ενεργοποίηση λευκοκυττάρων, αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων και άλλες ευεργετικές δράσεις. Όταν τα επίπεδα του PAF είναι υψηλά λόγω μιας χρόνιας φλεγμονής, αυτό συντελεί σημαντικά στην δημιουργία και εμφάνιση αθηροσκλήρωσης και αθηρωματικής πλάκας, αλλά και τη πρόκληση καρδιολογικών και αγγειακών νόσων, εγκεφαλικών και εμφραγμάτων (Καλαθάρα, 2008).

- 4. Αντικαρκινική Δράση :** όπως προαναφέραμε, από τις πιο γνωστές πολυφαινόλες του κρασιού είναι η ρεσβερατρόλη, η οποία, σύμφωνα με εργαστηριακές μελέτες, έχει ιδιαίτερα προστατευτικά αποτελέσματα σε πολλούς κινδύνους της ανθρώπινης υγείας. Διακρίνεται για δύο βασικά οφέλη, πρώτον καταπολεμά διάφορες μορφές καρκίνων δυσχεραίνοντας την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων και δεύτερον καταπολεμά τα καρδιαγγειακά νοσήματα εμποδίζοντας την καταστροφή των αιμοφόρων αγγείων.

Η ρεσβερατρόλη διαθέτει όλα εκείνα τα απαραίτητα στοιχεία και ιδιότητες που έχει η άψογη φυσική αντικαρκινική ουσία, δηλαδή υψηλής ποιότητας

αποτελεσματικότητα, ελάχιστη σχεδόν μηδενική ή και καμία τοξική επίδραση στα υγιή κύτταρα, δυνατότητα να εισέλθει στον ανθρώπινο οργανισμό από το στόμα με την κατάποση και μικρό κόστος. Η ρεσβερατρόλη διακόπτει και αναβάλλει την αρχή του καρκίνου του δέρματος και συμβάλλει στα στάδια της θεραπείας του.

Μια άλλη πολυφαινόλη του κρασιού είναι η κερκετίνη, η οποία αναστέλλει τον καρκίνο του παχέος εντέρου, του στομάχου, του μαστού και του προστάτη. Επιπροσθέτως, η κατεχίνη εμποδίζει και περιορίζει την ανάπτυξη των κυτταρικών γραμμών στον άνθρωπο, κυτταρικών γραμμών από τον μαστό και τον προστάτη. Επίσης η κατεχίνη συμβάλλει στην αναστολή της καρκινογένεσης από τα κύτταρα του ήπατος.

Αποτελέσματα διαφόρων ερευνών έδειξαν πως το κρασί εάν καταναλώνεται σε λογικές ποσότητες δεν επιφέρει την παρουσία των περισσότερων τύπων καρκίνου, το αντίθετο μάλιστα, δηλαδή η υπερβολική κατανάλωση του κρασιού συμβάλλει στην αύξηση του κινδύνου για παρουσίαση τύπων καρκίνου, όπως για παράδειγμα καρκίνου του ήπατος που είναι και ο πιο σχετικός. Η μέτρια κατανάλωση κρασιού σχετίζεται με μείωση εμφάνισης του καρκίνου κατά 22%.

- 5. Αντιμικροβιακή και Αντιβακτηριδιακή Δράση :** η αξιόλογη χημική άμυνα που αναδεικνύουν τα φυτά όταν δέχονται επιθέσεις από μικροοργανισμούς και μικρόβια βασίζεται στην αξιοποίηση των ουσιών που έχουν, όπως τις φλαβονόλες. Ένα παράδειγμα αποτελούν οι ταννίνες, οι οποίες ως γνωστό παρέχουν την απαραίτητη προστασία που χρειάζονται τα φυτά απέναντι στον κίνδυνο από τα διάφορα φυτοφάγα ζώα, αποδυναμώνουν την ευαισθησία των φυτών κάνοντάς τα πιο ανθεκτικά σε τυχόν παθογενέσεις και προστατεύουν τους ιστούς, όπως για παράδειγμα το ξύλο. Η τοξική επίδραση μερικών τύπων ταννινών, δύναται να προκαλέσουν αναστολή στην ανάπτυξη διαφόρων νηματοειδών μυκήτων (Βερβερίδης, κ.α., 2007).

Η δράση του κρασιού, όσον αφορά την πρόληψη κατά της γαστρεντερικής μόλυνσης ενώ είναι γνωστή εδώ και περισσότερα από χίλια χρόνια, παραμένει ακόμη ιδιαίτερα περίπλοκη.

Αν και από τα τέλη του 1.800 μ.Χ. η αντιμικροβιακή δράση του αλκοόλ, γενικότερα, είχε ανακαλυφθεί, το αλκοόλ που έχει στη περιεκτικότητά του το κρασί

δεν είναι ιδιαίτερα αντιμικροβιακό, επομένως αυτή η αντιμικροβιακή δράση του κρασιού υφίσταται βασικά από τα λοιπά συστατικά του, όπως για παράδειγμα από τις φαινόλες του. Κατά τη ζύμωση η αλλαγή των ανθοκυάνων αυξάνει την τοξικότητα τους απέναντι σε ιούς, πρωτόζωα και βακτήρια (Καλαθάρα, 2008).

Το κρασί θεωρείται ως πιο δραστικό και ενεργητικό από τα διάφορα άλλα αντιμικροβιακά μέσα, όμως για να γίνει και να ολοκληρωθεί η πλήρη δράση του απαιτούνται πολλές ώρες και στις πιο πολλές φορές ο μηχανισμός δράσης των φαινολών παραμένει άγνωστος. Οι βακτηριοστατικές και μυκητοκτόνες ενώσεις, οι οποίες είναι φαινολικές ενώσεις που έχει το ερυθρό κρασί, έχουν ιδιαίτερα αποτελεσματική δράση ενάντια στο βακτήριο του σταφυλόκοκκου και του στρεπτόκοκκου (Καλαθάρα, 2008).

Πρέπει να αναφερθεί επίσης πως το κρασί έχει σημαντική δράση ενάντια σε πολλούς ιούς, όπως για παράδειγμα της πολιομυελίτιδας, του έρπη σε απλή μορφή του και της ηπατίτιδας Α'.

- 6. Αντιοξειδωτική Δράση :** από τις γνωστότερες φαινόλες του κρασιού είναι οι φλαβονόλες και οι στυλβενόλες και αυτό για την ιδιαίτερη δυνατότητά τους να απομακρύνουν τις ενεργές ρίζες οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), ενώ τώρα οι φλαβονόλες αναγνωρίζονται ολοένα και περισσότερο λόγω της επενέργειας που έχουν οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου στη γενικότερη φυσιολογία και μεταβολισμό, τόσο των φυτών, όσο και των ανθρώπων. Οι φλαβονόλες και μαζί και οι στυλβενόλες έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν αναστολή της δράσης των ελεύθερων ριζών οξυγόνου, με το να παράγουν ένζυμα, όπως είναι η λιποοξυδάση και η μικροσωμική μονοοξειδάση (Βερβερίδης, κ.α., 2007).

Οι φαινόλες που περιέχονται στο κρασί αποτελούν σημαντικά αντιοξειδωτικά, τόσο για το ίδιο το κρασί, εφόσον συμβάλλει στην καλύτερη και ορθότερη συντήρησή του, όσο και για τον ανθρώπινο οργανισμό. Οι φαινολικές ενώσεις του κρασιού λειτουργούν σαν εκκαθαριστές των ελεύθερων ριζών, κωλύουν τα προ-οξειδωτικά μέταλλα και παρέχουν την απαραίτητη προστασία στην LDL (την κακή χοληστερίνη) από την οξείδωση. Όλες αυτές οι ευεργεσίες συντελούν ιδιαίτερα στην πρόληψη της αθηρωματικής διαδικασίας, αλλά και των καρδιολογικών και αγγειακών παθήσεων. Η οξείδωση της LDL δημιουργεί τον παράγοντα

ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF, Platelet Activating Factor) αλλά και οξειδωμένα φωσφολιποειδή, όλα αυτά τα οποία δηλαδή σχετίζονται με την αθηρωμάτωση.

Η LDL χοληστερίνη, που είναι η κακή και βλαβερή χοληστερίνη, μεταφέρει τη χοληστερίνη από το ήπαρ στα κύτταρα. Όταν οι τιμές της LDL είναι υψηλές, τότε υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα να προκληθεί απόφραξη των αγγείων και ο κίνδυνος για καρδιαγγειακά νοσήματα να είναι υψηλότερος. Μετριάζοντας και μειώνοντας λοιπόν την LDL υπεροξειδάση περιορίζεται με αυτό τον τρόπο κάποια φάση του πρώτου σταδίου της αθηροσκλήρωσης και αυτό ίσως προκύπτει από την απαλλαγή από τις ελεύθερες ρίζες ή από την αναστολή της λιπογένεσης.

Υπάρχουν όμως και διάφορες ταννίνες, όπως οι κατεχίνες και οι επικατεχίνες, οι οποίες δείχνουν να προσφέρουν αντιοξειδωτική προστασία σε ορισμένα κυτταρικά συστατικά. Ορισμένα άλλα, ιδιαίτερα αξιολογής αξίας στην διατροφή του ανθρώπου, αντιοξειδωτικά είναι η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, το σελήνιο και η β-καροτίνη, η ύπαρξη των οποίων να μεν προσφέρει μια φυσική αντιοξειδωτική προστασία, είναι δε προστασία βραχυπρόθεσμη (Καλαθάρα, 2008).

Μια από τις πλέον γνωστές πολυφαινόλες του κρασιού, αλλά και πολύ αξιόλογο οξειδωτικό είναι η ρεσβερατρόλη, η οποία είναι μια φυσική ουσία, ένα φυτοχημικό που ανήκει στην κατηγορία των φυτοαλεξινών (phytoalexins) και για αυτό το λόγο αυτός ο τύπος πολυφαινόλης λέγεται αλλιώς και φυτοαλεξίνη. Πρόκειται για μία φαινόλη που παράγεται φυσικά από διάφορα φυτά σαν αμυντικός μηχανισμός τους. Προστατεύει τα φυτά από τις διάφορες ασθένειες, από τους εξωτερικούς εχθρούς (έντομα, μύκητες), από τις επιβλαβείς επιδράσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας, από τις βλαβερές οξειδώσεις, αλλά και από τις χαμηλές θερμοκρασίες. Έναντι όλων αυτών των κινδύνων, τα φυτά ως αμυντικό όπλο για την προστασία τους παράγουν την ρεσβερατρόλη.

Πολύ υψηλά επίπεδα ρεσβερατρόλης υπάρχουν στις φλούδες των σταφυλιών, οι οποίες κατά την οινοποιητική παραγωγική διαδικασία και συγκεκριμένα στο στάδιο της πίεσης των σταφυλιών, η ρεσβερατρόλη σκορπίζεται μέσα στον μούστο και περνάει έτσι και στο κρασί οι ευεργετικές ιδιότητες αυτής της πολυφαινόλης. Η αντιοξειδωτική της δράση είναι υψηλότερη σε σχέση με άλλα αντιοξειδωτικά,

όπως για παράδειγμα από τη βιταμίνη C και τη βιταμίνη E, που θεωρούνται πιο γνωστές. Η ρεσβερατρόλη εκτός από τα σταφύλια συναντάται επίσης στα μούρα, στα μύρτιλα, στα βατόμουρα, στα φιστίκια, στα ρόδια, στο πεύκο, στα φασόλια, στο κακάο και στους ξηρούς καρπούς.

Στη συγκέντρωση της πολυφαινόλης ρεσβερατρόλη στο κρασί επιδρούν τα εξής:

- ▶ **Η ποικιλία του σταφυλιού :** υπάρχουν ορισμένα είδη σταφυλιού που μπορούν από τη φύση τους και ανεξάρτητα από την περιοχή και το περιβάλλον όπου βρίσκονται, να παράγουν περισσότερη ρεσβερατρόλη. Αυτές οι ποικιλίες σταφυλιού είναι αυτές που έχουν λεπτόφλουδες ρώγες σταφυλιού και είναι πιο ευαίσθητες στην έκθεσή τους στην ακτινοβολία UV, σε τυχόν μολύνσεις από μύκητες και άλλους παράγοντες. Για αυτούς τους λόγους, συνηθίζεται να γίνεται πρώτη η συγκομιδή αυτών των πιο ευαίσθητων ποικιλιών σταφυλιού, όταν μάλιστα η συγκέντρωση της ρεσβερατρόλης είναι στην κορύφωσή της.
- ▶ **Οι κλιματικές συνθήκες :** τα φυτά ως αμυντικό όπλο για την προστασία τους από πάσης φύσεως κινδύνους, επιθέσεις, προσβολή από μύκητες, ασθένειες και άλλα, παράγουν ρεσβερατρόλη. Στις περιοχές με πιο ψυχρό κλίμα η παρουσία μυκήτων είναι εντονότερη και επομένως το ποσοστό της ρεσβερατρόλης που παράγουν αυτά τα σταφύλια κάτω από αυτές τις κλιματολογικές συνθήκες είναι σε υψηλότερα επίπεδα.
- ▶ **Η επαφή με την επιδερμίδα του σταφυλιού :** η ρεσβερατρόλη συναντάται στις φλούδες των σταφυλιών και για να έχει το κρασί όσο το δυνατόν περισσότερη ρεσβερατρόλη θα πρέπει αντίστοιχα και ανάλογα να υπάρχουν αυτές οι φλούδες των σταφυλιών όσο το δυνατόν περισσότερο χρονικό διάστημα κατά τη ζύμωση. Στα λευκά κρασιά, επειδή οι φλούδες των σταφυλιών απομακρύνονται γρήγορα κατά την οινοποιητική παραγωγική διαδικασία και στον χυμό των σταφυλιών δεν γίνεται ζύμωση, τα επίπεδα της ρεσβερατρόλης είναι χαμηλά, σε αντίθεση με τα ερυθρά κρασιά τα οποία και περιέχουν πολύ περισσότερη ρεσβερατρόλη.



Το κρασί έχει και άλλα σημαντικά αντιοξειδωτικά αξιόλογης δράσης, όπως τα φλαβονοειδή, η δράση των οποίων συντελείται μέσω των πολυποίκιλων μηχανισμών που διαθέτουν. Μηχανισμοί, όπως για παράδειγμα η γλουταθιόνη, οι οποίοι εμποδίζουν και καταπνίγουν κατευθείαν τις ελεύθερες ρίζες και μηχανισμοί που συμβάλλουν στην πρόληψη της συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου τα οποία συνδέονται με το λεγόμενο οξειδωτικό στρες, το οποίο και βρίσκεται σε άμεση σχέση και με τη δημιουργία ελεύθερων ριζών και με τους φυσικούς μηχανισμούς αντιοξειδωτικής δράσης. Στις περιπτώσεις όπου στον οργανισμό οι οξειδωτικοί μηχανισμοί υπερέχουν από τους ανάλογους αντιοξειδωτικούς, τότε οι ελεύθερες ρίζες ξεπερνούν τα φυσιολογικά επιτρεπτά όρια και έχουμε την εμφάνιση του καταστροφικού και ολέθριου για τους ιστούς οξειδωτικό στρες.

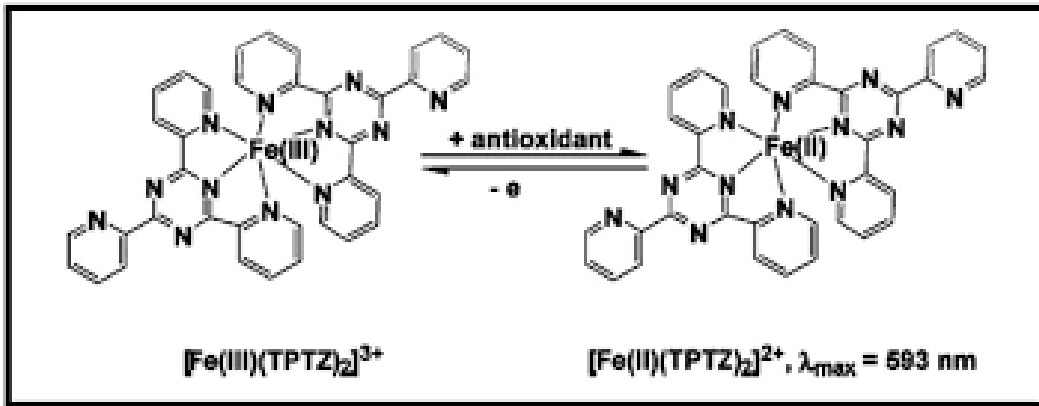
Το οξειδωτικό στρες ή αλλιώς οξειδωτική καταπόνηση είναι μια διαταραχή της ισορροπίας ανάμεσα στη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) και στην ικανότητα ενός βιολογικού συστήματος να θέτει σε αδράνεια τα τοξικά μόρια και να επιδιορθώνει τις βλάβες που προκαλούν. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου φθείρουν όλα τα συστατικά των κυττάρων, των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και του DNA.

## Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>: Μέθοδοι μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας

### 4.1. Μέθοδος Frap

Μία από τις μεθόδους μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας είναι η μέθοδος Αντιοξειδωτικής Ισχύος Αναγωγής Τρισθενούς Σιδήρου (Ferric Iron Reducing Antioxidant Power, FRAP), η οποία δημιουργήθηκε από τον Benzie και τον Strain με την κατάλληλη προσαρμογή για βοτανικά δείγματα (Prior et al., 2005). Είναι μία φωτομετρική μέθοδος που βοηθάει στη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ισχύος των φυσικών εκχυλισμάτων, με απλό, πολύ σύντομο αλλά και οικονομικό τρόπο, αφού για την διεξαγωγή της δεν απαιτείται η ύπαρξη και η χρήση κάποιου ιδιαίτερα εξειδικευμένου εξοπλισμού. Δυστυχώς, η μέθοδος αυτή δεν δίνει την δυνατότητα να ερευνηθούν ενώσεις, όπως οι θειόλες και οι πρωτεΐνες, δηλαδή ενώσεις που η δράση τους είναι σαν αποσβέστες ελεύθερων ριζών. Στη μέθοδο FRAP η αντίδραση χρησιμοποιείται για να κάνει τις απαραίτητες μετρήσεις της αναγωγής του σύμπλοκου τριχλωριούχου σιδήρου – TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) σε κάποιο έγχρωμο προϊόν που το pH του είναι όξινο για να διατηρήσουμε τη διαλυτότητα του σιδήρου.

Λόγω του ότι κάποιες ενώσεις αντιδρούν πιο γρήγορα ή πιο αργά από άλλες, αυτό επηρεάζει και αλλάζει τα αποτελέσματα της μεθόδου FRAP, σε σχέση πάντα με το πόσο χρονικό διάστημα κράτησε η μελέτη, η ανάλυση. Όπως για παράδειγμα οι φαινόλες, που απορροφούν και κρατούν τον σίδηρο, μπορούν να διασπαστούν σε άλλες ενώσεις με άλλη δράση σχετικά γρήγορα, για αυτό θα πρέπει αυτές να μελετώνται και να αναλύονται άμεσα, μέσα σε περίπου 4 λεπτά. Σε άλλες ενώσεις, όπως οι πολυφαινόλες, ο χρόνος αντίδρασής τους είναι πιο αργός και για αυτό απαιτούν περισσότερο χρόνο για να μελετηθούν και να αναλυθούν (Huang et al., 2005).



