

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**Χρήση Fe(II) και H_2O_2 για
αποτίμηση της τάσης των λευκών
οίνων προς οξείδωση**

**ΒΟΛΤΕΑ ΣΟΦΙΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

Μεταπτυχιακή Διατριβή
Δίπλωμα ειδίκευσης στη Χημεία Τροφίμων

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, 2014



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



826000336352



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**Χρήση Fe(II) και H₂O₂ για
αποτίμηση της τάσης των λευκών
οίνων προς οξείδωση**

**ΒΟΛΤΕΑ ΣΟΦΙΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

Μεταπτυχιακή Διατριβή
Δίπλωμα ειδίκευσης στη Χημεία Τροφίμων

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, 2014



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Αφορμή για την παρούσα μελέτη αποτέλεσε η μεγάλη σημασία της οξείδωσης των λευκών οίνων για την ποιότητα τους, και την οικονομία. Έτσι, δεδομένης της μεγάλης σημασίας της οξείδωσης των λευκών οίνων οι μελέτες για πρόγνωση της μελλοντικής οξείδωσης είναι μεγάλου ενδιαφέροντος.

Μέσα από αυτή τη σελίδα, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους εκείνους που βοήθησαν ώστε να εκπονηθεί η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή. Η εκπόνηση της πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Κύρια, ευχαριστώ τον επιβλέποντα Καθηγητή κύριο Ι. Ρούσση, ο οποίος στάθηκε αναντικατάστατος αρωγός. Διαθέτοντας το χρόνο του και την επιστημονική του γνώση, κατεύθυνε και ενθάρρυνε τις προσπάθειες μου.

Επιπρόσθετα ευχαριστώ τους φίλους και συναδέλφους για την πολύτιμη στήριξη και το ευχάριστο εργαστηριακό περιβάλλον κατά τη διάρκεια των δύο αυτών χρόνων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τους φίλους μου για την ενθάρρυνση και τη συμπαράσταση που μου προσέφεραν.

Εν κατακλείδι, ευχαριστώ την οικογένεια μου για την αμέριστη συμπαράσταση και κατανόηση που έδειξε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Σοφία Βολτέα

Ιωάννινα, Μάρτιος 2014



ΠΡΟΒΛΕΨΕΙΣ

Οι προβλέψεις για το 2014 είναι οι εξής:

1. Η οικονομία της χώρας αναμένεται να αναπτυχθεί κατά 2,5%.

2. Ο πληθωσμός της χώρας αναμένεται να αυξηθεί κατά 0,5%.

3. Ο δείκτης ανεργίας αναμένεται να μειωθεί κατά 0,5%.

4. Ο δείκτης φτώχειας αναμένεται να μειωθεί κατά 0,5%.

5. Ο δείκτης ανάπτυξης αναμένεται να αυξηθεί κατά 0,5%.

6. Ο δείκτης ανάπτυξης αναμένεται να αυξηθεί κατά 0,5%.

7. Ο δείκτης ανάπτυξης αναμένεται να αυξηθεί κατά 0,5%.

8. Ο δείκτης ανάπτυξης αναμένεται να αυξηθεί κατά 0,5%.

9. Ο δείκτης ανάπτυξης αναμένεται να αυξηθεί κατά 0,5%.

10. Ο δείκτης ανάπτυξης αναμένεται να αυξηθεί κατά 0,5%.

Εκτιμήσεις για το 2014



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ	7
1. Οίνος	7
2. Τα συστατικά του οίνου	7
2.1 Το νερό	7
2.2 Τα οργανικά οξέα	7
2.3 Οι αλκοόλες	8
2.4 Τα ζάχαρα	9
2.5 Οι πολυζαχαρίτες	10
2.6 Οι αρωματικές ενώσεις	10
2.7 Τα φαινολικά συστατικά	10
2.7.1 Μη φλαβονοειδείς φαινόλες	11
2.7.2 Οι φλαβονοειδείς φαινόλες	12
2.7.2.1 Οι φλαβανόλες (κατεχίνες)	14
2.7.2.2 Οι φλαβονόλες	14
2.7.2.3 Οι ανθοκυάνες	15
2.7.2.4 Οι τανίνες	15
3. Η οξείδωση του οίνου	16
3.1 Η βασική αντίδραση οξείδωσης	17
3.2 Ρυθμιστική ικανότητα των οίνων	17
3.3 Η ενζυματική οξείδωση	18
3.4 Μη-ενζυματική οξείδωση (χημική οξείδωση)	19
3.5 Τα προϊόντα οξείδωσης στον οίνο	20
3.6 Μείωση αρώματος οίνου	21
3.7 Αποτίμηση της τάσης των οίνων προς οξείδωση	22
3.8 Τα αντιοξειδωτικά και ο μηχανισμός ελευθέρων ριζών	22
3.9 Κατάταξη και μηχανισμοί δράσης των αντιοξειδωτικών ουσιών	23
3.10 Αντιοξειδωτική δράση φαινολικών	25
3.11 Τα αντιοξειδωτικά στον οίνο	26
3.11.1 Θειώδης ανυδρίτης	26
3.11.2 Ασκορβικό οξύ	31
3.11.3 Θειόλες-γλουταθειόνη	33
3.12 Τα αντιοξειδωτικά στον οίνο και ο ρόλος τους στη διατροφή του ανθρώπου	36

ΣΚΟΠΟΣ	37
---------------------	-----------

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	39
--------------------------------	-----------

A. Υλικά	39
1. Δείγματα οίνου	39
2. Αντιδραστήρια	39
3. Όργανα	39



B. Πειραματική πορεία	40
1. Μελέτη της οξείδωσης στους 18°C.....	40
2. Μελέτη της οξείδωσης στους 45°C.....	41
Γ. Μέθοδοι ανάλυσης	41
1. Προσδιορισμός θειώδη ανυδρίτη	41
1.1 Προσδιορισμός ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη	41
1.2 Προσδιορισμός ολικού θειώδη ανυδρίτη	42
2. Προσδιορισμός του δείκτη καστάνωσης (απορρόφηση στα 420 nm)	42
3. Λήψη φάσματος στο ορατό και στο υπεριώδες	42
4. Προσδιορισμός φαινολικών ενώσεων	42
4.1 Προσδιορισμός υδροξυκιναμωμικών οξέων	42
4.2 Προσδιορισμός φλαβονολών.....	43
5. Προσδιορισμός ολικών ελεύθερων σουλφρυδυλομάδων	44
6. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης.....	44
6.1 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών (μέθοδος Folin).....	44
Δ. Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων	45
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ –ΣΥΖΗΤΗΣΗ	47
1. Δείκτης καστάνωσης (δείκτης browning).....	48
2. Φλαβανόλες	61
4. Αντιοξειδωτική δράση (μέθοδος Folin)	74
5. Ολικές σουλφρυδυλομάδες.....	79
6. Θειώδης ανυδρίτης και ασκορβικό οξύ	84
6.1 Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης	85
6.2 Ολικός θειώδης ανυδρίτης.....	93
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	101
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	103
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	109
ABSTRACT.....	111



ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ

1. Οίνος

Ο ορισμός του οίνου σύμφωνα με την οινική νομοθεσία, ελληνική και ξένη, αναφέρει ότι οίνος είναι το ποτό που προέρχεται αποκλειστικά από την ολική ή μερική ζύμωση νώπων σταφυλιών ή γλεύκους που προέρχεται από νωπά σταφύλια. Από γενική φυσικοχημική άποψη ο οίνος είναι ένα υδροαλκοολικό διάλυμα οργανικών οξέων, ένα μέρος των οποίων βρίσκεται υπό τη μορφή αλάτων. Ο ορισμός αυτός βέβαια δεν ανταποκρίνεται στην πληθώρα των συστατικών του οίνου, από τα οποία μόνο τα γνωστά ανέρχονται σήμερα σε μερικές εκατοντάδες.

2. Τα συστατικά του οίνου

2.1 Το νερό

Αποτελεί το πρώτο σε ποσότητα συστατικό του οίνου και ανέρχεται στα 80-85% αυτού. Προέρχεται από το σταφύλι και είναι υπεύθυνο κατά κύριο λόγο για την πυκνότητα του οίνου, η οποία είναι παραπλήσια με εκείνη του νερού.

2.2 Τα οργανικά οξέα

Τα οργανικά οξέα που περιέχονται στον οίνο έχουν διπλή προέλευση. Ένα μέρος από αυτά προέρχεται από το σταφύλι, ενώ τα υπόλοιπα σχηματίζονται κατά τη διάρκεια ζυμώσεων του γλεύκους και των τυχόν μικροβιολογικών προσβολών γλεύκους και οίνου. Τα οργανικά οξέα αποτελούν μια σπουδαία ομάδα συστατικών των οίνων και είναι υπεύθυνα όχι μόνο για την όξινη γεύση των οίνων αλλά και για την προστασία αυτών από τις μικροβιολογικές ή χημικές προσβολές καθώς επίσης και για τη διατήρηση του χρώματος. Τα κυριότερα από τα οξέα αυτά περιέχονται στον παρακάτω πίνακα:



Οξέα σταφυλίου	}	Σταθερά οξέα
Τρυγικό οξύ		
Μηλικό οξύ		
Κιτρικό οξύ		
Ουρανικά οξέα		
Γλυκονικό οξύ		
Οξαλικό οξύ		
Ασκορβικό οξύ		
Οξέα ζυμώσεων και προσβολών	}	
Ηλεκτρικό οξύ		
Γαλακτικό οξύ		
Κιτρομηλικό οξύ		
Διμεθυλογλυκερικό οξύ		
Πυροσταφυλικό οξύ		
α-Κετογλουταρικό οξύ		
Οξικό οξύ	}	Πτητικά οξέα
Μυρμηκικό οξύ		
Ισοβουτυρικό οξύ		
Βουτυρικό οξύ		

Τα οργανικά οξέα που αναφέραμε μέχρι τώρα – είτε προέρχονται από τα σταφύλια είτε από διάφορες ζυμώσεις του γλεύκους – συνιστούν τη σταθερή οξύτητα του οίνου. Υπάρχει όμως άλλη μια κατηγορία οξέων, τα οποία αποτελούν την πτητική οξύτητα και βρίσκονται κυρίως στους οίνους. Πρόκειται για τα λεγόμενα πτητικά οξέα. Τα κυριότερα από τα πτητικά οξέα των οίνων είναι: το οξικό οξύ καθώς επίσης και τα οξέα μυρμηκικό, προπιονικό, ισοβουτυρικό, βουτυρικό (Ribéreau-Gayon και συν., 2006).

2.3 Οι αλκοόλες

- Οι απλές μονοαλκοόλες
 - Η μεθυλική αλκοόλη ή μεθανόλη

Η μεθυλική αλκοόλη είναι συστατικό με μεγάλη πτητικότητα και περιέχεται σε όλους τους οίνους σε ποσότητες που κυμαίνονται από 36-350 mg/L. Προέρχεται από την υδρόλυση των πηκτινών του σταφυλίου και δεν είναι προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης.

- Η αιθυλική αλκοόλη ή αιθανόλη

Μετά το νερό, που αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο μέρος του όγκου του οίνου, η αιθανόλη είναι το σημαντικότερο συστατικό αυτού και αποτελεί το 10-16% του όγκου αυτού. Η αιθυλική αλκοόλη είναι το κύριο προϊόν του μεταβολισμού των ζαχάρων από τις ζύμες και ανήκει στις απλές μονοαλκοόλες. Η αλκοόλη μαζί με τα αναγωγικά ζάχαρα και τη γλυκερόλη αποτελούν τα γλυκά συστατικά του οίνου και μετριάζουν έτσι την όξινη γεύση των οξέων και την πικράδα των φαινολικών ενώσεων δίνοντας του ταυτόχρονα τη χαρακτηριστική γεύση. Εκτός από τη σύνθετη και ιδιαίτερη γεύση που προσδίδει η αλκοόλη, το άρωμα της αποτελεί τη βάση για το άρωμα και το



“μπουκέτο”¹ των οίνων. Η αλκοόλη επίσης διευκολύνει τη συντήρηση των οίνων χάρη στον αντισηπτικό της χαρακτήρα.

- **Οι ανώτερες μόνο – αλκοόλες**

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι μονοαλκοόλες που περιέχουν στο μόριο τους περισσότερα από δυο άτομα άνθρακα. Οι ανώτερες αλκοόλες είναι προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης με εξαίρεση την εξανόλη-1, η οποία δεν προέρχεται από τη ζύμωση αλλά από το σταφύλι. Οι ανώτερες αλκοόλες προέρχονται από τα κετονοξέα, τα οποία σχηματίζονται τόσο από τα ζάχαρα όσο και από τα αμινοξέα. Οι κυριότερες από τις αλκοόλες αυτές είναι: η προπανόλη-1, βουτανόλη-1, μέθυλο-2 βουτανόλη-1, πεντανόλη-1, φαίνυλο-2 αιθανόλη, εξανόλη-1.

- **Οι πολυαλκοόλες**

- **Η γλυκερόλη**

Πρόκειται για τη φαρμακευτική γλυκερίνη, η οποία είναι παχύρευστο υγρό και μη πτητικό. Στο μόριο της φέρει τρεις ομάδες αλκοόλης και είναι ένωση χημικά σταθερή. Η γλυκερόλη είναι μετά το νερό και την αιθυλική αλκοόλη, το συστατικό του οίνου με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα, η οποία κυμαίνεται από 5-20 g/L. Πρώτος ο Pasteur, πριν από εκατό περίπου χρόνια, ανέφερε ότι η γλυκερίνη είναι προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης.

- **Η βουτανεδιόλη-2,3**

- **Η μαννιτόλη**

- **Η σορβιτόλη**

- **Η ινσιτόλη**

2.4 Τα ζάχαρα

Τα ζάχαρα είναι ενώσεις που αποτελούνται από μια ανθρακική άλυσσο, η οποία περιέχει αλκοολικές ομάδες, και επιπλέον μια αλδεϋδική ή μια κετονική ομάδα (αλδόζες ή κετόζες αντίστοιχα). Έχουν το γενικό τύπο $C_n(H_2O)_n$ και ονομάζονται επίσης γλυκίδια ή υδατάνθρακες. Τα περισσότερα ζάχαρα (γλυκόζη, φρουκτόζη) μετατρέπονται με την αλκοολική ζύμωση σε αλκοόλη. Τα ζάχαρα του γλεύκους και του οίνου διακρίνονται σε:

- a) **Αναγωγικά ή ανάγοντα** (ανάγουν το φελίγγειο υγρό)

- **ζυμώσιμα ζάχαρα** (C6 – εξόζες)

- **ζυμώσιμα ζάχαρα** (C6 – πεντόζες)

- b) **Μη αναγωγικά** (δεν ανάγουν το φελίγγειο υγρό)

- **ζαχαρόζη**

¹ “μπουκέτο”: Προέρχεται από τη γαλλική λέξη “bouquet” η οποία αναφέρεται στην οσμή που αναδύει από μια “χεριά” ανθέων, και αντιστοιχεί στον αρχαίο ελληνικό όρο ανθοσμία. Σήμερα ο όρος “bouquet” αντιστοιχεί σένα είδος ευωδίας που χαρακτηρίζει μόνο τους παλιούς οίνους και δεν έχει καμία σχέση με το άρωμα των νέων οίνων.



2.5 Οι πολυζαχαρίτες

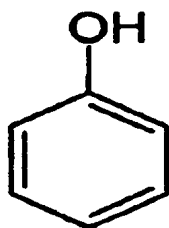
Πρόκειται για ένα σύνολο κολλοειδών ουσιών που αποτελείται από πηκτίνες και οζάνες. Οζάνες ονομάζονται οι πολυμερισμένοι ανυδρίτες των μονοζαχάρων στους οποίους ανήκουν τα κόμμεα και οι ουσίες με βλεννώδη υφή. Οι πηκτινικές ουσίες προέρχονται από τη σταφυλομάζα, ενώ κατά τη διάρκεια της οиноποίησης και της αλκοολικής ζύμωσης διασπώνται ενζυματικά και καθιζάνου σχηματίζοντας ένα ζελατινώδες ίζημα.

2.6 Οι αρωματικές ενώσεις

Στους οίνους υπάρχουν δύο κατηγορίες αρωματικών ενώσεων. Εκείνες που συνιστούν το άρωμα στους νέους οίνους και εκείνες που συνιστούν το «μπουκέτο» στους παλαιωμένους. Αναλυτικότερα το άρωμα του νέου οίνου συντίθεται από το άρωμα του σταφυλιού, που αποτελεί ιδιαίτερο χαρακτηριστικό για κάθε ποικιλία, και από το άρωμα της ζύμωσης, που είναι χαρακτηριστικό των ζυμών και των συνθηκών της ζύμωσης. Η ανάπτυξη του «μπουκέτου» ή της ανθοσμίας κατά την παλαίωση του οίνου προκύπτει από το μετασχηματισμό των συστατικών του αρώματος των νέων οίνων. Ο προσδιορισμός των συστατικών των οίνων γίνεται μετά την εκχύλιση με κάποιο διαλύτη (αιθέρας, εξάνιο, πεντάνιο) και με τη χρησιμοποίηση της αέριας χρωματογραφίας. Αναλυτικότερα τα αρωματικά συστατικά του οίνου είναι: Οι αλκοόλες, οι εστέρες, οι καρβονυλικές ενώσεις και οι τερπενικές ενώσεις.

2.7 Τα φαινολικά συστατικά

Φαινολικά συστατικά καλούνται οι ενώσεις που περιέχουν στο μόριό τους τη χαρακτηριστική ομάδα της φαινόλης.



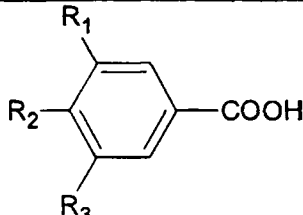
Τα φαινολικά συστατικά στον ερυθρό οίνο είναι υπεύθυνα για το χρώμα και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (στυφάδα, τραχύτητα στη γεύση). Παράλληλα παρέχουν στους οίνους αντιοξειδωτική και αντιβακτηριδιακή προστασία, ενώ παίζουν αποφασιστικό ρόλο στην ωρίμανση και την παλαίωση τους. Οι ποσότητες των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

Οι φαινολικές ουσίες των οίνων ομαδοποιούνται σε δύο κατηγορίες, τις φλαβονοειδείς και τις μη φλαβονοειδείς και τις μεγάλες υποομάδες τους (ΤΣΑΚΙΡΗΣ, 2008).

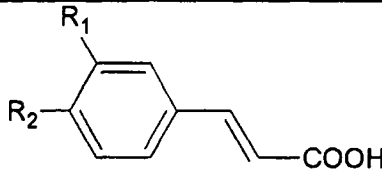


2.7.1 Μη φλαβονοειδείς φαινόλες

Η παρουσία τους στους οίνους οφείλεται είτε στο σταφύλι, όπου ανευρίσκονται στους φλοιούς και τη σάρκα, είτε στο ξύλο των βαρελιών όπου γίνεται η παλαίωση. Οι ερυθρές ποικιλίες και οίνοι περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες σε σχέση με τις λευκές ποικιλίες και οίνους. Στις μη φλαβονοειδείς φαινόλες υπάγονται τα μονομοριακά φαινολικά παράγωγα του βενζοϊκού οξέος (γαλλικό οξύ, σαλικυλικό, π-υδροξυβενζοϊκό, βανιλικό, συριγγικό, πρωτοκατεχινικό οξύ) ή του κινναμωμικού οξέος (καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ), αλλά και άλλες ενώσεις όπως τα στυλβένια (ρεσβερατρόλη). Βρίσκονται στο σταφύλι υπό μορφή ετεροζιτών ή εστέρων στα χυμοτόπια των κυττάρων του φλοιού και της σάρκας. Μάλιστα είναι τα κύρια φαινολικά συστατικά της σάρκας των ραγών (Ribéreau-Gayon, 2000).

	Ένωση	R ₁	R ₂	R ₃
	Γαλλικό οξύ	OH	OH	OH
	Πρωτοκατεχινικό οξύ	OH	OH	H
	P-υδροξυβενζοϊκό	H	OH	H
	Βανιλικό οξύ	OCH ₃	OH	H
	Συριγγικό οξύ	OCH ₃	OH	OCH ₃

Πίνακας 1. Κυριότερα παράγωγα βενζοϊκού οξέος στους οίνους.

	Ένωση	R ₁	R ₂
	Καφεϊκό οξύ	OH	OH
	π-κουμαρικό οξύ	H	OH
	Φερουλικό οξύ	OCH ₃	OH

Πίνακας 2. Κυριότερα παράγωγα κινναμωμικού οξέος στους οίνους.

Στους οίνους τα φαινολικά οξέα απαντούν με τις άνω μορφές, αλλά και ελεύθερα. Κατά την παλαίωση σε ξύλινα βαρέλια οι ερυθροί οίνοι εμπλουτίζονται σε φαινολικά οξέα σε ποσότητες που ποικίλουν ανάλογα με την ποιότητα του ξύλου και το βαθμό αποξήρανσής του (Κουράκου, Σ., 1988). Το σύνολο των φαινολικών οξέων, ελεύθερων ή με μορφή ενώσεων, φτάνει τα 100-150 mg/L στους ερυθρούς οίνους, ενώ στους λευκούς περιορίζεται στα 10-15 mg/L (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982).

Τα φαινολοξέα, γενικότερα, δεν έχουν κάποια ιδιαίτερη οσμή και γεύση. Ωστόσο μερικά εξ αυτών και τα παράγωγά τους έχουν μια ιδιαίτερη ευχάριστη οσμή. Επίσης αποτελούν πρόδρομες ενώσεις πτητικών φαινολών που μπορεί να παραχθούν από τη δράση ζυμών και βακτηρίων (Κουράκου, Σ., 1988, Κοτσερίδης, 2005/β).

Τα φαινολικά οξέα είναι σημαντικά για τον οίνο, γιατί έχουν αντιβιοτικές και αντισηπτικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση τροφίμων. Ενδέχεται τα οξέα αυτά να παίζουν κάποιο ρόλο στη μικροβιολογική κατάσταση του οίνου έναντι κυρίως των βακτηρίων.

Στις ιδιότητες των φαινολοξέων συγκαταλέγεται και η ευκολία με την οποία οξειδώνονται. Η οξείδωση των φαινολικών οξέων, όπως και όλων των ο-διφαινολών, οδηγεί σε ενώσεις κίνησης. Η αντίδραση αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία για το καστανό θόλωμα των λευκών κρασιών (Σουφλέρος, 1997).

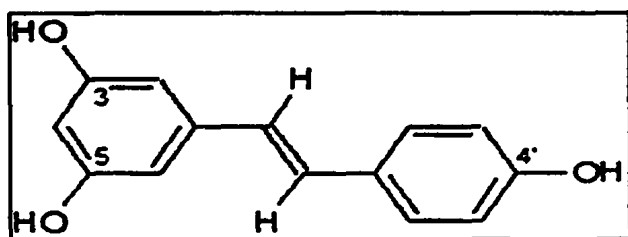


Στην κατηγορία των μη φλαβονοειδών φαινολών ανήκουν και τα στυλβένια. Πρόκειται για περισσότερο πολύπλοκες πολυφαινολικές ενώσεις με δυο βενζολικούς δακτυλίους, οι οποίοι συνδέονται με ένα αιθάνιο ή μια αιθυλενική αλυσίδα. Τα στυλβένια απαντούν στο σταφύλι, στους οίνους αλλά και στο ξύλο της δρυός.

Το σπουδαιότερο από τα στυλβένια που απαντούν στο σταφύλι είναι η ρεσβερατρόλη (3,5,4-τρι-υδροξύ-στυλβένιο) (Εικόνα 1), η οποία βρίσκεται στην *trans* μορφή της και το παράγωγό της με τη γλυκόζη. Βρίσκεται μόνο στους φλοιούς του σταφυλιού και η συγκέντρωσή της διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία. Έρευνες έχουν δείξει ότι η ρεσβερατρόλη εμπλέκεται στους μηχανισμούς άμυνας των σταφυλιών ενάντια στην προσβολή από κρυπτογαμικές ασθένειες, όπως είναι ο *Botrytis cinerea*.

Ακριβώς επειδή εντοπίζεται στους φλοιούς η ρεσβερατρόλη μπορεί να ανιχνευτεί μόνο στους ερυθρούς οίνους. Η περιεκτικότητά της κυμαίνεται μεταξύ 1-3 mg/L και εξαρτάται από την ποικιλία.

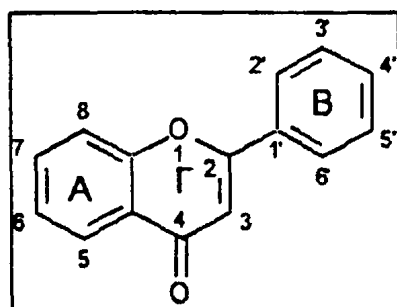
Η ρεσβερατρόλη έχει αποδειχθεί ότι είναι μια ουσία στην οποία αποδίδεται πληθώρα ευεργετικών ιδιοτήτων για τον άνθρωπο. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι συμβάλλει στην προστασία από καρδιαγγειακά νοσήματα. Επίσης της αποδίδεται αντικαρκινικός και αντιθρομβωτικός ρόλος (Riberau-Gayon, 2000, Κοτσερίδης, 2005/β).



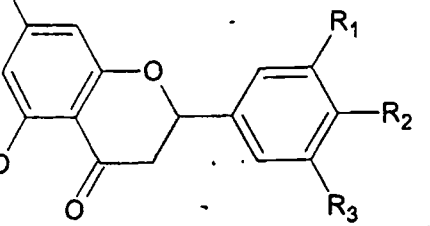
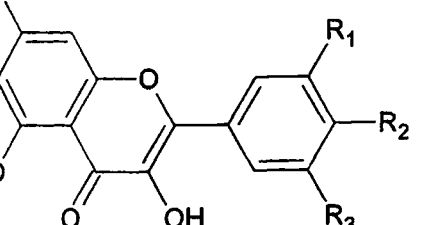
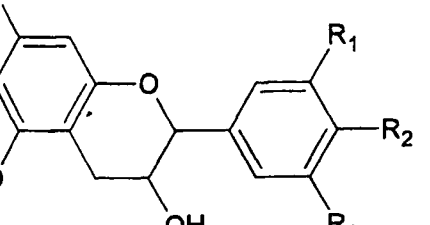
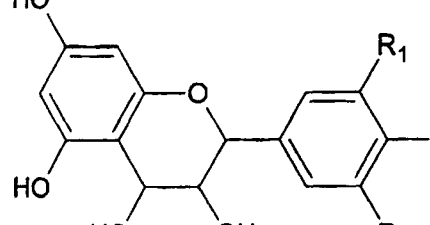
Εικόνα 1: Ρεσβερατρόλη

2.7.2 Οι φλαβονοειδείς φαινόλες

Τα φλαβονοειδή (ή φλαβονοειδείς φαινόλες) χαρακτηρίζονται από ένα βασικό σκελετό με 15 άτομα άνθρακα (C6-C3-C6) του τύπου 2-φαινυλ-βενζοπυρόνη (Εικόνα 2). Σε αυτές ανήκουν οι φλαβανόνες, οι φλαβονόλες, οι κατεχίνες, οι προκυανιδίνες καθώς και οι ανθοκυάνες και οι τανίνες (Σουφλερός, 1997).



Εικόνα 2: 2-φαινυλ--βενζοπυρόνη

Φλαβανόνες 	Ένωση	R ₁	R ₂	R ₃
	Ναριγγενίνη	H	OH	H
	Εσπεριτίνη	OH	OCH ₃	H
Φλαβονόλες 	Καμφερόλη	H	OH	H
	Κερκετίνη	OH	OH	H
	Μυρικετίνη	OH	OH	OH
Φλαβανόλες-3 (κατεχίνες) 	Κατεχίνη	OH	OH	H D(+)
	Επικατεχίνη	OH	OH	H L(-)
	Γαλλοκατεχίνη	OH	OH	OH
Φλαβανοδιόλες-3,4 (ή λευκοανθοκυάνες) 	Λευκοπελαργονιδίνη	H	OH	H
	Λευκοκυανιδίνη	OH	OH	H
	Λευκοδελφινιδίνη	OH	OH	OH

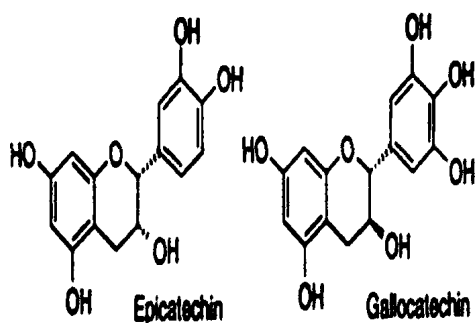
ακας 3. Οι κυριότερες φλαβονοειδείς φαινόλες στους οίνους.

Οι φλαβανόνες δεν είναι συστατικό των σταφυλιών, αλλά του ξύλου του βαρελιού, ενώ οι φλαβονόλες είναι συστατικά των σταφυλιών και μάλιστα αποκλειστικά εντοπισμένες στο φλοιό. Έχουν κίτρινο χρώμα και βρίσκονται τόσο σε λευκά όσο και σε ερυθρά σταφύλια. Οι φλαβανόλες ή κατεχίνες και οι προκυανιδίνες βρίσκονται κυρίως στα γίγαρτα και λιγότερο στο φλοιό. Οι κατεχίνες και οι προκυανιδίνες κατά την ωρίμανση των οίνων σχηματίζουν πολυμερή, τις τανίνες (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982).

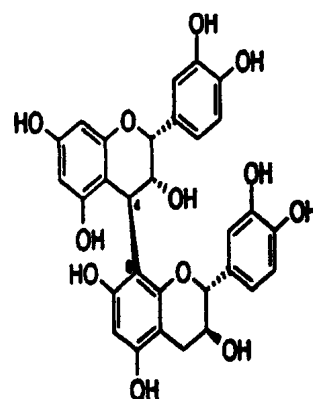
2.7.2.1 Οι φλαβανόλες (κατεχίνες)

Οι φλαβανόλες είναι η πιο άφθονη κατηγορία των φλαβονοειδών στα σταφύλια και το κρασί. Στη ράγα των σταφυλιών βρίσκονται στα γίγαρτα, αλλά και στο φλοιό. Οι πιο διαδεδομένες φλαβανόλες στο σταφύλι και στον οίνο είναι οι φλαβαν-3-όλες (Εικόνα 3), υδροξυλιωμένα παράγωγα των οποίων αποτελούν η (+)-κατεχίνη και η (-)-επικατεχίνη. Η συγκέντρωσή τους στους ερυθρούς οίνους φτάνει μέχρι και τα 200 mg/L, ενώ στους λευκούς δεν ξεπερνά τα 50 mg/L.

Οι φλαβαν-3-όλες συναντώνται σε διμερή (προκυανιδίνες) (Εικόνα 4) ή και σε μεγαλύτερα πολυμερή. Τα πολυμερή της φλαβαν-3-όλης αναφέρονται και ως προκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες τανίνες. Οι κατεχίνες είναι υπεύθυνες για την αμαύρωση των λευκών και ερυθρών οίνων, όπως επίσης και την πρόσδωση πικρής γεύσης στους τελευταίους (Waterhouse, 2002).



Εικόνα 3: Cis και trans μορφές της φλαβαν-3-όλης

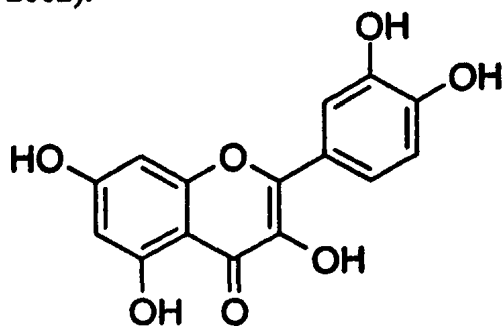


Εικόνα 4: Προκυανιδίνη B1

2.7.2.2 Οι φλαβονόλες

Αυτή η κατηγορία, συναντάται πάντα σε μορφή γλυκοζίτη στο φλοιό του σταφυλιού. Το σάκχαρο με το οποίο συνδέονται είναι η γλυκόζη. Στους νέους ερυθρούς οίνους η συγκέντρωση φλαβονολών υπολογίζεται πάνω από 50 mg/L, ενώ σε παλαιωμένα ερυθρά κρασιά περίπου 10 mg/L.

Η κερκετίνη (Εικόνα 5) αποτελεί την κύρια φλαβονόλη στα σταφύλια (Waterhouse, 2002).



Εικόνα 5: Κερκετίνη

2.7.2.3 Οι ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι οι ερυθρές χρωστικές του σταφυλιού, οι οποίες βρίσκονται στα 3 με 4 πρώτα κυτταρικά στρώματα της επιδερμίδας στους ανθοκυανοπλάστες των χυμοτοπιών. Καθώς το σταφύλι ωριμάζει, καταλαμβάνουν διαρκώς περισσότερο χώρο και μάλιστα σε κύτταρα που βρίσκονται πιο κοντά στη σάρκα από ότι σε αυτά της επιδερμίδας. Η σύσταση τους διαφοροποιείται ανάλογα με την ποικιλία. Για την ίδια ποικιλία διαφοροποιούνται ανάλογα με τη χρονιά και το αμπέλι. Το χρώμα τους εξαρτάται από τη σύσταση του οίνου και κυρίως από το pH. Από τα σταφύλια των λευκών ποικιλιών απουσιάζουν ή υπάρχουν σε ίχνη (Σουφλερός, 1997).

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

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

Οι κύριες ανθοκυανιδίνες (αγλυκόνες των ανθοκυανών) είναι η κυανιδίνη, η μαλβιδίνη, η δελφινιδίνη, η πεονιδίνη και η πετουνιδίνη.

2.7.2.4 Οι τανίνες

Οι τανίνες είναι οι πιο ευρέως συναντώμενες φαινολικές ενώσεις στους οίνους. Είναι προϊόντα πολυμερισμού των απλών φαινολών και το μοριακό τους βάρος κυμαίνεται μεταξύ 500 και 3000. Αν τα μόρια των τανινών είναι πολύ μικρά δεν υπάρχουν αρκετές ενεργές θέσεις και έτσι οι ενώσεις που σχηματίζονται με τις πρωτεΐνες είναι ασταθείς. Αλλά και στην περίπτωση που τα μόρια των τανινών είναι πολύ μεγάλα, τότε αυτά δεν μπορούν να πλησιάσουν αρκετά τις πρωτεΐνες και παρεμποδίζεται έτσι ο σχηματισμός ενώσεων. Επίσης η ιδιαίτερη στυφή γεύση ορισμένων οίνων οφείλεται στην παρουσία ορισμένων τανινών. Οι «επιθετικές» αυτές τανίνες έχουν την ιδιότητα να ενώνονται με τις πρωτεΐνες και να απομακρύνονται, ενώ οι «μη επιθετικές» δεν ενώνονται με τις πρωτεΐνες και παραμένουν στον οίνο. Οι τανίνες των σταφυλιών βρίσκονται στο φλοιό και τα γίγαρτα και η κατανομή τους έχει σχέση με τον αντιμυκητιακό τους ρόλο καθώς παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των μικκυλίων που προσβάλλουν τη ράγα. Η προδελφινιδίνη είναι τανίνη που εντοπίζεται μόνο στο φλοιό.

Ανάλογα με την δομή των μορίων τους οι τανίνες διακρίνονται στις υδρολυόμενες και στις συμπυκνωμένες.

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

Οι τανίνες χαρακτηρίζονται για την αντιοξειδωτική τους δράση, με την οποία προστατεύονται οι ερυθροί οίνοι από τις επιδράσεις του οξυγόνου. Επίσης διακρίνονται για τις ενώσεις που σχηματίζουν με τον σίδηρο (Fe), λόγω των δύο –OH που



βρίσκονται σε θέση -ορθό του πλάγιου δακτυλίου (κατεχολική δομή). Οι ενώσεις αυτές συμμετέχουν στο σιδηρικό θόλωμα των οίνων που είναι ανεπιθύμητο.

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

Η ικανότητα παλαίωσης, εκτός βέβαια από την ποικιλία του σταφυλιού, εξαρτάται από την ωρίμανση του σταφυλιού, από την οποία εξαρτάται ο βαθμός πολυμερισμού των τανινών. Κατά την παλαίωση παρατηρείται σχηματισμός μεγάλων πολυμερών χάρη στην επίδραση του οξυγόνου, που είναι απαραίτητο για την πραγματοποίηση της. Γίνεται λοιπόν αντιληπτή η μεγάλη σπουδαιότητα του οξυγόνου στο σχηματισμό μεγάλων μορίων τανινών κατά τη διάρκεια παραμονής σε ξύλινο βαρέλι. Αυτές οι μεγάλες τανίνες μπορούν να διατηρηθούν κατά τη γήρανση και επιπλέον έχουν την ιδιότητα να μην προκαλούν στυφή αίσθηση (Σουφλερός, 1997).

3. Η οξειδωση του οίνου

Το κρασί είναι ένα πολύπλοκο σύστημα ικανό να υποβληθεί σε πολλές διαφορετικές αλλαγές σύνθεσης κατά την αποθήκευση. Ενώ η αποθήκευση στο μπουκάλι είναι σημαντική για τη βελτίωση της ποιότητας στο κόκκινο κρασί (Somers & Pocock, 1990), αντίθετα για το λευκό κρασί μπορεί να υποβαθμίσει την ποιότητα όπως η αλλοίωση του χρώματος (αμαύρωση) και τελικά η υποβάθμιση της συνολικής ποιότητας και της εμπορευσιμότητας. Ωστόσο, μερικά λευκά είδη οίνων μπορεί να αντλήσουν βραχυπρόθεσμα οφέλη από την ανάπτυξη ενός χαρακτηριστικού μπουκέτου στο μπουκάλι (Marais & Pool, 1980).

Οι αντιδράσεις στο λευκό κρασί μετά τη ζύμωση αφορούν επί το πλείστον μη ενζυμική οξειδωτική αμαύρωση (Ribéreau-Gayon, 2000). Η οξειδωση του οίνου (browning) είναι το αποτέλεσμα μιας περίπλοκης σειράς αντιδράσεων, οι οποίες οδηγούν σε καφέ χρώμα που αυξάνει την ένταση του χρώματος, μειώνει τη φωτεινότητα και αυξάνει το δείκτη αμαύρωσης (Gonzalez Cartagena και συν., 1994). Τα πιο σημαντικά πολυφαινολικά συστατικά στα λευκά κρασιά, τόσο από την άποψη της ποσότητας όσο και της ικανότητας να συμμετάσχουν σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής, είναι τα υδροξυκινναμωμικά οξέα και οι φλαβανόλες. Ειδικότερα, η οξειδωση των όρθο - διυδροξυλικών ενώσεων όπως η (+)-κατεχίνη, η (-)-επικατεχίνη, το καφεϊκό και άλλα υδροξυκινναμωμικά οξέα οδηγούν στο σχηματισμό κίτρινων ή καφέ προϊόντων λόγω του πολυμερισμού των ορθο-κινονών (Guyot και συν., 1996). Άλλα συστατικά του οίνου, όπως η παρουσία μεταλλικών ιόντων καθώς και η παρουσία τουθειώδους και ασκορβικού οξέος, είναι επίσης σημαντικά στην οξειδωση των πολυφαινολών (Singleton, 1987). Το διοξείδιο του θείου και το ασκορβικό οξύ, όταν προστίθενται στον οίνο, είναι σε θέση να μειώσουν τις ορθο-κινόνες, ενώ τα ιόντα μετάλλων μπορούν να καταλύουν αντιδράσεις οξειδωσης (Singleton, 1987).

Οι αντιδράσεις οξειδωσης (browning) μπορεί να είναι ενζυματικές (Nagel & Graber, 1988), ή μη ενζυματικές (Cilliers & Singleton, 1990). Η οξειδωση συνήθως ξεκινά από τα πρώτα στάδια της οινοποίησης από ενζυματικές αντιδράσεις (Cheynier και συν., 1989), όπου οι εστέρες του υδροξυκινναμωμικού οξέος διαδραματίζουν καίριο ρόλο. Μετά τη ζύμωση, μη-ενζυματική οξειδωση μπορεί να συμβεί απουσία ενεργούς οξειδάσης της πολυφαινόλης, με αποτέλεσμα την εμφάνιση ενός περισσότερο ή λιγότερο έντονου καφέ χρώματος καθώς και ενός «ξυλώδους» αρώματος. Ειδικότερα η οξειδωτική αμαύρωση των λευκών οίνων δείχθηκε να είναι ιδιαίτερα σχετική με το



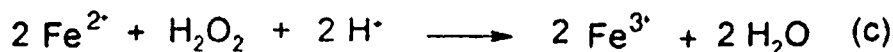
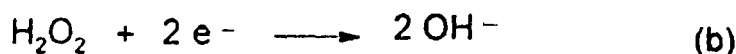
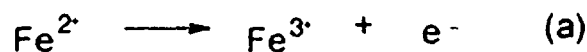
περιεχόμενο σε φλαβανόλες (Cheynier και συν., 1989). Αυτό το φαινόμενο θεωρείται επιθυμητό σε επιδόρπια κρασιά, αλλά ανεπιθύμητο σε νέους επιτραπέζιους οίνους, αφρώδεις οίνους και ώριμα κόκκινα κρασιά.

Κατά την αποθήκευση η οξείδωση των κυριότερων πολυφαινολικών ενώσεων πιθανώς θα οδηγήσει σε αλλαγές στα επίπεδα των αντιοξειδωτικών στο κρασί, ως συνέπεια των αλλαγών στην οξειδοαναγωγική ισορροπία. Η αντιοξειδωτική δραστηριότητα είναι η πιο μελετημένη δραστηριότητα σε σχέση με τα οφέλη για την υγεία από την κατανάλωση κρασιού, και αρχικά θεωρήθηκε ότι είχε σχέση με την παρουσία των φλαβονοειδών, εφόσον αυτά θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως τερματιστές ελευθέρων ριζών (Benítez και συν., 2002a). Ωστόσο, πρόσφατα στοιχεία έδειξαν ότι τα υδροξυκιναμωμικά οξέα και οι συζεύκτες τους είναι εξίσου ενεργά.

3.1 Η βασική αντίδραση οξείδωσης

Η οξείδωση είναι μια διαδικασία όπου η μεταφορά ηλεκτρονίων λαμβάνει χώρα μεταξύ αναγωγικού και οξειδωτικού μορίου.

Ένα ηλεκτρόνιο απομακρύνεται από ένα άτομο ή μια ομάδα ατόμων και μεταφέρεται σε ένα άτομο που λαμβάνει (Εικόνα 8). Στο κρασί το οξυγόνο είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας οξείδωσης.



Εικόνα 8: Οξειδοαναγωγικό σύστημα: (α) οξείδωση του δισθενούς σιδήρου προς ιόν τρισθενούς σιδήρου (β) μείωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε υδροξείδιο και (γ) η συνολική οξειδοαναγωγική αντίδραση.

3.2 Ρυθμιστική ικανότητα των οίνων

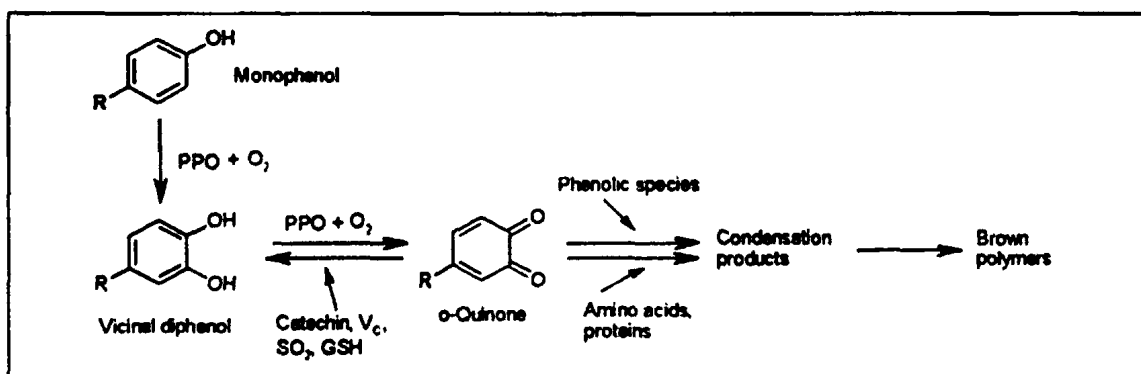
Τα κρασιά έχουν μια συγκεκριμένη ρυθμιστική ικανότητα για οξείδωση. Αυτή η ρυθμιστική ικανότητα καθορίζεται από τη συγκέντρωση των οξειδωτικών ή αναγωγικών παραγόντων εντός του μέσου. Τα κόκκινα κρασιά έχουν συνήθως υψηλή ρυθμιστική ικανότητα, καθώς έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε φαινόλες. Τα λευκά κρασιά έχουν πολύ χαμηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις, καθώς παράγονται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να αποφευχθεί η υψηλή φαινολική εκχύλιση. Η χαμηλότερη ρυθμιστική ικανότητα καθιστά το λευκό κρασί πιο ευάλωτο στην οξείδωση. Στην περίπτωση της έκθεσης στο οξυγόνο το κόκκινο κρασί θα οξειδωθεί περισσότερο γρήγορα, καθώς υπάρχουν περισσότερες φαινόλες για να χρησιμεύσουν ως υποστρώματα, αλλά το κρασί θα ανακτηθεί γρήγορα λόγω της υψηλής ρυθμιστικής του ικανότητας. Τα λευκά κρασιά από την άλλη πλευρά, θα υποβληθούν σε μια πιο αργή οξείδωση (λιγότερα υποστρώματα), αλλά δεν θα είναι σε θέση να ανακτηθούν στον ίδιο βαθμό (Ribéreau-Gayón και συν., 2006b). Το συνολικό περιεχόμενο σε φαινολικές ενώσεις θα μπορούσε συνεπώς να είναι μια μέτρηση της ικανότητας του



κρασιού να αντέξει στην επίδραση του οξυγόνου, καθώς και της ικανότητας του να αλλάζει όταν έρχεται σε επαφή με το οξυγόνο (Singleton, 1987).

