



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ & ΑΛΚΟΟΛΟΥΧΩΝ ΠΟΤΩΝ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
I) ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑ II) ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Παραγωγή καινοτόμου οίνου με μειωμένη συγκέντρωση θειώδους ανυδρίτη

Μαρία Δ. Βουλαρίνου

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Καλλίθρακα Σταματίνα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2024**

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ & ΑΛΚΟΟΛΟΥΧΩΝ ΠΟΤΩΝ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Παραγωγή καινοτόμου οίνου με μειωμένη συγκέντρωση θειώδους ανυδρίτη

Production of innovative wine with reduced sulfur dioxide concentration

Μαρία Δ. Βουλαρίνου

Εξεταστική Επιτροπή:

Καλλίθρακα Σταματίνα, Καθηγήτρια ΓΠΑ (επιβλέπουσα)

Καραντώνης Χαράλαμπος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Αιγαίου

Γαρδέλη Χρυσανγή, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Παραγωγή καινοτόμου οίνου με μειωμένη συγκέντρωση θειώδους ανυδρίτη

ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων Ι) Γαλακτοκομία ΙΙ) Οινολογία

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου

Εργαστήριο Οινολογίας & Αλκοολούχων Ποτών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Όλο και πιο εντατικά η επιστημονική κοινότητα του κρασιού προσπαθεί να αναπτύξει τρόπους αντικατάστασης ή μείωσης του θειώδους ανυδρίτη, που δρα ως συντηρητικό στον οίνο. Στα πλαίσια της διερεύνησης φυσικών αντιοξειδωτικών πρόσθετων στον οίνο πραγματοποιήθηκε η παρούσα διπλωματική μελέτη, χρησιμοποιώντας μειωμένες ποσότητες προσθήκης θειώδη ανυδρίτη, χιτοζάνης, εκχυλισμάτων από στέμφυλα της ποικιλίας Αυγουστιάτη, αλλά και εκχυλισμάτων από βλαστούς των ποικιλιών Αυγουστιάτη και μικρόρωγου Μοσχάτου Σάμου.

Σε όλα τα δείγματα πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των κλασικών οινολογικών παραμέτρων, αλλά και πιο εξειδικευμένων. Στην πειραματική διαδικασία εξετάσθηκαν σε όλα τα δείγματα, ο ρυθμός οξείδωσης (στα 420 nm), η μέτρηση της μεταβολής της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων, των φαινολικών ενώσεων, του ελεύθερου και ολικού θειώδη ανυδρίτη, της ολικής και πτητικής οξύτητας. Ακόμα, έγιναν αναλύσεις που αφορούν τον ποσοτικό προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών των οίνων προς εξέταση μέσω της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC), ο προσδιορισμός των ολικών ανθοκυανών, ο προσδιορισμός ταννινών με MCP, κα.

Εξετάζοντας τη μεταβολή του ρυθμού οξείδωσης παρατηρούμε πως τα δείγματα με την υψηλότερη προσθήκη metabisulphite, είχαν μικρότερες απορροφήσεις, άρα και μικρότερη οξείδωση. Όσον αφορά τη πτητική οξύτητα, φαίνεται πως όπου υπάρχει προσθήκη metabisulphite και χιτοζάνης, είτε συνδυαστικά είτε ξεχωριστά, υπάρχει ικανότητα συντήρησης και μικροβιακής σταθερότητας έναντι των οξικών βακτηριών (Μ.Ο. Πτητικής Οξύτητας εκφρ. σε οξ.οξύ 0,5g/L). Τόσο το metabisulphite, όσο και η χιτοζάνη συνέβαλλαν θετικά στην διατήρηση των κρασιών. Ως προς τα δείγματα με τα εκχυλίσματα παρατηρούμε πως και σε αυτά η πτητική οξύτητα, κυμαίνεται εντός των αγορανομικών ορίων και στο δείγμα χιτοζάνης-εκχύλισμα στεμφύλων Αυγουστιάτη, αρκετά κάτω των ορίων αυτών, ένδειξη αντιοξειδωτικής δράσης αυτών (Μ.Ο. Πτητικής Οξύτητας εκφρ. σε οξ.οξύ 0,9g/L). Είναι σημαντικό να αναφερθεί, πως σχετικά με τη μέτρηση του Δείκτη Φαινολικών Ουσιών, το metabisulphite αποδεικνύεται ως ισχυρότερο αντιοξειδωτικό μέσο, συγκριτικά με τη χιτοζάνη. Ταυτόχρονα, όπου υπάρχει εκχύλισμα βλαστού, υπάρχει αυξημένη συγκέντρωση του δείκτη φαινολικών ουσιών, κάτι που μας οδηγεί στο συμπέρασμα πως στους βλαστούς των αμπελιών υπάρχουν αυξημένες αντιοξειδωτικές ουσίες. Αξίζει να σημειωθεί πως με βάση την οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων, δεν εντοπίστηκαν αλλοιώσεις εξαιτίας των προσθηκών.

Φαίνεται πως υπάρχει πολύ μεγάλο περιθώριο διερεύνησης των συγκεκριμένων φυσικών αντιοξειδωτικών, αφού φαίνεται πως συνεργατικά θα μπορούσαν να δώσουν θετικά αποτελέσματα και να συμβάλλουν στη συντήρηση του κρασιού μειώνοντας ή και αντικαθιστώντας τις ποσότητες του θειώδη ανυδρίτη, μελλοντικά.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: θειώδης ανυδρίτης, χιτοζάνη, εκχύλισμα, αντιοξειδωτικά

Production of innovative wine with reduced sulfur dioxide concentration

MSc Current Food Technology. I) Dairy Science & Technology II) Oenology

Department of Food Science & Human Nutrition

Laboratory of Oenology & Alcoholic Drinks

ABSTRACT

Increasingly, the scientific community of wine is trying to develop ways of replacing or reducing sulphite anhydride, acting as a preservative in wine. In the context of the exploration of natural antioxidant additives in wine, this diplomatic study took place using reduced amounts of addition of sulphite anhydride, chitosan, extracts from the grape variety Augustiati and extracts from the varieties Augustiati and Muscat of Samos.

All samples were measured in classical oenological parameters, but also more specialized. In the experimental procedure, the oxidation rate by measuring absorption(at 420 nm), the measurement of the change in total antioxidant capacity of wines, phenolic compounds, free and total sulphite anhydride, total and volatile acidity. Furthermore, analyses were made concerning the quantification of phenolic components of wine to be examined through High Efficiency Liquid Chromatography (HPLC), the determination of total anthocyanins, the determination of tannins with MCP, etc.

Examining the variation in the rate of oxidation, we observe that samples with the highest addition of metabisulfite had lower absorption levels, indicating reduced oxidation. As for volatile acidity, it appears that where metabisulfite and chitosan are added, either in combination or separately, there is an enhanced capacity for preservation and microbial stability against acetic bacteria(Average of Volatile Acidity expressed as acetic acid is 0.5 g/L). Both metabisulfite and chitosan contributed positively to the preservation of the wines. Regarding the samples with extracts, we observe that their volatile acidity remains within the regulatory limits, and in the case of the chitosan-Augoustiatis pomace extract sample, it is considerably below these limits, indicating an antioxidant effect(Average of Volatile Acidity expressed as acetic acid is 0.9 g/L). It is important to mention that concerning the measurement of the Phenolic Compounds Index, metabisulfite proves to be a stronger antioxidant compared to chitosan. Simultaneously, where stem extract is present, there is an increased concentration of the phenolic compounds index, leading to the conclusion that grapevine stems contain higher antioxidant substances. It is worth noting that based on the organoleptic evaluation of the samples, no alterations were detected due to the additions.

It seems that there is a lot of space for exploring these natural antioxidants, since it seems that they could collaboratively give positive results and contribute to the maintenance of wine by reducing or replacing the quantities of sulphite anhydride, in the future.

Scientific area: Oenology

Keywords: sulfite, chitosan, extract, antioxidants

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου οινολογίας, καθώς και τους υποψήφιους διδάκτορες που βρίσκονται καθημερινά στο εργαστήριο και συμβάλλουν καθοριστικά στη δημιουργία των διπλωματικών μας εργασιών, και ιδιαίτερα την κα Νίκη Προξενιά για τις συμβουλές της και τη συνολικότερη συμβολή της.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ την Καθηγήτρια Οινολογίας κα Σταματίνα Καλλίθρακα για τη βοήθεια της και καθοδήγηση της κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας, αλλά κυρίως για όλες τις γνώσεις που μου μετέδωσε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, τον αδερφό μου και τη γιαγιά μου, για τη συνολικότερη και πολύπλευρη στήριξή τους, καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και σε κάθε στιγμή της ζωής μου ξεχωριστά. Τους ευχαριστώ που παρότι είναι μακριά, είναι πάντα δίπλα μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ, τον καθένα ξεχωριστά, και να αφιερώσω την εργασία μου στο σύντροφο μου Μανώλη και στη συνάδελφο μου Στέλλα, που χωρίς εκείνους πολλοί από τους στόχους μου θα ήταν ανέφικτοι, όπως και αυτός της ολοκλήρωσης των σπουδών μου. Τους ευχαριστώ για την υπομονή τους, την εμπύχωση τους, την έμπρακτη στήριξη τους και την κατανόηση τους. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον σύντροφο μου, που ενστερνίζεται τους στόχους μου, σαν δικούς του.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΜΕΛΕΤΗΣ	8
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ ΣΤΟ ΚΡΑΣΙ.....	10
1.2.ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ.....	11
1.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ SO ₂ ΣΤΗΝ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ	11
1.4 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ	15
1.4.1 ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΜΕΝΟΥ ΟΙΝΟΥ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ	15
1.4.2 ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΜΕΝΟΥ ΟΙΝΟΥ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ ..	17
2.ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ	18
2.1.ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΣ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ	18
2.2. ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΗΣ ΔΙΑΤΑΞΗΣ	18
2.3. ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ.....	19
3.ΧΙΤΟΖΑΝΗ	19
3.1. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ	19
3.1.1.ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ	20
3.1.2.Η ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ	20
3.2. ΟΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ	21
3.2.1.ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ	21
3.2.2.ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ	21
3.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ ΣΤΗΝ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ	22
3.3.1.ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ.....	22
3.3.2.Η ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ	23
4.ΥΠΟΠΡΟΙΟΝΤΑ ΤΗΣ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ	23
4.1.ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ	24
4.1.1.ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΤΕΜΦΥΛΩΝ ΣΤΑΦΥΛΗΣ	24
5.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	26
5.1.ΓΛΕΥΚΗ	26
5.2.ΟΡΓΑΝΑ	29
5.3.ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	29
5.3.1.ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΣΤΑ 420nm ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΝΩΣΗΣ	30
5.3.2.ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ(ΟΛΙΚΟΣ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΟΣ)	30
5.3.3.ΟΛΙΚΗ Ή ΟΓΚΟΜΕΤΡΟΥΜΕΝΗ ΟΞΥΤΗΤΑ	31
5.3.4.pH-ΕΝΕΡΓΗ ΟΞΥΤΗΤΑ.....	32
5.3.5. ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ(ΔΦΟ)	32

5.3.6.ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΣ Folin-Ciocalteu	32
5.3.7.ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ-ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH	33
5.3.8.ΕΝΤΑΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΧΡΩΣΗ.....	34
5.3.9.ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΑΝΝΙΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΜΕΘΥΛ-ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ (methyl cellulose) (MCP).....	35
5.3.10.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΜΕ HPLC	37
5.3.11.ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ	38
5.3.12.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ HPLC	39
6.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	40
7.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	41
7.1. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΣΤΑ 420nm ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΗΣ ΚΑΣΤΑΝΩΣΗΣ	41
7.2.ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ(ΟΛΙΚΟΣ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΟΣ)	43
7.2.1.ΕΛΕΥΘΕΡΟΣ ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ	43
7.2.2.ΟΛΙΚΟΣ ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ	45
7.3. ΟΛΙΚΗ Ή ΟΓΚΟΜΕΤΡΟΥΜΕΝΗ ΟΞΥΤΗΤΑ	47
7.4.ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ	49
7.5. pH- ΕΝΕΡΓΗ ΟΞΥΤΗΤΑ	51
7.6. ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (ΔΦΟ)	53
7.7.ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΣ Folin-Ciocalteu	55
7.8.ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ – ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH	57
7.9.ΕΝΤΑΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΧΡΩΣΗ	59
7.10.ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΑΝΝΙΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΜΕΘΥΛ-ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ(methyl cellulose) (MCP).....	60
7.11.ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ	61
7.12.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΜΕ HPLC	62
8.ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	64
9.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	66
10.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	67

ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της μεταπτυχιακής μελέτης είναι να διερευνήσει και να αξιολογήσει την αντιοξειδωτική δράση και ικανότητα συντήρησης των οίνων με προσθήκη υποπροϊόντων της αμπέλου και της οينوποίησης, καθώς και την επίδραση από προσθήκη της χιτοζάνης, ως εναλλακτικού συντηρητικού. Στο επίκεντρο της μελέτης βρίσκεται η ανάπτυξη ενός νέου τύπου οίνου, παραγόμενου από την ποικιλία Μοσχάτο Σάμου, που προσβλέπει στη μειωμένη ή μηδενική χρήση θειωδών, ο οποίος θα επιδεικνύει υψηλή αντιοξειδωτική δράση και οργανοληπτική αποδοχή.

Για την επίτευξη αυτού του στόχου, η μελέτη περιλαμβάνει τη συλλογή και ανάλυση υποπροϊόντων από την οينوποίηση, στη συγκεκριμένη περίπτωση στέμφυλα, καθώς και παραπροϊόντων της αμπέλου, όπως οι βλαστοί και οι κληματίδες. Τα υποπροϊόντα αυτά, αφού υποβλήθηκαν σε εκχύλιση, χρησιμοποιήθηκαν ως εναλλακτικές πηγές συντηρητικών σε πειραματική οينوποίηση, με στόχο να υποκαταστήσουν τα θειώδη, τα οποία συμβατικά χρησιμοποιούνται στη διαδικασία της οينوποίησης.

Επιπλέον, η μελέτη εξετάζει την χιτοζάνη, η οποία είναι φυσικός πολυσακχαρίτης, γνωστή για την αντιοξειδωτική της δράση, η οποία συγκρίνεται άμεσα με τη δράση του θειώδους ανυδρίτη. Η μελέτη περιλαμβάνει τη χρήση της χιτοζάνης σε πειραματικές συνθήκες οينوποίησης, με σκοπό την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητάς της ως συντηρητικό, συγκριτικά με τα θειώδη. Η χιτοζάνη εξετάζεται για την ικανότητά της να διατηρεί τη σταθερότητα των χημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του οίνου, ενώ προσφέρει ταυτόχρονα αντιοξειδωτικά οφέλη που ενδέχεται να ενισχύσουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος.

Η μελέτη αποσκοπεί στην αναγνώριση των υποπροϊόντων της αμπέλου ως βιώσιμων και οικολογικών εναλλακτικών λύσεων έναντι της χρήσης θειωδών. Επιπλέον, εστιάζει στην αξιοποίηση της χιτοζάνης για τη βελτίωση της ποιότητας του οίνου, προσφέροντας μια ακόμα λύση στις προκλήσεις της συντήρησης και της διατήρησης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του οίνου.

Μέσα από την ενσωμάτωσή της μελέτης σε περιοχές όπως το νησί της Σάμου, προβάλλει την καινοτομία στη χρήση υποπροϊόντων της αμπέλου και τη χρήση φυσικών αντιοξειδωτικών, προωθώντας την αειφορία και τη βιωσιμότητα στον τομέα της οινολογίας. Μακροπρόθεσμα, θα μπορούσαν να αξιοποιούνται για την ανάπτυξη τροφίμων υψηλής προστιθέμενης αξίας που βασίζονται σε ανανεώσιμες και φυσικές πηγές.

Η ανακάλυψη νέων εφαρμογών για τα υποπροϊόντα της αμπέλου μπορεί να συμβάλει στην αποτελεσματική διαχείριση των αποβλήτων, μειώνοντας τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις και βελτιώνοντας τη συνολική βιωσιμότητα της αμπελουργίας και της οينوποιίας. Μέσω αυτής της μελέτης, επιδιώκεται η προώθηση της χρήσης φυσικών συντηρητικών στην οينوποίηση, ανοίγοντας τον δρόμο για την ανάπτυξη νέων καινοτόμων προϊόντων που θα ικανοποιούν τις σύγχρονες απαιτήσεις για ακόμα καλύτερης ποιότητας οίνους.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο οίνος αποτελεί ένα φυσικό προϊόν με περιεκτικότητα σε αιθανόλη και χαμηλό pH, ιδιότητες που δρουν ανασταλτικά στην ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών. Ωστόσο, για τη συντήρηση του οίνου απαιτείται η προσθήκη συντηρητικού, το οποίο προστατεύει από την οξείδωση και την πιθανή ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών. Κάποιοι μικροοργανισμοί δεν είναι επιθυμητοί, καθώς μπορούν να αλλοιώσουν τον οίνο, επηρεάζοντας τα αρωματικά και γευστικά χαρακτηριστικά του. Πρόσφατα, έχει ενταθεί το ενδιαφέρον των καταναλωτών για τη χρήση φυσικών συντηρητικών ή τεχνικών, με στόχο την αντικατάσταση των χρησιμοποιούμενων πρόσθετων, τα οποία θεωρούνται ύποπτα όσον αφορά την επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό ή δεν είναι πλέον ευρέως αποδεκτά από το κοινό.

Η αυξημένη παραγωγή υποπροϊόντων στον τομέα των τροφίμων έχει οδηγήσει σε έντονα οικονομικά και περιβαλλοντικά ζητήματα τα τελευταία χρόνια. Ένα από τα κύρια ζητήματα είναι η ανάδειξη αυτών των υποπροϊόντων ως πρώτων υλών για επεξεργασία, με σκοπό τον περιορισμό των περιβαλλοντικών επιπτώσεων και την παραγωγή τροφίμων υψηλής προστιθέμενης αξίας. Αυτή η προσέγγιση θα μπορούσε να συμβάλει σε έναν πιο βιώσιμο τομέα τροφίμων με καλύτερες προοπτικές.

Η καλλιέργεια της αμπέλου κατέχει κρίσιμο ρόλο στην ευρωπαϊκή οικονομία. Η Ελλάδα κατέχει την έβδομη θέση στην ΕΕ (Vlachos, 2017) όσον αφορά τον όγκο στην παραγωγή σταφυλιών.

Γίνονται πολλές έρευνες για εναλλακτικές χρήσεις και αξιοποιήσεις των υποπροϊόντων της οινοβιομηχανίας, παίρνοντας υπόψη παράγοντες όπως τα περιβαλλοντικά οφέλη, η οικονομική αποδοτικότητα και οι νέες προοπτικές για βιομηχανική ανάπτυξη. Πρόσφατες έρευνες έχουν επισημάνει ότι τα μη εκχυλισμένα συστατικά, όπως οι βιοδραστικές χημικές ενώσεις από το φλοιό του σταφυλιού, ενδέχεται να παρουσιάζουν σημαντικό ενδιαφέρον. (Fernández-Fernández, και συν., 2022), (Gorrasi, Viscusi, Gerardi, Lamberti, & Giovinazzo, 2022), (Mokrani, Charradi, Limam, Aouani, & Urdaci, 2022).

Η ανάγκη για υγιεινά τρόφιμα αυξάνεται συνεχώς, και μια λύση που εξετάζεται για να καλυφθεί αυτή η ανάγκη είναι η χρήση υποπροϊόντων όπως ο φλοιός του σταφυλιού που απομένει κατά την παραγωγή οίνου (Topolska, Florkiewicz, & Filipiak-Florkiewicz, 2021), (Bakshi, Chhabra, & Kaur, 2020), (Plasek & Temesi, 2019) ή φυσικά αντιοξειδωτικά, όπως η χιτοζάνη.

Εφαρμόζοντας αυτήν την προσέγγιση σε περιοχές με πολλά μικρά νησιά, όπως η περιοχή του βόρειου Αιγαίου στην Ελλάδα και άλλες, μπορεί να προωθηθεί η καινοτομία και η επιχειρηματικότητα στον αγροδιατροφικό τομέα.

Η εκμετάλλευση υποπροϊόντων της αμπέλου, όπως για παράδειγμα των φλοιών των σταφυλιών, η οποία είναι περίσσεια σε αυτά τα νησιά αλλά και άλλες αντίστοιχα περιοχές, μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία νέων λειτουργικών τροφίμων ή στην περαιτέρω ανάπτυξη

ήδη υπαρχόντων παραδοσιακών προϊόντων. Η αυξημένη ζήτηση για αυτά τα προϊόντα μπορεί να οδηγήσει σε πιο βιώσιμες συνθήκες για τις τοπικές κοινότητες στο μέλλον.

Η οινοποιία παράγει πλήθος υποπροϊόντων διαφόρων τύπων, τα οποία συνήθως αξιοποιούνται ως βιολογικά λιπάσματα ή ζωοτροφές. Επιπλέον, η καλλιέργεια της αμπέλου έχει σημειώσει σημαντική επέκταση τα τελευταία χρόνια (Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), FAOSTAT), με αποτέλεσμα την κατακόρυφη αύξηση της παραγωγής οίνου και των σχετικών υποπροϊόντων. Ο φλοιός του σταφυλιού έχει αναγνωριστεί για τη μεγάλη περιεκτικότητα σε ποσότητες βιοδραστικών ενώσεων (Andrade, και συν., Biology 2021), (Serea, Râpeanu, Constantin, Bahrim, Stănciuc, & Croitoru, 2021) που δίνουν επιπρόσθετη αξία σε αυτά τα υποπροϊόντα λόγω των διαφόρων πιθανών εφαρμογών τους στους τομείς τροφίμων και φαρμακευτικών προϊόντων (Felice, και συν., . 2012,) , (Soares De Moura, και συν., 2012,). Υπάρχουν προηγούμενες αναφορές από διάφορες έρευνες για τις αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριακές, αντιφλεγμονώδεις, αντιπαχυσαρκικές και αντικαρκινικές ιδιότητες των βιομορίων που λαμβάνονται από τον φλοιό του σταφυλιού (Morré & Morré, 2006), (Oueslati, Charradi, Bedhiafi, Limam, & Aouani, 2016), (Bomfim, και συν.), (PharmaNutrition, 2019), (Sochorova, και συν., 2020), (De Costa, και συν., 2020). Επιπλέον, άλλες μελέτες έχουν δείξει, βιοδραστικές ουσίες σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης που παρουσιάζουν αντιοξειδωτικές και/ή ότι είναι σημαντικές για την πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων (Demopoulos, Karantonis, & Antonopoulou, 2003), (Nomikos, Fragoroulou, & Antonopoulou, 2007).

1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ ΣΤΟ ΚΡΑΣΙ

Ο οίνος είναι από τα δημοφιλέστερα αλκοολούχα ποτά. Πλήθος επιστημονικών ερευνών μέχρι και η μυθολογία συνδυάζουν τον οίνο ως άρρηκτα συνδεδεμένο με τον ανθρώπινο πολιτισμό. Στους μεγάλους πολιτισμούς της αρχαιότητας, αρχικά της Αιγύπτου και στη συνέχεια της Ελλάδας και της Ιταλίας, βάση και αρχαιολογικών αποδείξεων, μπορούμε με σιγουριά να παρατηρήσουμε την ιδιαίτερα σημαντική οινολογική δραστηριότητα. (Jackson R.S., 2008).

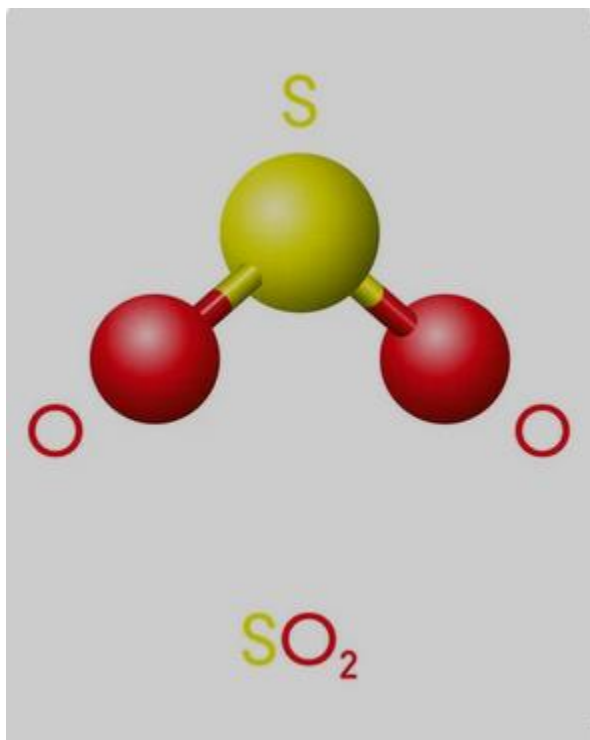
Ο οίνος προκαλούσε βαθύ προβληματισμό, με βασικό πεδίο αναζήτησης τις πρώτες χημικές αντιδράσεις που είναι η ζύμωση και η οξείδωση και ο τρόπος ελέγχου τους. Οι Ρωμαίοι χρησιμοποιούσαν το θειάφι με το οποίο κάπνιζαν τα βαρέλια (Scollary, 2012).

Το 1487, μπορούμε να εντοπίσουμε την πρώτη γραπτή αναφορά σχετικά με τη χρήση του SO₂ στην παραγωγή οίνου. Κάτι τέτοιο αποσκοπούσε στην προστασία του οίνου από διάφορες αλλοιώσεις. (Jackson R.S. , 2008).

Στην εποχή μας, η χρήση του θειώδους ανυδρίτη στην οινοποίηση είναι μαζική και ευρέως αποδεκτή. Η χρήση του καθορίζεται από την σχετική διεθνή νομοθεσία. Με αυτόν τον τρόπο, διασφαλίζεται η υψηλή ποιότητα του κρασιού καθώς και η μακροχρόνια διατήρησή του. (Goode J. , 2005).

1.2. ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ

Ο θειώδης ανυδρίτης είναι μια χημική ένωση που αποτελείται από ένα άτομο θείου (S) και δύο άτομα οξυγόνου (O) (Εικόνα 1). Ο συνδυασμός αυτών των ατόμων δημιουργεί ένα διπολικό μόριο (Hasenberg, 2008).



Εικόνα 1. Το μοριακό SO_2 (Wikipedia)

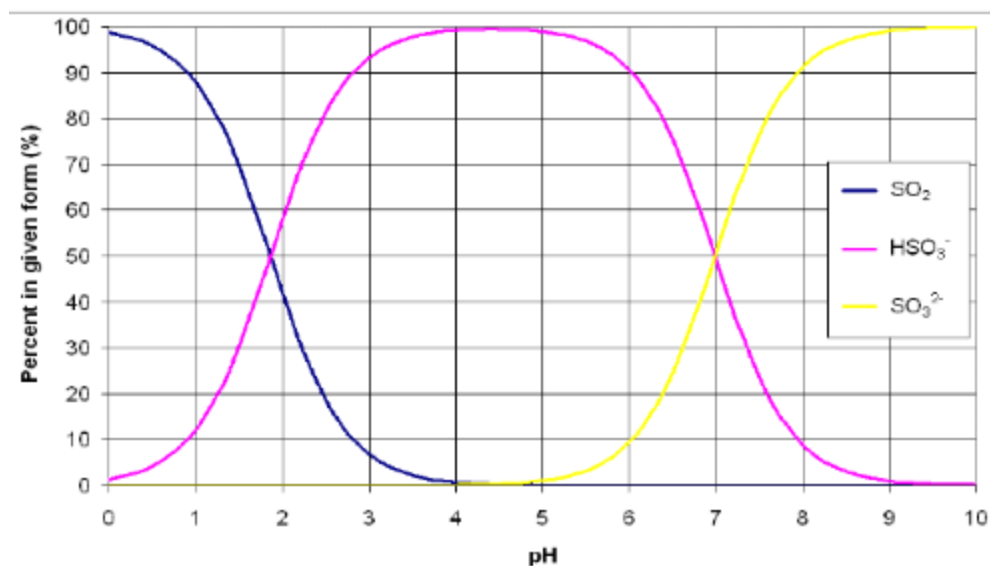
Το διοξείδιο του θείου (SO_2) είναι ένα άχρωμο, τοξικό αέριο, ευδιάλυτο στο νερό, με χαρακτηριστική βαριά και έντονη οσμή. Προκαλεί έντονο ερεθισμό στα μάτια και στους αεραγωγούς του ανθρώπινου αναπνευστικού συστήματος. Η εισπνοή του μπορεί να οδηγήσει μέχρι και σε πνευμονικό οίδημα, ενώ παρατεταμένη έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να προκαλέσει θάνατο (Hasenberg, 2008)(Biancalana, 2006).