Εικόνα 6: Αναγωγή του συμπλόκου Fe Cl3-TPTZ σε έγχρωμο προϊόν

πηγή: Huang et al., 2005

Με την μέθοδο FRAP δεν έχουμε τη δυνατότητα να προβούμε σε μέτρηση αυτών των αντιοξειδωτικών που στο μόριό τους περιέχονται θειόλες, όπως η γλουταθειόνη για παράδειγμα, γιατί η σειρά με την οποία δρουν και αντιδρούν τα αντιοξειδωτικά πιθανόν να είναι διαφορετική και να αλλάζει μέσα στο συνολικό απαιτούμενο χρονικό διάστημα της αντίδρασης. Η γλουταθειόνη που αναφέραμε, μετράει μόνο την αναγωγική ικανότητα με βάση το ιόν τρισθενούς σιδήρου (Prior et al., 2005).

Σε γενικές γραμμές, η FRAP είναι μια αξιόλογη και οικονομική μέθοδος, με αξιόπιστα αποτελέσματα που ως επί των πλείστων καταγράφονται σαν ισοδύναμα της βιταμίνης C, με μειονέκτημα όμως τον μη δυνατό προσδιορισμό των θειολικών ομάδων.

## 4.2. Μέθοδος Folin – Ciocalteu (FC)

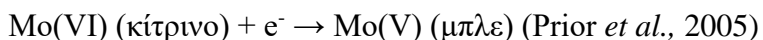
Μία άλλη μέθοδος μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας είναι και η μέθοδος Folin – Ciocalteu (FC), η οποία είναι μία μέθοδος απλή και αποτελεσματική, που ανιχνεύει τις ολικές φαινόλες του κρασιού και είναι γνωστή σαν μέθοδος ανίχνευσης ολικών φαινολών.

Αυτή η μέθοδος προσδιορισμού του ολικού φαινολικού περιεχομένου βασίζεται στην αντίδραση που έχουν τα φαινολικά συστατικά, με τη χρήση χρωματομετρικού αντιδραστήριου, καθώς επίσης και στη μεταφορά ηλεκτρονίων (SET, Single Electron Transfer, μηχανισμός μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου), σε περιβάλλον αλκαλικό ( $\text{pH} \approx 10$ ) από φαινολικές ενώσεις σε φωσφομολυβδικά και φωσφοβολφραμικά όξινα σύμπλοκα, ώστε να σχηματιστούν σύμπλοκα τα οποία φασματοσκοπικά ορίζονται στα 750-765 nm

και έχουν χαρακτηριστικό μπλε χρώμα. Η εμφάνιση αυτού του κυανού χρώματος δεν εξαρτάται από την δομή που έχουν τα φαινολικά συστατικά (Huang *et al.*, 2005).

Η μέθοδος Folin – Ciocalteu αποτελεί δηλαδή μια φωτομετρική μέθοδο η οποία βασίζεται σε μια χρωματογραφική οξειδοαναγωγική αντίδραση.

Το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu αποτελείται από φωσφορομολυβδενικό και φωσφοροβολφραμικό οξύ και η μέθοδος FC βασίζεται στην οξειδωση των φαινολών με παράλληλη αναγωγή αυτών των οξέων. Η κλασική παρασκευή του αντιδραστηρίου αυτού είναι, αρχικά παρασκευάζεται ένα μείγμα αποτελούμενο από 100 ml συμπυκνωμένου υδροχλωρικού οξέος, 25γρ μολυβδαινικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 85% φωσφορικού οξέος και 700 ml νερού. Στη συνέχεια αυτό το μείγμα βράζει συνολικά για 10 συνεχόμενες ώρες και στη συνέχεια γίνεται σε αυτό προσθήκη 150γρ θειϊκού λιθίου ( $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ). Το διάλυμα που προκύπτει στο τέλος αυτής της παρασκευής έχει έντονο κίτρινο χρώμα, το οποίο στη συνέχεια με τις αναγωγικές αντιδράσεις που ακολουθούν γίνεται έντονο μπλε. Θεωρείται πως η αναγωγή του μολυβδαίνιου στο σύμπλοκο είναι πιο εύκολη και η αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων πραγματοποιείται ανάμεσα στα αντιδρώντα και Mo (VI) (Huang *et al.*, 2005).



Επειδή το αντιδραστήριο FC δύναται να γίνει και από συστατικά μη φαινολικά, όπως για παράδειγμα ο Cu (I) και η βιταμίνη C και δεν ειδικεύεται αποκλειστικά και μόνο στα φαινολικά συστατικά, η αντίδραση των φαινολικών συστατικών με αντιδραστήριο FC πραγματοποιείται μόνο υπό ιδιαίτερες περιστάσεις και συνθήκες, καθώς και με τη χρήση διαλύματος ανθρακικού νατρίου για τη ρύθμιση του pH ώστε αυτό να είναι  $\text{pH} \approx 10$ .

Με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu προσδιορίστηκε και το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο στα κρασιά, με αποτέλεσμα τα κόκκινα κρασιά να έχουν μεγαλύτερο συνολικό φαινολικό περιεχόμενο από ότι τα λευκά.

Ορισμένα από τα βασικότερα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει αυτή η μέθοδος μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας, η Folin – Ciocalteu είναι τα εξής :

- 1ο.** Αποτελεί μία αναγνωρισμένη και δεκτή παγκοσμίως μέθοδο, με εφαρμογή στα αντιοξειδωτικά που προέρχονται γενικά από τα τρόφιμα.

20. Τα περισσότερα δείγματα, που είναι οργανικά, ασφαλώς και περιέχουν διάφορες χρωστικές ουσίες, οι οποίες με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu καταμετρούνται και αυτές. Ταυτόχρονα, η απορρόφηση στο σημαντικά μεγάλο μήκος κύματος του χρωμοφόρου των 730 nm, οι πιθανότητες να προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα και μετρήσεις με αυτή τη μέθοδο είναι άκρως ελάχιστες.
30. Το FC αντιδραστήριο διατίθεται εύκολα και πρακτικά στο εμπόριο, ενώ η διαδικασία παρασκευής του είναι κλασσική, συμβατική και ορισμένη.
40. Η ιδιαίτερα μεγάλη και αξιόλογη βάση δεδομένων που έχει δημιουργηθεί και με τα αποτελέσματά της να δύναται να συγκριθούν. Η μέθοδος Folin-Ciocalteu εφαρμόζεται σε υδατικά διαλύματα (Huang *et al.*, 2005).

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu προϋποθέτει και απαιτεί ορισμένες σημαντικές προϋποθέσεις, ώστε να δώσει αναμενόμενα, αλλά και αδιαμφισβήτητα, πιστευτά, αληθή, έγκυρα και πειστικά αποτελέσματα (Prior *et al.*, 2005), οι οποίες είναι οι ακόλουθες :

- α. Η ορθή αντιστοιχία και συμμετρία ανάμεσα στο αντιδραστήριο και στο αλκάλιο.
- β. Ως πρότυπο θα πρέπει να χρησιμοποιείται το γαλλικό οξύ.
- γ. Να βρίσκεται στα 765nm η οπτική πυκνότητα  $\lambda_{max}$ .
- δ. Να τηρείται και να εφαρμόζεται πιστά ο βέλτιστος χρόνος της αντίδρασης αλλά και της θερμοκρασίας, ώστε να συντελεστεί και να προκύψει η σωστή ανάπτυξη του χρώματος.

### 4.3. Μέθοδος ORAC

Το 1992 ο Dr. Guohua Cao ανέπτυξε την μέθοδο για την Ικανότητα Απορροφητικότητας Ριζών Οξυγόνου ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), η οποία βασίζεται στη μείωση του φθορισμού συγκεκριμένων ουσιών, όπως για παράδειγμα οι φυκοερυθρίνες, με τον εμπλουτισμό και συμπλήρωση των ελεύθερων ριζών, η δράση των οποίων αναβάλλεται εφόσον υπάρχουν τα αντιοξειδωτικά. Η απώλεια φθορισμού δείχνει το μέγεθος της αλλοίωσης που προκύπτει από την αντίδρασή της με την υπεροξυλική ρίζα. Είναι μία μέθοδος που στηρίζεται στην αναβολή της οξείδωσης των ριζών υπεροξυλίου, η οποία και δημιουργείται από τη θερμική αποσύνθεση αζοενώσεων,

όπως για παράδειγμα το AAPH, το οποίο είναι ένα μικρού μεγέθους αζωτικό μόριο που διαλύεται στο νερό και που έχει συχνή χρήση για τη μελέτη της υπεροξειδωσής των λιπιδίων και για τον χαρακτηρισμό των αντιοξειδωτικών.

Η ORAC αποτελεί μια φθορισμομετρική μέθοδο, η οποία αρχικά σαν ανιχνευτή της αντίδρασης χρησιμοποιούσε την β-φυκοερυθρίνη, μια φθορίζουσα δηλαδή πρωτεΐνη την β-PE, που απομονώνεται από το *Porphyridium cruentum*. Στη συνέχεια όμως, η β-PE παρουσίασε αρκετά προβλήματα, όπως για παράδειγμα αποχρωματίζονταν στην έκθεσή της σε φως, μεταβαλλόταν από παρτίδα σε παρτίδα, αλληλοεπιδρούσε με κάποιες πολυφαινόλες, αλλά και μείωνε το φθορισμό της ακόμα και στις περιπτώσεις όπου δεν γινόταν προσθήκη ελεύθερων ριζών (Prior, 2015).

Έτσι λοιπόν, λόγω αυτών των μειονεκτημάτων που εμφάνιζε η β-PE, την αντικατέστησαν με την συνθετική και μη πρωτεϊνική ουσία φλουορεσκεΐνη, η οποία δύναται να δράσει σαν ανιχνευτής της αντίδρασης δίχως να παρουσιάζει τα μειονεκτήματα που εμφάνιζε η β-PE.

Η μέθοδος ORAC, εφόσον κάνει χρήση της πλέον γνωστής των ελεύθερων ριζών που βρίσκονται στον άνθρωπο, τα υδροϋπεροξειδία, σχετίζεται και με τους *in vivo* όρους και περιστάσεις. Ένα από τα κυριότερα πλεονεκτήματα της ORAC αποτελεί το γεγονός ότι είναι πλέον αυτοματοποιημένη και ανάλογα προσαρμοσμένη στην καταγωγή του εκάστου δείγματος, είτε αυτό είναι τρόφιμο, είτε πλάσμα, είτε ιστός (Prior, 2015).

Τα στάδια της τεχνικής που ακολουθεί η μέθοδος ORAC είναι, αρχικά να αναμειξεί το δείγμα με διάλυμα φλουορεσκεΐνης, μετά αυτό να επωασθεί σε θερμοκρασία 37° C και στη συνέχεια να γίνει προσθήκη διαλύματος AAPH, ώστε να δημιουργηθούν οι ελεύθερες ρίζες και να αρχίσει η αντίδραση. Σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας, η ένταση του φθορισμού ορίζεται στις τιμές 485 nm (ex) / 525 nm (em), για συνεχόμενα 35 λεπτά συνολικά, με συνθήκες θερμοκρασίας αμετάβλητες και pH (37° C και pH 7.4). Παρατηρείται μια μείωση στην ένταση του φθορισμού και μια κατανάλωση στην φλουορεσκεΐνη όσο εξελίσσεται η αντίδραση. Αυτή η διεργασία αναστέλλεται με την παρουσία αντιοξειδωτικού (Huang et al., 2005).

Σε αυτή την μέθοδο για την ικανότητα απορροφητικότητας ριζών οξυγόνου, ανάλογα με την ένωση που χρησιμοποιείται, ώστε να παραχθούν ελεύθερες ρίζες, θα πρέπει να είναι και η θερμοκρασία μέσα στην οποία θα εξελιχθεί η αντίδραση. Όπως προαναφέραμε, αυτή

η ανάλογη σωστή θερμοκρασία στη περίπτωση του AAPH είναι 37° C. Αυτή η ανάλογη θερμοκρασία του περιβάλλοντος όπου εξελίσσεται η αντίδραση, θα πρέπει να τηρείται πιστά και με άκρως συνεπή ακρίβεια, είναι υψίστης σημασίας και απαιτείται ο έλεγχός της να γίνεται εμπειριστατωμένα, συστηματικά, με σοβαρότητα και σε συχνά χρονικά διαστήματα. Γιατί μόνο με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται εγκαίρως η ολοσχερής αλλοίωση του οξειδωτικού μέσου.

Στην αντίθετη περίπτωση, δηλαδή εάν η ιδανική επιθυμητή θερμοκρασία δεν διατηρηθεί, τότε η εξέλιξη της αντίδρασης δεν θα είναι επαρκής, αφού θα εκτελείται με αργούς ρυθμούς και έτσι δεν θα υπάρχει η δυνατότητα να επαναληφθούν τα απαραίτητα πειράματα. Αυτή η αργή και μη επαρκής αντίδραση έχει ως αποτέλεσμα την παρερμηνευση της αντιοξειδωτικής ικανότητας της ουσίας, της οποίας γίνεται μελέτη, ως αυξημένη και έτσι να οδηγήσει στην υπερεκτίμησή της (Schaich et al., 2015).

Η μέθοδος ORAC αποτελεί την μοναδική μέθοδο η οποία παρακολουθεί μέχρι το τέλος την δράση των ελεύθερων ριζών, κάνοντας χρήση της περιοχής κάτω από την καμπύλη, στο διάγραμμα αποτελέσματος, ώστε να αναλυθούν και να καταμετρηθούν ποσοτικά και στατιστικά τα αποτελέσματα, συνδέοντας με αυτό τον τρόπο το ποσοστό αναστολής με το μήκος χρόνου αναστολής των ελεύθερων ριζών σε μία μονάδα (Krishnaiah et al., 2011).

#### **4.4. Μέθοδος DPPH**

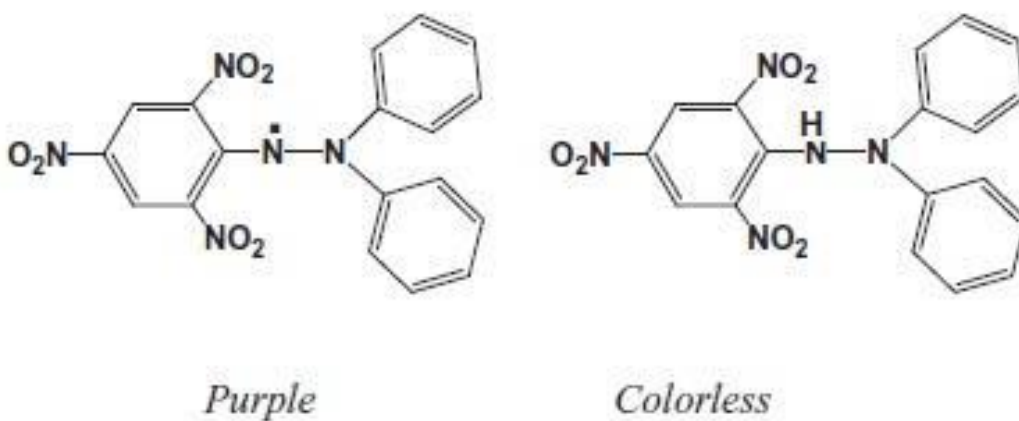
Το 1958 ο Blois ανέπτυξε την μέθοδο DPPH, η οποία και αποτελεί την παλαιότερη μέθοδο ως προς τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Είναι μία μέθοδος απλή, οικονομική, εύκολη, γρήγορη, αξιόλογη και αξιόπιστη, που όμως εφαρμόζεται μόνο σε οργανικούς διαλύτες, λόγω του ότι η ρίζα αζώτου DPPH είναι υδρόφοβη.

Στηρίζεται στην δυνατότητα της σταθερής ελεύθερης ρίζας DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) να αντιδρά με τις φαινολικές ουσίες, αλλά και με άλλους «χ» δότες. Εδώ, ένας όγκος δείγματος που έχει αραιωθεί με μεθανόλη σε αναλογία ένα προς ένα (1:1), προστίθεται σε ένα όγκο αντιδραστήριου 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl και στη συνέχεια, μετά από 1 ώρα που εξελίσσεται η αντίδραση σε θερμοκρασία 20° C, μετριέται η απορρόφηση του δείγματος στα 515nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα Trolox σε mmol/L (Roginsky & Lissi, 2004).

Η ρίζα αζώτου DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) είναι μια από τις πολύ λίγες αμετάβλητες ρίζες αζώτου που διατίθενται στο εμπόριο, μετρώντας απορρόφηση σε ορατό και υπεριώδες, με μέγιστο μήκος κύματος τα 515 nm (Huang et al., 2005). Η ρίζα DPPH έχει ένα βαθύ μωβ χρώμα, το οποίο όμως χάνεται κατά την αντίδρασή του είτε με άλλες ρίζες, είτε με άτομα υδρογόνου, είτε με ηλεκτρόνια.

Η σταθερή ρίζα DPPH αδρανοποιείται κατά την αλληλοεπίδρασή της με τα αντιοξειδωτικά μόρια και ανάγεται, είτε μέσω μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου (single electron transfer, SET), είτε μέσω μεταφοράς ενός ατόμου υδρογόνου (hydrogen atom transfer, HAT). Όμως οι αντιδράσεις της ρίζας DPPH κυρίως οφείλονται σε μηχανισμούς HAT. Όταν όμως οι αντιδράσεις της με έντονα δεσμευτικούς στο υδρογόνο διαλύτες, όπως για παράδειγμα η συνηθέστερη μεθανόλη, τότε δυναμώνουν και υπερισχύουν οι SET αντιδράσεις και μηχανισμοί, αφού δυσχεραίνεται και εμποδίζεται η απελευθέρωση ατόμων υδρογόνου.

Οι αντιδράσεις της ρίζας DPPH εμφανίζουν κάποιες ευαισθησίες στην έκθεσή τους στον ήλιο, στην ύπαρξη νερού, στο pH, στον διαλύτη, στο οξυγόνο και γενικότερα στις συνθήκες που επικρατούν στο σύστημα μέσα στο εξελίσσεται η αντίδραση. Το γεγονός ότι υπάρχουν δύο μηχανισμοί μεταφοράς, ο μηχανισμός SET και ο μηχανισμός HAT, γίνεται ιδιαίτερα αντιληπτό και ολοφάνερο με το ότι μεταβάλλονται οι αντιδράσεις που εμφανίζει η DPPH με διαλύτη (Schaich et al., 2015).



**Εικόνα 7:** Διαδικασία αποχρωματισμού DPPH

Πηγή: Roginsky & Lissi, 2004



Το αποτέλεσμα εκφράζεται και σαν ποσοστό της DPPH και υπολογίζεται όπως παρακάτω :

$$\%DPPH_{rem} = 100 * \frac{DPPH_{rem}}{DPPH_{T=0}}$$

- όπου το  $DPPH_{T=0}$  είναι το αρχικό ποσοστό DPPH στο δείγμα και
- όπου  $DPPH_{rem}$  είναι το ποσοστό της DPPH που ξεμένει στο δείγμα και το οποίο είναι αντίστροφα ανάλογο με την συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών στο  $T=0$  ποσοστό.