3.3 Η ενζυματική οξείδωση

Όταν συνθλίβεται η ράγα του σταφυλιού, τα φαινολικά υποστρώματα απελευθερώνονται στο μούστο μαζί με την οξειδάση της πολυφαινόλης (PPO), η οποία υπό την παρουσία οξυγόνου προκαλεί την ενζυματική οξείδωση (Macheix και συν., 1991). Τα υποστρώματα για την οξειδάση της πολυφαινόλης (PPO) είναι σχεδόν αποκλειστικά υδροξυκιναμωμικά οξέα, εστέρες τρυγικού οξέος, trans – καφταρικό και κουταρικό οξύ. Αυτά είναι τα πρώτα υποστρώματα που οξειδώνονται από το φυσικό ένζυμο PPO. Η οξείδωση αυτών των φαινολών (π.χ. trans-καφταρικό οξύ) από το ένζυμο PPO τα μετατρέπει σε ο-κινόνες (Εικόνα 9) (Singleton, 1987).



Εικόνα 9: Μηχανισμός για την ενζυματική οξείδωση της ο-διφαινόλης υπό την παρουσία οξυγόνου και του ενζύμου PPO (Hornsey, 2007).

Η σχηματιζόμενη ο-κινόνη είναι ασταθής και μπορεί περαιτέρω να συμμετάσχει σε άλλες αντιδράσεις. Οι ο-κινόνες είναι ηλεκτρονιόφιλα και μπορεί εύκολα να αντιδράσουν με πυρηνόφιλα κέντρα, όπως άλλα φαινολικά μόρια, SO₂ και ενώσεις που περιέχουν θειόλη, όπως η γλουταθειόνη. Οι ο-κινόνες μπορεί να τεθούν σε αντιδράσεις οξείδωσης σε συνδυασμό με τα φλαβονοειδή και μπορεί να συμπυκνωθούν με άλλες φαινολικές ενώσεις προς σχηματισμό πολυμερισμένων προϊόντων προσθήκης (Cheynier και συν., 1990). Τα σχηματιζόμενα προϊόντα προσθήκης έχουν χαμηλό μοριακό βάρος και δεν είναι χρωματισμένες ενώσεις. Μια αύξηση στο βαθμό συμπύκνωσης θα οδηγήσει τελικά στο σχηματισμό κίτρινων και καφέ χρωστικών ουσιών του γλεύκου (Singleton, 1987). Ο σχηματισμός των ο-κινονών είναι ενζυματικής φύσεως, αλλά η περαιτέρω αντίδραση που οδηγεί σε (οξείδωση) browning, είναι μη ενζυματικής (Oliveira και συν., 2011).

Άλλες ενώσεις, όπως οι πολυσακχαρίτες και οι πρωτεϊνικές ενώσεις μπορεί επίσης να επηρεάσουν το χρώμα στα λευκά κρασιά, αλλά στην περίπτωση των οξειδωμένων οίνων, οι φαινολικές ενώσεις είναι κυρίως υπεύθυνες για την αλλαγή χρώματος (Ribéreau-Gayon και συν., 2006).

Η ταχύτητα της κατανάλωσης του οξυγόνου στο χυμό εξαρτάται από τον τύπο και τη συγκέντρωση του ενζύμου της οξείδωσης, την ποσότητα των υποστρωμάτων (trans-καφταρικό οξύ) και την παρουσία αναγωγικών παραγόντων όπως SO₂, γλουταθειόνης

και ασκορβικού οξέος. Η «παγίδευση» της ο-κινόνης θα αποτρέψει περαιτέρω αντιδράσεις προσθήκης και πολυμερισμού. Η θερμοκρασία μπορεί να έχει επίσης ένα σημαντικό αποτέλεσμα μιας και η ταχύτητα σχηματισμού της ο-κινόνης είναι υψηλότερος σε υψηλότερες θερμοκρασίες (Zoecklein, 1995a).

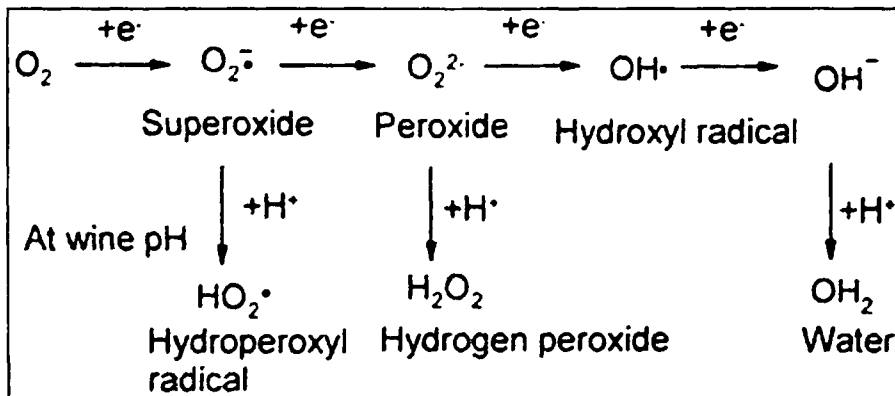
Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας οινοποίησης, τα ένζυμα οξείδωσης χάνουν κανονικά τη δραστηριότητά τους και συνήθως απενεργοποιούνται από τη στιγμή που η ζύμωση έχει ολοκληρωθεί (Ribéreau-Gayon και συν., 2006).

Ωστόσο το κρασί μπορεί ακόμα να οξειδωθεί υπό την παρουσία αέρα μέσω χημικής οξείδωσης.

3.4 Μη-ενζυματική οξείδωση (χημική οξείδωση)

Η μη ενζυματική οξείδωση (που αναφέρεται επίσης ως χημική αμάρωση) στο κρασί θεωρείται ότι σχετίζεται με την οξείδωση των φαινολών (Waterhouse, 2002). Συγκεκριμένα, οι πιο ευπαθείς ομάδες είναι οι ο-διφαινόλες, οι οποίες περιλαμβάνουν το καφεϊκό οξύ και συγγενείς εστέρες, κατεχίνη, επικατεχίνη, ανθοκυάνες και τα παράγωγα, γαλλικό οξύ, καθώς και τις φλαβαν-3-όλες (Waterhouse & Laurie, 2006).

Τα μέταλλα (ο σίδηρος και ο χαλκός) λειτουργούν ως καταλύτες των αντιδράσεων οξείδωσης. Η άμεση αλληλεπίδραση των φαινολικών και του οξυγόνου δεν γίνεται εκτός αν καταλύεται από ιόντα μετάλλων μεταπτώσεως (Danilewicz, 2003, Ribéreau-Gayon και συν., 2006). Το οξειδωτικό δυναμικό του μοριακού οξυγόνου στο κρασί μπορεί να φαίνεται από την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) που αποτελούν μια κλιμακωτή σκάλα που δείχνει την αναγωγική αντίδραση που λαμβάνει χώρα (Εικόνα 10). Ενώ αυτή η αναγωγή του μορίου του οξυγόνου λαμβάνει χώρα, η οξειδωτική αντίδραση οδηγεί στο σχηματισμό μιας ο-κινόνης από το φαινολικό υπόστρωμα.



Εικόνα 10: Σκάλα αναγωγής του οξυγόνου (Waterhouse & Laurie, 2006).

Η αρχική μεταφορά ενός ηλεκτρονίου οδηγεί στο σχηματισμό των ιόντων υπεροξειδίου. Στο pH του κρασιού αυτό το ιόν υφίσταται ως ρίζα υπεροξειδίου. Αυτό το στάδιο απαιτεί την παρουσία ενός καταλύτη πιθανώς μιας μεταβατικής κατάστασης μετάλλων, όπως του σιδήρου. Η μεταφορά ενός δεύτερου ηλεκτρονίου θα αποδώσει ένα υπεροξείδιο (υπεροξείδιο του υδρογόνου στο pH του κρασιού). Το επόμενο στάδιο αναγωγής παράγει μια πολύ αντιδραστική ρίζα υδροξυλίου. Αυτή η ρίζα παράγεται με την αντίδραση Fenton μεταξύ υπεροξειδίου του υδρογόνου και σιδηρούχων αλάτων



σιδήρου, δημιουργώντας το νερό κατά τη διαδικασία (Danilewicz, 2003, Waterhouse & Laurie, 2006).

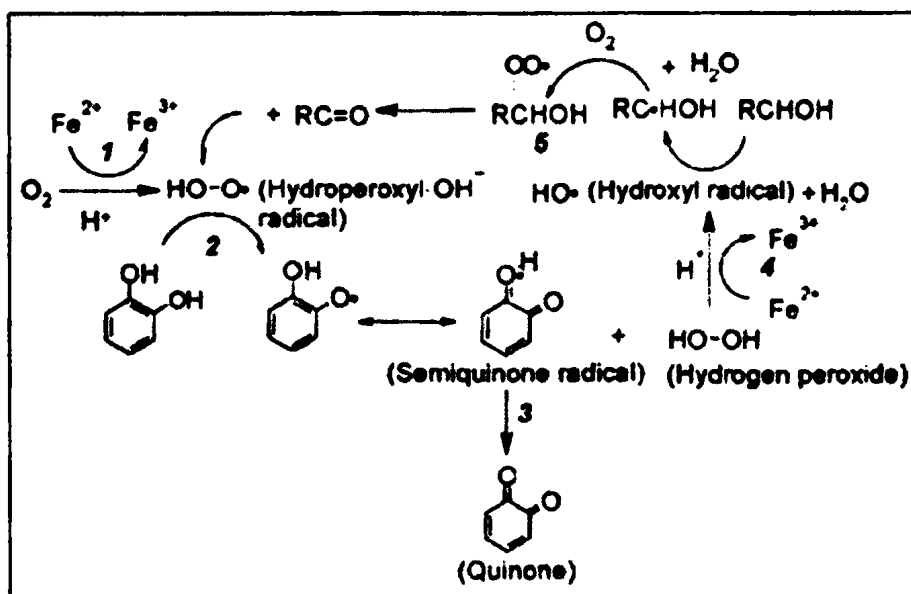
3.5 Τα προϊόντα οξείδωσης στον οίνο

Όταν τα φαινολικά αντιδρούν με τις δραστικές μορφές οξυγόνου ROS, ο ρυθμός αντίδρασης εξαρτάται από την ικανότητά του να σχηματίσει ένα προϊόν σταθερής ρίζας. Ενώσεις όπως 1,2,3-τριυδροξύ ομάδα (πυρογαλλόλη) και 1,2-διυδροξύ ομάδα αρωματικού δακτυλίου (κατεχόλη) είναι πιο εύκολο να οξειδωθούν, επειδή η προκύπτουσα ρίζα φαινοξυλίου ημικινόνης μπορεί να σταθεροποιηθεί με ένα δεύτερο άτομο οξυγόνου. Τα φαινολικά στο κρασί που εμπίπτουν σε αυτή την κατηγορία των εύκολων οξειδώσιμων υποστρωμάτων περιλαμβάνουν το καφεϊκό οξύ, (+)-κατεχίνη, (-)-επικατεχίνη, γαλλική (-)-επικατεχίνη, το γαλλικό οξύ, οι προκυανιδίνες, υδρολυομένες τανίνες και κερκετίνη.

Η ομάδα κατεχόλης φαίνεται να είναι το κύριο είδος που αντιδρά με τη ρίζα υπεροξειδίου. Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, σχηματίζουν μια ρίζα ημικινόνης και υπεροξειδίου του υδρογόνου (Εικόνα 11, αντίδραση 2). Η ρίζα ημικινόνης αποδίδει στη συνέχεια την ο-κινόνη (Εικόνα 11, αντίδραση 3) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου αντιδρά με διασθενές σίδηρο για να δώσει ρίζα υδροξυλίου (Εικόνα 11, αντίδραση 4).

Αυτή η ρίζα υδροξυλίου είναι μη εκλεκτική και πολύ αντιδραστική και μπορεί να αντιδράσει με πολλά συστατικά του κρασιού.

Οι ενώσεις που είναι παρούσες σε υψηλές συγκεντρώσεις έχουν περισσότερες πιθανότητες να υποστούν οξείδωση από τη ρίζα. Η αιθανόλη είναι παρούσα σε αφθονία και το κύριο αναμενόμενο προϊόν θα είναι ακεταλδεΐδη, ή κετοοξέα από την οξείδωση των οργανικών οξέων (Εικόνα 11, αντίδραση 5). Πολλές άλλες ενώσεις μπορούν επίσης να οξειδωθούν με αυτό το μηχανισμό, ιδιαίτερα τα προϊόντα της αφθονίας στο κρασί. Τα αναμενόμενα προϊόντα θα είναι ως επί το πλείστον κετόνες και αλδεΐδες (Singleton, 1987, Wildenradt & Singleton, 1974, Fenton, 1894).



Εικόνα 11: Προϊόντα οξείδωσης του οίνου.

3.6 Μείωση αρώματος οίνου

Τα πτητικά συστατικά του οίνου, τα οποία περιλαμβάνουν αιθυλεστέρες, οξικούς εστέρες, τερπενόλες, ανώτερες αλκοόλες, λιπαρά οξέα, αλδεΐδες, κετόνες, υδρογονάνθρακες και άλλα, έχουν σημαντικό αντίκτυπο στο άρωμα του κρασιού. Οι αιθυλεστέρες και οξικοί εστέρες σχηματίζονται ενζυμικά κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και συμβάλλουν σημαντικά στο άρωμα του οίνου. Οι αιθυλεστέρες του εξανοϊκού, οκτανοϊκού και δεκανοϊκού οξέος, όπως και ο ισοαμυλικός και ισοβουτυλικός οξικός εστέρας θεωρούνται επίσης αντιπροσωπευτικές ενώσεις του αρώματος των οίνων. Οι εστέρες χαμηλού μοριακού βάρους, που συχνά αποκαλούνται φρουτώδεις εστέρες, έχουν σαφώς φρουτώδη αρώματα (Jackson, 1994). Τα τερπένια είναι μια σημαντική ομάδα των αρωματικών ενώσεων δίνοντας άρωμα σε διάφορες ποικιλίες σταφυλιών και κρασιών. Τα τερπένια θεωρούνται υπεύθυνα για το πρωτογενές άρωμα πολλών οίνων. Τα σημαντικότερα από αυτά είναι οι μονοτερπενικές αλκοόλες, λιναλοόλη, γερανιόλη, νερόλη, κιτρονελλόλη και α-τερπινεόλη.

Η οξείδωση του λευκού καθώς και του ερυθρού οίνου είναι ένα γνωστό πρόβλημα στην οινοποίηση. Το πρώτο βήμα της οξείδωσης στο κρασί χαρακτηρίζεται από το μετασχηματισμό ενώσεων του αρώματος αυτού. Αυτό οδηγεί σε απώλεια χαρακτηριστικών αρωμάτων των κρασιών, και στη συνέχεια οδηγεί στο σχηματισμό νέων αρωμάτων που συνδέονται με την αλλοίωση του προϊόντος. Η οξειδωτική αμαύρωση είναι ένα μεταγενέστερο στάδιο της οξείδωσης του κρασιού.

Οι (Papadopoulou & Roussis, 2008, Lambropoulos & Roussis, 2007) παρατήρησαν ότι κατά την αποθήκευση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 20°C μειώθηκαν τα επίπεδα των πτητικών εστέρων, όπως και των αιθυλεστέρων και των τερπενίων. Την ίδια διαπίστωση έκαναν και οι (Papadopoulou & Roussis, 2001, Roussis και συν., 2005, Roussis και συν., 2009) κατά την αποθήκευση λευκού οίνου Μοσχάτο στους 20°C. Αντίθετα, ο γαλακτικός αιθυλεστέρας και ο ηλεκτρικός διμεθυλεστέρας, στον λευκό οίνο Μοσχάτο, δεν παρουσίασε μεταβολή με την αποθήκευση.

Οι (Patrianakou και Roussis, 2013) παρατήρησαν μείωση των εστέρων κατά την αποθήκευση λευκού οίνου Chardonnay στους 20°C. Παράλληλα, η προσθήκη μίγματος FeII και H₂O₂ στα δείγματα λευκού οίνου Chardonnay, επιτάχυνε τη μείωση των πτητικών εστέρων. Η μείωση των εστέρων έχει σαν αποτέλεσμα την απώλεια της φρεσκάδας και του φρουτώδους αρώματος των οίνων.

Η απώλεια των πτητικών ενώσεων μπορεί να αποδοθεί στην οξείδωση και άλλες χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα. Η συγκέντρωση των οξέων στο κρασί μπορεί να μεταβληθεί λόγω εστεροποίησης και αντιδράσεων υδρόλυσης (Ramey & Ough, 1980). Επιπλέον, οι περισσότερες τερπενικές αλκοόλες αντικαθίσταται από οξειδια τερπενίου, ενώ λιναλοόλη μπορεί να μετατραπεί σε α-τερπινεόλη, η οποία έχει ένα πολύ υψηλότερο κατώφλι αναγνώρισης.

Παράλληλα η οξείδωση στον οίνο μπορεί να οδηγήσει στην απομάκρυνση αρωματικών ενώσεων που περιέχουν θείο. Αυτό μπορεί να είναι μια θετική ανάπτυξη, καθώς πολλές ενώσεις που περιέχουν θείο παράγουν ανεπιθύμητα αρώματα που θυμίζουν καουτσούκ. Την ίδια στιγμή υπάρχουν ενώσεις που περιέχουν θείο και που προσθέτουν ένα χαρακτηριστικό άρωμα στο κρασί, αλλά αυτές μπορούν να χαθούν μέσω των διαδικασιών οξείδωσης. Αυτές περιλαμβάνουν την 3-μερκαπτοεξανόλη, η οποία παρέχει φρούτωδες άρωμα στα κρασιά του τύπου Sauvignon Blanc (Roland και συν., 2011).



Πολλοί ερευνητές αξιολόγησαν την επίδραση της γλουταθειόνης GSH, N-ακετυλοκυστεΐνης, καφεϊκού οξέος, γαλλικού οξέος, θειώδη ανυδρίτη, φαινολικών ενώσεων και φλαβονολών στη μείωση των πτητικών εστέρων και τερπενίων κατά τη διάρκεια της γήρανσης. Παρατήρησαν ότι τα παραπάνω ανέστειλαν την πτώση πολλών πτητικών ενώσεων, όπως ο ισοαμυλικός οξικός εστέρας, εξανοϊκός, οκτανοϊκός, δεκανοϊκός αιθυλεστέρας και λιναλοόλη κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.

3.7 Αποτίμηση της τάσης των οίνων προς οξείδωση

Για να προβλέψουν τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των λευκών οίνων, οι ερευνητές (Singleton & Kramlinga, 1976) πρότειναν τη χρήση μιας τυποποιημένης, επιταχυνόμενης δοκιμής για τη μέτρηση της ικανότητάς των οίνων προς αμαύρωση. Ο Singleton πρότεινε τη χρήση μπεντονίτη με σκοπό την καθίζηση πρωτεϊνών ή πολυπεπτιδίων που θα μπορούσαν να παρέμβουν στο δείκτη αμαύρωσης, καθώς επίσης και την επώαση του δείγματος με 25 % υπερκείμενου οξυγόνου ή αζώτου για 5 ημέρες στους 55°C. Η μέτρηση της απορρόφησης στα 420 nm μπορεί να προβλέψει την ικανότητα του κρασιού προς αμαύρωση. Αυτή η τυποποιημένη δοκιμή έχει χρησιμοποιηθεί από άλλους ερευνητές για διαφορετικούς τύπους μελετών που έχουν σχέση με φαινόμενα οξείδωσης (Fernandez-Zurbano και συν., 1998). Μια άλλη δοκιμή επιτάχυνσης για την οξείδωση, με βάση την ηλεκτροχημική οξείδωση του κρασιού, έχει προταθεί πρόσφατα από τους ερευνητές (Palma & Bartoso, 2002). Η ανάλυση αυτή συσχετίζεται με τη φυσική εξέλιξη των κρασιών, καθώς στις αναλύσεις του φαινολικού περιεχομένου διαφορετικών οίνων Finno sherries, για παράδειγμα, υψηλότερα οξειδώσιμα περιεχόμενα έχουν βρεθεί ότι απέδωσαν υψηλότερη αμαύρωση. Ωστόσο, κάποιος πρέπει να είναι προσεκτικός κατά την εφαρμογή των δεδομένων από δοκιμές υψηλής θερμοκρασίας σε δοκιμές αποθήκευσης του κρασιού σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Τα αποτελέσματα των δοκιμών δεν μπορούν να συσχετίζονται με τη μακροπρόθεσμη εξέλιξη του οίνου στο πλαίσιο των παραδοσιακών συνθηκών αποθήκευσης, καθώς η θερμοκρασία είναι μία από τις πολλές παραμέτρους που ελέγχουν το ποσοστό της οξείδωσης (Caputi & Peterson, 1965).

Μια άλλη ενδιαφέρουσα προσπάθεια στην πρόβλεψη του ρυθμού οξείδωσης περιλαμβάνει την ανάλυση της συνολικής αντίδρασης και τον προσδιορισμό των αντιδράσεων κινητικής.

3.8 Τα αντιοξειδωτικά και ο μηχανισμός ελευθέρων ριζών

Τα αντιοξειδωτικά είναι ουσίες που εμποδίζουν ή επιβραδύνουν την οξείδωση των συστατικών των τροφίμων (Μπόσκος, 1997), επειδή έχουν την ικανότητα να απενεργοποιούν την περίσσεια των ελευθέρων ριζών (οι σημαντικότερες είναι μορφές οξυγόνου που έχουν υποστεί μερική αναγωγή) με δύο βασικούς μηχανισμούς, (1) μεταφέροντας και προσφέροντας υδρογόνο και (2) προσφέροντας μονήρες ηλεκτρόνιο. Οι προαναφερθέντες μηχανισμοί λειτουργούν σχεδόν παράλληλα και με κυριαρχία του ενός ή του άλλου μηχανισμού (Prior και συν., 2005).

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται κάθε είδος ατόμου ή χημικής ένωσης που έχει την ικανότητα ανεξάρτητης (‘‘ελεύθερης’’) ύπαρξης και μπορεί να περιέχει ένα ή και περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Οι ελεύθερες ρίζες είναι ασταθείς και ιδιαίτερα δραστικές ενώσεις. Αρχικά δημιουργείται με κάποιο τρόπο μία ελεύθερη ρίζα (έναρξη).



Τα κυριότερα από τα αρχικά προϊόντα της αυτοξειδωσης είναι τα υδρουπεροξειδια. Αυτά στη συνέχεια δίνουν νέες ρίζες υπεροξειδίων, άλλα υδρουπεροξειδια και νέες ρίζες από το υδρογιοανθρακικό τμήμα του μορίου (διάδοση). Με τον τρόπο αυτό οι αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών τείνουν να είναι αλυσιδωτές αναγεννώντας συνέχεια νέα άτομα ή ενώσεις με ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η αντίδραση θα σταματήσει όταν όλες οι ελεύθερες ρίζες αντιδράσουν προς προϊόντα που δεν παρέχουν πλέον νέες ελεύθερες ρίζες. Η αλληλουχία των αντιδράσεων μπορεί να παραταθεί ως εξής:

Έναρξη: $R \cdot$ (ελεύθερη ρίζα)

Διάδοση: $R \cdot + O_2 \rightarrow ROO \cdot$ (ρίζα υπεροξειδίου)

$ROO \cdot + RH \cdot \rightarrow ROOH + R \cdot$

$ROOH + RH \cdot \rightarrow RO \cdot$

Τερματισμός: $R \cdot + R \cdot \rightarrow R-R$

$ROO \cdot + R \cdot \rightarrow ROOR$

$ROO \cdot + ROO \cdot \rightarrow ROOR + O_2$

Τα τελευταία είναι αδρανή προϊόντα που δεν προκαλούν έναρξη ή διάδοση της αντίδρασης. Με βάση τον ανωτέρω μηχανισμό πιστεύεται ότι επιτελείται η αυτοξειδωση των λιπών και ελαίων, δηλαδή η αντίδρασή τους με το οξυγόνο. Τα περισσότερα αντιοξειδωτικά είναι αρωματικές ενώσεις, που διαθέτουν μια τουλάχιστον ελεύθερη υδροξυλική ή αμινική ομάδα. Οι σημαντικότερες ενώσεις που προστίθενται στα τρόφιμα ανήκουν στις πολυκυκλικές φαινόλες με μια ή περισσότερες υδροξυλομάδες (Μπόσκος, 1997). Γενικά η τάξη των αντιοξειδωτικών των τροφίμων περιέχει τις ενώσεις εκείνες που εμποδίζουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις ελεύθερων ριζών, που σχετίζονται με την οξείδωση των λιπιδίων.

Τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με τους σταθεροποιητές και συμπλοκοποιητές. Τα μίγματα αυτά συντελούν στην ενεργοποίηση και τη βελτίωση της αντιοξειδωτικής δράσης, στη διερεύνηση της εφαρμογής των αντιοξειδωτικών σε περισσότερες κατηγορίες τροφίμων, καθώς και στην ευκολότερη χρησιμοποίησή τους (Reznick & Cross, 2000).

3.9 Κατάταξη και μηχανισμοί δράσης των αντιοξειδωτικών ουσιών

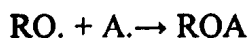
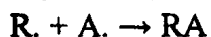
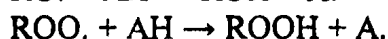
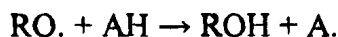
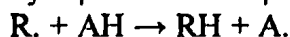
3.9.1 Τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με τον μηχανισμό δράσης τους, μπορούν να χωριστούν στις εξής κατηγορίες:

• Πρωτοταγή αντιοξειδωτικά:

Τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά διακόπτουν τις αντιδράσεις διάδοσης των ελεύθερων ριζών παρέχοντας άτομα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες. Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται οι φαινολικές ενώσεις. Παραδείγματα πρωτογενών αντιοξειδωτικών αποτελούν η ΒΗΑ (βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη), το ΒΗΤ (βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο), η ΤΒΗQ (δι-τρι-βουτυλουδροκινόνη), ο ΡG (προπυλικός εστέρας γαλλικού οξέος), οι φυσικές και συνθετικές τοκοφερόλες, καφεϊκό οξύ, καρνοσόλη, ροσμαρινικό οξύ κ.ά. (Γάλαρης και Δούλιας, 2001). Όσον αφορά στα φαινολικά αντιοξειδωτικά δρουν μέσω του μηχανισμού ελεύθερων ριζών. Αντιδρούν με αυτές και σχηματίζουν ενώσεις που δεν έχουν την τάση να δίνουν νέες ελεύθερες ρίζες. Η δράση τους αυξάνεται όταν χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό. Το φαινόμενο αυτό λέγεται συνέργεια ή συνεργισμός ή συνεργιστική δράση (Μπόσκος, 1997).



Συνοπτικά ο μηχανισμός με τον οποίο δρουν τα φαινολικά αντιοξειδωτικά δίνεται με τις παρακάτω αντιδράσεις:



• Δευτεροταγή αντιοξειδωτικά:

Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν κάποιες ομάδες αντιοξειδωτικών με διαφορετικές ιδιότητες και είναι:

1. Ενώσεις που δημιουργούν χηλικά σύμπλοκα (συνεργιστικές ενώσεις). Οι ενώσεις αυτές σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα, όπως αυτά του χαλκού και του σιδήρου. Με τον τρόπο αυτό δεσμεύουν σωματίδια που δρουν ως εκκινητές της οξείδωσης. Παραδείγματα αποτελούν το κιτρικό οξύ, τα αμινοξέα, το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA), κ.ά. Ωστόσο για να εκδηλωθεί η αντιοξειδωτική τους δράση, πρέπει να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με κάποιο άλλο αντιοξειδωτικό (Roberfroid & Calderon, 1995).

2. Ενώσεις που απομακρύνουν το οξυγόνο. Οι ενώσεις αυτές αντιδρούν με το οξυγόνο οπότε, σχηματίζοντας ενώσεις με αυτό, εμποδίζουν την αντίδρασή του με τα λιπίδια που αποτελεί έναρξη της αυτοοξείδωσης. Την ικανότητα αυτή παρουσιάζουν αντιοξειδωτικά όπως το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), ο παλμιτικός του εστέρας, το ερυθορβικό οξύ και τα άλατά του με νάτριο, κ.ά. (Yanishlieva και συν., 2001).

3. Τα αναγωγικά, τα οποία αναγεννούν φαινόλες και εμφανίζουν το φαινόμενο του συνεργισμού. Το ασκορβικό οξύ με τη μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα (για να είναι λιποδιαλυτό) πιστεύεται ότι αναγεννά τα φαινολικά αντιοξειδωτικά, παρέχοντας υδρογόνο στις φαινόξυ-ρίζες και έτσι έχει μία έμμεση δράση ως αντιοξειδωτικό. Ως αναγωγικό το ασκορβικό οξύ μεταφέρει άτομα υδρογόνου στις κινόνες, που σχηματίζονται στην ενζυμική αμαύρωση των φαινολικών ουσιών και αυτό παρέχει μία προστασία στις πρόσφατα κομμένες επιφάνειες των φρούτων και λαχανικών.

4. Οι αποσβεστές διηγερμένου (singlet) οξυγόνου, οι οποίοι απενεργοποιούν το μονήρες οξυγόνο. Εδώ ανήκουν οι τοκοφερόλες και το β-καροτένιο.

5. Ένζυμα. Αυτά δρουν είτε απομακρύνοντας το εν διαλύσει οξυγόνο, είτε απομακρύνοντας συστατικά του τροφίμου που είναι ευοξειδωτα. Παραδείγματα για την κατηγορία αυτή αποτελούν αντίστοιχα η οξειδάση της γλυκόζης, η υπεροξειδάση της δισμουτάσης, η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Roberfroid & Calderon, 1995).

6. Η μεθυλοσιλικόνη και οι στερόλες με αιθυλιδενική πλευρική αλυσίδα, όπως το πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο, εμποδίζουν τον οξειδωτικό πολυμερισμό σε θερμαινόμενα έλαια.

7. Τέλος σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα αντιοξειδωτικά με πολλαπλή ή μη πλήρως γνωστή δράση. Τέτοια είναι τα φωσφολιπίδια και τα προϊόντα των αντιδράσεων Maillard (Μπόσκος, 1997).



3.9.2 Τα αντιοξειδωτικά με βάση την προέλευσή τους διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες :

• Φυσικά αντιοξειδωτικά:

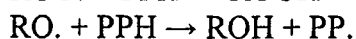
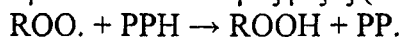
Η πλειοψηφία των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι φαινολικές ενώσεις, οι οποίες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: τις τοκοφερόλες, τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα. Οι τοκοφερόλες είναι η πιο γνωστή και ευρέως χρησιμοποιούμενη κατηγορία. Διακρίνονται σε δύο ομάδες: τις τοκοφερόλες (Toc) και τις τοκοτριενόλες (Toc-3). Η κάθε ομάδα περιλαμβάνει τέσσερα ομόλογα, δηλαδή α-, β-, γ- και δ-τοκοφερόλη και αντίστοιχα α-, β-, γ- και δ-τοκοτριενόλη (Yanishlieva και συν., 2001). Η αντιοξειδωτική τους ικανότητα αυξάνεται από το α- ομόλογο προς το δ- εν αντιθέσει με τη βιταμινική τους δράση που ελαττώνεται (Γάλαρης & Δούλιας, 2001).

•Συνθετικά αντιοξειδωτικά:

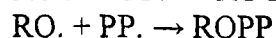
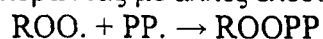
Τα αντιοξειδωτικά αυτά συντίθενται βιομηχανικά. Πολλά από αυτά, αν και παρουσιάζουν ακόμη και έντονη αντιοξειδωτική δράση, δεν χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα τροφίμων, λόγω των αρνητικών επιπτώσεών τους στον ανθρώπινο οργανισμό. Συνθετικά αντιοξειδωτικά που επιτρέπονται ως πρόσθετα τροφίμων είναι το BHT, το BHA, το Trolox (υδατοδιαλυτό ανάλογο της βιταμίνης E), το TBHQ και το PG (Yanishlieva και συν., 2001). Στις μέρες μας τα συνθετικά αντιοξειδωτικά μέσα χρησιμοποιούνται σε πολλούς κλάδους της βιομηχανίας. Στην κατηγορία των τροφίμων και των ειδών διατροφής τα αντιοξειδωτικά επιβραδύνουν την αυτοξείδωση των λιπών και προστατεύουν με αυτόν τον τρόπο την επιβλαβή επίδραση του οξυγόνου στα λίπη, τα καροτινοειδή, τις λιποδιαλυτές βιταμίνες A και E και σ' άλλα συστατικά των τροφίμων. Οι συστηματικές έρευνες έχουν οδηγήσει στη διατύπωση των βασικών αρχών, που διέπουν την εφαρμογή των αντιοξειδωτικών ουσιών στη βιομηχανία των τροφίμων. Γενικά οι ουσίες αυτές δρουν ως σταθεροποιητές.

3.10 Αντιοξειδωτική δράση φαινολικών

Τα φαινολικά οξέα λειτουργούν ως ουσίες που τερματίζουν τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών και σαν χηλικοποιητές μεταλλικών ιόντων είναι ικανά να καταλύουν την υπεροξειδάση των λιπιδίων. Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά (PPH) εμπλέκονται στην οξείδωση των λιπιδίων και άλλων μορίων με το να δίνουν ταχύτατα ένα άτομο υδρογόνου σε ελεύθερες ρίζες (ROO., RO.) όπως φαίνεται στις παρακάτω αντιδράσεις:



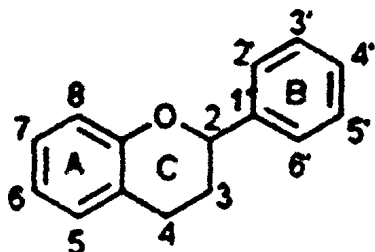
Επιπλέον τα ενδιάμεσα της φαινόξυ-ρίζας είναι σχετικά σταθερά και συνεπώς δεν μπορεί εύκολα να ξεκινήσει μια νέα αλυσιδωτή αντίδραση. Τα ενδιάμεσα της φαινόξυ-ρίζας δρουν επίσης ως οι ουσίες που τερματίζουν τον πολλαπλασιασμό των ριζών αντιδρώντας με άλλες ελεύθερες ρίζες:



Ωστόσο κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες (υψηλή συγκέντρωση φαινολικών αντιοξειδωτικών, υψηλό pH, παρουσία σιδήρου) τα φαινολικά αντιοξειδωτικά μπορούν να εκκινήσουν μια πορεία αυτοξείδωσης και να συμπεριφερθούν ως προοξειδωτικά (Shahidi και συν., 1992). Η ικανότητα των πολυφαινολών ως αντιοξειδωτικές ενώσεις



εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη χημική τους δομή. Η φαινόλη η ίδια είναι ανενεργή σαν αντιοξειδωτικό, αλλά τα ορθο- και παρα- διαφαινολικά έχουν αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία αυξάνει με την αντικατάσταση ατόμων με αιθυλ- ή n-βουτυλ-ομάδες (Shahidi και συν., 1992). Τα φλαβονοειδή είναι μεταξύ των πιο ισχυρών φυσικών αντιοξειδωτικών, επειδή έχουν ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω δομικά στοιχεία τα οποία εμπλέκονται στην αντιοξειδωτική δράση.



1. Μία ο-διαφαινολική ομάδα στο δακτύλιο B, η οποία προσφέρει υψηλή σταθερότητα στο σχηματισμό ριζών και συμμετέχει στον εκτοπισμό των ηλεκτρονίων.
2. Έναν 2-3 διπλό δεσμό σε συζυγία με την 4-οξο δράση στον C δακτύλιο, υπεύθυνο για τον απεντοπισμό ηλεκτρονίων από τον B δακτύλιο και
3. Υδροξυλάσεις στις θέσεις 3 και 5 μαζί με την 4-οξο δράση στους A και C δακτύλιους για μέγιστη δυνατότητα δέσμευσης των ριζών (Ratty & Das, 1988).

3.11 Τα αντιοξειδωτικά στον οίνο

3.11.1 Θειώδης ανυδρίτης

Ο θειώδης ανυδρίτης (SO₂) χρησιμοποιείται στην οινολογική πρακτική εδώ και 300 χρόνια αλλά μόνο τα τελευταία τριάντα χρόνια έγινε αντικείμενο μελέτης για την ορθολογική χρήση του και τον περιορισμό των χρησιμοποιούμενων δόσεων στις απολύτως αναγκαίες ποσότητες. Οι δόσεις καθορίζονται από τις συνθήκες ορθολογικής χρήσης του σε όλα τα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, ώστε ο οινοποιός να επωφελείται των ιδιοτήτων του χρησιμοποιώντας τη μικρότερη δυνατή ποσότητα. Προϋπόθεση γι' αυτό είναι η γνώση των μορφών με τις οποίες ο θειώδης ανυδρίτης απαντά στο γλεύκος και τον οίνο, τη δραστηρότητα κάθε μορφής και τους παράγοντες που επηρεάζουν τη δράση του (pH, θερμοκρασία, αλκοόλη, ουσίες αδρανοποίησης του κλπ).

Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης

Όταν ο θειώδης ανυδρίτης βρεθεί σε διάλυμα και μάλιστα σε pH 3.0-4.0 (συνήθεις τιμές pH των γλευκών και των οίνων) διίσταται ως εξής:



όπου SO₂: ο θειώδης ανυδρίτης που παραμένει διαλυμένος ως μοριακός (η κυρίως δραστική μορφή) και HSO₃⁻: τα ανιόντα του εξουδετερωμένου θειώδους οξέος.



Η διάσταση αυτή εξαρτάται από το pH και τη θερμοκρασία. Όσο υψηλότερο είναι το pH τόσο λιγότερος ο μοριακός SO₂, ενώ η αύξηση της θερμοκρασίας συντελεί σε θεαματική αύξηση. Το άθροισμα των δύο μορφών (μοριακού και εξουδετερωμένου) δίνει τον ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη. Στη σχέση μοριακού ως προς ελεύθερο SO₂ σημαντικό ρόλο παίζει και η συγκέντρωση της αλκοόλης. Για το ίδιο pH και την ίδια συγκέντρωση ελεύθερου SO₂ η συγκέντρωση του μοριακού SO₂ είναι ανάλογη του αλκοολικού τίτλου του διαλύματος.

Δεσμευμένος θειώδης ανυδρίτης

Ο θειώδης ανυδρίτης έχει την ιδιότητα να αντιδρά με ουσίες που διαθέτουν καρβονυλομάδες, αλδεϋδομάδες ή κετονομάδες, προς σχηματισμό ενώσεων από τις οποίες άλλες είναι ασταθείς και άλλες σταθερές. Οι ενώσεις του με σάκχαρα, γενικά, είναι ασταθείς. Με τη γλυκόζη δίνει ενώσεις που λειτουργούν ως 'αποθήκη' SO₂ (ανάλογα με τις συνθήκες ελευθερώνεται μοριακός SO₂) ενώ η φρουκτόζη δεσμεύει ελάχιστο SO₂. Η ακεταλδεϋδη, που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης των σακχάρων ενός γλεύκους, δεσμεύει το θειώδη ανυδρίτη μη αναστρέψιμα δημιουργώντας σταθερές ενώσεις που δεν έχουν καμία από τις ευεργετικές ιδιότητες του ελεύθερου SO₂. Με τις ελεύθερες ανθοκυάνες δίνει άχροες ενώσεις με αποτέλεσμα τη μείωση της έντασης του χρώματος κυρίως των ερυθρών οίνων. Η αντίδραση είναι αντιστρεπτή, δηλαδή με μείωση του SO₂ λόγω οξειδωσης το χρώμα επανέρχεται. Οι ενώσεις αυτές διασπώνται κι ελευθερώνουν μοριακό SO₂ λειτουργώντας σαν 'αποθήκη' SO₂ που παρέχει στους ερυθρούς ξηρούς οίνους προστασία από τις ρξειδώσεις. Στο γλεύκος και τον οίνο υπάρχει πληθώρα άλλων ουσιών που στην ελεύθερη μορφή τους παίζουν αρνητικό ρόλο στους οργανοληπτικούς χαρακτήρες του οίνου. Ο θειώδης ανυδρίτης με το να ενώνεται μαζί τους αμβλύνει τις αρνητικές επιπτώσεις τους.

Επιτρεπτά όρια

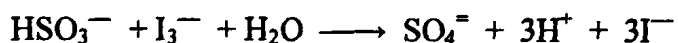
Ο θειώδης ανυδρίτης μπορεί να προστεθεί στο γλεύκος ή στον οίνο ως καθαρό θείο, στερεό μεταθειώδες κάλιο (μεταμπισουλφίτ), υδροποιημένος θειώδης ανυδρίτης ή ως διαλύματα θειώδη ανυδρίτη ανάλογα με το μέγεθος των δοχείων και των μέσων που διαθέτει ο οινοποιός. Η συγκέντρωση του παρακολουθείται συνεχώς έτσι ώστε να προσδίδει προστασία στο γλεύκος και στον οίνο χωρίς να υπερβαίνει τα νόμιμα όρια, ειδικά για τους εμπορεύσιμους οίνους και τους οίνους ποιότητας.

Η Ε.Ε. με τον κανονισμό 822/87 θέσπισε τα όρια της συνολικής περιεκτικότητας των οίνων σε θειώδη ανυδρίτη. Τη στιγμή που ο οίνος διατίθεται για ανθρώπινη κατανάλωση δεν μπορεί να υπερβαίνει τα 160 mg/L για τους ερυθρούς οίνους και τα 210 mg/L για τους λευκούς και ροζέ. Κατά παρέκκλιση από τα παραπάνω όρια, αν ο οίνος έχει περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα μεγαλύτερη από 5 g/L, οι ερυθροί οίνοι επιτρέπεται να έχουν ολικό θειώδη ανυδρίτη μέχρι 210 mg/L, ενώ οι λευκοί και ροζέ μέχρι 260 mg/L.



Προσδιορισμός του θειώδη ανυδρίτη

Ο προσδιορισμός του θειώδη ανυδρίτη βασίζεται στην οξειδοαναγωγική αντίδραση του διοξειδίου του θείου με το ιώδιο ως εξής:



Η οξείδωση γίνεται σε ισχυρά όξινο περιβάλλον, διαφορετικά το ιώδιο αντιδρά με πολυφαινόλες, σάκχαρα, αλδεΐδες και άλλους αναγωγικούς παράγοντες. Το τέλος της αντίδρασης ελέγχεται με την εμφάνιση μπλε χρώματος όταν η περίσσεια του ιωδίου δίνει χρώμα παρουσία αμύλου. Έτσι προσδιορίζεται ο ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης.

Μεταβάλλοντας το pH του οίνου σε ισχυρά αλκαλικό με προσθήκη ΚΟΗ αποδεσμεύουμε τον ανυδρίτη από τις ενώσεις του με την ακεταλδεΐδη επιτρέποντας τον προσδιορισμό και της δεσμευμένης μορφής. Το άθροισμα του ελεύθερου και του ενωμένου δίνει τον ολικό θειώδη ανυδρίτη.

Δράσεις του θειώδη ανυδρίτη

Αντιοξειδωτική δράση:

Τα οξειδωτικά φαινόμενα οφείλονται στο γεγονός ότι τόσο το γλεύκος όσο και ο οίνος, όταν έρθουν σε επαφή με τον αέρα, απορροφούν οξυγόνο που ενώνεται με ορισμένα συστατικά τους, τα οποία αποτελούν ευοξειδωτα υποστρώματα.

Τα οξειδωτικά φαινόμενα μπορεί να είναι χημικής ή ενζυματικής φύσεως. Εκδηλώνονται με αλλοίωση του χρώματος των οίνων – οι λευκοί κιτρινίζουν και στη συνέχεια καφετιάζουν, ενώ το χρώμα των ερυθρών οίνων αποκτά κεραμιδί απόχρωση – η οποία συνοδεύεται από μεταβολή της οσμής των οίνων λόγω σχηματισμού ακεταλδεΐδης και συσώρευσης αλδεϋδών και εστέρων.

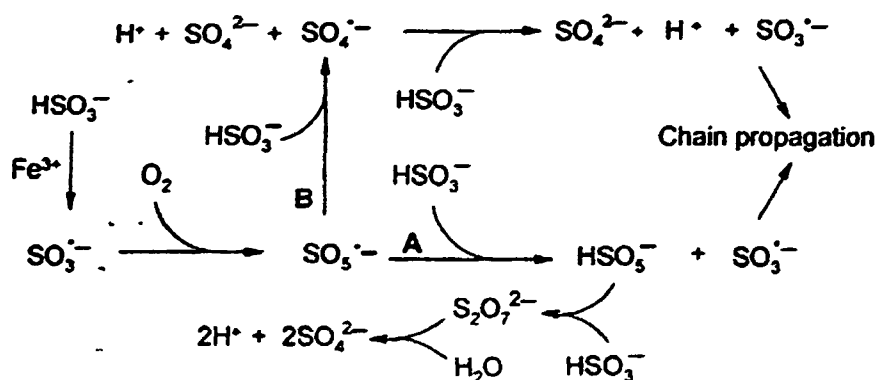
Ο θειώδης ανυδρίτης ασκεί άμεση και έμμεση αντιοξειδωτική προστασία. Άμεση γιατί οξειδώνεται εύκολα και χρησιμεύει ο ίδιος ως υπόστρωμα προφυλάσσοντας έτσι όλα τα ευοξειδωτα συστατικά. Έμμεση, γιατί ανενεργοποιεί τις οξειδάσες – κυρίως τη τυροσινάση – που καταλύουν τις ενζυματικής φύσεως οξειδώσεις.