Το SO_2 είναι μια από τις θεμελιώδεις ουσίες στη βιομηχανία τροφίμων, γενικότερα. Χρησιμοποιείται ως συντηρητικό. Η παρουσία του στα προϊόντα θα πρέπει να επισημένεται με κωδικούς ή και αναφορές, σύμφωνα με την κωδικοποίηση των πρόσθετων ουσιών της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

1.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ SO_2 ΣΤΗΝ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Οι πολυδιάστατες ιδιότητες του διοξειδίου του θείου (SO_2) το καθιστούν μία από τις πρωταρχικές προσθετικές ουσίες στη διαδικασία οινοποίησης. Στη συμβατική οινοποίηση, το SO_2 εφαρμόζεται σε κάθε στάδιο της διαδικασίας, αξιοποιώντας όλες τις μορφές των θειωδών.

Η κατανόηση της επίδρασης του SO_2 προϋποθέτει την ανάλυση της χρήσης των διαφόρων μορφών των θειωδών και της αναλογίας τους στο διάλυμα γλεύκους ή κρασιού. Οι μορφές που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν τις ελεύθερες και δεσμευμένες μορφές του θειώδους ανυδρίτη. Η αναλογία και η μορφή τους στο διάλυμα του γλεύκους και του κρασιού καθορίζονται από το pH, καθώς και από το αν είναι δεσμευμένες με καρβονύλια, ακόρεστες ενώσεις ή παράγωγα φαινολών. Επισημαίνεται ότι όλοι οι οίνοι χαρακτηρίζονται από μια όξινη φύση, σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό. (Goode J. , 2005).



Εικόνα 2. Η αναλογία των διαφόρων μορφών του SO_2 σε εύρος pH 0 έως 7. Οι οίνοι έχουν εύρος pH 3-4, άρα το bisulphite ιόν είναι η κυρίαρχη μορφή του ελεύθερου στον οίνο (Ribéreau – Gayon. et al., 2006).

Η ακριβής δοσολογία του διοξειδίου του θείου (SO_2) σε σχέση με την ποσότητα του γλεύκους και του οίνου αποτελεί ζήτημα κυρίαρχης σημασίας στην οινοποίηση. Τα στυλ και οι μέθοδοι παραγωγής παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις ανάλογα με την γεωγραφική περιοχή και τις προτιμήσεις του οινολόγου, ενώ επηρεάζονται επίσης από την επιδιωκόμενη ποιότητα του τελικού προϊόντος. Σε περιπτώσεις υποδυέστερης ποιότητας πρώτων υλών, η χρήση αυξημένων ποσοτήτων SO_2 ενδέχεται να είναι αναγκαία. Ωστόσο, υπερβολικές συγκεντρώσεις SO_2 μπορούν να καταστρέψουν το ποικιλιακό άρωμα ή να ενισχύσουν την αντιληπτή οσμή του διοξειδίου του θείου στον οίνο, επηρεάζοντας αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Επιπροσθέτως, υψηλές συγκεντρώσεις SO_2 μπορεί να αναστείλουν την ανάπτυξη και τον μεταβολισμό επιθυμητών ζυμομυκήτων, αυξάνοντας τον κίνδυνο πρόωρης και ανεπιθύμητης διακοπής της αλκοολικής ζύμωσης. Στους ερυθρούς οίνους, οι υπερβολικές ποσότητες SO_2 μπορούν να προκαλέσουν αδρανοποίηση των ανθοκυανινών, οδηγώντας σε αποχρωματισμό. Από την άλλη, ανεπαρκείς ποσότητες SO_2 δεν εξασφαλίζουν την σταθερότητα των οργανοληπτικών και χημικών χαρακτηριστικών του κρασιού, καθιστώντας το ευάλωτο σε μικροβιακή και οξειδωτική φθορά, γεγονός που επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα και τη διατηρησιμότητά του (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Η πολυπλοκότητα και οι διακυμάνσεις των ανωτέρω παραγόντων καθιστούν ανέφικτη την καθιέρωση απόλυτων κανόνων δοσολογίας, επιτρέποντας ποικιλία επιλογών στις οποίες μπορεί να προσαρμοστεί ο εκάστοτε οινολόγος (Henderson, 2009; Di Costo, 2006).

Τα νομικά όρια που επιβάλλονται, σε γενικές γραμμές, για την τελική συγκέντρωση του SO₂ στον οίνο είναι έως 150 mg/L ολικός θειώδης ανυδρίτης για τους ερυθρούς οίνους και 200 mg/L ολικός θειώδης ανυδρίτης για τους λευκούς. Είναι υποχρεωτικό να αναγράφεται στην ετικέτα πως περιέχεται. (Di Costo, 2006).

Πίνακας 1. Μέγιστες επιτρεπτές συγκεντρώσεις του SO₂ διάφορους τύπους οίνων. Κανονισμοί της Ευρωπαϊκής Κοινότητας & προτάσεις της ΟΙV. (Ribéreau – Gayon P. et al., 2006)

A. EU regulations no: 1493/1999 and 1622/2000, modified in 1655/2001

Types of wine	Sugar content ≤ 5 g/l	Sugar content = or > 5 g/l
Red wines	160 (+40)*	210 (+40)*
White and rosé wines	210 (+40)*	260 (+40)*
Red vins de pays	125	150
White and rosé vins de pays	150	175
Dessert wines	150	200
Vins de pays (TAV > 15% vol.; sugar > 45 g/l)		
White AOC wines		
Bordeaux supérieur, Graves de Vayres, Côtes de Bordeaux		
Saint-Macaire, Premières Côtes de Bordeaux, Sainte-Foy		
Bordeaux, Côtes de Bergerac suivie ou non de la denomination		
Côtes de Saussignac, Haut Montravel, Côtes de Montravel et		
Rosette, Gaillac		
White DO wines		
Allela, La Mancha, Navarra, Penedes, Rioja, Reuda, Tarragona		
et Valencia		
Alto Adige, Trentino "passito" "vendemmia tardiva"		
Vqprd Moscato di Pantelleria naturale und Moscato di Pantelleria		
United Kingdom Vqprd described as follows:		
botrytis, noble harvest, noble late harvested		
German wines		
Spätlese		300
Auslese and some Rumanian white wines		350
Beerenauslese, Ausbruch, Ausbruch-wein, Trockenbeerenauslese,		400
Elswein		
White AOC wines		
Sauternes, Barsac, Cadillac, Cérons, Louplac,		
Sainte-Croix-du-Mont, Graves supérieurs, Monbazillac,		
Jurançon, Pacherenc du Vic Bilh, Anjou-Coteaux de la Loire,		
Bonnezeaux, Quarts de Chaume, Coteaux de l'Aubance,		
Coteaux du Layon suivi du nom de la commune d'origine,		
Coteaux du Layon suivi du nom de Chaume, Coteaux de		
Saumur		
Alsace et Alsace grand cru suivi de la mention "vendanges		
tardives" ou "selection de grains nobles"		
Sweet wines from Greece (sugar = or > 45 g/l)		
Samos, Rhodes, Patras, Rio Patron, Cephalonie, Limnos, Sitia,		
Santorin, Néméa, Daphines		
Certain Canadian white wines (Icewine)		400

*When required due to weather conditions in certain vineyard areas.

B. OIV—maximum acceptable limits: International Code of Winemaking Practices and Collection of International Wine Analysis Methods, 2001.

Types of wine	Sugar content = or < 4 g/l	Sugar content ≥ 4 g/l
Red wines	150	300
White and rosé wines	200	300
Certain sweet white wines		400

Η χρονική στιγμή προσθήκης και η ακριβής ποσότητα του θειώδους ανυδρίτη (SO_2) είναι καθοριστικής σημασίας για τους οινοποιούς και επηρεάζονται από ποικίλους παράγοντες, όπως η ποικιλία των σταφυλιών, το χρώμα τους, και το στάδιο της οινοποίησης. Η προσθήκη SO_2 έχει σημαντική επίδραση στον τελικό χαρακτήρα του οίνου, είτε προστίθεται πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, είτε μεταγενέστερα.

Η προσθήκη SO_2 πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης αναστέλλει τη δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης, μειώνοντας την πιθανότητα οξειδωτικής αμαύρωσης του γλεύκους. Επιπλέον, επηρεάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος, συμβάλλοντας στη διατήρηση των φρουτώδων και ανθικών αρωμάτων που υπάρχουν στο γλεύκος. Μέχρι το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, το μεγαλύτερο μέρος του θειώδους ανυδρίτη δεσμεύεται, ενώ η εναπομείνασα μικρή ποσότητα ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη προστατεύει τον οίνο από ανεπιθύμητες δευτερογενείς ζυμώσεις και επιμολύνσεις (Henderson, 2009).

Η κατανόηση των επιπτώσεων της προσθήκης θειώδους ανυδρίτη κατά τη διαδικασία ζύμωσης του γλεύκους είναι καίριας σημασίας για την παραγωγή οίνου υψηλής ποιότητας. Η προσθήκη θειώδους ανυδρίτη σε ζυμούμενο μούστο πρέπει να αποφεύγεται αυστηρά. Το διοξείδιο του θείου (SO_2) μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως δυσάρεστα αρώματα και γεύσεις, που θυμίζουν το ίδιο το θείο ή χαλασμένα αυγά. Επιπλέον, υπάρχει ο κίνδυνος αύξησης της ποσότητας των ιζημάτων λόγω πήξης κολλοειδών ουσιών που υπάρχουν ήδη στο γλεύκος. Σημαντικότερα, ο θειώδης ανυδρίτης μπορεί να αναστείλει τη ζύμωση.

Μία εξαίρεση είναι η παραγωγή οίνων με υψηλή συγκέντρωση σακχάρων και υψηλό αλκοολικό βαθμό, όπως οι ερυθροί οίνοι Banyuls AOC, Maury και οι λευκοί Muscat de Beaumes de Venise AOC, Muscat de Rivesaltes και Muscat de Frontignan. Αυτή η διαδικασία, γνωστή ως mutage, περιλαμβάνει την προσθήκη υψηλών ποσοτήτων SO_2 για να διακόψει την αλκοολική ζύμωση και να διατηρήσει αζύμωτα σάκχαρα, προσδίδοντας ιδιαίτερη γλυκύτητα στους παραγόμενους οίνους (Biancalana, 2006).

Το διοξείδιο του θείου προστίθεται επίσης σε μεταγενέστερα στάδια της οινοποίησης για να προστατεύσει τον οίνο από την οξείδωση και να διατηρήσει τη φρεσκάδα του. Κατά τη διαδικασία γήρανσης του οίνου, οι ποσότητες των θειωδών μορφών του διοξειδίου του θείου μειώνονται, μειώνοντας παράλληλα την αποτελεσματικότητά τους. Συνεπώς, ο θειώδης ανυδρίτης προστίθεται και κατά το στάδιο της συντήρησης του οίνου (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Ο δεσμευμένος θειώδης ανυδρίτης δεν έχει σημαντική αξία εκτός από αγορανομικούς περιορισμούς, καθώς δεν εμφανίζει σημαντικές αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Παρ' όλα αυτά, σε περιπτώσεις εξάντλησης του ελεύθερου διοξειδίου του θείου παρατηρείται κατανάλωση του δεσμευμένου.

Το διοξείδιο του θείου προστίθεται κάθε φορά που ο οίνος έρχεται σε επαφή με το οξυγόνο, όπως κατά τη διάρκεια φιλτραρίσματος και εμφιάλωσης, καθώς και όταν ο οίνος έχει μολυνθεί από βακτήρια γαλακτικού οξέος. Η συγκέντρωση θειώδους ανυδρίτη που προστίθεται εξαρτάται από το βαθμό της μηλογαλακτικής ζύμωσης (Goode, 2005). Το SO_2 μπορεί να μειώσει τις δυσάρεστες οσμές σήψης και μούχλας, ενώ ταυτόχρονα διατηρεί τις ευχάριστες αρωματικές

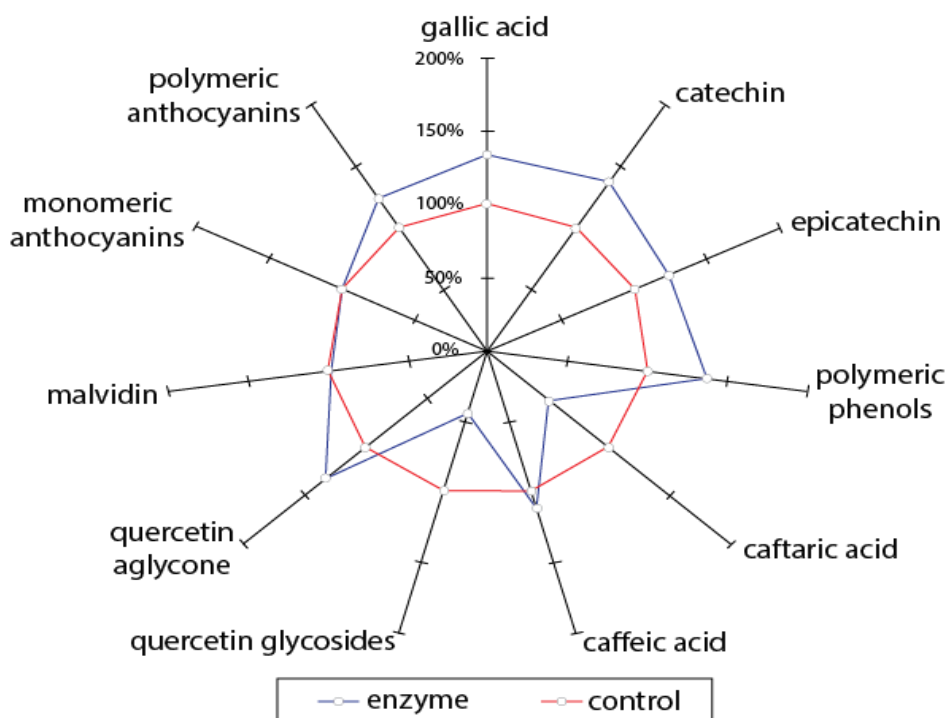
ιδιότητες της ποικιλίας. Για να επιτευχθεί αυτό, είναι απαραίτητη η προσθήκη SO₂ και μετά την αλκοολική ζύμωση (Biancalana, 2006).

Η παρουσία και η γεύση του θειώδους ανυδρίτη στον οίνο θεωρούνται αρνητικά χαρακτηριστικά, καθιστώντας τον οίνο μη εμπορεύσιμο και προκαλώντας σημαντική ζημία στον οινοπαραγωγό (Henderson, 2009). Η προσήλωση στις ακριβείς ποσότητες προσθήκης είναι κρίσιμη για την αποφυγή επιπλέον οργανοληπτικών αλλοιώσεων και αρνητικών επιπτώσεων. Οι διάφορες μορφές θειώδους ανυδρίτη μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανάλογα, παρέχοντας στους οινοποιούς την ευελιξία να επιλέξουν την καταλληλότερη μορφή για τον επιθυμητό οίνο.

1.4. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

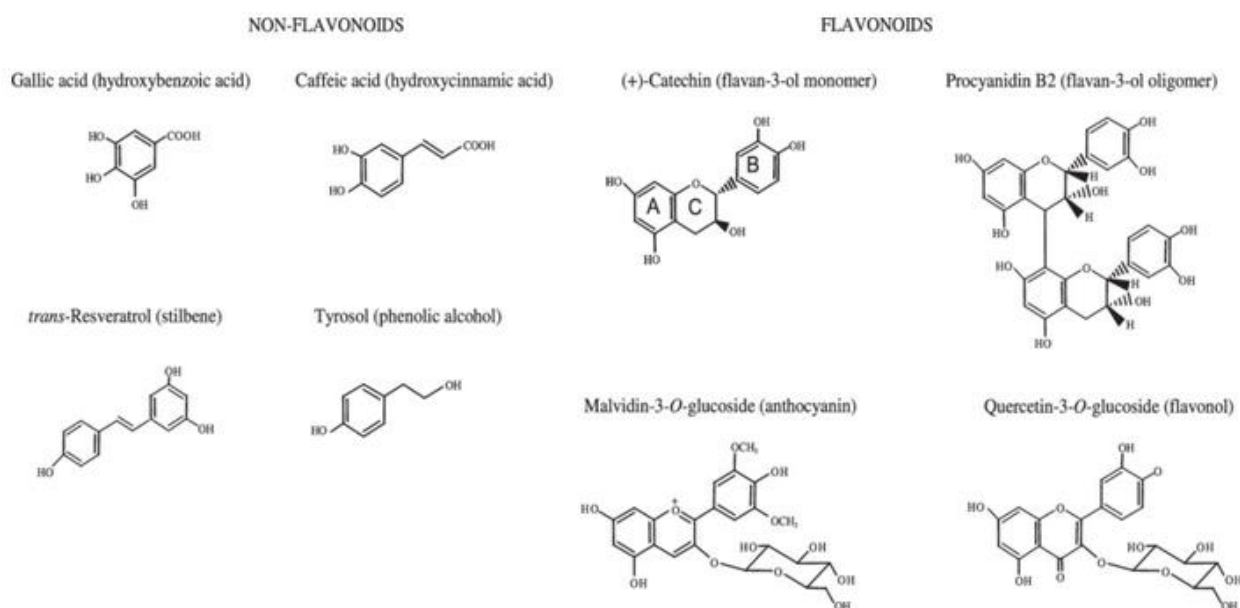
1.4.1. ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΜΕΝΟΥ ΟΙΝΟΥ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Ο οίνος αποτελεί ένα από τα πιο δημοφιλή ποτά παγκοσμίως, με μακρά ιστορία και σημαντική παρουσία στην παγκόσμια αγορά. Τα οφέλη της κατανάλωσής του είναι αξιοσημείωτα, διατηρώντας την δημοτικότητα του σε καθημερινή βάση. Οι πολυφαινόλες που περιέχει ο οίνος είναι οι κύριες ενώσεις που συνεισφέρουν στις θετικές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι φαινολικές αυτές ενώσεις περιλαμβάνουν τις πολυμερείς φλαβονοειδείς φαινόλες, όπως οι τανίνες και οι ανθοκυάνες, καθώς και τις μονομερείς μη φλαβονοειδείς φαινόλες, όπως το γαλλικό οξύ, η κατεχίνη, η επικατεχίνη, το καφταρικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, οι γλυκοζίτες κερκετίνης και η αγλυκόνη κερκετίνη (Κουράκου-Δραγώνα, 1998; EST Laboratories, 2011). Στην Εικόνα 3 μπορούμε να δούμε τα κύρια φαινολικά συστατικά ενός οίνου και τις συγκεντρώσεις τους.



Εικόνα 3. Κύριες φαινόλες του οίνου. (ETS laboratories, 2011)

Ιδιαίτερα ισχυρές αντιοξειδωτικές ενώσεις, εμφανίζονται στην Εικόνα 4.



Εικόνα 4. Οι κύριες αντιοξειδωτικές ενώσεις του οίνου(Instituto de Fermentaciones Industriales,2010).

Ορισμένα από τα πιο σημαντικά οφέλη του οίνου στον άνθρωπο είναι:

- Προσδίδει πολυπλοκότητα στην αίσθηση της γεύσης,
- Συμμετέχει στη κυτταρική διεργασία καθώς αξιοποιείται από τον οργανισμό μας ως αντιοξειδωτικό(A Scalbert, 2005),
- Συμμετέχει στη διεργασία του μεταβολισμού του οργανισμού μας και συμβάλει θετικά (Forester S.C., 2009),
- Πρόληψη και θεραπεία σοβαρών ασθενειών (L. Brown, 2009), (He Xin, 2011).

Η Εικόνα 5 παρακάτω παρουσιάζει με ακρίβεια την κατανομή και προέλευση των βασικών φαινολικών μορίων σε μια ράγα σταφυλιού. Εξαιρούνται οι υδροξυκινναμικές ενώσεις, καθώς βρίσκονται ήδη στο γλεύκος. (Kennedy, 2008).

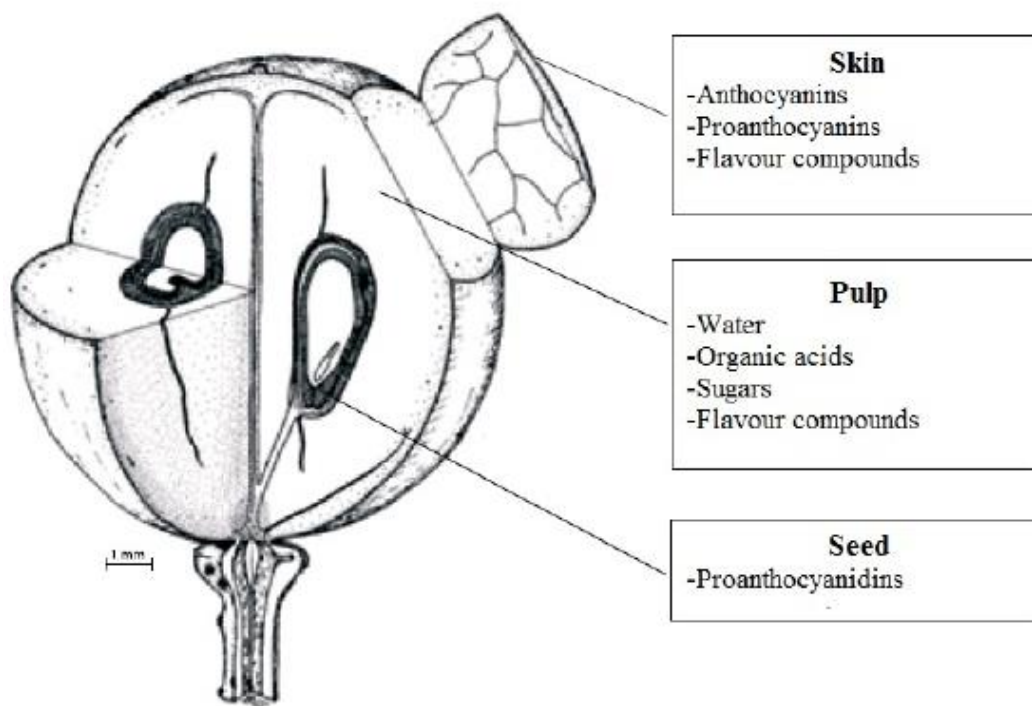


FIGURE 1
Distribution of compounds in a grape berry (Kennedy, 2008).

Εικόνα 5. Κατανομή σημαντικών συστατικών ενώσεων που υπάρχουν στη ράγα σταφυλίου που σχετίζεται με την ποιότητα του οίνου (Kennedy, 2008).

1.4.2. ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΘΕΙΩΜΕΝΟΥ ΟΙΝΟΥ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Η κατανάλωση του θειωμένου οίνου, έχει όπως αναφέρθηκε πολλά οφέλη, όμως συνοδεύεται από αρκετά μειονεκτήματα, λόγω των αρνητικών επιπτώσεων του θειώδους ανυδρίτη στην ανθρώπινη υγεία.

Μειονεκτήματα χρήσης θειώδους ανυδρίτη:

- Μεταβολές σε βιταμίνη(Di Costo, 2006),
- Κεφαλαλγίες (C.S. Ough, 1992),
- Αλλεργικές επιδράσεις (Ough, 1992), (Di Costo, 2006),
- Αλληλεπιδράσεις με φάρμακα (Di Costo, 2006).

Η ανάγκη να προστατευτούν άνθρωποι ευαίσθητοι στα θειώδη, ήταν η αφορμή στο να θεσπιστούν όρια ασφαλείας για τη χρήση τους. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO- World Health Organization) είναι ο υπεύθυνος θεσμός να αξιολογεί τις τοξικές επιδράσεις κάθε προσθετικής ουσίας των τροφίμων, ανάμεσά τους και του διοξειδίου του θείου. Ως τη μέγιστη ημερησία πρόληψη ορίζει στα 0,7mg/kg του ανθρώπινου σωματικού βάρους και την θανατηφόρα δόση σε 1,5 g/kg του σωματικού βάρους (Biancalana, 2006). Παρόλο της νομοθετικής προστασίας, τα άτομα αυτά δυσχεραίνουν στη κατανάλωση του αλκοόλ. Με σκοπό τη μείωση χρήσης θειώδη ανυδρίτη στοχεύει και η υποχρέωση που έχει επιβληθεί σε πολλές χώρες να αναγράφεται η πληροφορία “contains sulfites”/”περιέχει θειώδη”.

2. ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ

2.1. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΣ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ

Τα τελευταία χρόνια, έχει αναδυθεί μια νέα τάση από την επιστημονική κοινότητα που προωθεί την αποκλειστική χρήση φυσικών πρόσθετων ουσιών στην οινολογία, ακολουθώντας παρόμοιες εξελίξεις σε άλλους τομείς της τροφικής βιομηχανίας. Η ανάγκη των καταναλωτών για ασφαλή και υγιεινά τρόφιμα συνδέεται άμεσα με τις πρακτικές καλλιέργειας και τη διαχείριση των φυτών. Σε αυτό το πλαίσιο, πραγματοποιούνται συνεχώς νέα πειράματα με υψηλότερους στόχους, υπό την καθοδήγηση της διεθνούς επιστημονικής κοινότητας. Ο τομέας της αμπελουργίας και της οινολογίας δεν θα μπορούσε να μείνει ανεπηρέαστος από αυτές τις εξελίξεις.

2.2. ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΗΣ ΔΙΑΤΑΞΗΣ

Το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για το αμπέλι, τα υποπροϊόντα του και τις φυτικοχημικές ιδιότητες των ραγών του, έχει ενισχύσει ένα μεγάλο φάσμα νέων πειραμάτων, με θετικά αποτελέσματα. Ο θειώδης ανυδρίτης αποτελεί σημαντικό βοήθημα για τους οινολόγους, ωστόσο, οι δυνητικά αρνητικές επιπτώσεις του στην ανθρώπινη υγεία το καθιστούν αμφιλεγόμενο. Επιπλέον, η υποχρεωτική χρήση του θειώδους ανυδρίτη αποτελεί πρόκληση για τους παραγωγούς βιολογικού οίνου. Στο παρελθόν, η βιολογική πιστοποίηση αφορούσε κυρίως την προέλευση των σταφυλιών από βιολογική καλλιέργεια, επιτρέποντας την αναγραφή της ένδειξης «οίνος από βιολογικά σταφύλια» στις ετικέτες.

Η Ευρωπαϊκή Κοινότητα, ωστόσο, έχει θεσπίσει νέες νομοθετικές ρυθμίσεις για τους αμπελουργούς βιολογικής καλλιέργειας. Ο Κανονισμός 834/2007, που τέθηκε σε εφαρμογή από τη συγκομιδή του 2012, επιτρέπει την αναγραφή του όρου «βιολογικός οίνος» στις ετικέτες των οίνων. Αυτή η ρύθμιση βοηθά τους οينوποιούς και τους καλλιεργητές βιολογικής καλλιέργειας να διαχωρίζονται και να ξεχωρίζουν στον καταναλωτή. Σχετικά με τη χρήση προσθετικών ουσιών, ο Κανονισμός 606/2009 καθορίζει τις τεχνικές οδηγίες, μειώνοντας και περιορίζοντας τα μέγιστα όρια των προσθετικών ουσιών στη βιολογική οينوποίηση. Το επίπεδο των θειωδών στο βιολογικό οίνο πρέπει να είναι τουλάχιστον 30-50 mg/L χαμηλότερο από τα συμβατικά. Συγκεκριμένα, η μέγιστη περιεκτικότητα σε θειώδη είναι 100 mg/L για τους ερυθρούς οίνους και 150 mg/L για τους λευκούς και ροζέ οίνους (Euro Group, 2012).

2.3. ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ ΤΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗ

Οι έρευνες και μελέτες στον τομέα της οινολογίας, ιδιαίτερα από τις αρχές του νέου αιώνα, επικεντρώνονται στην εύρεση εναλλακτικών λύσεων που αποσκοπούν στον πλήρη αποκλεισμό της χρήσης θειωδών στη βιομηχανία οίνου. Στόχος είναι η εύρεση φυσικών, βιολογικών ή ήπιων τεχνολογικών μέσων που θα επιτρέψουν την παραγωγή ασφαλών προϊόντων χωρίς αυξημένο ρίσκο. Στο πλαίσιο αυτό, διεθνώς πραγματοποιούνται συνεργατικά ερευνητικά προγράμματα, όπως τα Orwine και Winesulfree.

Οι έρευνες έχουν αναδείξει τρεις κύριες εν δυνάμει φυσικές μεθόδους ή αντικαταστάτες του θειώδους ανυδρίτη:

- Αξιοποίηση πολυσακχαριτών
- Χρησιμοποίηση εκχυλισμάτων
- Αξιοποίηση τεχνικής υψηλής υδροστατικής πίεσης

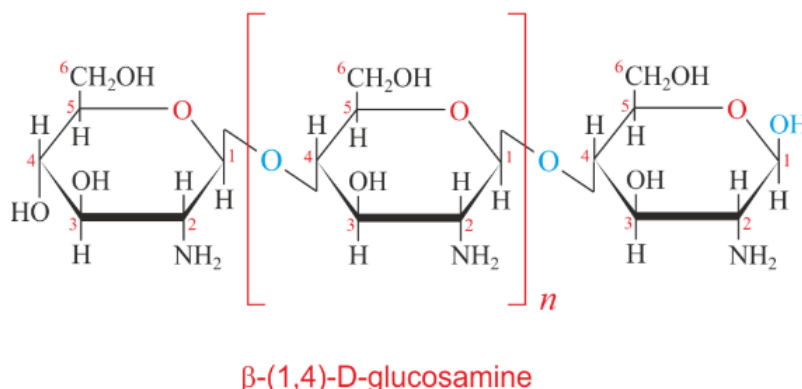
Στην παρούσα εργασία, θα επικεντρωθούμε στην αξιοποίηση πολυσακχαριτών και εκχυλισμάτων ως εναλλακτικές λύσεις στη χρήση θειώδους ανυδρίτη.