Ανάλογα με το χρόνο που διαρκεί η αντίδραση, έχουμε τις ακόλουθες κατηγορίες κινητικής συμπεριφοράς των αντιοξειδωτικών :

- ◆ Ταχεία, όταν ο χρόνος αντίδρασης είναι μικρότερος των 5 λεπτών.
- ◆ Ενδιάμεση, όταν ο χρόνος αντίδρασης διαρκεί από 5 έως 30 λεπτά.
- ◆ Αργή, όταν ο χρόνος αντίδρασης είναι μεγαλύτερο των 30 λεπτών.

Επιπροθέτως, η παράμετρος της αποτελεσματικότητας κατά των ριζών (antiradical efficiency, AE), η οποία και δείχνει την αντιοξειδωτική ικανότητα ενός ορισμένου αντιοξειδωτικού, υπολογίζεται όπως παρακάτω :

$$AE = \left( \frac{1}{EC_{50}} \right) * T_{EC50}$$

- όπου  $EC_{50}$  η συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού, η οποία και προκαλεί μείωση της τάξεως του 50% στην αρχική συγκέντρωση του DPPH και
- όπου  $T_{EC50}$  ο απαιτούμενος χρόνος, ώστε να επιτευχθεί η προσέγγιση μιας αμετάβλητης και με σταθερότητα κατάστασης, συγκέντρωσης  $EC_{50}$  και η οποία υπολογίζεται από την κινητική καμπύλη (Huang et al., 2005).

Εξακριβώθηκε στο τέλος πως οποιαδήποτε από τα οξέα ή τις βάσεις που περιέχονται στον χρησιμοποιούμενο διαλύτη, έχουν την δυνατότητα να επιδράσουν στην ιοντική ισορροπία των φαινολών επηρεάζοντάς την και έτσι να προκληθεί αύξηση ή μείωση στις μετρήσεις (Huang et al., 2005).

## Κεφάλαιο 5<sup>ο</sup>: Υλικά Και Μέθοδοι

### Σκοπός του πειράματος

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της επίδρασης της προσθήκης σεληνίου στις ποιοτικές και ποσοτικές παραμέτρους δύο οίνων, Ορεινές διαδρομές 2020 και Κατώγι Αβέρωφ. Το σελήνιο επιλέχθηκε λόγω των πολλών αντιοξειδωτικών του ιδιοτήτων, όπως έχει ήδη εκτεθεί. Για το σκοπό αυτό μετά το πέρας της οινοποίησης προστέθηκαν στους οίνους συγκεκριμένες δόσεις σεληνίου προκειμένου να φανούν τυχόν διαφοροποιήσεις στη δράση της ουσίας ως προς την προστασία οξειδώσιμων ουσιών των οίνων που επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

### 5.1. Υλικά

#### 5.1.1. Οίνοι πειράματος

**Οι οίνοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι εξής:**

1. Ορεινές Διαδρομές, Chardonnay & Traminer 2020, Ποικιλιακός Οίνος Λευκός Ξηρός, 12% Vol.
2. Κατώγι Αβέρωφ, Alba di Munte, Traminer 2020, Οίνος Λευκός ξηρός, 13% Vol.

#### 5.1.2. Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια στερεό καυστικό νάτριο 97% και στερεό καυστικό κάλιο 97% ήταν από την Mallinckrodt Chemical Works (St. Louis, USA).

Τα αντιδραστήρια θειικό οξύ 95% W/V, στερεό άμυλο, τριχλωριούχος σίδηρος και υδροχλωρικό οξύ ήταν από την Sigma Aldrich (Steinheim, Germany).

Η ακεταλδεύδη  $\geq 99,5\%$  ήταν από την Fluka Analytical (Buchs, Switzerland).

Το θειοθειικό νάτριο, το στερεό μπλε της βρωμοθυμόλης, το στερεό μολυβδαινικό νάτριο 98% και το στερεό  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ήταν από την Alfa Aesar.

Το στερεό ιωδιούχο κάλιο ήταν από την “Poch” S.A Gliwice.

Τα στερεά γαλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ και κατεχίνη ήταν από την Sigma Chemicals (St. Louis, USA).

Το αντιδραστήριο TPTZ (2,4,6-τρι(2-πυριδύλ)-1,3,5-τριαζίνη) ήταν από την Merck (Darmstadt, Germany).

Η αμπούλα ιωδίου ήταν από την Honeywell Fluka.

Η στερεή φαινολοφθαλείνη ήταν από την Ferak, Berlin.

Το στερεό τρυγικό οξύ καθαρότητας 99% ήταν από την Merck Schuchardt.

Η καθαρή αιθανόλη 99,8% ήταν από την PanReac Applichem.

Η καθαρή μεθανόλη 99% ήταν από την Merck KGaA.

Το DMACA (p-διμεθυλαμινοκιναμαλδεύδη) ήταν από την Aldrich Chemical (Milwaukee, USA).

### 5.1.3. Παρασκευή Αντιδραστηρίων –Διαλυμάτων

**EtOH 12%:** Σε ογκομετρική φιάλη των 100mL φέρονται 12mL EtOH 99,8%. Η φιάλη συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα HCl 1N σε MeOH:** Σε ογκομετρική φιάλη των 100mL φέρονται λίγα mL MeOH και 8,2ml HCl 37%. Η φιάλη συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο.

**Διάλυμα DMACA 0,1% W/V:** Σε ογκομετρική φιάλη των 50mL φέρονται 0,05g στερεού DMACA. Η φιάλη συμπληρώνεται με διάλυμα HCl-MeOH 1N. Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο.

**Διάλυμα EtOH-H<sub>2</sub>O 1:1:** Σε ογκομετρική φιάλη των 10mL φέρονται 5mL EtOH και 5mL H<sub>2</sub>O.

**Διάλυμα μολυβδαινικού νατρίου 5% W/V:** Σε ογκομετρική φιάλη των 10mL, προστίθενται 0,5g στερεού μολυβδαινικού νατρίου. Η φιάλη συμπληρώνεται με το διάλυμα EtOH-H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα διατηρείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Μοντέλο οίνου:** Διαλύονται 5g/L στερεού τρυγικού οξέος σε 12% EtOH. Ακολουθεί συμπλήρωση με H<sub>2</sub>O στον επιθυμητό όγκο που θέλουμε. Στη συνέχεια, ρυθμίζεται το pH στην τιμή 3,5 με διάλυμα NaOH 1N. Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο.

**Αλκαλικό διάλυμα χαλκού:** Η διαδικασία παρασκευής αυτού του διαλύματος έχει ως εξής:

α) Σε ογκομετρική φιάλη των 100mL φέρονται 25g στερεού  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  και συμπληρώνεται με  $\text{H}_2\text{O}$ .

β) Σε ποτήρι ζέσεως φέρονται 50g στερεού κιτρικού οξέος και 300mL  $\text{H}_2\text{O}$ .

γ) Σε ποτήρι ζέσεως φέρονται 144g στερεού άνυδρου ανθρακικού νατρίου και 300mL ζεστού  $\text{H}_2\text{O}$ .

Στη συνέχεια, σε ογκομετρική φιάλη των 1000mL φέρονται τα παραπάνω διαλύματα με τη σειρά: β, γ, και α. Τέλος, η ογκομετρική φιάλη συμπληρώνεται με  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα  $\text{H}_2\text{SO}_4$  25%:** Σε ογκομετρική φιάλη των 250mL φέρονται αρχικά 100mL  $\text{H}_2\text{O}$  και σταδιακά με συνεχή ανάδευση 62,5mL διαλύματος  $\text{H}_2\text{SO}_4$  95%. Η φιάλη συμπληρώνεται με  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα KI 30%:** Σε ογκομετρική φιάλη των 100mL φέρονται 30g στερεού KI. Η φιάλη συμπληρώνεται με  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1N:** Σε ογκομετρική φιάλη των 1000mL φέρονται 24,82g στερεού  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Η φιάλη συμπληρώνεται με  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα αμύλου 5g/L:** Ζυγίζονται 0,5g στερεού αμύλου και διαλύονται σε 100mL  $\text{H}_2\text{O}$ . Ακολουθεί βρασμός για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, γίνεται προσθήκη 20g NaCl. Το διάλυμα, αφού ψυχθεί, μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 100mL, η οποία συμπληρώνεται με  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και πρέπει ανά τακτά χρονικά διαστήματα να ανανεώνεται.

**Διάλυμα αμύλου 1% W/V:** Ζυγίζονται 0,1g στερεού αμύλου και διαλύονται σε 10mL απιονισμένου  $\text{H}_2\text{O}$ , το οποίο βράζει υπό μαγνητική ανάδευση. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και πρέπει να ανανεώνεται ανά τακτά χρονικά διαστήματα.

**Διάλυμα KOH 1N:** Σε ογκομετρική φιάλη των 100mL προστίθενται 5,61g στερεού KOH. Η φιάλη συμπληρώνεται με  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα ακεταλδεύδης 7g/L:** Σε ογκομετρική φιάλη των 500mL φέρονται 4,48mL ακεταλδεύδης. Η φιάλη συμπληρώνεται με  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο.

**Διάλυμα Ca(OH)<sub>2</sub> 10% W/V:** Σε ογκομετρική φιάλη των 100mL φέρονται 14,8g στερεού Ca(OH)<sub>2</sub>. Η φιάλη συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου.

**Διάλυμα δείκτη μπλε της βρωμοθυμόλης:** Σε ογκομετρική φιάλη των 50mL φέρονται 0,2g στερεού δείκτη μπλε της βρωμοθυμόλης, 10mL EtOH 99,8%, 10mL H<sub>2</sub>O και 375μl NaOH 1N. Η φιάλη συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα διατηρείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα NaOH 1N:** Σε ογκομετρική φιάλη των 10mL φέρονται 0,4g στερεού NaOH. Η φιάλη συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα NaOH 0,1N:** Σε ογκομετρική φιάλη των 1000mL φέρονται 4g στερεού NaOH. Η φιάλη συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα δείκτη φαινολοφθαλείνης:** Σε ογκομετρική φιάλη των 10mL φέρονται 0,1g στερεής φαινολοφθαλείνης. Η φιάλη συμπληρώνεται με EtOH. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα HCl 0,05N:** Σε ογκομετρική φιάλη των 50mL φέρονται λίγα mL H<sub>2</sub>O και 208μl HCl 37%. Η φιάλη συμπληρώνεται με H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Διάλυμα FeCl<sub>3</sub> (3mM σε 0,05 HCl):** Σε ογκομετρική φιάλη των 20mL φέρονται 0,0097g στερεού FeCl<sub>3</sub>. Η φιάλη συμπληρώνεται με HCl 0,05M. Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο.

**Διάλυμα TPTZ (1mM σε 0,05 HCl):** Σε ογκομετρική φιάλη των 20mL φέρονται 0,0062g στερεού TPTZ. Η φιάλη συμπληρώνεται με HCl 0,05M. Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο.

#### 5.1.4. Όργανα

- **Φασματοφωτόμετρο:** Όλες οι μετρήσεις απορρόφησης πραγματοποιήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων, LLC uniSPEC 4 UV/VIS- Spectrometer EU με εύρος μετρήσεων 190 έως 1100nm, χρησιμοποιώντας κυψελίδες είτε γυάλινες είτε χαλαζία.

- ▶ **Αέριος χρωματογράφος (GC-MS):** Όλοι οι προσδιορισμοί έγιναν με το όργανο της εταιρίας Hewlett Packard 6890 MS Hewlett Packard 5973.
- ▶ **Ζυγός:** Όλες οι ζυγίσεις πραγματοποιήθηκαν στον αναλυτικό ζυγό Kern abs, ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων.

## 5.2. Μέθοδοι

Οι βασικές μέθοδοι ανάλυσης του οίνου πραγματοποιήθηκαν στα δύο εμπορικά κρασιά που αναφέρονται παραπάνω στο κείμενο, ώστε να προσδιοριστούν τα βασικά χαρακτηριστικά τους. Οι υπόλοιποι προσδιορισμοί (χρωματικά χαρακτηριστικά οίνων, προσδιορισμοί φαινολικών συστατικών και η μέθοδος αναγωγής  $Fe^{3+}$ ) πραγματοποιήθηκαν σε 4 δείγματα κρασιού διαφορετικής συγκέντρωσης σεληνίου από κάθε εμπορικό οίνο.

### 5.2.1. Βασικές μέθοδοι ανάλυσης οίνου

#### 5.2.1.1. Προσδιορισμός αλκοόλης

Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 200mL οίνου, 10mL  $Ca(OH)_2$  και πέτρες βρασμού. Το διάλυμα υποβάλλεται σε απλή απόσταξη. Συγκεντρώνονται 150mL αποστάγματος σε ογκομετρικό κύλινδρο των 200mL. Ο ογκομετρικός κύλινδρος συμπληρώνεται με νερό μέχρι τα 200mL. Γίνεται προσδιορισμός των αλκοολικών βαθμών με τη χρήση αλκοολομέτρου το οποίο μετράει απευθείας την αλκοολική ισχύ κατά όγκο. Επίσης, το δείγμα θερμομετρείτε και γίνεται αναγωγή του ειδικού βάρους στη θερμοκρασία που ορίζουν οι πίνακες.

#### 5.2.1.2. Προσδιορισμός ολικής οξύτητας

Σε κωνική φιάλη των 250mL φέρονται 10mL οίνου. Στη συνέχεια προστίθενται 30mL νερού και 1mL δείκτη μπλε της βρωμοθυμόλης. Γίνεται ογκομέτρηση με NaOH 0,1N, μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει καθαρό μπλε.

### 5.2.1.3. Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας

Σε σφαιρική φιάλη φέρονται 20mL οίνου, 0,5g στερεού τρυγικού οξέος και πέτρες βρασμού. Ακολουθεί απόσταξη μεθ' υδρατμών. Συλλέγονται 250mL αποστάγματος σε ογκομετρικό κύλινδρο και αυτό μεταφέρεται σε κωνική φιάλη. Ακολουθεί ογκομέτρηση με NaOH 0,1N και δείκτη φαινολοφθαλείνη, μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει ελαφρύ ροζ. Μετά την ογκομέτρηση προστίθεται στην κωνική φιάλη 1mL διαλύματος αμύλου 1% και μια σταγόνα διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% ώστε να γίνει πλήρης αποχρωματισμός. Ακολουθεί ογκομέτρηση με I<sub>2</sub> 0,01N μέχρι το διάλυμα να αποκτήσει κυανό χρώμα.

### 5.2.1.4. Προσδιορισμός σακχάρων

Σε εσφυρισμένη κωνική φιάλη προστίθενται 25mL αλκαλικού διαλύματος και 25mL δείγματος οίνου. Στη συνέχεια προστίθενται πέτρες βρασμού και η φιάλη προσαρμόζεται σε κάθετο ψυκτήρα. Ακολουθεί βρασμός για 10 λεπτά. Στη συνέχεια η φιάλη ψύχεται. Ακολουθεί προσθήκη 10mL KI 30%, 25ml διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%. Παράλληλα, προετοιμάζεται και τυφλό διάλυμα το οποίο περιέχει 25mL νερού αντί για 25mL δείγματος. Γίνεται ογκομέτρηση με διάλυμα Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1N. Για το τυφλό διάλυμα ισχύει ότι μετά την προσθήκη 10mL Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> προστίθενται 2mL διαλύματος αμύλου 5g/L και η ογκομέτρηση συνεχίζεται μέχρι το διάλυμα να γίνει γαλακτώδες. Αντίθετα, στο δείγμα η προσθήκη διαλύματος αμύλου γίνεται ακριβώς πριν από την έναρξη της ογκομέτρησης.

Ο υπολογισμός γίνεται ως εξής:

Έστω n τα mL Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> που καταναλώθηκαν κατά την ογκομέτρηση του δείγματος και n' τα mL Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> που καταναλώθηκαν κατά την ογκομέτρηση του τυφλού.

n'-n= Διαφορά των όγκων, η οποία αντιστοιχεί στους αντίστοιχους πίνακες σε μια τιμή που αναπαριστά τα mg αναγόντων σακχάρων στο συνολικό όγκο του οίνου.

Συγκέντρωση των αναγόντων σακχάρων = 
$$\frac{\text{Ολική μάζα αναγόντων σακχάρων στο διήθημα}}{\text{Όγκος οίνου που προσδιορίστηκε}}$$

#### **5.2.1.5. Προσδιορισμός Ολικού Θειώδη Ανυδρίτη**

Σε κωνική φιάλη των 100mL φέρονται 12,5mL δείγματος οίνου και 6,25mL KOH 1N. Το διάλυμα αφήνεται σε ηρεμία για 15 λεπτά, ώστε να αντιδράσει το KOH και να σχηματιστεί KHSO<sub>3</sub>. Μετά, το διάλυμα οξινίζεται με 2,5mL διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% W/V. Ακολουθεί ογκομέτρηση με I<sub>2</sub> 0,01N και δείκτη άμυλο, μέχρι το χρώμα να γίνει κυανό.

Ο υπολογισμός γίνεται ως εξής: Ολικό SO<sub>2</sub> (mg/L) = (V\*N\*32\*1000)/U=25,6\*V

όπου:

V = ο όγκος του διαλύματος I<sub>2</sub> 0,01N που καταναλώθηκε σε mL

N = η κανονικότητα του διαλύματος I<sub>2</sub>

U = ο όγκος του κρασιού σε mL

#### **5.2.1.6. Προσδιορισμός Ελεύθερου Ανυδρίτη**

Σε κωνική φιάλη των 100mL φέρονται 12,5mL δείγματος οίνου και 1,25mL διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% W/V. Ακολουθεί ογκομέτρηση με I<sub>2</sub> 0,01N και 0,5mL δείκτη αμύλου μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει κυανό.

Ο υπολογισμός γίνεται ως εξής: Ελεύθερο SO<sub>2</sub> (mg/L) = (V\*N\*32\*1000)/U=25,6\*V

όπου:

V = ο όγκος του διαλύματος I<sub>2</sub> 0,01N που καταναλώθηκε σε mL

N = η κανονικότητα του διαλύματος I<sub>2</sub>

U = ο όγκος του κρασιού σε mL

#### **\*Διόρθωση**

Σε εσφυρισμένη κωνική φιάλη φέρονται 25mL δείγματος οίνου, 1mL άμυλο και 2,5mL διαλύματος ακεταλδεύδης 7g/L. Η κωνική φιάλη σφραγίζεται με πώμα και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Έπειτα, προστίθενται 0,6mL διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% W/V. Γίνεται ογκομέτρηση με I<sub>2</sub> 0,01N και δείκτη άμυλο, μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει κυανό.

Για να γίνει η διόρθωση αφαιρείται η τιμή 25,6\*α/2, όπου α τα mL I<sub>2</sub> 0,01N, από την τιμή του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη.



## 5.2.2. Χρωματικά Χαρακτηριστικά Οίνων

Για την εκτίμηση του χρώματος των λευκών οίνων, μετράτε η απορρόφηση του διαυγούς οίνου στα 420nm. Χρησιμοποιείται κυβελίδα του 1cm, ενώ το φωτόμετρο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό.