Έρευνες επί των υδατικών διαλυμάτων του σε διάφορα pH απέδειξαν ότι η πιο δραστική μορφή είναι τα ιόντα του και μάλιστα τα ουδέτερα, τα οποία δεν απαντούν στα γλεύκη και τους οίνους.

Στις χημικής φύσεως οξειδώσεις οξειδώνεται η αιθυλική αλκοόλη προς ακεταλδεΐδη (ενδιάμεσο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης) ο σχηματισμός της οποίας έχει ως συνέπεια οι λευκοί οίνοι να χάνουν τη δροσερότητα και τη φρεσκάδα τους και να αποκτούν τον χαρακτήρα των «αερισμένων» οίνων (vins éventés).

Μια μελέτη που έγινε από τον (Danilewicz και συν., 2008), παρείχε αποδεικτικά στοιχεία ότι η αλληλεπίδραση του SO₂ με το οξυγόνο είναι αρκετά περίπλοκη (Εικόνα 13) και περιλαμβάνει μια αλυσιδωτή αντίδραση καταλυόμενη από μέταλλα. Οι κατεχόλες είναι γνωστό ότι εμποδίζουν αυτή την αντίδραση. Η ικανότητα παγίδευσης που έχει η κατεχόλη περιλαμβάνει την αντίδραση με την ενδιάμεση ρίζα υπεροξομονοθειικό (SO₅⁻) και έτσι αποτρέπει τον πολλαπλασιασμό της αλυσίδας των ριζών. Η άμεση αλληλεπίδραση του οξυγόνου και του όξινου θειώδους, συνεπώς θεωρείται απίθανο να συμβεί σε σημαντικό βαθμό στο κρασί, εξαιτίας της ικανότητας παγίδευσης που έχουν οι πολυφαινόλες (Danilewicz και συν., 2008).



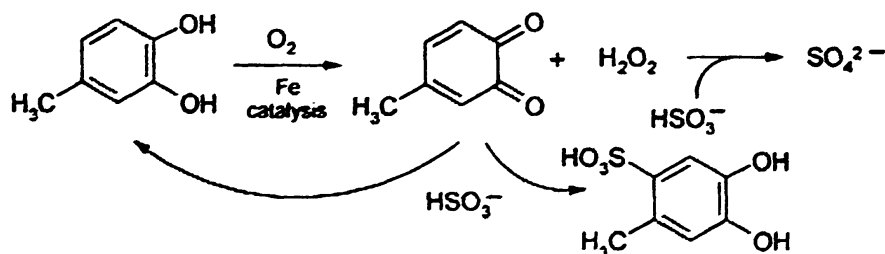


Εικόνα 13: Αλυσιδωτή αντίδραση ριζών που εμπλέκεται στην οξείδωση του όξινουθειώδους (Danilewicz και συν., 2008).

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του SO_2 , όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, είναι κυρίως λόγω της ικανότητάς του να αντιδρά με οξειδωτικά ή και κατά προτίμηση να οξειδώνεται σε σχέση με άλλες ενώσεις του κρασιού. Ένα από αυτά τα οξειδωτικά μπορεί να είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου, το οποίο είναι ένας πολύ ισχυρός και οξειδωτικός παράγοντας. Είναι ένα από τα προϊόντα από τη χημική οξείδωση της κατεχόλης (Εικόνα 14) (Wildenradt & Singleton, 1974) και ακόμη και του ασκορβικού οξέος. Σε περίπτωση απουσίας του SO_2 , θα συνεχίσει την οξείδωση άλλων ενώσεων του κρασιού. Το διθειώδες (HSO_3^-) είναι γνωστό ότι αντιδρά άμεσα και γρήγορα με το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Αυτή η επίδραση είναι περιορισμένη, δεδομένου ότι έχει αποδειχθεί, ότι ακόμη και με την παρουσία 177 mg/L διοξειδίου του θείου, σχηματίστηκε ακεταλδεΐδη (Wildenradt & Singleton, 1974).

Το διθειώδες είναι επίσης ικανό να αντιδρά με την ο-κινόνη. Οι μελέτες έχουν γίνει με 1,4 - βενζοκινόνη και έχει αποδειχθεί ότι το ήμισυ της ο-κινόνης ανάχθηκε στη 1,4 - βενζολοδιόλη (συνοδευόμενη από την οξείδωση του θειώδους σε θειικό άλας) και το υπόλοιπο ήμισυ υποβλήθηκε σε μια δεύτερη τύπου Micheal 1,4 προσθήκη δίνοντας σουλφονικό οξύ (Danilewicz και συν., 2008, Youngblood, 1986)

Αυτός ο μηχανισμός παρουσιάζεται στην (Εικόνα 14) και χρησιμοποιεί την κατεχόλη ως παράδειγμα:



Εικόνα 14: Η αλληλεπίδραση του όξινου θειώδους με το υπεροξείδιο του υδρογόνου και την ο-κινόνη μετά την οξείδωση της κατεχόλης (Wildenradt & Singleton, 1974, Danilewicz και συν., 2008).

Το διοξείδιο του θείου αντιδρά έτσι με την ο-κινόνη και με το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Στο κρασί τα πυρηνόφιλα (όπως οι πολυφαινόλες και οι θειώδες) υπάρχουν και μπορούν να ανταγωνιστούν με τα όξινα θειώδη για τις ο-κινόνες. Είναι επομένως



σημαντικά για την αναγωγή της ο-κινόνης στην φαινόλη. Η αντίδραση του SO₂ με τη σχηματισμένη ο-κινόνη είναι ταχεία. Η αντίδραση αυτή έχει δείχθει ότι είναι πιο γρήγορη με το καφεϊκό οξύ, σε σύγκριση με τα φλαβανοειδή (+)-κατεχίνη και την κερκετίνη (Danilewicz και συν., 2008, Makhotkina & Kilmartin, 2009)

Όπως είδαμε παραπάνω όταν θειώνουμε έναν ξηρό οίνο, μέρος του θειώδη ανυδρίτη που προστίθεται παραμένει ελεύθερο, ενώ ένα άλλο μέρος δεσμεύεται από τα συστατικά του οίνου. Η ισορροπία μεταξύ ελεύθερου και ενωμένου θειώδους αποκαθίσταται σε 3-5 μέρες ανάλογα με τη θερμοκρασία. Μετά την επίτευξη της ισορροπίας - και δεδομένου ότι πρόκειται για ξηρό οίνο - τα συστατικά του δεν δεσμεύουν άλλη ποσότητα θειώδη ανυδρίτη.

Παρά ταύτα, η συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδους συνεχώς μειώνεται κατά τη διάρκεια της συντήρησης και της παλαίωσης του σε δεξαμενές και βαρέλια. Ακόμη και σε εμφιαλωμένους οίνους επέρχεται μείωση του ελεύθερου θειώδους, όταν παραμένει εμφιαλωμένο για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η μείωση αυτή δεν οφείλεται σε δέσμευση του ελεύθερου θειώδους - όπως μπορεί να συμβεί σε οίνους που περιέχουν σάκχαρα - αλλά σε οξειδωσή του από το οξυγόνο του αέρα, περισσότερο ή λιγότερο βραδεία, ανάλογα με τις συνθήκες αποθήκευσης του οίνου και την περιεκτικότητα σε ελεύθερα μεταλλικά ιόντα.

Όμως η θετική αυτή δράση έχει άλλης φύσεως αρνητικές επιπτώσεις, όταν δεν λαμβάνονται μέτρα περιορισμού στο ελάχιστο της διάλυσης οξυγόνου στους οίνους. Γιατί ο θειώδης ανυδρίτης οξειδώνεται προς θειικά ανιόντα, με συνέπεια την αύξηση θεικών αλάτων στους οίνους και τη μείωση του pH, δεδομένου ότι η οξειδωση αυτή ισοδυναμεί με έμμεση προσθήκη θεικού οξέος στους οίνους. Η συσσώρευση θεικών αλάτων και η μείωση του pH έχει σημαντική επίπτωση στην πράξη. Είναι ένας από τους λόγους που μειώνεται η ποιότητα των οίνων που διατηρούνται για πολύ καιρό στα βαρέλια και «αποξηραίνονται». Οι λευκοί οίνοι χάνουν τη φρεσκάδα, την μαλακότητα και τη λιπαρότητα τους, ενώ οι ερυθροί οίνοι χαρακτηρίζονται κατά την οργανοληπτική δοκιμασία γυμνοί, σκληροί και κλειστοί στην επίγευση.

Από τα παραπάνω φαίνεται πως είτε ένας οίνος είναι καλά προστατευμένος είτε ανεπαρκώς με θειώδες κινδυνεύει πάντα από τον μεγάλο του εχθρό, το οξυγόνο, αφού στη μία περίπτωση αυτό οξειδώνει τον ίδιο τον οίνο και στη δεύτερη τον θειώδη ανυδρίτη. Η λύση είναι μία: αποφυγή επαφής του αέρα με το κρασί, ώστε να μην είναι ανάγκη να γίνονται επανειλημμένες θειώσεις. Σε αυτό αποσκοπεί ο περιορισμός των μεταγγίσεων, η παραμονή των οίνων σε μεταλλικές δεξαμενές γεμάτες και ερμητικά κλειστές, χρήση αδρανών αερίων και άλλα σχετικά μέτρα.

Αντιμικροβιακή:

Αποτελεί μία από τις σημαντικότερες δράσεις του θειώδους ανυδρίτη. Δεν είναι συνάρτηση της ολικής ποσότητας που προστίθεται αλλά του μοριακού SO₂ που είναι πολύ πιο δραστικός έναντι των διαφόρων μικροοργανισμών σε σύγκριση με τα ιόντα του ελεύθερου θειώδους (HSO₃⁻). Τα διάφορα γένη, είδη και στελέχη ζυμών αντιδρούν διαφορετικά στην παρουσία του. Πιο ευαίσθητα είναι τα είδη των 'άγριων' ζυμών και γενικά τα αναερόβια είδη, ενώ μεγαλύτερη αντοχή παρουσιάζουν τα διάφορα είδη *Saccharomyces*. Πολύ πιο ευαίσθητα από τις ζύμες είναι τα βακτήρια και μάλιστα τα οξικά (αερόβια). Για να ανασταλεί η δράση των ανεπιθύμητων αερόβιων μικροοργανισμών (άγριες ζύμες και οξικά βακτήρια) πρέπει να υπάρχει στο γλεύκος



μοριακός SO_2 0.54-0.90 mg/L ανάλογα με το pH του γλεύκους. Υποβαθμισμένης ποιότητας σταφύλια απαιτούν πιο ισχυρές θειώσεις.

Διαλυτική: Διευκολύνει την εκχύλιση χρωστικών, διαφόρων φαινολικών, αρωματικών συστατικών κ.ά.

Οξίνη: Αυξάνει την οξύτητα

Διαυγαστική: Έχει άμεση (παρουσία του καθιζάνουν ορισμένα κολλοειδή) και έμμεση διαυγαστική δράση (καθυστερεί την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης και δίνει χρόνο για απολάσπωση του γλεύκους).

3.11.2 Ασκορβικό οξύ

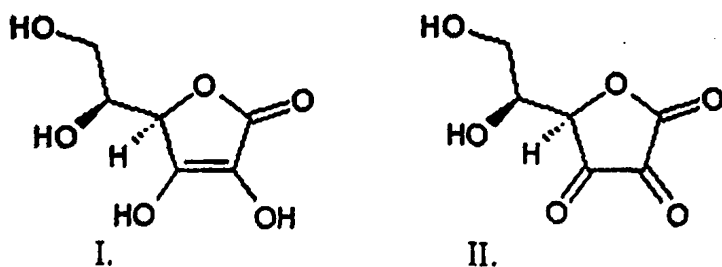
Η χημική δομή του L-ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C) έγινε γνωστή από τις εργασίες του King και Waugh το 1932.

Η αναγωγική μορφή της βιταμίνης C, δηλαδή το L-ασκορβικό οξύ, είναι ένα σακχαρικό οξύ και κατατάσσεται στα μονοσάκχαρα. Πολλά ζώα έχουν την ικανότητα να βιοσυνθέτουν τη βιταμίνη C, όμως ο άνθρωπος, τα ινδικά χοιρίδια και ο πίθηκος δεν μπορούν να τη βιοσυνθέσουν, επειδή τους λείπει το ένζυμο οξειδάση της γουλονολακτόνης, που καταλύει την τελευταία αντίδραση της βιοσύνθεσης του ασκορβικού οξέος από γλυκόζη. Για το λόγο αυτό είναι αναγκαίο να τη προσλαμβάνουν με τη τροφή.

Πλήρης έλλειψη ή χαμηλά επίπεδα βιταμίνης C στην τροφή του ανθρώπου δημιουργούν την πάθηση σκορβούτο. Οι συνηθισμένες απαιτήσεις πρόσληψης ασκορβικού οξέος που δίνονται από την Food and Nutrition Board of the National Academy of Sciences (1989), είναι 60 mg/ημέρα. Σε ειδικές όμως περιπτώσεις τα επίπεδα είναι αυξημένα. Έτσι στην εγκυμοσύνη των γυναικών είναι 70 mg/ημέρα, στη γαλουχία 95 mg/ημέρα και στους καπνιστές 100 mg/ημέρα.

Το ασκορβικό οξύ είναι ένα ασθενές οξύ με pK 4,2. Οξειδώνεται αντιστρεπτά και σχηματίζει με απώλεια ενός ηλεκτρονίου την ελεύθερη ρίζα ημιδεϋδροασκορβικό οξύ και στη συνέχεια το δεϋδροασκορβικό οξύ. Η ενδιάμεση ρίζα είναι σχετικά σταθερή και δεν αντιδρά με το οξυγόνο. Το δεϋδροασκορβικό οξύ μπορεί να αναχθεί σε ασκορβικό οξύ. Ο δακτύλιος του δεϋδροασκορβικού οξέος μπορεί να υδρολυθεί μη αντιστρεπτά, να παράγει το δικετογουλονικό οξύ και αυτό στη συνέχεια να διασπαστεί και να σχηματίσει διάφορα προϊόντα (Lewin, 1976). Με τη υδρολυτική αυτή διάσπαση καταστρέφεται η δράση του ως βιταμίνη.





Εικόνα 15: I) L-ασκορβικό οξύ (ανηγμένη μορφή), II) Δεϋδροασκορβικό οξύ (οξειδωμένη μορφή).

Το ασκορβικό οξύ είναι ίσως η πιο γνωστή εναλλακτική λύση για τα θειώδη κάτι το οποίο οφείλεται σε φυσικές ιδιότητες και φυσική εμφάνιση στα περισσότερα φρούτα και λαχανικά. Κατά συνέπεια το ασκορβικό οξύ και το διαστερεοϊσομερές του, ερυθροβικό οξύ, εγκρίθηκαν από την κυβέρνηση των ΗΠΑ το 1956 και το 1958 (Zoecklein, 1995b) για χρήση τόσο στο κρασί όσο και στην παραγωγή χυμού φρούτων. Στην Αυστραλία δεν υπάρχει περιορισμός σχετικά με τη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος που θα προστεθεί στο κρασί, αν και ορισμένες χώρες έχουν ορίσει ένα ανώτατο όριο στη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος στον τελικό οίνο, π.χ. 250 mg/L στην Ευρώπη. Λόγω των περιορισμένων αντιμικροβιακών ιδιοτήτων του ασκορβικού οξέος σε σύγκριση με εκείνων του διοξειδίου του θείου, προτάθηκε ότι το ασκορβικό οξύ πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο σε συνδυασμό με το διοξείδιο του θείου και όχι ως αντικατάσταση (Ribéreau-Gayon, 2000).

Στα σταφύλια η φυσική περιεκτικότητα του ασκορβικού οξέος είναι σχετικά χαμηλή σε σύγκριση με άλλα φρούτα, όπως για παράδειγμα στα πορτοκάλια που κυμαίνεται από 5 έως 150 mg/kg φρούτων (Zoecklein, 1995b) ή 10 έως 100 mg/L του χυμού (Rankine & Amerine, 2004). Η οξείδωση του ασκορβικού οξέος οφείλεται σε ενζυματική οξείδωση και πραγματοποιείται κατά τη σύνθλιψη των ραγών του σταφυλιού. Ωστόσο, η τακτική προσθήκη στο χυμό ή στο κρασί κατά την επεξεργασία και πριν από την εμφιάλωση παρέχουν επαρκή διαθεσιμότητα αυτού (50-100 mg/L) (Rankine & Amerine, 2004, Boulton και συν., 1998, Ribéreau-Gayon, 2000, Zoecklein, 1995b).

Το ασκορβικό οξύ είναι μια πιο ταχεία και αποτελεσματική παγίδευση οξυγόνου από το διοξείδιο του θείου, κατά προτίμηση αντιδρά με το οξυγόνο και κατά συνέπεια επιτρέπει την προστασία άλλων ευαίσθητων συστατικών του κρασιού που έχουν την τάση να οξειδωθούν, συμπεριλαμβανομένων των φαινολικών και των ενώσεων που προσδίδουν άρωμα από την οξείδωση (Danilewicz, 2003, Kilmartin και συν., 2001). Επίσης έχει την ικανότητα να δρα ως αναγωγικό μέσο και να μειώσει ορισμένες ενώσεις στο κρασί που μπορεί να έχουν υποστεί οξείδωση. Από την άλλη πλευρά, ένας άλλος λόγος για τον οποίο το ασκορβικό οξύ δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο του αλλά σε συνδυασμό με το διοξείδιο του θείου, είναι η παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου, το οποίο μπορεί να διασπαστεί στις ισχυρές οξειδωτικές ρίζες υδροξυλίου που οδηγούν σε καταστροφικές αλυσιδωτές αντιδράσεις ελευθέρων ριζών. Ωστόσο, υπό την παρουσία του διοξειδίου του θείου το υπεροξείδιο του υδρογόνου παγιδεύεται και σχηματίζεται θειικό οξύ. Επιπλέον σε αντίθεση με το διοξείδιο του θείου, το ασκορβικό οξύ δεν αντιδρά με την ακεταλδεϋδη, μια ένωση η οποία επηρεάζει σημαντικά τις οργανοληπτικές ιδιότητες του κρασιού (Liu & Pilone, 2000).



Τα οφέλη από τη χρήση του ασκορβικού οξέος και του διοξειδίου του θείου σε συνδυασμό έχουν περιγραφεί από πολλούς (Zoecklein, 1995b, Rankine & Amerine, 2004). Τα πλεονεκτήματα περιλαμβάνουν ευνοϊκά αισθητικά αποτελέσματα για τους οίνους, συμπεριλαμβανομένου του βελτιωμένου αρώματος και της γεύσης του οίνου και τη δυνατότητα της μείωσης των επιπέδων του διοξειδίου του θείου που χρησιμοποιούνται στο κρασί. Ωστόσο έρευνες που πραγματοποιήθηκαν αργότερα έδειξαν ότι αυτά τα πλεονεκτήματα δεν ήταν πάντα προφανή και ότι, στην πραγματικότητα, η χρήση του ασκορβικού οξέος οδήγησε σε οίνους κατώτερης ποιότητας σε σύγκριση με εκείνους χωρίς το αντιοξειδωτικό. Άλλες μελέτες ανέφεραν έναν διπλό αντιοξειδωτικό – προ-οξειδωτικό χαρακτήρα του ασκορβικού οξέος. Οι (Buettner & Jurkiewicz, 1996) χρησιμοποίησαν τη φράση «φαινόμενο crossover» για να περιγράψουν τη μετάβαση της συμπεριφοράς του ασκορβικού οξέος ως αντιοξειδωτικό σε υψηλές συγκεντρώσεις σε ένα προ-οξειδωτικό σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Πρότειναν ότι σε υψηλές συγκεντρώσεις το ασκορβικό οξύ μπορεί να παγιδεύσει αποτελεσματικά το οξυγόνο, καθώς και βασικά είδη, ενώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις συνέβαλε στην εξάπλωση των ριζών και όχι στην αναστολή τους. Οι ερευνητές (Yen και συν., 2002) και (Bradshaw και συν., 2001) παρατήρησαν επίσης αυτή τη συμπεριφορά του ασκορβικού οξέος.

Ωστόσο, παρά τα στοιχεία όσον αφορά τις αρνητικές πτυχές της χρήσης του ασκορβικού οξέος, μια πρόσφατη μελέτη που διερεύνησε τις επιδράσεις του ασκορβικού οξέος κατά τη διάρκεια της γήρανσης του εμφιαλωμένου Chardonnay και των κρασιών Riesling έδειξε ευνοϊκές πτυχές για την προσθήκη ασκορβικού οξέος, συμπεριλαμβανομένου του βελτιωμένου χρώματος και τη διατήρηση της γεύσης (Skouroumounis και συν., 2005).

3.11.3 Θειόλες-γλουταθειόνη

Οι θειόλες μπορούν γενικά να επηρεάσουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες του γλεύκους και του οίνου και η συγκέντρωσή τους μπορεί να επηρεαστεί τόσο από τις συνθήκες της οινοποίησης όσο και από τις συνθήκες αποθήκευσης του οίνου.

Οι θειόλες στο γλεύκος και στον οίνο αντιπροσωπεύονται από την ανηγμένη γλουταθειόνη, η οποία μπορεί να συσχετιστεί με το σταφύλι, με τις προζυμωτικές επεξεργασίες και με το μεταβολισμό της ζύμης. Σχετίζεται με πολλές δραστηριότητες στο γλεύκος και στον οίνο, όπως η προστασία έναντι στην οξείδωση καθώς και το περιεχόμενο σε αρωματικά συστατικά.

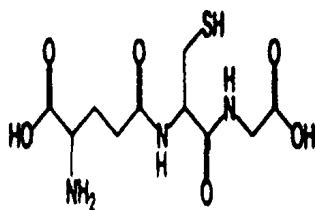
Χαμηλές συγκεντρώσεις κυστεΐνης και μεθειονίνης καθώς και αμινοξέων που περιέχουν θείο ανιχνεύτηκαν επίσης.

Η γλουταθειόνη (Εικόνα 16) είναι ένα θειούχο τριπεπτίδιο που περιέχει (γλυκίνη-κυστεΐνη-γλουταμικό οξύ) με ένα πυρηνόφιλο κέντρο και είναι πολύ σημαντικό στις αλληλεπιδράσεις των βιολογικών συστημάτων με το περιβάλλον τους λόγω των ενεργειών της αποτοξίνωσης. Προστατεύει τους οργανισμούς από την τοξικότητα και τις ασθένειες που συνδέονται με το οξειδωτικό στρες. Αυτή η ένωση ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στα σταφύλια το 1989 (Cheynier και συν., 1989). Η γλουταθειόνη έχει ήδη αποδείξει σημαντικούς ρόλους στον περιορισμό των επιπτώσεων της οξείδωσης στο κρασί μέσω της αντίδρασης με πολυφαινόλες ο-κινόνες (Cheynier και συν., 1993, Makhotkina & Kilmartin, 2009). Η γλουταθειόνη συντίθεται ενζυματικά στο σταφύλι από τη συνθετάση της γλουταθειόνης. Κατά τη διάρκεια ωρίμανσης υπάρχει μια

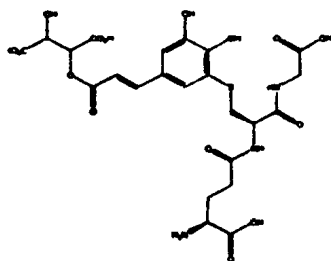


δραματική αύξηση της συγκέντρωσης της γλουταθειόνης κατά τη διάρκεια της ταχείας ανάπτυξης του σταφυλίου. Στη ράγα η ανηγμένη μορφή της γλουταθειόνης είναι η πιο άφθονη ελεύθερη ένωσηθειώλης κατά τη συγκομιδή.

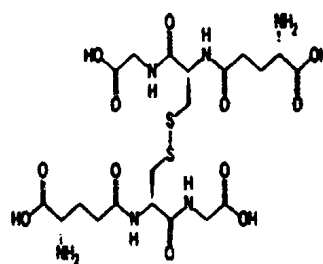
Η γλουταθειόνη, με το πλούσιο σε ηλεκτρόνια πυρηνόφιλο μέρκαπτο κέντρο μπορεί αυθόρμητα να προστεθεί μέσω της προσθήκης Michael στο ηλεκτρονιόφιλο κέντρο της ο-κινόνης που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης. Το προϊόν είναι ένας θειοαιθέρας, 2-S-γλουταθειόνυλο καφταρικό οξύ ή αλλιώς ένα προϊόν (GRP) (Εικόνα 17). Αυτό οδηγεί στην αναγέννηση του διυδροξυ δακτυλίου της γειτονικής φαινόλης (Singleton και συν., 1985). Η ο-κινόνη που αντιδρά πιο εύκολα με τη γλουταθειόνη είναι εκείνη του εστέρα του τρυγικού οξέος (trans-καφταρικό οξύ), ενώ άλλες φαινόλες όπως (+)-κατεχίνη ή η κερκετίνη είναι επίσης σε θέση να σχηματίσουν παράγωγα γλουταθειόνης. Η δραστηριότητα κρεσολάσης της πολυφαινολοξειδάσης (PPO) μετατρέπει τον εστέρα του τρυγικού οξέος (κουταρικό οξύ) προς trans-καφταρικό οξύ και στη συνέχεια αυτό οξειδώνεται περαιτέρω και μπορεί έτσι να οδηγήσει σε GRP παρουσία γλουταθειόνης (Singleton και συν., 1985).



Εικόνα 16: Γλουταθειόνη



Εικόνα 17: GRP

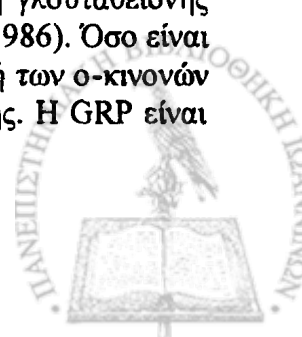


Εικόνα 18:
δισουλφίδιο που
σχηματίζεται λόγω της
οξείδωσης της
γλουταθειόνης

Το GRP είναι άχρωμο και εμποδίζει την αμαύρωση του γλεύκους με την παγίδευση του εστέρα του τρυγικού οξέος trans-καφταρικό οξύ. Η προσθήκη της γλουταθειόνης στις ο-κινόνες είναι προστατευτική για τα λευκά γλεύκη με την εξάντληση των υποστρωμάτων αμαύρωσης του γλεύκους, ανάγοντας την ο-κινόνη στη φαινόλη και με αντικατάσταση της ο-κινόνης προς αναγέννηση της μορφής υδροκινόνης της GRP (Bassil και συν., 2005).

Το GRP δεν είναι πλέον ένα υπόστρωμα για το ένζυμο πολυφαινολοξειδάση (PPO), αλλά μπορεί περαιτέρω να οξειδώνεται με λακκάση.

Η λακκάση οξειδώνει το GRP και δίδει την αντίστοιχη ο-κινόνη η οποία, με τη σειρά της, μπορεί να προχωρήσει σε καφέ πολυμερή και, επίσης, να οδηγήσει σε 2,5-δι-S-γλουταθειόνυλο καφταρικό οξύ (GRP2) με μια περαιτέρω προσθήκη γλουταθειόνης (Singleton και συν., 1985) (Salgues και συν., 1986, Cheynier και συν., 1986). Όσο είναι η γλουταθειόνη διαθέσιμη, ο σχηματισμός GRP εμποδίζει τη συμμετοχή των ο-κινονών σε συζευγμένες αντιδράσεις που οδηγούν σε σχηματισμό της χρωστικής. Η GRP είναι



ευαίσθητη στην υδρόλυση και μπορεί να σχηματίσει προϊόντα υδρόλυσης κατά τη γήρανση (Cheynier και συν., 1986). Η γλουταθειόνη μπορεί από μόνη της να οξειδωθεί για να σχηματιστεί το δισουλφίδιο (Εικόνα 18) και η αντίδραση αυτή θα μπορούσε ενδεχομένως να συνδυαστεί με τη μείωση ο-κινόνης σε μια ομάδα κατεχόλης.

Άλλες σουλφυδρύλο ενώσεις, όπως η κυστεΐνη και ακόμη και το υδρόθειο, μπορούν επίσης να λειτουργήσουν ως αντιοξειδωτικά και αντιδρούν με τις ο-κινόνες σχηματίζοντας θειο-αιθέρες και αναξωογονούν άχρωμες ο-διυδροξυφαινόλες (Singleton, 1987). Ωστόσο, οι συγκεντρώσεις των ενώσεων αυτών στο γλεύκος και στον οίνο είναι συνήθως πολύ χαμηλές και η δράση τους είναι αμελητέα.

Η αντίδραση της γλουταθειόνης με την ο-κινόνη εμφανίζεται σε μια αναλογία 1:5.1. Φαίνεται ότι η γλουταθειόνη πρέπει να είναι παρούσα σε αυτή ή σε μεγαλύτερη αναλογία στη σύνθλιψη για την πλήρη προστασία του γλεύκους (Singleton και συν., 1985).

Η γλουταθειόνη στο ποσοστό του καφεϊκού οξέος μπορεί να χρησιμεύσει ως μια καλή ένδειξη της ικανότητας οξείδωσης ενός μέσου. Για τα μούρα και τα γλεύκη, η αναλογία αυτή μπορεί να κυμαίνεται από 1,3 έως 12,7 και από 0,6 έως 10,5, αντίστοιχα, με τη χαμηλότερη αναλογία να δείχνει μεγαλύτερη ευαισθησία προς την αμαύρωση. Λόγω της ευαισθησίας της γλουταθειόνης στην οξείδωση έχει προταθεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της οξείδωσης (Kritzinger και συν., 2012).

Οι ερευνητές (du Toit και συν., 2007) εξέτασαν την επίδραση που έχουν οι αναγωγικές και οξειδωτικές επεξεργασίες στη συγκέντρωση του γλουταθειόνης σε λευκό χυμό σταφυλιού και διαπίστωσαν ότι οι αναγωγικές επεξεργασίες επέφεραν τα υψηλότερα ποσά γλουταθειόνης. Οι επεξεργασίες ελέγχου που έχουν εκτεθεί σε περίπου 1,0-1,5 mg/L οξυγόνου οδήγησαν σε σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων της γλουταθειόνης, ακόμη και υπό την παρουσία 60 mg/L SO₂. Οι συγκεντρώσεις της γλουταθειόνης μειώνονται δραστικά σε οξειδωτικές διεργασίες.

Κατά τη διάρκεια της σύνθλιψης η συγκέντρωση της γλουταθειόνης μειώνεται γρήγορα λόγω της οξειδοαναγωγής και των ενζυματικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα (ADAMS & LIYANAGE, 1993). Κατά τη διάρκεια της συμπίεσης, οι συγκεντρώσεις της γλουταθειόνης βρέθηκαν να είναι υψηλές στην ελεύθερη κίνηση του χυμού, αλλά η συγκέντρωση μειώθηκε στα κλάσματα υψηλότερης πίεσης με μια αύξηση του προϊόντος (GRP) (Patel και συν., 2010).

Οι συγκεντρώσεις της γλουταθειόνης συνήθως μειώνονται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Καθώς μικρό ποσοστό οξείδωσης μπορεί να πραγματοποιηθεί σε αυτό το χρονικό διάστημα, αυτό αποτελεί ένδειξη ότι η μαγιά διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό της γλουταθειόνης (du Toit και συν., 2007). Τα στελέχη ζύμης, η αρχική συγκέντρωση της γλουταθειόνης και οι συνθέσεις του μούστου, είναι όλοι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την εξέλιξη της γλουταθειόνης κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.



3.12 Τα αντιοξειδωτικά στον οίνο και ο ρόλος τους στη διατροφή του ανθρώπου

Ο οίνος και μάλιστα ο ερυθρός έχει θετικές επιδράσεις στην υγεία μας προσφέροντας καρδιαγγειακή προστασία, πρόληψη γαστρεντερικών λοιμώξεων, περιορισμό του επιταχυνόμενου γήρατος καθώς και εμπλουτισμό του οργανισμού μας με K, Mg, Ca, Fe εφόσον βέβαια χρησιμοποιείται με μέτρο (2-4 ποτήρια την ημέρα).

Η ευεργετική δράση του οίνου οφείλεται στην αλκοόλη και στα αντιοξειδωτικά συστατικά του κυρίως στις φαινολικές ενώσεις.

Η αλκοόλη βοηθάει αφενός μεν στην αύξηση της περιεκτικότητας της «καλής χοληστερόλης» (HDL, HDL2 & HDL3), η οποία μειώνει τον κίνδυνο καρδιακών παθήσεων ευνοώντας την απομάκρυνση της χοληστερόλης από τις αρτηρίες και στη συνέχεια από το σώμα, αφετέρου δε στη μείωση της «κακής χοληστερόλης» (LDL), η οποία είναι η πιο επικίνδυνη γιατί κυκλοφορεί στο ρέον αίμα και προσκολλάται στα τοιχώματα των αγγείων και οδηγεί στην απόφραξή τους. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παίζουν ένα ρόλο κλειδί στην παθογένεια των καρδιαγγειακών ισχαιμικών επεισοδίων. Οι ελεύθερες ρίζες O_2 είναι ασταθείς χημικά και αποτελούν κίνδυνο για την ακεραιότητα των κυττάρων. Ένα από τα συστήματα άμυνας κατά των ελευθέρων ριζών είναι μόρια με αντιοξειδωτικές ιδιότητες, ενεργά σε λιποδιαλυτό περιβάλλον, όπως η βιταμίνη E. Ανάλογη με τη βιταμίνη E είναι η συμπεριφορά των φαινολικών ενώσεων του οίνου.

Η ρεσβερατρόλη, η κερκετίνη, η επικατεχίνη και άλλες φαινολικές ενώσεις διαθέτουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Η κερκετίνη και η επικατεχίνη είναι 2 φορές πιο ισχυρές από τη ρεσβερατρόλη, ενώ και οι τρεις αυτές φαινολικές ενώσεις είναι πιο αποτελεσματικές από τη βιταμίνη E στην προστασία της LDL χοληστερόλης από την οξείδωση.

Ο συνδυασμός (η συνύπαρξη) των φαινολικών ενώσεων στον οίνο μπορεί να προκαλέσει την προστασία κατά της αθηροσκλήρωσης, σε περιπτώσεις μακράς περιόδου κατανάλωσης. Οι φαινολικές ενώσεις περιέχονται στους οίνους σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από ότι στα φρούτα και στους χυμούς τους και απορροφώνται ικανοποιητικά από τον οργανισμό.

Τα αποτελέσματα τεκμηριωμένων ερευνών έδειξαν ότι τα καρδιοπροστατευτικά οφέλη που προκύπτουν από τη χρήση του κόκκινου κρασιού οφείλονται στις πολυφαινόλες που περιέχει και ιδιαίτερα στη ρεσβερατρόλη, που υπάρχει στις φλούδες των κόκκινων σταφυλιών (Wu & Hsieh, 2011). Η ρεσβερατρόλη είναι μέλος της οικογένειας των πολυφαινολών, που ονομάζονται βινιφερίνες και αποτελεί συστατικό της φλούδας των κόκκινων σταφυλιών. Επειδή ο μούστος των κόκκινων σταφυλιών αφήνεται να ζυμωθεί περισσότερες ώρες μαζί με τις φλούδες των σταφυλιών, σε σύγκριση με το μούστο των λευκών σταφυλιών, το κόκκινο κρασί περιέχει περισσότερη ρεσβερατρόλη. Η ρεσβερατρόλη, προερχόμενη από το φλοιό των ραγών, περιέχεται στον ερυθρό οίνο σε συγκεντρώσεις που μπορεί να είναι υψηλές (Udenigwe και συν., 2008). Η έρευνα έδειξε ότι, παρά το γεγονός ότι οι Γάλλοι καταναλώνουν πολλά κεκορεσμένα λιπαρά με τη διαίτά τους, εν τούτοις δεν εμφανίζουν τόσο μεγάλη συχνότητα καρδιαγγειακών παθήσεων. Το γεγονός αυτό ονομάστηκε Γαλλικό Παράδοξο και έχει αποδοθεί στα αντιλιπιδαιμικά αποτελέσματα της μέτριας κατανάλωσης κόκκινου κρασιού.



ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της έρευνας στα πλαίσια της μεταπτυχιακής διατριβής είναι η αποτίμηση της τάσης των λευκών οίνων προς καστάνωση (οξείδωση). Η προσπάθεια για πρόγνωση της μελλοντικής οξείδωσης έγινε με επιτάχυνση της οξείδωσης με χρήση αντίδρασης που λαμβάνει χώρα κατά την οξείδωση των οίνων, σύμφωνα με τις σύγχρονες αντιλήψεις. Συγκεκριμένα με προσθήκη δισθενούς σιδήρου και υπεροξειδίου του υδρογόνου έγινε επιτάχυνση της οξείδωσης δύο λευκών οίνων. Η επιτάχυνση έγινε και σε θερμοκρασία 45°C, με σκοπό τη μείωση του χρόνου καστάνωσης σε περιοχή θερμοκρασίας που ήδη χρησιμοποιείται σε δοκιμή για αποτίμηση της τάσης λευκών οίνων προς καστάνωση.



ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

A. Υλικά

1. Δείγματα οίνου

Οι οίνοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι εξής:

- Λευκός οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά, σοδειάς 2011. Αλκοόλη: 12,8 % vol, ολική οξύτητα: 5,4 g/L ως τρυγικό οξύ, πτητική οξύτητα: 0,37 g/L ως οξικό οξύ. Στον οίνο είχε προστεθείθειθειώδης ανυδρίτης στην πορεία οινοποίησης. Επίσης, είχε προστεθεί ασκορβικό οξύ 80 mg/L κατά την εμφιάλωση.
- Λευκός οίνος Ντεμπίνα, σοδειάς 2011. Αλκοόλη: 12,1 % vol, ολική οξύτητα 6,8 g/L ως τρυγικό οξύ, πτητική οξύτητα: 0,3 g/L ως οξικό οξύ. Στον οίνο είχε προστεθείθειθειώδης ανυδρίτης στην πορεία οινοποίησης. Επίσης, είχε προστεθεί ασκορβικό οξύ 80 mg/L κατά την εμφιάλωση.

2. Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια Folin – Ciocalteu, καφεϊκό οξύ, κερκετίνη, γαλλικό οξύ, γλουταθειόνη και κατεχίνη ήταν από την Sigma Chemicals (St. Louis, USA).

Τα αντιδραστήρια DTNB (5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoic acid)), ασκορβικό οξύ ήταν από την Sigma – Aldrich (Steinheim, Germany).

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

Η αιθανόλη καθαρότητας $\geq 99,8\%$, το όξινο φωσφορικό κάλιο και το άμυλο ήταν από την Riedel – de Haen (Seelze, Germany).

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

Τα αντιδραστήρια $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, H_2O_2 30 %, ανθρακικό νάτριο, υδροχλωρικό οξύ 37% και η αμπούλα ιωδίου ήταν από την Merck (Darmstadt, Germany).

Η μεθανόλη καθαρότητας $\geq 99,8\%$ ήταν από την LAB-SCAN (Dublin, Ireland).

Τοθειικό οξύ καθαρότητας $\geq 96\%$ ήταν από την FERAK (Berlin, Germany).

Το καυστικό κάλιο και το καυστικό νάτριο ήταν από την Mallinckrodt Chemical Works (St. Louis, USA).

Η μαλβιδίνη ήταν από την Polyphenols AS (Sandnes, NORWAY).

3. Όργανα

3.1 Φασματοφωτόμετρο

Όλες οι μετρήσεις απορρόφησης πραγματοποιήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων, JENWAY 6505 UV/Vis, χρησιμοποιώντας κυψελίδες είτε υάλου, είτε χαλαζία του 1 cm και του 0,1 cm.

3.2 Φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer Lambda 35 UV/Vis Spectrometer για τη λήψη φασμάτων στην ορατή και στην υπεριώδη ακτινοβολία χρησιμοποιώντας κυψελίδες χαλαζία του 1 cm.



3.3 Πεχάμετρο

Οι ρυθμίσεις του pH έγιναν σε πεχάμετρο, MULTI-PARAMKAIER ANALYZER CONSORT C831, ακρίβειας δύο δεκαδικών ψηφίων.

3.4 Ζυγός

Οι ζυγίσεις έγιναν σε ηλεκτρονικό ζυγό, KERN 770, ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων.

B. Πειραματική πορεία

1. Μελέτη της οξείδωσης στους 18°C.

Οι οίνοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν λευκός οίνος Ντεμπίνα και λευκός οίνος Μοσχάτο Ροδίτη-Μαλαγουζιά. Τα δείγματα που μελετήθηκαν ήταν ο μάρτυρας (control), δείγμα με τελική συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,025mM και H_2O_2 0,1575mM καθώς επίσης και δείγμα με τελική συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,10mM και H_2O_2 0,63mM.

Για το δείγμα του μάρτυρα (control), σε ογκομετρικό κύλινδρο των 1000ml μεταφέρθηκαν 740ml οίνου από γυάλινη φιάλη οίνου χωρητικότητας 750 ml. Ακολούθησε τοποθέτηση 3ml σε γυάλινη κυψελίδα του 1cm και μέτρηση της απορρόφησης στα 420nm. Για το μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο ύδωρ.

Για το δείγμα με τελική συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,025mM και H_2O_2 0,1575mM όπως επίσης και για το δείγμα με τελική συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,10mM και H_2O_2 0,63mM η διαδικασία έγινε ως εξής: Σε ογκομετρικό κύλινδρο των 1000ml μεταφέρθηκαν 740ml οίνου. Αφαιρέθηκαν 3,7ml οίνου με σιφώνιο των 5 ml και προστέθηκαν 0,0037gr $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ για το πρώτο και 0,0148gr $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ για το δεύτερο δείγμα. Ακολούθησε προσθήκη 3,7ml από ένα διάλυμα 5ml οίνος+16,5μl H_2O_2 ($\text{C}_{\text{H}_2\text{O}_2} = 9,79\text{M}$) για το πρώτο δείγμα και 5ml οίνος+66μl H_2O_2 ($\text{C}_{\text{H}_2\text{O}_2} = 9,79\text{M}$) για το δεύτερο δείγμα. Το διάλυμα αναδεύτηκε με γυάλινη ράβδο. Ακολούθησε τοποθέτηση 3ml σε γυάλινη κυψελίδα του 1 cm και μέτρηση της απορρόφησης στα 420nm.

Για τα τρία αυτά δείγματα, από τα υπολειπόμενα 737ml κάθε φορά, τα 137ml κλείστηκαν με άζωτο σε γυάλινα φιαλίδια χωρητικότητας 7, 30, 60 ml και έγινε αποτίμηση των αντιοξειδωτικών την 0 ημέρα. Τα υπόλοιπα 600ml οίνου τοποθετήθηκαν από 200ml σε τρεις γυάλινες φιάλες χωρητικότητας 250 ml, κλείστηκαν με μεταλλικό πώμα και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο θερμοκρασίας 18°C. Η δειγματοληψία για την ανάλυση έγινε επίσης στις 28, 56 και 84 ημέρες για τον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά και 22, 44, 66 ημέρες για τον οίνο Ντεμπίνα.



2. Μελέτη της οξείδωσης στους 45°C.

Οι οίνοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν λευκός οίνος Ντεμπίνα και λευκός οίνος Μοσχάτο Ροδίτη-Μαλαγουζιά. Τα δείγματα που μελετήθηκαν ήταν ο μάρτυρας (control), δείγμα με τελική συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,10mM και H_2O_2 0,63mM καθώς επίσης και δείγμα με τελική συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,25mM και H_2O_2 1,575mM.

Για το δείγμα του μάρτυρα (control), σε ογκομετρικό κύλινδρο των 1000ml μεταφέρθηκαν 740ml οίνου από γυάλινη φιάλη οίνου χωρητικότητας 750 ml. Ακολουθήθηκε τοποθέτηση 3ml σε γυάλινη κυψελίδα του 1cm και μέτρηση της απορρόφησης στα 420nm. Για το μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο ύδωρ.

Για το δείγμα με τελική συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,10mM και H_2O_2 0,63mM όπως επίσης και για το δείγμα με τελική συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,25mM και H_2O_2 1,575mM η διαδικασία έγινε ως εξής: Σε ογκομετρικό κύλινδρο των 1000ml μεταφέρθηκαν 740ml οίνου. Αφαιρέθηκαν 3,7ml οίνου με σιφώνιο των 5 ml και προστέθηκαν 0,0148gr $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ για το πρώτο και 0,037gr $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ για το δεύτερο δείγμα. Ακολούθησε προσθήκη 3,7ml από ένα διάλυμα 5ml οίνου+66μl H_2O_2 ($\text{C}_{\text{H}_2\text{O}_2} = 9,79\text{M}$) για το πρώτο δείγμα και 5ml οίνου+165μl H_2O_2 ($\text{C}_{\text{H}_2\text{O}_2} = 9,79\text{M}$) για το δεύτερο δείγμα. Το διάλυμα αναδεύτηκε με γυάλινη ράβδο. Ακολούθησε τοποθέτηση 3ml σε γυάλινη κυψελίδα του 1 cm και μέτρηση της απορρόφησης στα 420nm.