3. ΧΙΤΟΖΑΝΗ

3.1. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Η χιτοζάνη, της οποίας η δομή παρουσιάζεται στην Εικόνα 6 παρακάτω, αποτελεί την αποακετυλιωμένη μορφή της χιτίνης, όταν ο βαθμός αποακετυλίωσης DD ξεπεράσει το 50%. Είναι ένα κατιονικό βιοπολυμερές με αμέτρητες εφαρμογές στον τομέα κυρίως της βιοϊατρικής, με κύριο χαρακτηριστικό την απουσία τοξικότητας. Με σκοπό ο πολυσακχαρίτης αυτός να αξιοποιηθεί στο μέγιστο από την επιστήμη, γίνονται συνεχώς νέες έρευνες σχετικά και θεωρείται από τους επιστήμονες ένα νέο και πρόσφορο πεδίο αναζήτησης.

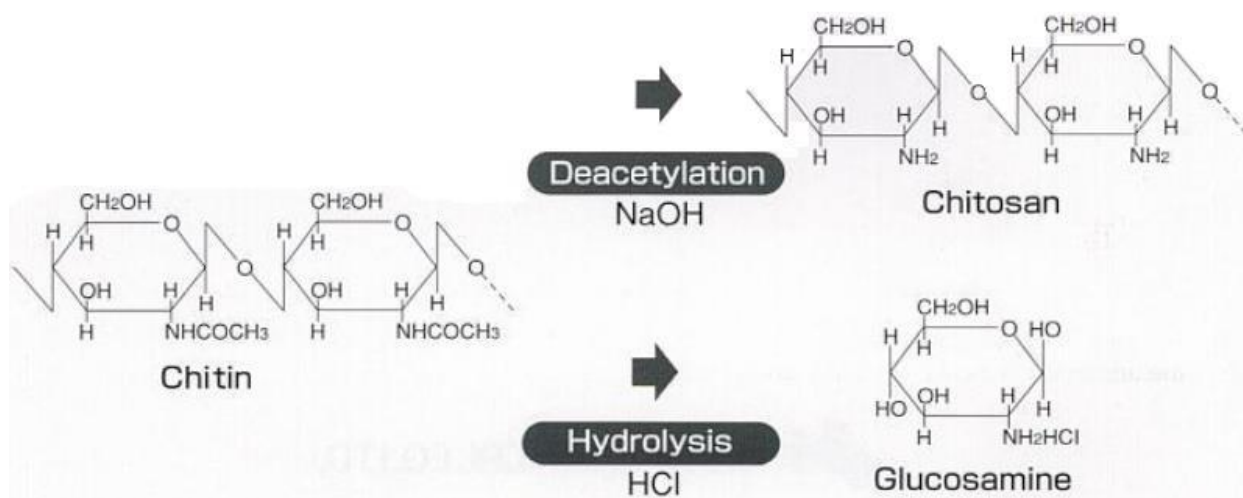
Chitosan



Εικόνα 6. Δομή χιτοζάνης (GLOSSARYCHEMISTRY)

3.1.1. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

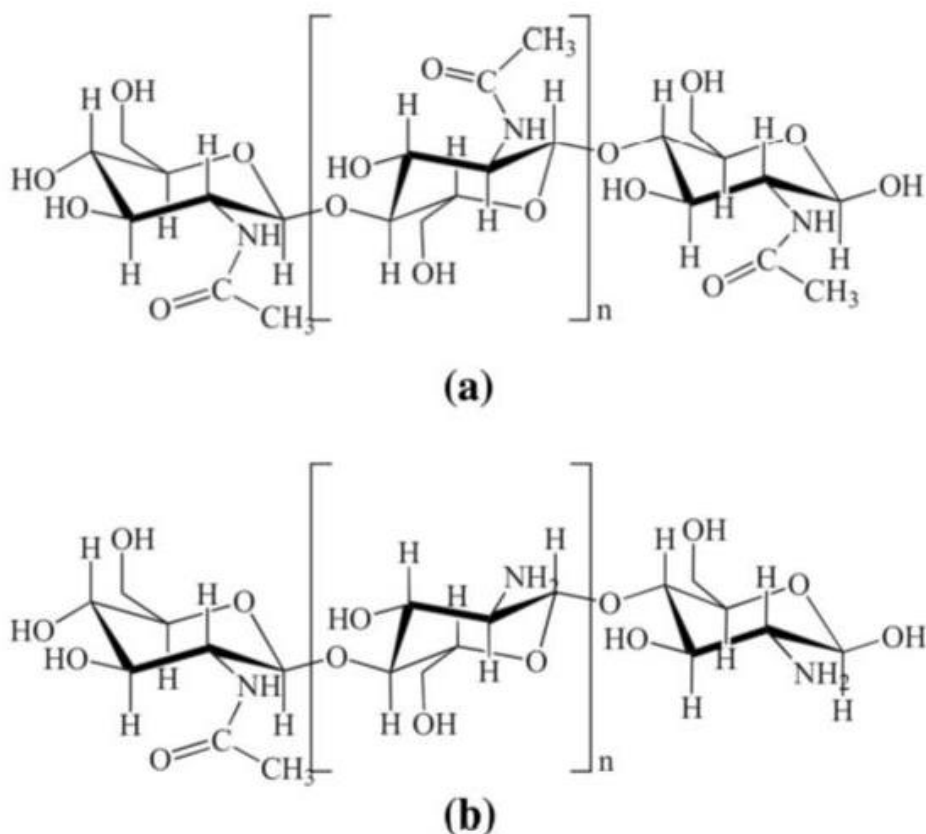
Ο πολυσακχαρίτης της χιτίνη είναι ο δεύτερος σε αφθονία στην φύση, μετά την κυτταρίνη, ο οποίος συντίθεται από πολλούς και διάφορους ζωντανούς οργανισμούς. Ως κυριότερες πηγές της χιτίνης που αξιοποιούνται στο εμπόριο, χρησιμοποιούνται τα κελύφη καβουριών και γαρίδων. Ο τρόπος που παραλαμβάνεται η χιτοζάνη από την χιτίνη, είναι μέσω της διαδικασίας της αποακετυλίωσης σε στερεή κατάσταση σε αλκαλικό περιβάλλον, το οποίο εξασφαλίζεται με χρήση συμπυκνωμένου υδατικού ή αλκοολικού διαλύματος NaOH, ή μέσω της ενζυμικής υδρόλυσης με την αποακετυλάση της χιτίνης (Rinaudo M. , 2006). Στην Εικόνα 7 μπορούμε να παρατηρήσουμε το πώς η αποακετυλίωση της χιτίνης οδηγεί στην παραγωγή της χιτοζάνης.



Εικόνα 7. Αποακετυλίωση χιτίνης-Παραγωγή χιτοζάνης (N. Καρακασιδής)

3.1.2. Η ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

Το μόριο της χιτοζάνης αποτελείται από τυχαία κατανεμημένες μονάδες D-γλυκοζαμίνης (αποακετυλιωμένη μονάδα) και N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνης (ακετυλιωμένη μονάδα), συνδεδεμένες μεταξύ τους με β -1,4-γλυκοσιδικό δεσμό. Όταν η χιτίνη μετατρέπεται σε χιτοζάνη, τα ακεταμίδια τα οποία παρουσιάζονται στην δομή της χιτίνης, μετατρέπονται σε αμινομάδες, συντελώντας πλέον μία από τις δραστικές ομάδες της χιτοζάνης, την πρωτοταγή αλειφατική αμινομάδα του άνθρακα στην θέση 2. Η αποακετυλίωση ωστόσο, δεν είναι ποτέ πλήρης, οπότε πάντα πρέπει να αναφέρεται ο βαθμός αποακετυλίωσης DD, ο οποίος φθάνει έως και το 98%. Θα πρέπει να επισημανθεί πως ότι για να εννοούμε τη χιτοζάνη και όχι τη χιτίνη, ο βαθμός αποακετυλίωσης θα πρέπει να ξεπερνά το 50% του ποσοστού. Το ποσοστό του αζώτου στο μόριο της χιτοζάνης συνήθως είναι περίπου στο 5-8%, ενώ εκτός από την αμινομάδα, η πρωτοταγής και η δευτεροταγής υδροξυλομάδα που χαρακτηρίζουν το βιοπολυμερές αυτό, το καθιστούν χρησιμότερο και πιο ευρέως διαδεδομένο από τη χιτίνη, αφού έχουν την ικανότητα να αυξάνουν την δραστικότητα του (S Islam, 2017). Στην Εικόνα 8, εμφανίζεται η διαφορά στη δομή της χιτίνης με της χιτοζάνης.



Εικόνα 8. Σύγκριση δομής (α) χιτίνης - (β) χιτοζάνης (M. Kumar, 2000)

3.2. ΟΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

3.2.1. ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

Το μοριακό βάρος της χιτοζάνης ποικίλει και μπορεί να προσδιοριστεί με μέτρηση του ιξώδους, GPC, ενώ, σύμφωνα με τελευταίες επιστημονικές έρευνες, υπάρχει η δυνατότητα να προσδιοριστεί και με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης, HPLC (Kurita, 2001).

3.2.2. ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

Η ετερογενή διασπορά των ακετυλομάδων κατά μήκος της κύριας πολυμερικής αλυσίδας που εμφανίζει η χιτοζάνη, είναι βασικό χαρακτηριστικό από το οποίο κατά μεγάλο ποσοστό επηρεάζεται η διαλυτότητά της. Ο πολυσακχαρίτης έχει την ιδιότητα να μετατρέπεται σε πολυηλεκτρολύτη σε όξινα μέσα. Αυτό που κάνει τη χιτοζάνη να είναι ιδανική για εφαρμογές της σε μορφή γέλης, ινών, φιλμ είναι η ικανότητά της να διαλύεται σε υδατικά διαλύματα. Σε στερεή κατάσταση παρουσιάζεται ως ημικρυσταλλικό πολυμερές (S Islam, 2017).

3.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ ΣΤΗΝ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Θα μπορούσαμε να πούμε πως η χιτοζάνη είναι ένας πολυσακχαρίτης που κυριαρχεί έναντι των υπόλοιπων υποψήφιων και προς διερεύνηση ουσιών προς αντικατάσταση του θειώδους ανυδρίτη. Θα ασχοληθούμε κυρίως με το συγκεκριμένο πολυσακχαρίτη στην παρούσα εργασία, με βάσει και το πειραματικό μέρος που ακολουθεί και έχει εξετασθεί.

Η χιτοζάνη, είναι ένας πολυσακχαρίτης όπου έχει αποδειχθεί πως επιτυγχάνει πολύ έντονη αντιβακτηριδιακή και αντιμυκητική δράση (A. Baliska- Ramiszl, 2005). Με επιτυχία χρησιμοποιείται, μετά από πολλές δοκιμές, στους λευκούς οίνους και αναμένεται η εφαρμογή της σε ερυθρούς οίνους και αφρώδης. Η μέθοδος χρησιμοποίησης της χιτοζάνης ακολουθεί τις κοινές, οινολογικές πρακτικές που τηρούνται σε γενικές γραμμές. Δίνεται η δυνατότητα προσθήκης και χρησιμοποίησης της χιτοζάνης με τον ίδιο τρόπο με εκείνου του θειώδους ανυδρίτη, άρα στα διάφορα στάδια της διαδικασίας της οينوποίησης ώστε να επιτευχθεί η προστασία του γλεύκους και του οίνου από μικροβιακές ή άλλες οξειδωτικές αλλοιώσεις (Lage, 2012). Η χιτοζάνη χρησιμοποιείται στην οينوποίηση κυρίως για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων ουσιών από τον οίνο και τη σταθεροποίησή του, αλλά μπορεί επίσης να έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Ως αντιοξειδωτικό, η χιτοζάνη μπορεί να βοηθήσει στην προστασία του οίνου κυρίως από την οξείδωση και τη διατήρηση της φρεσκάδας του, όσον αφορά το άρωμα και τη γεύση του.

Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες της χιτοζάνης οφείλονται στην ικανότητά της να αλληλεπιδρά με ελεύθερες ρίζες και άλλους αναστολείς της οξείδωσης, αναστέλλοντας τη δράση τους. Αυτό μπορεί να βοηθήσει στη διατήρηση της φρεσκάδας του οίνου και στην πρόληψη της οξείδωσης των αρωμάτων και των γεύσεων του. (Rinaudo M. , 2006)

3.3.1. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

Παλιότερα η χιτοζάνη θεωρούταν βακτηριοκτόνο και βακτηριοστατικό πολυμερές, αλλά πια αυτό έχει καταριφθεί αφού αποδεικνύεται ότι θα έπρεπε πιο συγκεκριμένα να χαρακτηρίζεται ως βακτηριοστατική και όχι βακτηριοκτόνος. Τα θετικά φορτισμένα μόρια χιτοζάνης αλληλεπιδρούν με τις αρνητικές φορτισμένες κυτταρικές μεμβράνες των μικροβίων και έτσι η χιτοζάνη μπορεί να εμποδίσει την ανάπτυξη και την εύρυθμη λειτουργία των βακτηρίων.

Ακόμα μία επιπλέον δράση της χιτοζάνης ενάντια στα μικρόβια, είναι η ιδιότητά της να διεισδύει στον πυρήνα των μικροβίων και να δεσμεύεται με μικροβιακό DNA, αναστέλλοντας με αυτόν τον τρόπο την σύνθεση του mRNA και των πρωτεϊνών. Επιπροσθέτως, οι αμινομάδες που περιέχονται στο μόριο της χιτοζάνης έχουν την δυνατότητα να προσλαμβάνουν μεταλλικά ιόντα μέσω χηλίσωσης και έτσι να δεσμεύουν βασικά συστατικά για την ανάπτυξη των μικροβίων. Τέλος, το μοριακό βάρος και ο βαθμός ακετυλίωσης αποδεικνύεται ότι επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης, και μετά από πολλές μελέτες είναι ασφαλές να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι όσο μικρότερα είναι το μοριακό βάρος και ο βαθμός ακετυλίωσης,

τόσο μεγαλώνει η επίδραση που έχει η χιτοζάνη στον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των μικροβίων. (RC Goy, 2009)

3.3.2. Η ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΙΤΟΖΑΝΗΣ

Οι πολύπλευρες δράσεις της χιτοζάνης έδωσαν τη δυνατότητα ανάπτυξης νέων θεραπευτικών εφαρμογών για την πρόληψη και θεραπεία πολλών χρόνιων παθήσεων. Η χιτοζάνη αποδεικνύεται πως έχει αντιοξειδωτικές, αντιυπερτασικές, αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές, αντιπηκτικές και αντιδιαβητικές ιδιότητες (M.Rinaudo, 2006).

Πιο συγκεκριμένα, ουσίες σαν το υπεροξειδίο του υδρογόνου, τα ανιόντα υπεροξειδίου και υδροξυλίου και άλλες, είναι δραστικές οξυγονούχες ουσίες που παράγονται κατά την πραγματοποίηση διαφόρων λειτουργιών του ανθρώπινου μεταβολισμού. Η διαταραχή ενός βιολογικού συστήματος, όπως συμβαίνει με το οξειδωτικό στρες, για της οποίας η αιτία της είναι η εμφάνιση αυτών των τοξικών δραστικών μορφών οξυγόνου, μπορεί να προκαλέσει ακούσια ενεργοποίηση ενζύμων και οξειδωτική βλάβη στα κύτταρα (B. Halliwell., 2015).

Τα αντιοξειδωτικά έχουν θετικό αποτέλεσμα στην υγεία του ανθρώπου, αφού προστατεύουν το ανθρώπινο σώμα από τις διαταραχές με τις οποίες έρχονται λόγω της παρουσίας των ελεύθερων ριζών. Μελέτες έχουν αποδείξει ότι τα παράγωγα χιτοζάνης έχουν την δυνατότητα να δεσμεύουν άμεσα τις ελεύθερες ρίζες των βιολογικών συστημάτων (M. Yen, 2008).

Ίσως ο κυριότερος λόγος υποβάθμισης της ποιότητας των τροφίμων και της μείωσης της διάρκειας ζωής τους, είναι η οξείδωση των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων. (F. Shahidi, 2010).

Στη τροφοβιομηχανία αλλά και στη φαρμακοβιομηχανία, χρησιμοποιούνταν τεχνητά αντιοξειδωτικά με σκοπό να μειωθεί έως και να αποτραπεί η οξείδωση των τροφίμων. Όμως αυτό είναι άλλαξε αφού αποδείχθηκε πως επηρέαζε αρνητικά την ανθρώπινη υγεία. Αυτόν το δρόμο τείνει να ακολουθήσει πια και ο οινικός κόσμος. Με σκοπό να βρεθεί αποτελεσματική λύση, πλέον φαίνεται να βρίσκεται η λύση σε φυσικά αντιοξειδωτικά, όπως είναι η χιτοζάνη και τα παράγωγα της (D-H Ngo, 2014).

4. ΥΠΟΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΗΣ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ

Η Ελλάδα είναι μια σημαντική οινοπαραγωγική χώρα, με παραγωγή περίπου τα 2,5 εκατομμύρια εκατόλιτρα οίνου, το 2017, σύμφωνα με την καταγραφή της ετήσιας παραγωγής της χρονιάς εκείνης. Υπάρχουν αρκετά οινοποιεία στη χώρα μας και όλα, εκτός από το γεγονός ότι παράγουν οίνο, παράγουν και αμπελοοινικά υποπροϊόντα, ως απόβλητα.

4.1. ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ

Ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια, υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον για τα υποπροϊόντα που παράγονται από την βιομηχανία τροφίμων και σίγουρα υπάρχει ανάγκη για επαναχρησιμοποίηση και μέγιστη εκμετάλλευση των υποπροϊόντων οινοποίησης.

Κατά την διάρκεια της αποβοστρύχωσης και του εκραγισμού παράγονται μερικά από τα κύρια υποπροϊόντα και συλλέγονται. Όσον αφορά τον οίνο, τα στέμφυλα και τα σταφύλια είναι εκείνα τα υποπροϊόντα που περιέχουν φαινολικές ενώσεις, κάτι που είναι ιδιαίτερα σημαντικό. Το σταφύλι, κατά συνέπεια τα στέμφυλα, παρουσιάζουν σύμφωνα με μελέτες, αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Αυτές οι αντιοξειδωτικές ενώσεις μπορούν να αξιοποιηθούν για την πρόληψη ή και την μείωση των αλλοιώσεων των προϊόντων και πιθανά των εκφυλιστικών ασθενειών του ανθρώπου.

Τα τελευταία χρόνια, έχουν γίνει προσπάθειες να χρησιμοποιηθούν εκχυλίσματα από τα σταφύλια, τα οποία παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση. Τα υποπροϊόντα που λαμβάνονται είτε από στέμφυλα είτε από γίγαρτα, είναι μια πολύ φθηνή πηγή για την απομόνωση φλαβονολών οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ακόμα και ως συμπληρώματα διατροφής. Τα στέμφυλα είναι το κύριο απόβλητο του οίνου και μάλιστα προς αξιοποίηση, είτε ως βελτιωτικό εδάφους, λόγω του περιεχομένου τους σε θρεπτικό και σε οργανικό υλικό, είτε ως συντηρητικό στον οίνο, λόγω της ικανότητάς τους σε αντιοξειδωτική δράση.

Μέχρι σήμερα, συχνός τρόπος αξιοποίησης των στεμφύλων στην χώρα μας είναι για την παραγωγή αλκοολούχων ποτών, ενώ άλλα απόβλητα όπως πχ η οινολάσπη χρησιμοποιείται για την ανάκτηση καθαρής αιθανόλης και τρυγικού οξέος (L. Li, 2019), (N Monjotin, 2022).

4.1.1. ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΤΕΜΦΥΛΩΝ ΣΤΑΦΥΛΗΣ

Στο πλαίσιο της κυκλικής οικονομίας και για τους σκοπούς της παρούσας εργασίας, έγινε προσπάθεια εκμετάλλευσης των υποπροϊόντων της οινοποίησης με τελικό στόχο την παραγωγή οίνου που συντηρείται με τη βοήθεια παραγόντων της ίδιας της οινοποίησης, αλλά και θέτουν ως προτεραιότητα τη μη επιβάρυνση της ανθρώπινης υγείας, έως και τη δυνατότητα ενίσχυσής της.

Η αξιοποίηση διάφορων υποπροϊόντων, όπως τα στέμφυλα, θα μπορούσε να αποτελεί ευκαιρία για τις τοπικές κοινωνίες που έχουν μοναδικές ποικιλίες και είδη, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρώτες ύλες, αλλά και με περισσότερους τρόπους στις εκάστοτε μορφές τους. Η εκμετάλλευση τέτοιων πρώτων υλών μπορεί να οδηγήσει σε μοναδικά προϊόντα διατροφής ή στη βελτίωση των παραδοσιακών τροφίμων.

Η προσπάθεια αξιοποίησης των οινοποιητικών υποπροϊόντων, όπως τα στέμφυλα, σε διάφορες περιοχές, θα μπορούσε να αποτελέσει εργαλείο, τόσο για την οικονομική ανάπτυξη όσο και για την πρόληψη της δημόσιας υγείας. Πρόσφατη έρευνα που συμβαδίζει με τα παραπάνω, δείχνει ότι οι αλυσίδες αξίας τροφίμων υλοποιούνται ευρέως ως πιο δίκαιες εναλλακτικές λύσεις σε σχέση με τα συμβατικά δίκτυα εφοδιασμού (Erälinna & Szymoniuk,

2021), (Krzyzanowski Guerra, Hanks, Plakias, Huser, Redfern, & Garner, 2021), (Mariutti, et al., 2021), (Oakden, et al., 2021).

Στο πλαίσιο της εργασίας του Πανεπιστημίου Αιγαίου σε συνεργασία με τον Ενιαίο Οινοποιητικό Αγροτικό Συνεταιρισμό Σάμου, με θέμα “Παραγωγή καινοτόμου οίνου με υποκατάσταση θειωδών από εκχυλίσματα υποπροϊόντων της οινοποίησης με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (NUTRIWINE)”, διερευνήθηκε η βιοδραστικότητα των εκχυλισμάτων φλοιού σταφυλιού ενός λευκού, μικρόρωγου Μοσχάτου Σάμου και ενός ερυθρού, Αυγουσιάτη, οινοποιητικού είδους που επίσης καλλιεργείται στη Σάμο. Μετά από πλήθος δοκιμών, που πραγματοποιήθηκαν στο Πανεπιστήμιο Αιγαίου, φάνηκε ότι η αναλογία μεθανόλης/νερού 60/40 (ν/ν) ήταν μια καλή επιλογή στο μείγμα διαλυτών για την παραγωγή εκχυλισμάτων. Η μεθανόλη είναι ένας διαλύτης που έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες αναλογίες με το νερό για την εξαγωγή αντιοξειδωτικών από το δέρμα του σταφυλιού (Milincić, και συν., 2021). Τα αποτελέσματα είναι σύμφωνα με την εργασία των Curko et al., που έδειξε ότι το 62,7% της μεθανόλης στο νερό λειτούργησε ως διαλύτης για βελτιστοποιημένη ολική φαινολική εκχύλιση από πυρηνίσκους σταφυλιού μέσω εκχύλισης με τη βοήθεια μικροκυμάτων (Curko, Kelšin, Dragovic-Uzelac, Valinger, Tomašević, & Kovačević Ganic, 2019) (Xu, Sismour, Abraha-Eyob, McKinney, & Jackson, 2021), (Di Stefano, και συν., 2022), (Serea, και συν., 2022).

Και τα δύο εκχυλίσματα άσκησαν υψηλή ολική περιεκτικότητα σε φαινολικά. Ο Αυγουσιάτης είχε 1,8 φορές υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά σε σύγκριση με το Μοσχάτο μικρόρωγο. Οι διαφορές στην περιεκτικότητα των συνολικών φαινολικών αποδίδονται στις διαφορετικές ποικιλίες σταφυλιών που μελετήθηκαν. (Fuhrman, Volkova, Suraski, & Aviram, 2001), (Fragopoulou, και συν., 2020)

Τα φαινολικά που προσδιορίζονται στα δύο εκχυλίσματα είναι διαφορετικά. Το φερουλικό, το βανιλικό και το γαλλικό οξύ μαζί με την ε-βινιφερίνη εντοπίστηκαν τόσο στον Αυγουσιάτη όσο και στο Μοσχάτο μικρόρωγο Σάμου. Σε αυτές τις κοινές φαινολικές ενώσεις, ο Αυγουσιάτης παρουσιάζει υψηλότερες περιεκτικότητες. Η κατεχίνη, η χλωρογονική και η ρεσβερατρόλη εντοπίστηκαν μόνο στο Μοσχάτο μικρόρωγο Σάμου, ενώ το καφεϊκό οξύ και η δαιδζεΐνη εντοπίστηκαν μόνο στον Αυγουσιάτη.

Άλλοι ερευνητές έχουν, επίσης, υποθέσει ότι η πολυφαινολική σύνθεση των εκχυλισμάτων φλοιού σταφυλιού εξαρτάται από την ποικιλία του σταφυλιού (Katalinic, και συν., 2010). Αν και πολλές φαινολικές ενώσεις έχουν παρουσιαστεί ότι έχουν αντιαιμοπεταλιακή δράση (He, και συν., 2021), (Wang, Huang, Zou, Cao, Xu, & Wu, 2002), (Cho, και συν., 2012), (Amin, Kunaparaju, Kumar, Taldone, Barletta, & Zito, 2013), (Zhang, και συν., 2022), τα αποτελέσματά μας δείχνουν ξεκάθαρα ότι ο τύπος και η συγκέντρωση των φαινολικών που υπάρχουν στα εκχυλίσματα καθορίζουν ποια από τα δείγματα θα έχουν υψηλότερη αντιαιμοπεταλιακή δράση.

5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1. ΓΛΕΥΚΗ

Το γλεύκος που χρησιμοποιήθηκε για την πραγματοποίηση της συγκεκριμένης μεταπτυχιακής ερευνητικής μελέτης ήταν από λευκό σταφύλι, μικρόρωγο Μοσχάτο Σάμου, σε όλων των ειδών τα δείγματα.

Α) Το κάθε δείγμα αντιστοιχούσε σε 10 L γλεύκους και τα δείγματα, σε αυτό το κομμάτι της πειραματικής διαδικασίας, ήταν 21, όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Αναλογίες δειγμάτων με προσθήκη metabisulphite/metabisulphite-χιτοζάνης / χιτοζάνης ανά 10L γλεύκους.

ΑΝΑΛΟΓΙΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ		
Αναλογίες προσθήκης metabisulphite/10L γλεύκος:	Αναλογίες metabisulphite – χιτοζάνης/ 10L γλεύκος:	Αναλογίες προσθήκης χιτοζάνης/10L γλεύκος:
1. 40 mg/L	10. 40 mg/L metab – 15mg/L χιτοζάνης	19. 1,5 gr χιτοζάνης
2. 60 mg/L	11. 40 mg/L metab – 20mg/L χιτοζάνης	20. 2 gr χιτοζάνης
3. 80 mg/L	12. 40 mg/L metab – 25mg/L χιτοζάνης	21. 2,5 gr χιτοζάνης
4. 100 mg/L	13. 60 mg/L metab – 15mg/L χιτοζάνης	
5. 120 mg/L	14. 60 mg/L metab – 20mg/L χιτοζάνης	
6. 140 mg/L	15. 60 mg/L metab – 25mg/L χιτοζάνης	
7. 160 mg/L	16. 80 mg/L metab – 15mg/L χιτοζάνης	
8. 180 mg/L	17. 80 mg/L metab – 20mg/L χιτοζάνης	
9. 200 mg/L	18. 60 mg/L metab – 25mg/L χιτοζάνης	

Η προσθήκη των υλικών metabisulphite και χιτοζάνης αντίστοιχα έγινε την ίδια ημέρα, την ημέρα παραλαβής του γλεύκους. Ο εμβολιασμός με ζύμες και θρεπτικά(2 gr ζύμες και 2 gr θρεπτικά/ 10L δείγματος) έγινε την επόμενη ημέρα.Μετά το τέλος της ζύμωσης και μετά την

απολάσπωση των δειγμάτων έγινε προσθήκη metabisulphite και χιτοζάνης αντίστοιχα στις ίδιες ακριβώς αναλογίες.

Β) Επιπλέον, δημιουργήθηκαν 4 δείγματα των 500mL το καθένα, στα οποία έγινε προσθήκη αντιοξειδωτικών και υποπροϊόντων του αμπελιού και του σταφυλιού, όπως φαίνεται στον παρακάτω Πίνακα 4:

Πίνακας 4. Αναλογίες δειγμάτων με προσθήκη αντιοξειδωτικών και υποπροϊόντων του αμπελιού και του σταφυλιού.

ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΑΝΑΛΟΓΙΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
1.RP*	Προσθήκη 15gr RP/500mL
2. CHTMVSRP**	Προσθήκη 0,075gr CHT+ 7,5gr MV +15gr RP/500mL
3. CHTRP***	Προσθήκη 0,075gr CHT+15gr RP/500mL
4.RPAVS****	Προσθήκη 15gr RP+7,5gr AVS/500mL

Επεξήγηση ονομασιών δειγμάτων Πίνακα 4 :

* RP=εκχύλισμα στεμφύλων Αυγουσιιάτη,

** CHT=χιτοζάνη, MV= εκχύλισμα βλαστών Μοσχάτου, RP= εκχύλισμα στεμφύλων Αυγουσιιάτη,

*** CHT=χιτοζάνη, RP= εκχύλισμα στεμφύλων Αυγουσιιάτη,

**** RP=εκχύλισμα στεμφύλων Αυγουσιιάτη,AVS=εκχύλισμα βλαστών Αυγουσιιάτη

Τα εκχυλίσματα είχαν τη μορφή η οποία παρουσιάζεται στις Εικόνες 9,10 και 11 παρακάτω:



Εικόνα 9. Στερεό τμήμα από στέμφυλα Αυγουστιάτη προς δημιουργία εκχυλίσματος



Εικόνα 10. Στερεό τμήμα από βλαστούς Μοσχάτου μικρόρωγου Σάμου προς δημιουργία εκχυλίσματος



Εικόνα 11. Στερεό τμήμα από βλαστούς Αυγουσιάτη προς δημιουργία εκχυλίσματος

Τα συγκεκριμένα δείγματα λόγω του στερεού τμήμαστος του Αυγουσιάτη από το οποίο και εκχυλίστηκε το ερυθρό του χρώμα, αντιμετωπίστηκαν ως ερυθροί οίνοι στις εργαστηριακές αναλύσεις και στον οργανοληπτικό έλεγχο.

5.2. ΟΡΓΑΝΑ

Φασματοφωτόμετρο

Με το όργανο UPLAB UV – VIS spectrophotometer της STEROGLOSS Company, πραγματοποιήθηκε η εξαγωγή των τιμών των απορροφήσεων σε ορισμένα κύματα του ηλιακού φάσματος.

Αυτόματος τιτλοδότης

Με τη χρησιμοποίηση του αυτόματο τιτλοδότη OENO 20, από την Oeno Bio SARL, πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις του ελεύθερου και ολικού θειώδους ανυδρίτη.

Σύστημα Υγρής Χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)

Με τη χρήση του Waters 2695 HPLC Separations Module, με ανιχνευτή το Photodiode array Waters 2996, πραγματοποιήθηκε ο διαχωρισμός και η ποσοτικοποίηση των φαινολικών ενώσεων των δειγμάτων.

5.3.ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Οι αναλύσεις γίνανε σε λευκούς ξηρούς οίνους.

5.3.1. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΣΤΑ 420nm ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΝΩΣΗΣ

Προετοιμασία δειγμάτων

Την 1^η ημέρα (ημέρα 0), εμβαπτίστηκαν σε υδατόλουτρο όλα τα δείγματα προς ανάλυση και όπου με συχνότητα κάθε 24 ώρες αποσύρονταν, για 12 συνεχόμενες μέρες, με σκοπό να καταφέρουμε τη μέτρηση της απορρόφησης στα 420 nm για το κάθε ξεχωριστό δείγμα. Μετά την απομάκρυνση από το υδατόλουτρο, τα δείγματα διατηρούνταν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για μια ώρα. Έπειτα μεταφερόταν, η απαιτούμενη ποσότητα, σε κυψελίδα υάλου του 1 cm και χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο πραγματοποιούταν η καταγραφή της απορρόφησης στα 420 nm. Το όργανο μηδένιζε με χρήση απιονισμένου νερού. Κάθε ημέρα και για 12 ημέρες επαναλαμβανόταν η ίδια διαδικασία, στους 55 βαθμούς Κελσίου.

Σε κάθε δείγμα οίνου υπολογίζεται η επί τοις % μεταβολή του χρώματος, ως εξής:

$$\% \Delta A_{420} = 100 * \{(A_{420}d_{12} - A_{420}d_0) / A_{420}d_0\}$$

Όπου $A_{420}d_0$ = η αρχική μέτρηση απορρόφησης την 1^η ημέρα (ημέρα 0)

Όταν παρατηρούνται μεταβολές >70% υπάρχει πιθανότητα καστανώσης (Κοτσερίδης, Καλλίθρακα & Προξενιά, 2017).

Κατασκευή καμπύλης μεταβολής

Για να γίνει ο προσδιορισμός της οξειδωσιμότητας κάθε δείγματος για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, οι ημέρες επώασης αντιστοιχίζονται με τις ημέρες που λαμβάνουμε μέτρηση απορρόφησης, σε ένα σύστημα αξόνων και προκύπτει μια καμπύλη μεταβολής της απορρόφησης στα 420 nm. Η γραμμή τάσης που δημιουργείται περιγράφεται από την εξίσωση της μορφής:

$$A_{420} = A_{420} + kt$$

A_{420} : η μεταβολή του χρώματος στον οίνο

k: ο συντελεστής του ρυθμού μεταβολής του χρώματος

t: το χρονικό διάστημα

Από την ευθεία υπολογίζεται ο συντελεστής k, ο οποίος υποδηλώνει την ταχύτητα μεταβολής του χρώματος στα 420 nm για κάθε δείγμα. Όσο πιο μικρή είναι η τιμή του συντελεστή k τόσο πιο αργά θα εμφανιστούν οι καφέ αποχρώσεις οξειδωσης (browning) του οίνου (Γ. Κοτσερίδης Κ. Σ., 2017).

5.3.2. ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ (ΟΛΙΚΟΣ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΟΣ)

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ολικού & ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη χρησιμοποιήθηκε ο αυτόματος τιτλοδότης (Iodolyster).

Προετοιμασία του δείγματος

Ελεύθερο SO₂

Σε ποτήρι ζέσεως μεταγγίστηκαν 20mL δείγματος στο οποίο προστέθηκαν 2 mL H₂SO₄ (πυκνό διάλυμα H₂SO₄ με ποσοστό αραιώσης 1:3). Με χρήση του αυτόματου τιτλοδότη, έγινε η τιτλοδότηση του δείγματος με σταδιακή προσθήκη ιωδίου. Με την ολοκλήρωση της τιτλοδότησης, λάβαμε την ένδειξη της προχοΐδας. Ο όγκος του ιωδίου, σε mL, που καταναλώθηκε κατά τη διαδικασία της τιτλοδότησης, είναι αντίστοιχος με τη συγκέντρωση του ελεύθερου SO₂ στο δείγμα (mg SO₂/L) (Γ. Κοτσερίδης & Π., 2020).

Ολικός θειώδης ανυδρίτης

Για να μετρηθεί ο ολικός θειώδης ανυδρίτης σε δείγμα οίνου, πρέπει πρώτα να απελευθερωθεί το δεσμευμένο SO₂ από την ακεταλδεΐδη που περιέχει. Η αποδέσμευση αυτή επιτυγχάνεται με αυξάνοντας το pH του οίνου σε υψηλά αλκαλικό επίπεδο. Αυτό γίνεται προσθέτοντας καυστικό νάτριο (NaOH). Μεταφέρονται 20 mL οίνου σε ποτήρι ζέσεως. Προστίθενται 2 mL NaOH (5N). Το μείγμα αναδεύεται και αφήνεται σε ηρεμία για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθενται 4 mL θειικού οξέος (πυκνό H₂SO₄, αραιωμένο κατά 1/3). Το διάλυμα μεταφέρεται στον αυτόματο τιτλοδότη. Με την ολοκλήρωση της τιτλοδότησης με ιώδιο, καταγράφεται η ένδειξη της προχοΐδας. Ο όγκος του ιωδίου που καταναλώθηκε ταυτίζεται με τη συγκέντρωση του ολικού θειώδους ανυδρίτη στον οίνο, εκφρασμένη σε mg/L. (Κοτσερίδης & Προξενιά, 2020).

5.3.3. ΟΛΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ

Ο προσδιορισμός της ολικής ή ογκομετρούμενης οξύτητας γίνεται με βάση την εξουδετέρωση των όξινων ομάδων στο δείγμα, χρησιμοποιώντας πρότυπο αλκαλικό διάλυμα, ενώ παράλληλα προστίθεται κάποιος δείκτης για την παρακολούθηση της αλλαγής του pH κατά τη διάρκεια της διαδικασίας (Κοτσερίδης & Προξενιά, 2020).

Προετοιμασία δείγματος

Πρώτα, ο αέρας του οίνου απομακρύνεται με αντλία κενού για να αποτραπεί οποιαδήποτε παρεμβολή από το CO₂ στη μέτρηση. Στη συνέχεια, σε μια κωνική φιάλη προστίθενται 10 mL δείγματος, 30 mL απεσταγμένου νερού και λίγες σταγόνες δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης. Η τιτλοδότηση πραγματοποιείται με την προσθήκη πρότυπου διαλύματος NaOH 0,1N από την προχοΐδα, ενώ το δείγμα αναδεύεται συνεχώς. Η τιτλοδότηση ολοκληρώνεται όταν το χρώμα του δείγματος αλλάξει σε κυανοπράσινο. Ο όγκος NaOH που καταναλώθηκε (διαφορά αρχικής και τελικής ένδειξης) πολλαπλασιασμένος με 10 δίνει την ολική οξύτητα σε χιλιοστοϊσοδύναμα ανά λίτρο (meq/L). Αν πολλαπλασιαστεί με 0,75, η ολική οξύτητα εκφράζεται σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο (g/L). (Κοτσερίδης & Προξενιά, 2020).

Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας

Η πτητική οξύτητα αποτελείται από οξέα της σειράς του οξικού οξέος που υπάρχουν στους οίνους(είτε ελεύθερα είτε ως άλατα). Το κύριο οξύ αυτής της κατηγορίας είναι το οξικό οξύ. Η πτητική οξύτητα εκφράζεται σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο. Η επίσημη μέτρηση, όμως, γίνεται σε χλιοστογραμμαμοϊσοδύναμα ανά λίτρο (meq/L). Η σχέση μεταξύ των δύο μονάδων είναι: $PO \text{ (meq)} = PO \text{ (g οξικού οξέος)} / 0,060$ (Κοτσερίδης Γ., Προξενιά Ν., 2020).

Προετοιμασία δείγματος

Πρώτα αφαιρείται από τον οίνο το CO_2 . Τα πτητικά οξέα διαχωρίζονται από τον οίνο μέσω απόσταξης μεθ' υδρατμών και ογκομετρούνται με πρότυπο διάλυμα $NaOH$. Η οξύτητα του ελεύθερου και δεσμευμένου SO_2 που συναποστάζει υπό αυτές τις συνθήκες πρέπει ν' αφαιρεθεί από την οξύτητα του αποστάγματος. Η οξύτητα του σορβικού οξέος που τυχόν έχει προστεθεί πρέπει επίσης ν' αφαιρεθεί.

Έκφραση αποτελεσμάτων

Η πτητική οξύτητα, εκπεφρασμένη ως meq L⁻¹, με ένα δεκαδικό ψηφίο, υπολογίζεται ως εξής:

$$5 \times (n - 0.1 \times n' - 0.05 \times n'').$$

Η πτητική οξύτητα, εκπεφρασμένη ως g θειικού οξέος L⁻¹, με δύο δεκαδικά ψηφία, υπολογίζεται ως εξής:

$$0.245 \times (n - 0.1 \times n' - 0.05 \times n'')$$

Η πτητική οξύτητα, εκπεφρασμένη ως g οξικού οξέος L⁻¹, με δύο δεκαδικά ψηφία, υπολογίζεται ως εξής:

$$0.300 \times (n - 0.1 \times n' - 0.05 \times n''). \text{ (Method OIV-MA-AS313-02), 2016)}$$

5.3.4. pH-ΕΝΕΡΓΗ ΟΞΥΤΗΤΑ

Η ενεργή οξύτητα, ή pH, αναφέρεται στη συγκέντρωση των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και απελευθερώνουν ιόντα H^+ . Το pH εξαρτάται από τη συγκέντρωση και από το είδος των οργανικών οξέων που εντοπίζονται στον οίνο. Συνήθως, το pH των οίνων είναι 2,8-4,2 (Κοτσερίδης Γ., Προξενιά Ν., 2020),(Method OIV-MA-AS313-15).

5.3.5. ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ(ΔΦΟ)

Προετοιμασία δείγματος

Αρχικά, το δείγμα φυγοκεντρήθηκε στα 4000 rpm για 5 λεπτά. Στη συνέχεια, με σιφώνιο μεταφέρθηκε 1 mL από το δείγμα σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL, και αραιώθηκε με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή της φιάλης. Έπειτα, ποσότητα του αραιωμένου δείγματος μεταφέρθηκε σε κυψελίδες χαλαζία με μήκος οπτικής διαδρομής 1 cm, και η απορρόφηση

μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 280 nm (Κοτσερίδης & Προξενιά, 2020). Ο Δείκτης Φαινολικής Ουσίας (ΔΦΟ) υπολογίζεται με τον τύπο:

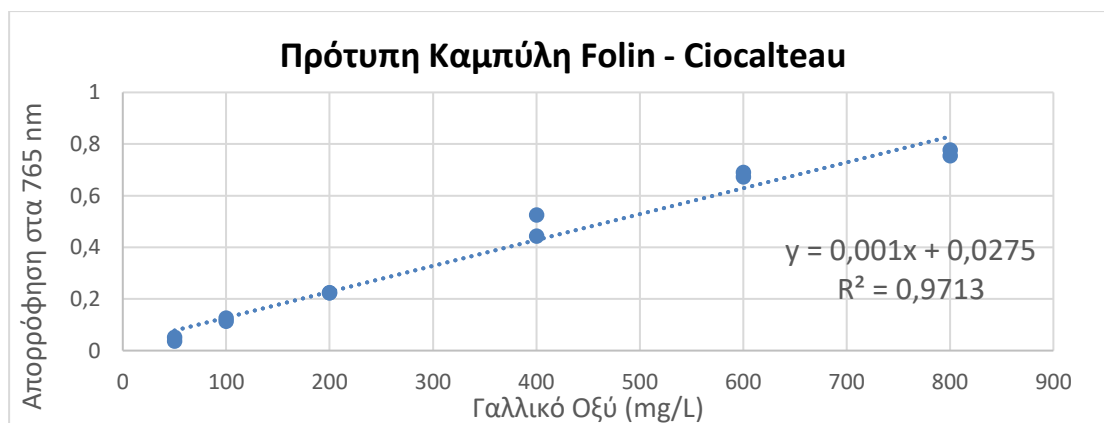
$$\Delta\Phi\text{Ο} = \text{OD} * \text{Αραιώση δείγματος},$$

όπου OD είναι η ένδειξη του φασματοφωτόμετρου.

5.3.6. ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ-ΔΟΚΙΜΗ Folin-Ciocalteu

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Οι συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων και οι απορροφήσεις τους αντιστοιχήθηκαν και δημιουργήθηκε η πρότυπη καμπύλη. Τα πρότυπα διαλύματα δημιουργήθηκαν από αραιώσεις ενός αρχικού διαλύματος γαλλικού οξέος 1 g/L. Συγκεκριμένα, αφαιρέθηκαν 100, 200, 400, 800, 1200, και 1600 μL από το αρχικό διάλυμα και αραιώθηκαν αντίστοιχα με 1900, 1800, 600, 1200, 800, και 400 μL απιονισμένου νερού σε σωληνάρια Errendorf των 2 mL. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 2 mL απιονισμένου νερού, 50 μL από κάθε πρότυπο διάλυμα, 250 μL αντιδραστηρίου Folin, 750 μL Na_2CO_3 20%, και 1950 μL απιονισμένου νερού. Μετά από ανάδευση στο vortex, οι σωλήνες παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά ώστε να αναπτυχθεί το χρωμόφορο. Η απορρόφηση μετρήθηκε σε μήκος κύματος 765 nm. Καταγράφηκαν οι απορροφήσεις σε σχέση με τις συγκεντρώσεις και κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη (Διάγραμμα 1).



Διάγραμμα 1. Πρότυπη καμπύλη Γαλλικού οξέως

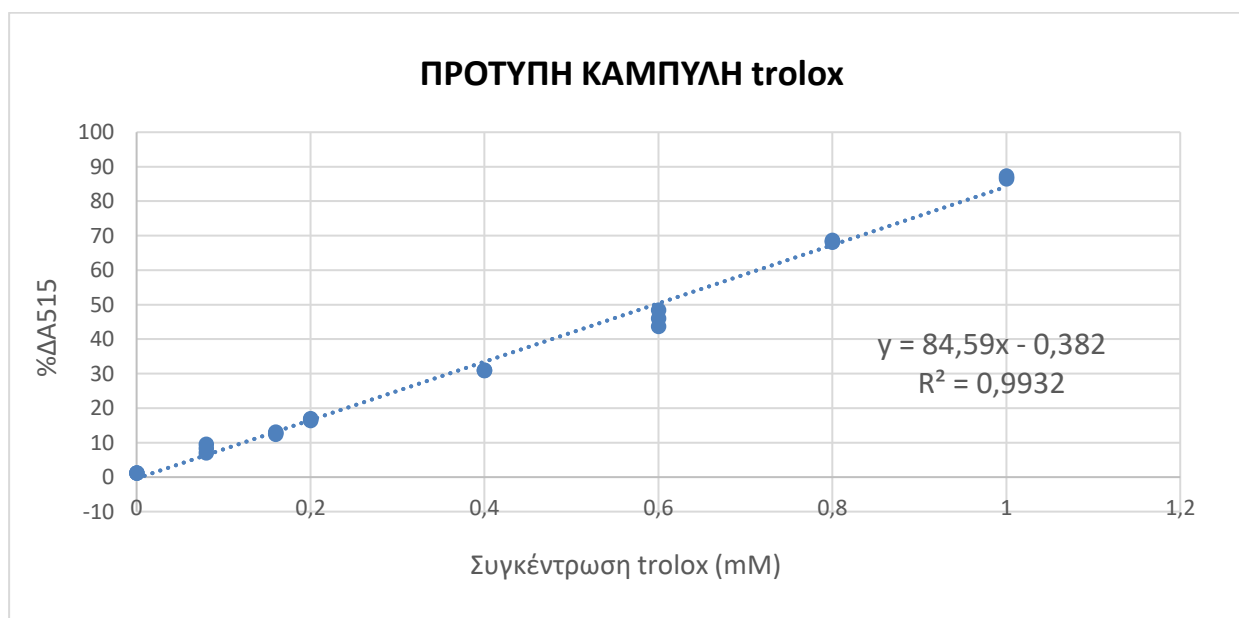
Προετοιμασία δείγματος

Σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες, επί δυο, προστέθηκαν 2 mL απιονισμένου νερού, 50 μL δείγματος, 250 μL αντιδραστηρίου Folin, 750 μL Na_2CO_3 20%, και 1950 μL απιονισμένου νερού. Μετά από κάθε προσθήκη, οι σωλήνες αναδεύθηκαν στο vortex και στη συνέχεια αφέθηκαν για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, προκειμένου να αναπτυχθεί το χρωμόφορο. Η απορρόφηση μετρήθηκε στο μήκος κύματος των 765 nm. Ως μάρτυρας της μεθόδου χρησιμοποιήθηκε η ίδια διαδικασία με τη διαφορά πως αντί για το δείγμα προστέθηκε απιονισμένο νερό. Οι απορροφήσεις του δείγματος αντιστοιχίστηκαν στη γραφική παράσταση της πρότυπης καμπύλης για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων.

5.3.7. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ-ΔΟΚΙΜΗ DPPH

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης

Αρχικά, παρασκευάζεται πρότυπο διάλυμα Trolox με συγκέντρωση 2 mM αιθανόλης. Στη συνέχεια, δημιουργούνται σε σωληνάρια Eppendorf οι συγκεντρώσεις 0, 0,08, 0,16, 0,20, 0,40, 0,60, 0,80 και 1,00 mM, προσθέτοντας αντίστοιχα 0, 40, 80, 100, 200, 300, 400 και 500 μL από το πρότυπο διάλυμα Trolox και συμπληρώνοντας με 1000, 960, 920, 900, 800, 700, 600 και 500 μL αιθανόλης. Μεταφέρουμε σε πλαστική κυβέττα φωτομέτρου κάθε ξεχωριστό διάλυμα και μετρείται η απορρόφησή του στα 515 nm. Η μέτρηση επαναλαμβάνεται μετά από 30 λεπτά στο ίδιο μήκος κύματος, και υπολογίζεται η ποσοστιαία διαφορά των δύο απορροφήσεων για κάθε συγκέντρωση (% ΔA_{515}). Στη συνέχεια, οι συγκεντρώσεις αντιστοιχίζονται με τις τιμές % ΔA_{515} , και κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη. Από την ευθεία της πρότυπης καμπύλης υπολογίζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα του κάθε δείγματος, εκφρασμένη σε ισοδύναμα Trolox (TEAC), όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 2.



Διάγραμμα 2. Πρότυπη καμπύλη συγκεντρώσεων σε Trolox (mM)

Προετοιμασία δειγμάτων

Τα δείγματα αραιώθηκαν σε αναλογία 1/3 με απιονισμένο νερό και στη συνέχεια προστέθηκε διάλυμα DPPH. Πραγματοποιήθηκαν δύο μετρήσεις της απορρόφησης στα 515 nm στο φασματοφωτόμετρο, με 30 λεπτά διαφορά μεταξύ της πρώτης και της δεύτερης μέτρησης. Από τις τιμές που ελήφθησαν, υπολογίστηκε η ποσοστιαία διαφορά των απορροφήσεων (% ΔA_{515}) χρησιμοποιώντας τον εξής τύπο:

$$\% \Delta A_{515} = \frac{A_{515}(t = 0) - A_{515}(t = 30)}{A_{515}(t = 0)} \times 100$$

Όπου $A_{515}(t=x)$ σημαίνει την απορρόφηση του δείγματος στα 515 nm τη χρονική στιγμή $t=x$.

5.3.8. ΕΝΤΑΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΧΡΩΣΗ

Το χρώμα των οίνων προκύπτει από την εκλεκτική απορρόφηση ορισμένων ακτινοβολιών του ηλιακού φάσματος, και σχετίζεται με τις φαινολικές ενώσεις που περιέχονται σε αυτούς. Για τη μέτρηση της έντασης και της απόχρωσης του χρώματος, πραγματοποιούνται μετρήσεις απορρόφησης στα 420 nm, 520 nm και 620 nm με τη χρήση φασματοφωτόμετρου υπεριώδους-ορατού φωτός.

Η ένταση του χρώματος ορίζεται ως το άθροισμα των απορροφήσεων στα τρία αυτά μήκη κύματος, ενώ η απόχρωση υπολογίζεται ως ο λόγος της απορρόφησης στα 420 nm προς αυτήν στα 520 nm (μέθοδος Glories Y., 1984).

Για τους ερυθρούς οίνους, το χρώμα είναι το αποτέλεσμα του συνδυασμού κίτρινου, κόκκινου και κυανού χρώματος. Η ένταση του χρώματος αντανακλά την ποσότητα του χρώματος και ποικίλλει ανάμεσα σε διαφορετικές ποικιλίες. Οι τιμές της έντασης κυμαίνονται από 0,3 έως 1,8.

Αντίθετα, η απόχρωση αντιπροσωπεύει την εξέλιξη του χρώματος προς το πορτοκαλί και εκφράζει τον βαθμό οξειδωσης του οίνου. Όσο πιο οξειδωμένος είναι ο οίνος, τόσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της απόχρωσης. Οι νεαροί οίνοι έχουν τιμές απόχρωσης από 0,5 έως 0,7, οι οποίες αυξάνονται με την πάροδο του χρόνου λόγω της παλαιώσης, φτάνοντας σε ανώτερα όρια μεταξύ 1,2 και 1,3 (Ribéreau – Gayon P., et al. 2006).

5.3.9. ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΑΝΝΙΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΜΕΘΥΛ-ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ (methyl cellulose) (MCP)

Η μέτρηση της συγκέντρωσης συμπυκνωμένων τανινών με τη μέθοδο της methyl cellulose αποτελεί ένα εργαλείο για τον προσδιορισμό των τανινών μετά από διαδικασίες ομογενοποίησης και εκχύλισης σε οίνο, σταφύλια, και άλλα υδατικά διαλύματα (Sarneckis et al. 2005, Smith et al. 2005, Mercurio και Smith 2006).

Αυτή η μέθοδος βασίζεται στις αλληλεπιδράσεις του πολυμερούς με τις τανίνες, που οδηγούν στο σχηματισμό αδιάλυτων συμπλοκών πολυμερούς-τανίνης, τα οποία στη συνέχεια καθιζάνουν. Το πολυμερές που χρησιμοποιείται είναι η methyl cellulose, και έτσι η μέθοδος μετρά τις τανίνες που καθιζάνουν με αυτήν, δηλαδή, καταγράφει την MCP-τανίνη.

Η μέτρηση πραγματοποιείται αφαιρώντας τις τιμές απορρόφησης στα 280 nm (A_{280}) των διαλυμάτων που έχουν υποβληθεί σε καθίζηση και αυτών που δεν έχουν, χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο. Η methyl cellulose δεν απορροφά στα 280 nm, γεγονός που επιτρέπει τη λήψη αξιόπιστων μετρήσεων χωρίς παρεμβολές.

Υλικά και εξοπλισμός

- Φασματοφωτόμετρο με δυνατότητα μέτρησης απορρόφησης στα 280 nm
- Κυψελίδες υάλου με οπτική διαδρομή 1 cm
- Διάλυμα methyl cellulose 0,04 %
- Κορεσμένο διάλυμα θειικού αμμωνίου

Πορεία

Η μέθοδος για τη μέτρηση της συγκέντρωσης τανινών απαιτεί δύο δείγματα: ένα control δείγμα (χωρίς methyl cellulose) και ένα δείγμα treatment (με methyl cellulose).

Control Δείγμα:

- 250 μL δείγματος
- 2 mL κορεσμένο διάλυμα θειικού αμμωνίου
- 7,75 mL H_2O

Αυτή η τιμή A_{280} του control δείγματος αντιπροσωπεύει τη συνολική συγκέντρωση όλων των φαινολικών ενώσεων (ολικά φαινολικά).

Δείγμα Treatment:

- 250 μL δείγματος
- 2 mL κορεσμένο διάλυμα θειικού αμμωνίου
- 4,75 mL H_2O
- 250 μL διαλύματος methyl cellulose 0,04%

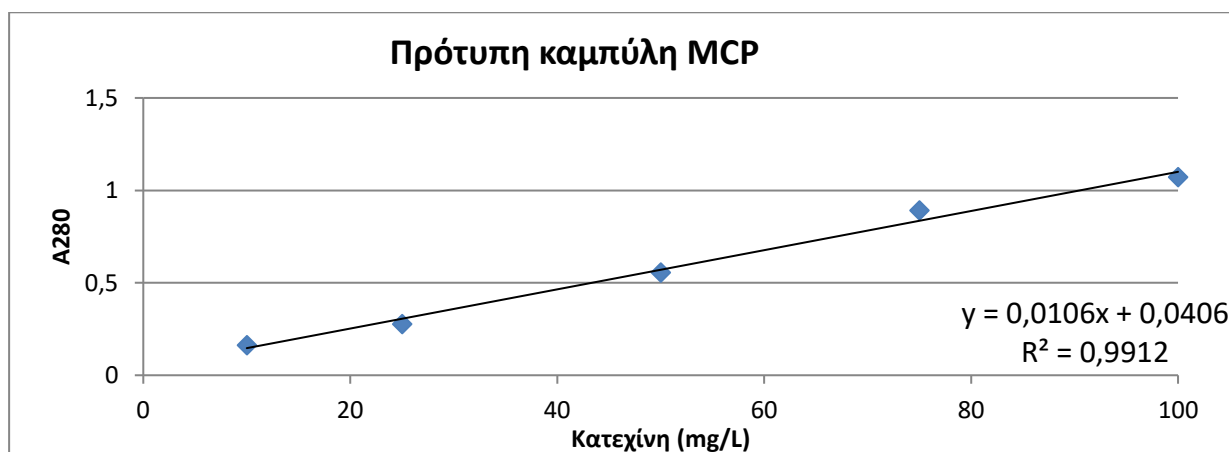
Η τιμή A_{280} του δείγματος treatment δείχνει τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων που παραμένουν στο διάλυμα μετά την καθίζηση του συμπλόκου MCP-τανινών.

Για να προσδιοριστεί η συγκέντρωση των τανινών, αφαιρούνται οι δύο τιμές απορρόφησης:

- Ac-At

Αυτή η διαφορά αντιπροσωπεύει το A_{280} του συμπλόκου MCP-τανινών. Στη συνέχεια, γίνεται αντιστοίχιση των τιμών με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης που περιλαμβάνει κατεχίνη (mg/L).