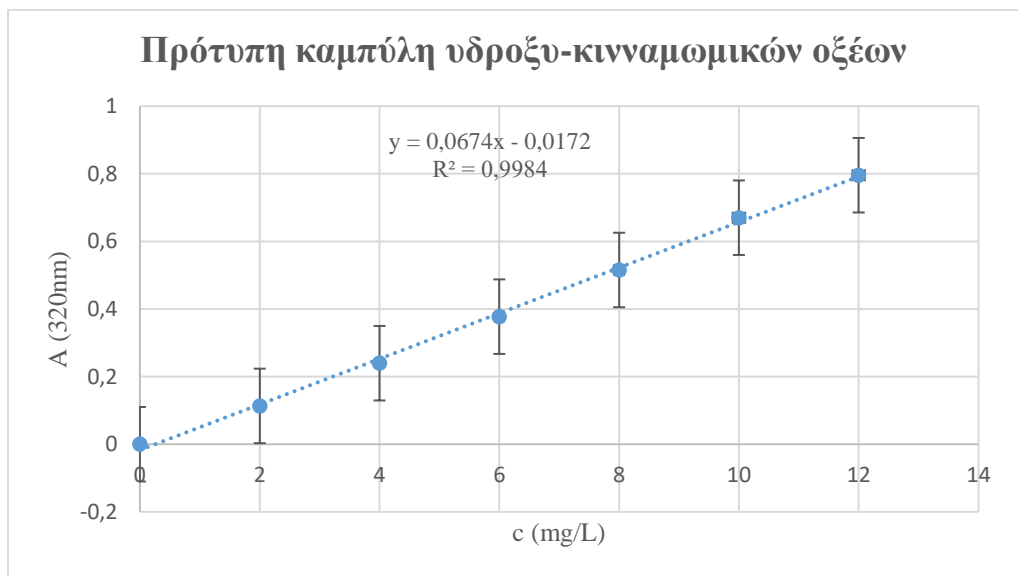
## 5.2.3. Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών

### 5.2.3.1. Προσδιορισμός υδροξυ-κινναμωμικών οξέων

Δείγμα 1 mL οίνου αραιώνεται με EtOH 12% και το διάλυμα αναδεύεται σε vortex (λευκός οίνος αραιώση 1:10). Σε δοκιμαστικό σωλήνα φέρονται 2 mL αραιωμένου δείγματος. Μετράτε η απορρόφηση του δείγματος στα 320nm. Το φασματοφωτόμετρο μηδενίζεται με διάλυμα EtOH 12%.

Η συγκέντρωση των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων εκφράζεται ως καφεϊκό οξύ (mg/L). Γι' αυτό κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη με συγκεντρώσεις καφεϊκού οξέος 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 mg/L σε 12% αιθανόλη που μετρούνται στα 320 nm και με βάση την εξίσωση που προέκυψε έγιναν οι αντίστοιχοι υπολογισμοί.

**Διάγραμμα 1:** Πρότυπη καμπύλη με καφεϊκό οξύ για τον προσδιορισμό των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων.

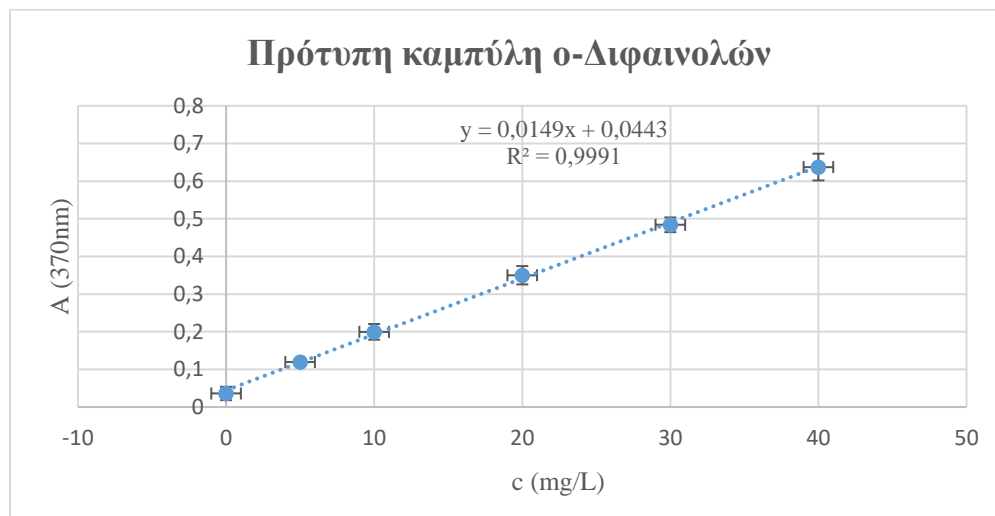


### 5.2.3.2. Προσδιορισμός ο-Διφαινολών

Σε δοκιμαστικό σωλήνα φέρονται 1 mL αραιωμένου δείγματος οίνου (λευκός οίνος αραιώση 1:5 με EtOH 12%) και 1 mL μολυμβαινικού νατρίου και γίνεται ανάμειξη με vortex. Παράλληλα, ετοιμάζεται και τυφλό για το δείγμα, το οποίο περιέχει 1 mL αραιωμένου δείγματος και 1 mL EtOH-H<sub>2</sub>O. Τα δύο μείγματα αφήνονται σε ηρεμία για 15 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μετά το πέρας των 15 λεπτών μετράτε η απορρόφηση στα 370 nm. Το φασματοφωτόμετρο μηδενίζεται με το τυφλό δείγμα.

Η συγκέντρωση των ο-διφαινολών οξέων εκφράζεται ως καφεϊκό οξύ (mg/L). Γι' αυτό κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη με συγκεντρώσεις καφεϊκού οξέος 0, 5, 10, 20, 30, 40 mg/L σε 12% αιθανόλη που μετρούνται στα 370 nm και με βάση την εξίσωση που προέκυψε έγιναν οι αντίστοιχοι υπολογισμοί.

**Διάγραμμα 2:** Πρότυπη καμπύλη με καφεϊκό οξύ για τον προσδιορισμό των ο-διφαινολών.



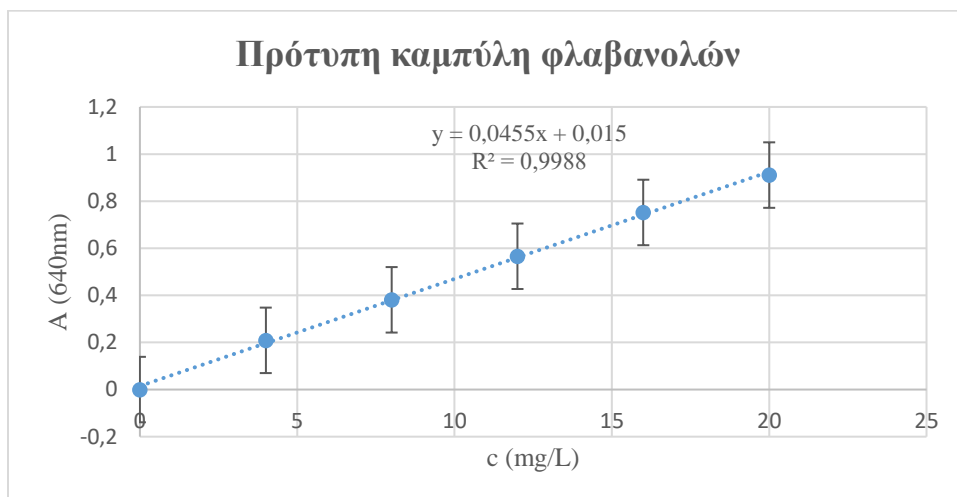
### 5.2.3.3. Προσδιορισμός φλαβανολών

Ο προσδιορισμός των φλαβανολών πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της ρ-διμεθυλαμινοκιναμαλδεύδης (DMACA).

Σε σωλήνα Eppendorf φέρονται 0,2 mL αραιωμένου οίνου (λευκός οίνος αραιώση 1:1 με MeOH) και 1 mL διαλύματος DMACA. Το διάλυμα αναδεύεται σε vortex και το αφήνουμε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 10 λεπτά. Παράλληλα, ετοιμάζεται και τυφλό διάλυμα το οποίο περιέχει 0,2 mL αραιωμένου δείγματος οίνου και 1 mL HCl σε MeOH. Μετά το πέρας των 10 λεπτών μετράτε η απορρόφηση 640 nm. Το όργανο μηδενίζεται με το τυφλό διάλυμα.

Η συγκέντρωση των φλαβονολών υπολογίζεται από πρότυπη καμπύλη, που κατασκευάζεται χρησιμοποιώντας συγκεντρώσεις κατεχίνης σε 12% EtOH (0, 4, 8, 12, 16, 20 mg/L) που μετρούνται στα 640 nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg/L ισοδύναμων κατεχίνης.

**Διάγραμμα 3:** Πρότυπη καμπύλη με κατεχίνη για τον προσδιορισμό των φλαβονολών.



#### 5.2.4. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

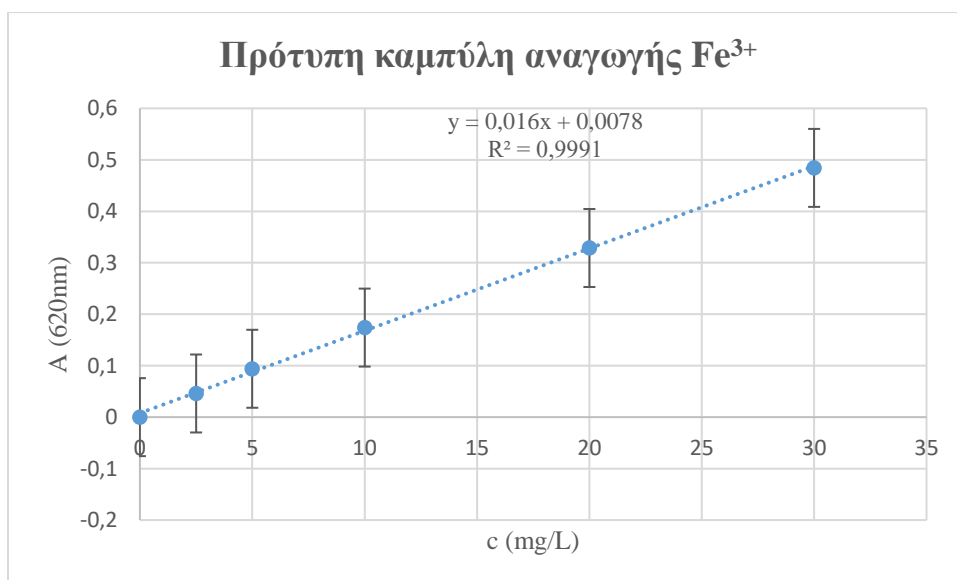
##### 5.2.4.1. Μέθοδος αναγωγής $Fe^{3+}$ (FRAP)

Δείγμα 50μL οίνου, αραιωμένου με μοντέλο οίνου (λευκός οίνος 1:10) και 50μL  $FeCl_3$  (3mM σε 0,05M HCl) αναμειγνύονται καλά σ' ένα σωλήνα Eppendorf του 1,5 mL και παραμένει για 30 λεπτά σε υδατόλουτρο στους 37°C. Έπειτα το μείγμα προστίθεται σε 900μL διαλύματος 1mM TPTZ σε 0,05 M HCl και αναδεύεται. Μετά από ακριβώς 10 λεπτά μετράτε η απορρόφηση στα 620 nm. Το όργανο μηδενίζεται με

τυφλό δείγμα το οποίο περιέχει 0,05M HCl αντί του διαλύματος χλωριούχου σιδήρου. Από τις τιμές που λαμβάνουμε, καθώς και στις πρότυπες καμπύλες, αφαιρούμε την τιμή που παίρνουμε όταν ως δείγμα χρησιμοποιούμε μοντέλο οίνου.

Κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη χρησιμοποιώντας γνωστές ποσότητες γαλλικού οξέος (0, 2,5, 5, 10, 20, 30 mg/L, σε μοντέλο οίνου). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg/L γαλλικού οξέος.

**Διάγραμμα 4:** Πρότυπη καμπύλη με γαλλικό οξύ για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης με τη χρήση της μεθόδου αναγωγής  $\text{Fe}^{3+}$  (FRAP).



### 5.3. Ανάλυση πτητικών με Αέρια χρωματογραφία-Φασματομετρία μάζας (GC-MS)

**Πειραματική πορεία:** Σε φιαλίδιο GC των 15 mL με πώμα με septum τοποθετήθηκαν 3,920 mL δείγματος για τον οίνο ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 και σε φιαλίδιο GC των 5 mL με πώμα με septum τοποθετήθηκαν 980 mL δείγματος για τον οίνο ποικιλίας Traminer 2020. Τα δείγματα σφραγίστηκαν με άζωτο και τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη μέχρι την ανάλυσή τους. Για να ξεπαγώσουν αφήνονταν να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστέθηκαν 80  $\mu\text{L}$  πρότυπου διαλύματος 4-methyl-2-pentanol, όπου η συγκέντρωση του ήταν 2 g/L, στα δείγματα οίνου ποικιλίας Chardonnay &

Traminer 2020 και 20  $\mu\text{L}$  πρότυπου διαλύματος 4-methyl-2-pentanol στα δείγματα οίνου ποικιλίας Traminer 2020, τελικής συγκέντρωσης 40 ppm σε όλα τα δείγματα κρασιού. Τα δείγματα θερμαίνονταν σε υδατόλουτρο με ανάδευση στους 40°C. Αρχικά χωρίς την ίνα για 5 λεπτά και στην συνέχεια με την ίνα για 20 λεπτά. Έπειτα ακολουθεί η ένεση στον εισαγωγέα του οποίου η θερμοκρασία είναι 270°C. Η ροή του αερίου είναι 1,5 mL/min. Το split 2:1. Χρησιμοποιήθηκε ημιπολική στήλη DB-5ms και ίνα 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS.

Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα ήταν το εξής:

**Πίνακας 1:** Θερμοκρασιακό πρόγραμμα GC για το κρασί

Ρυθμός αύξησης $\Theta$	$\Theta$ °C	Χρόνος Παραμονής
-	40	6 min
5°C/min	70	-
4°C/min	140	-
6°C/min	250	5min
Συνολικός χρόνος προγράμματος: 52,83 min		

#### 5.4. Πειραματική πορεία προσθήκης σεληνίου στο κρασί

Το πείραμα αποτελείται από 4 διαφορετικά δείγματα κρασιού με σελήνιο, από τον κάθε εμπορικό οίνο που αναφέρεται παραπάνω, τα οποία έχουν συγκεντρώσεις 0-0,2-0,4-0,8 mg/L αντίστοιχα. Το σελήνιο που εισήχθη είναι υπό τη μορφή σκόνης. Η κάθε συγκέντρωση έχει από 6 μπουκαλάκια που περιέχουν 45mL κρασιού, ώστε να αξιολογηθούν οι δυνατότητες του σεληνίου στο χρόνο. Αρχικά, παρασκευάζεται πυκνό διάλυμα των 100mL από το οποίο στην συνέχεια γίνονται οι αραιώσεις για την κάθε συγκέντρωση.

Παρασκευάζεται πυκνό διάλυμα κρασιού με σελήνιο συγκέντρωσης 60mg/L.

Νόμος αραιώσης:

$$c_{\text{αρχ}} * V_{\text{αρχ}} = c_{\text{τελ}} * V_{\text{τελ}} \rightarrow$$

$$c_{\text{αρχ}} * 1\text{mL} = 0,2 \text{ mg/L} * 300\text{mL} \rightarrow$$

$$c_{\text{αρχ}} = 60 \text{ mg/L(ppm)}$$

Η διαδικασία έχει ως εξής.

Σε ογκομετρικό κύλινδρο των 100mL φέρονται 0,006g στερεού σεληνίου. Ο κύλινδρος συμπληρώνεται με κρασί και το διάλυμα αναδεύεται ελαφρώς με ράβδο μέχρι πλήρη διάλυση του στερεού.

Στη συνέχεια παρασκευάζονται διαλύματα κρασιού με σελήνιο συγκέντρωσης 0-0,2-0,4-0,8 mg/L.

Σε ποτήρι ζέσεως φέρονται οι αντίστοιχες ποσότητες από το πυκνό διάλυμα (0-1-2-4 mL) και το ποτήρι συμπληρώνεται με κρασί μέχρι τελικού όγκου 300mL και στη συνέχεια μεταφέρονται στους αντίστοιχους περιέκτες.

**Πίνακας 2:** Συγκέντρωση αντιοξειδωτικού στα δείγματα οίνου

<b>C<sub>Se</sub>(mg/L)</b>	<b>0</b>	<b>0,2</b>	<b>0,4</b>	<b>0,8</b>
V(mL) πυκνού διαλύματος	0	1	2	4
V(mL) κρασιού	300	299	298	296
Σύνολο(mL)	300	300	300	300

**Πίνακας 3:** Κωδικοποίηση δειγμάτων του πειράματος

<b>C<sub>Se</sub> (mg/L)</b>	<b>Ονομασία δειγμάτων</b>	
	<b>Οίνος ποικιλιακός Chardonnay &amp; Traminer 2020</b>	<b>Οίνος ποικιλίας Traminer 2020</b>
0	A <sub>0</sub>	B <sub>0</sub>
0,2	A <sub>2</sub>	B <sub>2</sub>
0,4	A <sub>4</sub>	B <sub>4</sub>
0,8	A <sub>8</sub>	B <sub>8</sub>

## **5.5. Οργανοληπτική αποτίμηση δειγμάτων κρασιού**

Η οργανοληπτική αποτίμηση των δειγμάτων έγινε από δύο δοκιμαστές. Αφού ήρθανε σε θερμοκρασία δωματίου, 30 mL δείγματος τοποθετήθηκαν σε ποτήρια κρασιού. Οι δοκιμαστές αποτίμησαν το άρωμα, την γεύση, την οξύτητα και τα ελαττώματα των δειγμάτων.