Για τα τρία αυτά δείγματα, από τα υπολειπόμενα εναπομείναντα 737ml κάθε φορά, τα 137ml κλείστηκαν με άζωτο σε γυάλινα φιαλίδια χωρητικότητας 7, 30, 60 ml και έγινε αποτίμηση των αντιοξειδωτικών την 0 ημέρα. Τα υπόλοιπα 600ml οίνου τοποθετήθηκαν από 200ml σε τρεις γυάλινες φιάλες χωρητικότητας 250 ml, κλείστηκαν με μεταλλικό πώμα και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο θερμοκρασίας 45°C. Η δειγματοληψία για την ανάλυση έγινε επίσης στις 1, 2 και 3 ημέρες.

Γ. Μέθοδοι ανάλυσης

1. Προσδιορισμός θειώδη ανυδρίτη

Ο προσδιορισμός του ελεύθερου και ολικού θειώδη ανυδρίτη έγινε με τις κλασσικές μεθόδους (Ough & Amerine, 1988).

1.1 Προσδιορισμός ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη

Σε κωνική φιάλη φέρονται 25 mL οίνου και 25ml H_2O και οξινίζονται με 2,5 mL διαλύματος H_2SO_4 25 % w/v. Στη συνέχεια ογκομετρούνται με διάλυμα ιωδίου 0,01 N και δείκτη άμυλο .

Ο υπολογισμός του ελεύθερου θειώδους γίνεται ως εξής:

$$\text{ελεύθερο SO}_2 \text{ (mg/L)} = (V \cdot N \cdot 32 \cdot 1000) / U = 6,4 \cdot V$$

όπου: V = ο όγκος του διαλύματος I_2 0,01 N που καταναλώθηκε σε mL

N = η κανονικότητα του διαλύματος I_2

U = ο όγκος του κρασιού σε mL



1.2 Προσδιορισμός ολικού θειώδη ανυδρίτη

Σε 25 mL οίνου και 25ml H₂O προστίθενται 12,5 mL ενός κανονικού διαλύματος KOH 0,01 N. Το δείγμα αφήνεται περίπου 10 λεπτά ώστε να επιτευχθεί η υδρόλυση. Στη συνέχεια οξινίζεται με 5 mL διαλύματος H₂SO₄ 25 % w/v και ογκομετρούνται με διάλυμα 0,01 N I₂ και δείκτη άμυλο.

Ο υπολογισμός του ολικού θειώδους γίνεται ως εξής:

$$\text{ολικό SO}_2 \text{ (mg/L)} = (V \cdot N \cdot 32 \cdot 1000) / U = 6,4 \cdot V$$

όπου: V = ο όγκος του διαλύματος 0,01 N I₂ που καταναλώθηκε σε mL

N = η κανονικότητα του διαλύματος I₂

U = ο όγκος του κρασιού σε mL

2. Προσδιορισμός του δείκτη καστάνωσης (απορρόφηση στα 420 nm)

Ο προσδιορισμός του δείκτη καστάνωσης υπολογίστηκε με μέτρηση της απορρόφησης στα 420 nm.

Δείγμα 2,5 ml λευκού οίνου τοποθετείται σε γυάλινη κυψελίδα του 1cm. Μετράται η απορρόφηση στα 420 nm. Ο μηδενισμός του οργάνου γίνεται με απιονισμένο νερό.

3. Λήψη φάσματος στο ορατό και στο υπεριώδες

Δείγμα 2,5 ml λευκού οίνου τοποθετείται σε κυψελίδα χαλαζία του 1cm. Γίνεται λήψη φάσματος στην ορατή ακτινοβολία (380-750nm). Ο μηδενισμός του οργάνου γίνεται με μοντέλο οίνο.

Για τη λήψη φασμάτων στην υπεριώδη ακτινοβολία (250-380nm) δείγμα 2,5mL λευκού οίνου αραιωμένου 1 προς 10 με μοντέλο οίνο τοποθετείται σε κυψελίδα χαλαζία του 1cm. Ο μηδενισμός του οργάνου γίνεται με μοντέλο οίνο.

4. Προσδιορισμός φαινολικών ενώσεων

4.1 Προσδιορισμός υδροξυκιναμωμικών οξέων

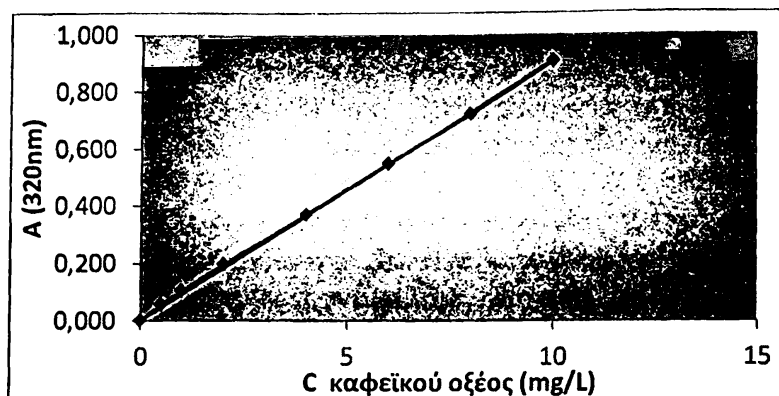
Η συγκέντρωση των υδροξυκιναμωμικών οξέων υπολογίστηκε με μέτρηση της απορρόφησης στα 320 nm.

Δείγμα 2,5mL λευκού οίνου αραιωμένου 1 προς 10 με μοντέλο οίνο τοποθετείται σε κυψελίδα χαλαζία του 1cm. Μετράται η απορρόφηση στα 320 nm. Ο μηδενισμός του οργάνου γίνεται με μοντέλο οίνο.

Η συγκέντρωση των υδροξυκιναμωμικών οξέων υπολογίζεται από πρότυπη καμπύλη, που κατασκευάζεται χρησιμοποιώντας γνωστές συγκεντρώσεις καφεϊκού οξέος σε μοντέλο οίνο (0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 mg/L) που μετρώνται στα 320 nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg/L ισοδυνάμων καφεϊκού οξέος.

$$C=10,9A \quad R^2 = 0,9993$$





Σχήμα 1: Πρότυπη καμπύλη με τη χρήση καφεϊκού οξέος για τον προσδιορισμό των υδροξυκιναμικών οξέων.

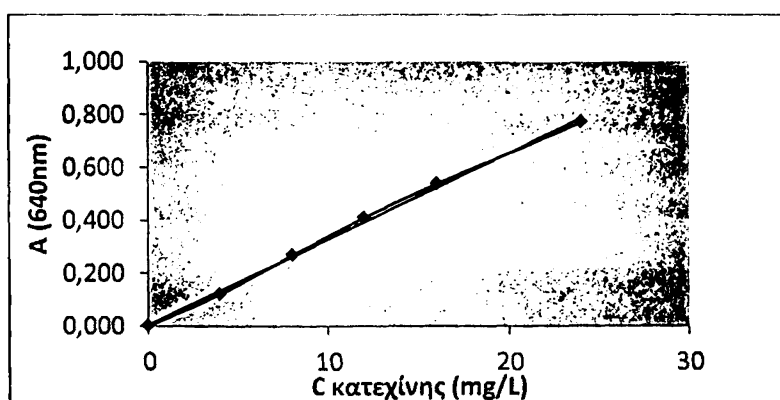
4.2 Προσδιορισμός φλαβονολών

Το περιεχόμενο των ολικών φλαβονολών υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της p-διμεθυλαμινοκιναλδεϋδης (DMACA) (Roussis και συν., 2008).

Δείγμα 0,2 mL οίνου, αραιωμένου με μεθανόλη (λευκός οίνος αραιωμένος 1:2), φέρονται σε σωλήνα Eppendorf, και προστίθεται 1 mL διαλύματος DMACA (0,1 % w/v σε, 1 N HCl σε MeOH). Το διάλυμα αναδεύεται σε vortex και το αφήνουμε να αντιδράσει σε θερμοκρασία δωματίου για 10 min. Μετράται η απορρόφηση στα 640 nm. Για κάθε δείγμα υπάρχει τυφλό που προετοιμάζεται όμοια, μόνο που αντί για DMACA, περιέχει διάλυμα 1 N HCl σε MeOH. Ο μηδενισμός του οργάνου γίνεται σε κάθε δείγμα με το αντίστοιχο τυφλό. Μετράται η απορρόφηση στα 640 nm.

Η συγκέντρωση των ολικών φλαβονολών υπολογίζεται από πρότυπη καμπύλη, που κατασκευάζεται χρησιμοποιώντας γνωστές συγκεντρώσεις κατεχίνης σε μεθανόλη (0, 4, 8, 12, 16, 24 mg/L) που μετρώνται στα 640 nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg/L ισοδυνάμων κατεχίνης.

$$C = 65,4 A \quad R^2 = 0,9978$$



Σχήμα 2: Πρότυπη καμπύλη με τη χρήση του αντιδραστηρίου p-διμεθυλαμινοκιναλδεϋδης (DMACA) για τον προσδιορισμό φλαβονολών.

5. Προσδιορισμός ολικών ελεύθερων σουλφυδρυλομάδων

Το περιεχόμενο σε σουλφυδρυλικές ομάδες (SH) υπολογίζεται με χρήση του αντιδραστήριου Ellmann (Kontogeorgos και Roussis, 2014).

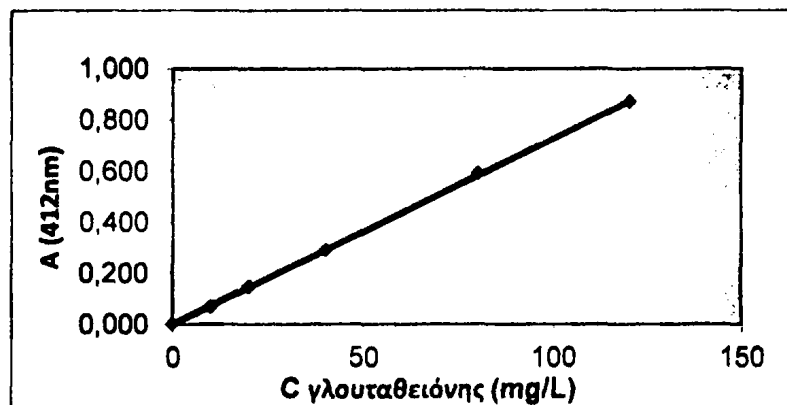
0,8 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (K_2HPO_4/KH_2PO_4) (200 mM, pH 7,4) προστίθενται σε 0,3 mL οίνου (οίνος αραιωμένος 1:10 με μοντέλο οίνο) και αναδεύουμε. Έπειτα, προστίθενται 0,1 mL διαλύματος 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) (1 mM σε 200 mM διάλυμα φωσφορικών, pH 7,4), και το διάλυμα αναδεύεται και παραμένει για 1 h στους 20°C. Για κάθε δείγμα οίνου μετράται η απορρόφηση στα 412 nm σε σχέση με ένα τυφλό που ετοιμάζεται με τον ίδιο τρόπο, και περιέχει 0,1 mL ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αντί για DTNB.

Το όργανο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό.

Η συγκέντρωση των ομάδων SH εκφράζεται ως γλουταθειόνη (mg/L), και καθορίζεται από την κατασκευή πρότυπης καμπύλης με τη χρήση διαφόρων συγκεντρώσεων γλουταθειόνης (0, 10, 20, 40, 80, 120 mg/L, σε μοντέλο οίνο).

Επίσης η τιμή της απορρόφησης, για συγκέντρωση γλουταθειόνης ίση με το μηδέν, που παίρνουμε από την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, αφαιρείται από όλες τις τιμές των δειγμάτων. Επίσης αυτή η τιμή αφαιρείται και κατά την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης.

$$C = 137,0 A \quad R^2 = 0,9998$$



Σχήμα 3: Πρότυπη καμπύλη με γλουταθειόνη για τον προσδιορισμό σουλφυδρυλομάδων με τη χρήση του αντιδραστήριου του Ellmann (ρυθμιστικό φωσφορικών 200 mM pH 7,4).

6. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

6.1 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών (μέθοδος Folin)

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης έγινε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Roussis και συν., 2008). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην οξείδωση των αντιοξειδωτικών σε αλκαλικό περιβάλλον από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο αυτό αποτελείται από ένα μίγμα φωσφοροβολφραϊμικού οξέος ($H_3PW_{12}O_{40}$), το οποίο ανάγεται κατά την οξείδωση των φαινολών, σε μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}). Το κυανό χρώμα

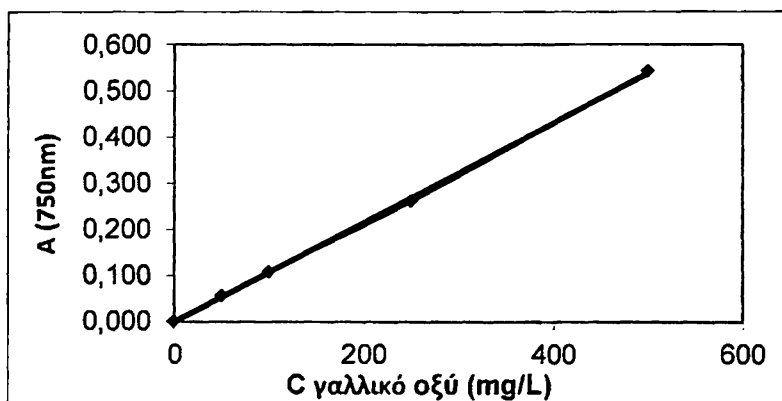


που προκύπτει παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750nm, και έτσι είναι ανάλογο της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων.

Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται 3,950 μL απιονισμένου νερού, 50 μL δείγματος (λευκός οίνος ως έχει) και 250 μL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu ως έχει. Μετά από 1 min προστίθενται 750 μL διαλύματος 20% Na_2CO_3 και ακολουθεί ανάδευση. Μετά από παραμονή 2 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μετράται η απορρόφηση στα 750 nm με κυψελίδες 1 cm. Για το μηδενισμό του οργάνου αντί του δείγματος προστίθενται 50 μL 10 % αιθανόλης.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του δείγματος κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη με διάλυμα γαλλικού οξέος (0, 50, 100, 250, 500 mg/L, 10 % αιθανόλη). Η συγκέντρωση του δείγματος εκφράζεται σε mg/L γαλλικού οξέος με βάση την εξίσωση που προκύπτει.

$$C = 909,1A \quad R^2 = 0,9995$$



Σχήμα 4: Πρότυπη καμπύλη με γαλλικό οξύ για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης με τη χρήση του αντιδραστηρίου Folin.

Δ. Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση του προγράμματος SPSS (SPSS V17.0). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση. Η σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης και κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης έγινε με ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one way anova) και χρήση του Bonferroni posttest. Στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι διαφορές με $p \leq 0,05$. Το κάθε πείραμα έγινε εις τριπλούν.

Επίσης η γραμμική συσχέτιση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C και στους 45°C έγινε με το συντελεστή συσχέτισης Pearson's Correlation Coefficient και το επίπεδο σημαντικότητας ήταν το 0,05 και το 0,01.

Ο συντελεστής συσχέτισης του Pearson, r , χρησιμοποιείται προκειμένου να ελέγξουμε την ύπαρξη γραμμικής σχέσης μεταξύ δύο ποσοτικών μεταβλητών. Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson είναι ένα αριθμητικό μέτρο ή δείκτης του μεγέθους της συσχέτισης μεταξύ δύο συνόλων τιμών. Κυμαίνεται σε μέγεθος από +1.00 μέχρι -1.00 περνώντας και από το 0.00. Η αρνητική συσχέτιση δείχνει ότι μικρές τιμές της μίας μεταβλητής αντιστοιχούν σε μεγάλες τιμές της άλλης και αντίστροφα. Η θετική συσχέτιση δείχνει ότι μικρές τιμές της μίας μεταβλητής αντιστοιχούν σε μικρές τιμές



της άλλης και αντίστροφα. Δηλαδή, το πρόσημο των συντελεστών καταδεικνύει το είδος της σχέσης, ενώ όσο μεγαλύτερη είναι η απόλυτη τιμή τους, τόσο ισχυρότερη είναι η συσχέτιση των δύο μεταβλητών. Τέλος, η τιμή μηδέν αντιστοιχεί στη μη ύπαρξη γραμμικής σχέσης.

Για να είναι στατιστικώς σημαντική η συσχέτιση θα πρέπει το επίπεδο σημαντικότητας ρ να είναι $\leq$ του 0,05 ή $\leq$ 0,01.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ -ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη μελέτη έγινε προσθήκη δισθενούς σιδήρου και υπεροξειδίου του υδρογόνου για αποτίμηση της τάσης λευκών οίνων προς οξείδωση. Χρησιμοποιήθηκε οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά, όπως και οίνος Ντεμπίνα. Ο σίδηρος και το υπεροξείδιο του υδρογόνου προστέθηκαν στους οίνους σε δύο συγκεντρώσεις μία μικρότερη και μία μεγαλύτερη, ενώ επίσης χρησιμοποιήθηκε οίνος χωρίς προσθήκη ως μάρτυρας (control). Η διατήρηση των οίνων έγινε στους 18°C για αποτίμηση της οξείδωσης σε συνθήκες παρόμοιες με αυτές που διατηρούνται οι οίνοι. Επίσης, η διατήρηση έγινε και στους 45°C καθόσον υπάρχει δοκιμή αποτίμησης της τάσης λευκών οίνων στην οξείδωση με θέρμανσή τους στους 45-55°C. Σε όλες τις περιπτώσεις, οι οίνοι αναλύονταν σε διάφορους χρόνους κατά τη διατήρησή τους. Οι μετρήσεις αφορούσαν το δείκτη καστανώσης, όπως και παραμέτρους που μεταβάλλονται κατά την οξείδωση λευκών οίνων.



1. Δείκτης καστάνωσης (δείκτης browning)

Πίνακας 1. Μεταβολή του δείκτη καστάνωσης (A420nm) κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με την προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	28 ημέρες	56 ημέρες	84 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	0,096 ^{aA} ±0,003	0,104 ^{aA} ±0,004	0,119 ^{bA} ±0,004	0,132 ^{γA} ±0,001
Μικρή συγκέντρωση	0,104 ^{abA} ±0,004	0,131 ^{BB} ±0,001	0,155 ^{γB} ±0,004	0,164 ^{δB} ±0,001
Μεγάλη συγκέντρωση	0,114 ^{ab} ±0,005	0,154 ^{BI} ±0,005	0,173 ^{γI} ±0,001	0,192 ^{δI} ±0,004
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	0,100 ^{aA} ±0,006	0,102 ^{aA} ±0,006	0,116 ^{aA} ±0,002	0,143 ^{bA} ±0,013
Μικρή συγκέντρωση	0,105 ^{aA} ±0,002	0,120 ^{ab} ±0,007	0,160 ^{BB} ±0,008	0,186 ^{γB} ±0,005
Μεγάλη συγκέντρωση	0,128 ^{ab} ±0,009	0,142 ^{ai} ±0,002	0,183 ^{BI} ±0,004	0,216 ^{γI} ±0,006

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

A,B,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

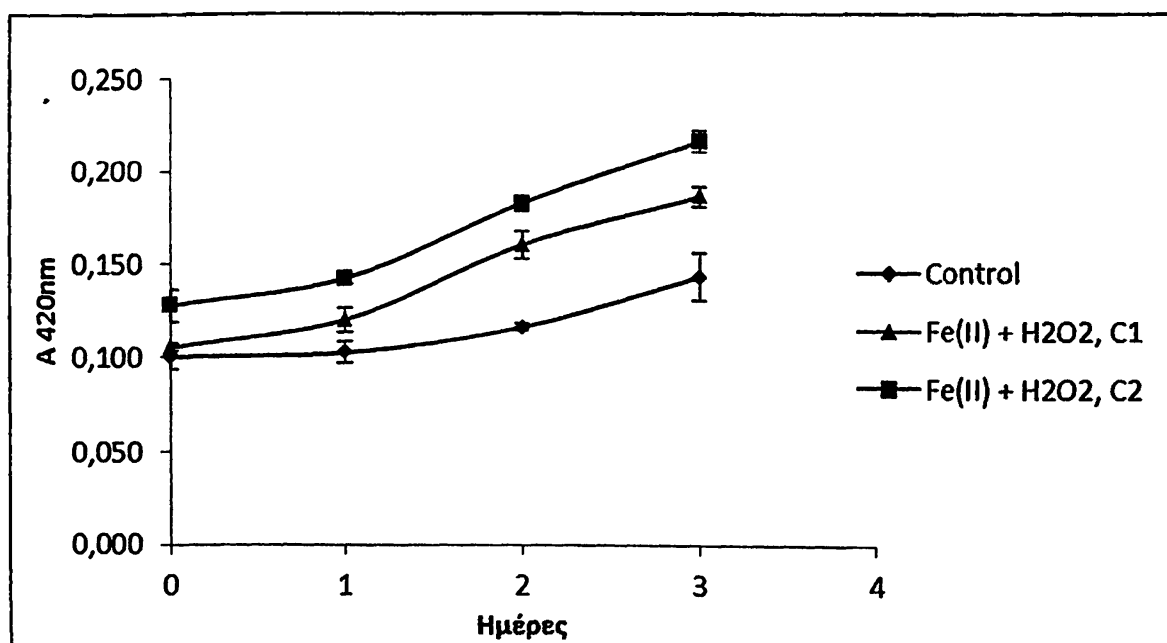
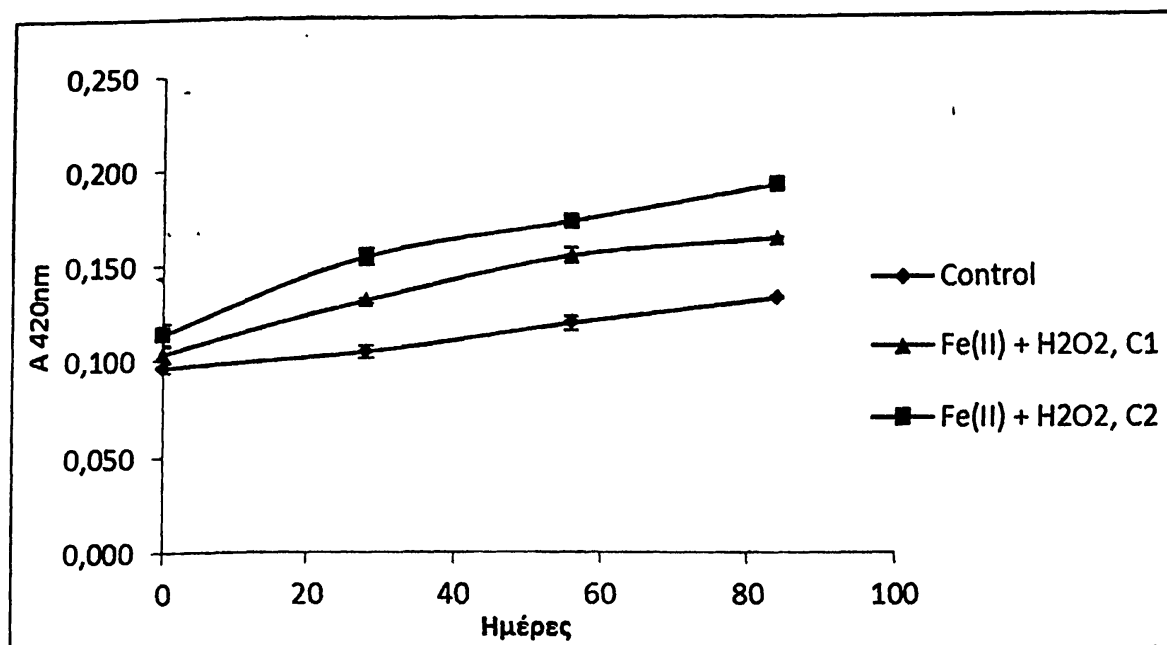
18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10Mm/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂ =0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,25Mm/ H₂O₂=1,575mM)



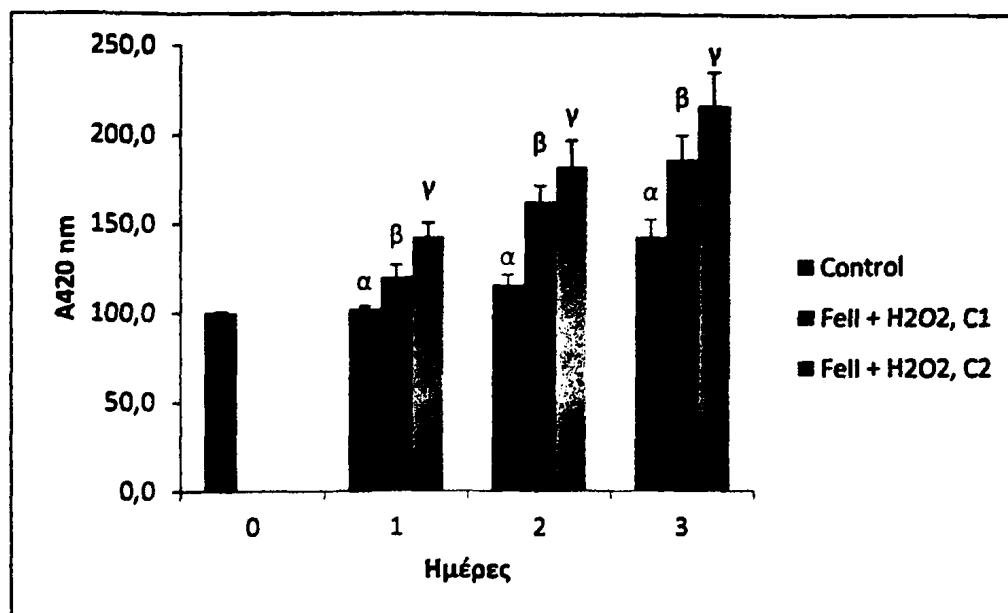
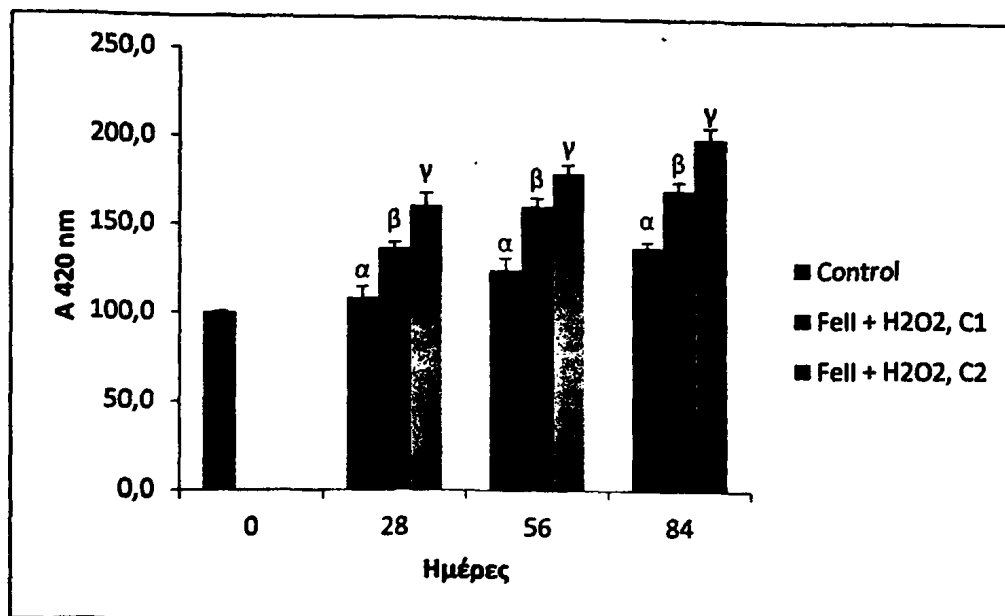


Σχήμα 1. Μεταβολή του δείκτη καστανότητας (A_{420nm}) κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)

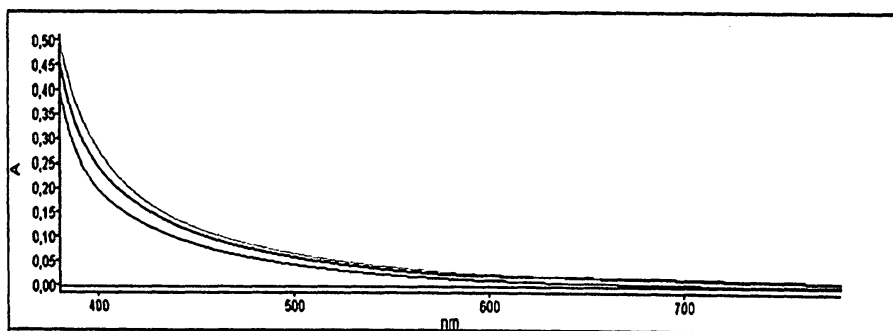
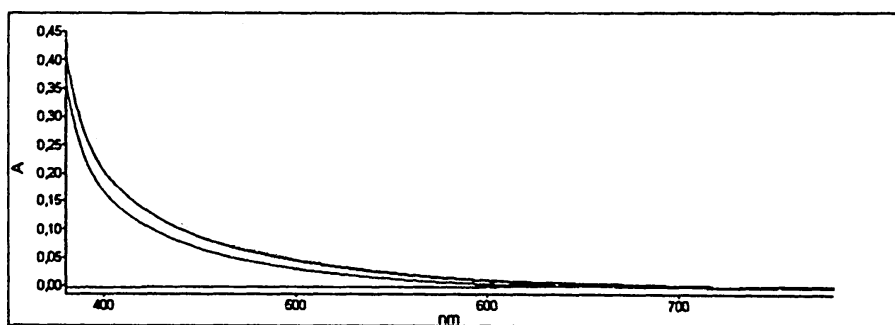
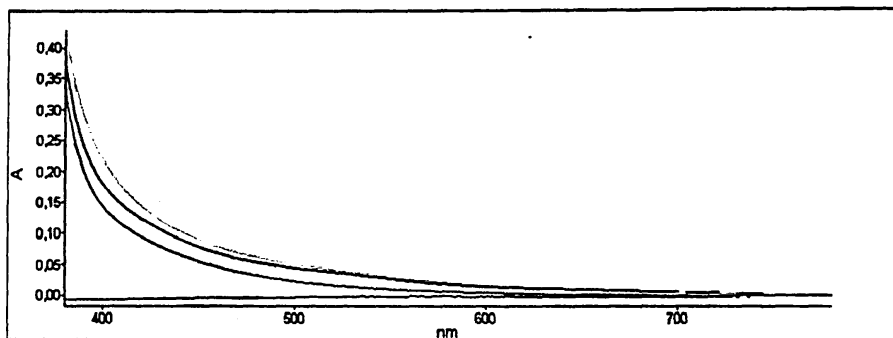
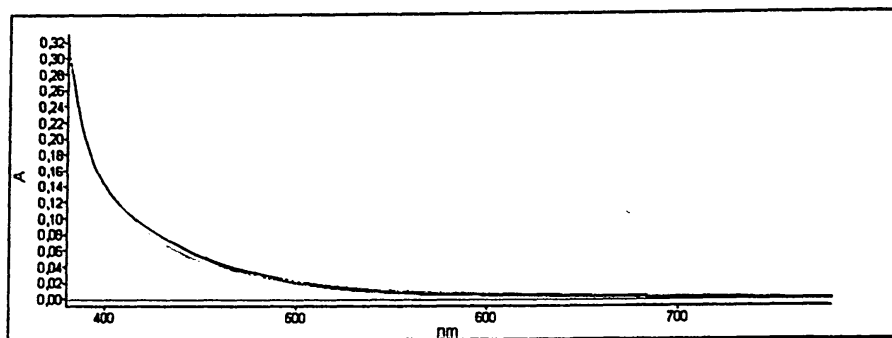


Σχήμα 2. Η % μεταβολή της απορρόφησης στα A420nm κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)



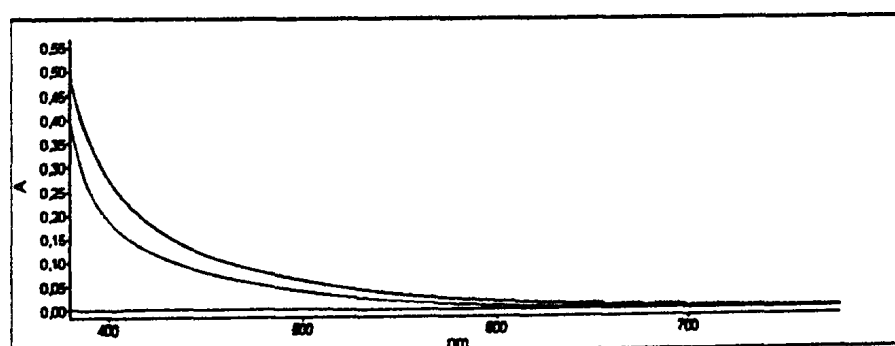
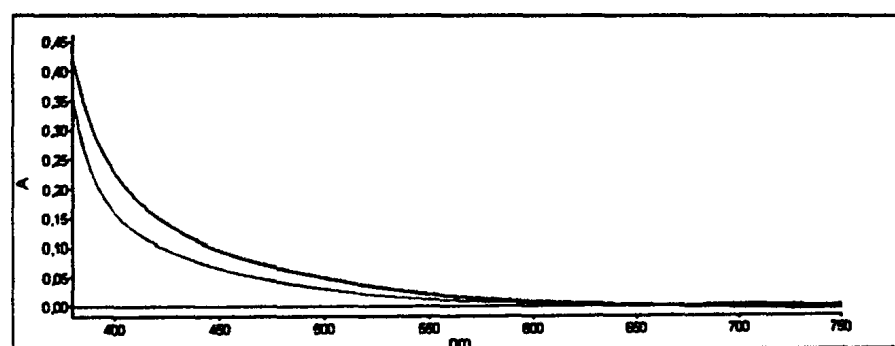
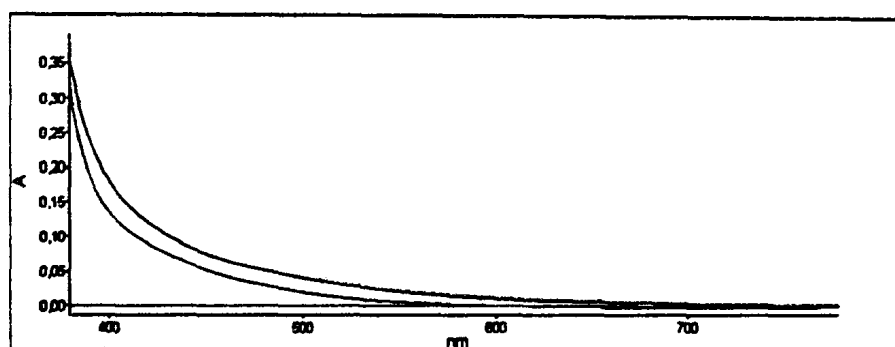
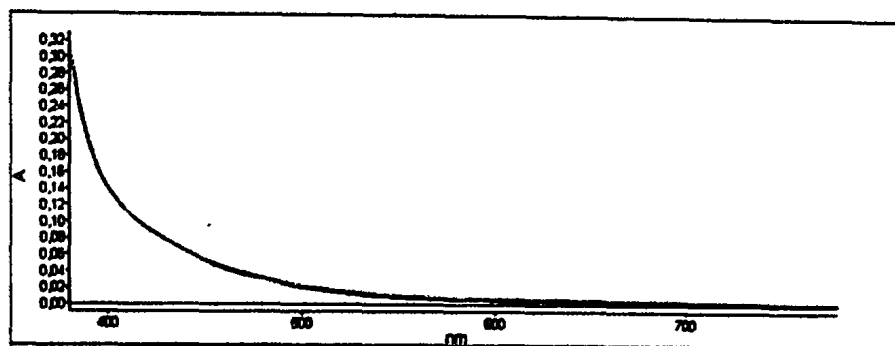
Σχήμα 3. Φάσματα ορατού, λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά, μετά τη διατήρηση του στους 18°C για 0, 28, 56, 84 ημέρες και με προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

18°C Μάρτυρας

18°C μ (FeCl₂·4H₂O=0,025mM / H₂O₂=0,1575mM)

18°C M (FeCl₂·4H₂O= 0,10mM / H₂O₂=0,63mM)

Ο χρόνος 0 επάνω και ακολουθούν με τη σειρά οι 28, 56 και 84 ημέρες.



Σχήμα 4. Φάσματα ορατού, λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά, μετά τη διατήρηση του στους 45°C για 0, 1, 2, 3 ημέρες και με προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

45°C Μάρτυρας

45°C μ (FeCl₂·4H₂O=0,10mM / H₂O₂=0,25mM)

45°C M (FeCl₂·4H₂O= 0,25mM / H₂O₂= 1,575mM)

Ο χρόνος 0 επάνω και ακολουθούν με τη σειρά η 1^η, 2^η και 3^η ημέρα.

Πίνακας 2. Μεταβολή του δείκτη καστανώσης (A420nm) κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και 45°C και με την προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	22 ημέρες	44 ημέρες	66 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	0,051 ^{aA} ±0,001	0,051 ^{aA} ±0,001	0,064 ^{bA} ±0,004	0,077 ^{γA} ±0,001
Μικρή συγκέντρωση	0,059 ^{ab} ±0,001	0,071 ^{BB} ±0,002	0,075 ^{BB} ±0,003	0,087 ^{γB} ±0,003
Μεγάλη συγκέντρωση	0,076 ^{ai} ±0,002	0,087 ^{BI} ±0,002	0,108 ^{γI} ±0,003	0,124 ^{δI} ±0,004
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	0,057 ^{aA} ±0,00	0,066 ^{BA} ±0,001	0,076 ^{γA} ±0,002	0,094 ^{δA} ±0,003
Μικρή συγκέντρωση	0,078 ^{ab} ±0,003	0,085 ^{abB} ±0,001	0,097 ^{BB} ±0,005	0,111 ^{γB} ±0,006
Μεγάλη συγκέντρωση	0,100 ^{ai} ±0,002	0,103 ^{ai} ±0,002	0,111 ^{BI} ±0,002	0,139 ^{γI} ±0,003

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

A,B,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

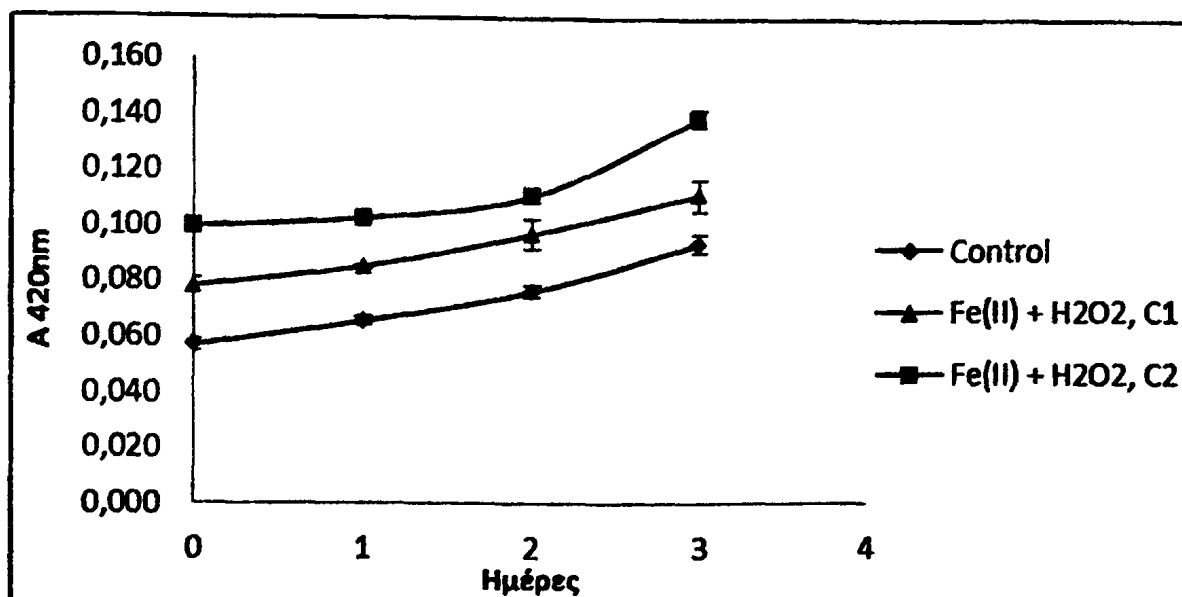
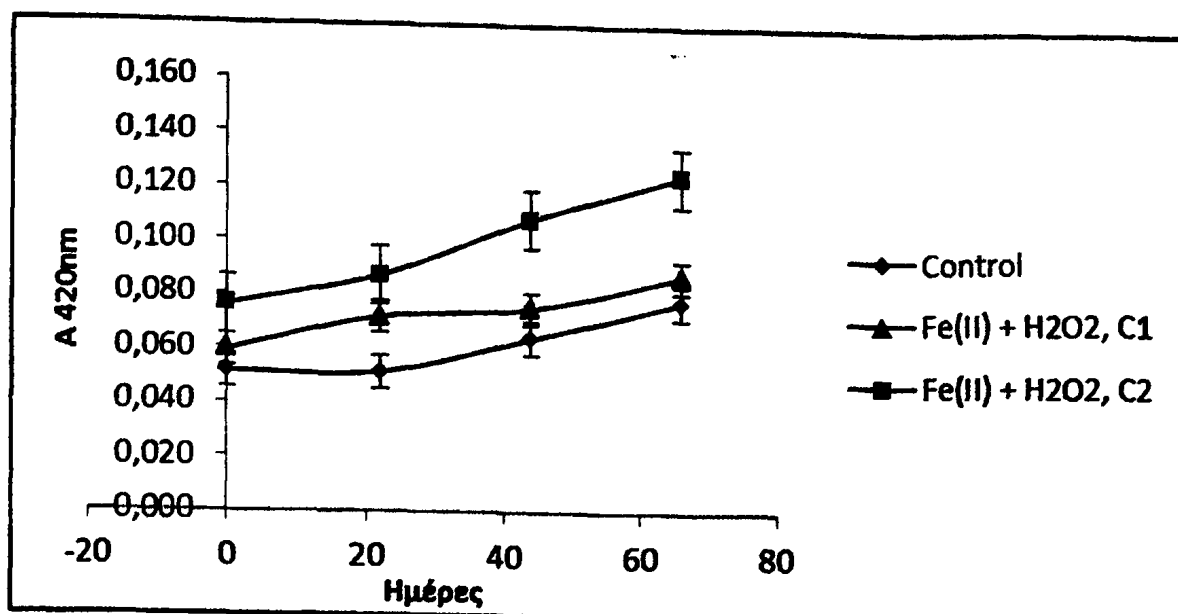
18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10Mm/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,25Mm/ H₂O₂=1,575mM)



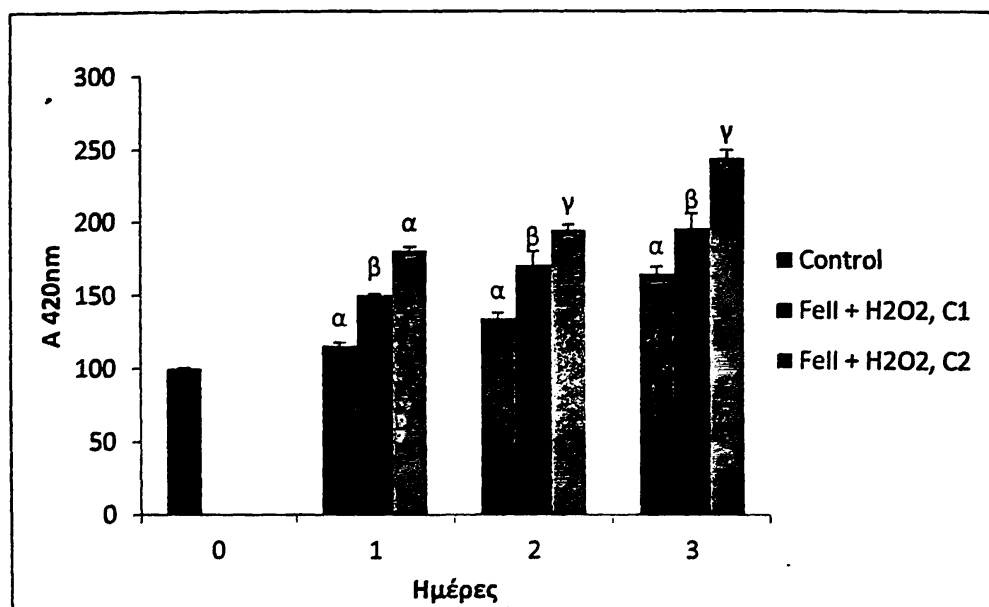
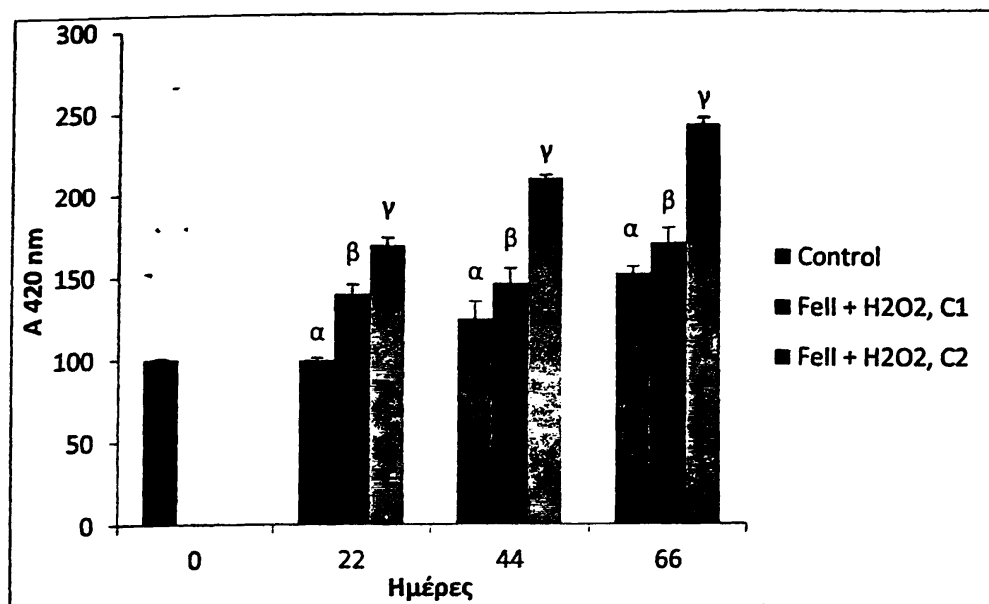


Σχήμα 5. Μεταβολή του δείκτη καστανότητας (A_{420nm}) κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους $18^{\circ}C$ και $45^{\circ}C$ και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων $Fe(II)$ και H_2O_2 .