Για να υπολογιστεί η τελική συγκέντρωση τανινών, το A_{280} πολλαπλασιάζεται με το 40, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 3.



Διάγραμμα 3. Πρότυπη καμπύλη MCP (mg/L)

5.3.10. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΜΕ HPLC

Η ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιείται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) μετά από φιλτράρισμα του δείγματος μέσω 0,2 μm φίλτρου. Τα δείγματα τοποθετούνται σε κατάλληλους περιέκτες για τον αυτόματο δειγματολήπτη. Αρχικά, παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα της ουσίας υπό μελέτη σε διάφορες συγκεντρώσεις, τα οποία αναλύονται κάτω από τις ίδιες συνθήκες με τα άγνωστα δείγματα. Στη συνέχεια, κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη αναφοράς, όπου η συγκέντρωση της ουσίας είναι συνάρτηση του εμβαδού της κορυφής της.

Από την πρότυπη καμπύλη και μετρώντας το εμβαδόν της κορυφής της άγνωστης ουσίας, προσδιορίζεται η ποσότητά της στο δείγμα. Για την ποσοτική ανάλυση των ανθοκυανών, κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη του μονογλυκοζιτη-3 της μαλβιδίνης, και όλες οι ανθοκυάνες εκφράζονται ως προς τη μαλβιδίνη σε mg/L οίνου.

Η ταυτοποίηση των ανθοκυανών γίνεται μέσω συγκρίσεων με πρότυπες ουσίες, ελέγχοντας τους χρόνους συγκράτησης (tR). Οι ανθοκυάνες που ταυτοποιήθηκαν περιλαμβάνουν:

- Κυανιδίνη
- Δελφινιδίνη
- Πετουνιδίνη
- Παιονιδίνη
- Μαλβιδίνη
- Οξικός εστέρας μαλβιδίνης
- Κουμαρικός εστέρας μαλβιδίνης

Εξοπλισμός HPLC

Ο εξοπλισμός του HPLC περιλαμβάνει:

- Αντλία Jasco PU-980
- Στήλη Nova-Pack C18, διαστάσεων 250 x 47,6 mm και διαμέτρου 4 μm
- Ανιχνευτή υπεριώδους - ορατού πολλαπλής δέσμης (diode array)

Κινητή Φάση

Η κινητή φάση αποτελείται από:

- Διαλύτη Α: Υδατικό διάλυμα 10% v/v μυρμηγκικού οξέος
- Διαλύτη Β: Μεθανόλη

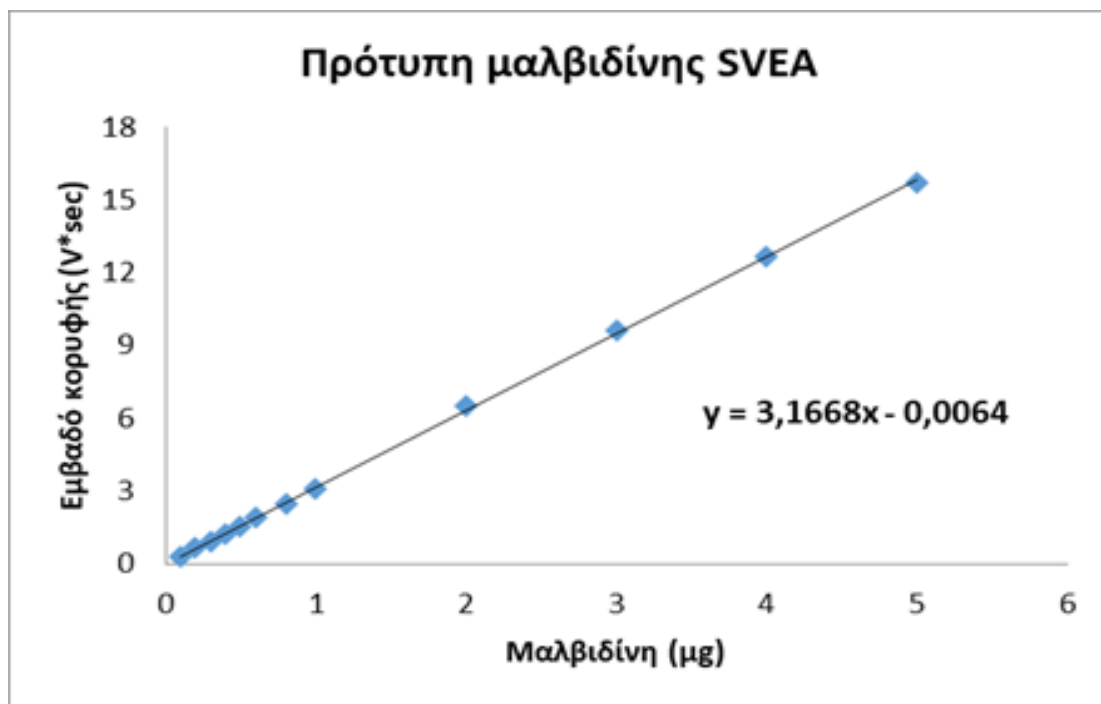
Ρυθμός Ροής

- Ρυθμός ροής: 1 mL/min
- Όγκος δείγματος: 10 μL (αυτόματη έγχυση)
- Ανίχνευση: 520 nm

Πρόγραμμα Έκλουσης

Το πρόγραμμα έκλουσης περιλαμβάνει:

1. 95% διαλύτη Α για 1 λεπτό
2. Από 95% διαλύτη Α σε 50% σε διάστημα 26 λεπτών
3. Από 50% διαλύτη Α σε 5% σε διάστημα 29 λεπτών, όπου διατηρείται ισοκρατικά για επιπλέον 3 λεπτά (S. Kallithraka M. A., 2005).



Διάγραμμα 4. Πρότυπη καμπύλη Μαλβιδίνης (mg)

5.3.11. ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ

Οι ανθοκυάνες στον οίνο εντοπίζονται σε τρεις μορφές: τις ελεύθερες ανθοκυάνες (At), τις πολυμερισμένες με ταννίνες ανθοκυάνες (Ac), και τις ανθοκυάνες που αποχρωματίζονται από την παρουσία θειώδους ανυδρίτη (TA). Οι ανθοκυάνες που δεν επηρεάζονται από τον θειώδη ανυδρίτη αναφέρονται ως TAT. Δεδομένου ότι δεν υπάρχει ακριβής μέθοδος για τον προσδιορισμό των ελεύθερων ανθοκυανών (At), μπορεί να γίνει εκτίμηση της ποσότητάς τους με βάση μια χημική μέθοδο που προσδιορίζει το σύνολο των ανθοκυανών (At + TA).

Μέθοδος Προσδιορισμού Ολικών Ανθοκυανών

Η μέθοδος για τον προσδιορισμό των ολικών ανθοκυανών περιγράφεται από τους Ribéreau-Gayon και Stonestreet (1965) και στηρίζεται στη χημική ιδιότητα των ανθοκυανών να αλλάζουν χρώμα ανάλογα με τη μεταβολή του pH και να αποχρωματίζονται από τον θειώδη ανυδρίτη.

Διαδικασία

Προετοιμασία Δειγμάτων:

Προετοιμάζονται δύο δείγματα:

Στο πρώτο δείγμα προστίθεται απιονισμένο νερό (μάρτυρας).

Στο δεύτερο δείγμα προστίθεται διάλυμα NaHSO_3 για τον αποχρωματισμό των ανθοκυανών.

Μέτρηση Απορροφήσεων:

Μετριοούνται οι απορροφήσεις και των δύο δειγμάτων στα 520 nm.

Υπολογισμός Συγκέντρωσης Ολικών Ανθοκυανών:

Η συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών προσδιορίζεται από τη διαφορά των απορροφήσεων των δύο δειγμάτων:

$$\text{Συγκέντρωση Ολικών Ανθοκυανών} = A_{520nm}(\text{νερό}) - A_{520nm}(\text{NaHSO}_3)$$

Με αυτή τη διαδικασία, επιτυγχάνεται η εκτίμηση της ποσότητας των ελεύθερων ανθοκυανών και των ανθοκυανών που επηρεάζονται από τον θειώδη ανυδρίτη.

5.3.12. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ HPLC

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) είναι γρήγορη τεχνική για την ανάλυση μιγμάτων ουσιών, και παρέχει άμεσα τόσο τον ποιοτικό όσο και τον ποσοτικό προσδιορισμό της κάθε ουσίας ξεχωριστά. Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) είναι μια εξαιρετικά αποτελεσματική μέθοδος που επιτρέπει τον ακριβή διαχωρισμό και την ποσοτικοποίηση των φαινολικών συστατικών σε δείγματα. Η μέθοδος HPLC αντίστροφης φάσης (RP-HPLC) είναι η πιο διαδεδομένη εφαρμογή της HPLC και χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση φαινολικών ενώσεων στα τρόφιμα, όπως ο οίνος.

Διαδικασία HPLC

Διαχωρισμός Δείγματος:

Η μέθοδος HPLC πραγματοποιεί το διαχωρισμό των φαινολικών συστατικών με τη βοήθεια υγρής κινητής φάσης.

Η αλληλεπίδραση που προκύπτει μεταξύ των μορίων του δείγματος και της κινητής φάσης αυξάνει την αποδοτικότητα του διαχωρισμού.

Επιλογή Στήλης και Κινητής Φάσης:

Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκε στήλη C18, που είναι γνωστή για την υδρόφοβη φύση της, λόγω της προσθήκης αλειφατικών ομάδων μακριάς αλυσίδας (C4, C8, C18).

Ως κινητή φάση επιλέγεται ένας πολικός διαλύτης, όπως η μεθανόλη, που επιτρέπει τη διάλυση και τη μεταφορά των φαινολικών ενώσεων.

Διήθηση Δειγμάτων:

Πριν την ανάλυση, τα δείγματα υποβάλλονται σε διήθηση μέσω φίλτρου σύριγγας 0,22 μm για την απομάκρυνση σωματιδίων που μπορεί να επηρεάσουν την ανάλυση.

Ταυτοποίηση και Ποσοτικοποίηση:

Οι φαινολικές ενώσεις διαχωρίζονται και ανιχνεύονται σε διαφορετικούς χρόνους παραμονής (retention times) κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.

Η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών υπολογίζεται σε χιλιοστογραμμάρια ανά λίτρο (mg/L), παρέχοντας έτσι μια ποσοτική εκτίμηση των φαινολικών περιεχομένων των δειγμάτων.

Διαρκής Δειγματοληψία:

Η ανάλυση πραγματοποιείται σε δύο χρονικά σημεία, την ημέρα 0 και τη 12η μέρα της δειγματοληψίας, επιτρέποντας την παρακολούθηση της αλλαγής συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών με την πάροδο του χρόνου.

Η μέθοδος RP-HPLC προσφέρει έναν αποτελεσματικό και αξιόπιστο τρόπο για την ανάλυση των φαινολικών συστατικών στον οίνο, επιτρέποντας την παρακολούθηση της ποιότητας και της σταθερότητας του προϊόντος κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης ή της ωρίμανσης. Η ικανότητα ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των φαινολικών ενώσεων είναι κρίσιμη για την αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των οίνων και τη συνολική ποιότητα του προϊόντος. (Kallithraka et al., 2001), (Alcoholic Strength by Volume (Method OIV-MA-AS312-01B), Condendum of International Methods of Wine and Must Analysis, 2016).

6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Σε κάθε πείραμα προσθήκης διαφορετικών αντιοξειδωτικών σε διαφορετικές ποσότητες. Η στατιστική ανάλυση είναι κρίσιμη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων σε όλες τις πειραματικές μελέτες. Στην περίπτωση αυτή, η χρήση διπλών επαναλήψεων και ο υπολογισμός των μέσων όρων, καθώς και της τυπικής απόκλισης, παρέχουν μια βάση για την αξιολόγηση των δεδομένων. Η στατιστική ανάλυση και επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του προγράμματος SPSS Statistics 21.0 της IBM. Για την εύρεση τιμών που διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους χρησιμοποιήθηκαν η ανάλυση διασποράς με έναν παράγοντα (ANOVA) και η μέθοδος Tukey HSD με επίπεδο σημαντικότητας 5% (0,05). Επομένως, οι τιμές με $p\text{-value} < 0,05$ χαρακτηρίστηκαν ως στατιστικά σημαντικές διαφορές.

7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

7.1. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΣΤΑ 420nm ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΗΣ ΚΑΣΤΑΝΩΣΗΣ

Οι οξειδωτικές αντιδράσεις στον οίνο είναι κρίσιμες για την εξέλιξή του, καθώς επηρεάζουν τόσο τη χημική του σύνθεση όσο και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά.

Πειραματική Διαδικασία

Θερμοκρασία και Χρόνος:

Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία 55°C για να επιταχυνθεί η οξείδωση.

Η μέτρηση της απορρόφησης έγινε στους 420 nm κάθε 24 ώρες, για συνολικά 12 ημέρες.

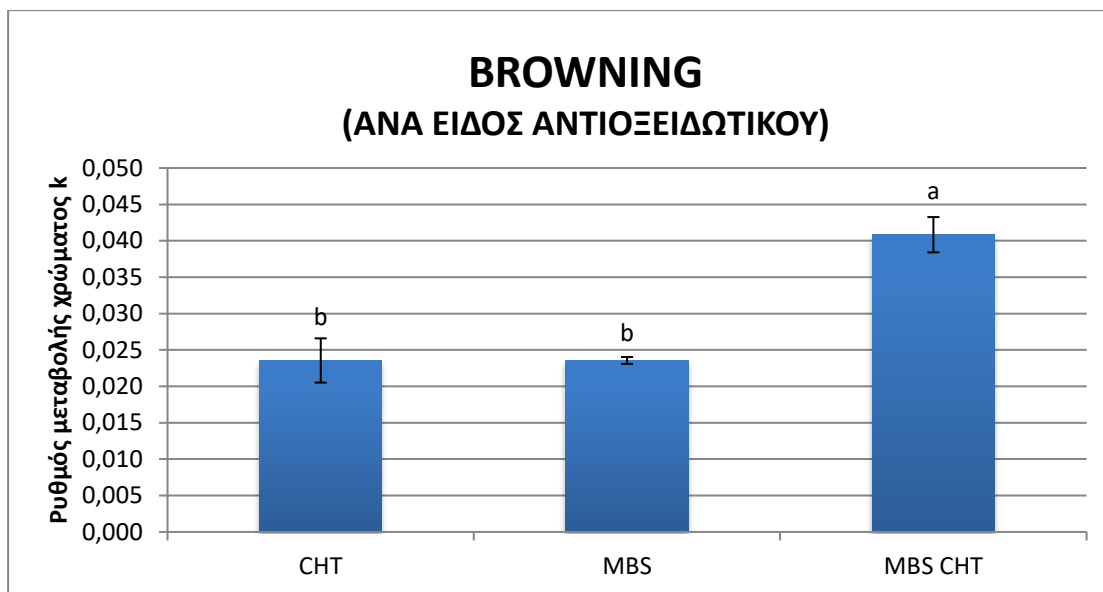
Απορρόφηση στα 420 nm:

Η απορρόφηση στα 420 nm χρησιμοποιείται ως δείκτης της οξείδωσης του οίνου.

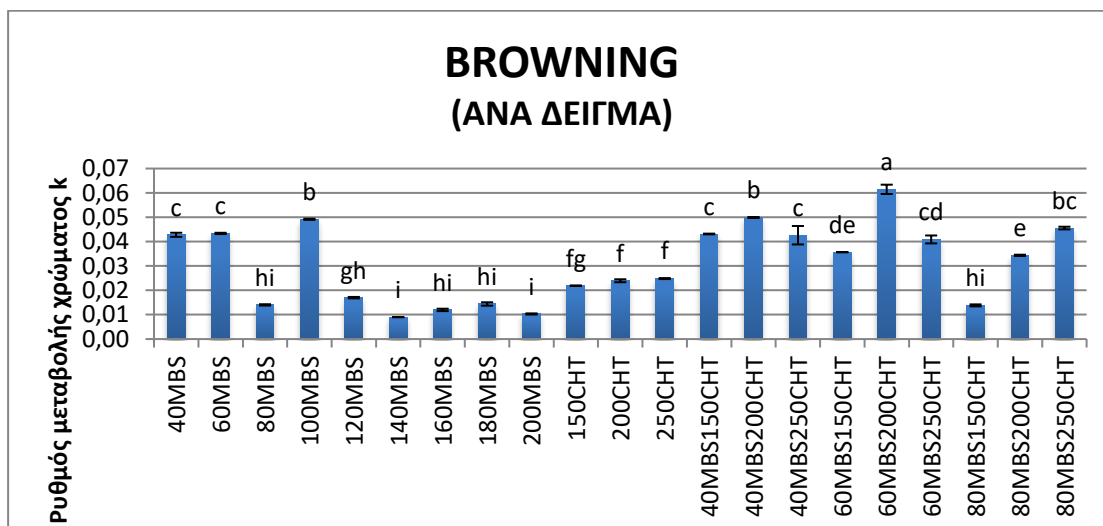
Όσο υψηλότερη είναι η απορρόφηση, τόσο μεγαλύτερη είναι η οξείδωση που έχει υποστεί ο οίνος.

Η πειραματική διαδικασία που περιγράφεται παρέχει έναν αξιόπιστο τρόπο για την παρακολούθηση της οξείδωσης των οίνων μέσω της μέτρησης της απορρόφησης στα 420 nm. Οι αλλαγές στο χρώμα του οίνου μπορούν να σχετίζονται με τις χημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν και η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων εξασφαλίζει την εγκυρότητα των ευρημάτων. Η κατανόηση αυτών των διεργασιών είναι ζωτικής σημασίας για τη βελτίωση της ποιότητας του οίνου και τη διαχείριση της οξείδωσής του.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα. Στο Διάγραμμα 5 παρουσιάζεται η μεταβολή του χρώματος στα δείγματά μας, τα οποία στο διάγραμμα παρουσιάζονται συγκεντρωτικά, δηλαδή ανά κατηγορία αντιοξειδωτικού που προστέθηκε. Στο Διάγραμμα 6 παρουσιάζεται η μεταβολή του χρώματος στα δείγματά μας, αναλυτικά, ανά δείγμα, δηλαδή ανά ακριβείς συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού που προστέθηκε αλλά και ανά είδος ταυτόχρονα.



Διάγραμμα 5. Μεταβολή χρώματος συγκεντρωτικά ανά είδος αντιοξειδωτικού (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).



Διάγραμμα 6. Μεταβολή χρώματος αναλυτικά ανά δείγμα (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, κτλ είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Γενικότερα, παρατηρείται αύξηση της απορρόφησης στα 420 nm, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, κάτι που είναι αναμενόμενο εξαιτίας της έκθεσης του οίνου στη θερμοκρασία των 55°C, που οδηγεί αναπόφευκτα σε οξείδωση και εμφάνιση καφετιάσματος, ανεξαρτήτου του είδους αντιοξειδωτικής προστασίας που έχει προστεθεί (A.M. Milat, 2019).

Παρατηρώντας το παραπάνω διάγραμμα μπορούμε να παρατηρήσουμε πως εμφανώς τα δείγματα με την υψηλότερη προσθήκη metabisulphite, είχαν μικρότερες απορροφήσεις, άρα και μικρότερη οξείδωση. Φαίνεται, λοιπόν, πως ως προς την ανθεκτικότητα των οίνων στην χρωματική οξείδωση, το metabisulphite είχε καλύτερη προστασία όσο αυξάνεται η συγκέντρωσή του, έναντι της χιτοζάνης ή και ακόμα και του συνδυασμού τους, όπου παρουσίασαν τη μεγαλύτερη αύξηση στην απορρόφησή τους.

7.2. ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ(ΟΛΙΚΟΣ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΟΣ)

Η παρουσία του θειώδους ανυδρίτη σε ένα υδραλκοολικό διάλυμα, όπως είναι ο οίνος, οδηγεί στην αντίδραση του με το νερό και στην εμφάνιση νέων ενώσεων, όπως τα ανιόντα του εξουδετερωμένου θειώδους οξέος. Οι δύο μορφές που επικρατούν κυρίως σε έναν οίνο είναι η μοριακή μορφή, η οποία έχει αντιμικροβιακή ικανότητα, και η μορφή των ανιόντων, σε μεγαλύτερο ποσοστό, η οποία έχει την αντιοξειδωτική ικανότητα (E. Wilkes, 2018).

Η αντιοξειδωτική δράση του θειώδους ανυδρίτη μπορεί να είναι είτε άμεση, δημιουργώντας ενώσεις με τις φαινολικές ενώσεις και προφυλάσσοντας αυτές από οξείδωση, είτε έμμεση, απενεργοποιώντας τις οξειδάσες. Κατά την ένωση του με τα φαινολικά συστατικά και άλλα ευοξειδωτα συστατικά, αναστέλλεται προσωρινά ή μόνιμα η αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή του ικανότητα. Το ποσοστό του θειώδους ανυδρίτη που έχει ενωθεί ονομάζεται δεσμευμένος θειώδης ανυδρίτης.

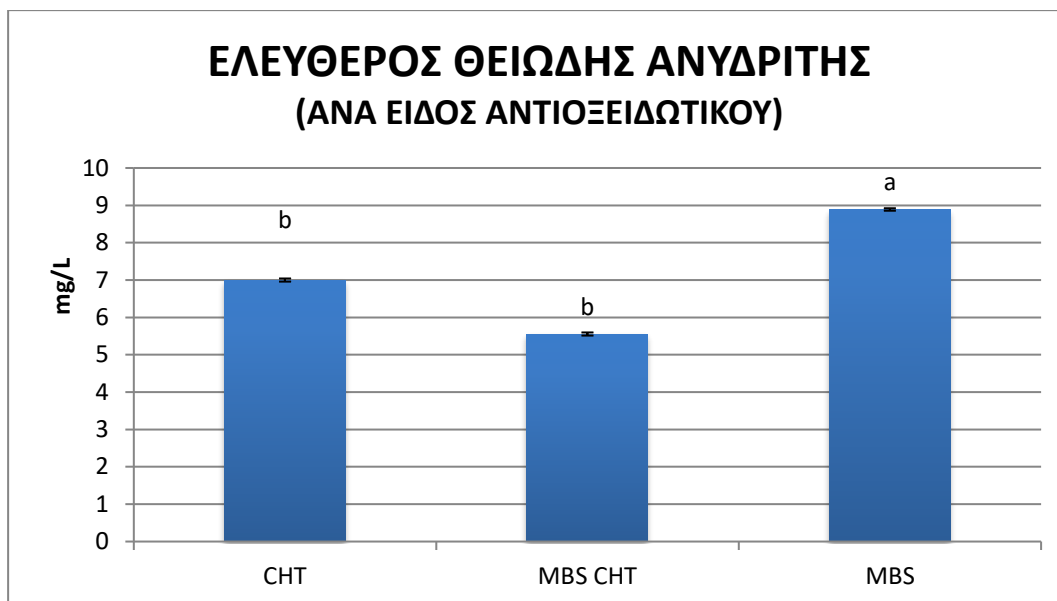
Από την άλλη μεριά, υπάρχει ένα μικρότερο ποσοστό το οποίο δεν έχει δεσμευθεί και μπορεί να προσφέρει αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική προστασία σε έναν οίνο. Αυτός ονομάζεται ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης και το άθροισμα του ελεύθερου και του δεσμευμένου ορίζει τον ολικό θειώδη ανυδρίτη ενός οίνου. (Κοτσερίδης & Προξενιά, 2020).

Κατά τη διάρκεια του πειράματος έγινε η μέτρηση του ελεύθερου και ολικού θειώδους ανυδρίτη.

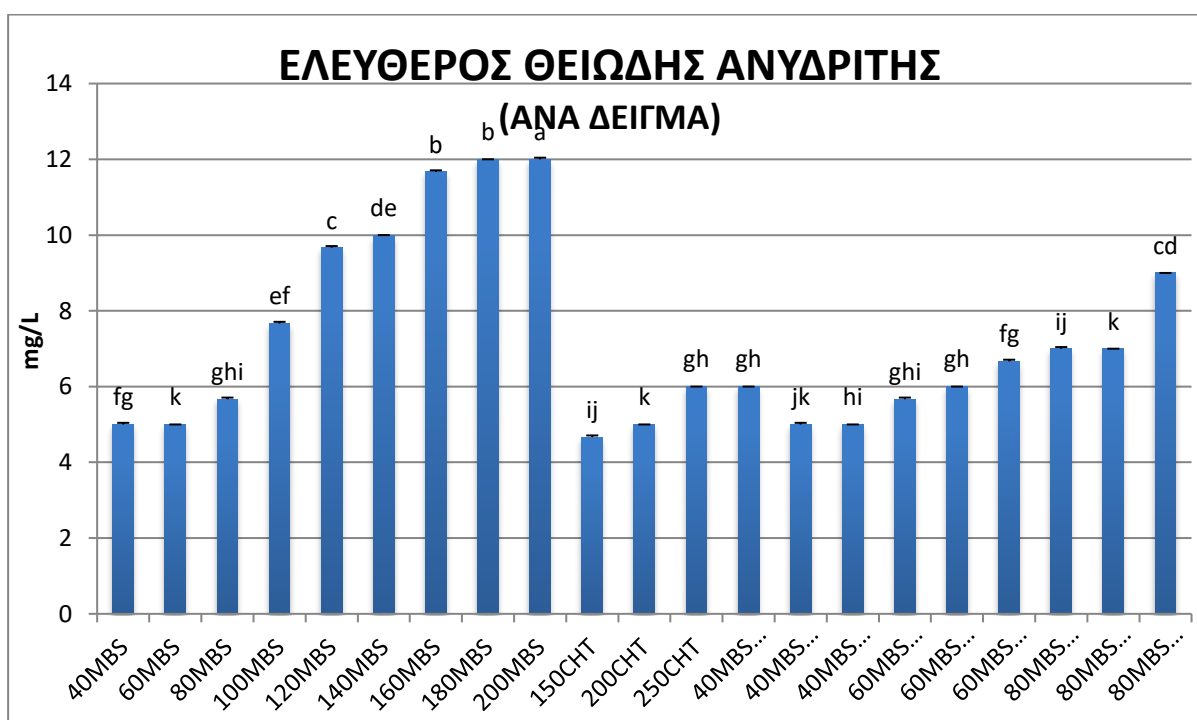
7.2.1. ΕΛΕΥΘΕΡΟΣ ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ

Παρακάτω καταγράφονται οι τιμές που λάβαμε ως αποτέλεσμα, έπειτα από μέτρηση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη μεταζυμωτικά, με τις τιμές που εμφανίζουν διαφορετικό εκθέτη να υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Να σημειωθεί ότι όλες οι τιμές και στους δύο πίνακες εκφράζονται σε χιλιοστογραμμάρια θειώδη ανυδρίτη ανά λίτρο (SO_2 mg/L).

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, με τις μετρήσεις του ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη. Στο Διάγραμμα 7, παρουσιάζεται η περιεκτικότητα σε ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη στα δείγματά μας, τα οποία στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζονται συγκεντρωτικά, δηλαδή ανά κατηγορία αντιοξειδωτικού που προστέθηκε. Στο Διάγραμμα 8 παρουσιάζεται η περιεκτικότητα σε ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη στα δείγματά μας, αναλυτικά, ανά δείγμα, δηλαδή ανά ακριβείς συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού που προστέθηκε αλλά και ανά είδος ταυτόχρονα.



Διάγραμμα 7. Περιεκτικότητα σε ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη συγκεντρωτικά ανά είδος αντιοξειδωτικού(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

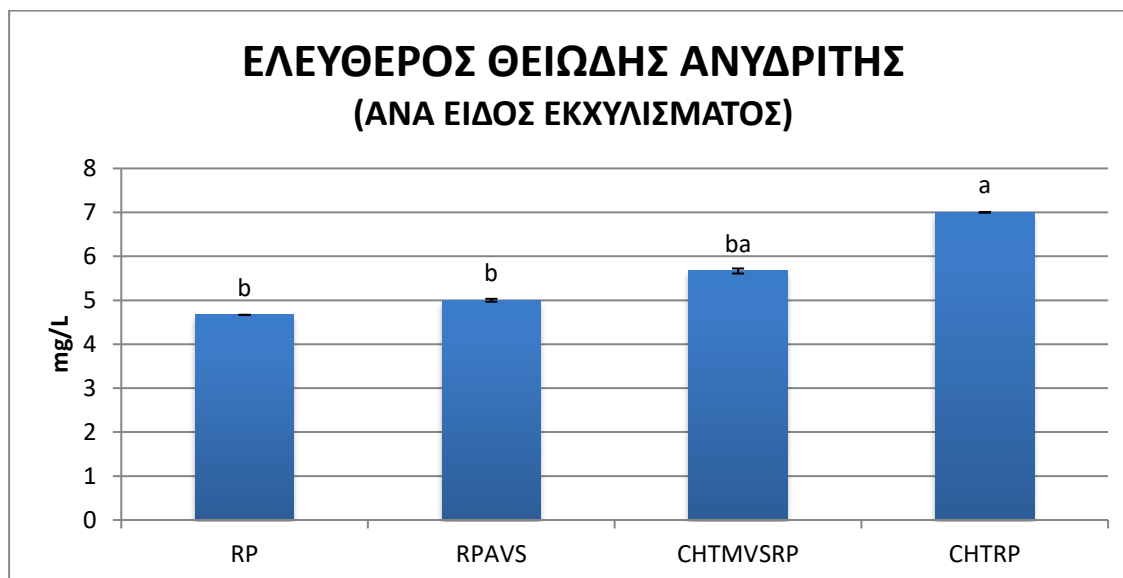


Διάγραμμα 8. Περιεκτικότητα σε ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη αναλυτικά ανά δείγμα(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c,κτλ είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Αναλυτικότερα, στα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται πως τα δείγματα στα οποία έγινε προσθήκη metabisulphite σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη. Παρατηρούμε πως υπάρχουν δείγματα, στα οποία έγινε προσθήκη του metabisulphite σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις και οριακά διαφέρουν σε συγκέντρωση θειώδους ανυδρίτη από εκείνα στα οποία έγινε προσθήκη χιτοζάνης ή

συνδιαστική προσθήκη της ελάχιστης ποσότητας metabisulphite και αυξημένης ποσότητας χιτοζάνης.