## Κεφάλαιο 6<sup>ο</sup>: Αποτελέσματα και Συζήτηση

Αναλύθηκαν 2 διαφορετικοί οίνοι και συγκρίθηκαν 4 δείγματα διαφορετικών συγκεντρώσεων σε σελήνιο 0-0,2-0,4-0,8 mg/L από κάθε οίνο σε χρόνους 0, 5, 10, 15 και 25 ημερών. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν. Η κάθε τιμή που παρατίθεται παρακάτω αποτελεί την μέση τιμή των τριών επαναλήψεων  $\pm$  την τυπική απόκλισή της. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

### 6.1. Βασική σύσταση οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της βασικής σύστασης του κρασιού ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 που μελετήθηκε. Η αλκοόλη, % vol, στους 20°C μετρήθηκε στους  $12,0 \pm 0,06$  % vol. Οι οίνοι περιέχουν συνήθως  $9,0-15,0$  % vol στους 20°C. Η ολική οξύτητα βρέθηκε  $5,7 \pm 0,2$  g/L *τρυγικού οξέος*, ενώ οι ενδεικτικές τιμές είναι  $5,0-8,0$  g/L *ως τρυγικό οξύ*. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία η μέγιστη επιτρεπόμενη τιμή για την πτητική οξύτητα στους λευκούς οίνους είναι  $1,08$  g/L *ως οξικό οξύ*. Η διατύπωση αυτή επιβεβαιώνεται καθώς η τιμή της πτητικής οξύτητας στο κρασί βρέθηκε  $0,45 \pm 0,03$  g/L *οξικού οξέος*. Η νομοθεσία θεωρεί ξηρούς οίνους αυτούς με ανάγοντα σάκχαρα  $<4$  g/L όμως για λόγους ασφάλειας το όριο αυτό καλό είναι ειδικά για λευκούς οίνους να βρίσκεται σε επίπεδα  $<2,5$  g/L. Ο συγκεκριμένος οίνος επιβεβαιώνει τον τίτλο του ξηρού που τον χαρακτηρίζει καθώς η τιμή των αναγόντων σακχάρων βρέθηκε  $1,7 \pm 0,06$  g/L. Τέλος, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία στους λευκούς οίνους το μέγιστο όριο για τα θειώδη είναι 210 mg/L, όριο το οποίο δεν ξεπερνάτε στον οίνο που μελετήθηκε καθώς η τιμή για το ολικό θειώδες είναι  $73,4 \pm 3,9$  mg/L.

Πίνακας 4: Βασική σύσταση οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020

Αλκοόλη (% vol)	$12,0 \pm 0,06^*$
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικού οξέος)	$5,7 \pm 0,2^*$
Πτητική οξύτητα (g/L οξικού οξέος)	$0,45 \pm 0,03^*$
Ανάγοντα σάκχαρα (g/L)	$1,7 \pm 0,06^*$
Ολικό SO <sub>2</sub> (mg/L)	$73,4 \pm 3,9^*$
Ελεύθερο SO <sub>2</sub> (mg/L)	$7,3 \pm 0,8^*$

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων



## 6.2. Επίδραση σεληνίου στην οξείδωση και ποιότητα του οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020

Στον πίνακα που ακολουθεί εμφανίζονται τα αποτελέσματα της απορρόφησης του οίνου στα 420 nm, κατά την διατήρηση του, στους 20°C. Κάθετα γίνεται στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι η οξείδωση (απορρόφηση στα 420nm) μεταξύ των δειγμάτων και του μάρτυρα στις 0 ημέρες δεν παρουσιάζει στατιστικές διαφορές και η στατιστική αλλαγή ξεκινάει από τις 5 ημέρες και έπειτα. Σε αυτές τις ημέρες παρατηρούμε ότι υπάρχει μεγαλύτερη συγκράτηση στο δείγμα που περιέχει την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα και συγκεκριμένα με τον μάρτυρα, όπου η στατιστική διαφορά είναι εμφανής. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε ότι η οξείδωση (απορρόφηση στα 420nm) αυξάνεται σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου, διατηρώντας ωστόσο χαμηλότερες τιμές στο δείγμα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Είναι γνωστό ότι η απορρόφηση στα 420nm αυξάνεται κατά την αποθήκευση του οίνου, γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται και από την δράση του σεληνίου στους 35°C όπου δρα σαν αναστολέας του Browning. (Vlahou et al., 2022)

**Πίνακας 5:** Επίδραση του σεληνίου στην απορρόφηση του οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 στα 420nm κατά την διατήρηση του στους 20°C

<b>A 420nm</b>	<b>0 ημέρες</b>	<b>5 ημέρες</b>	<b>10 ημέρες</b>	<b>15 ημέρες</b>	<b>25 ημέρες</b>
<b>A<sub>0</sub></b>	0,088 <sup>a,A</sup> ± 0,001*	0,104 <sup>a,B</sup> ± 0,001*	0,110 <sup>a,C</sup> ± 0,002*	0,112 <sup>a,C</sup> ± 0,002*	0,116 <sup>a,D</sup> ± 0,001*
<b>A<sub>2</sub></b>	0,088 <sup>a,A</sup> ± 0,001*	0,102 <sup>b,B</sup> ± 0,001*	0,107 <sup>b,C</sup> ± 0,001*	0,110 <sup>ab,D</sup> ± 0,002*	0,114 <sup>a,E</sup> ± 0,002*
<b>A<sub>4</sub></b>	0,089 <sup>a,A</sup> ± 0,001*	0,099 <sup>c,B</sup> ± 0,001*	0,106 <sup>bc,C</sup> ± 0,001*	0,108 <sup>bc,C</sup> ± 0,002*	0,113 <sup>ab,D</sup> ± 0,003*
<b>A<sub>8</sub></b>	0,089 <sup>a,A</sup> ± 0,001*	0,099 <sup>c,B</sup> ± 0,001*	0,105 <sup>c,C</sup> ± 0,001*	0,106 <sup>c,C</sup> ± 0,001*	0,110 <sup>b,D</sup> ± 0,003*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Με την προσθήκη σεληνίου υπάρχει μείωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη σε όλες τις μέρες που πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις. Από τον παρακάτω πίνακα αποτελεσμάτων μπορούμε να διακρίνουμε ότι παρότι υπάρχει συνεχής μείωση μεταξύ των ημερών, τα δείγματα με σελήνιο ανεξαρτήτου συγκέντρωσης και ο μάρτυρας δεν εμφανίζουν στατιστικές διαφορές μεταξύ τους.

**Πίνακας 6:** Επίδραση του σεληνίου στην συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη του οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 κατά την διατήρηση του στους 20°C

<b>Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης</b>	<b>0 ημέρες (mg/L)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L)</b>
<b>A<sub>0</sub></b>	7,3 <sup>a,A</sup> ±0,8*	6,0 <sup>a,B</sup> ±0,8*	4,9 <sup>a,C</sup> ±0,5*	4,2 <sup>a,D</sup> ±0,3*	2,9 <sup>a,E</sup> ±0,4*
<b>A<sub>2</sub></b>	7,3 <sup>a,A</sup> ±0,8*	6,0 <sup>a,B</sup> ±0,8*	4,9 <sup>a,C</sup> ±0,5*	4,2 <sup>a,D</sup> ±0,4*	2,9 <sup>a,E</sup> ±0,4*
<b>A<sub>4</sub></b>	7,3 <sup>a,A</sup> ±0,8*	6,1 <sup>a,B</sup> ±0,8*	5,0 <sup>a,C</sup> ±0,6*	4,3 <sup>a,D</sup> ±0,4*	3,1 <sup>a,E</sup> ±0,5*
<b>A<sub>8</sub></b>	7,4 <sup>a,A</sup> ±0,8*	6,1 <sup>a,B</sup> ±0,8*	5,0 <sup>a,C</sup> ±0,6*	4,3 <sup>a,D</sup> ±0,4*	3,1 <sup>a,E</sup> ±0,5*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Στον πίνακα που ακολουθεί εμφανίζονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των φλαβονολών, κατά την διατήρηση του οίνου, στους 20°C. Κάθετα γίνεται στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Οι τιμές των φλαβονολών εκφράζονται ως mg/L κατεχίνης. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι στις 0 ημέρες υπάρχει μια μικρή στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων και στις 5, 10 και 15 ημέρες υπάρχει μεγαλύτερη στατιστική διαφορά μεταξύ όλων των δειγμάτων. Στις 25 ημέρες υπάρχει μείωση στην συγκέντρωση των φλαβονολών, ωστόσο όμως διατηρείται η στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και του δείγματος με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση φλαβονολών αυξάνεται σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου μέχρι την 15<sup>η</sup> ημέρα και την 25<sup>η</sup> ημέρα υπάρχει μείωση με διατήρηση της στατιστικής

διαφοράς. Αρκετοί ερευνητές ανέφεραν μείωση των συνολικών επιπέδων φλαβανολών κατά την αποθήκευση λευκού κρασιού. Μείωση των επιπέδων της κατεχίνης αναφέρθηκε επίσης από τους Fernández-Zurbano et al. κατά την αποθήκευση του λευκού κρασιού, υποδεικνύοντας ότι αυτή η ένωση έχει σημαντικό ρόλο στην οξείδωση του κρασιού.

**Πίνακας 7:** Επίδραση του σεληνίου στην συγκέντρωση των φλαβανολών του οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 κατά την διατήρηση του στους 20°C

<b>Φλαβανόλες</b>	<b>0 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>
<b>A0</b>	14,3 <sup>a,A</sup> ± 0,3*	14,8 <sup>a,B</sup> ± 0,3*	16,2 <sup>a,C</sup> ± 0,2*	17,5 <sup>a,D</sup> ± 0,2*	13,0 <sup>a,E</sup> ± 0,0*
<b>A2</b>	14,7 <sup>ab,A</sup> ± 0,3*	15,1 <sup>ab,B</sup> ± 0,3*	16,6 <sup>a,C</sup> ± 0,3*	17,9 <sup>b,D</sup> ± 0,1*	13,3 <sup>a,E</sup> ± 0,2*
<b>A4</b>	14,8 <sup>ab,A</sup> ± 0,3*	15,5 <sup>bc,B</sup> ± 0,2	17,4 <sup>b,C</sup> ± 0,2*	18,3 <sup>c,D</sup> ± 0,2*	13,8 <sup>b,E</sup> ± 0,2*
<b>A8</b>	14,9 <sup>b,A</sup> ± 0,3*	15,8 <sup>c,A</sup> ± 0,5*	17,9 <sup>c,B</sup> ± 0,1*	19,1 <sup>d,C</sup> ± 0,3*	14,3 <sup>b,D</sup> ± 0,5*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Στον πίνακα που ακολουθεί εμφανίζονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων, κατά την διατήρηση του οίνου, στους 20°C. Κάθετα γίνεται στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Οι τιμές των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων εκφράζονται ως mg/L καφεϊκού οξέος. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι στις 0, 5 και 10 ημέρες δεν υπάρχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, ενώ στις 15 και 25 ημέρες η στατιστική διαφορά είναι πιο εμφανής και συγκεκριμένα μεταξύ του μάρτυρα και του δείγματος με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων μειώνεται σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου. Ωστόσο, το δείγμα που περιέχει την υψηλότερη τιμή σεληνίου διατηρεί την συγκέντρωση των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Σε μια μελέτη, οι Gislason et al. ανέφεραν ότι τα υδροξυ-

κιναμικά βρέθηκαν να καταστέλλουν εξίσου το σχηματισμό προϊόντων οξείδωσης σε ένα μοντέλο κρασιού που υποβλήθηκε στην αντίδραση Fenton.

**Πίνακας 8:** Επίδραση του σεληνίου στην συγκέντρωση των υδροξυ-κιναμωμικών οξέων του οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 κατά τη διατήρηση του στους 20°C

<b>Υδροξυ- κιναμωμικά οξέα</b>	<b>0 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>
<b>A<sub>0</sub></b>	74,3 <sup>a,A</sup> ± 1,0*	72,3 <sup>a,A</sup> ± 1,2*	69,7 <sup>a,B</sup> ± 1,7*	62,6 <sup>a,C</sup> ± 0,8*	59,4 <sup>a,D</sup> ± 1,5*
<b>A<sub>2</sub></b>	74,8 <sup>a,A</sup> ± 0,7*	74,3 <sup>b,A</sup> ± 0,7*	71,0 <sup>a,B</sup> ± 2,5*	65,7 <sup>b,C</sup> ± 0,5*	63,7 <sup>b,C</sup> ± 0,9*
<b>A<sub>4</sub></b>	75,3 <sup>a,A</sup> ± 0,5*	74,6 <sup>b,A</sup> ± 0,6*	71,3 <sup>a,B</sup> ± 2,4*	67,6 <sup>bc,C</sup> ± 1,3*	66,0 <sup>bc,C</sup> ± 1,5*
<b>A<sub>8</sub></b>	75,5 <sup>a,A</sup> ± 0,6*	75,6 <sup>b,A</sup> ± 0,9*	71,6 <sup>a,B</sup> ± 2,4*	68,9 <sup>c,BC</sup> ± 1,4*	67,3 <sup>c,C</sup> ± 2,0*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Στον πίνακα που ακολουθεί εμφανίζονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των ορθο-διφαινολών, κατά την διατήρηση του οίνου, στους 20°C. Κάθετα γίνεται στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Οι τιμές των ορθο-διφαινολών εκφράζονται ως mg/L καφεϊκού οξέος. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι στις 0 ημέρες δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, ενώ στις 5 και 10 ημέρες υπάρχει αύξηση της συγκέντρωσης και στατιστική διαφορά μεταξύ όλων των δειγμάτων. Στις 15 και 25 ημέρες υπάρχει μείωση στην συγκέντρωση των ορθο-διφαινολών, ωστόσο όμως διατηρείται η στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και του δείγματος με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Επιπλέον, τα δείγματα με συγκέντρωση σεληνίου 0,4 mg/L και 0,8 mg/L συνεχίζουν να διατηρούν υψηλές τις τιμές σε σχέση με την ημέρα 0. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση ορθο-διφαινολών αυξάνεται σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου μέχρι την 10<sup>η</sup> ημέρα και την 15<sup>η</sup> ημέρα υπάρχει μείωση.

**Πίνακας 9:** Επίδραση του σεληνίου στην συγκέντρωση των ορθο-διφαινολών του οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 κατά την διατήρηση του στους 20°C

<b>Ορθο-διφαινόλες</b>	<b>0 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>
<b>A0</b>	129,0 <sup>a,A</sup> ± 2,2*	130,7 <sup>a,A</sup> ± 1,7*	134,0 <sup>a,B</sup> ± 1,2*	123,3 <sup>a,C</sup> ± 2,4*	119,6 <sup>a,D</sup> ± 0,4*
<b>A2</b>	129,5 <sup>a,A</sup> ± 2,1*	134,6 <sup>b,B</sup> ± 1,0*	141,6 <sup>b,C</sup> ± 0,7*	128,2 <sup>b,A</sup> ± 0,8*	122,0 <sup>a,D</sup> ± 2,2*
<b>A4</b>	129,9 <sup>a,A</sup> ± 2,1*	139,2 <sup>c,B</sup> ± 0,8*	146,7 <sup>c,C</sup> ± 0,7*	132,8 <sup>c,A</sup> ± 1,8*	130,6 <sup>b,A</sup> ± 2,2*
<b>A8</b>	130,2 <sup>a,A</sup> ± 2,1*	150,1 <sup>d,B</sup> ± 1,1*	151,6 <sup>d,B</sup> ± 1,3*	145,8 <sup>d,C</sup> ± 2,3*	143,3 <sup>c,C</sup> ± 3,0*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος αναγωγής Fe<sup>3+</sup>. Κάθετα γίνεται στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Η τιμή της αναγωγικής ισχύς εκφράζεται ως mg/L γαλλικού οξέος. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι στις 0 ημέρες δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, ενώ στις 5, 10, 15 και 25 ημέρες υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ όλων των δειγμάτων. Σε κάθε ημέρα που έγιναν οι μετρήσεις φαίνεται ότι η αναγωγική ισχύς μεταξύ των δειγμάτων αυξάνεται με διατήρηση, σε όλες τις ημέρες, της μεγαλύτερης τιμής στο δείγμα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε ότι η τιμή της αναγωγικής ισχύς αυξάνεται σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου.

**Πίνακας 10:** Επίδραση του σεληνίου στην αντιοξειδωτική δράση του οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 μέσω της μεθόδου αναγωγής Fe<sup>3+</sup> κατά την διατήρηση του στους 20°C

<b>Αναγωγική ισχύς</b>	<b>0 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>
<b>A0</b>	62,0 <sup>a,A</sup> ± 1,3*	69,3 <sup>a,B</sup> ± 1,3*	75,5 <sup>a,C</sup> ± 1,3*	82,8 <sup>a,D</sup> ± 1,6*	84,1 <sup>a,D</sup> ± 1,6*
<b>A2</b>	62,6 <sup>a,A</sup> ± 1,2*	73,0 <sup>b,B</sup> ± 1,3*	77,8 <sup>b,C</sup> ± 0,4*	90,5 <sup>b,D</sup> ± 0,7*	92,6 <sup>b,E</sup> ± 1,1*
<b>A4</b>	63,0 <sup>a,A</sup> ± 1,2*	76,2 <sup>c,B</sup> ± 1,0*	80,3 <sup>c,C</sup> ± 0,7*	100,3 <sup>c,D</sup> ± 1,9*	114,5 <sup>c,E</sup> ± 0,6*
<b>A8</b>	63,2 <sup>a,A</sup> ± 1,1*	81,8 <sup>d,B</sup> ± 0,7*	83,5 <sup>d,B</sup> ± 1,0*	103,7 <sup>d,C</sup> ± 1,0*	118,3 <sup>d,D</sup> ± 1,7*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

*Στην συνέχεια παρουσιάζονται οι πίνακες των πτητικών ενώσεων, όπως προέκυψαν από τον ημιποσοτικό προσδιορισμό τους κατά την αέρια χρωματογραφία.*

**Πίνακας 11:** Συγκεντρώσεις πτητικών οξικών εστέρων, αιθυλεστέρων και τερπενίων του λευκού οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 ανά συγκέντρωση σεληνίου 0, 0,4 και 0,8mg/L στις 0, 15 και 25 ημέρες