Οι $18^{\circ}C$ επάνω και οι $45^{\circ}C$ από κάτω.

$18^{\circ}C$ C1($FeCl_2 \cdot 4H_2O=0,025mM/H_2O_2=0,1575mM$), $18^{\circ}C$ C2($FeCl_2 \cdot 4H_2O=0,10mM/H_2O_2=0,63mM$)

$45^{\circ}C$ C1($FeCl_2 \cdot 4H_2O=0,10mM/H_2O_2=0,63mM$), $45^{\circ}C$ C2($FeCl_2 \cdot 4H_2O=0,25mM/H_2O_2=1,575mM$)

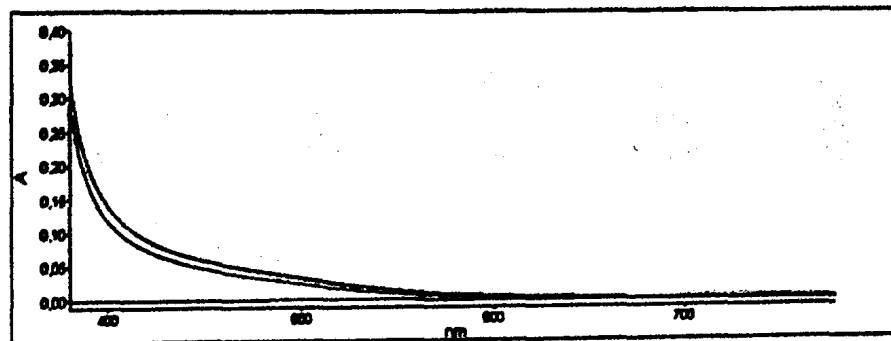
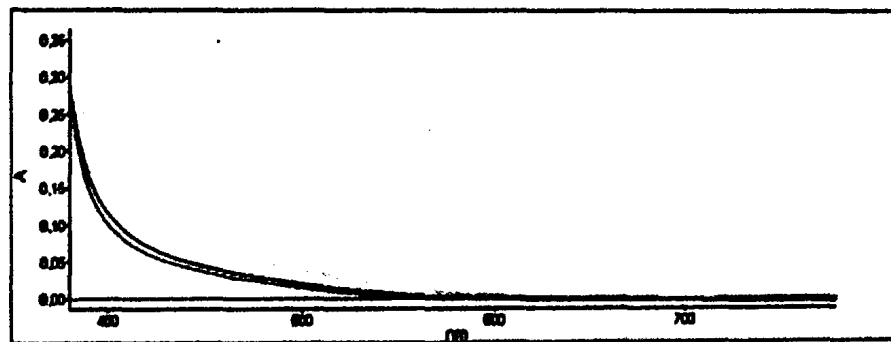
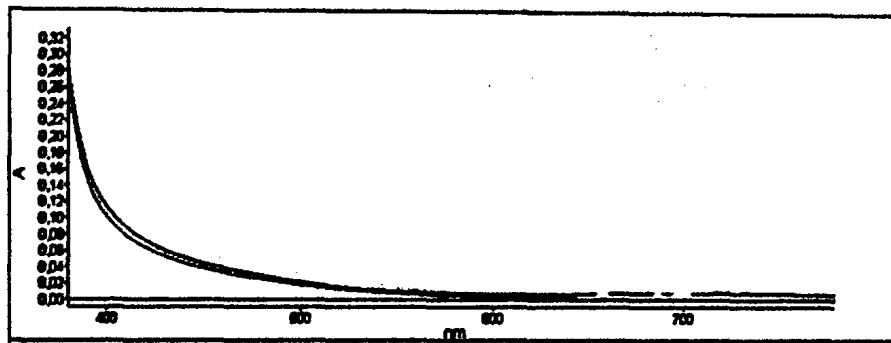
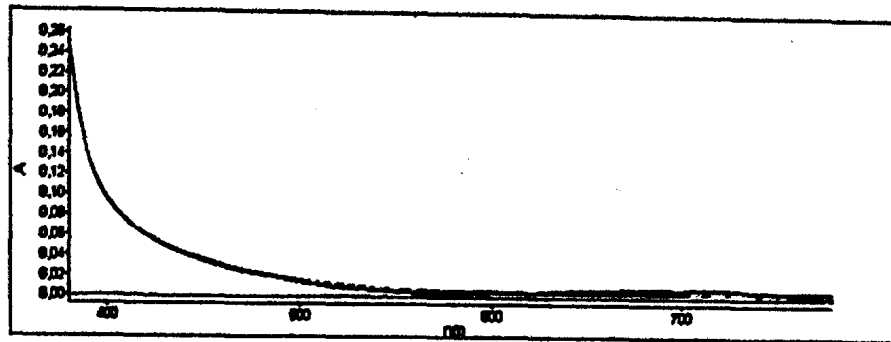


Σχήμα 6. Η % μεταβολή της απορρόφησης στα 420 nm κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)



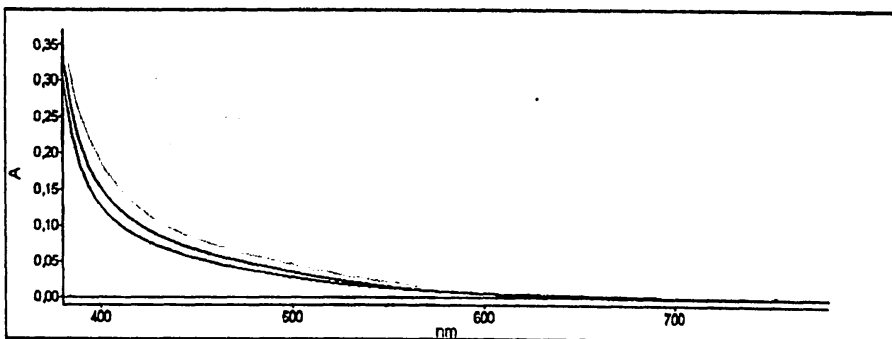
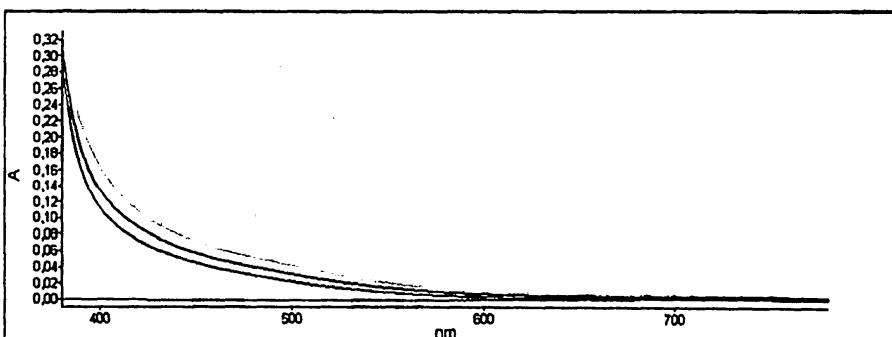
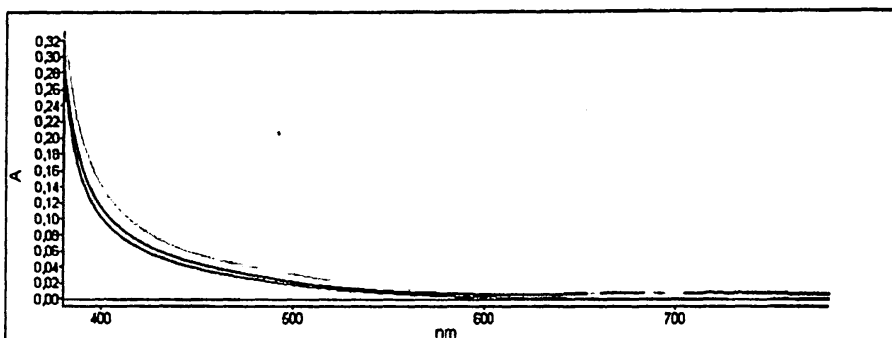
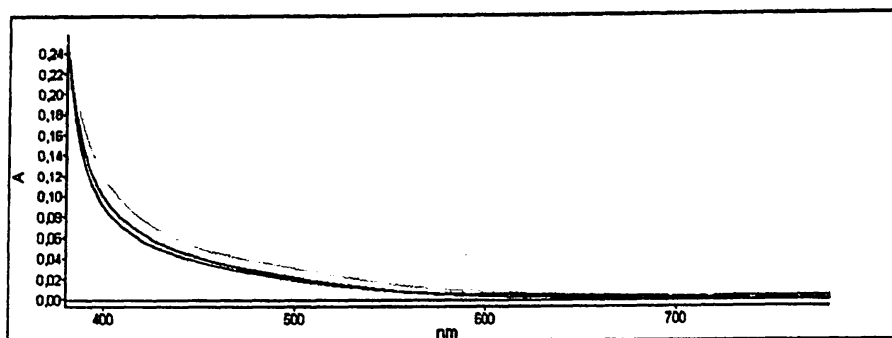
Σχήμα 7. Φάσματα ορατού, λευκού οίνου Ντεμπίνα, μετά τη διατήρηση του στους 18°C για 0, 22, 44, 66 ημέρες και με προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

18°C Μάρτυρας

18°C μ (FeCl₂·4H₂O=0,025mM / H₂O₂ =0,1575mM)

18°C M (FeCl₂·4H₂O= 0,10mM / H₂O₂= 0,63mM)

Ο χρόνος 0 επάνω και ακολουθούν με τη σειρά οι 22, 44 και 66 ημέρες.



Σχήμα 8. Φάσματα ορατού, λευκού οίνου Ντεμπίνα, μετά τη διατήρηση του στους 45°C για 0, 1, 2, 3 ημέρες και με προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H_2O_2 .

45°C Μάρτυρας

45°C μ ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 0,10\text{mM}$ / $\text{H}_2\text{O}_2 = 0,25\text{mM}$)

45°C M ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 0,25\text{mM}$ / $\text{H}_2\text{O}_2 = 1,575\text{mM}$)

Ο χρόνος 0 επάνω και ακολουθούν με τη σειρά η 1^η, 2^η και 3^η ημέρα.

Η οξείδωση στους λευκούς οίνους αρχίζει στα πρώτα στάδια της οινοποίησης και περιλαμβάνει αντιδράσεις ενζυματικής φύσεως. Το ένζυμο το οποίο είναι υπεύθυνο για την οξείδωση του γλεύκους είναι η πολυφαινολοξειδάση. Αντίθετα η οξείδωση των οίνων σχετίζεται με τη χημική οξείδωση των πολυφαινολών. Η οξείδωση των φαινολών συνδέεται άμεσα με την αναγωγή του οξυγόνου προς ρίζα υδρουπεροξειδίου (η αναγωγή περιλαμβάνει οξείδωση του Fe^{+2} προς Fe^{+3}), η οποία οξειδώνει στη συνέχεια μια φαινόλη προς μια ρίζα ημικινόνης. Τα φαινολικά συστατικά είναι καλοί δότες υδρογόνου και συνεπώς διευκολύνουν τις ρίζες υδρουπεροξειδίου να αποσπάσουν πρωτόνια από τις ομάδες υδροξυλίου. Η ρίζα υδρουπεροξειδίου επομένως ανάγεται προς υπεροξείδιο του υδρογόνου, το οποίο στη συνέχεια ανάγεται προς ρίζα υδροξυλίου παρουσία Fe II . Οι ρίζες υδροξυλίου ως μη επιλεκτικό οξειδωτικό μπορούν με τη σειρά τους να οξειδώσουν σχεδόν όλα τα συστατικά του οίνου (Oliveira και συν., 2011, Waterhouse & Laurie, 2006, Li και συν., 2008, Danilewicz, 2003).

Η οξείδωση των λευκών οίνων αποτιμάται με την αύξηση της απορρόφησης στα 420nm (δείκτης καστάνωσης, browning).

Στους 18°C, οι λευκοί οίνοι που μελετήθηκαν (μάρτυρες) παρουσίασαν αύξηση της απορρόφησης στα 420nm με το χρόνο διατήρησής τους (Πίνακες 1,2 και Σχήματα 1,5).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η απορρόφηση στα 420nm σε χρόνο 0 ήταν 0,096, και αυξήθηκε σε 0,119 την 54^η ημέρα και σε 0,132 την 84^η ημέρα. Στον οίνο Ντεμπίνα η απορρόφηση στα 420nm σε χρόνο 0 ήταν 0,051, και αυξήθηκε σε 0,064 την 44^η ημέρα και σε 0,077 την 66^η ημέρα.

Τα παραπάνω αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των (Kallithraka και συν., 2009) και των (Recamales και συν., 2006), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι σε λευκούς οίνους η απορρόφηση στα 420nm (δείκτης καστάνωσης) αυξήθηκε για μια περίοδο 9 και 12 μηνών αντίστοιχα. Ο ερευνητής (Simpson, 1982) διαπίστωσε επίσης αύξηση της απορρόφησης στα 420nm ύστερα από αποθήκευση λευκών οίνων στους 15°C για διάστημα 30 εβδομάδων. Οι ερευνητές (Vaimakis και Roussis, 1992) παρατήρησαν αύξηση του δείκτη browning στα 420nm κατά την αποθήκευση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 15°C για 4 και 6 μήνες. Αύξηση της απορρόφησης στα 420nm διαπιστώθηκε και από τους (Patrianakou και Roussis, 2013) κατά την αποθήκευση λευκού οίνου Chardonnay για διάστημα 40 ημερών και 9 μηνών.

Στους 18°C η προσθήκη του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 επιτάχυνε την αύξηση της απορρόφησης στα 420nm με το χρόνο διατήρησής τους. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 τόσο μεγαλύτερος ήταν ο δείκτης καστάνωσης (Πίνακες 1,2 και Σχήματα 1,5).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 28^η ημέρα είχε απορρόφηση 0,131, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 84^η ημέρα (0,132). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 28^η ημέρα είχε απορρόφηση 0,154, δηλαδή μεγαλύτερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 84^η ημέρα (0,143).

Ο οίνος Ντεμπίνα με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 22^η ημέρα είχε απορρόφηση 0,071, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 66^η ημέρα (0,077). Το δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 22^η ημέρα είχε απορρόφηση 0,087, δηλαδή μεγαλύτερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 66^η ημέρα (0,077).

Σύμφωνα με τους (Patrianakou και Roussis, 2013) στα δείγματα λευκού οίνου Chardonnay η προσθήκη του FeII μαζί με H_2O_2 οδήγησε σε υψηλότερες απορροφήσεις στα 420 nm, δηλαδή τα δείγματα αυτά παρουσίασαν υψηλότερο βαθμό καστάνωσης (browning) και οξείδωσης.

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 , στους διάφορους χρόνους διατήρησης, συνεπαγόταν και αύξηση της απορρόφησης στα 420nm (Σχήματα 2,6).



Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 , δεν αναμένονται διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακες 1,5, και Σχήματα 1,5,3,7), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτερες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Από τα φάσματα στην ορατή ακτινοβολία, σε θερμοκρασία 18°C , προέκυψε επίσης ότι οι απορροφήσεις στην περιοχή των 420 nm αυξάνονταν με την προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (Σχήματα 3,7).

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται, στις περισσότερες περιπτώσεις, μεταξύ της απορρόφησης στα 420nm στα δείγματα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της απορρόφησης έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της απορρόφησης στα 420nm στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτά που προστέθηκαν η μικρή και η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για την πρώτη περίπτωση είναι ($r=0,958$, $\rho=0,042<0,05$) και για τη δεύτερη ($r=0,950$, $\rho=0,05\leq 0,05$).

Παράλληλα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της απορρόφησης στα 420nm στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ντεμπίνα και σε αυτό που προστέθηκε η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 ($r=0,967$, $\rho=0,033<0,05$). Αντίθετα δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της απορρόφησης στα 420nm στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ντεμπίνα και σε αυτό που προστέθηκε η μικρή συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 ($r=0,894$, $\rho=0,106$).

Στους 45°C , οι λευκοί οίνοι που μελετήθηκαν (μάρτυρες) παρουσίασαν αύξηση της απορρόφησης στα 420nm με το χρόνο αποθήκευσης (Πίνακες 1,2, και Σχήματα 1,5).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η απορρόφηση στα 420nm σε χρόνο 0 ήταν 0,100, και αυξήθηκε σε 0,116 την 2^η ημέρα και σε 0,143 την 3^η ημέρα. Στον οίνο Ντεμπίνα η απορρόφηση στα 420nm σε χρόνο 0 ήταν 0,057, και αυξήθηκε σε 0,076 την 2^η ημέρα και σε 0,096 την 3^η ημέρα.

Τα παραπάνω αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των (Kallithraka και συν., 2009, Simpson, 1982, Berg, 1953, Sioumis και συν., 2006, Salacha και συν., 2008), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι σε λευκούς οίνους η απορρόφηση στα 420nm (δείκτης καστανώσης) αυξήθηκε ύστερα από ένα τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης στους 55°C για διάστημα λίγων ημερών. Την ίδια διαπίστωση έκαναν και οι ερευνητές (Roussis και συν., 2000), οι οποίοι παρατήρησαν ότι στους λευκούς οίνους Ντεμπίνα, Μοσχοφίλερο και Sauvignon blanc η απορρόφηση στα 420nm αυξήθηκε ύστερα από ένα τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης στους 55°C για δέκα ημέρες.

Το επιταχυνόμενο τεστ οξείδωσης, σε θερμοκρασία περίπου 55°C , παρουσιάστηκε πρώτη φορά από τους ερευνητές (Singlenton και Kramling, 1976) για γρήγορη αποτίμηση της τάσης των οίνων προς οξείδωση.

Γραμμική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ των οίνων που υφίστανται οξείδωση στους 18°C και αυτών που οξειδώνονται στους 45°C , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της απορρόφησης έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της απορρόφησης στα 420nm στους 45°C και της απορρόφησης στα 420nm στους 18°C στον οίνο μάρτυρα Ροδίτη-Μαλαγουζιά ($r=0,956$, $\rho=0,044<0,05$). Παράλληλα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της απορρόφησης στα 420nm στους 45°C και της απορρόφησης στα 420nm στους 18°C στον οίνο μάρτυρα Ντεμπίνα ($r=0,972$, $\rho=0,028<0,05$).

Οι ερευνητές (Fernandez-Zurbano και συν., 1995) απέδειξαν τη γραμμική παλινδρόμηση μεταξύ της οξειδωτικής ικανότητας λευκών οίνων που αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 20°C και των ίδιων οίνων που αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 55°C . Η μόνη διαφορά μεταξύ των δυο οξειδώσεων υπήρξε στο χρόνο που έλαβε χώρα η οξείδωση.



Στους 45°C, η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 προκάλεσε αύξηση της απορρόφησης στα 420nm με το χρόνο αποθήκευσης. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 τόσο μεγαλύτερος ήταν ο δείκτης καστανώσης (Πίνακες 1,2, και Σχήματα 1,5).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 1^η ημέρα είχε απορρόφηση 0,120, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 2^η ημέρα (0,116). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 1^η ημέρα είχε απορρόφηση 0,142, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (0,143).

Το δείγμα του οίνου Ντεμπίνα με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 1^η ημέρα είχε απορρόφηση 0,085, δηλαδή λίγο μεγαλύτερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 2^η ημέρα (0,076). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 1^η ημέρα είχε απορρόφηση 0,103, δηλαδή λίγο μεγαλύτερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (0,094).

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 στους διάφορους χρόνους διατήρησης συνεπαγόταν και αύξηση της απορρόφησης στα 420nm (Σχήματα 2.6).

Από τα φάσματα στην ορατή ακτινοβολία, σε θερμοκρασία 45°C, προέκυψε επίσης ότι οι απορροφήσεις στην περιοχή των 420 nm αυξάνονταν με την προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (Σχήματα 4,8).

Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 δεν αναμενόταν διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακες 1,2, και Σχήματα 1,5,4,8), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτατες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται μεταξύ της απορρόφησης στα 420nm στα δείγματα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της απορρόφησης έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της απορρόφησης στα 420nm στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτά που προστέθηκαν η μικρή και η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για την πρώτη περίπτωση είναι ($r=0,950$, $p=0,05 \leq 0,05$) και για τη δεύτερη ($r=0,966$, $p=0,034 < 0,05$).

Παράλληλα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της απορρόφησης στα 420nm στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ντεμπίνα και σε αυτά που προστέθηκαν η μικρή και η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για την πρώτη περίπτωση είναι ($r=0,998$, $p=0,002 < 0,01$) και για τη δεύτερη ($r=0,962$, $p=0,038 < 0,05$).



2. Φλαβανόλες

Πίνακας 3. Μεταβολή της συγκέντρωσης των φλαβανολών κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη- Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με την προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	28 ημέρες	56 ημέρες	84 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	34,6 ^{aA} ±1,0	33,3 ^{aBA} ±0,1	32,3 ^{aA} ±1,0	29,5 ^{γA} ±0,9
Μικρή συγκέντρωση	28,6 ^{aBB} ±1,0	30,2 ^{aB} ±0,7	25,8 ^{BB} ±1,8	22,0 ^{γB} ±0,5
Μεγάλη συγκέντρωση	30,7 ^{aB} ±1,1	26,0 ^{BI} ±1,8	18,8 ^{γI} ±1,5	15,8 ^{γI} ±0,4
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	38,2 ^{aA} ±1,8	35,5 ^{aA} ±3,6	34,6 ^{aA} ±3,6	31,2 ^{aA} ±2,3
Μικρή συγκέντρωση	34,2 ^{aA} ±3,0	32,6 ^{aA} ±1,6	30,2 ^{aAB} ±0,7	25,1 ^{BB} ±0,3
Μεγάλη συγκέντρωση	35,1 ^{aA} ±2,9	30,2 ^{aBA} ±2,7	26,0 ^{βγB} ±1,9	21,0 ^{γI} ±1,0

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

A,B,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

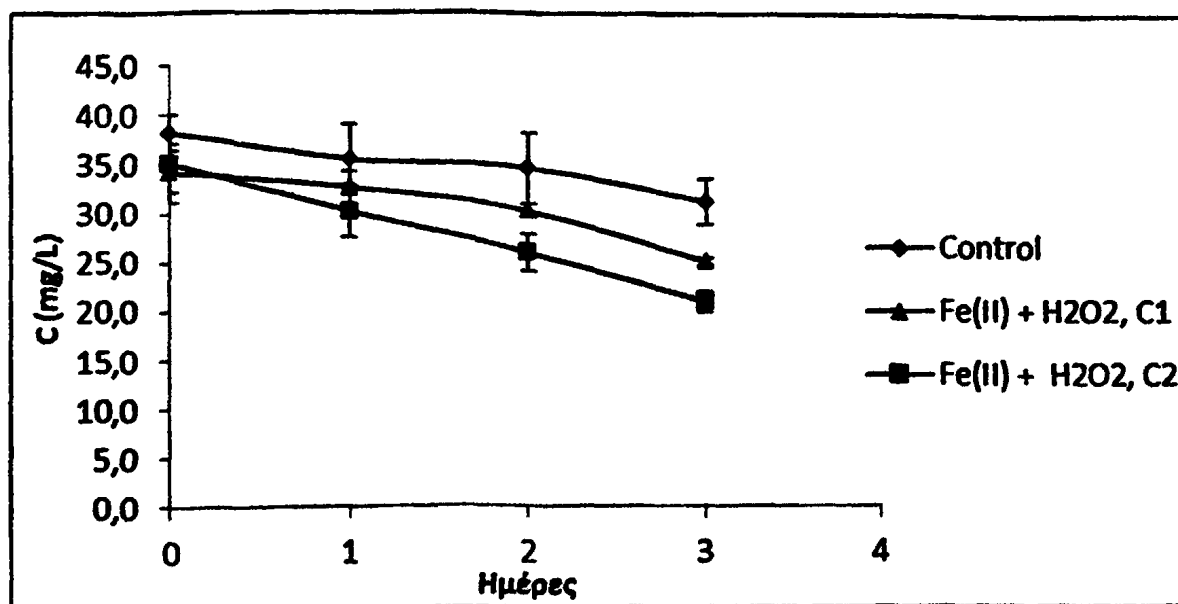
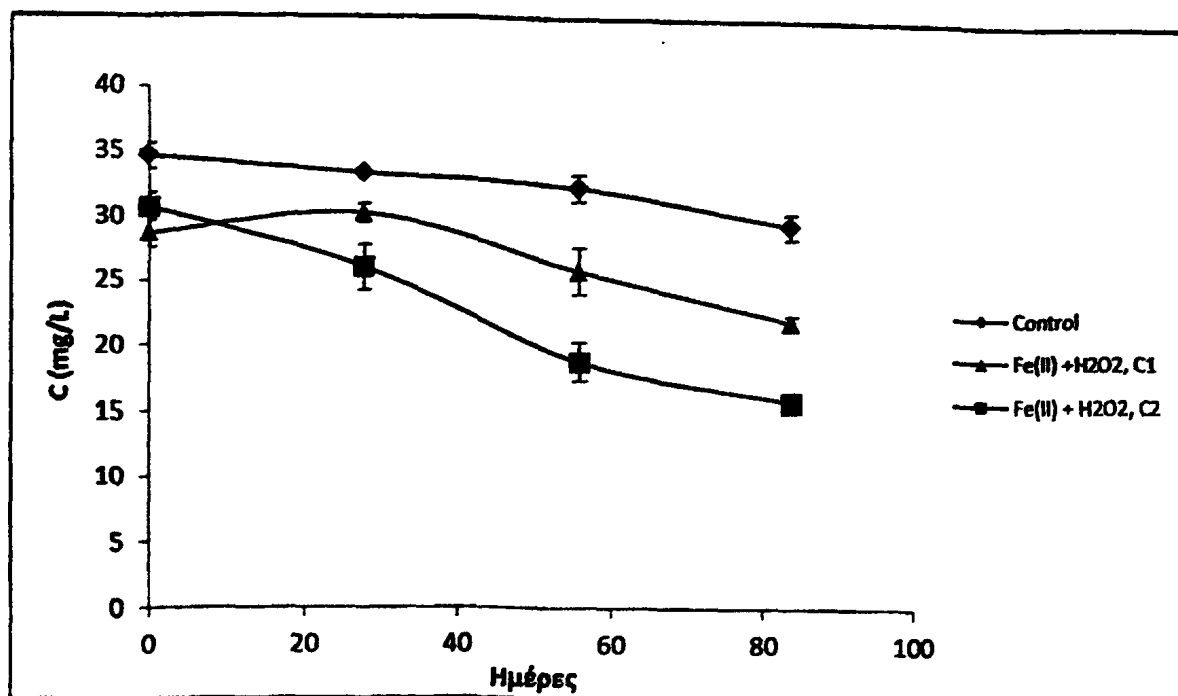
Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)

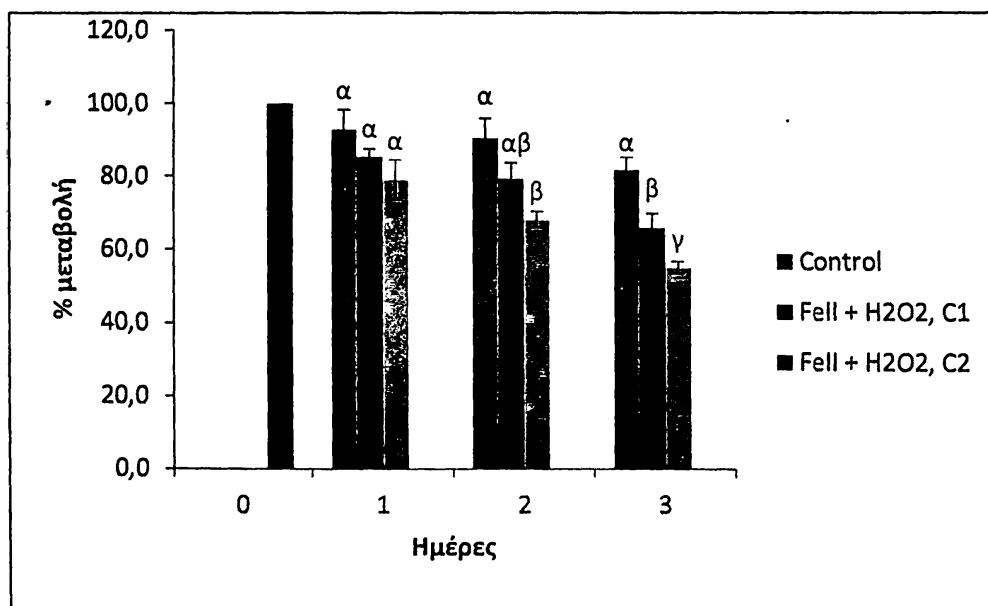
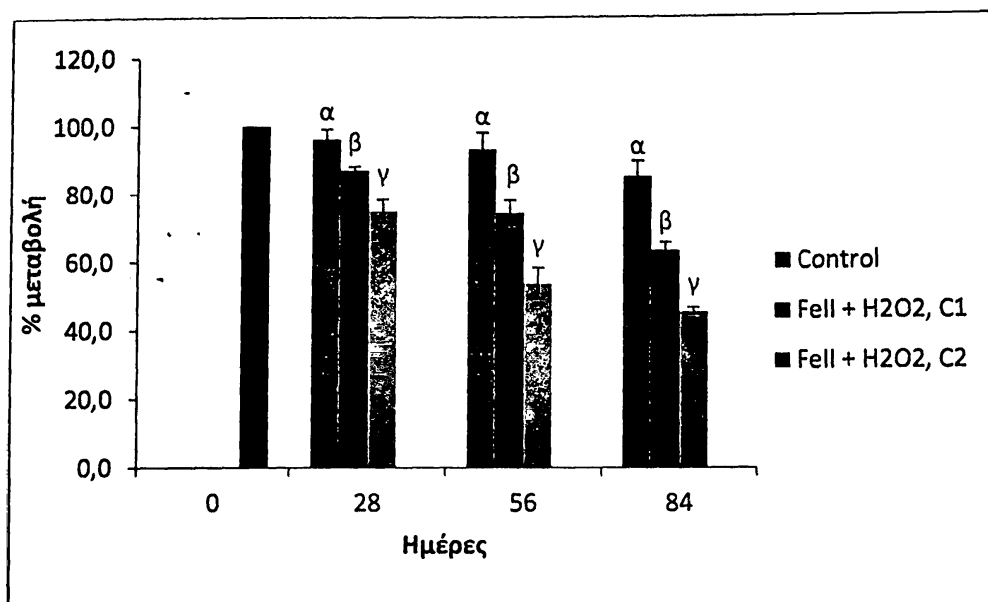


Σχήμα 9. Μεταβολή της συγκέντρωσης των φλαβονολών κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)



Σχήμα 10. Η % μεταβολή της συγκέντρωσης των φλαβονολών κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂ =0,63mM), 45°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂ =1,575mM)

Καθώς η οξείδωση (browning) συνδέεται με την οξείδωση των πολυφαινολών είναι εμφανές ότι τα υποστρώματα οξείδωσης, όπως οι ο-διφαινόλες, θα μπορούσαν να εμπλέκονται σε έναν ορισμένο βαθμό στην καστάνωση των λευκών οίνων.

Τα πιο σημαντικά πολυφαινολικά συστατικά στους λευκούς οίνους τόσο από την πλευρά της ποσότητας τους όσο και από την ικανότητα τους να συμμετέχουν σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής είναι οι φλαβανόλες. Οι φλαβανόλες ανήκουν στις φλαβονοειδείς φαινολικές ενώσεις. Συγκεκριμένα η οξείδωση των όρθο-διωδροξύ φαινολικών συστατικών, όπως η $+(-)$ κατεχίνη και $-(-)$ επικατεχίνη οδηγούν στο σχηματισμό καφέ προϊόντων κάτι το οποίο οφείλεται στο πολυμερισμό των όρθο-κινονών (Sioumis και συν., 2006, Salacha και συν., 2008, Guyot και συν., 1996, Fernandez-Zurbano και συν., 1995).

Η οξείδωση των λευκών οίνων συνδέεται με την οξείδωση πολυφαινολών. Έτσι, τα υποστρώματα οξείδωσης, όπως οι ο-διφαινόλες, εμπλέκονται στην καστάνωσή τους.

Στους 18°C, ο λευκός οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά παρουσίασε μείωση της συγκέντρωσης των φλαβανολών με το χρόνο αποθήκευσης του (Πίνακας 3, και Σχήμα 9).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση των φλαβανολών σε χρόνο 0 ήταν 34,6 mg/L, και μειώθηκε σε 32,3 mg/L την 54^η ημέρα και σε 29,5 mg/L την 84^η ημέρα.

Τα επίπεδα των ολικών φλαβανολών μειώνονται με το χρόνο κάτι το οποίο είναι σε συμφωνία με άλλους επιστήμονες (Recamales και συν., 2006), οι οποίοι διαπίστωσαν μείωση της συγκέντρωσης της ολικής κατεχίνης κατά την αποθήκευση λευκού οίνου σε θερμοκρασία 15-20°C για διάστημα 12 μηνών. Οι ερευνητές (Kallithraka και συν., 2009) διαπίστωσαν επίσης μείωση των ολικών φλαβανολών κατά την αποθήκευση λευκών οίνων σε θερμοκρασία 18-20°C για διάστημα 9 μηνών. Μείωση των επιπέδων της συγκέντρωσης της $+(-)$ κατεχίνης και $-(-)$ επικατεχίνης διαπιστώθηκε και από τους ερευνητές (Fernandez-Zurbano και συν., 1998) κατά τη διάρκεια αποθήκευσης λευκών οίνων για 3 μήνες σε θερμοκρασία 20°C. Παρόμοια αποτελέσματα αποδείχτηκαν και από τους (Vaimakis & Roussis, 1996, Vaimakis & Roussis, 1997) κατά την αποθήκευση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 15-20°C για 7 μήνες. Στις ίδιες συνθήκες οι (Vaimakis & Roussis, 1993) παρατήρησαν μείωση των επιπέδων της συγκέντρωσης της κατεχίνης για διάστημα 9 μηνών.

Στους 18°C, η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 αύξησε τη μείωση των φλαβανολών κατά τη διατήρηση του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 τόσο μεγαλύτερη ήταν και η πτώση της συγκέντρωσης των φλαβανολών (Πίνακας 3 και Σχήμα 9).

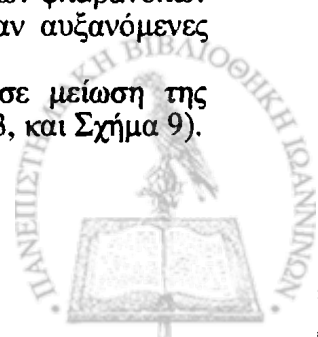
Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 28^η ημέρα είχε συγκέντρωση 30,2 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 84^η ημέρα (29,5). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 28^η ημέρα είχε συγκέντρωση 26,0 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 84^η ημέρα (29,5).

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 , στους διάφορους χρόνους διατήρησης, συνεπαγόταν και μείωση της συγκέντρωσης των φλαβανολών (Σχήμα 10).

Στο χρόνο 0 δεν αναμένονταν διαφορές με την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 . Όμως υπάρχουν (Πίνακας 3, και Σχήμα 9), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτερες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Δεν υφίσταται γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των φλαβανολών στα δείγματα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 .

Στους 45°C, ο λευκός οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά παρουσίασε μείωση της συγκέντρωσης των φλαβανολών με το χρόνο διατήρησής του (Πίνακας 3, και Σχήμα 9).



Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση των φλαβονολών σε χρόνο 0 ήταν 38,2 mg/L, και μειώθηκε σε 34,6 mg/L την 2^η ημέρα και σε 31,2 mg/L την 3^η ημέρα.

Γραμμική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του οίνου που υφίστανται οξείδωση στους 18°C και αυτού που οξειδώνεται στους 45°C, επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης των φλαβονολών έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των φλαβονολών στους 45°C και της συγκέντρωσης των φλαβονολών στους 18°C στον οίνο μάρτυρα Ροδίτη-Μαλαγουζιά ($r=0,988$, $p=0,012<0,05$).

Οι ερευνητές (Kallithraka και συν., 2009) διαπίστωσαν μείωση της συγκέντρωσης της ολικής κατεχίνης κατά την αποθήκευση λευκών οίνων σε θερμοκρασία 55°C για διάστημα 12 ημερών. Μείωση των συγκεντρώσεων της (+)(-)κατεχίνης και (-)(-) επικατεχίνης διαπιστώθηκε και από τους ερευνητές (Fernandez-Zurbano και συν., 1998) κατά τη διάρκεια αποθήκευσης λευκών οίνων για 8 ημέρες σε θερμοκρασία 50°C.

Στους 45°C, η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 αύξησε τη μείωση των φλαβονολών με το χρόνο διατήρησής του. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 τόσο μεγαλύτερη ήταν και η μείωση των φλαβονολών (Πίνακας 3, και Σχήμα 9).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 32,6 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (31,2). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 30,2 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που απέκτησε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (31,2).

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 την 2^η και 3^η ημέρα, συνεπαγόταν και μείωση της συγκέντρωσης των φλαβονολών (Σχήμα 10).

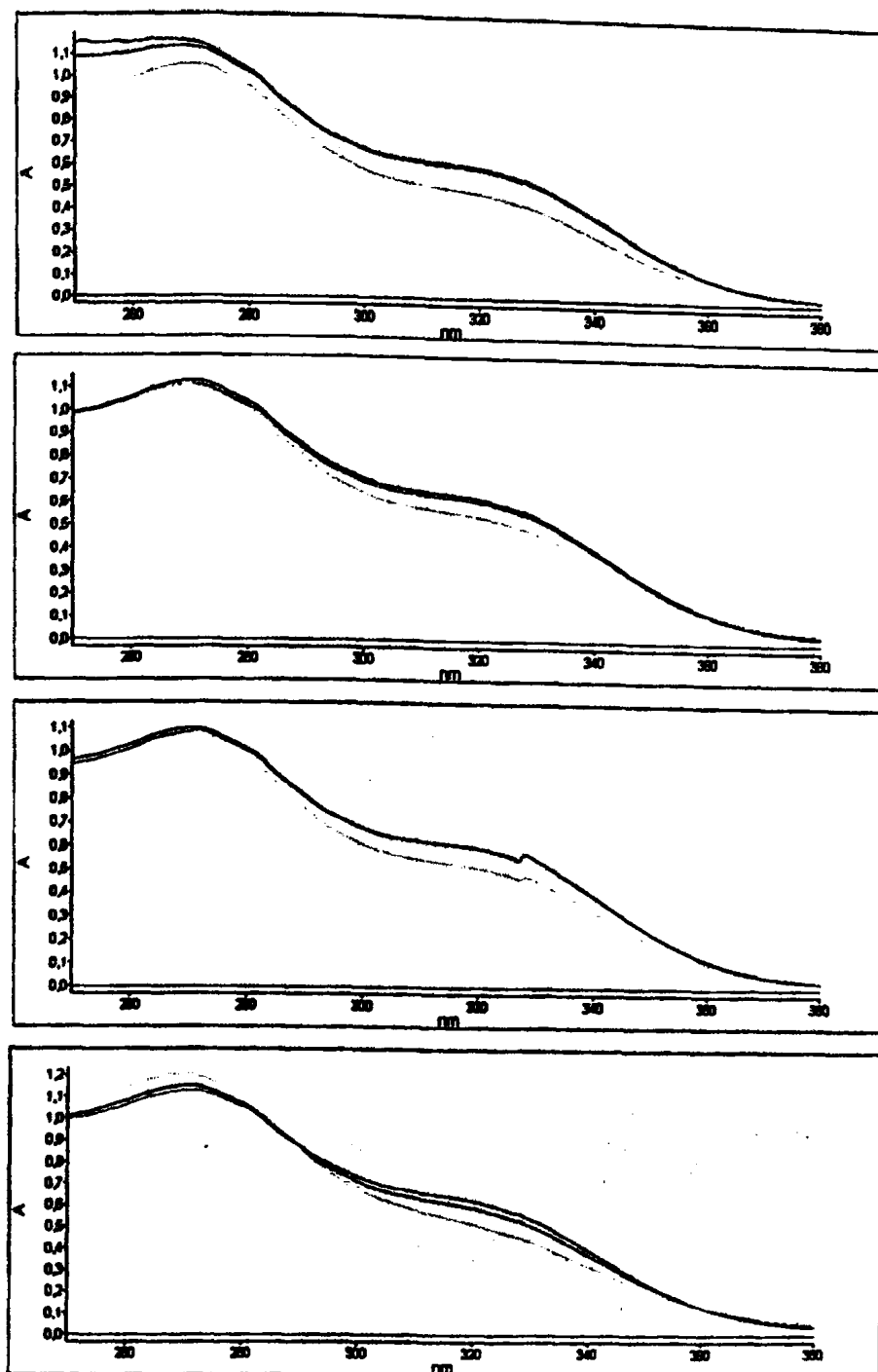
Στο χρόνο 0 δεν αναμένονταν διαφορές με την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 . Όμως υπάρχουν (Πίνακας 3, Σχήμα 9), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτατες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται μεταξύ της συγκέντρωσης των φλαβονολών στο δείγμα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης των φλαβονολών έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των φλαβονολών στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτά που προστέθηκαν η μικρή και η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για την πρώτη περίπτωση είναι ($r=0,973$, $p=0,027<0,05$) και για τη δεύτερη ($r=0,984$, $p=0,016<0,05$).



3. Υδροξυκινναμωμικά οξέα



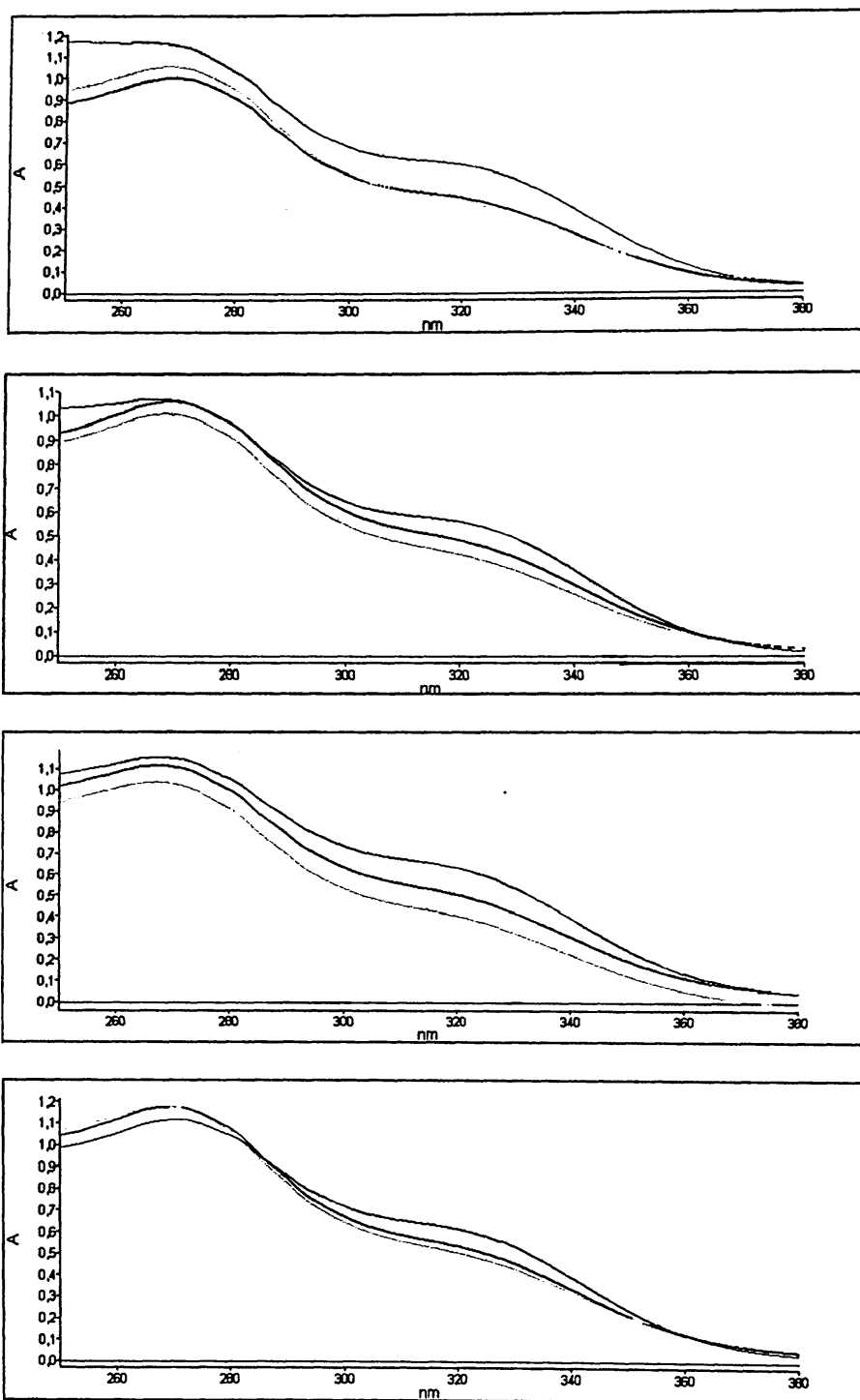
Σχήμα 11. Φάσματα υπεριώδους, λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά, αραιωμένου 1/10 με μοντέλο οίνου μετά τη διατήρηση του στους 18°C για 0, 28, 56, 84 ημέρες και με προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

18°C Μάρτυρας

18°C μ (FeCl₂·4H₂O=0,025mM / H₂O₂ =0,1575mM)

18°C M (FeCl₂·4H₂O= 0,10mM / H₂O₂= 0,63mM)

Ο χρόνος 0 επάνω και ακολουθούν με τη σειρά οι 28, 56, 84 ημέρες.