Στο Διάγραμμα 9, παρατηρούμε τη συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη, αυτή τη φορά, ανά είδος αντιοξειδωτικού εκχυλίσματος.



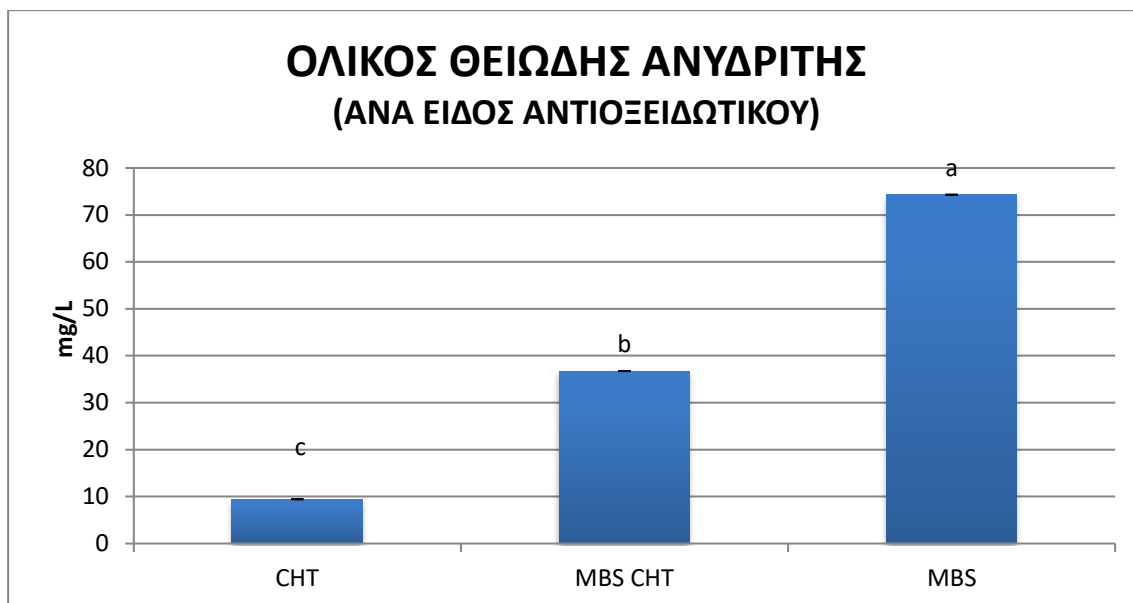
Διάγραμμα 9. Περιεκτικότητα σε ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη ανά είδος εκχυλίσματος (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Στο παραπάνω διάγραμμα που αφορά τους οίνους με προσθήκη εκχυλισμάτων, φαίνεται πως έχουμε μεγαλύτερη παραγωγή ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη από τη ζύμωση, χωρίς κάποια επιπλέον προσθήκη του, στο δείγμα με την προσθήκη χιτοζάνης και εκχυλίσματος από στέμφυλα Αυγουσιάτη.

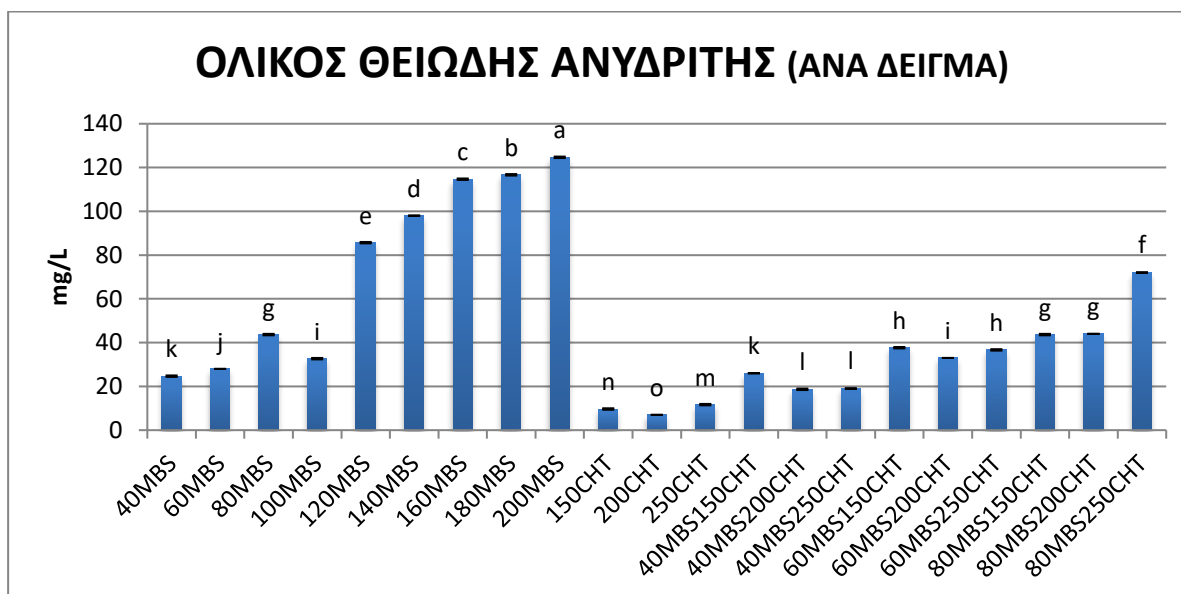
7.2.2. ΟΛΙΚΟΣ ΘΕΙΩΔΗΣ ΑΝΥΔΡΙΤΗΣ

Στα διαγράμματα παρακάτω γίνεται η καταγραφή των τιμών που είχαμε ως αποτελέσματα στη μέτρηση του ολικού θειώδους ανυδρίτη μεταζυμωτικά, με τις τιμές που εμφανίζουν διαφορετικό εκθέτη να υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Τέλος, να σημειωθεί ότι όλες οι τιμές και στους δύο πίνακες εκφράζονται σε χιλιοστογραμμάρια θειώδη ανυδρίτη ανά λίτρο (SO_2 mg/L).

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, με τις μετρήσεις του ολικού θειώδους ανυδρίτη. Στο Διάγραμμα 10 παρουσιάζεται η περιεκτικότητα σε ολικό θειώδη ανυδρίτη στα δείγματά μας, τα οποία στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζονται συγκεντρωτικά, δηλαδή ανά κατηγορία αντιοξειδωτικού που προστέθηκε. Στο Διάγραμμα 11 παρουσιάζεται η περιεκτικότητα σε ολικό θειώδη ανυδρίτη στα δείγματά μας, αναλυτικά, ανά δείγμα, δηλαδή ανά ακριβείς συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού που προστέθηκε αλλά και ανά είδος ταυτόχρονα.



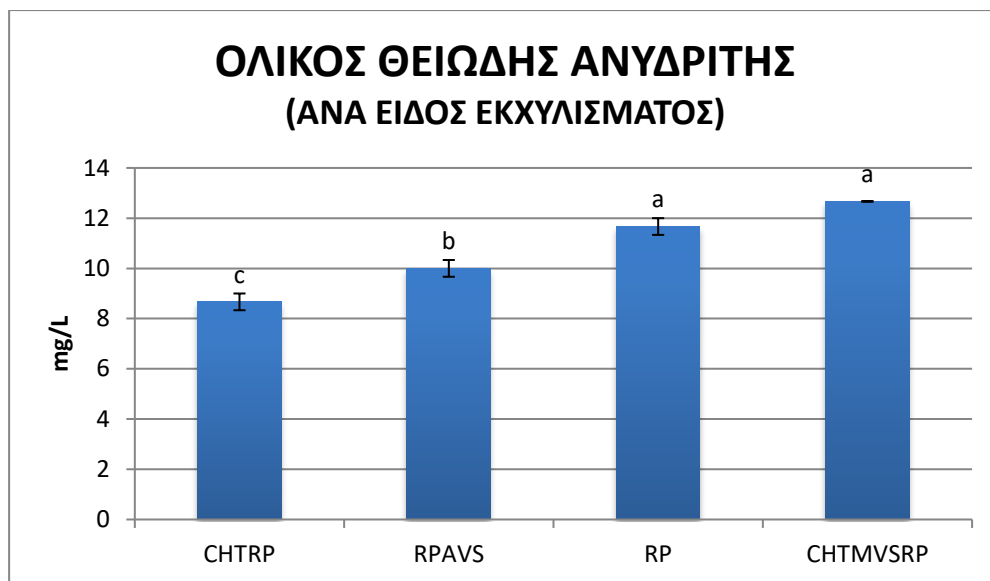
Διάγραμμα 10. Περιεκτικότητα σε ολικό θειώδη ανυδρίτη συγκεντρωτικά ανά είδος αντιοξειδωτικού(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).



Διάγραμμα 11. Περιεκτικότητα σε ολικό θειώδη ανυδρίτη αναλυτικά ανά δείγμα(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, κτλ είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Τα αποτελέσματα που λαμβάνουμε ως προς τον ολικό θειώδη ανυδρίτη διαφέρουν από αυτά του ελεύθερου, όπως είναι αναμενόμενο. Όπου έχουμε προσθήκη metabisulphite υπάρχει αύξηση της συγκέντρωσης του ολικού θειώδους ανυδρίτη, κατά αντιστοιχία της ποσότητας της οποίας προστέθηκε. Υπάρχει στατιστική διαφοροποίηση των δειγμάτων στα οποία έγινε προσθήκη χιτοζάνης ή συνδυαστική προσθήκη χιτοζάνης-metabisulphite.

Στο Διάγραμμα 12, παρατηρούμε τη συγκέντρωση του ολικού θειώδους ανυδρίτη, αυτή τη φορά, ανά είδος αντιοξειδωτικού εκχυλίσματος.



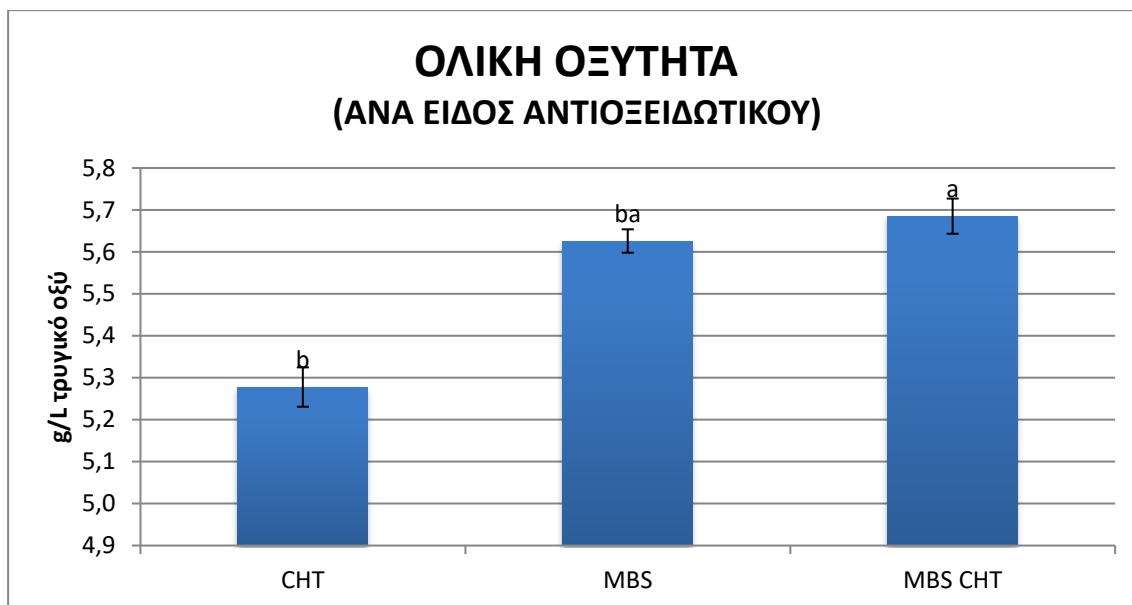
Διάγραμμα 12. Περιεκτικότητα σε ολικό θειώδη ανυδρίτη ανά είδος εκχυλίσματος (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Στο παραπάνω διάγραμμα που αφορά τους οίνους με προσθήκη εκχυλισμάτων, φαίνεται πως έχουμε μεγαλύτερη παραγωγή ολικού θειώδους ανυδρίτη από τη ζύμωση, χωρίς κάποια επιπλέον προσθήκη του, στο δείγμα με την προσθήκη χιτοζάνης, εκχυλίσματος από βλαστούς Μοσχάτου και εκχυλίσματος από στέμφυλα Αυγουσιτιάτη. Παρατηρούμε πως στατιστικά σε κάποια από τα δείγματα υπάρχει ταύτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, ενώ σε κάποια άλλα διαφοροποίηση.

7.3. ΟΛΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ

Η ολική οξύτητα δεν φαίνεται να έχει κάποια άμεση σχέση με την οξείδωση των οίνων. Παρόλα αυτά, καθορίζει το pH του οίνου, και η οξείδωση εξαρτάται από το pH. Όσο μεγαλύτερο είναι το pH του οίνου, τόσο πιο πιθανό είναι να εμφανιστεί νέα οξείδωση άμεσα. Για αυτόν τον λόγο, η ολική οξύτητα αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη (Κοτσερίδης & Προξενιά, 2020). Για το λόγο αυτό, αποφασίστηκε να γίνει η μέτρηση της ολικής οξύτητας. Οι τιμές που παρουσιάζονται στους 2 πίνακες που ακολουθούν είναι εκφρασμένες σε γραμμάρια ανά λίτρο (g/L), και εκείνες που φέρουν διαφορετικό εκθέτη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο 5%.

Στους πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, με τις μετρήσεις της ολικής οξύτητας. Στο Διάγραμμα 13 παρουσιάζονται οι τιμές που έχει η ολική οξύτητα στα δείγματά μας, τα οποία στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζονται συγκεντρωτικά, δηλαδή ανά κατηγορία αντιοξειδωτικού που προστέθηκε. Στο Διάγραμμα 14 παρουσιάζονται οι τιμές της ολικής οξύτητας, αναλυτικά, ανά δείγμα, δηλαδή ανά ακριβείς συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού που προστέθηκε αλλά και ανά είδος ταυτόχρονα.



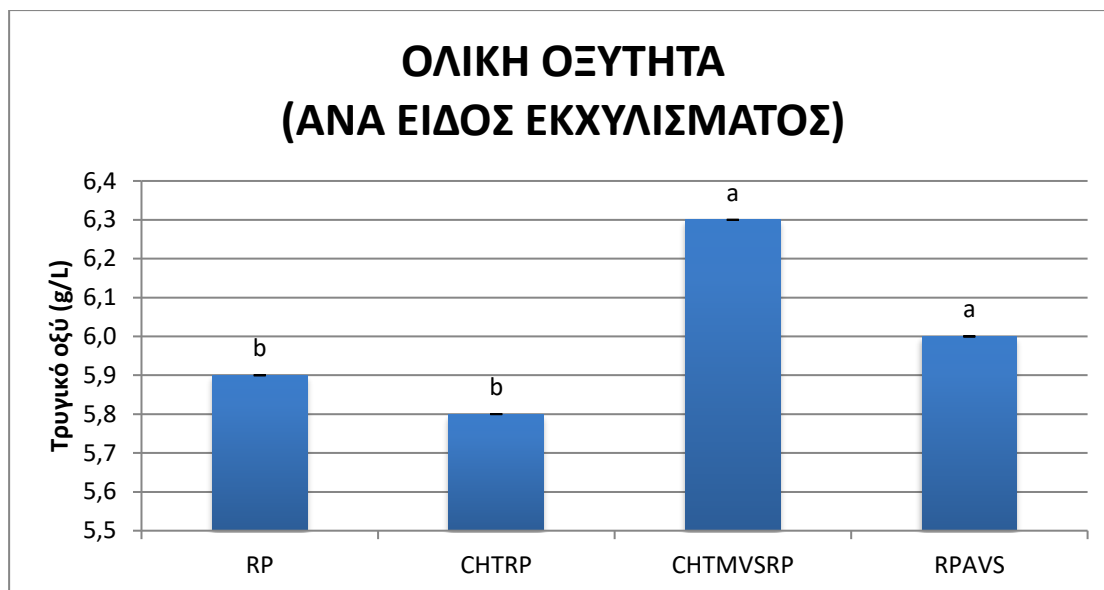
Διάγραμμα 13. Τιμές ολικής οξύτητας συγκεντρωτικά ανά είδος αντιοξειδωτικού (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).



Διάγραμμα 14. Τιμές ολικής οξύτητας αναλυτικά ανά δείγμα (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, κτλ είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Στους παραπάνω πίνακες, με μικρές βέβαια διαφορές, φαίνεται πως η προσθήκη metabisulphite και χιτοζάνης, επηρεάζει την ολική οξύτητα του οίνου. Στα διαγράμματα φαίνεται αύξηση της οξύτητας, αν συγκρίνουμε τα δείγματα με τις ελάχιστες ποσότητες προσθήκης. Φαίνεται πως η αύξηση της οξύτητας σχετίζεται με την ύπαρξη metabisulphite ή χιτοζάνης ή και των δύο. Υπάρχει σε αρκετά δείγματα στατιστική συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Στο Διάγραμμα 15, παρατηρούμε τις τιμές που λαμβάνει η ολική οξύτητα, αυτή τη φορά, ανά είδος αντιοξειδωτικού εκχυλίσματος.



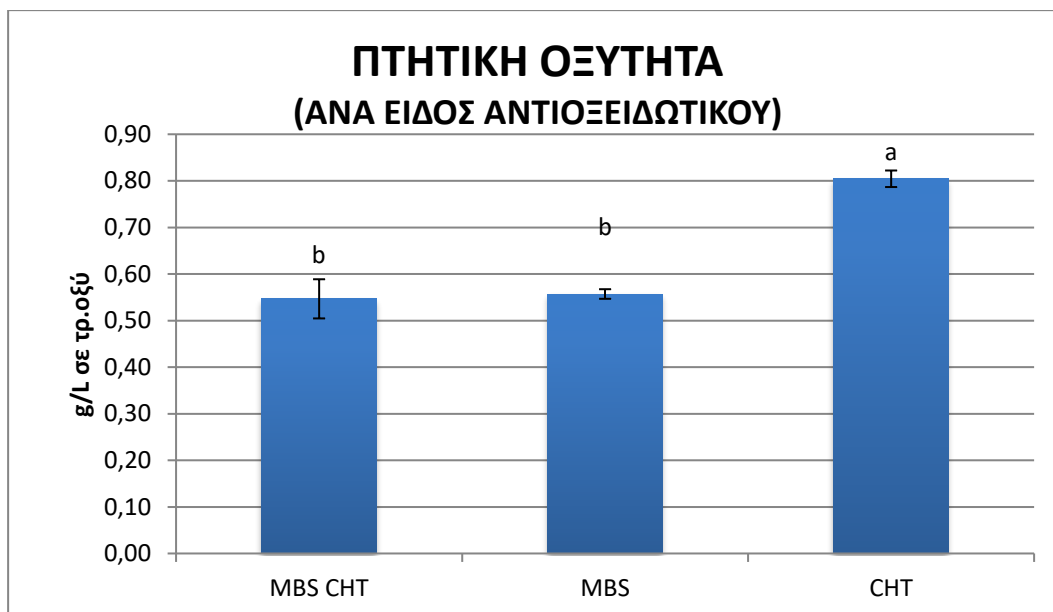
Διάγραμμα 15. Τιμές ολικής οξύτητας ανά είδος εκχυλίσματος (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Στον παραπάνω πίνακα, παρατηρούμε πως το δείγμα με την προσθήκη χιτοζάνης, εκχυλίσματος από βλαστούς Μοσχάτου και εκχυλίσματος από στέμφυλα Αυγουστιάτη έχει τη μεγαλύτερη αύξηση της ολικής οξύτητας, εκφρασμένη σε τρυγικό οξύ. Αυτό, προφανώς, οφείλεται από την ιδιαίτερα αυξημένη οξύτητα που περιέχει ο βλαστός του Μοσχάτου. Παρατηρούμε πως στατιστικά σε κάποια από τα δείγματα υπάρχει ταύτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

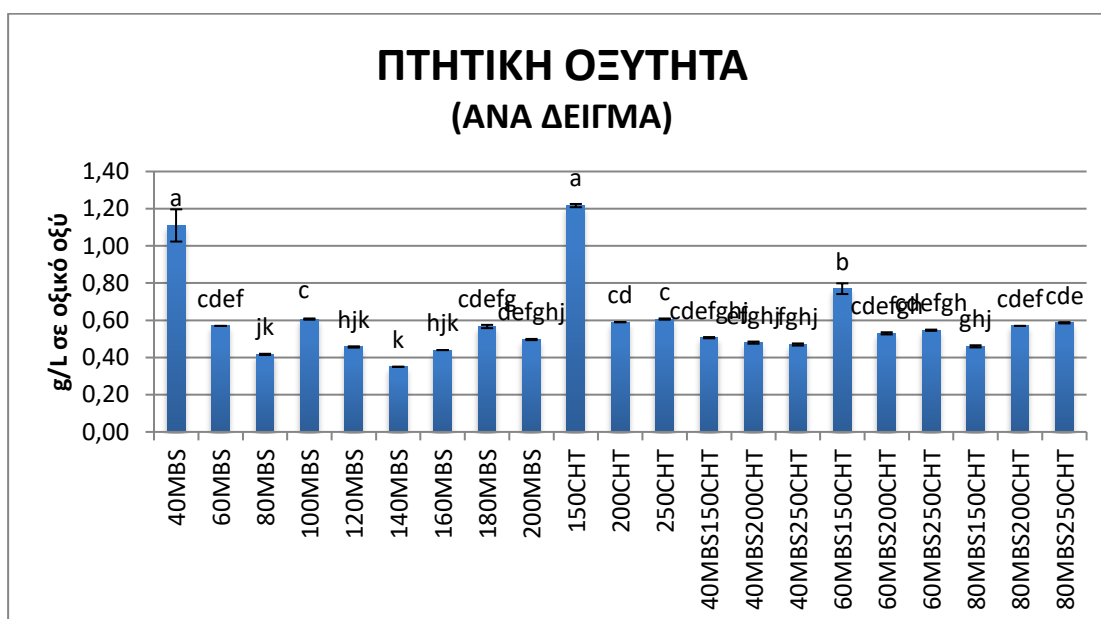
7.4. ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ

Η πτητική οξύτητα συσχετίζεται με την ποιότητα του παραγόμενου οίνου και κατά κύριο λόγο οφείλεται στα οξικά βακτήρια. Είναι πολύ σημαντική ποιοτική παράμετρος των οίνων, καθώς η παρουσία της πτητικής οξύτητας πάνω από ορισμένα όρια υποβαθμίζει τον οίνο οργανοληπτικά δημιουργώντας αίσθηση του ξηρού και στεγνού στο στόμα καθώς και οσμή και γεύση ξυδιού, ειδικά όταν αυτό βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Οι τιμές και στους δύο πίνακες είναι εκφρασμένες σε οξικό οξύ g/L, και εκείνες που φέρουν διαφορετικό εκθέτη υποδηλώνουν στατιστική διαφορά σε επίπεδο 5%.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, με τις μετρήσεις της ολικής οξύτητας. Στο Διάγραμμα 16 παρουσιάζονται οι τιμές που έχει λάβει η πτητική οξύτητα στα δείγματά μας, τα οποία στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζονται συγκεντρωτικά, δηλαδή ανά κατηγορία αντιοξειδωτικού που προστέθηκε. Στο Διάγραμμα 17, παρουσιάζονται οι τιμές της πτητικής οξύτητας, αναλυτικά, ανά δείγμα, δηλαδή ανά ακριβείς συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού που προστέθηκε αλλά και ανά είδος ταυτόχρονα.



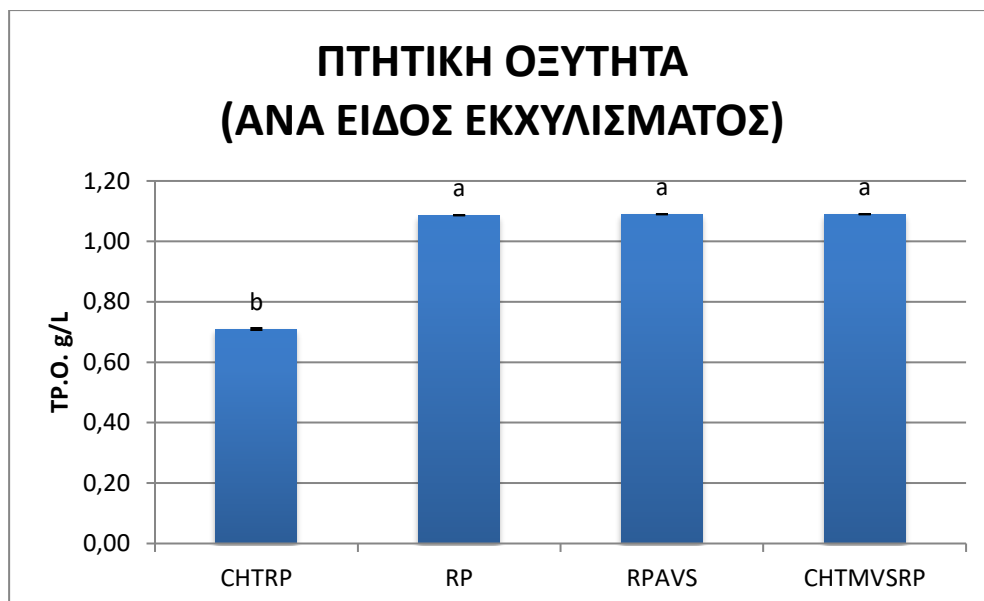
Διάγραμμα 16. Τιμές πτητικής οξύτητας συγκεντρωτικά ανά είδος αντιοξειδωτικού (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).



Διάγραμμα 17. Τιμές πτητικής οξύτητας αναλυτικά ανά δείγμα (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, κτλ είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Στους παραπάνω πίνακες φαίνεται πως όπου υπάρχει προσθήκη metabisulphite και χιτοζάνης, είτε συνδυαστικά είτε ξεχωριστά, με εξαίρεση τα δυο δείγματα με τις ελάχιστες ποσότητες προσθήκης τους, υπάρχει ικανότητα συντήρησης και μικροβιακής σταθερότητας έναντι των οξικών βακτηριών. Τόσο το metabisulphite, όσο και η χιτοζάνη συνέβαλλαν θετικά στην διατήρηση των κρασιών, ενώ σε πολλά δείγματα παρατηρούμε πως υπάρχει στατιστική συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Στο Διάγραμμα 18, παρατηρούμε τις τιμές που λαμβάνει η ολική οξύτητα, αυτή τη φορά, ανά είδος αντιοξειδωτικού εκχυλίσματος.