Πτητικά	0 Ημέρες	15 Ημέρες			25 Ημέρες		
	0 mg/L	0 mg/L	0,4 mg/L	0,8 mg/L	0 mg/L	0,4 mg/L	0,8 mg/L
Isoamyl acetate	9,02 <sup>A</sup> ±0,31	6,59 <sup>a,B</sup> ±0,25	9,61 <sup>b</sup> ±0,35	11,90 <sup>c</sup> ±0,87	3,40 <sup>a,C</sup> ±0,12	6,81 <sup>b</sup> ±0,40	8,15 <sup>c</sup> ±0,17
Hexyl acetate	3,28 <sup>A</sup> ±0,40	2,53 <sup>a,B</sup> ±0,24	3,20 <sup>b</sup> ±0,08	3,64 <sup>c</sup> ±0,07	1,13 <sup>a,C</sup> ±0,08	2,76 <sup>b</sup> ±0,19	2,94 <sup>b</sup> ±0,11
2-Phenyl ethyl acetate	1,18 <sup>A</sup> ±0,07	0,86 <sup>a,B</sup> ±0,05	1,06 <sup>b</sup> ±0,09	1,46 <sup>c</sup> ±0,10	0,67 <sup>a,C</sup> ±0,08	0,80 <sup>a</sup> ±0,08	1,10 <sup>b</sup> ±0,06
Ethyl caproate	41,00 <sup>A</sup> ±1,19	26,84 <sup>a,B</sup> ±0,86	44,86 <sup>b</sup> ±1,47	55,85 <sup>c</sup> ±1,58	18,00 <sup>a,C</sup> ±0,92	21,84 <sup>b</sup> ±1,09	32,61 <sup>c</sup> ±1,87
Ethyl caprylate	87,82 <sup>A</sup> ±0,75	61,97 <sup>a,B</sup> ±0,68	93,72 <sup>b</sup> ±0,56	113,51 <sup>c</sup> ±2,02	47,46 <sup>a,C</sup> ±0,99	76,29 <sup>b</sup> ±1,67	104,22 <sup>c</sup> ±2,00
Ethyl caprate	64,31 <sup>A</sup> ±2,96	60,86 <sup>a,B</sup> ±2,71	67,04 <sup>b</sup> ±1,52	69,55 <sup>b</sup> ±0,77	53,97 <sup>a,C</sup> ±2,50	61,96 <sup>b</sup> ±1,97	64,26 <sup>b</sup> ±0,99
Ethyl-9-decanoate	5,46 <sup>A</sup> ±0,28	4,89 <sup>a,B</sup> ±0,30	5,44 <sup>b</sup> ±0,06	6,45 <sup>c</sup> ±0,22	3,28 <sup>a,C</sup> ±0,15	4,41 <sup>b</sup> ±0,43	5,74 <sup>c</sup> ±0,23
Ethyl laurate	5,46 <sup>A</sup> ±0,43	4,26 <sup>a,B</sup> ±0,17	5,79 <sup>b</sup> ±0,19	6,61 <sup>c</sup> ±0,42	3,34 <sup>a,C</sup> ±0,17	4,26 <sup>b</sup> ±0,11	5,58 <sup>c</sup> ±0,23
Ethyl-3-methylbutylbutanedioate	0,42 <sup>A</sup> ±0,03	0,25 <sup>a,B</sup> ±0,02	0,31 <sup>b</sup> ±0,03	0,43 <sup>c</sup> ±0,02	0,18 <sup>a,C</sup> ±0,02	0,24 <sup>b</sup> ±0,03	0,33 <sup>c</sup> ±0,02
Limonene	0,45 <sup>A</sup> ±0,08	0,23 <sup>a,B</sup> ±0,02	0,33 <sup>b</sup> ±0,01	0,44 <sup>c</sup> ±0,01	0,16 <sup>a,C</sup> ±0,02	0,28 <sup>b</sup> ±0,03	0,32 <sup>b</sup> ±0,03
Linalool	6,10 <sup>A</sup> ±0,18	5,21 <sup>a,B</sup> ±0,05	5,90 <sup>b</sup> ±0,07	6,69 <sup>c</sup> ±0,12	4,56 <sup>a,C</sup> ±0,33	5,39 <sup>b</sup> ±0,17	6,18 <sup>c</sup> ±0,13
□-Terpineol	2,12 <sup>A</sup> ±0,04	1,28 <sup>a,B</sup> ±0,04	1,55 <sup>b</sup> ±0,06	2,14 <sup>c</sup> ±0,10	1,06 <sup>a,C</sup> ±0,05	1,25 <sup>b</sup> ±0,08	1,51 <sup>c</sup> ±0,10

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα

\*A,B,C= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα

**Πίνακας 12:** Συγκεντρώσεις πτητικών ανώτερων αλκοολών και λιπαρών οξέων του λευκού οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 ανά συγκέντρωση σεληνίου 0, 0,4 και 0,8mg/L στις 0, 15 και 25 ημέρες

Πτητικά	0 Ημέρες	15 Ημέρες			25 Ημέρες		
	0 mg/L	0 mg/L	0,4 mg/L	0,8 mg/L	0 mg/L	0,4 mg/L	0,8 mg/L
2-Methyl-propanol	2,25 <sup>A</sup> ±0,26	1,42 <sup>a,B</sup> ±0,04	1,61 <sup>b</sup> ±0,04	2,26 <sup>c</sup> ±0,11	1,19 <sup>a,C</sup> ±0,13	1,35 <sup>a</sup> ±0,06	1,67 <sup>b</sup> ±0,15
Isoamyl alcohol	8,33 <sup>A</sup> ±0,33	6,53 <sup>a,B</sup> ±0,14	12,07 <sup>b</sup> ±0,32	13,77 <sup>c</sup> ±0,18	3,38 <sup>a,C</sup> ±0,13	7,25 <sup>b</sup> ±0,24	8,72 <sup>c</sup> ±0,23
Hexanol	2,24 <sup>A</sup> ±0,09	1,13 <sup>a,B</sup> ±0,11	2,11 <sup>b</sup> ±0,09	2,96 <sup>c</sup> ±0,08	0,73 <sup>a,C</sup> ±0,09	1,58 <sup>b</sup> ±0,16	2,18 <sup>c</sup> ±0,11
cis-3-Hexenol	0,18 <sup>A</sup> ±0,00	0,13 <sup>a,B</sup> ±0,01	0,16 <sup>b</sup> ±0,01	0,23 <sup>c</sup> ±0,02	0,06 <sup>a,C</sup> ±0,01	0,12 <sup>b</sup> ±0,01	0,16 <sup>c</sup> ±0,02
2-Ethyl- hexanol	0,17 <sup>A</sup> ±0,02	0,32 <sup>a,B</sup> ±0,06	0,57 <sup>b</sup> ±0,03	0,89 <sup>c</sup> ±0,06	0,64 <sup>a,C</sup> ±0,04	0,99 <sup>b</sup> ±0,05	1,26 <sup>c</sup> ±0,04
1,3-Butanediol	0,54 <sup>A</sup> ±0,10	0,30 <sup>a,B</sup> ±0,03	0,36 <sup>a</sup> ±0,05	0,81 <sup>b</sup> ±0,09	0,17 <sup>a,C</sup> ±0,01	0,28 <sup>b</sup> ±0,01	0,56 <sup>c</sup> ±0,06
2,3-Butanediol	0,42 <sup>A</sup> ±0,08	0,27 <sup>a,B</sup> ±0,07	0,44 <sup>b</sup> ±0,04	0,61 <sup>c</sup> ±0,01	0,11 <sup>a,C</sup> ±0,03	0,34 <sup>b</sup> ±0,02	0,41 <sup>b</sup> ±0,07
Benzene ethanol	7,24 <sup>A</sup> ±0,14	5,19 <sup>a,B</sup> ±0,18	6,24 <sup>b</sup> ±0,07	6,69 <sup>c</sup> ±0,16	3,29 <sup>a,C</sup> ±0,12	4,25 <sup>b</sup> ±0,25	5,70 <sup>c</sup> ±0,12
Butanoic acid	1,90 <sup>A</sup> ±0,04	1,66 <sup>a,B</sup> ±0,07	1,90 <sup>b</sup> ±0,04	2,08 <sup>b</sup> ±0,07	1,31 <sup>a,C</sup> ±0,03	1,54 <sup>b</sup> ±0,11	1,80 <sup>c</sup> ±0,08
3-Methyl-butanoic acid	0,20 <sup>A</sup> ±0,01	0,13 <sup>a,B</sup> ±0,02	0,23 <sup>b</sup> ±0,02	0,30 <sup>c</sup> ±0,02	0,05 <sup>a,C</sup> ±0,01	0,13 <sup>b</sup> ±0,02	0,26 <sup>c</sup> ±0,01
Caprylic acid	6,69 <sup>A</sup> ±0,27	4,69 <sup>a,B</sup> ±0,35	5,28 <sup>b</sup> ±0,03	6,45 <sup>c</sup> ±0,30	3,45 <sup>a,C</sup> ±0,26	4,41 <sup>b</sup> ±0,19	5,47 <sup>c</sup> ±0,19
Capric acid	1,58 <sup>A</sup> ±0,28	0,77 <sup>a,B</sup> ±0,13	1,44 <sup>b</sup> ±0,13	1,69 <sup>c</sup> ±0,07	0,54 <sup>a,C</sup> ±0,05	0,77 <sup>b</sup> ±0,02	1,29 <sup>c</sup> ±0,06

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα

\*A,B,C= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα



**Πίνακας 13:** Η εξέλιξη των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των δειγμάτων του οίνου ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 κατά την διάρκεια της αποθήκευσης

0 ημέρες	A <sub>0</sub>	Έντονες αρωματικές αποχρώσεις. Αρωματική και γευστική πολυπλοκότητα και ισορροπία με ευχάριστη και δροσερή οξύτητα.
	A <sub>2</sub>	Έντονες αρωματικές αποχρώσεις. Αρωματική και γευστική πολυπλοκότητα και ισορροπία με ευχάριστη και δροσερή οξύτητα.
	A <sub>4</sub>	Έντονες αρωματικές αποχρώσεις. Αρωματική και γευστική πολυπλοκότητα και ισορροπία με ευχάριστη και δροσερή οξύτητα.
	A <sub>8</sub>	Έντονες αρωματικές αποχρώσεις. Αρωματική και γευστική πολυπλοκότητα και ισορροπία με ευχάριστη και δροσερή οξύτητα.
5 ημέρες	A <sub>0</sub>	Ελαφρώς απώλεια του αρώματος και της δροσερής οξύτητας.
	A <sub>2</sub>	Το άρωμα είναι πιο έντονο από του A <sub>0</sub> αλλά λιγότερο από αυτό του A <sub>4</sub> και του A <sub>8</sub> .
	A <sub>4</sub>	Έντονη αρωματική απόχρωση και διατήρηση της ευχάριστης και δροσερής οξύτητας.
	A <sub>8</sub>	
10 ημέρες	A <sub>0</sub>	Οξειδωμένο άρωμα και αλλοιωμένη γεύση.
	A <sub>2</sub>	
	A <sub>4</sub>	Καλύτερο άρωμα από το μάρτυρα και το A <sub>2</sub> με σημάδια αλλοίωσης στη γεύση.
	A <sub>8</sub>	Ελαφρώς καλύτερο άρωμα από τα υπόλοιπα με μικρά σημάδια αλλοίωσης στη γεύση.
15 ημέρες	A <sub>0</sub>	Οξειδωμένο άρωμα και αλλοιωμένη γεύση.
	A <sub>2</sub>	
	A <sub>4</sub>	
	A <sub>8</sub>	Καλύτερο άρωμα από τα υπόλοιπα με σημάδια αλλοίωσης στη γεύση.
25 ημέρες	A <sub>0</sub>	Όλα τα δείγματα έχουν οξειδωμένο άρωμα και αισθητά σημάδια αλλοίωσης στη γεύση.
	A <sub>2</sub>	
	A <sub>4</sub>	
	A <sub>8</sub>	

Τα αποτελέσματα των οργανοληπτικών δοκιμών συνοψίζονται παρακάτω.

Κατά την αρχική δειγματοληπτική δοκιμή δεν ανιχνεύθηκε κάποιο αρνητικό χαρακτηριστικό σε κανένα από τα δείγματα. Και τα τέσσερα δείγματα χαρακτηρίστηκαν με έντονες αρωματικές αποχρώσεις. Επίσης, όλα τα δείγματα χαρακτηρίστηκαν με ευχάριστη και δροσερή οξύτητα καθώς και με αρωματική και γευστική πολυπλοκότητα.

*Στις 5 ημέρες η οξύτητα, το άρωμα και η πολυπλοκότητα διατηρούνται στα δείγματα με σελήνιο, ενώ ο μάρτυρας εμφανίζει τα πρώτα σημάδια οξείδωσης.*

*Στις 10 ημέρες η οξείδωση του μάρτυρα είναι πιο έντονη, ενώ παράλληλα και το δείγμα με τη μικρότερη συγκέντρωση σεληνίου έχει αρχίσει να οξειδώνεται και να αλλοιώνεται η γεύση του. Από την άλλη, τα δείγματα με μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου συνεχίζουν να διατηρούν το άρωμα τους.*

*Στις 15 ημέρες και ο μάρτυρας και τα τρία πρώτα δείγματα με σελήνιο έχουν οξειδωθεί ως προς το άρωμα και αλλοιωθεί ως προς την γεύση. Ωστόσο, το τέταρτο δείγμα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση εξακολουθεί να έχει καλύτερο άρωμα σε σχέση με τα υπόλοιπα.*

*Στις 25 ημέρες η οξείδωση είναι προχωρημένη σε όλα τα δείγματα χωρίς κάποιο να είναι χειρότερο ή καλύτερο από τα υπόλοιπα.*

### 6.3. Βασική σύσταση οίνου ποικιλίας Traminer 2020

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της βασικής σύστασης του κρασιού ποικιλίας Traminer 2020 που μελετήθηκε. Η αλκοόλη, % vol, στους 20°C μετρήθηκε στους  $13,0 \pm 0,06$  % vol. Οι οίνοι περιέχουν συνήθως  $9,0-15,0$  % vol στους 20°C. Η ολική οξύτητα βρέθηκε  $5,5 \pm 0,2$  g/L τρυγικού οξέος, ενώ οι ενδεικτικές τιμές είναι  $5,0-8,0$  g/L ως τρυγικό οξύ. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία η μέγιστη επιτρεπόμενη τιμή για την πτητική οξύτητα στους λευκούς οίνους είναι  $1,08$  g/L ως οξικό οξύ. Η διατύπωση αυτή επιβεβαιώνεται καθώς η τιμή της πτητικής οξύτητας στο κρασί βρέθηκε  $0,36 \pm 0,03$  g/L οξικού οξέος. Η νομοθεσία θεωρεί ξηρούς οίνους αυτούς με ανάγοντα σάκχαρα  $<4$  g/L όμως για λόγους ασφάλειας το όριο αυτό καλό είναι ειδικά για λευκούς οίνους να βρίσκεται σε επίπεδα  $<2,5$  g/L. Ο συγκεκριμένος οίνος επιβεβαιώνει τον τίτλο του ξηρού που τον χαρακτηρίζει καθώς η τιμή των αναγόντων σακχάρων βρέθηκε  $2,2 \pm 0,00$  g/L. Τέλος, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία στους λευκούς οίνους το μέγιστο όριο για τα θειώδη είναι 210 mg/L, όριο το οποίο δεν ξεπερνάτε στον οίνο που μελετήθηκε καθώς η τιμή για το ολικό θειώδες είναι  $92,2 \pm 1,4$  mg/L.

Πίνακας 14: Βασική σύσταση οίνου ποικιλίας Traminer 2020

Αλκοόλη (% vol)	$13,0 \pm 0,06^*$
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικού οξέος)	$5,5 \pm 0,2^*$
Πτητική οξύτητα (g/L οξικού οξέος)	$0,36 \pm 0,03^*$
Ανάγοντα σάκχαρα (g/L)	$2,2 \pm 0,00^*$
Ολικό SO <sub>2</sub> (mg/L)	$92,2 \pm 4,4^*$
Ελεύθερο SO <sub>2</sub> (mg/L)	$9,4 \pm 1,4^*$

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

#### 6.4. Επίδραση σεληνίου στην οξείδωση και ποιότητα του οίνου ποικιλίας Traminer 2020

Στον πίνακα που ακολουθεί εμφανίζονται τα αποτελέσματα της απορρόφησης του οίνου στα 420 nm, κατά την διατήρηση του, στους 20°C. Κάθετα γίνεται στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι η οξείδωση (απορρόφηση στα 420nm) μεταξύ των δειγμάτων και του μάρτυρα στις 0, 5 και 10 ημέρες δεν παρουσιάζει στατιστικές διαφορές και η στατιστική αλλαγή ξεκινάει από τις 15 ημέρες και έπειτα. Στις 15 και 25 ημέρες παρατηρούμε ότι υπάρχει μεγαλύτερη συγκράτηση στο δείγμα που περιέχει την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα και συγκεκριμένα με τον μάρτυρα, όπου η στατιστική διαφορά είναι εμφανής. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε ότι η οξείδωση (απορρόφηση στα 420nm) αυξάνεται σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου, διατηρώντας ωστόσο χαμηλότερες τιμές στο δείγμα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Είναι γνωστό ότι η απορρόφηση στα 420nm αυξάνεται κατά την αποθήκευση του οίνου, γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται και από την δράση του σεληνίου στους 35°C όπου δρα σαν αναστολέας του Browning. (Vlahou et al., 2022)

**Πίνακας 15:** Επίδραση του σεληνίου στην απορρόφηση του οίνου ποικιλίας Traminer 2020 στα 420nm κατά την διατήρηση του στους 20°C

<b>A 420nm</b>	<b>0 ημέρες</b>	<b>5 ημέρες</b>	<b>10 ημέρες</b>	<b>15 ημέρες</b>	<b>25 ημέρες</b>
<b>B<sub>0</sub></b>	0,072 <sup>a,A</sup> ±0,002*	0,083 <sup>a,B</sup> ±0,004*	0,093 <sup>a,C</sup> ±0,005*	0,099 <sup>a,C</sup> ±0,005*	0,107 <sup>a,D</sup> ±0,002*
<b>B<sub>2</sub></b>	0,075 <sup>a,A</sup> ±0,003*	0,080 <sup>a,A</sup> ±0,003*	0,090 <sup>a,B</sup> ±0,005*	0,095 <sup>ab,B</sup> ±0,005*	0,104 <sup>b,C</sup> ±0,001*
<b>B<sub>4</sub></b>	0,075 <sup>a,A</sup> ±0,002*	0,079 <sup>a,A</sup> ±0,001*	0,088 <sup>a,B</sup> ±0,004*	0,092 <sup>ab,B</sup> ±0,003*	0,102 <sup>b,C</sup> ±0,002*
<b>B<sub>8</sub></b>	0,074 <sup>a,A</sup> ±0,003*	0,078 <sup>a,A</sup> ±0,002*	0,087 <sup>a,B</sup> ±0,005*	0,089 <sup>b,B</sup> ±0,005*	0,099 <sup>c,C</sup> ±0,001*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Με την προσθήκη σεληνίου υπάρχει μείωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη σε όλες τις μέρες που πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις. Από τον παρακάτω πίνακα αποτελεσμάτων μπορούμε να διακρίνουμε ότι παρότι υπάρχει συνεχής μείωση μεταξύ των ημερών, τα δείγματα με σελήνιο ανεξαρτήτου συγκέντρωσης και ο μάρτυρας δεν εμφανίζουν στατιστικές διαφορές μεταξύ τους.

**Πίνακας 16:** Επίδραση του σεληνίου στην συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη του οίνου ποικιλίας Traminer 2020 κατά την διατήρηση του στους 20°C.

<b>Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης</b>	<b>0 ημέρες (mg/L)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L)</b>
<b>B<sub>0</sub></b>	9,4 <sup>a,A</sup> ±1,4*	8,4 <sup>a,B</sup> ±1,7*	7,4 <sup>a,C</sup> ±1,5*	5,8 <sup>a,D</sup> ±1,1*	3,9 <sup>a,E</sup> ±0,6*
<b>B<sub>2</sub></b>	9,4 <sup>a,A</sup> ±1,4*	8,4 <sup>a,B</sup> ±1,7*	7,4 <sup>a,C</sup> ±1,5*	5,8 <sup>a,D</sup> ±1,1*	3,9 <sup>a,E</sup> ±0,6*
<b>B<sub>4</sub></b>	9,4 <sup>a,A</sup> ±1,4*	8,4 <sup>a,B</sup> ±1,7*	7,4 <sup>a,C</sup> ±1,5*	5,8 <sup>a,D</sup> ±1,1*	3,9 <sup>a,E</sup> ±0,6*
<b>B<sub>8</sub></b>	9,4 <sup>a,A</sup> ±1,4*	8,4 <sup>a,B</sup> ±1,7*	7,4 <sup>a,C</sup> ±1,5*	5,8 <sup>a,D</sup> ±1,1*	3,9 <sup>a,E</sup> ±0,6*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Στον πίνακα που ακολουθεί εμφανίζονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των φλαβονολών, κατά την διατήρηση του οίνου, στους 20°C. Κάθετα στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Οι τιμές των φλαβονολών εκφράζονται ως mg/L κατεχίνης. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι στις 0 ημέρες υπάρχουν μικρές στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, και στις 5, 10 και 15 ημέρες υπάρχει μεγαλύτερη στατιστική διαφορά μεταξύ όλων των δειγμάτων. Στις 25 ημέρες υπάρχει μείωση στην συγκέντρωση των φλαβονολών, ωστόσο όμως διατηρείται η στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και του δείγματος με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση φλαβονολών αυξάνεται σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου μέχρι

την 15<sup>η</sup> ημέρα και την 25<sup>η</sup> ημέρα υπάρχει μείωση με διατήρηση της στατιστικής διαφοράς. Αρκετοί ερευνητές ανέφεραν μείωση των συνολικών επιπέδων φλαβονολών κατά την αποθήκευση λευκού κρασιού. Μείωση των επιπέδων της κατεχίνης αναφέρθηκε επίσης από τους Fernández-Zurbano et al. κατά την αποθήκευση του λευκού κρασιού, υποδεικνύοντας ότι αυτή η ένωση έχει σημαντικό ρόλο στην οξείδωση του κρασιού.