Σχήμα 12. Φάσματα υπεριώδους, οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά, αραιωμένου 1/10 με μοντέλο οίνου κατά τη διατήρηση του στους 45°C για 0, 1, 2, 3 ημέρες και με προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

45°C Μάρτυρας

45°C μ (FeCl₂·4H₂O=0,10mM / H₂O₂=0,25mM)

45°C M (FeCl₂·4H₂O= 0,25mM / H₂O₂= 1,575mM)

Ο χρόνος 0 επάνω και ακολουθούν με τη σειρά η 1^η, 2^η, 3^η ημέρα.

Πίνακας 4. Μεταβολή της συγκέντρωσης των υδροξυκιναμωμικών οξέων κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με την προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	28 ημέρες	56 ημέρες	84 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	64,9 ^{aA} ±0,0	64,6 ^{aA} ±0,0	66,3 ^{aA} ±0,0	64,5 ^{aA} ±0,0
Μικρή συγκέντρωση	64,6 ^{aA} ±0,0	66,4 ^{aA} ±0,0	66,5 ^{aA} ±0,0	64,2 ^{aA} ±0,0
Μεγάλη συγκέντρωση	53,6 ^{aB} ±0,0	58,9 ^{bB} ±0,0	59,3 ^{bB} ±0,0	57,7 ^{bB} ±0,0
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	60,9 ^{aA} ±0,0	64,3 ^{aA} ±0,0	64,9 ^{aA} ±0,0	65,9 ^{aA} ±0,0
Μικρή συγκέντρωση	53,6 ^{aA} ±0,0	54,2 ^{aB} ±0,1	59,8 ^{aA} ±0,1	60,9 ^{aAB} ±0,1
Μεγάλη συγκέντρωση	42,0 ^{aB} ±0,0	49,0 ^{bB} ±0,0	47,5 ^{bB} ±0,0	52,4 ^{bB} ±0,0

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

A,B,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

Σε όλα τα δείγματα έγινε αραίωση 1 προς 10 με μοντέλο οίνου.

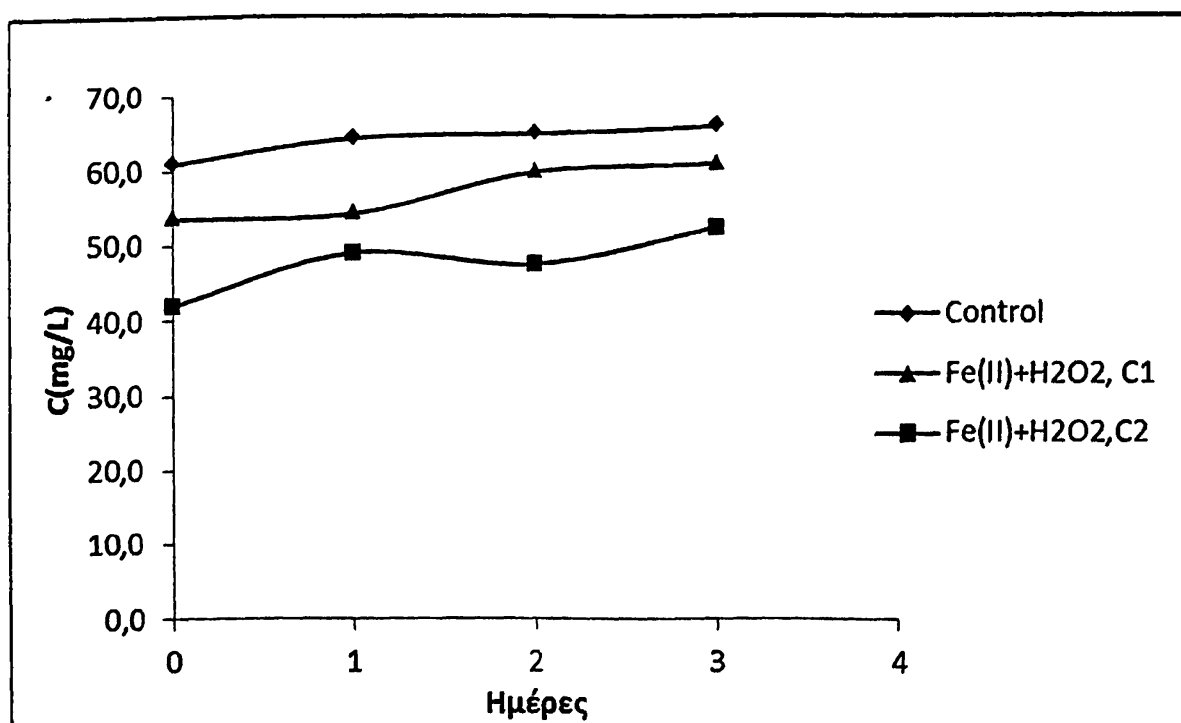
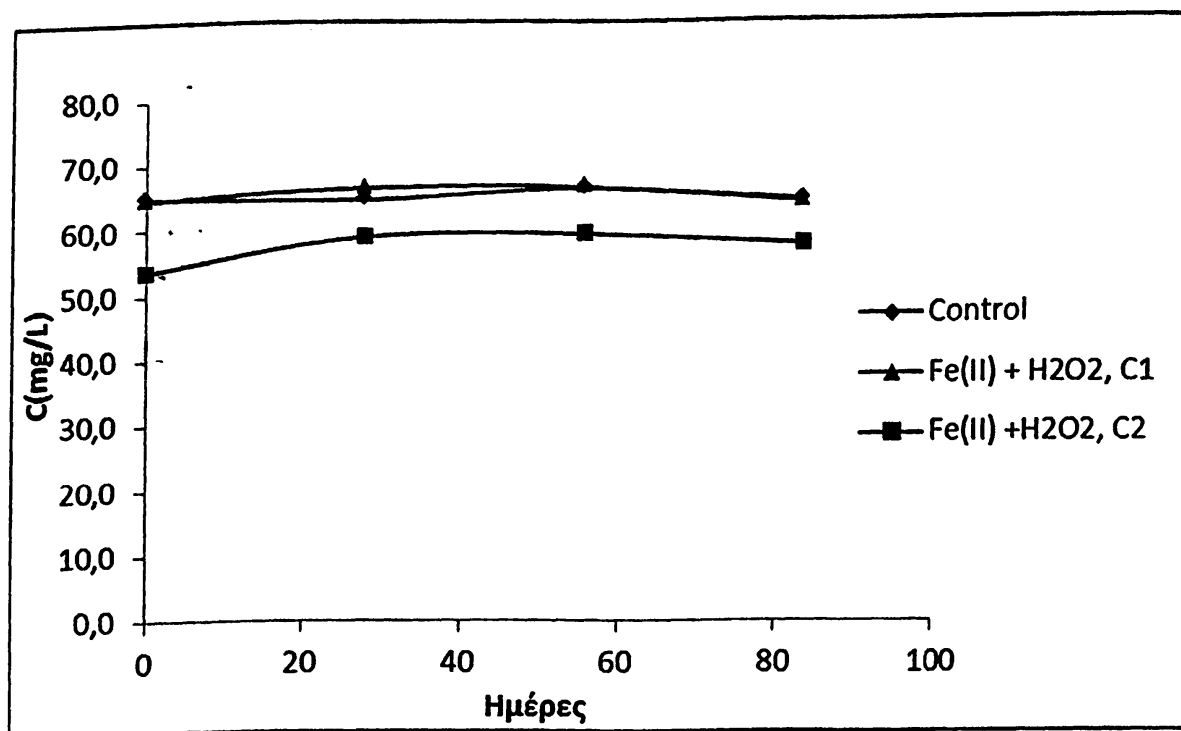
18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10Mm/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,25Mm/ H₂O₂=1,575mM)





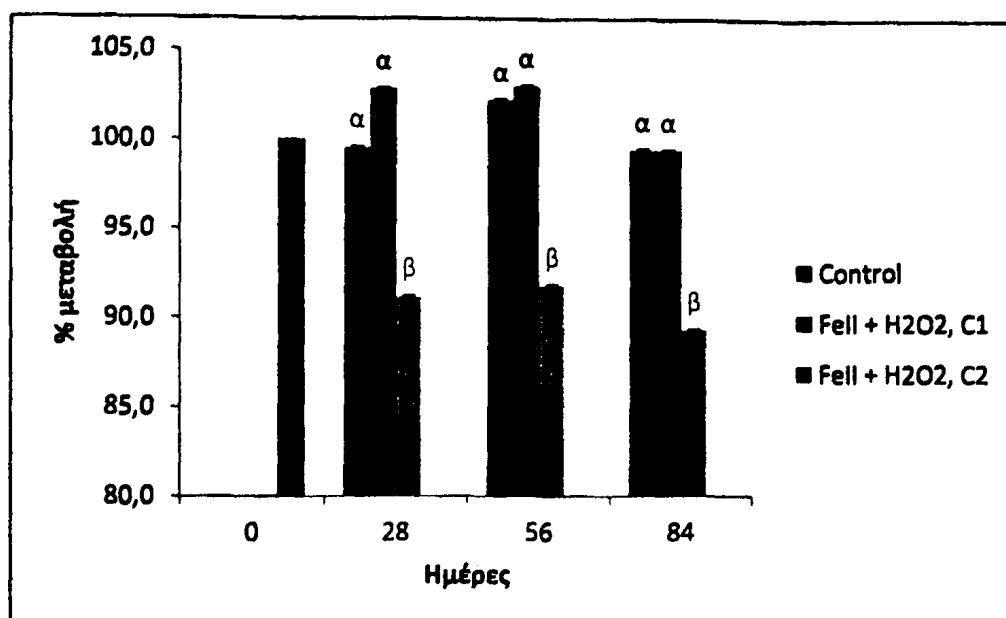
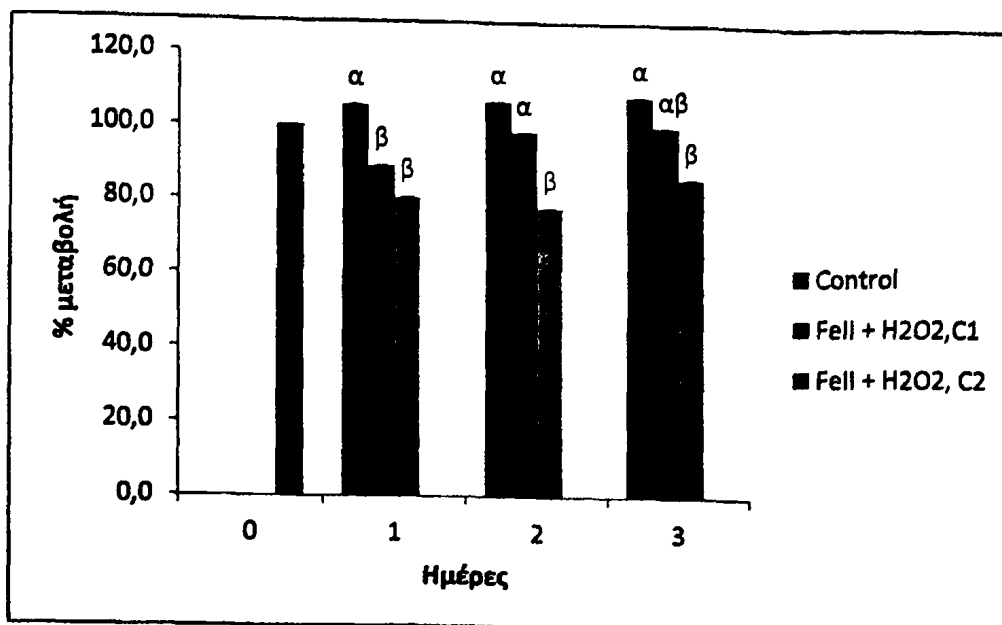
Σχήμα 13. Μεταβολή της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμικών οξέων κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)





Σχήμα 14. Η % μεταβολή της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)



Μια ομάδα σημαντικών πολυφαινολικών συστατικών στους λευκούς οίνους είναι τα υδροξυκινναμωμικά οξέα. Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα ανήκουν στην ομάδα των μη φλαβονοειδών φαινολικών συστατικών. Συγκεκριμένα η οξείδωση των υδροξυκινναμωμικών οξέων οδηγούν στο σχηματισμό καφέ προϊόντων κάτι το οποίο οφείλεται στο πολυμερισμό των όρθο-κινονών (Sioumis και συν., 2006, Salacha και συν., 2008, Guyot και συν., 1996, Fernandez-Zurbano και συν., 1995).

Τα πιο σημαντικά παράγωγα υδροξυκινναμωμικών οξέων που σχετίζονται με την οξείδωση των λευκών οίνων είναι οι εστέρες του τρυγικού οξέος (καφταρικό οξύ, κουταρικό οξύ, φερταρικό οξύ).

Παρόλο αυτά είναι γνωστό ότι το ποσοστό της οξείδωσης των λευκών οίνων δεν σχετίζεται απόλυτα με την ποσότητα των υδροξυκινναμωμικών οξέων. Οι ερευνητές (Fernandez-Zurbano και συν., 1995, Fernandez-Zurbano και συν., 1998) διαπίστωσαν χαμηλή συσχέτιση της συγκέντρωσης των παραγώγων των υδροξυκινναμωμικών οξέων με το ποσοστό οξείδωσης λευκών οίνων.

Η οξείδωση των υδροξυκινναμωμικών οξέων οδηγούν στο σχηματισμό καφέ προϊόντων, το οποίο οφείλεται στο πολυμερισμό των ο-κινονών (Sioumis και συν., 2006, Salacha και συν., 2008, Guyot και συν., 1996, Fernandez-Zurbano και συν., 1995).

Στους 18°C, ο λευκός οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων με το χρόνο διατήρησής του (Πίνακας 4 και Σχήμα 13).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση των υδροξυκινναμωμικών οξέων σε χρόνο 0 ήταν 64,9 mg/L, 66,3 mg/L την 54^η ημέρα και 64,5 mg/L την 84^η ημέρα.

Οι ερευνητές (Kallithraka και συν., 2009) παρατήρησαν μείωση των εστέρων του τρυγικού οξέος (καφταρικό οξύ, κουταρικό οξύ, φερταρικό οξύ) κατά τη διάρκεια αποθήκευσης των δειγμάτων των λευκών οίνων για διάστημα 9 μηνών στους 18-20°C. Επίσης διαπίστωσαν αύξηση των συγκεντρώσεων των υδροξυκινναμωμικών οξέων καφεϊκού οξέος, κουμαρικού οξέος και φερουλικών οξέων με το πέρασ των ημερών. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με τα ευρήματα των άλλων ερευνητών (Recamales και συν., 2006, Zafrilla και συν., 2003, Fernandez-Zurbano και συν., 1998), αλλά σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των (De Beer και συν., 2005, May n και συν., 1997), οι οποίοι παρατήρησαν μια αύξηση στη συγκέντρωση των εστέρων τρυγικού οξέος με το χρόνο αποθήκευσης.

Η επίδραση της οξείδωσης στα επίπεδα της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων αποτυπώθηκε και από τους (Vaimakis & Roussis, 1993). Συγκεκριμένα μείωση της απορρόφησης στα 320nm και επομένως και της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων παρατήρησαν οι (Vaimakis & Roussis, 1993) σε δείγμα λευκού οίνου Ντεμπίνα του οποίου το γλεύκος είχε προστεθεί O₂. Οι (Vaimakis & Roussis, 1997) παρατήρησαν επίσης μείωση της απορρόφησης στα 320nm, όπου απορροφούν τα υδροξυκινναμωμικά οξέα, σε δείγματα λευκού οίνου Ντεμπίνα, του οποίου το γλεύκος είχε υποστεί θέρμανση στους 50°C για 5min.

Στους 18°C, η προσθήκη μίγματος με τη μικρότερη συγκέντρωση FeCl₂·4H₂O και H₂O₂ δεν επέφερε σημαντική στατιστική διαφορά των υδροξυκινναμωμικών οξέων με το χρόνο διατήρησής του (Πίνακας 4 και Σχήμα 13).

Στους 18°C, η προσθήκη μίγματος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση FeCl₂·4H₂O και H₂O₂ επέφερε μείωση των υδροξυκινναμωμικών οξέων ήδη από την 28^η ημέρα (Πίνακας 4). Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος



$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 C2 την 28^η ημέρα είχε συγκέντρωση 58,9 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 84^η ημέρα (64,5).

Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 δεν αναμένονταν διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακας 4, και Σχήματα 11,13), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτατες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Από τα φάσματα στην υπεριώδη ακτινοβολία, σε θερμοκρασία 18°C, προέκυψε ότι οι απορροφήσεις στην περιοχή των 320 nm μειώνονταν με την προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (Σχήμα 11).

Δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των υδροξυκιναμωμικών οξέων στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτά που προστέθηκαν η μικρή και η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 .

Στους 45°C, ο λευκός οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά που μελετήθηκε (μάρτυρας) δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή των υδροξυκιναμωμικών οξέων με το χρόνο διατήρησής του (Πίνακας 4 και Σχήμα 13).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση των υδροξυκιναμωμικών οξέων σε χρόνο 0 ήταν 60,9 mg/L, 64,9 mg/L την 2^η ημέρα και 65,9 mg/L την 3^η ημέρα.

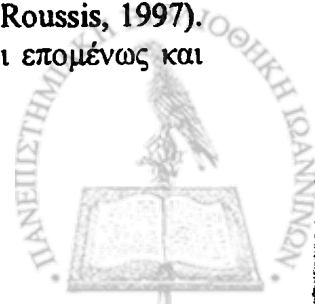
Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των υδροξυκιναμωμικών οξέων στους 45°C και της μεταβολής της συγκέντρωσης των υδροξυκιναμωμικών οξέων στους 18°C στον οίνο μάρτυρα Ροδίτη-Μαλαγουζιά ($r=0,076$, $p=0,924$).

Στους 45°C, η προσθήκη μίγματος με τη μικρότερη συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά δεν επέφερε σημαντική στατιστική διαφορά των υδροξυκιναμωμικών οξέων με το χρόνο διατήρησής του (Πίνακας 4 και Σχήμα 13).

Στους 45°C, η προσθήκη μίγματος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 επέφερε μείωση των υδροξυκιναμωμικών οξέων ήδη από την 1^η ημέρα (Πίνακας 4). Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 C2 την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 49,0 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (65,9).

Σχετικά με την επίδραση του χρόνου αποθήκευσης στη συγκέντρωση των επιπέδων των υδροξυκιναμωμικών οξέων οι ερευνητές (Kallithraka και συν., 2009) παρατήρησαν ότι οι εστέρες των υδροξυκιναμωμικών οξέων (καφταρικό οξύ, κουταρικό οξύ και φερταρικά οξέα) παρέμειναν ανεπηρέαστοι ύστερα από ένα τεστ επιταχυνόμενης οξειδωσης στους 55°C για διάστημα 12 ημερών. Οι ερευνητές (Fernandez-Zurbano και συν., 1998) παρατήρησαν μείωση των παραγώγων των υδροξυκιναμωμικών οξέων κατά την αποθήκευση λευκών οίνων για διάστημα 8 ημερών σε θερμοκρασία 55°C. Αντίθετα αύξηση της συγκέντρωσης των παραγώγων των υδροξυκιναμωμικών οξέων διαπίστωσαν οι ερευνητές (Mayn και συν., 1997) κατά τη διάρκεια αποθήκευσης λευκών οίνων για διάστημα 12 εβδομάδων σε θερμοκρασία 50°C.

Η επίδραση της οξειδωσης στα επίπεδα της συγκέντρωσης των υδροξυκιναμωμικών οξέων αποτυπώθηκε και από τους (Vaimakis και Roussis, 1997). Συγκεκριμένα, παρατήρησαν μείωση της απορρόφησης στα 320nm και επομένως και



της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων σε δείγμα λευκού οίνου Ντεμπίνα, του οποίου το γλεύκος είχε υποστεί θέρμανση στους 50°C για 5 min.

Από τα φάσματα στην υπεριώδη ακτινοβολία, σε θερμοκρασία 45°C, προέκυψε ότι οι απορροφήσεις στην περιοχή των 320 nm μειώνονταν με την προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (Σχήμα 12).

Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 δεν αναμένονταν διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακας 4, και Σχήματα 12,13), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτατες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται μεταξύ της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και στο δείγμα στο οποίο προστέθηκε η μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 ($r=0,951$, $\rho=0,049<0,05$). Αντίθετα δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των υδροξυκινναμωμικών οξέων στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και στο δείγμα στο οποίο προστέθηκε η μικρότερη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 .



4. Αντιοξειδωτική δράση (μέθοδος Folin)

Πίνακας 5. Μεταβολή της αντιοξειδωτικής δράσης (μέθοδος Folin) κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με την προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	28 ημέρες	56 ημέρες	84 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	336,1 ^{aA} ±24,1	283,9 ^{bA} ±4,5	281,0 ^{bA} ±0,8	265,2 ^{bA} ±1,1
Μικρή συγκέντρωση	348,7 ^{aA} ±9,3	274,9 ^{bA} ±1,4	253,0 ^{bB} ±6,2	256,4 ^{bB} ±2,7
Μεγάλη συγκέντρωση	329,6 ^{aA} ±21,6	275,2 ^{bA} ±5,3	248,5 ^{bB} ±3,4	247,9 ^{bB} ±1,4
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	315,2 ^{aA} ±14,1	301,2 ^{aB} ±15,5	273,6 ^{bA} ±17,0	271,8 ^{bA} ±7,1
Μικρή συγκέντρωση	293,3 ^{aA} ±8,8	274,2 ^{aA} ±23,5	268,2 ^{aA} ±4,0	256,1 ^{aA} ±11,10
Μεγάλη συγκέντρωση	288,2 ^{aB} ±4,0	271,2 ^{aA} ±26,2	263,9 ^{aA} ±1,9	243,9 ^{aA} ±27,2

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

A,B,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

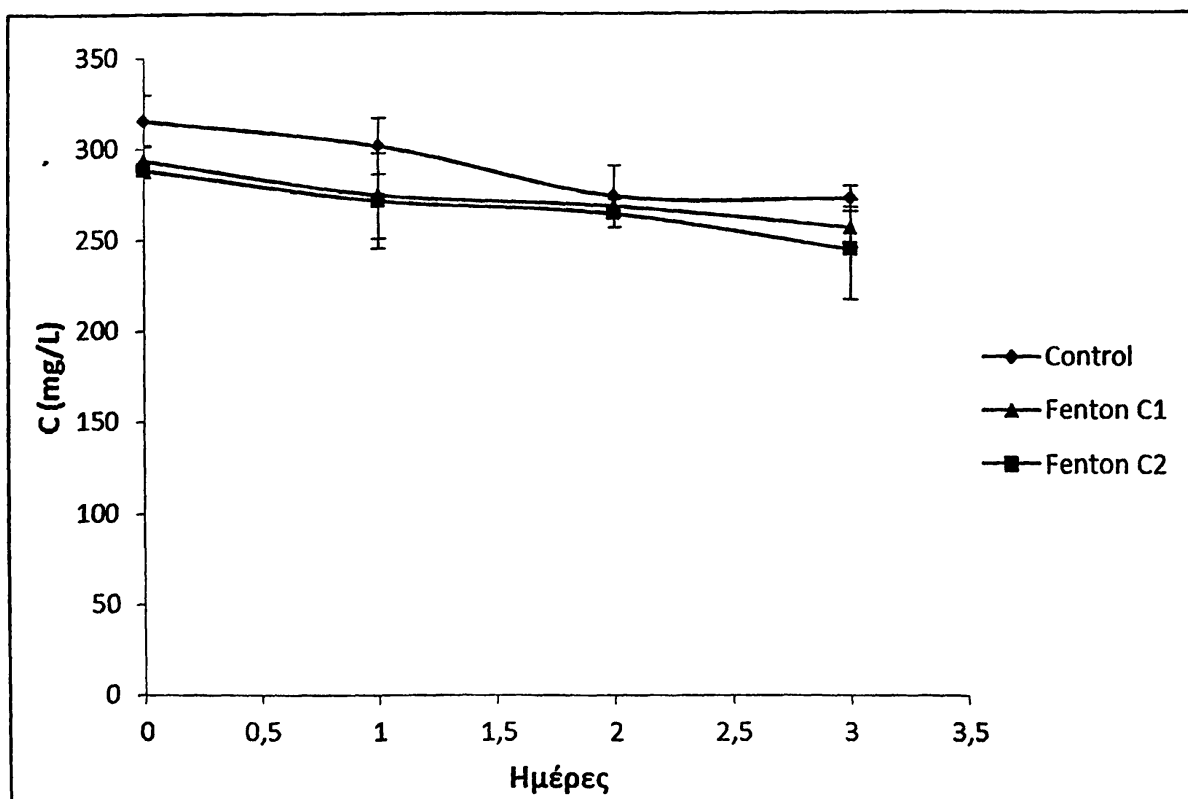
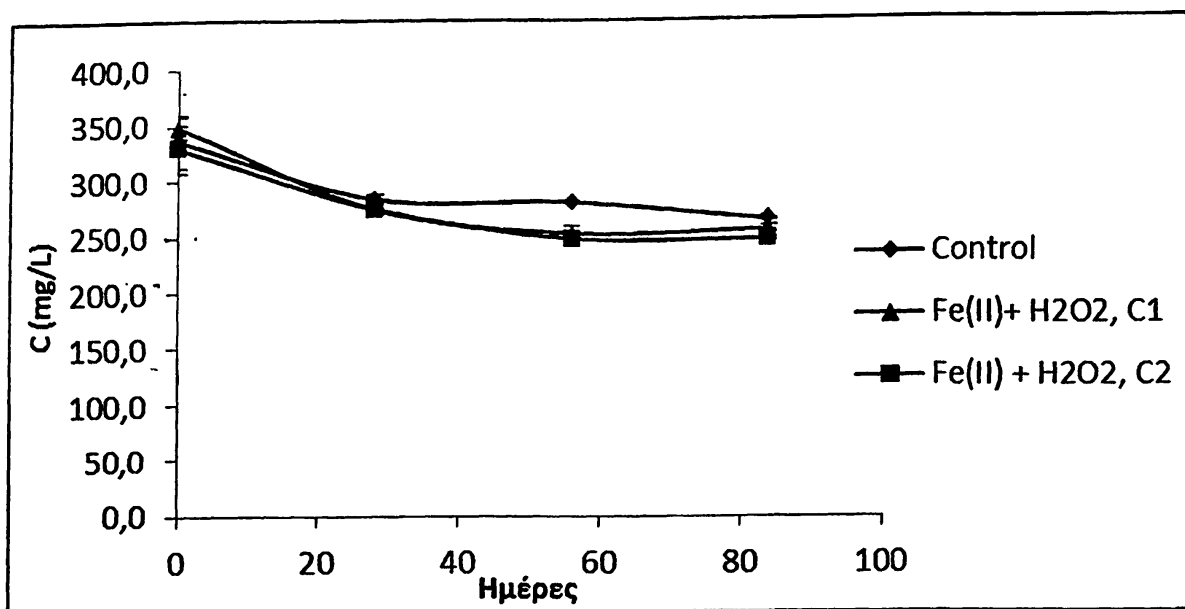
18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10Mm/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,25Mm/ H₂O₂=1,575mM)





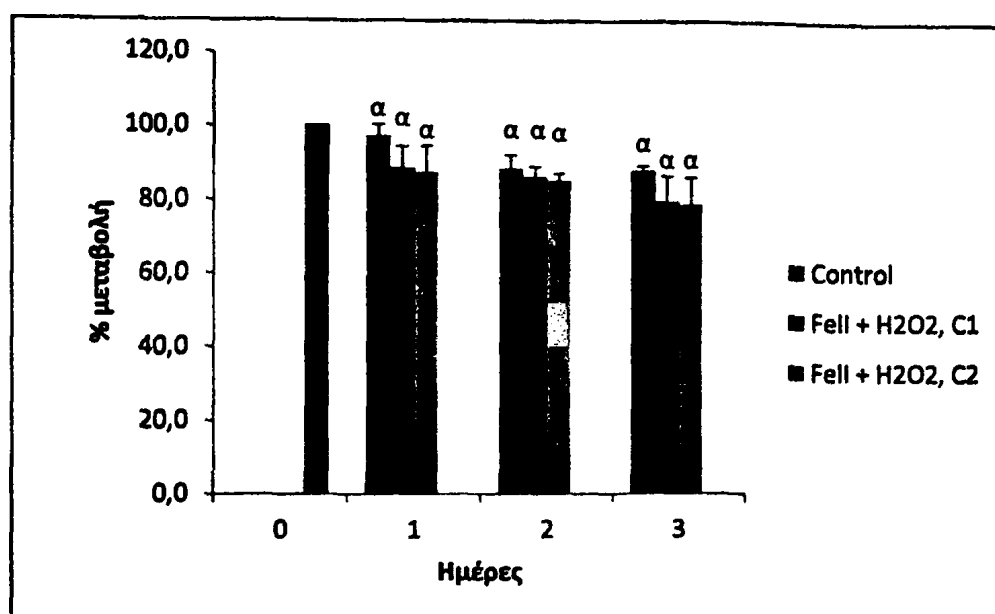
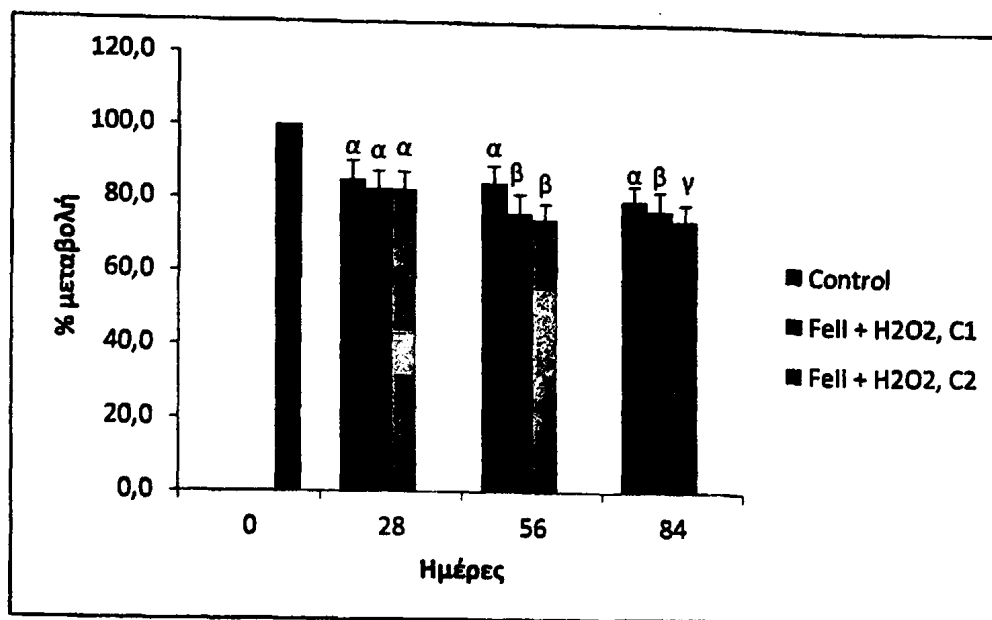
Σχήμα 15. Μεταβολή της αντιοξειδωτικής δράσης (μέθοδος Folin) κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)





Σχήμα 16. Η % μεταβολή της αντιοξειδωτικής δράσης (μέθοδος Folin) κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)

Μία από τις μεθόδους αποτίμησης της αντιοξειδωτικής δράσης των λευκών οίνων είναι η μέθοδος Folin – Ciocalteu. Η μέθοδος Folin – Ciocalteu εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου των οίνων και επομένως και της αντιοξειδωτικής δράσης αυτών. Η συσχέτιση μεταξύ της αντιοξειδωτικής δράσης και των ολικών φαινολικών επισημάνθηκε από τους ερευνητές (Makris και συν., 2003, Salacha και συν., 2008, ADAMS & LIYANAGE, 1993, Kallithraka και συν., 2009). Αυτό οφείλεται στην πολυλειτουργικότητα των φαινολών, οι οποίες λειτουργούν τόσο ως δότες υδρογόνου όσο και ως αναγωγικά μέσα.

Εκτός από τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, η μέθοδος DPPH και ABTS χρησιμοποιήθηκαν επίσης για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης στους οίνους.

Στη μέθοδο DPPH μετριέται η ικανότητα του αντιοξειδωτικού να δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες του αντιδραστήριου DPPH (Brand-Williams και συν., 1995). Η μέθοδος ABTS (2,2'-αζινο-δι(3-αιθυλοβενζο-θειοζολιν-6-σουλφονικό οξύ) βασίζεται στη μέτρηση του κατιόντος της ρίζας ABTS⁺ το οποίο προκύπτει μετά από οξείδωση του ABTS από υπεροξειδικές ρίζες ή άλλα οξειδωτικά μέσα. Το κατιόν αυτό παρουσιάζει έντονη απορρόφηση μεταξύ 600-700 nm και μπορεί να προσδιοριστεί πολύ εύκολα φασματοφωτομετρικά (Miller και συν., 1993).

Στην παρούσα μελέτη για αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των οίνων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Folin.

Στους 18°C, ο λευκός οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά που μελετήθηκε (μάρτυρας) παρουσίασε μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης με το χρόνο διατήρησής του (Πίνακας 5, και Σχήμα 15).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η αντιοξειδωτική δράση ήταν 333,5 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 281,0 mg/L την 54^η ημέρα και σε 265,2 mg/L την 84^η ημέρα.

Μείωση των ολικών φαινολικών και κατά συνέπεια της αντιοξειδωτικής δράσης διαπιστώθηκε από τα πειράματα των (Recamales και συν., 2006, Benítez και συν., 2002b), όπου η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών μειώθηκε με το χρόνο κατά τη διάρκεια αποθήκευσης λευκών οίνων για διάστημα 12 μηνών. Την ίδια διαπίστωση έκαναν και οι (Vaimakis & Roussis, 1996, Vaimakis & Roussis, 1997) κατά την αποθήκευση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 15-20°C για 7 μήνες. Στις ίδιες συνθήκες οι (Vaimakis & Roussis, 1993) παρατήρησαν μείωση των επιπέδων της αντιοξειδωτικής δράσης για 9 μήνες.

Μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης, υπολογισμένη με τις μεθόδους DPPH και ABTS, διαπίστωσαν και οι (De Beer και συν., 2005) στα πειράματα τους σε λευκούς οίνους στους 15°C για μια περίοδο 12 μηνών. Οι ίδιοι ερευνητές παρατήρησαν επίσης στο ίδιο πείραμα μείωση των ολικών φαινολικών.

Από την άλλη μεριά οι ερευνητές (Kallithraka και συν., 2009) διαπίστωσαν αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης κατά τη διάρκεια αποθήκευσης λευκών οίνων για 9 μήνες σε θερμοκρασία 20°C. Η αντιοξειδωτική δράση σε αυτή τη περίπτωση μελετήθηκε με τη μέθοδο DPPH. Βέβαια εν αντιθέσει με την αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης, οι (Kallithraka και συν., 2009) διαπίστωσαν στο ίδιο πείραμα μείωση των ολικών φαινολικών.

Μια παρόμοια αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρήθηκε και από τους ερευνητές (Larrauri και συν., 1999).

Καθώς ωριμάζει το κρασί, η οξειδωτική μετατροπή των φαινολικών συστατικών έχει ως αποτελέσματα τη συμπύκνωσή τους. Ωστόσο ο αριθμός των ενεργών ομάδων – OH που υπεύθυνες για την αντιοξειδωτική δράση παραμένει αμετάβλητη (Roginski και συν., 2006). Έτσι αυτό θα μπορούσε να είναι μια πιθανή εξήγηση για την παρατηρούμενη αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης με το χρόνο αποθήκευσης. Επιπλέον η αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης μπορεί να αποδοθεί στην υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων της φαινολικής συμπυκνώσεως, όπως τα πολυμερή τανινών, καθώς εμφανίζουν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από τις αρχικές μονομερείς ενώσεις (Roginski και συν., 2006, Hagerman και συν., 1998).



Οι παραπάνω διαφωνίες μπορεί να οφείλονται στις διαφορετικές τεχνικές οινοποίησης, όπως και ωρίμασης των οίνων. Επιπλέον οι διαφορετικές μέθοδοι προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης μπορεί να δίνουν διαφορετικά αποτελέσματα.

Στους 18°C, η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 επιτάχυνε τη μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης με το χρόνο αποθήκευσης (Πίνακας 5, και Σχήμα 15).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 28^η ημέρα είχε αντιοξειδωτική δράση 274,9 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 54^η ημέρα (281,0). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 28^η ημέρα είχε αντιοξειδωτική δράση 275,2 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 54^η ημέρα (281,0).

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 , την 56^η και 84^η ημέρα αποθήκευσης, συνεπαγόταν και μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης (Σχήμα 16).

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται, στις περισσότερες περιπτώσεις, μεταξύ της αντιοξειδωτικής δράσης στο δείγμα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της αντιοξειδωτικής δράσης έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της αντιοξειδωτικής δράσης στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτά που προστέθηκαν η μικρή και η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για την πρώτη περίπτωση είναι ($r=0,970$, $\rho=0,030<0,05$) και για τη δεύτερη ($r=0,966$, $\rho=0,034<0,05$).

Στους 45°C, ο λευκός οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά που μελετήθηκε (μάρτυρας) παρουσίασε μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης με το χρόνο διατήρησής του (Πίνακας 5, και Σχήμα 15).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η αντιοξειδωτική δράση ήταν 315,2 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 273,6 mg/L την 2^η ημέρα και σε 271,8 mg/L την 3^η ημέρα.

Γραμμική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του οίνου που υφίστανται οξείδωση στους 18°C και αυτού που οξειδώνεται στους 45°C, επισημαίνοντας ότι η διαφορά της αντιοξειδωτικής δράσης έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της αντιοξειδωτικής δράσης στους 45°C και της αντιοξειδωτικής δράσης στους 18°C στον οίνο μάρτυρα Ροδίτη-Μαλαγουζιά ($r=0,996$, $\rho=0,004<0,01$).

Μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, υπολογισμένης με τη μέθοδο DPPH και ABTS, διαπιστώθηκε από τους ερευνητές (Pereira και συν., 2013) κατά την αποθήκευση λευκών οίνων για τρεις μήνες στους 45°C.

Εν αντιθέσει με τα παραπάνω αποτελέσματα είναι αυτά των (Kallithraka και συν., 2009), οι οποίοι παρατήρησαν ότι κατά την αποθήκευση λευκών οίνων για μια περίοδο 12 ημερών υπό θερμοκρασία 55°C αυξήθηκε η αντιοξειδωτικής δράση. Η αντιοξειδωτική δράση σε αυτή την περίπτωση υπολογίστηκε με τη μέθοδο DPPH.

Στους 45°C, η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 προκάλεσε μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης με το χρόνο διατήρησης του οίνου (Πίνακας 5, και Σχήμα 15).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 1^η ημέρα είχε αντιοξειδωτική δράση 274,2 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 2^η ημέρα (273,6). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 1^η ημέρα είχε αντιοξειδωτική δράση 271,2 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (271,8).

Δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ της αντιοξειδωτικής δράσης στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτά που προστέθηκαν η μικρή και η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 .