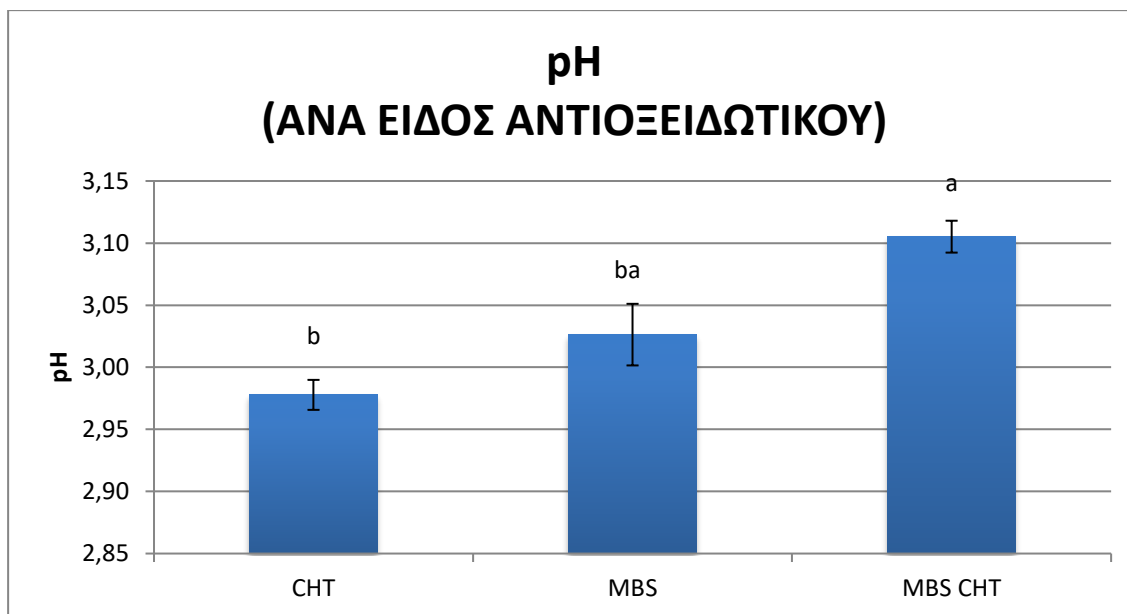
Διάγραμμα 18. Τιμές πτητικής οξύτητας ανά είδος εκχυλίσματος (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Στον πίνακα παραπάνω, παρατηρούμε πως η πτητική οξύτητα είναι αυξημένη σχεδόν σε όλα τα δείγματα, κάτι που υποδηλώνει πως πιθανόν τα εκχυλίσματα να μην έχουν αντιμικροβιακή-αποστειρωτική ικανότητα, και να μην μπορούν να προσφέρουν μικροβιακή σταθερότητα, τουλάχιστον σε αυτές τις ποσότητες. Παρόλα αυτά, η πτητική οξύτητα σε όλα τα δείγματα, κυμαίνεται εντός των αγορανομικών ορίων και στο δείγμα χιτοζάνης-εκχύλισμα στεμφύλων Αυγουσιάτη, αρκετά κάτω των ορίων αυτών. Στα 3 από τα 4 δείγματα υπάρχει στατιστική ταύτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

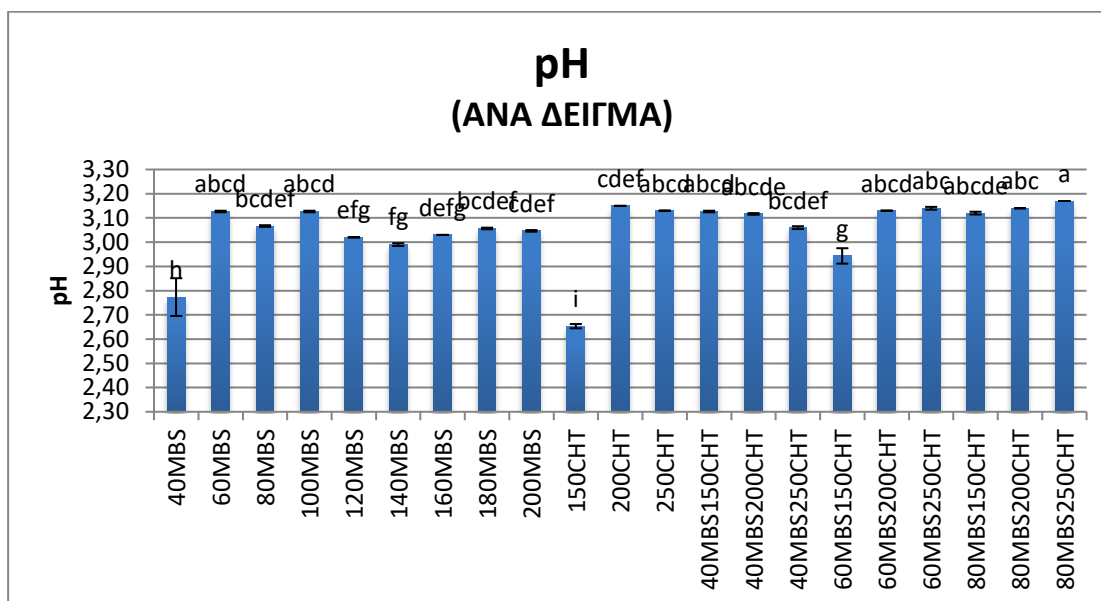
7.5. pH- ΕΝΕΡΓΗ ΟΞΥΤΗΤΑ

Η ενεργός οξύτητα εξαρτάται άμεσα από το είδος και τη συγκέντρωση των οξέων σε έναν οίνο. Δηλώνει το μέγεθος της όξινης γεύσης του οίνου και αποτελεί σημαντική παράμετρο για την επέμβαση του οινολόγου με σκοπό τη διόρθωση της οξύτητας. Το pH κατέχει σημαντικό ρόλο στη γευστική ισορροπία των κρασιών και την ποιότητά τους.

Παρακάτω εμφανίζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, με τις μετρήσεις της ενεργής οξύτητας. Στο Διάγραμμα 19, παρουσιάζονται οι τιμές που έχει λάβει η ενεργή οξύτητα στα δείγματά μας, τα οποία στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζονται συγκεντρωτικά, δηλαδή ανά κατηγορία αντιοξειδωτικού που προστέθηκε. Στο Διάγραμμα 20, εμφανίζονται οι τιμές της πτητικής οξύτητας, αναλυτικά, ανά δείγμα, δηλαδή ανά ακριβείς συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού που προστέθηκε αλλά και ανά είδος ταυτόχρονα.



Διάγραμμα 19. Τιμές pH συγκεντρωτικά ανά είδος αντιοξειδωτικού (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).



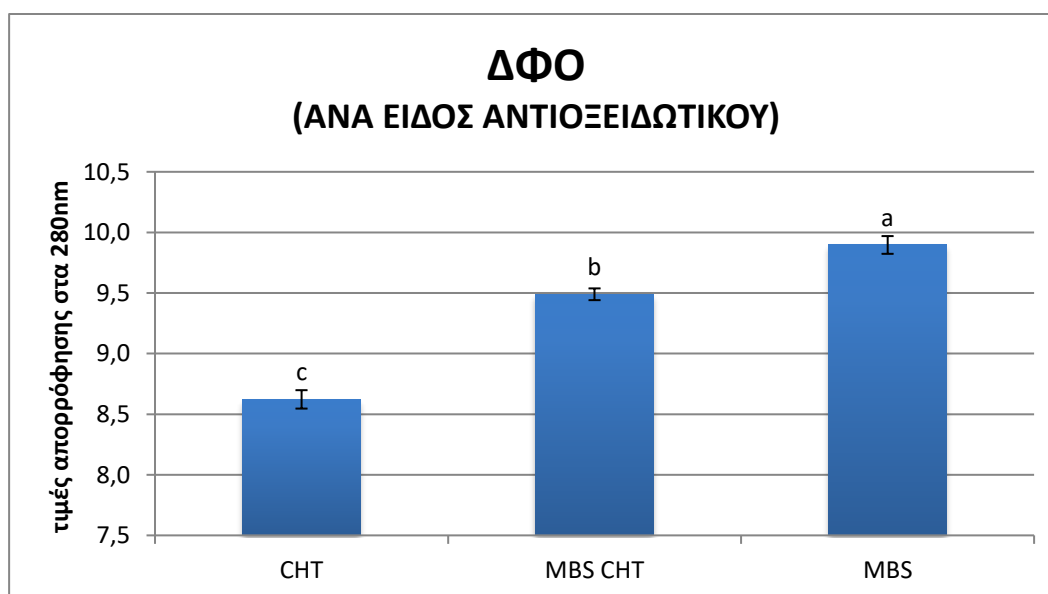
Διάγραμμα 20. Τιμές pH αναλυτικά ανά δείγμα (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, κτλ είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Στους παραπάνω πίνακες παρατηρούμε πως το pH επηρεάζεται ελάχιστα από την προσθήκη metabisulphite και χιτοζάνης. Παρατηρούμε πως η χιτοζάνη μειώνει το pH οριακά περισσότερο από το metabisulphite. Στα διαγράμματα φαίνεται αύξηση του pH, αν συγκρίνουμε τα δείγματα με τις ελάχιστες ποσότητες προσθήκης. Φαίνεται πως η αύξηση του pH σχετίζεται με την ύπαρξη metabisulphite ή χιτοζάνης ή και των δύο. Υπάρχει σε αρκετά δείγματα στατιστική συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

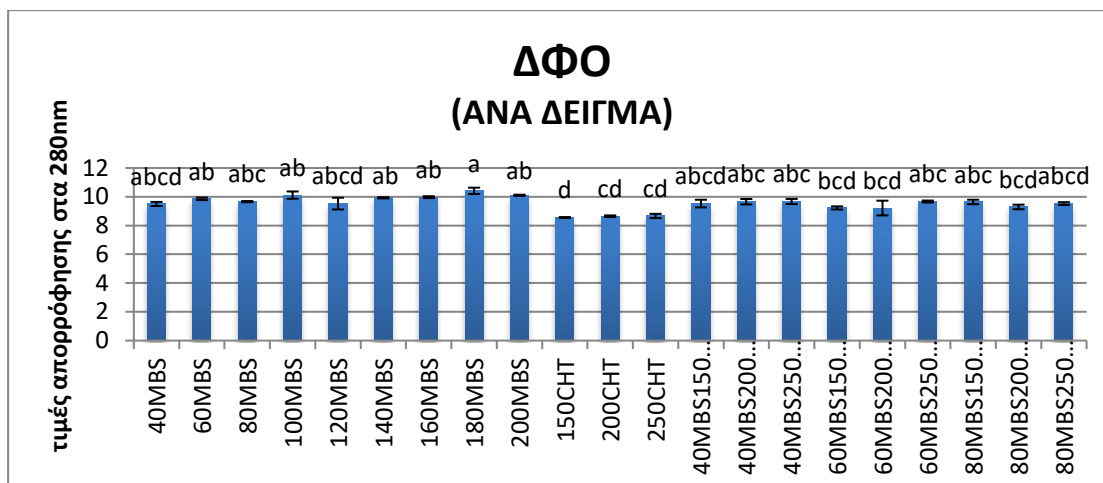
7.6. ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (ΔΦΟ)

Ο δείκτης φαινολικών ενώσεων παρέχει μια γρήγορη και αποτελεσματική μέθοδο για την αρχική εκτίμηση των φαινολικών συστατικών. Η εκτίμηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στον οίνο είναι κρίσιμη, καθώς αυτές προσφέρουν αντιοξειδωτική προστασία και ευθύνονται για την εμφάνιση καφετιάσματος σε περίπτωση οξείδωσης. Χάρη στην ικανότητα των βενζολικών δακτυλίων των φαινολικών ενώσεων να απορροφούν έντονα στο μήκος κύματος των 280 nm, μπορεί να γίνει εκτίμηση της περιεκτικότητας του οίνου σε φλαβονοειδείς και μη φλαβονοειδείς φαινόλες, καθώς και σε ορισμένες μη φαινολικές ουσίες (Κοτσερίδης & Προξενιά, 2020). Στους παρακάτω πίνακες καταγράφονται οι τιμές που ελήφθησαν από τα δείγματα του πειράματος. Οι τιμές αυτές αναπαριστούν την απορρόφηση που μετρήθηκε από το φωτόμετρο, πολλαπλασιασμένη με την αραιώση του δείγματος. Επιπλέον, οι τιμές που φέρουν διαφορετικό δείκτη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά στο επίπεδο του 5%.

Παρακάτω εμφανίζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, με τις μετρήσεις της απορρόφησης στα 280nm. Στο Διάγραμμα 20 παρουσιάζονται οι τιμές που έχει λάβει η απορρόφηση στα 280nm στα δείγματά μας, τα οποία στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζονται συγκεντρωτικά, δηλαδή ανά κατηγορία αντιοξειδωτικού που προστέθηκε. Στο Διάγραμμα 21 εμφανίζονται οι τιμές της απορρόφησης στα 280nm, αναλυτικά, ανά δείγμα, δηλαδή ανά ακριβείς συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού που προστέθηκε αλλά και ανά είδος ταυτόχρονα.



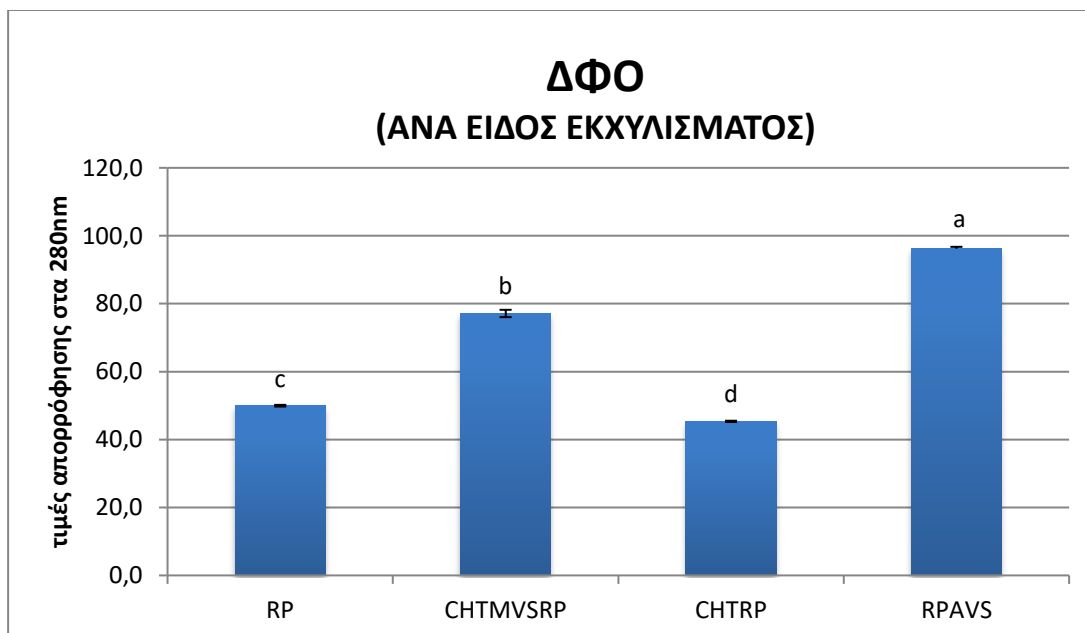
Διάγραμμα 21. Τιμές απορρόφησης στα 280 nm συγκεντρωτικά ανά είδος αντιοξειδωτικού (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).



Διάγραμμα 22. Τιμές απορρόφησης στα 280 nm αναλυτικά ανά δείγμα (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, κτλ είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Με βάση τους παραπάνω πίνακες φαίνεται πως όπου εμπεριέχεται metabisulphite, η συγκέντρωση του δείκτη φαινολικών ουσιών είναι αυξημένη συγκριτικά με όπου έγινε μόνο προσθήκη χιτοζάνης. Σημαντική παρατήρηση, λοιπόν, είναι πως φαίνεται το metabisulphite ως ισχυρότερο αντιοξειδωτικό μέσο, συγκριτικά με τη χιτοζάνη. Σε όλα τα υπόλοιπα δείγματα παρατηρούμε στατιστική συσχέτιση ή ακόμα και ταύτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Στο Διάγραμμα 23, παρατηρούμε τις τιμές που λαμβάνει η απορρόφηση στα 280nm, αυτή τη φορά, ανά είδος εκχυλίσματος.



Διάγραμμα 23. Τιμές απορρόφησης στα 280 nm ανά είδος εκχυλίσματος (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

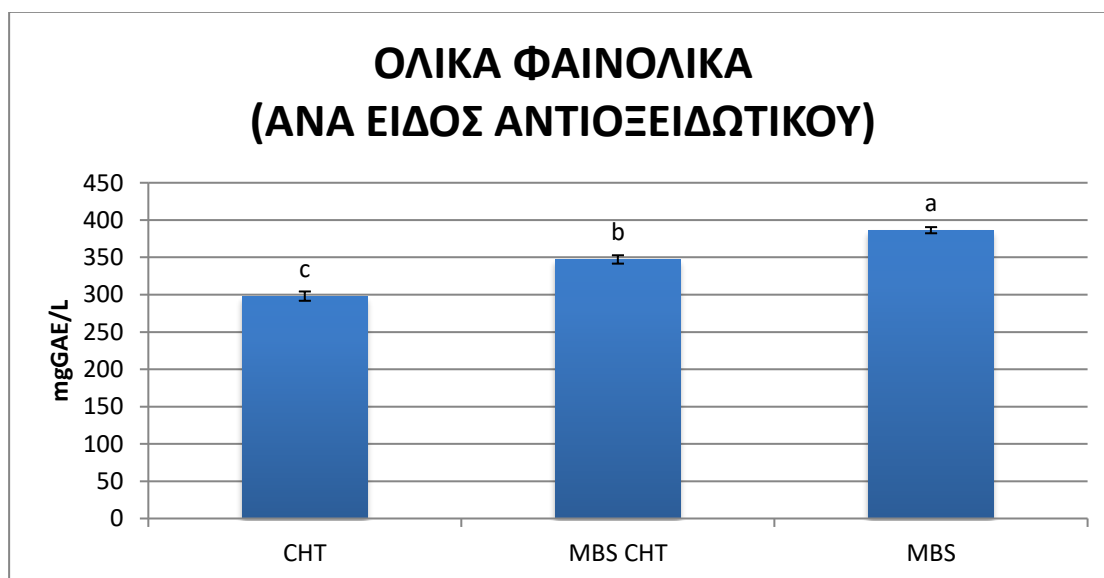
Στον παραπάνω πίνακα, φαίνεται πως όπου υπάρχει εκχύλισμα βλαστού (συνδυαστικά με το εκχύλισμα στεμφύλων), υπάρχει αυξημένη συγκέντρωση του δείκτη φαινολικών ουσιών. Αυτό μας κατευθύνει στο συμπέρασμα πως στους βλαστούς των αμπελιών υπάρχουν αυξημένες

αντιοξειδωτικές ουσίες, που έχει σημασία να αναγνωρίσουμε και πιθανόν να αξιοποιήσουμε. Σε όλα τα δείγματα παρατηρούμε στατιστική διαφοροποίηση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

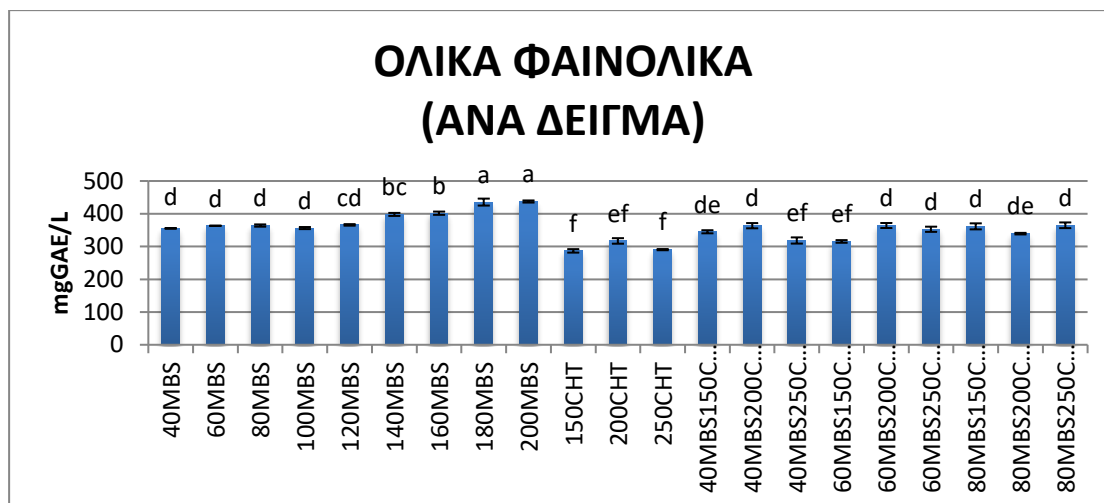
7.7. ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΣ Folin-Ciocalteu

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών του οίνου είναι επίσημα αναγνωρισμένη από τον ΟΙΒ. Αυτή η μέθοδος είναι φωτομετρική, όπως και η ΔΦΟ. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων στον οίνο είναι σημαντικός, καθώς αυτές λειτουργούν ως φυσικά αντιοξειδωτικά. Οι τιμές των φαινολικών συστατικών εκφράζονται σε χιλιοστογραμμάρια γαλλικού οξέος ανά λίτρο (GAE mg/L), και οι τιμές που φέρουν διαφορετικό δείκτη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά στο επίπεδο του 5%.

Παρακάτω εμφανίζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, με τις μετρήσεις συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών με απορρόφηση στα 765nm. Στο Διάγραμμα 24 παρουσιάζονται οι τιμές που έχει λάβει η απορρόφηση στα 765nm στα δείγματά μας, τα οποία στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζονται συγκεντρωτικά, δηλαδή ανά κατηγορία αντιοξειδωτικού που προστέθηκε. Στο Διάγραμμα 25 εμφανίζονται οι τιμές της απορρόφησης στα 765nm, αναλυτικά, ανά δείγμα, δηλαδή ανά ακριβείς συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού που προστέθηκε αλλά και ανά είδος ταυτόχρονα.



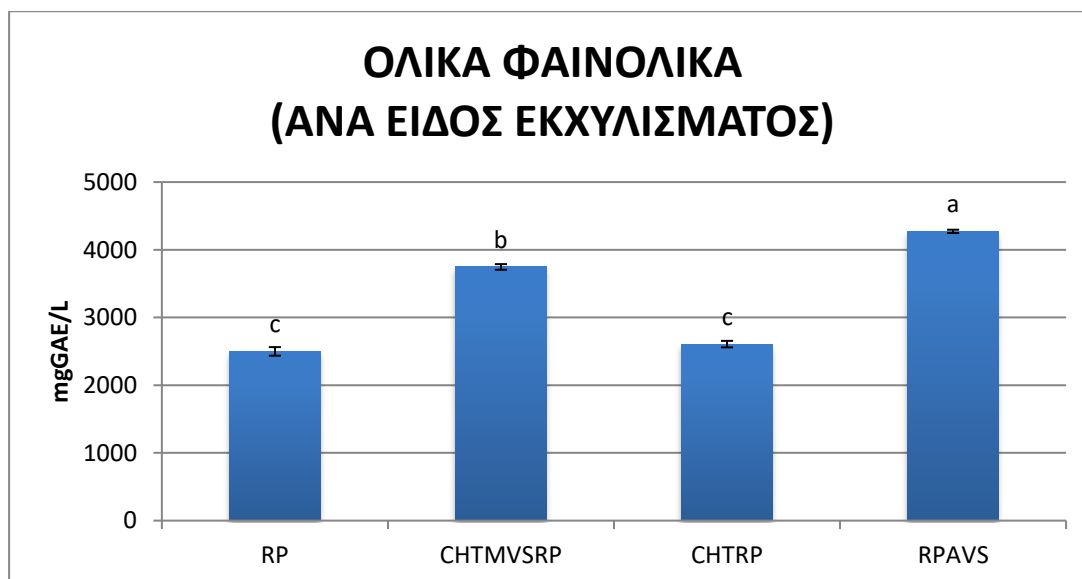
Διάγραμμα 24. Συγκέντρωση ολικών φαινολικών σε 765 nm συγκεντρωτικά ανά είδος αντιοξειδωτικού (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).



Διάγραμμα 25. Συγκέντρωση ολικών φαινολικών σε A765 nm αναλυτικά ανά δείγμα (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, κτλ είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Με βάση τους παραπάνω πίνακες παρατηρούμε πως και σε αυτή τη μέθοδο επιβεβαιώνεται πως, όπου υπάρχει η προσθήκη metabisulphite οι φαινολικές ενώσεις είναι αυξημένες, συγκριτικά με όπου υπάρχει προσθήκη μόνο χιτοζάνης. Παρ'όλα αυτά, πρέπει να επισημάνουμε πως οι αποκλίσεις δεν είναι ιδιαίτερα μεγάλες. Μπορεί να επισημανθεί πως φαίνεται η συμβολή της χιτοζάνης, ως προς την αντιοξειδωτική της δράση, όμως σε μικρότερο βαθμό από αυτή του metabisulphite. Σε όλα τα υπόλοιπα δείγματα, πλην των δειγμάτων με μοναδική προσθήκη αυτή της χιτοζάνης, παρατηρούμε στατιστική συσχέτιση ή ακόμα και ταύτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Στο Διάγραμμα 26, παρατηρούμε τις τιμές που λαμβάνει η απορρόφηση στα 765nm, ανά είδος αντιοξειδωτικού εκχυλίσματος.



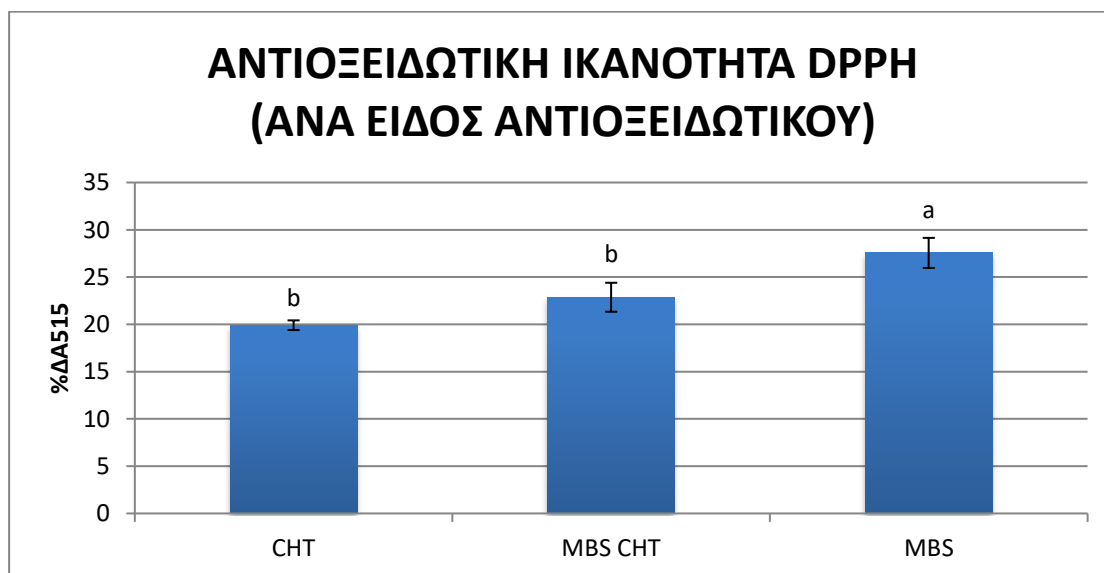
Διάγραμμα 26. Συγκέντρωση ολικών φαινολικών σε A765 nm ανά είδος εκχυλίσματος (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Όπως και στον πίνακα των αποτελεσμάτων του ΔΦΟ, έτσι και σε αυτόν τον πίνακα όπου αποτυπώνονται τα αποτελέσματα των ολικών φαινολικών, επιβεβαιώνεται πως σε όποιο δείγμα συμμετέχει το εκχύλισμα βλαστού, έχουμε αυξημένο αριθμό ολικών φαινολικών. Φαίνεται πως πιθανόν στους βλαστούς, να μπορέσουμε να εντοπίσουμε αυξημένη αντιοξειδωτική δράση και ιδιαίτερα σε αυτούς που προέρχονται από την ερυθρή ποικιλία, Αυγουσιάτη. Στα δείγματα που δεν εμπεριέχεται το εκχύλισμα βλαστού, υπάρχει στατιστική ταύτιση, ενώ σε εκείνα που εμπεριέχονται οι βλαστοί εμφανίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

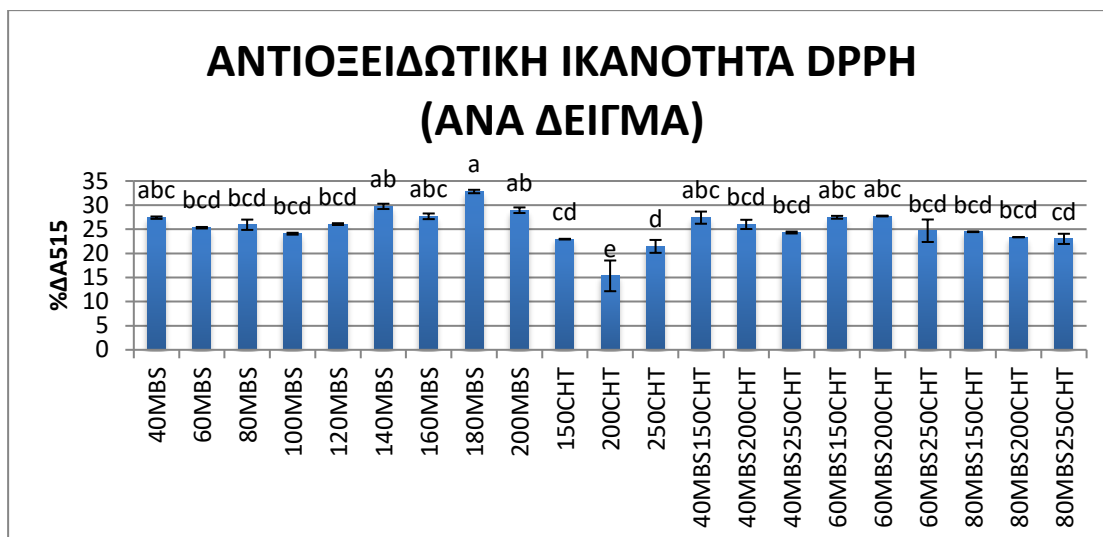
7.8. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ – ΔΟΚΙΜΗ DPPH

Η μέθοδος DPPH που εφαρμόστηκε για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων βασίζεται στο πρωτόκολλο του Blois (1958), το οποίο ανέπτυξε. Οι τιμές των αποτελεσμάτων εκφράζονται σε χιλιοστοϊσοδύναμα Trolox (mM Trolox), και οι τιμές που φέρουν διαφορετικό εκθέτη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Παρακάτω καταγράφονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, με τις μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας. Στο Διάγραμμα 27, παρουσιάζονται οι τιμές %ΔΑ515 στα δείγματά μας, τα οποία στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζονται συγκεντρωτικά, δηλαδή ανά κατηγορία αντιοξειδωτικού που προστέθηκε. Στο Διάγραμμα 28, εμφανίζονται οι τιμές της %ΔΑ515, αναλυτικά, ανά δείγμα, δηλαδή ανά ακριβείς συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού που προστέθηκε αλλά και ανά είδος ταυτόχρονα.