**Πίνακας 17:** Επίδραση του σεληνίου στην συγκέντρωση των φλαβονολών του οίνου ποικιλίας Traminer 2020 κατά την διατήρηση του στους 20°C

<b>Φλαβανόλες</b>	<b>0 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L κατεχίνης)</b>
<b>B<sub>0</sub></b>	14,4 <sup>a,A</sup> ±0,3*	17,0 <sup>a,B</sup> ±0,1*	17,6 <sup>a,C</sup> ±0,1*	18,9 <sup>a,D</sup> ±0,5*	16,9 <sup>a,B</sup> ±0,1*
<b>B<sub>2</sub></b>	14,7 <sup>b,A</sup> ±0,3*	17,4 <sup>ab,B</sup> ±0,4*	18,4 <sup>b,C</sup> ±0,4*	19,8 <sup>b,D</sup> ±0,4*	17,3 <sup>a,B</sup> ±0,0*
<b>B<sub>4</sub></b>	14,9 <sup>ab,A</sup> ±0,3*	17,6 <sup>ab,B</sup> ±0,5*	19,5 <sup>c,C</sup> ±0,2*	20,4 <sup>bc,D</sup> ±0,3*	17,8 <sup>b,B</sup> ±0,2*
<b>B<sub>8</sub></b>	15,1 <sup>b,A</sup> ±0,3*	17,9 <sup>b,B</sup> ±0,5*	20,1 <sup>d,C</sup> ±0,4*	21,1 <sup>c,D</sup> ±0,6*	18,4 <sup>c,B</sup> ±0,4*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Στον πίνακα που ακολουθεί εμφανίζονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων, κατά την διατήρηση του οίνου, στους 20°C. Κάθετα γίνεται στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Οι τιμές των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων εκφράζονται ως mg/L καφεϊκού οξέος. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι στις 0 ημέρες δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, ενώ από τις 5 ημέρες και έπειτα η στατιστική διαφορά είναι πιο εμφανής και συγκεκριμένα μεταξύ του μάρτυρα και του δείγματος με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε ότι υπάρχει μια μικρή αύξηση την 5<sup>η</sup> ημέρα στην συγκέντρωση των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων, ωστόσο τις υπόλοιπες ημέρες η συγκέντρωσή τους μειώνεται σε όλα τα δείγματα χωρίς όμως να είναι μικρότερη από την τιμή της ημέρας 0. Το δείγμα που περιέχει την υψηλότερη τιμή σεληνίου διατηρεί την συγκέντρωση των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων σε μεγαλύτερο

βαθμό σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Σε μια μελέτη, οι Gislason et al. ανέφεραν ότι τα υδροξυ-κινναμικά βρέθηκαν να καταστέλλουν εξίσου το σχηματισμό προϊόντων οξείδωσης σε ένα μοντέλο κρασιού που υποβλήθηκε στην αντίδραση Fenton.

**Πίνακας 18:** Επίδραση του σεληνίου στην συγκέντρωση των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων του οίνου ποικιλίας Traminer 2020 κατά τη διατήρηση του στους 20°C

<b>Υδροξυ-κινναμωμικά οξέα</b>	<b>0 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>
<b>B<sub>0</sub></b>	64,2 <sup>a,A</sup> ±1,2*	69,0 <sup>a,B</sup> ±1,1*	66,9 <sup>a,C</sup> ±0,9*	65,2 <sup>a,A</sup> ±0,5*	64,1 <sup>a,A</sup> ±0,9*
<b>B<sub>2</sub></b>	64,4 <sup>a,A</sup> ±1,2*	71,1 <sup>b,B</sup> ±0,6*	68,7 <sup>ab,C</sup> ±1,4*	67,1 <sup>b,CD</sup> ±0,6*	65,3 <sup>ab,A</sup> ±1,1*
<b>B<sub>4</sub></b>	64,8 <sup>a,A</sup> ±1,3*	72,4 <sup>bc,B</sup> ±1,0*	69,8 <sup>bc,C</sup> ±0,9*	69,0 <sup>c,C</sup> ±0,4*	66,8 <sup>bc,D</sup> ±1,0*
<b>B<sub>8</sub></b>	65,0 <sup>a,A</sup> ±1,2*	73,3 <sup>c,B</sup> ±0,8*	71,0 <sup>c,C</sup> ±0,8*	70,3 <sup>d,C</sup> ±0,5*	68,3 <sup>c,D</sup> ±0,4*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Στον πίνακα που ακολουθεί εμφανίζονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των ορθο-διφαινολών, κατά την διατήρηση του οίνου, στους 20°C. Κάθετα γίνεται στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Οι τιμές των ορθο-διφαινολών εκφράζονται ως mg/L καφεϊκού οξέος. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι στις 0 ημέρες δεν υπάρχουν μεγάλες στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, ενώ στις 5,10 και 15 ημέρες υπάρχει αύξηση της συγκέντρωσης και στατιστική διαφορά μεταξύ όλων των δειγμάτων. Στις 25 ημέρες υπάρχει μείωση στην συγκέντρωση των ορθο-διφαινολών, ωστόσο όμως διατηρείται η στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και του δείγματος με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Επιπλέον, τα δείγματα με συγκέντρωση σεληνίου 0,4 mg/L και 0,8 mg/L συνεχίζουν να διατηρούν υψηλές τις τιμές σε σχέση με την ημέρα 0. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε

ότι η συγκέντρωση ορθο-διφαινολών αυξάνεται σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου μέχρι την 15<sup>η</sup> ημέρα και την 25<sup>η</sup> ημέρα υπάρχει μείωση.

**Πίνακας 19:** Επίδραση του σεληνίου στην συγκέντρωση των ορθο-διφαινολών του οίνου ποικιλίας Traminer 2020 κατά την διατήρηση του στους 20°C

<b>Ορθο-διφαινόλες</b>	<b>0 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L καφεϊκού οξέος)</b>
<b>B<sub>0</sub></b>	110,2 <sup>a,A</sup> ±1,7*	122,4 <sup>a,B</sup> ±2,0*	129,1 <sup>a,C</sup> ±2,9*	134,5 <sup>a,D</sup> ±1,0*	114,2 <sup>a,E</sup> ±0,5*
<b>B<sub>2</sub></b>	110,9 <sup>a,A</sup> ±1,9*	126,3 <sup>b,B</sup> ±1,1*	131,1 <sup>a,C</sup> ±1,3*	136,3 <sup>ab,D</sup> ±0,8*	120,6 <sup>b,E</sup> ±1,2*
<b>B<sub>4</sub></b>	111,5 <sup>a,A</sup> ±1,9*	128,8 <sup>c,B</sup> ±0,3*	132,6 <sup>a,C</sup> ±1,7*	137,8 <sup>bc,D</sup> ±0,7*	123,7 <sup>c,E</sup> ±1,0*
<b>B<sub>8</sub></b>	111,7 <sup>a,A</sup> ±1,9*	132,7 <sup>d,B</sup> ±0,7*	138,0 <sup>b,C</sup> ±1,0*	140,1 <sup>c,C</sup> ±1,9*	126,0 <sup>d,D</sup> ±0,8*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος αναγωγής Fe<sup>3+</sup>. Κάθετα γίνεται στατιστική με βάση την ημέρα μεταξύ των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Ενώ οριζόντια γίνεται στατιστική με βάση το κάθε δείγμα στις ημέρες που έγιναν οι μετρήσεις. Η τιμή της αναγωγικής ισχύς εκφράζεται ως mg/L γαλλικού οξέος. Με βάση την κάθετη σύγκριση παρατηρούμε ότι στις 0 ημέρες δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, ενώ στις 5, 10, 15 και 25 ημέρες υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ όλων των δειγμάτων. Σε κάθε ημέρα που έγιναν οι μετρήσεις φαίνεται ότι η αναγωγική ισχύς μεταξύ των δειγμάτων αυξάνεται με διατήρηση, σε όλες τις ημέρες, της μεγαλύτερης τιμής στο δείγμα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου. Με βάση την οριζόντια σύγκριση παρατηρούμε ότι η τιμή της αναγωγικής ισχύς αυξάνεται σε όλα τα δείγματα με την πάροδο του χρόνου.



**Πίνακας 20:** Επίδραση του σεληνίου στην αντιοξειδωτική δράση του οίνου ποικιλίας Traminer 2020 μέσω της μεθόδου αναγωγής  $Fe^{3+}$  κατά την διατήρηση του στους 20°C

<b>Αναγωγική ισχύς</b>	<b>0 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>	<b>5 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>	<b>10 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>	<b>15 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>	<b>25 ημέρες (mg/L γαλλικού οξέος)</b>
<b>B<sub>0</sub></b>	107,6 <sup>a,A</sup> ±1,9*	115,1 <sup>a,B</sup> ±1,9*	122,6 <sup>a,C</sup> ±1,3*	131,4 <sup>a,D</sup> ±2,9*	133,9 <sup>a,D</sup> ±1,3*
<b>B<sub>2</sub></b>	107,9 <sup>a,A</sup> ±1,8*	131,4 <sup>b,B</sup> ±3,5*	150,8 <sup>b,C</sup> ±2,3*	153,7 <sup>b,C</sup> ±1,3*	154,5 <sup>b,C</sup> ±1,7*
<b>B<sub>4</sub></b>	108,1 <sup>a,A</sup> ±1,8*	148,0 <sup>c,B</sup> ±1,6*	155,5 <sup>c,C</sup> ±1,0*	157,6 <sup>c,C</sup> ±0,6*	160,1 <sup>c,D</sup> ±0,6*
<b>B<sub>8</sub></b>	108,2 <sup>a,A</sup> ±1,8*	155,8 <sup>d,B</sup> ±2,3*	162,6 <sup>d,C</sup> ±1,7*	166,0 <sup>d,D</sup> ±1,0*	170,5 <sup>d,E</sup> ±1,0*

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c,d,e= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα (Κάθετη στατιστική)

\*A,B,C,D,E= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα (Οριζόντια στατιστική)

*Στην συνέχεια παρουσιάζονται οι πίνακες των πτητικών ενώσεων, όπως προέκυψαν από τον ημιποσοτικό προσδιορισμό τους κατά την αέρια χρωματογραφία.*

**Πίνακας 21:** Συγκεντρώσεις πτητικών οξικών εστέρων, αιθυλεστέρων και τερπενίων του λευκού οίνου ποικιλίας Traminer 2020 ανά συγκέντρωση σεληνίου 0, 0,4 και 0,8mg/L στις 0, 15 και 25 ημέρες.

Πτητικά	0 Ημέρες	10 Ημέρες			25 Ημέρες		
	0 mg/L	0 mg/L	0,4 mg/L	0,8 mg/L	0 mg/L	0,4 mg/L	0,8 mg/L
Isoamyl acetate	0,23 <sup>A</sup> ±0,03	0,09 <sup>a,B</sup> ±0,01	0,14 <sup>b</sup> ±0,01	0,30 <sup>c</sup> ±0,02	0,03 <sup>a,C</sup> ±0,02	0,10 <sup>b</sup> ±0,01	0,16 <sup>c</sup> ±0,02
Hexyl acetate	4,73 <sup>A</sup> ±0,26	3,16 <sup>a,B</sup> ±0,11	4,34 <sup>b</sup> ±0,09	5,72 <sup>c</sup> ±0,41	1,10 <sup>a,C</sup> ±0,07	2,97 <sup>b</sup> ±0,8	4,26 <sup>c</sup> ±0,10
2-Phenyl ethyl acetate	1,09 <sup>A</sup> ±0,03	0,51 <sup>a,B</sup> ±0,05	0,91 <sup>b</sup> ±0,04	1,23 <sup>c</sup> ±0,11	0,32 <sup>a,C</sup> ±0,03	0,71 <sup>b</sup> ±0,04	1,01 <sup>c</sup> ±0,04
Ethyl caproate	48,23 <sup>A</sup> ±0,09	35,69 <sup>a,B</sup> ±1,01	47,93 <sup>b</sup> ±1,03	55,96 <sup>c</sup> ±0,25	21,52 <sup>a,C</sup> ±0,95	37,16 <sup>b</sup> ±0,45	43,45 <sup>c</sup> ±0,94
Ethyl caprylate	104,27 <sup>A</sup> ±0,50	92,44 <sup>a,B</sup> ±1,00	102,47 <sup>b</sup> ±1,14	120,12 <sup>c</sup> ±1,03	69,62 <sup>a,C</sup> ±0,40	81,62 <sup>b</sup> ±0,52	93,75 <sup>c</sup> ±0,46
Ethyl caprate	48,24 <sup>A</sup> ±1,02	43,21 <sup>a,B</sup> ±0,98	48,57 <sup>b</sup> ±1,35	53,78 <sup>c</sup> ±1,41	26,04 <sup>a,C</sup> ±0,39	34,05 <sup>b</sup> ±0,57	39,57 <sup>c</sup> ±0,54
Ethyl-9-decanoate	1,18 <sup>A</sup> ±0,13	0,78 <sup>a,B</sup> ±0,05	1,33 <sup>b</sup> ±0,17	2,19 <sup>c</sup> ±0,24	0,20 <sup>a,C</sup> ±0,02	0,49 <sup>b</sup> ±0,04	0,89 <sup>c</sup> ±0,06
Ethyl laurate	1,83 <sup>A</sup> ±0,29	0,87 <sup>a,B</sup> ±0,14	2,24 <sup>b</sup> ±0,16	2,96 <sup>c</sup> ±0,08	0,60 <sup>a,C</sup> ±0,05	1,26 <sup>b</sup> ±0,09	1,74 <sup>c</sup> ±0,09
Ethyl-3-methylbutyl-butanedioate	0,07 <sup>A</sup> ±0,01	0,00 <sup>a,B</sup> ±0,00	0,05 <sup>b</sup> ±0,02	0,13 <sup>c</sup> ±0,01	0,00 <sup>a,C</sup> ±0,00	0,00 <sup>a</sup> ±0,00	0,04 <sup>b</sup> ±0,01
Limonene	0,15 <sup>A</sup> ±0,04	0,07 <sup>a,B</sup> ±0,01	0,15 <sup>b</sup> ±0,04	0,35 <sup>c</sup> ±0,02	0,02 <sup>a,C</sup> ±0,01	0,10 <sup>b</sup> ±0,03	0,19 <sup>c</sup> ±0,02
Linalool	6,31 <sup>A</sup> ±0,20	3,94 <sup>a,B</sup> ±0,10	5,21 <sup>b</sup> ±0,12	7,58 <sup>c</sup> ±0,57	1,54 <sup>a,C</sup> ±0,10	3,75 <sup>b</sup> ±0,09	5,44 <sup>c</sup> ±0,09
□-Terpineol	1,25 <sup>A</sup> ±0,17	0,66 <sup>a,B</sup> ±0,02	1,12 <sup>b</sup> ±0,13	2,36 <sup>c</sup> ±0,31	0,28 <sup>a,C</sup> ±0,03	0,75 <sup>b</sup> ±0,09	1,45 <sup>c</sup> ±0,06

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα

\*A,B,C= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα

**Πίνακας 22:** Συγκεντρώσεις πτητικών ανώτερων αλκοολών και λιπαρά οξέα του λευκού οίνου ποικιλίας Traminer 2020 ανά συγκέντρωση σεληνίου 0, 0,4 και 0,8mg/L στις 0, 15 και 25 ημέρες.