5. Ολικές σουλφρυδυλομάδες

Πίνακας 6. Μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με την προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	28 ημέρες	56 ημέρες	84 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	316,9 ^{aA} ±8,9	263,0 ^{bA} ±6,0	230,6 ^{γA} ±5,5	147,0 ^{δA} ±0,8
Μικρή συγκέντρωση	309,1 ^{aAB} ±13,0	205,5 ^{βB} ±0,00	166,7 ^{γB} ±1,6	115,1 ^{δB} ±3,6
Μεγάλη συγκέντρωση	283,6 ^{aB} ±7,3	177,6 ^{βI} ±2,1	152,5 ^{γI} ±1,6	105,9 ^{δB} ±5,2
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	397,3 ^{aA} ±23,1	328,8 ^{βA} ±8,3	276,3 ^{γA} ±26,8	202,7 ^{δA} ±5,5
Μικρή συγκέντρωση	280,4 ^{aB} ±40,2	214,2 ^{βB} ±5,5	158,0 ^{γB} ±5,7	106,9 ^{γB} ±4,1
Μεγάλη συγκέντρωση	277,6 ^{aB} ±17,5	205,0 ^{βB} ±3,2	156,6 ^{γB} ±3,2	102,3 ^{δB} ±7,8

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

A,B,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

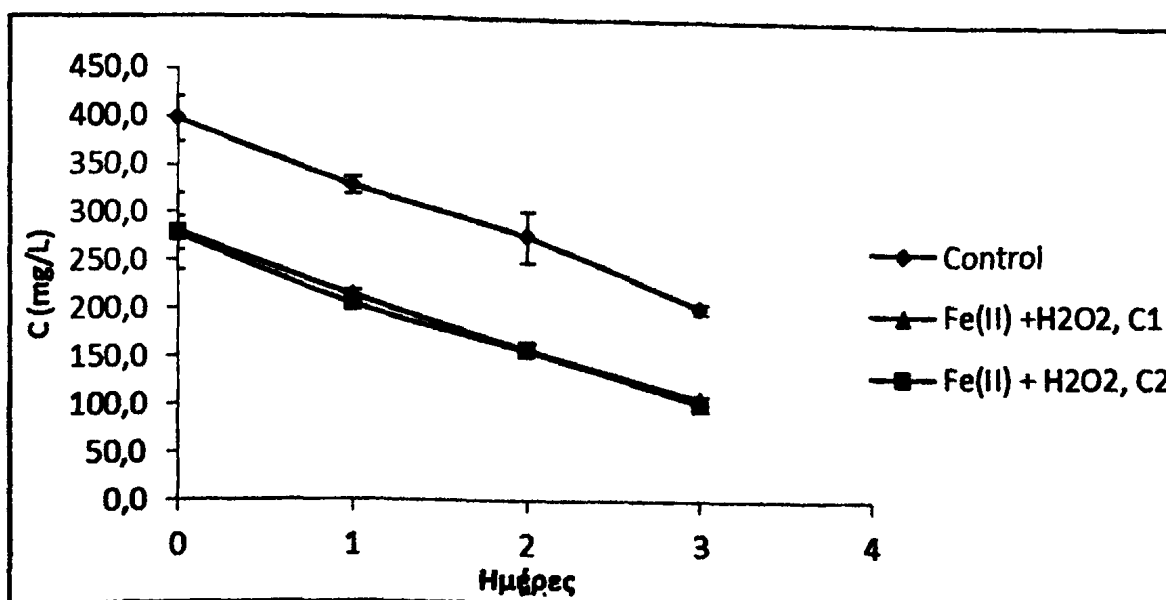
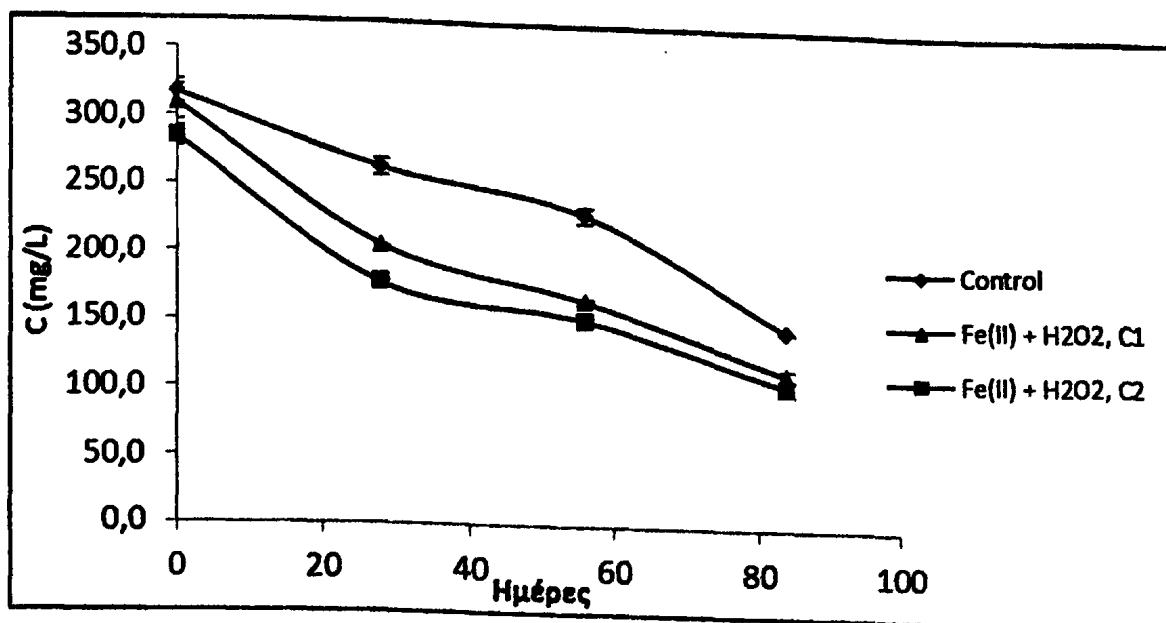
18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)



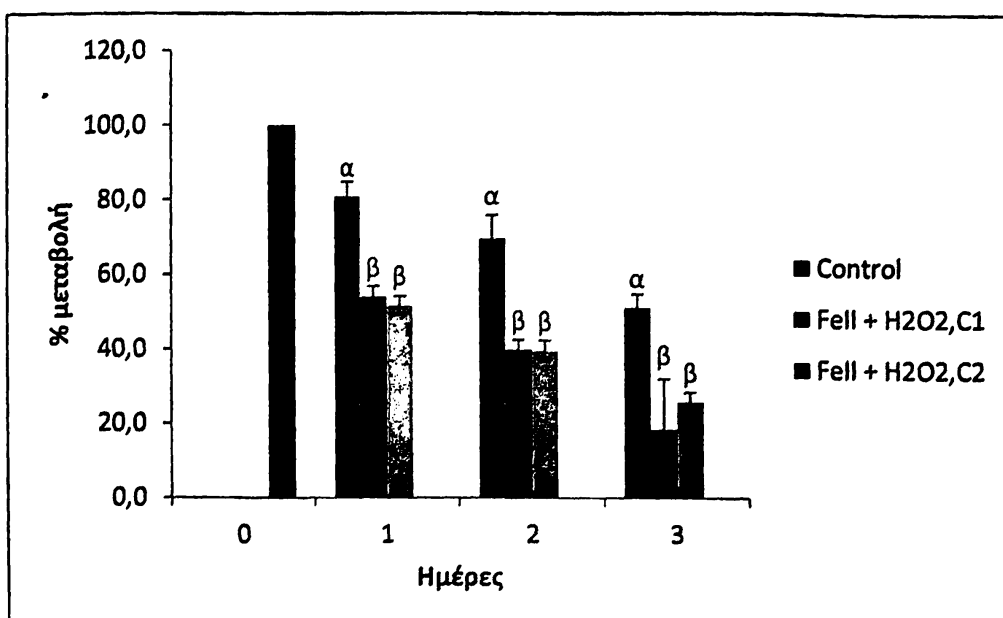
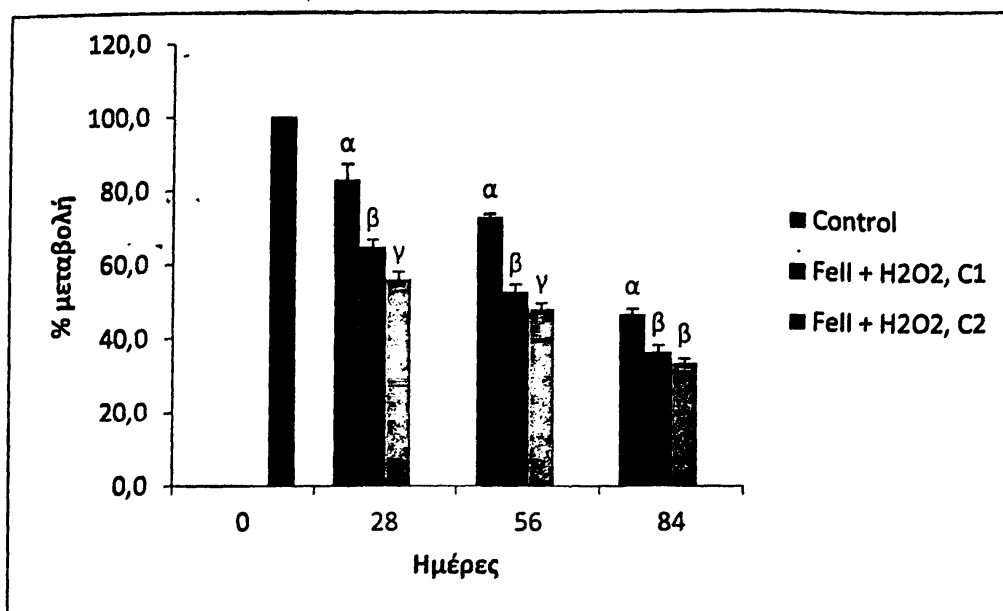


Σχήμα 17. Μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)



Σχήμα 18. Η % μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)

Λόγω της ευαισθησίας της γλουταθειόνης στην οξείδωση έχει προταθεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της οξείδωσης (du Toit και συν., 2007). Ο (Du Toit και συν., 2007) εξέτασαν την επίδραση των αναγωγικών και οξειδωτικών επεξεργασιών σχετικά με την συγκέντρωση της γλουταθειόνης στο λευκό χυμό σταφυλιών και διαπίστωσαν ότι οι αναγωγικές επεξεργασίες απέδωσαν τα υψηλότερα ποσοστά γλουταθειόνης. Οι επεξεργασίες που εκτέθηκαν σε περίπου 1,0-1,5 mg/L οξυγόνου οδήγησαν σε σημαντικά χαμηλότερες περιεκτικότητες της γλουταθειόνης ακόμη και υπό την παρουσία 60 mg/L SO₂. Οι συγκεντρώσεις της γλουταθειόνης μειώθηκαν δραστικά σε οξειδωτικές επεξεργασίες. Οι ερευνητές (Ugliano και συν., 2011) παρατήρησαν επίσης μείωση της συγκέντρωσης της γλουταθειόνης κατά την αποθήκευση λευκού οίνου Sauvignon blanc.

Μεταξύ των πεπτιδίων με ελεύθερη σουλφρυδυλομάδα η γλουταθειόνη έχει προταθεί ως δείκτης της οξείδωσης οίνων (du Toit και συν., 2007).

Στους 18°C, ο λευκός οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά που μελετήθηκε (μάρτυρας) παρουσίασε μείωση της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων με το χρόνο διατήρησής του (Πίνακας 6, Σχήμα 17).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση των ολικών σουλφρυδυλομάδων ήταν 316,9 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 230,6 mg/L την 54^η ημέρα και σε 147,0 mg/L την 84^η ημέρα.

Στους 18°C, η προσθήκη μίγματος FeCl₂·4H₂O και H₂O₂ αύξανε τη μείωση των ολικών σουλφρυδυλομάδων με το χρόνο διατήρησης του οίνου. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος FeCl₂·4H₂O και H₂O₂ τόσο μεγαλύτερη ήταν η μείωση της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων (Πίνακας 6, και Σχήμα 17).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος FeCl₂·4H₂O και H₂O₂ (C1) την 28^η ημέρα είχε συγκέντρωση 205,5 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 54^η ημέρα (230,6). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος FeCl₂·4H₂O και H₂O₂ (C2) την 28^η ημέρα είχε συγκέντρωση 177,6mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 84^η ημέρα (147,0).

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος FeCl₂·4H₂O και H₂O₂, στους διάφορους χρόνους διατήρησης, συνεπαγόταν και μείωση της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων (Σχήμα 18).

Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος FeCl₂·4H₂O και H₂O₂ δεν αναμένονταν διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακας 6, Σχήμα 17), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτερες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται, στις περισσότερες περιπτώσεις, μεταξύ της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων στο δείγμα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H₂O₂, επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτό που προστέθηκε η μικρή συγκέντρωση μίγματος FeII και H₂O₂ (r=0,954, ρ=0,046<0,05). Αντίθετα δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτό που προστέθηκε η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H₂O₂ (r=0,938, ρ=0,062).

Στους 45°C, ο λευκός οίνος που μελετήθηκε (μάρτυρας) παρουσίασε μείωση της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων με το χρόνο διατήρησής του (Πίνακας 6, Σχήμα 17).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση των ολικών σουλφρυδυλομάδων ήταν 397,3mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 281,7 mg/L την 2^η ημέρα και σε 202,7 mg/L την 3^η ημέρα.



Γραμμική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του οίνου που υφίσταται οξείδωση στους 18°C και αυτού που οξειδώνεται στους 45°C, επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων στους 45°C και της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων στους 18°C στον οίνο μάρτυρα Ροδίτη-Μαλαγουζιά ($r=0,992$, $\rho=0,008<0,01$).

Στους 45°C, η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 αύξανε τη μείωση των ολικών σουλφρυδυλομάδων με το χρόνο διατήρησης του οίνου. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 τόσο μεγαλύτερη ήταν η μείωση των ολικών σουλφρυδυλομάδων (Πίνακας 6, και Σχήμα 17).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 214,2 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (281,7). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 205,0 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (202,7).

Την ίδια διαπίστωση έκαναν και οι ερευνητές (El Hosry και συν., 2009), οι οποίοι παρατήρησαν ότι σε ένα τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης (55°C) σε λευκούς οίνους διάρκειας 8 ημερών μειώθηκαν σημαντικά τα επίπεδα της γλουταθειόνης.

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 , στους διάφορους χρόνους διατήρησης, συνεπαγόταν και μείωση της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων (Σχήμα 18).

Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 δεν αναμένονταν διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακας 6, και Σχήμα 17), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτατες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται μεταξύ της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων στο δείγμα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των ολικών σουλφρυδυλομάδων στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτά που προστέθηκαν η μικρή και η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για την πρώτη περίπτωση είναι ($r=0,996$, $\rho=0,004<0,01$) και για τη δεύτερη ($r=0,996$, $\rho=0,004<0,01$).



6. Θειώδης ανυδρίτης και ασκορβικό οξύ

Οι αντιδράσεις οξείδωσης, που λαμβάνουν χώρα όταν το γλεύκος ή ο οίνος έρθει σε επαφή με τον αέρα-οξυγόνο είναι ανεπιθύμητες σε οποιοδήποτε στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας. Μπορεί να είναι χημικής ή ενζυμικής φύσεως. Εκδηλώνονται με αλλοίωση του χρώματος και συνοδεύονται από μεταβολή της οσμής. Η χρήση του θειώδους ανυδρίτη ασκεί άμεση (οξειδώνεται ο ίδιος και συνεπώς προφυλάσσει άλλα ευοξειδωτά συστατικά π.χ. φαινολικά) και έμμεση αντιοξειδωτική προστασία (απενεργοποιεί τις οξειδάσες που καταλύουν τις ενζυμικές οξειδώσεις). Η πιο δραστική μορφή είναι τα ιόντα του (αναγωγική ικανότητα: $\text{HSO}_3^- > \text{SO}_2$). Ο δεσμευμένος SO_2 δεν έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του SO_2 είναι κυρίως λόγω της ικανότητάς του να αντιδρά με οξειδωτικά ή και κατά προτίμηση να οξειδώνεται σε σχέση με άλλες ενώσεις του κρασιού. Ένα από αυτά τα οξειδωτικά μπορεί να είναι το υπεροξειδίο του υδρογόνου, το οποίο είναι ένα πολύ ισχυρό και οξειδωτικό παράγοντα. Είναι ένα από τα προϊόντα από την χημική οξείδωση της κατεχόλης (Wildenradt & Singleton, 1974) και ακόμη και του ασκορβικού οξέος. Σε περίπτωση απουσίας του SO_2 θα συνεχίσει την οξείδωση άλλων ενώσεων του κρασιού. Το διθειώδες (HSO_3^-) είναι γνωστό ότι αντιδρά άμεσα και γρήγορα με το υπεροξειδίο του υδρογόνου.

Το ασκορβικό οξύ είναι μια πιο ταχεία και αποτελεσματική παγίδευση οξυγόνου από το διοξειδίο του θείου, κατά προτίμηση αντιδρά με το οξυγόνο και κατά συνέπεια επιτρέπει την προστασία άλλων ευαίσθητων συστατικών του κρασιού που έχουν την τάση να οξειδωθούν, συμπεριλαμβανομένων των φαινολικών και των ενώσεων που προσδίδουν άρωμα (Danilewicz, 2003, Kilmartin και συν., 2001). Επίσης έχει την ικανότητα να δρα ως αναγωγικό μέσο και να μειώσει ορισμένες ενώσεις στο κρασί που μπορεί να έχουν υποστεί οξείδωση. Το ασκορβικό οξύ δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο του, αλλά σε συνδυασμό με το διοξειδίο του θείου. Η οξείδωση του ασκορβικού οξέος οδηγεί στη παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου, το οποίο μπορεί να διασπαστεί στις ισχυρές οξειδωτικές ρίζες υδροξυλίου που οδηγούν σε καταστροφικές αλυσιδωτές αντιδράσεις ελευθέρων ριζών. Ωστόσο υπό την παρουσία του διοξειδίου του θείου το υπεροξειδίο του υδρογόνου παγιδεύεται και σχηματίζεται θειικό οξύ. Επιπλέον, σε αντίθεση με το διοξειδίο του θείου, το ασκορβικό οξύ δεν αντιδρά με την ακεταλδεΐδη, μια ένωση η οποία επηρεάζει σημαντικά τις οργανοληπτικές ιδιότητες του κρασιού (Liu & Pilone, 2000).

Ο θειώδης ανυδρίτης είναι το κύριο αντιοξειδωτικό που χρησιμοποιείται στην οινοποίηση. Στον οίνο βρίσκεται ως ελεύθερος και δεσμευμένος, και το άθροισμά τους είναι ο ολικός θειώδης ανυδρίτης. Η αντιοξειδωτική του δράση οφείλεται (αποδίδεται) στον ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη. Το ασκορβικό οξύ προστίθεται στους λευκούς οίνους ως αντιοξειδωτικό, επιπρόσθετα από τον θειώδη ανυδρίτη.

Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκε ο ελεύθερος και ο ολικός θειώδης ανυδρίτης με ιωδιομετρία. Όμως, με το ιώδιο αντιδρούν και άλλες ενώσεις, κυρίως το ασκορβικό οξύ αλλά και φαινολικά συστατικά. Ασκορβικό οξύ είχε προστεθεί και στους δύο οίνους που μελέτηθηκαν, 80 mg/L στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά και 80 mg/L στον οίνο Ντεμπίνα. Έτσι οι συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν και αναφέρονται παρακάτω ως ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης κατά βάση είναι το άθροισμα ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη και ασκορβικού οξέος, και οι συγκεντρώσεις που αναφέρονται ως ολικός θειώδης ανυδρίτης κατά βάση είναι το άθροισμα του ολικού θειώδη ανυδρίτη και του ασκορβικού οξέος.



6.1 Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης

Πίνακας 7. Μεταβολή της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με την προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	28 ημέρες	56 ημέρες	84 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	90,5 ^{αΑ} ±1,5	29,9 ^{βΑ} ±1,5	17,9 ^{γΑ} ±0,0	15,4 ^{δΑ} ±0,0
Μικρή συγκέντρωση	55,5 ^{αβ} ±1,5	18,8 ^{ββ} ±1,5	12,8 ^{γβ} ±0,0	10,2 ^{δβ} ±0,0
Μεγάλη συγκέντρωση	16,2 ^{αΓ} ±1,5	12,8 ^{βΓ} ±0,0	10,2 ^{γΓ} ±0,0	7,7 ^{δΓ} ±0,0
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	98,1 ^{αΑ} ±6,4	65,7 ^{βΑ} ±10,4	29,9 ^{γΑ} ±3,0	21,3 ^{δΑ} ±1,5
Μικρή συγκέντρωση	30,7 ^{αβ} ±6,8	16,2 ^{ββ} ±3,0	13,7 ^{γβ} ±1,5	10,2 ^{δβ} ±2,6
Μεγάλη συγκέντρωση	17,1 ^{αβ} ±1,5	11,1 ^{ββ} ±1,5	10,2 ^{γβ} ±0,0	8,5 ^{δΓ} ±0,0

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

A,B,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

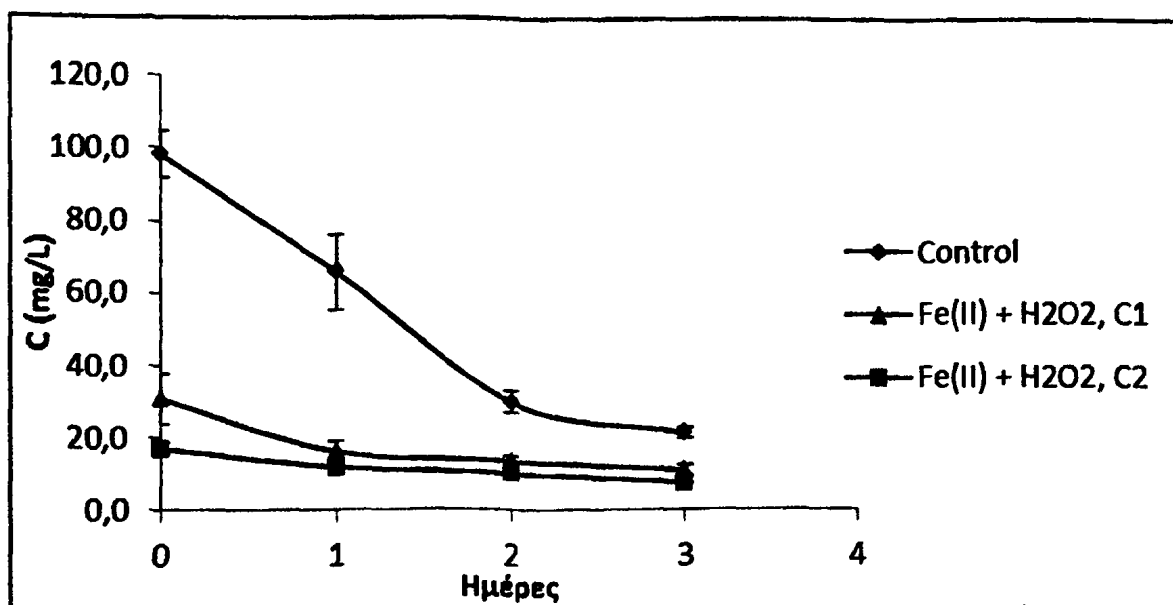
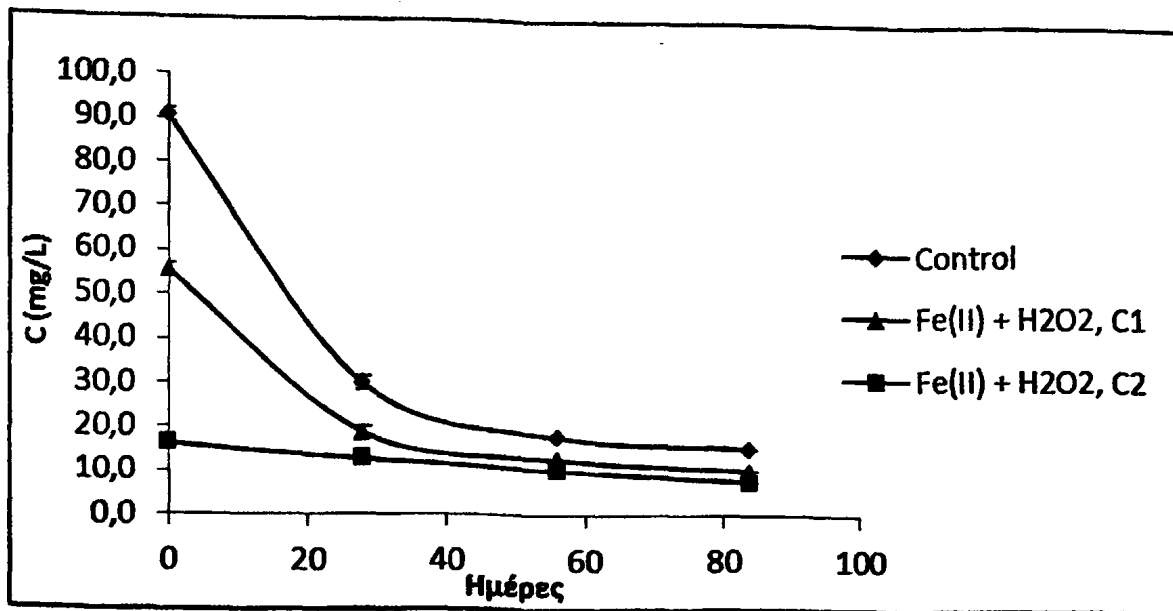
18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂·4H₂O=0,10Mm/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂·4H₂O=0,25Mm/ H₂O₂=1,575mM)



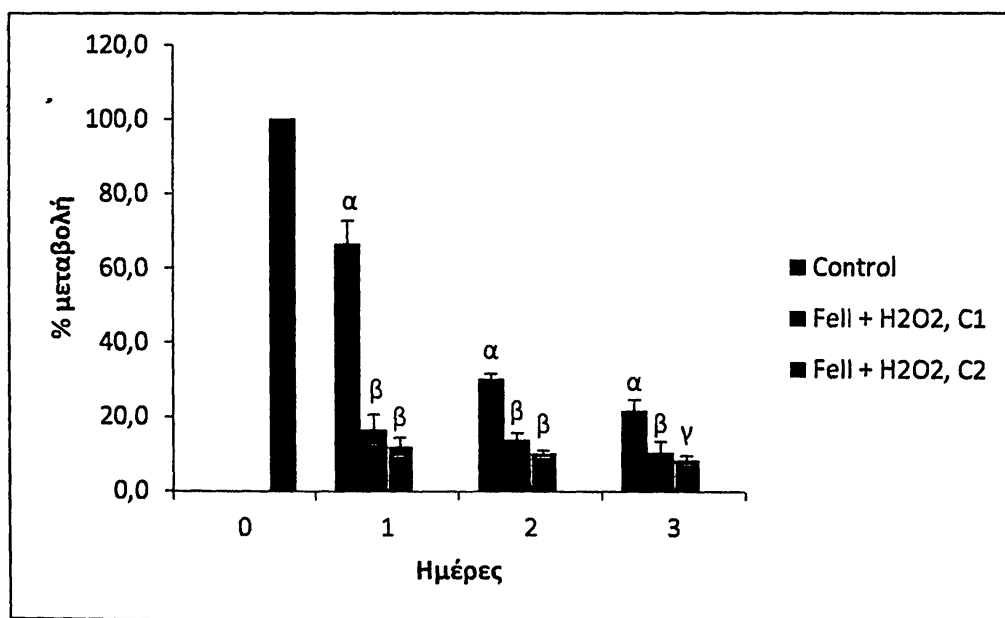
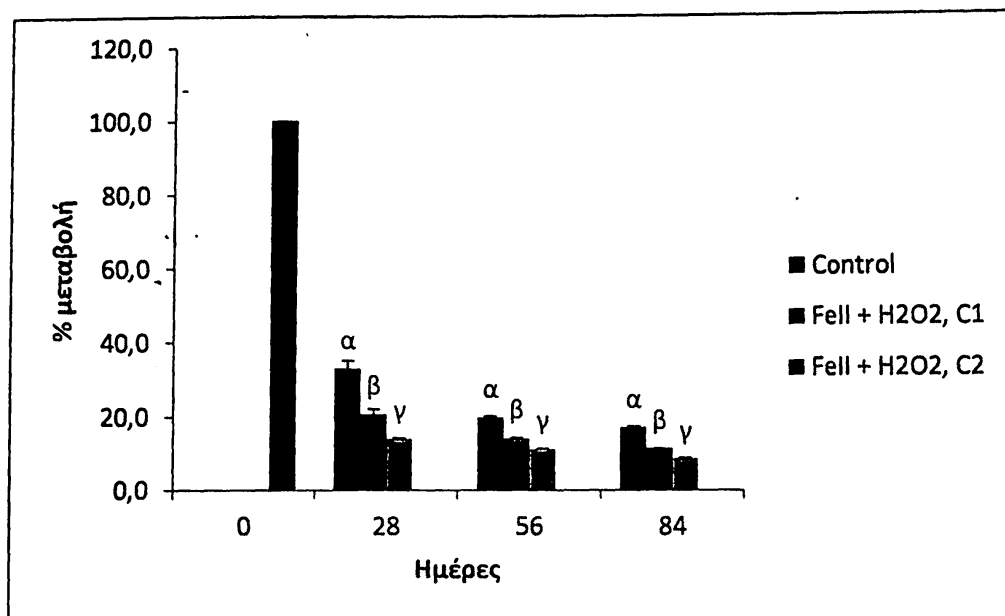


Σχήμα 19. Μεταβολή της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂ =0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂ =1,575mM)



Σχήμα 20. Η % μεταβολή της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂ =0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂ =1,575mM)

Πίνακας 8. Μεταβολή της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και 45°C και με την προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	22 ημέρες	44 ημέρες	66 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	121,2 ^{αλ} ±3,0	35,0 ^{βλ} ±1,5	24,8 ^{γλ} ±1,5	20,5 ^{δλ} ±0,0
Μικρή συγκέντρωση	94,7 ^{αβ} ±2,6	30,7 ^{ββ} ±0,0	19,6 ^{γβ} ±1,5	15,4 ^{γβ} ±0,0
Μεγάλη συγκέντρωση	19,6 ^{αλ} ±1,5	17,9 ^{αλ} ±0,0	12,8 ^{βλ} ±0,0	10,2 ^{γλ} ±0,0
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	131,4 ^{αλ} ±1,5	63,2 ^{βλ} ±1,5	28,2 ^{γλ} ±0,0	15,4 ^{δλ} ±0,0
Μικρή συγκέντρωση	29,9 ^{αβ} ±1,0	17,1 ^{ββ} ±1,5	12,8 ^{γβ} ±0,0	10,2 ^{γβ} ±0,0
Μεγάλη συγκέντρωση	12,0 ^{αλ} ±1,5	9,4 ^{αβλ} ±1,5	7,7 ^{βγλ} ±0,0	5,1 ^{γλ} ±0,0

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

Α,Β,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

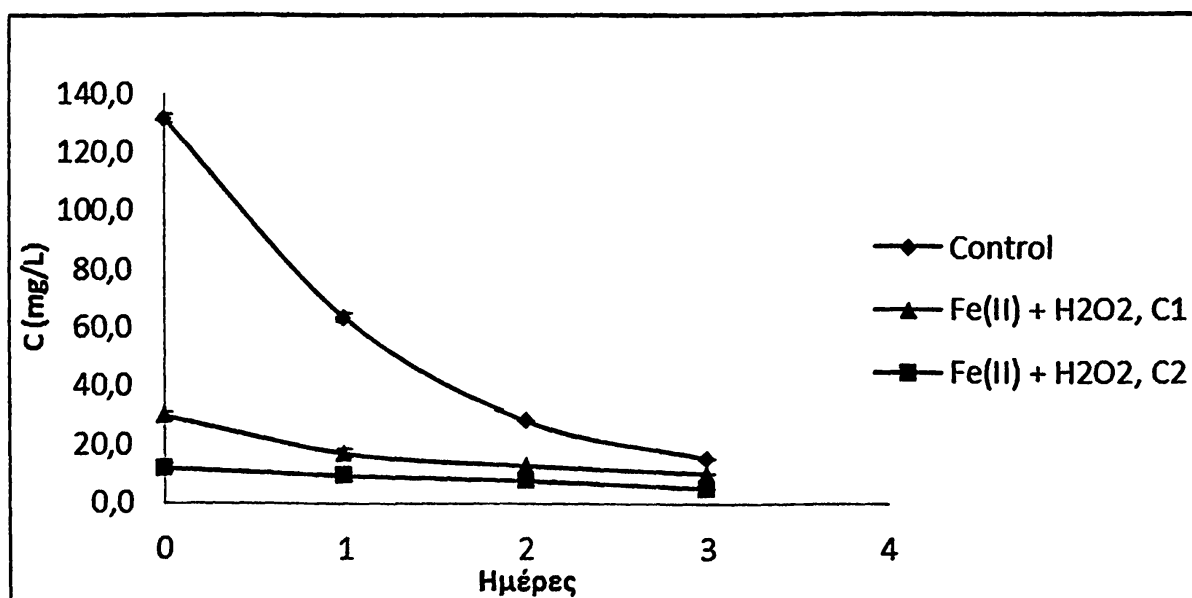
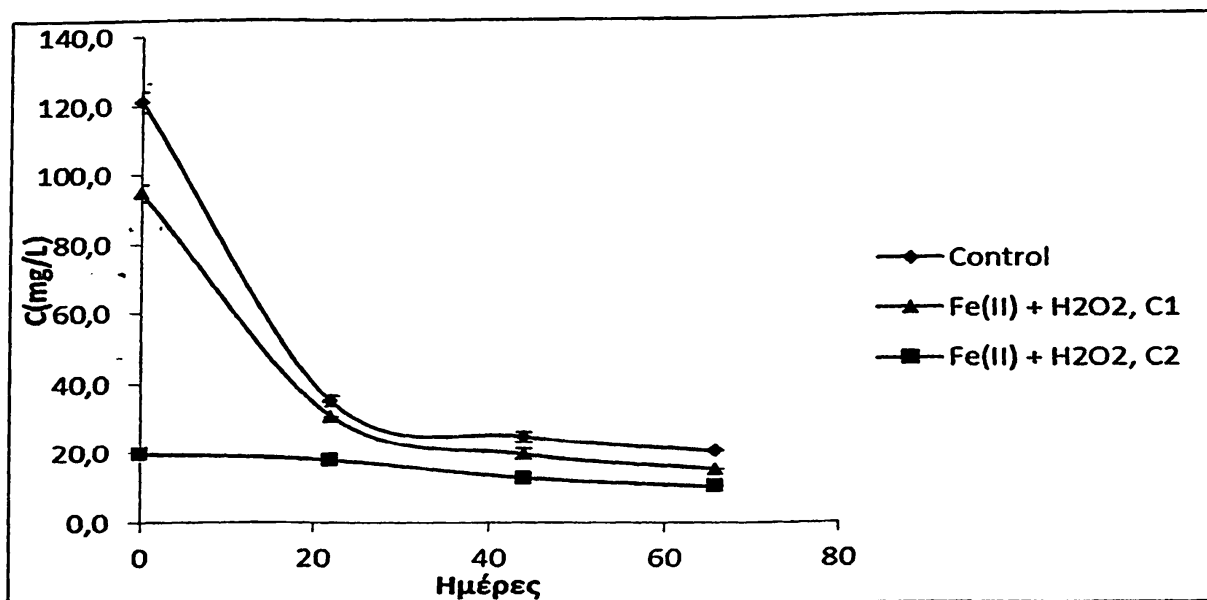
Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10Mm/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,25Mm/ H₂O₂=1,575mM)

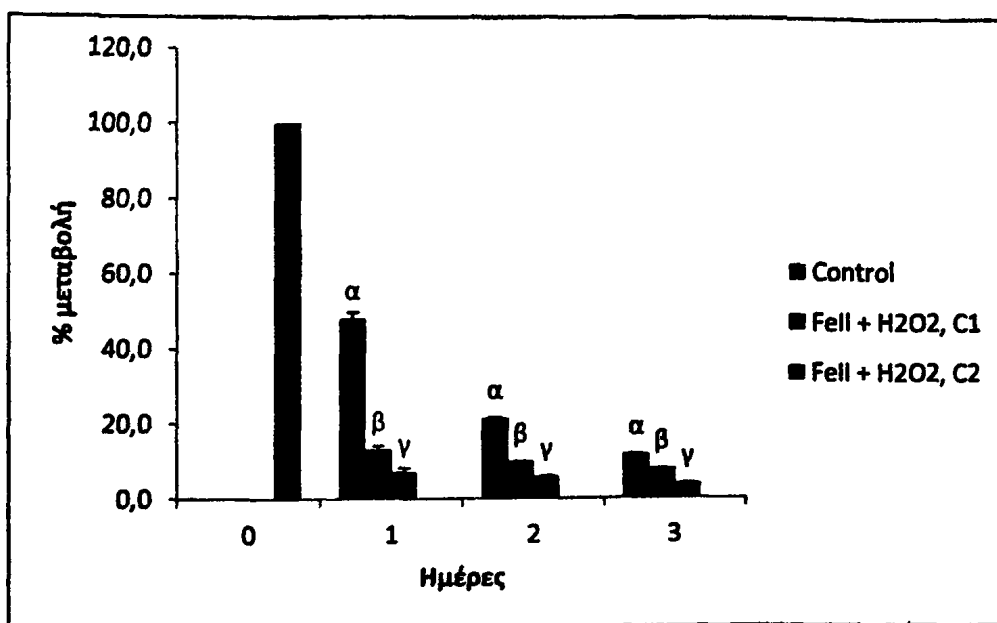
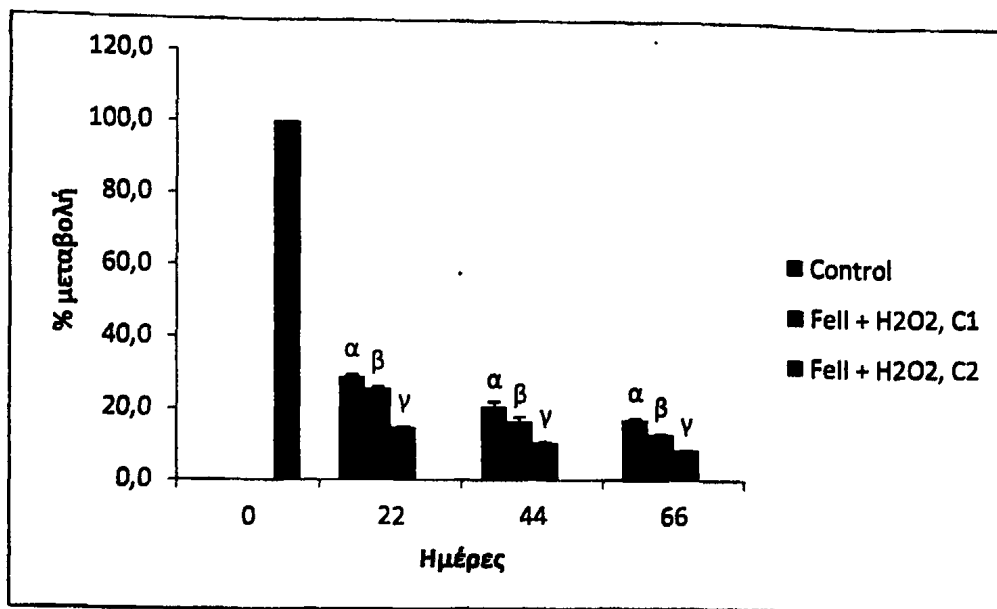


Σχήμα 21. Μεταβολή της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)



Σχήμα 22. Η % μεταβολή της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂ =0,63mM), 45°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂ =1,575mM)

Στους 18°C, οι λευκοί οίνοι που μελετήθηκαν (μάρτυρες) παρουσίασαν μείωση της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη με το χρόνο διατήρησής τους (Πίνακες 7, 8, και Σχήματα 19, 21).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη ήταν 90,5 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 17,9 mg/L την 54^η ημέρα και σε 15,4 mg/L την 84^η ημέρα. Στον οίνο Ντεμπίνα η συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη ήταν 121,2 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 24,8 mg/L την 44^η ημέρα και σε 20,5 mg/L την 66^η μέρα.

Στους 18°C, η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 αύξανε τη μείωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη με το χρόνο διατήρησης των οίνων. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 τόσο μεγαλύτερη ήταν η μείωση της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη (Πίνακες 7,8, και Σχήματα 19,21).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 28^η ημέρα είχε συγκέντρωση 18,8 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 54^η ημέρα (17,9). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 28^η ημέρα είχε συγκέντρωση 12,8 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 84^η ημέρα (15,4).

Ο οίνος Ντεμπίνα με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 22^η ημέρα είχε συγκέντρωση 30,7 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 44^η ημέρα (24,8). Το δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 22^η ημέρα είχε συγκέντρωση 17,9 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 66^η ημέρα (20,5).

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 , στους διάφορους χρόνους διατήρησης, συνεπαγόταν και μείωση της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη (Σχήματα 20, 22).

Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 δεν αναμενόταν διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακες 7,8, και Σχήματα 19,21), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτατες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται, στις περισσότερες περιπτώσεις, μεταξύ της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και σε αυτά που προστέθηκε η μικρή συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για τον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά είναι ($r=1,000$, $\rho=0,000<0,01$) και για τον οίνο Ντεμπίνα ($r=0,999$, $\rho=0,001<0,01$). Αντίθετα δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και σε αυτά που προστέθηκε η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 .

Στους 45°C, οι λευκοί οίνοι που μελετήθηκαν (μάρτυρες) παρουσίασαν μείωση της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη με το χρόνο διατήρησής τους (Πίνακες 7,8, Σχήματα 19,21).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη ήταν 98,1 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 29,9 mg/L την 2^η ημέρα και σε 21,3 mg/L την 3^η ημέρα. Στον οίνο Ντεμπίνα η συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη ήταν 131,4 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 28,2 mg/L την 2^η ημέρα και σε 15,4 mg/L την 3^η ημέρα (Πίνακες 7,8).

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται μεταξύ της οξείδωσης του μάρτυρα του οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και του ίδιου οίνου ο οποίος οξειδώνεται στους 45°C, επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.



Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στους 45°C και της συγκέντρωσης του ελεύθερου ανυδρίτη στους 18°C στον οίνο μάρτυρα Ντεμπίνα ($r=0,964$, $p=0,036<0,05$).

Αντίθετα δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στους 45°C και της συγκέντρωσης του ελεύθερου ανυδρίτη στους 18°C στον οίνο μάρτυρα Ροδίτη-Μαλαγουζιά ($r=0,923$, $p=0,077$).

Στους 45°C η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 αύξανε τη μείωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη με το χρόνο διατήρησης των οίνων. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 τόσο μεγαλύτερη ήταν η μείωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη (Πίνακες 7,8, και Σχήματα 19,21).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 16,2 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (21,3). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 11,1 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (21,3).

Ο οίνος Ντεμπίνα με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 17,1 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (15,4). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 9,4 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (15,4).

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 , στους διάφορους χρόνους διατήρησης, συνεπαγόταν και μείωση της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη (Σχήματα 20,22).

Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 δεν αναμένονταν διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακες 7,8, Σχήματα 19,21), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτατες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται στις περισσότερες περιπτώσεις, μεταξύ της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και σε αυτά που προστέθηκε η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για τον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά είναι ($r=0,968$, $p=0,032<0,05$) και για τον οίνο Ντεμπίνα ($r=0,952$, $p=0,048<0,05$).

Παράλληλα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ντεμπίνα και σε αυτό που προστέθηκε η μικρή συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 ($r=0,997$, $p=0,003<0,01$). Αντίθετα δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτό που προστέθηκε η μικρή συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 .



6.2 Ολικός θειώδης ανυδρίτης

Πίνακας 9. Μεταβολή της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με την προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	28 ημέρες	56 ημέρες	84 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	102,4 ^{aA} ±2,6	33,3 ^{bA} ±0,0	20,5 ^{γA} ±0,0	17,9 ^{γA} ±0,0
Μικρή συγκέντρωση	59,7 ^{aB} ±3,0	21,3 ^{bB} ±1,5	15,4 ^{γB} ±0,0	12,8 ^{γB} ±0,0
Μεγάλη συγκέντρωση	18,8 ^{aI} ±1,5	15,4 ^{bI} ±0,0	12,8 ^{γI} ±0,0	10,2 ^{δI} ±0,0
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	105,8 ^{aA} ±6,4	72,5 ^{bA} ±10,7	32,4 ^{γA} ±3,0	24,8 ^{γA} ±1,5
Μικρή συγκέντρωση	33,3 ^{aB} ±6,8	18,8 ^{bB} ±3,0	17,2 ^{γB} ±1,6	13,7 ^{γB} ±1,5
Μεγάλη συγκέντρωση	19,6 ^{aB} ±1,5	14,5 ^{bB} ±1,5	12,8 ^{γB} ±0,0	11,1 ^{γI} ±0,0

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

A,B,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

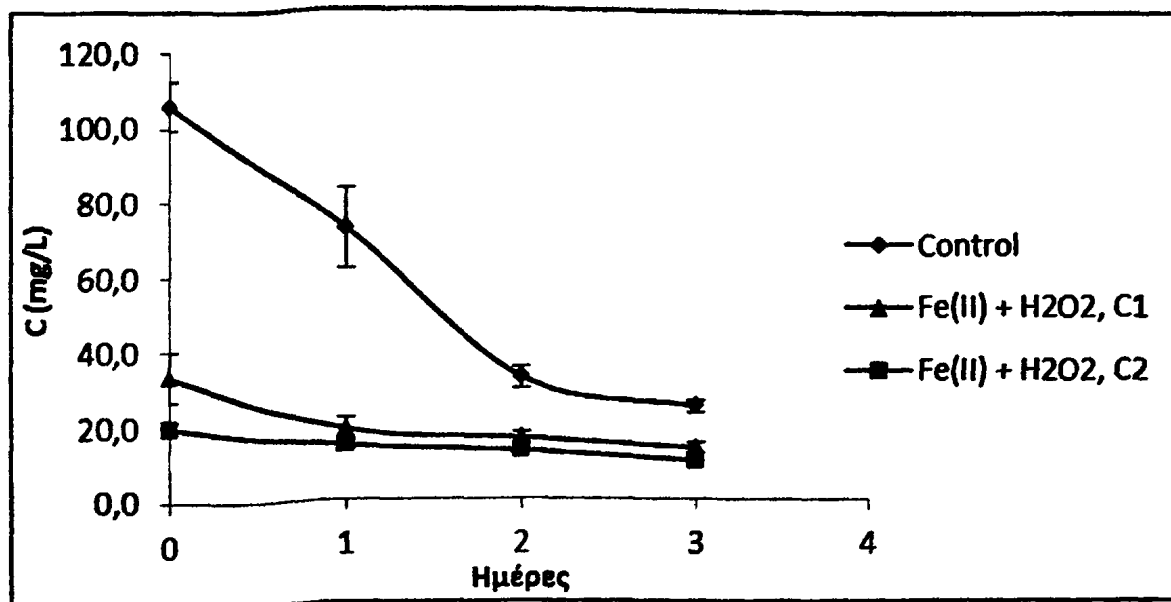
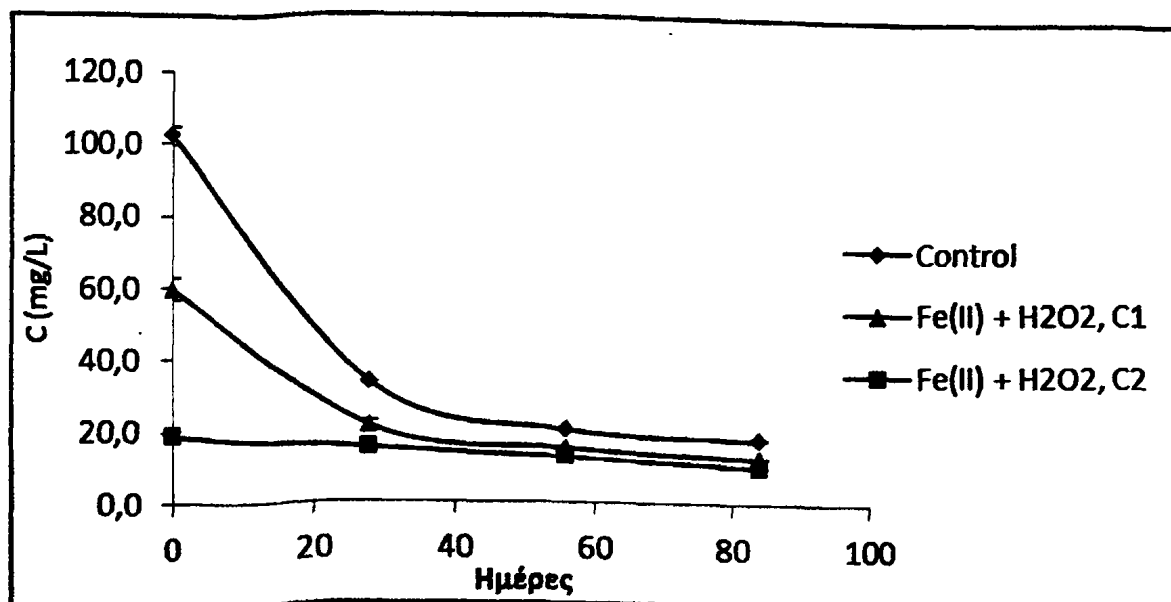
18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10Mm/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂.4H₂O=0,25Mm/ H₂O₂=1,575mM)



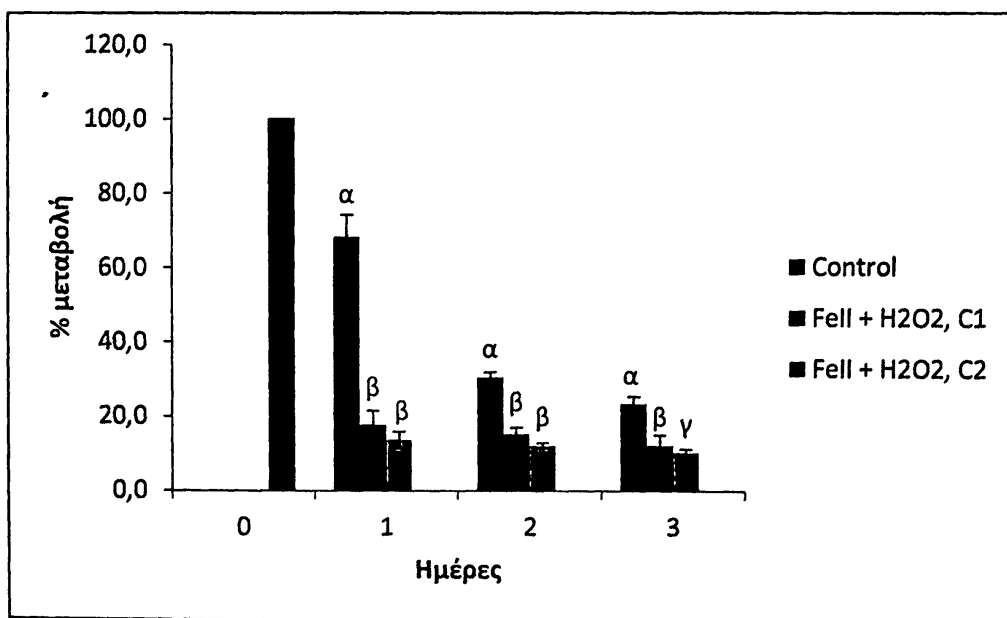
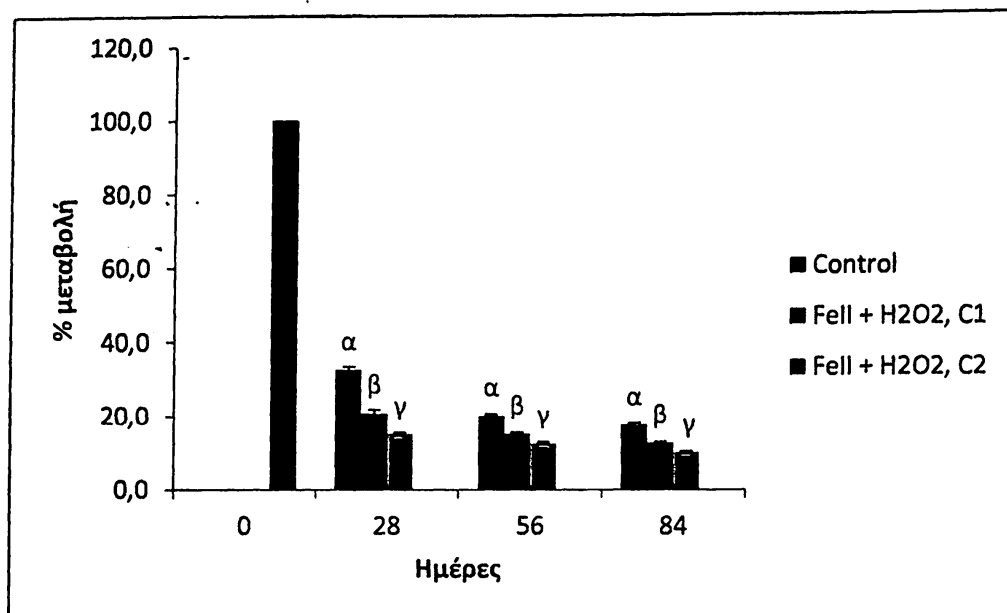


Σχήμα 23. Μεταβολή της συγκέντρωσης του ολικού θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)



Σχήμα 24. Η % μεταβολή της συγκέντρωσης του ολικού θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)

Πίνακας 10. Μεταβολή της συγκέντρωσης του ολικού θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και 45°C και με τη προσθήκη μίγματος Fe(II) και H₂O₂ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

18°C	0 ημέρες	22 ημέρες	44 ημέρες	66 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	152,5 ^{aA} ±1,5	45,2 ^{bA} ±1,5	30,7 ^{γA} ±0,0	25,6 ^{δA} ±0,0
Μικρή συγκέντρωση	97,3 ^{ab} ±2,6	33,3 ^{βB} ±0,0	23,0 ^{γB} ±0,0	20,5 ^{δB} ±0,0
Μεγάλη συγκέντρωση	23,0 ^{αI} ±0,0	20,5 ^{βI} ±0,0	15,4 ^{γI} ±0,0	12,8 ^{δI} ±0,0
45°C	0 ημέρες	1 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες
Μάρτυρας (Control)	151,0 ^{aA} ±0,0	73,9 ^{bA} ±2,5	30,7 ^{γA} ±0,0	17,9 ^{δA} ±0,0
Μικρή συγκέντρωση	38,4 ^{ab} ±0,0	23,0 ^{βB} ±0,0	15,4 ^{γB} ±0,0	12,8 ^{δB} ±0,0
Μεγάλη συγκέντρωση	15,4 ^{αI} ±0,0	12,8 ^{βI} ±0,0	11,1 ^{βγI} ±1,5	10,2 ^{γI} ±0,0

*α,β,γ,δ: Σύγκριση των τιμών κάθε πειραματικού οίνου στους 18°C είτε στους 45°C στους διάφορους χρόνους εξέτασης.

A,B,Γ: Σύγκριση των τιμών των πειραματικών οίνων στους 18°C είτε στους 45°C κατά τον ίδιο χρόνο εξέτασης.

Οι τιμές χωρίς κοινό εκθέτη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (επίπεδο σημαντικότητας 0,05).

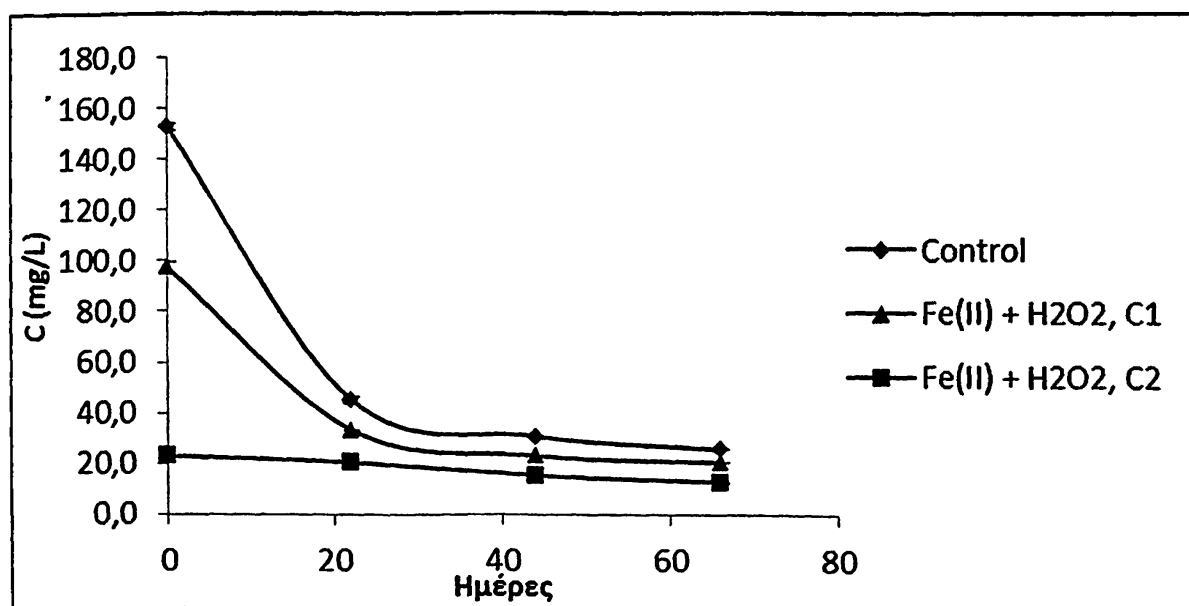
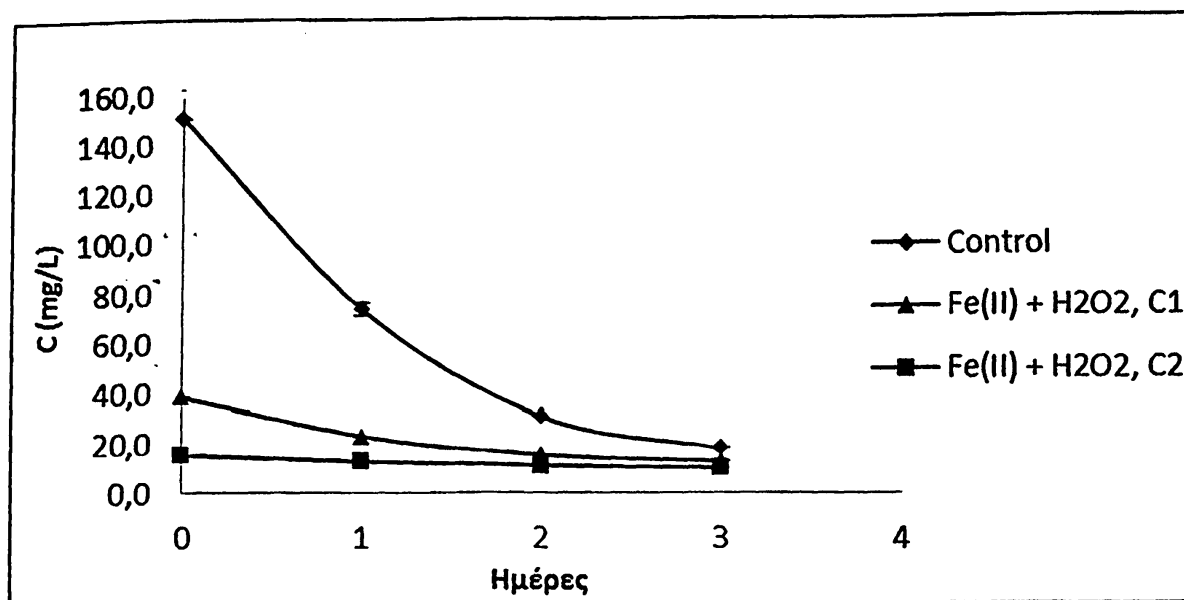
18°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM)

18°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂·4H₂O=0,10Mm/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μικρή συγκέντρωση (FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM)

45°C μεγάλη συγκέντρωση (FeCl₂·4H₂O=0,25Mm/ H₂O₂=1,575mM)





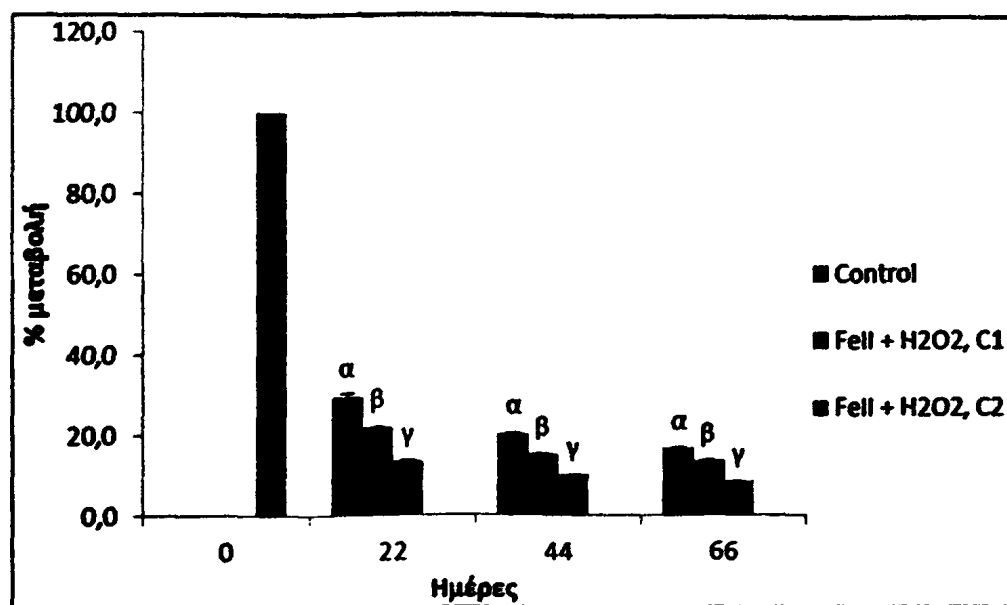
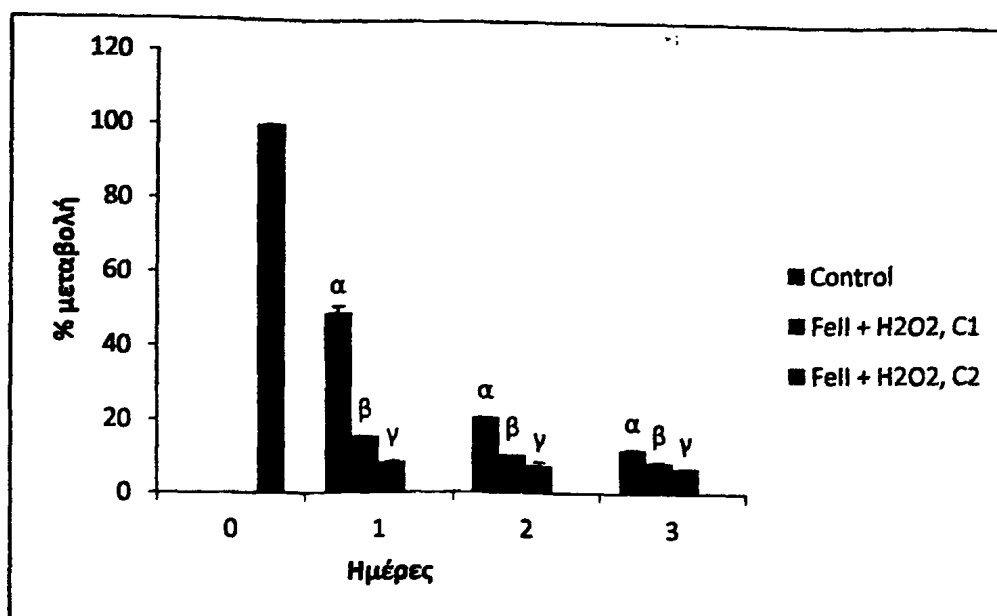
Σχήμα 25. Μεταβολή της συγκέντρωσης του ολικού θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μίγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂·4H₂O=0,10mM/ H₂O₂ =0,63mM), 45°C C2(FeCl₂·4H₂O=0,25mM/ H₂O₂ =1,575mM)





Σχήμα 26. Η % μεταβολή της συγκέντρωσης του ολικού θειώδους ανυδρίτη κατά τη διατήρηση λευκού οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και 45°C και με προσθήκη μέγματος αυξανόμενων συγκεντρώσεων Fe(II) και H₂O₂.

Οι 18°C επάνω και οι 45°C από κάτω.

18°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,025mM/H₂O₂=0,1575mM), 18°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/H₂O₂=0,63mM)

45°C C1(FeCl₂.4H₂O=0,10mM/ H₂O₂=0,63mM), 45°C C2(FeCl₂.4H₂O=0,25mM/ H₂O₂=1,575mM)

Στους 18°C, οι λευκοί οίνοι που μελετήθηκαν (μάρτυρες) παρουσίασαν μείωση της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη με το χρόνο διατήρησής τους (Πίνακες 9,10, και Σχήματα 23,25).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση του ολικού θειώδη ανυδρίτη ήταν 102,4 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 20,5 mg/L την 54^η ημέρα και σε 17,9 mg/L την 84^η ημέρα. Στον οίνο Ντεμπίνα η συγκέντρωση του ολικού θειώδη ανυδρίτη ήταν 152,5 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 30,7 mg/L την 44^η ημέρα και σε 25,6 mg/L την 66^η ημέρα.

Στους 18°C, η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 αύξανε τη μείωση του ολικού θειώδη ανυδρίτη με το χρόνο διατήρησής των οίνων. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 τόσο μεγαλύτερη ήταν η μείωση της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη (Πίνακες 9,10, και Σχήματα 23,25).

Ο οίνος Ροδίτη-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 28^η ημέρα είχε συγκέντρωση 21,3 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 54^η ημέρα (20,5). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 28^η ημέρα είχε συγκέντρωση 15,4 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 84^η ημέρα (17,9).

Ο οίνος Ντεμπίνα με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 22^η ημέρα είχε συγκέντρωση 33,3 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 44^η ημέρα (30,7). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 22^η ημέρα είχε συγκέντρωση 20,5 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που απέκτησε ο μάρτυρας την 66^η ημέρα (25,6).

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 , στους διάφορους χρόνους διατήρησης, συνεπαγόταν και μείωση της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη (Σχήματα 24,26).

Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 δεν αναμένονταν διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακας 9,10, Σχήματα 23,25), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτατες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται, στις περισσότερες περιπτώσεις, μεταξύ της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και σε αυτά που προστέθηκε η μικρή συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για τον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά είναι ($r=1,000$, $\rho=0,000<0,01$) και για τον οίνο Ντεμπίνα ($r=1,000$, $\rho=0,000<0,01$). Αντίθετα δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και σε αυτά που προστέθηκε η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 .

Στους 45°C, οι λευκοί οίνοι που μελετήθηκαν (μάρτυρες) παρουσίασαν μείωση της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη με το χρόνο διατήρησής τους (Πίνακες 9,10, και Σχήματα 23,25).

Στον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά η συγκέντρωση του ολικού θειώδη ανυδρίτη ήταν 105,8 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 32,4 mg/L την 2^η ημέρα και σε 24,8 mg/L την 3^η ημέρα. Στον οίνο Ντεμπίνα η συγκέντρωση του ολικού θειώδη ανυδρίτη ήταν 151,0 mg/L σε χρόνο 0, και μειώθηκε σε 30,7 mg/L την 2^η ημέρα και σε 17,9 mg/L την 3^η ημέρα (Πίνακες 9,10).

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται στην οξείδωση του μάρτυρα του οίνου Ντεμπίνα στους 18°C και του ίδιου οίνου ο οποίος οξειδώνεται στους 45°C, επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.



Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στους 45°C και της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στους 18°C ($r=0,963$, $\rho=0,037<0,05$).

Αντίθετα δεν υπάρχει σημαντικά στατιστική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στους 45°C και της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στους 18°C στον οίνο μάρτυρα Ροδίτη-Μαλαγουζιά ($r=0,913$, $\rho=0,087$).

Στους 45°C, η προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 αύξανε τη μείωση του ολικού θειώδη ανυδρίτη με το χρόνο διατήρησης των οίνων. Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 τόσο μεγαλύτερη ήταν η μείωση του ολικού θειώδη ανυδρίτη (Πίνακες 9,10, και Σχήματα 23,25).

Ο οίνος Ροδίτης-Μαλαγουζιά με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 18,8 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (24,8). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 14,5 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (24,8).

Ο οίνος Ντεμπίνα με τη μικρότερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C1) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 23,0 mg/L, δηλαδή παρόμοια με αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (17,9). Ο οίνος με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 (C2) την 1^η ημέρα είχε συγκέντρωση 12,8 mg/L, δηλαδή μικρότερη από αυτήν που είχε ο μάρτυρας την 3^η ημέρα (17,9).

Η ύπαρξη αυξανόμενης συγκέντρωσης μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 , στους διάφορους χρόνους διατήρησης, συνεπαγόταν και μείωση της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη (Σχήματα 25,26).

Σχετικά με το χρόνο 0 και την προσθήκη μίγματος $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και H_2O_2 δεν αναμένονταν διαφορές. Όμως υπάρχουν (Πίνακες 9,10, Σχήματα 23,25), και αποδίδονται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις είναι ταχύτατες και μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την προσθήκη μέχρι τις μετρήσεις.

Γραμμική συσχέτιση υφίσταται στις περισσότερες περιπτώσεις, μεταξύ της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και στα δείγματα στα οποία προστέθηκαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις μίγματος FeII και H_2O_2 , επισημαίνοντας ότι η διαφορά της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη έγκειται στο χρόνο που λαμβάνει χρόνο η κάθε οξείδωση.

Συγκεκριμένα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στα δείγματα του μάρτυρα και σε αυτά που προστέθηκε η μεγάλη συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 . Ο συντελεστής συσχέτισης για τον οίνο Ροδίτη-Μαλαγουζιά είναι ($r=0,963$, $\rho=0,037<0,05$) και για τον οίνο Ντεμπίνα ($r=0,996$, $\rho=0,004<0,01$).

Παράλληλα υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ντεμπίνα και σε αυτό που προστέθηκε η μικρή συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 ($r=1,000$, $\rho=0,000<0,01$). Αντίθετα δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ολικού θειώδη ανυδρίτη στο δείγμα του μάρτυρα του οίνου Ροδίτη-Μαλαγουζιά και σε αυτό που προστέθηκε η μικρή συγκέντρωση μίγματος FeII και H_2O_2 .



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα κύρια συμπεράσματα της παρούσας μελέτης μπορεί να συνοψιστούν όπως παρακάτω:

1. Με προσθήκη δισθενούς σιδήρου και υπεροξειδίου του υδρογόνου σε λευκούς οίνους στους 18°C, αυξάνεται ο δείκτης καστάνωσης. Επίσης, μειώνονται συστατικά που εμπλέκονται στην οξείδωση των οίνων, όπως ο θειώδης ανυδρίτης μαζί με το ασκορβικό οξύ, οι ελεύθερες σουλφυδρυλομάδες, και φαινολικά συστατικά όπως φλαβανόλες.
2. Με προσθήκη δισθενούς σιδήρου και υπεροξειδίου του υδρογόνου σε λευκούς οίνους στους 45°C, αυξάνεται ο δείκτης καστάνωσης. Επίσης, μειώνονται συστατικά που εμπλέκονται στην οξείδωση των οίνων, όπως ο θειώδης ανυδρίτης μαζί με το ασκορβικό οξύ, οι ελεύθερες σουλφυδρυλομάδες, και φαινολικά συστατικά όπως φλαβανόλες.
3. Η επιτάχυνση του φαινομένου της οξείδωσης λευκών οίνων με προσθήκη δισθενούς σιδήρου και υπεροξειδίου του υδρογόνου στους 18°C και 45°C υποδεικνύει ότι μπορεί να είναι μία τεχνική για αποτίμηση της τάσης των λευκών οίνων προς οξείδωση. Μάλιστα η προσθήκη τους στους 45°C φαίνεται ότι είναι αποδοτική για μείωση του χρόνου της δοκιμής που εφαρμόζεται διεθνώς για αποτίμηση της τάσης των λευκών οίνων προς οξείδωση με θέρμανση στους 45-55°C.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη Βιβλιογραφία

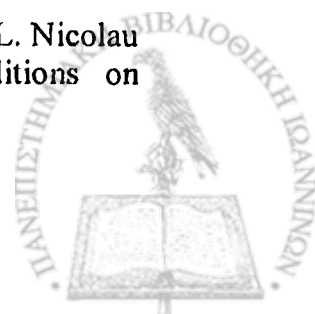
- ADAMS, D. O. and C. LIYANAGE, 1993: Glutathione Increases in Grape Berries at the Onset of Ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, **44**, 333-338.
- Benítez, P., R. Castro, P. J. Antonio Sanchez and C. G. Barroso, 2002a: Influence of metallic content of fino sherry wine on its susceptibility to browning. *Food Research International*, **35**, 785-791.
- Benítez, P., R. Castro and C. G. Barroso, 2002b: Removal of iron, copper and manganese from white wines through ion exchange techniques: effects on their organoleptic characteristics and susceptibility to browning. *Analytica Chimica Acta*, **458**, 197-202.
- Berg, H. W., 1953: Varietal susceptibility of white wines to browning. II. Accelerated storage tests. *Journal of Food Science*, **18**, 407-410.
- Boulton, R. B., V. L. Singleton and L. F. Bisson, 1998: Principles and Practices of Winemaking. Springer.
- Bradshaw, M. P., P. D. Prenzler and G. R. Scollary, 2001: Ascorbic Acid-Induced Browning of (+)-Catechin In a Model Wine System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 934-939.
- Buettner, G. R. and B. A. Jurkiewicz, 1996: Catalytic Metals, Ascorbate and Free Radicals: Combinations to Avoid. *Radiation Research*, **145**, 532-541.
- Caputi, A. and R. G. Peterson, 1965: The Browning Problem in Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**, 9-13.
- Cheynier, V., N. Basire and J. Rigaud, 1989: Mechanism of trans-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **37**, 1069-1071.
- Cheynier, V., G. Masson, J. Rigaud and M. Moutounet, 1993: Estimation of Must Oxidation During Pressing in Champagne. *American Journal of Enology and Viticulture*, **44**, 393-399.
- Cheynier, V., J. Rigaud, J.-M. Souquet, F. Duprat and M. Moutounet, 1990: Must Browning in Relation to the Behavior of Phenolic Compounds During Oxidation. *American Journal of Enology and Viticulture*, **41**, 346-349.
- Cheynier, V. F., E. K. Trousdale, V. L. Singleton, M. J. Salgues and R. Wylde, 1986: Characterization of 2-S-glutathionyl caftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **34**, 217-221.
- Cilliers, J. J. L. and V. L. Singleton, 1990: Nonenzymic Autoxidative Reactions of Caffeic Acid in Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, **41**, 84-86.
- Danilewicz, J. C., 2003: Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: Central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, 73-85.



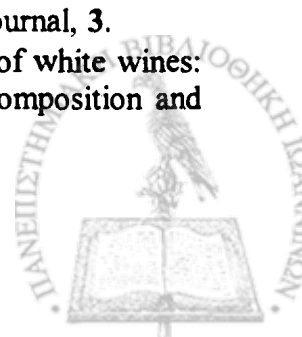
- Danilewicz, J. C., J. T. Seccombe and J. Whelan, 2008: Mechanism of Interaction of Polyphenols, Oxygen, and Sulfur Dioxide in Model Wine and Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, **59**, 128-136.
- De Beer, D., E. Joubert, W. C. A. Gelderblom and M. Manley, 2005: Changes in the phenolic composition and antioxidant activity of Pinotage, Cabernet Sauvignon, Chardonnay and Chenin Blanc wines during bottle ageing. *S. Afr. J. Enol. Vitic*, **26**, 6.
- du Toit, W. J., K. Lisjak, M. Stander and D. Prevoo, 2007: Using LC-MSMS To Assess Glutathione Levels in South African White Grape Juices and Wines Made with Different Levels of Oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 2765-2769.
- El Hosry, L., L. Auezova, A. Sakr and E. Hajj-Moussa, 2009: Browning susceptibility of white wine and antioxidant effect of glutathione. *International Journal of Food Science & Technology*, **44**, 2459-2463.
- Fenton, H. J. H., 1894: Oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *J. Chem. Soc.*, **75**, 1-11.
- Fernandez-Zurbano, P., V. Ferreira, A. Escudero and J. Cacho, 1998: Role of hydroxycinnamic acids and flavanols in the oxidation and browning of white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 4937-4944.
- Fernandez-Zurbano, P., V. Ferreira, A. Escudero and J. Cacho, 1998: Role of Hydroxycinnamic Acids and Flavanols in the Oxidation and Browning of White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 4937-4944.
- Fernandez-Zurbano, P., V. Ferreira, C. Pena, A. Escudero, F. Serrano and J. Cacho, 1995: Prediction of Oxidative Browning in White Wines as a Function of Their Chemical Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**, 2813-2817.
- Gonzalez Cartagena, L., J. Perez-Zuniga F and B. Abad F, 1994: Interactions of some environmental and chemical parameters affecting the color attributes of wine. *American journal of enology and viticulture*, **45**, 43-48.
- Guyot, S., J. Vercauteren and V. Cheynier, 1996: Structural determination of colourless and yellow dimers resulting from (+)-catechin coupling catalysed by grape polyphenoloxidase. *Phytochemistry*, **42**, 1279-1288.
- Hornsey, I. S., 2007: *The Chemistry and Biology of Winemaking*. Royal Society of Chemistry.
- Jackson, S. R., 1994. *Wine Science. Principles and Applications*. 2nd ed. San Diego: Academic Press.
- Kallithraka, S., M. I. Salacha and I. Tzourou, 2009: Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, **113**, 500-505.
- Kontogeorgos, N. and I. G. Roussis, 2014: Total free sulphhydryls of several white and red wines. *South African Journal of Enology and Viticulture*.
- Kilmartin, P. A., H. Zou and A. L. Waterhouse, 2001: A cyclic voltammetry method suitable for characterizing antioxidant properties of wine and wine phenolics, p. 1957-1965.



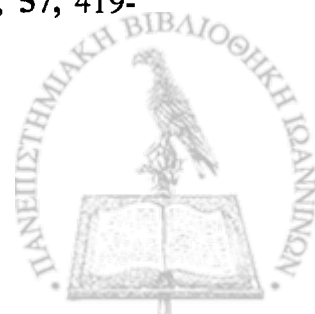
- Kritzinger, E. C., F. F. Bauer and W. J. du Toit, 2012: Role of Glutathione in Winemaking: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61**, 269-277.
- Lambropoulos, I. and I. G. Roussis, 2007: Inhibition of the decrease of volatile esters and terpenes during storage of a white wine and a model wine medium by caffeic acid and gallic acid. *Food Research International*, **40**, 176-181.
- Lewin, S., 1976: Vitamin C: its molecular biology and medical potential. Academic Press.
- Li, H., A. Guo and H. Wang, 2008: Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry*, **108**, 1-13.
- Liu, S.-Q. and G. J. Pilone, 2000: An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *International Journal of Food Science & Technology*, **35**, 49-61.
- Macheix, J. J., J. C. Sapis, A. Fleuriet and C. Y. Lee, 1991: Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **30**, 441-486.
- Makhotkina, O. and P. A. Kilmartin, 2009: Uncovering the influence of antioxidants on polyphenol oxidation in wines using an electrochemical method: Cyclic voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **633**, 165-174.
- Makris, D. P., E. Psarra, S. Kallithraka and P. Kefalas, 2003: The effect of polyphenolic composition as related to antioxidant capacity in white wines. *Food Research International*, **36**, 805-814.
- Marais, J. and H. J. Pool, 1980: Effect of storage time and temperature on the volatile composition and quality of dry white table wines. *Vitis*, **19**, 151-164.
- May n, M., R. Bar n, J. M rida and M. Medina, 1997: Changes in phenolic compounds during accelerated browning in white wines from cv. Pedro Ximenez and cv. Baladi grapes. *Food Chemistry*, **58**, 89-95.
- Nagel, C. W. and W. R. Graber, 1988: Effect of Must Oxidation on Quality of White Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, **39**, 1-4.
- Oliveira, C. M., A. C. S. Ferreira, V. De Freitas and A. M. S. Silva, 2011: Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International*, **44**, 1115-1126.
- Ough, C. S. and A. Amerine, 1988: *Methods Analysis of Musts and Wines*. Wiley.
- Palma, M. and C. Barroso, 2002: Application of a new analytical method to determine the susceptibility of wine to browning. *Eur Food Res Technol*, **214**, 441-443.
- Papadopoulou, D. and I. G. Roussis, 2001: Inhibition of the decline of linalool and α -terpineol in muscat wines by glutathione and N-acetyl-cysteine. *Italian journal of food science*, **13**, 413-419.
- Papadopoulou, D. and I. G. Roussis, 2008: Inhibition of the decrease of volatile esters and terpenes during storage of a white wine and a model wine medium by glutathione and N-acetylcysteine. *International Journal of Food Science & Technology*, **43**, 1053-1057.
- Patel, P., M. Herbst-Johnstone, S. A. Lee, R. C. Gardner, R. Weaver, L. Nicolau and P. A. Kilmartin, 2010: Influence of juice pressing conditions on



- polyphenols, antioxidants, and varietal aroma of Sauvignon blanc microferments. *J Agric Food Chem*, **58**, 7280-7288.
- Patrianakou, M., I.G. Roussis, 2013: Decrease of Wine Volatile Aroma Esters by Oxidation. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 34, No. 2, 2013.
 - Pereira, V., F. Albuquerque, J. Cacho and J. C. Marques, 2013: Polyphenols, antioxidant potential and color of fortified wines during accelerated ageing: the Madeira Wine case study. *Molecules* (Basel, Switzerland), **18**, 2997-3017.
 - Prior, R. L., X. Wu and K. Schaich, 2005: Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem*, **53**, 4290-4302.
 - Ramey, D. D. and C. S. Ough, 1980: Volatile ester hydrolysis or formation during storage of model solutions and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **28**, 928-934.
 - Rankine, B. C. and M. A. Amerine, 2004: *Making Good Wine*. Pan Macmillan Australia Pty, Limited.
 - Ratty, A. K. and N. P. Das, 1988: Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: Structure-activity relationship. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology*, **39**, 69-79.
 - Recamales, Á. F., A. Sayago, M. L. González-Miret and D. Hernanz, 2006: The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. *Food Research International*, **39**, 220-229.
 - Reznick, A. A. and C. E. Cross, 2000: *The Antioxidant Miracle: Your Complete Plan for Total Health and Healing*. The American Journal of Clinical Nutrition, **71**, 604-605.
 - Ribéreau-Gayon, P., 2000: *Handbook of Enology: The microbiology of wine and vinifications*. Wiley.
 - Ribéreau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujean and D. Dubourdieu, 2006: *Organic Acids in Wine. Handbook of Enology*. John Wiley & Sons, Ltd.
 - Roberfroid, B. and P. B. Calderon, 1995: *Free Radicals and Oxidation Phenomena in Biological Systems*. M. Dekker.
 - Roland, A., R. Schneider, A. Razungles and F. Cavelier, 2011: Varietal thiols in wine: discovery, analysis and applications. *Chemical reviews*, **111**, 7355-7376.
 - Roussis, I. G., A. Kouki and D. Papadopoulou, 2000: Inhibition of oxidative browning in white wines by homocysteine. *DWW. Die Wein-Wissenschaft*, **55**, 29-32.
 - Roussis, I. G., I. Lambropoulos and D. Papadopoulou, 2005: Inhibition of the decline of volatile esters and terpenols during oxidative storage of Muscat-white and Xinomavro-red wine by caffeic acid and N-acetyl-cysteine. *Food Chemistry*, **93**, 485-492.
 - Roussis, I. G., I. Lambropoulos, P. Tzimas, A. Gkoulioti, V. Marinos, D. Tsoupeis and I. Boutaris, 2008: Antioxidant activities of some Greek wines and wine phenolic extracts. *Journal of food composition and analysis*, **21**, 614-621.
 - Roussis, I. G., D. Papadopoulou and M. Sakarellos-Daitsiotis, 2009: Protective Effect of Thiols on Wine Aroma Volatiles. *Open Food Science Journal*, **3**.
 - Salacha, M.-I., S. Kallithraka and I. Tzourou, 2008: Browning of white wines: correlation with antioxidant characteristics, total polyphenolic composition and



- flavanol content. *International Journal of Food Science & Technology*, **43**, 1073-1077.
- Salgues, M., V. Cheynier, Z. Gunata and R. Wylde, 1986: Oxidation of Grape Juice 2-S-Glutathionyl Caffeoyl Tartaric Acid by *Botrytis cinerea* Laccase and Characterization of a New Substance: 2,5-di-S-Glutathionyl Caffeoyl Tartaric Acid. *Journal of Food Science*, **51**, 1191-1194.
 - Shahidi, F., P. K. Janitha and P. D. Wanasundara, 1992: Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **32**, 67-103.
 - Simpson, R. F., 1982: Factors affecting oxidative browning of white wine. *Vitis*, **21**, 233-239.
 - Singleton, V. L., 1987: Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implications. *American Journal of Enology and Viticulture*, **38**, 69-77.
 - Singleton, V. L. and T. E. Kramlinga, 1976: Browning of White Wines and an Accelerated Test for Browning Capacity. *American Journal of Enology and Viticulture*, **27**, 157-160.
 - Singleton, V. L., M. Salgues, J. Zaya and E. Trousdale, 1985: Caftaric Acid Disappearance and Conversion to Products of Enzymic Oxidation in Grape Must and Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, **36**, 50-56.
 - Sioumis, N., S. Kallithraka, D. P. Makris and P. Kefalas, 2006: Kinetics of browning onset in white wines: influence of principal redox-active polyphenols and impact on the reducing capacity. *Food Chemistry*, **94**, 98-104.
 - Skouroumounis, G. K., M. J. Kwiatkowski, I. L. Francis, H. Oakey, D. L. Capone, B. Duncan, M. A. Sefton and E. J. Waters, 2005: The impact of closure type and storage conditions on the composition, colour and flavour properties of a Riesling and a wooded Chardonnay wine during five years' storage. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **11**, 369-377.
 - Somers, T. C. and K. F. Pocock, 1990: Evolution of red wines III. Promotion of the maturation phase. *Vitis*, **29**, 109-121.
 - Udenigwe, C. C., V. R. Ramprasath, R. E. Aluko and P. J. H. Jones, 2008: Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutrition Reviews*, **66**, 445-454.
 - Ugliano, M., M. Kwiatkowski, S. p. Vidal, D. Capone, T. Siebert, J.-B. Dieval, O. Aagaard and E. J. Waters, 2011: Evolution of 3-Mercaptohexanol, Hydrogen Sulfide, and Methyl Mercaptan during Bottle Storage of Sauvignon blanc Wines. Effect of Glutathione, Copper, Oxygen Exposure, and Closure-Derived Oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, 2564-2572.
 - Vaimakis, V. and I. G. Roussis, 1992: Some approaches to the oxidation of white wines. *Chimika Chronika, New Series*, **21**, 3-10 (1992).
 - Vaimakis, V. and I. G. Roussis, 1993: Must Oxygenation and Polyphenoloxidase Inhibition and the Oxidation of White Wine. *LWT - Food Science and Technology*, **26**, 133-137.
 - Vaimakis, V. and I. G. Roussis, 1996: Must oxygenation together with glutathione addition in the oxidation of white wine. *Food Chemistry*, **57**, 419-422.



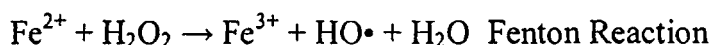
- Vaimakis, V. and I. G. Roussis, 1997: Effect of grape blanching on the oxidation of white wine. *Wein-Wissenschaft*, **52**, 113-114.
 - Waterhouse, A. L., 2002: Wine Phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **957**, 21-36.
 - Waterhouse, A. L. and V. F. Laurie, 2006: Oxidation of Wine Phenolics: A Critical Evaluation and Hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture*, **57**, 306-313.
 - Wildenratt, H. L. and V. L. Singleton, 1974: The Production of Aldehydes as a Result of Oxidation of Polyphenolic Compounds and its Relation to Wine Aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, **25**, 119-126.
 - Wu, J. M. and T.-c. Hsieh, 2011: Resveratrol: a cardioprotective substance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1215**, 16-21.
 - Yanishlieva, N., J. Pokorný and M. Gordon, 2001: *Antioxidants in Food: Practical Applications*. CRC.
 - Yen, G. C., P. D. Duh and H. L. Tsai, 2002: Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, **79**, 307-313.
 - Youngblood, M. P., 1986: Kinetics and mechanism of the addition of sulfite to p-benzoquinone. *The Journal of Organic Chemistry*, **51**, 1981-1985.
 - Zoecklein, B. W., 1995a: *Wine Analysis and Production*. Chapman & Hall.
 - Zoecklein, B. W., 1995b: *Wine Analysis and Productions*. Chapman and Hall.
-
- **Ελληνική Βιβλιογραφία**
 - Γάλαρης, Δ. και Δούλιας, Π.Θ. Βιολογικά Αντιοξειδωτικά. *Χημικά Χρονικά*. 2001:2. pp. 49-50
 - Κοτσερίδης, Γ. (2005), Σημειώσεις/Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας Ι, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Αθήνα.
 - Κουράκου-Δραγώνα, Σ. (1988), Θέματα Οινολογίας, Τροχαλία, Αθήνα.
 - Μπόσκος Δ., Χημεία Τροφίμων, 4η Έκδοση, Κεφ. ΙΧ, σελ 230, 231-232, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη, 1997
 - ΤΣΑΚΙΡΗΣ, Α., 2008: ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΑΦΥΛΙ ΣΤΟ ΚΡΑΣΙ
 - Σουφλερός Ε. Οινολογία Επιστήμη και Τεχνογνωσία, τόμος Ι, σελ 7, 119, 122, 191-194, 197-198, 203, Τυπογραφία Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη, 1997
 - Χαρβαλιά, Α. και Μπενά – Τζούρου, Ε., 1982: Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων, *Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά*, **2**, 1-77, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η οξείδωση κυρίως των λευκών, αλλά επίσης και των ερυθρών οίνων, είναι ένα σημαντικό πρόβλημα. Η οξείδωση του οίνου είναι ένα χημικό (μη ενζυμικό) φαινόμενο, σε αντίθεση με την οξείδωση του γλεύκους που οφείλεται στη δράση της πολυφαινολοξειδάσης σε φαινολικά υποστρώματα παρουσία οξυγόνου (ενζυμική κασπάνωση).

Σύμφωνα με την πρόσφατη γνώση η οξείδωση στον οίνο λαμβάνει χώρα με ρίζες υδροξυλίου. Στο pH του οίνου ο FeII ανάγει το οξυγόνο προς υπεροξειδίο του υδρογόνου, το οποίο παρουσία FeII μετασχηματίζεται σε ρίζες υδροξυλίου (αντίδραση Fenton).



Ακολούθως, με την οξείδωση των φαινολικών συστατικών από τις ρίζες υδροξυλίου ξεκινάει μια αλληλουχία αντιδράσεων. Οι κινόνες που σχηματίζονται είναι ασταθείς και αντιδρούν περαιτέρω με το σχηματισμό πολυμερών και δημιουργία καστανού χρώματος. Οι ρίζες υδροξυλίου, ως ισχυρό και μη επιλεκτικό οξειδωτικό, θεωρείται ότι μπορεί να οξειδώσουν σχεδόν όλα τα συστατικά του οίνου. Μεταξύ αυτών και ενώσεις αρώματος των οίνων. Πολύ πρόσφατα δείξαμε ότι εστέρες που συμβάλλουν σημαντικά στο άρωμα του οίνου οξειδώνονται με προσθήκη FeII και H₂O₂.

Δεδομένου ότι η ανθεκτικότητα των οίνων στην οξείδωση καθορίζει την ποιότητά τους κατά τη διατήρηση, η αποτίμηση της οξειδωτικής τους σταθερότητας είναι σημαντική. Η δοκιμή που εφαρμόζεται είναι η μέτρηση της απορρόφησης στα 420nm, μετά από παραμονή του οίνου στους 45-55°C για 2-3 ημέρες είτε 5 ημέρες.

Στην παρούσα μελέτη γίνεται διερεύνηση της χρήσης της αντίδρασης Fenton για την αποτίμηση της οξειδωτικής σταθερότητας των οίνων.

Σε οίνους προστίθενται αυξανόμενες συγκεντρώσεις FeII και H₂O₂, και οι οίνοι διατηρούνται στους 45°C είτε στους 18°C. Μετράται η απορρόφηση στα 420 nm, που είναι δείκτης κασπάνωσης-οξείδωσης, και λαμβάνεται φάσμα ορατού. Επίσης, γίνεται αποτίμηση αντιοξειδωτικών των οίνων, με λήψη φασμάτων στο υπεριώδες, προσδιορισμό φλαβονολών, ολικών σουλφρυδυλομάδων, θειώδη ανυδρίτη και ασκορβικού οξέος, και της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο Folin.

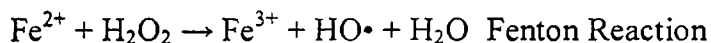
Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι με προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων FeII και H₂O₂ αυξάνεται ο δείκτης κασπάνωσης – οξείδωσης των οίνων (A_{420nm}), ενώ άλλα – όπως φλαβανόλες, ολικές σουλφρυδυλομάδες, θειώδης ανυδρίτης και ασκορβικό οξύ – μειώνονται. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι με χρήση της αντίδρασης Fenton μπορεί να αναπτυχθεί μια εύκολη, γρήγορη και αξιόπιστη δοκιμή αποτίμησης της οξειδωτικής σταθερότητας των οίνων.



ABSTRACT

The oxidation mainly of white, but also of red wines, is a major problem. The oxidation of the wine is a chemical (non-enzymatic) phenomenon, in contrast to the oxidation of the must due to the action of polyphenoloxidase on phenolic substrates in the presence of oxygen (enzymatic browning).

According to current knowledge, wine oxidation occurs by hydroxyl radicals. At pH of wine FeII reduces oxygen to hydrogen peroxide, which in the presence of FeII is transformed into hydroxyl radicals (reaction Fenton).



Subsequently, by the oxidation of phenolic compounds by hydroxyl radicals initiates a sequence of reactions. Quinones that are formed are unstable and react further to form polymers and create a brown colour. The hydroxyl radicals as a powerful and non-selective oxidative can oxidize nearly all components of the wine. Among these and aroma compounds of wines. Very recently we have shown that esters that contribute significantly to the aroma of wine are oxidized by addition of FeII and H₂O₂.

Since the resistance to oxidation determines their quality during the storage, the measurement of their oxidative stability is important. The test used is the measurement of absorbance at 420nm, after a stay of wine at 45-55°C for 2-3 days or 5 days. This study is exploring the use of Fenton reaction to assess the oxidative stability of the wine.

Into wines added increasing concentrations of FeII and H₂O₂, and the wines are kept at 45°C or at 18°C. It is measured the absorbance at 420 nm, which is an indicator of oxidation-browning, and is taken visible spectrum. Also, are valued antioxidants of wine by taking spectra in the ultraviolet and identifying of flavanols, total sulfhydryl, sulfur dioxide, ascorbic acid, and antioxidant activity with the method Folin.

The results show that addition of increasing concentrations of FeII and H₂O₂ increases the oxidation - browning of wines (A_{420nm}), and others - such as flavanols, total sulfhydryl, sulfur dioxide and ascorbic acid - reduced. The results show that using the Fenton reaction can develop an easy, fast and reliable test evaluation of the oxidative stability of wines.