Πτητικά	0 Ημέρες			10 Ημέρες			25 Ημέρες		
	0 mg/L	0 mg/L	0,4 mg/L	0,8 mg/L	0 mg/L	0,4 mg/L	0,8 mg/L		
2-Methyl-propanol	1,75 <sup>A</sup> ±0,17	1,14 <sup>a,B</sup> ±0,13	1,88 <sup>b</sup> ±0,06	2,17 <sup>c</sup> ±0,10	0,84 <sup>a,C</sup> ±0,10	1,22 <sup>b</sup> ±0,12	1,77 <sup>c</sup> ±0,08		
Isoamyl alcohol	0,24 <sup>A</sup> ±0,01	0,10 <sup>a,B</sup> ±0,02	0,21 <sup>b</sup> ±0,03	0,32 <sup>c</sup> ±0,02	0,02 <sup>a,C</sup> ±0,01	0,10 <sup>b</sup> ±0,02	0,17 <sup>c</sup> ±0,02		
Hexanol	2,30 <sup>A</sup> ±0,08	1,21 <sup>a,B</sup> ±0,18	2,27 <sup>b</sup> ±0,26	2,61 <sup>b</sup> ±0,25	0,54 <sup>a,C</sup> ±0,09	1,12 <sup>b</sup> ±0,03	1,36 <sup>c</sup> ±0,08		
cis-3-Hexenol	0,17 <sup>A</sup> ±0,02	0,07 <sup>a,B</sup> ±0,01	0,11 <sup>b</sup> ±0,01	0,16 <sup>c</sup> ±0,02	0,01 <sup>a,C</sup> ±0,01	0,06 <sup>b</sup> ±0,01	0,12 <sup>c</sup> ±0,02		
2-Ethyl-hexanol	0,17 <sup>A</sup> ±0,03	0,08 <sup>a,B</sup> ±0,02	0,15 <sup>b</sup> ±0,02	0,25 <sup>c</sup> ±0,05	0,01 <sup>a,C</sup> ±0,01	0,09 <sup>b</sup> ±0,02	0,19 <sup>c</sup> ±0,01		
1,3-Butanediol	0,18 <sup>A</sup> ±0,02	0,09 <sup>a,B</sup> ±0,01	0,16 <sup>b</sup> ±0,03	0,24 <sup>c</sup> ±0,03	0,03 <sup>a,C</sup> ±0,02	0,09 <sup>b</sup> ±0,01	0,16 <sup>c</sup> ±0,01		
2,3-Butanediol	0,24 <sup>A</sup> ±0,03	0,14 <sup>a,B</sup> ±0,03	0,23 <sup>a</sup> ±0,03	0,44 <sup>b</sup> ±0,10	0,06 <sup>a,C</sup> ±0,02	0,15 <sup>b</sup> ±0,01	0,26 <sup>c</sup> ±0,04		
Benzene ethanol	5,69 <sup>A</sup> ±0,18	3,59 <sup>a,B</sup> ±0,35	4,63 <sup>b</sup> ±0,28	5,46 <sup>c</sup> ±0,22	1,91 <sup>a,C</sup> ±0,05	2,17 <sup>b</sup> ±0,07	3,54 <sup>c</sup> ±0,08		
Butanoic acid	1,37 <sup>A</sup> ±0,09	0,91 <sup>a,B</sup> ±0,38	1,53 <sup>b</sup> ±0,08	2,19 <sup>c</sup> ±0,09	0,21 <sup>a,C</sup> ±0,02	1,20 <sup>b</sup> ±0,04	1,84 <sup>c</sup> ±0,07		
3-Methyl-butanoic acid	0,14 <sup>A</sup> ±0,01	0,06 <sup>a,B</sup> ±0,01	0,12 <sup>b</sup> ±0,02	0,18 <sup>c</sup> ±0,02	0,00 <sup>a,C</sup> ±0,01	0,07 <sup>b</sup> ±0,02	0,13 <sup>c</sup> ±0,01		
Caprylic acid	6,26 <sup>A</sup> ±0,16	4,48 <sup>a,B</sup> ±0,36	6,62 <sup>b</sup> ±0,31	8,25 <sup>c</sup> ±0,17	2,18 <sup>a,C</sup> ±0,07	4,79 <sup>b</sup> ±0,04	6,59 <sup>c</sup> ±0,09		
Capric acid	2,72 <sup>A</sup> ±0,17	1,75 <sup>a,B</sup> ±0,15	2,34 <sup>b</sup> ±0,07	3,28 <sup>c</sup> ±0,14	0,31 <sup>a,C</sup> ±0,05	1,19 <sup>b</sup> ±0,05	1,55 <sup>c</sup> ±0,06		

\*N= Μέσος όρος τριών αποτελεσμάτων

\*a,b,c= Σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων ανά ημέρα

\*A,B,C= Σύγκριση μεταξύ των ημερών ανά δείγμα

**Πίνακας 23:** Η εξέλιξη των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των δειγμάτων του οίνου ποικιλίας Traminer 2020 κατά την διάρκεια της αποθήκευσης

0 ημέρες	B <sub>0</sub>	Έντονα αρώματα λευκών φρούτων, λουλουδιών και βοτάνων. Ευχάριστη οξύτητα και έντονη επίγευση.
	B <sub>2</sub>	Έντονα αρώματα λευκών φρούτων, λουλουδιών και βοτάνων. Ευχάριστη οξύτητα και έντονη επίγευση.
	B <sub>4</sub>	Έντονα αρώματα λευκών φρούτων, λουλουδιών και βοτάνων. Ευχάριστη οξύτητα και έντονη επίγευση.
	B <sub>8</sub>	Έντονα αρώματα λευκών φρούτων, λουλουδιών και βοτάνων. Ευχάριστη οξύτητα και έντονη επίγευση.
5 ημέρες	B <sub>0</sub>	Ελαφρώς απώλεια του αρώματος και της ευχάριστης οξύτητας.
	B <sub>2</sub>	Το άρωμα είναι πιο έντονο από του B <sub>0</sub> αλλά λιγότερο από αυτό του B <sub>4</sub> και του B <sub>8</sub> .
	B <sub>4</sub>	Έντονη αρωματική απόχρωση και διατήρηση της ευχάριστης οξύτητας.
	B <sub>8</sub>	
10 ημέρες	B <sub>0</sub>	Οξειδωμένο άρωμα και αλλοιωμένη γεύση.
	B <sub>2</sub>	
	B <sub>4</sub>	Καλύτερο άρωμα από το μάρτυρα και το B <sub>2</sub> με σημάδια αλλοίωσης στη γεύση.
	B <sub>8</sub>	Ελαφρώς καλύτερο άρωμα από τα υπόλοιπα με μικρά σημάδια αλλοίωσης στη γεύση.
15 ημέρες	B <sub>0</sub>	Οξειδωμένο άρωμα και αλλοιωμένη γεύση.
	B <sub>2</sub>	
	B <sub>4</sub>	
	B <sub>8</sub>	Καλύτερο άρωμα από τα υπόλοιπα με σημάδια αλλοίωσης στη γεύση.
25 ημέρες	B <sub>0</sub>	Όλα τα δείγματα έχουν οξειδωμένο άρωμα και αισθητά σημάδια αλλοίωσης στη γεύση.
	B <sub>2</sub>	
	B <sub>4</sub>	
	B <sub>8</sub>	

Τα αποτελέσματα των οργανοληπτικών δοκιμών συνοψίζονται παρακάτω.

Κατά την αρχική δειγματοληπτική δοκιμή δεν ανιχνεύθηκε κάποιο αρνητικό χαρακτηριστικό σε κανένα από τα δείγματα. Και τα τέσσερα δείγματα χαρακτηρίστηκαν με έντονες αρωματικές αποχρώσεις λευκών φρούτων, λουλουδιών και βοτάνων. Επίσης, όλα τα δείγματα χαρακτηρίστηκαν με οξύτητα καθώς και με έντονη επίγευση.

*Στις 5 ημέρες η οξύτητα, το άρωμα και η ευχάριστη οξύτητα διατηρούνται στα δείγματα με σελήνιο, ενώ ο μάρτυρας εμφανίζει τα πρώτα σημάδια οξείδωσης.*

*Στις 10 ημέρες η οξείδωση του μάρτυρα είναι πιο έντονη, ενώ παράλληλα και το δείγμα με τη μικρότερη συγκέντρωση σεληνίου έχει αρχίσει να οξειδώνεται και να αλλοιώνεται η γεύση του. Από την άλλη, τα δείγματα με μεγαλύτερη συγκέντρωση σεληνίου συνεχίζουν να διατηρούν το άρωμα τους.*

*Στις 15 ημέρες και ο μάρτυρας και τα τρία πρώτα δείγματα με σελήνιο έχουν οξειδωθεί ως προς το άρωμα και αλλοιωθεί ως προς την γεύση. Ωστόσο, το τέταρτο δείγμα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση εξακολουθεί να έχει καλύτερο άρωμα σε σχέση με τα υπόλοιπα.*

*Στις 25 ημέρες η οξείδωση είναι προχωρημένη σε όλα τα δείγματα χωρίς κάποιο να είναι χειρότερο ή καλύτερο από τα υπόλοιπα.*

## Κεφάλαιο 7<sup>ο</sup>: Συμπεράσματα

Το σελήνιο σε συγκέντρωση 0,8 mg/L ή και σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις προσφέρει αντιοξειδωτική προστασία τόσο στον οίνο ποικιλίας Chardonnay & Traminer 2020 όσο και στον οίνο ποικιλίας Traminer 2020 κατά τη διατήρηση τους στους 20°C για 25 ημέρες. Αυτό προκύπτει από το ότι:

1. Η απορρόφηση στα 420 nm (Δείκτης Browning) αύξανε σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με τον μάρτυρα.
2. Τα επίπεδα των φλαβονολών, των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων και ο-διφαινολών ήταν υψηλότερα σε σχέση με τον μάρτυρα.
3. Η αναγωγική ισχύς με τη μέθοδο Frap ήταν μεγαλύτερη τόσο σε σχέση με τον μάρτυρα. Η αναγωγική ισχύς ήταν ανάλογη της συγκέντρωσης του σεληνίου.
4. Τα επίπεδα των ενώσεων αρώματος κυρίως αιθυλεστέρων, τερπενικών αλκοολών, οξικών εστέρων είναι υψηλότερα σε σχέση με τον μάρτυρα.

Ο ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης δεν φάνηκε να επηρεάζεται με την προσθήκη σεληνίου, σε καμία από τις συγκεντρώσεις στις οποίες προστέθηκε, καθώς δεν υπήρχαν διαφοροποιήσεις μεταξύ των δειγμάτων. Σημειώνεται ότι ο μάρτυρας καθώς και τα δείγματα με σελήνιο παρουσίασαν ίδια μείωση της συγκέντρωσης του θειώδη ανυδρίτη σε σχέση με τον χρόνο αποθήκευσης.

Το σελήνιο σε συγκέντρωση 0,8 mg/L κατά την διατήρηση του στους 20°C φαίνεται να μειώνει την οργανοληπτική αλλοίωση (οξειδωση) των λευκών οίνων σε σύγκριση με τον μάρτυρα και τα υπόλοιπα δείγματα.

## Κεφάλαιο 8<sup>ο</sup>: Βιβλιογραφικές Αναφορές

### 8.1. Ελληνόγλωσσες

1. Δαμηλάκος, Π. (1990). *Οινολογία: αναλύσεις οίνων και ποτών*, τόμος Γ. Αθήνα
2. Καλαθάρα, Κ. (2008). *Μελέτη αντιοξειδωτικής/ αντιφλεγμονώδους δράσης εκχυλισμάτων ερυθρού και λευκού οίνου*, Διπλωματική εργασία, Τμήμα Διαιτολογίας -Διατροφής, Αθήνα: Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
3. Κούσουλας, Κ. (2002). *Αμπελουργία*, 2η έκδοση, Αθήνα: Αγροτεχνική & Εμπορική Α.Ε.
4. Μάντη, Κ. (2007). *Παρασκευή μη αλκοολούχου ερυθρού οίνου και μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας αυτού*, Διπλωματική εργασία, , Τμήμα Διαιτολογίας Διατροφής, Αθήνα: Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
5. Πολίτης, Γ. (1997). *Φτιάχνοντας το κρασί μας*, Αθήνα: Εκδόσεις Σταμούλη.
6. Πρεβέντη, Φ. (2007). *Αξιολόγηση των ελληνικών ποικιλιών σταφίδας ως διατροφικής πηγής αντιοξειδωτικών συστατικών*, Διπλωματική εργασία, Τμήμα Διαιτολογίας -Διατροφής, Αθήνα: Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
7. Σταυρακάκης Μ.(2003). *Ποικιλίες και κλώνοι του ελληνικού Αμπελώνα*. Αθήνα: Τροπή.

### 8.2. Ξενόγλωσσες

8. Andrew L., Waterhouse, Gavin L. Sacks, & David W. Jeffery. (2016). *Understanding Wine Chemistry*, First Edition. by John Wiley & Sons, Ltd.
9. Boselli, E., Di Lecce, G., Alberti, F., Frega, N.G. (2010). Nitrogen gas affects the quality and the phenolic profile of must obtained from vacuum-pressed white grapes. *LWT*, 43, 1494–1500.
10. Bradshaw, M.P., Barril, C., Clark, A.C., Prenzler, P.D., Scollary, G.R. (2011). *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51 (2011) 479–498
11. Castillo-Munoz, N., Gomez-Alonso, S., Garcia-Romero, E., Hermosin-Gutierrez, I. (2007) Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55** (3), 992–1002
12. Cejudo-Bastante, M.J.; Vicario, A.; Guillén, D.A.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Pérez-Coello, M.S. (2015). Phenolic characterization of minor red grape varieties grown in

- Castilla-La Mancha region in different vinification stages. *Eur. Food Res. Technol.*, 240, 595–607.
13. Clark, A.C., Vestner, J., Barril, C., Maury, C., , Frega, N.G.(2013). Evolution of phenolics and glutathione in Verdicchio wine obtained with maceration under reductive conditions. *LWT*, 53, 54–60.
  14. Danilewicz, J.C. Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: Central role of iron and copper. *Am. J. Enol. Vitic.* 2003, 54, 73–85.
  15. Danilewicz, J.C.; Seccombe, J.T.; Whelan, J. Mechanism of interaction of polyphenols, oxygen, and sulfur dioxide in model wine and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 2008, 59, 128–136.
  16. Di Lecce, G., Boselli, E., D'Ignazi, G., Frega, N.G. (2013). Evolution of phenolics and glutathione in Verdicchio wine obtained with maceration under reductive conditions. *LWT*, 53, 54–60.
  17. EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2009b. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to selenium and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 277, 283, 286, 1289, 1290, 1291, 1293, 1751), function of the immune system (ID 278), thyroid function (ID 279, 282, 286, 1289, 1290, 1291, 1293), function of the heart and blood vessels (ID 280), prostate function (ID 284), cognitive function (ID 285) and spermatogenesis (ID 396) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 7, 1220. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1220> (4/4/2022).
  18. EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2014. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for selenium. *EFSA Journal* 12, 3846. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3846> (4/4/2022).
  19. El Hosry, L.; Auezova, L.; Sakr, A.; Hajj-Moussa, E. Browning susceptibility of white wine and antioxidant effect of glutathione. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2009, 44, 2459–2463.
  20. Elias, R.J.; Waterhouse, A.L. Controlling the Fenton reaction in wine. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 1699–1707.
  21. Ferreira-Lima, N.E.; Burin, V.M.; Caliari, V.; Bordignon-Luiz, M.T. Impact of Pressing Conditions on the Phenolic Composition, Radical Scavenging Activity and Glutathione Content of Brazilian *Vitis vinifera* White Wines and Evolution During Bottle Ageing. *Food Bioprocess Technol.* 2016, 9, 944–957.



22. Fernández-Zurbano, P.; Ferreira, V.; Escudero, A.; Cacho, J. Role of hydroxycinnamic acids and flavanols in the oxidation and browning of white wines. *J. Agric. Food Chem.* 1998, 46, 4937–4944.
23. Fernández-Zurbano, P.; Ferreira, V.; Peña, C.; Escudero, A.; Serrano, F.; Cacho, J. Prediction of oxidative browning in white wines as a function of their chemical composition. *J. Agric. Food Chem.* 1995, 43, 2813–2817.
24. Fontanella, M.C.; D'Amato, R.; Regni, L.; Proietti, P.; Beone, G.M.; Businelli, D. Selenium speciation profiles in biofortified sangiovese wine. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2017, 43, 87–92.
25. Gislason, N.E.; Currie, B.L.; Waterhouse, A.L. Novel antioxidant reactions of cinnamates in wine. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 6221–6226.
26. Hernández, T., Estrella, I. Carlavilla, D. Martí'n-A' P.J. Ivarez, M.V. Moreno-Arribas, *Anal. Chim. Acta* 563 (2006) 116–125
27. Hesham R. El-Seedi et al. Chapter 8 - Hydroxycinnamic Acids: Natural Sources, Biosynthesis, Possible Biological Activities, and Roles in Islamic Medicine, *Elsevier*, Volume 55, 2018, Pages 269-292
28. Hixson, J.L., Sleep, N.R., Capone, D.L., Eelsey, G.M., Curtin, C.D., Sefton, M.A., Taylor, D.K. (2012). *J. Agric. Food Chem.* 60, 2293–2298.
29. Huang D., Ou B. and Prior RL. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, pp. 1841-1856
30. Hua Li, Anque Guo, Hua Wang, (2008). Mechanisms of oxidative browning of wine, *Food Chemistry*, Volume 108, Issue 1, Pages 1-13.
31. Krishnaiah D., Sarbatly R. et Nithyanandam R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 89, pp. 217–233
32. Lorrain, B., Ky, I., Pechamat, L., Teissedre, P.L. (2013). Evolution of analysis of polyphenols from grapes, wines, and extracts. *Molecules*. Jan 16;18(1):1076-100.
33. Merkytė, V., Longo, E., Windisch, G., Boselli, E. (2020). Phenolic Compounds as Markers of Wine Quality and Authenticity. *Foods* , 9, 1785.
34. Mitic, M.N., Kostic, D.A., Paunovic, D.D., Stojanovic, B.T., Lj. Pavlovic, J. (2014). A new kinetic spectrophotometric method for total polyphenols determination in white wines : research article, *S. Afr. J. Chem.*, 67, 104–108.

35. Nguyen, T.H.; Waterhouse, A.L. Acid complexation of iron controls the fate of hydrogen peroxide in model wine. *Food Chem.* 2022, 377, 131910.
36. Patrianakou, M.; Roussis, I.G. Decrease of Wine Volatile Aroma Esters by Oxidation. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 2013, 34, 241–245.
37. Pavloušek, P. & Kumšta, M. (2013). Authentication of Riesling Wines from the Czech Republic on the Basis of the Non-flavonoid Phenolic Compounds. *Czech J. Food Sci.*,31, 474–482.
38. Prior R.L. (2015). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. *Journal of functional foods*, 18, pp. 797–810
39. Ragusa, A., Centonze, C., Grasso, M.E., Latronico, M.F., Mastrangelo, P.F., Sparascio, F., Fanizzi, F.P., Maffia, M. A (2017). Coparative Study of Phenols in Apulian Italian Wines. *Foods*, 6, 24.
40. Ritchey, J.G. and Waterhouse, A.L. (1999) A standard red wine: monomeric phenolic analysis of commercial Cabernet Sauvignon wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50 (1), 91–100.
41. Roginsky, V., & Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*, 92(2), 235-254.
42. Roussis, I.G.; Lambropoulos, I.; Tzimas, P.; Gkoulioti, A.; Marinos, V.; Tsoupeis, D.; Boutaris, I. Antioxidant activities of some Greek wines and wine phenolic extracts. *J. Food Comp. Anal.* 2008, 21, 614–621.
43. Roussis, G., Lambropoulos, I., Tzimas, P. *Am. J. Enol. Vitic.* 58 (2007) 274–278.
44. Simpson, R.F. Factors affecting oxidative browning of white wine. *Vitis* 1982, 21, 233–239.
45. Schaich M., Tian X. and Xie J.(2015). Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”. *Journal of Functional Foods*, 18, pp. 782–796
46. Talbi, W.; Ghazouani, T.; Braconi, D.; Ben Abdallah, R.; Raboudi, T.; Santucci, A.; Fattouch, S. Effects of selenium on oxidative damage and antioxidant enzymes of eukaryotic cells: Wine *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Appl. Microbiol.* 2018, 126, 555–566.
47. Tinggi, U., 2008. Selenium: its role as antioxidant in human health. *Environ Health Prev Med* 13, 102–108. <https://doi.org/10.1007/s12199-007-0019-4> (4/4/2022).

48. Vaimakis, V.; Roussis, I.G. Must oxygenation together with glutathione addition in the oxidation of white wine. *Food Chem.* 1996, 57, 419–422.
49. Vlahou, E.; Christofi, S.; Roussis, I.G.; Kallithraka, S. Browning Development and Antioxidant Compounds in White Wines after Selenium, Iron, and Peroxide Addition. *Appl. Sci.* 2022, 12, 3834. <https://doi.org/10.3390/app12083834>
50. Voltea, S.; Karabagias, I.K.; Roussis, I.G. Use of Fe (II) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> along with Heating for the Estimation of the Browning Susceptibility of WhiteWine. *Appl. Sci.* 2022, 12, 4422. <https://doi.org/10.3390/app12094422>
51. Witkowska, A.M.; Zujko, M.E.; Borawska, M.H.; Socha, K. Antioxidant Properties and Selenium Content of Wines. *Pol. J. Environ. Stud.* 2006, 15, 208–211.

### **8.3. Ιστοσελίδες**

52. <https://www.clickatlife.gr/geusi/story/135325>