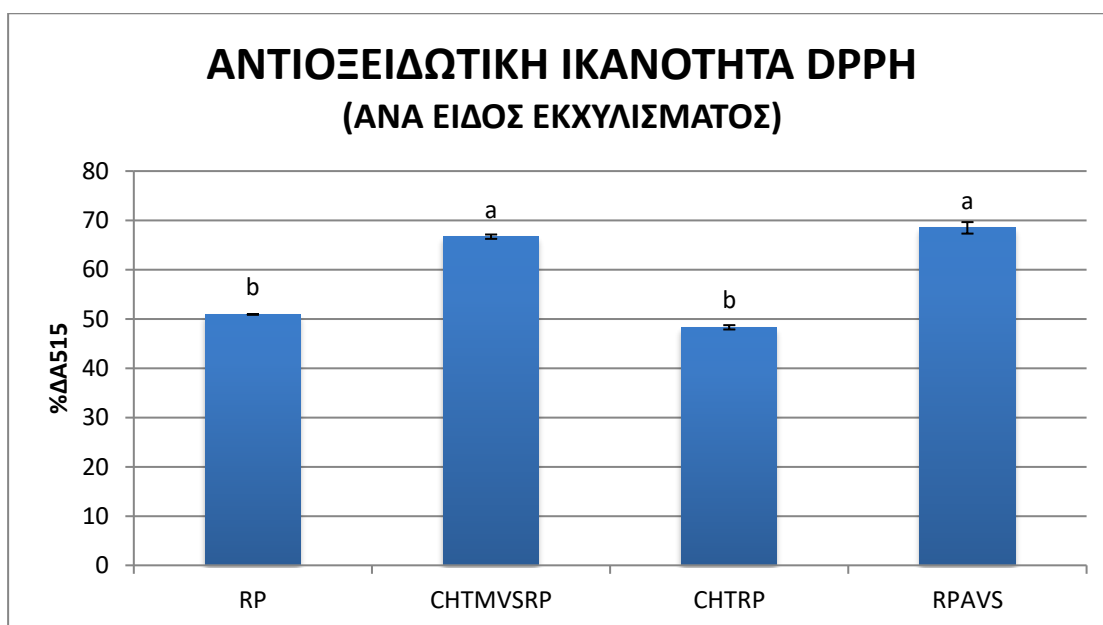
Διάγραμμα 27. Τιμές %ΔΑ515 συγκεντρωτικά ανά είδος αντιοξειδωτικού (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).



Διάγραμμα 28. Τιμές %ΔA515 αναλυτικά ανά δείγμα(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c,κτλ είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p<0,05$).

Παρατηρώντας τους παραπάνω πίνακες μπορούμε να εξάγουμε το συμπέρασμα πως η αντιοξειδωτική ικανότητα του θειώδους ανυδρίτη είναι αυξημένη συγκριτικά με της χιτοζάνης. Όμως, συνεργατικά φαίνεται να διατηρούν υψηλή την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, επίσης. Σε όλα τα υπόλοιπα δείγματα, πλην των δειγμάτων με μοναδική προσθήκη αυτή της χιτοζάνης, παρατηρούμε στατιστική συσχέτιση ή ακόμα και ταύτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Στο Διάγραμμα 29, καταγράφονται οι τιμές %ΔA515, ανά είδος αντιοξειδωτικού εκχυλίσματος.



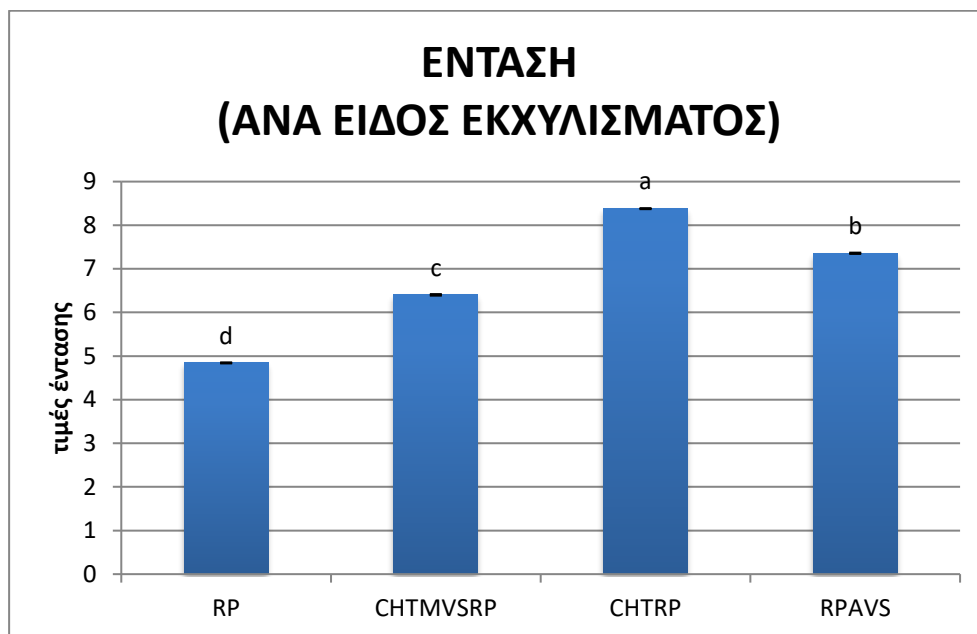
Διάγραμμα 29. Τιμές %ΔA515 ανά είδος εκχυλίσματος(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p<0,05$).

Παρατηρώντας τον παρακάτω πίνακα καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως και σε αυτή τη μέτρηση επιβεβαιώνεται η πληροφορία πως οι βλαστοί έχουν ενισχυμένη αντιοξειδωτική ικανότητα. Τα δείγματα που περιέχουν εκχύλισμα βλαστών έχουν στατιστική ταύτιση σε

επίπεδο σημαντικότητας 5%, όπως ακριβώς και τα δείγματα που δεν περιέχουν και έχουν ως κοινό στοιχείο το εκχύλισμα στεμφύλων Αυγουσιτιάτη.

7.9. ΕΝΤΑΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΧΡΩΣΗ

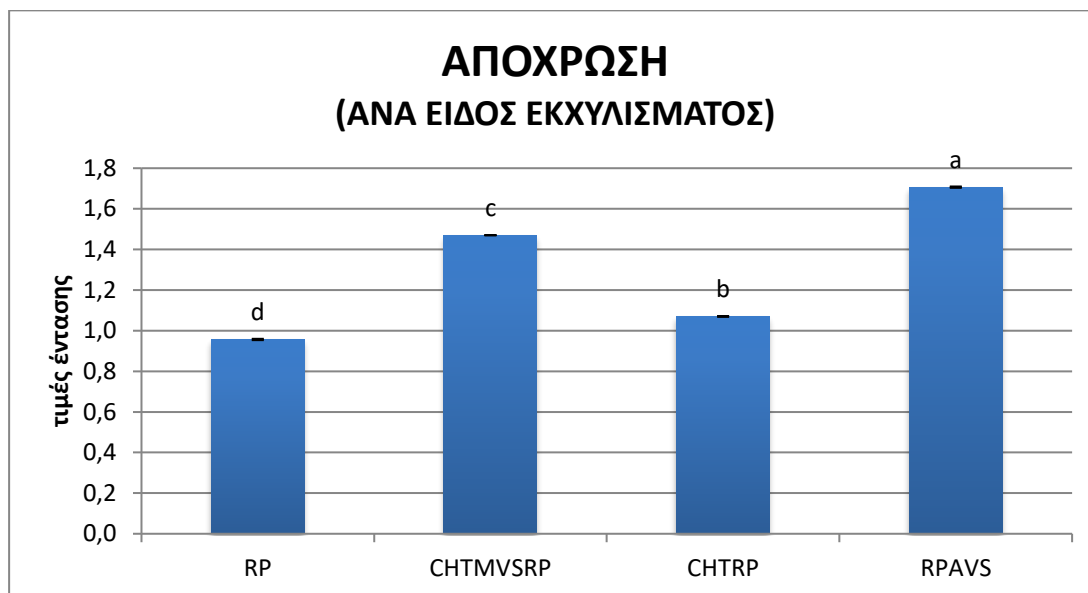
Στο Διάγραμμα 30 καταγράφονται οι τιμές της έντασης του χρώματος που είχαν τα δείγματά μας ανά είδος εκχυλίσματος.



Διάγραμμα 30. Τιμές έντασης ανά είδος εκχυλίσματος (τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Στον παραπάνω πίνακα φαίνεται πως τη μεγαλύτερη τιμή στην ένταση του χρώματος την έχει το δείγμα με την προσθήκη χιτοζάνης και εκχυλίσματος από στέμφυλα Αυγουσιτιάτη, κάτι που ίσως μας οδηγεί στο συμπέρασμα πως η χιτοζάνη λειτουργεί συνεργατικά και ενισχυτικά στην ένταση του χρώματος που έχει εκχυλιστεί. Όσο υψηλότερη η τιμή της έντασης, τόσο πιο σκουρόχρωμος εμφανίζεται ο οίνος. Σε όλα τα δείγματα, όμως, οι τιμές είναι σχετικά χαμηλές. Όλα τα δείγματα παρουσιάζουν μεταξύ τους στατιστικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Στο Διάγραμμα 31 καταγράφονται οι τιμές της απόχρωσης του χρώματος που είχαν τα δείγματά μας ανά είδος εκχυλίσματος.



Διάγραμμα 31. Τιμές απόχρωσης ανά είδος εκχυλίσματος(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

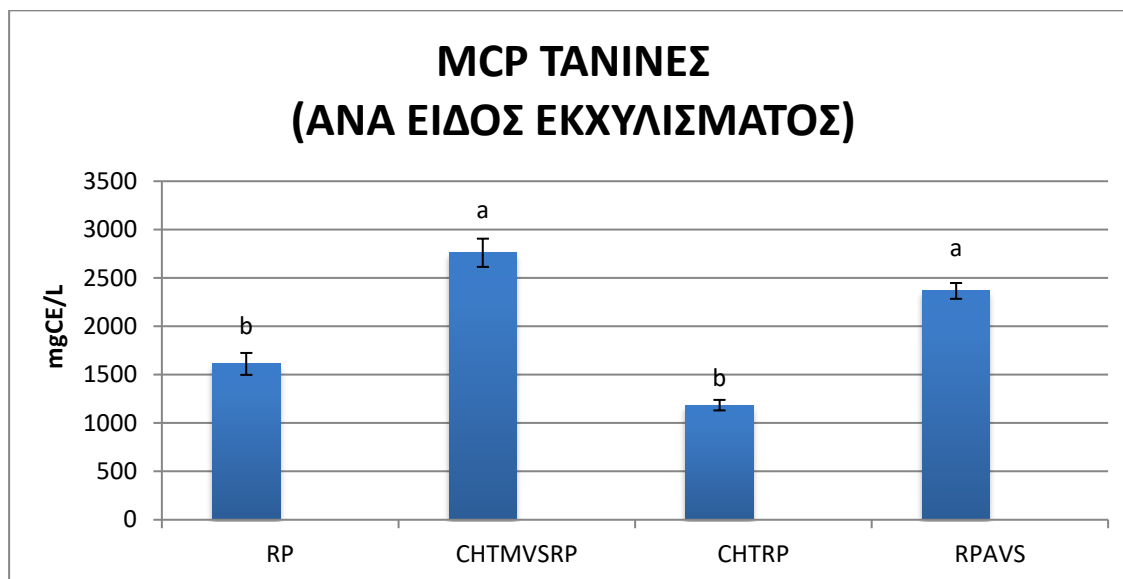
Στο παραπάνω διάγραμμα γίνεται αντιληπτό πως τη μεγαλύτερη τιμή της χρωματικής απόχρωσης κατέχει το δείγμα με την προσθήκη εκχυλίσματος στεμφύλων και βλαστών από την ποικιλία Αυγουσιτιάτης. Συνολικότερα, φαίνεται πως με την προσθήκη των βλαστών και των δύο ποικιλιών η τιμή της απόχρωσης αυξήθηκε αρκετά. Όσο πιο υψηλή η τιμή της απόχρωσης, τόσο πιο χρωματικά εξελιγμένος(καφέτιασμα) εμφανίζεται ο οίνος. Οπότε μπορούμε να θεωρήσουμε πως πιθανά οι βλαστοί να μη συμβάλλουν θετικά στην εξέλιξη του χρώματος του οίνου. Όλα τα δείγματα παρουσιάζουν μεταξύ τους στατιστικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

7.10. ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΑΝΝΙΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΜΕΘΥΛ-ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ(methyl cellulose) (MCP)

Όπως έχει προαναφερθεί, η συγκεκριμένη μέθοδος αποσκοπεί στην καταβύθιση των τανινών με την βοήθεια ενός πολυμερούς, το οποίο είναι η methyl cellulose.

Συλλέγοντας τα αποτελέσματα από το πειραματικό μέρος της έρευνας, διαπιστώνουμε πως όλες οι τιμές στα δείγματα των λευκών κρασιών που έγινε προσθήκη metabisulphite ή χιτοζάνης ή συνδυασμός τους, είναι κάτω από τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου και για το λόγο αυτόν, δεν παρατίθεται αντίστοιχο διάγραμμα.

Στο Διάγραμμα 32, καταγράφονται οι τιμές της συγκέντρωσης των ταννινών MCP που είχαν τα δείγματά μας, ανά είδος εκχυλίσματος.

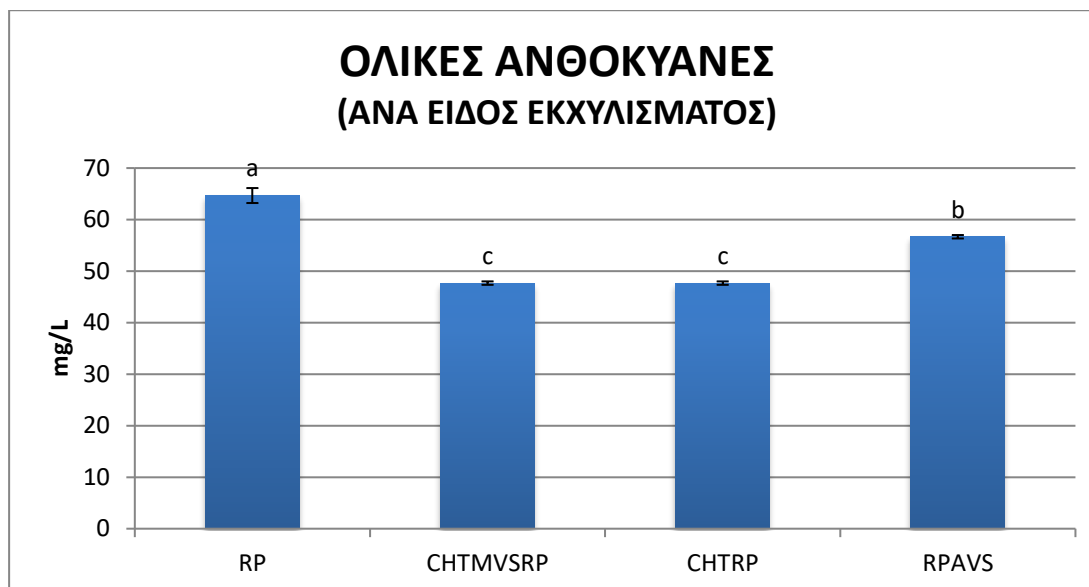


Διάγραμμα 32. Συγκέντρωση ταννινών MCP(mgCE/L) ανά είδος εκχυλίσματος(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Παρατηρώντας το παραπάνω διάγραμμα, διαπιστώνουμε πως η μεγαλύτερη συγκέντρωση ταννινών βρίσκεται, όπως είναι αναμενόμενο στο δείγμα με την προσθήκη χιτοζάνης, το εκχύλισμα από βλαστούς Αυγουσιτιάτη και το εκχύλισμα από στέμφυλα Αυγουσιτιάτη. Το συγκεκριμένο αποτέλεσμα μας προδιαθέτει πως γευστικά αυτό το δείγμα θα είναι το πιο «σκληρό», ενώ το δείγμα με τη χιτοζάνη και το εκχύλισμα στεμφύλων Αυγουσιτιάτη, το πιο «μαλακό». Τα δείγματα παρουσιάζουν ανά ομάδες στατιστική ταύτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

7.11. ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ

Παρακάτω παρατίθεται το διάγραμμα 33 στο οποίο καταγράφεται η συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών στα δείγματα, ανά είδος εκχυλίσματος.



Διάγραμμα 33. Συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών(mg/L) ανά είδος εκχυλίσματος(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p<0,05$).

Βάση των αποτελεσμάτων που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα διαπιστώνεται πως η υψηλότερη συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών βρίσκεται στο δείγμα με την προσθήκη εκχυλίσματος από στέμφυλα Αυγουσιάτη. Οι συγκεντρώσεις συνολικότερα δεν είναι υψηλές. Τα δείγματα CHTMVSRP και CHTRP ταυτίζονται στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, ενώ τα άλλα δυο διαφοροποιούνται.

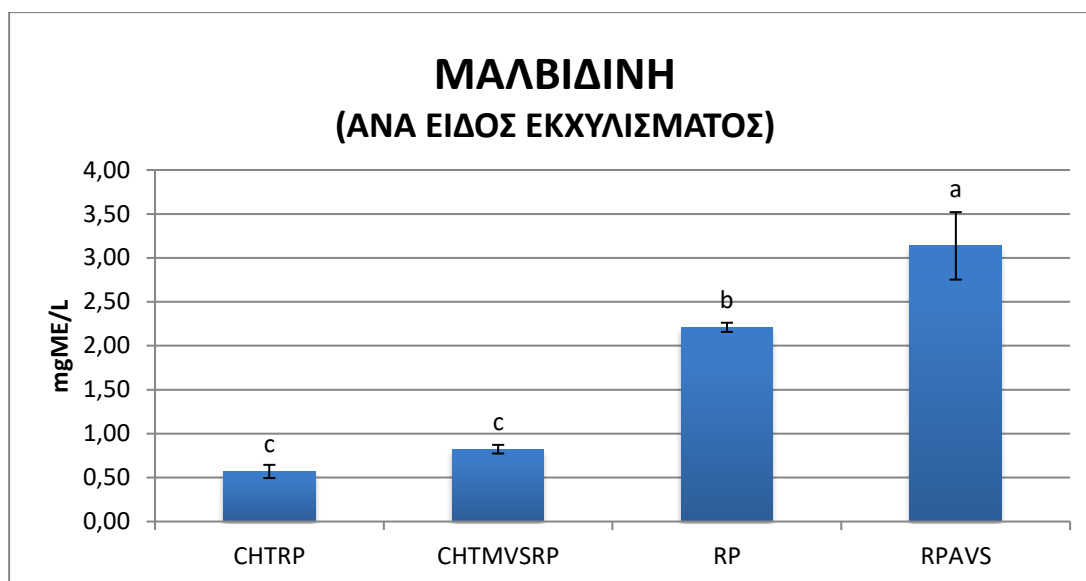
7.12. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΜΕ HPLC

Παρακάτω, στον πίνακα 5, εμφανίζονται οι συγκεντρώσεις των ελεύθερων ανθοκυανών στα δείγματα που αναλύθηκαν, αλλά και οι τυπικές αποκλίσεις.

Πίνακας 5. Οι Μ.Ο. των συγκεντρώσεων των ελεύθερων ανθοκυανών ανά είδος εκχυλίσματος και οι τυπικές τους αποκλίσεις.

Anthocyanins (mgME/L)							
Δείγματα Ερυθρά Ξηρά	DELPHINI DIN	CYANI DIN	PETOUNI DIN	PAEONI DIN	MALVI DIN	MALV ACET.	MALV COYMAR.
RP	0,04	0,04	0,04	0,04	2,21	0,04	0,04
CHTMVSRP	0,04	0,04	0,04	0,04	0,82	0,04	0,78
CHTRP	0,04	0,04	0,04	0,04	0,57	0,04	0,04
RPAVS	0,04	0,04	0,48	0,20	3,14	0,30	1,43
ΤΥΠΙΚΕΣ ΑΠΟΚΛΙΣΕΙΣ	0,000	0,000	0,220	0,080	1,209	0,130	0,670

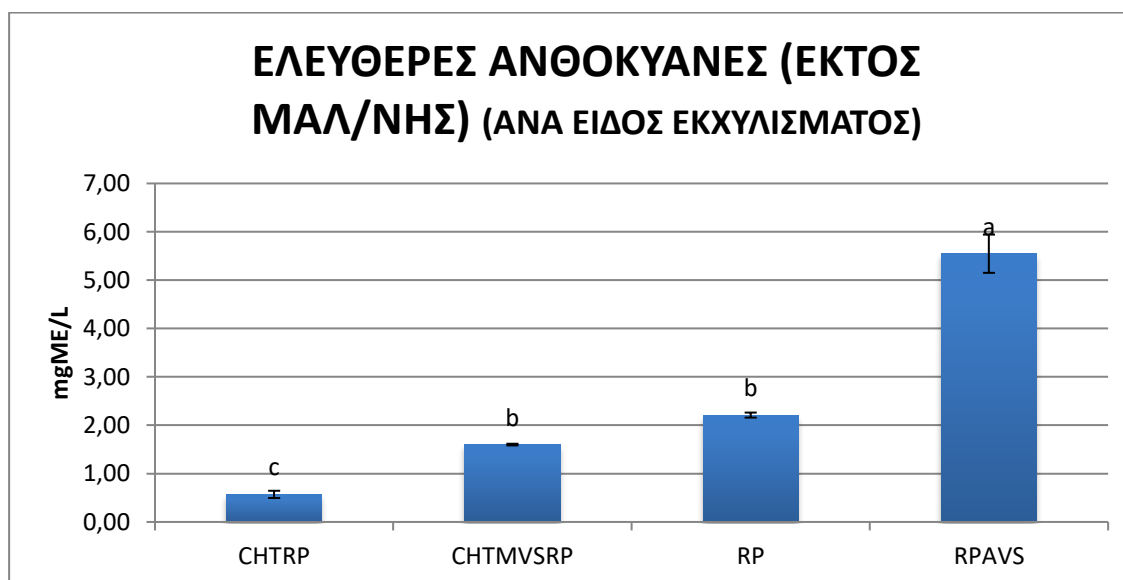
Στο Διάγραμμα 34 καταγράφεται η συγκέντρωση της Μαλβιδίνης ανά είδος εκχυλίσματος.



Διάγραμμα 34. Συγκέντρωση Μαλβιδίνης(mgME/L) ανά είδος εκχυλίσματος(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Τα δείγματα CHTRP και CHTMVSRP ταυτίζονται στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Στο Διάγραμμα 35, καταγράφονται οι συγκεντρώσεις των Ελεύθερων Ανθοκυανών, εκτός της Μαλβιδίνης, ανά είδος εκχυλίσματος.



Διάγραμμα 35. Συγκεντρώσεις Ελεύθερων Ανθοκυανών(mgME/L)-εκτός Μαλβιδίνης-ανά είδος εκχυλίσματος(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$).

Στο διάγραμμα 35, παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις ελεύθερων ανθοκυανών (μονογλυκοζιτών-3) των οίνων εκφρασμένες σε mg μαλβιδίνης ανά λίτρο οίνου. Οι ανθοκυάνες που ταυτοποιήθηκαν είναι: κυανιδίνη, δελφινιδίνη, πετουινιδίνη, παιονιδίνη, μαλβιδίνη, οξικός εστέρας μαλβιδίνης, κουμαρικός εστέρας μαλβιδίνης. Παρατηρούμε ότι υπάρχουν στα δείγματα

συγκεντρώσεις ανάλογες της μαλβιδίνης, που βλέπουμε στο διάγραμμα 34. Τα δείγματα CHTMVRP και RP ταυτίζονται στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, ενώ τα δείγματα με διαφορετικό εκθέτη εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

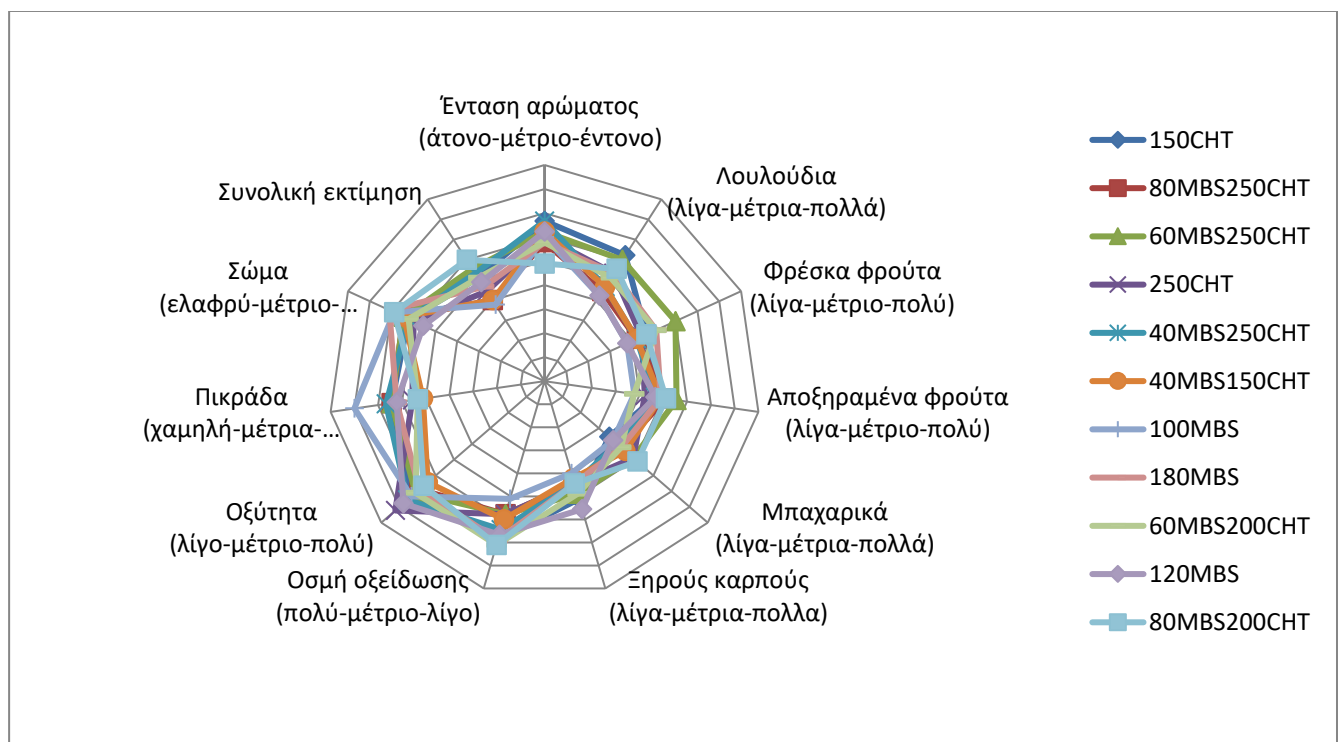
8. ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Στο πλαίσιο του πειραματικού μέρους της διπλωματικής εργασίας έγινε και τυφλή οργανοληπτική αξιολόγηση ορισμένων δειγμάτων, από πάνελ 9 ατόμων.

Τα δείγματα με την προσθήκη χιτοζάνης-metabisulphite είχαν μετονομαστεί ως εξής:

- 394=150CHT,
- 498=80MBS250CHT,
- 677=60MBS250CHT,
- 571=250CHT,
- 227=40MBS250CHT,
- 142=40MBS150CHT,
- 383=100MBS,
- 519=180MBS,
- 301=60MBS200CHT,
- 215=120MBS,
- 180=80MBS200CHT.

Σύμφωνα με το πάνελ που αξιολόγησε τα δείγματα, τα αποτελέσματα διαμορφώθηκαν, όπως αποτυπώνονται στο Διάγραμμα 36, παρακάτω:



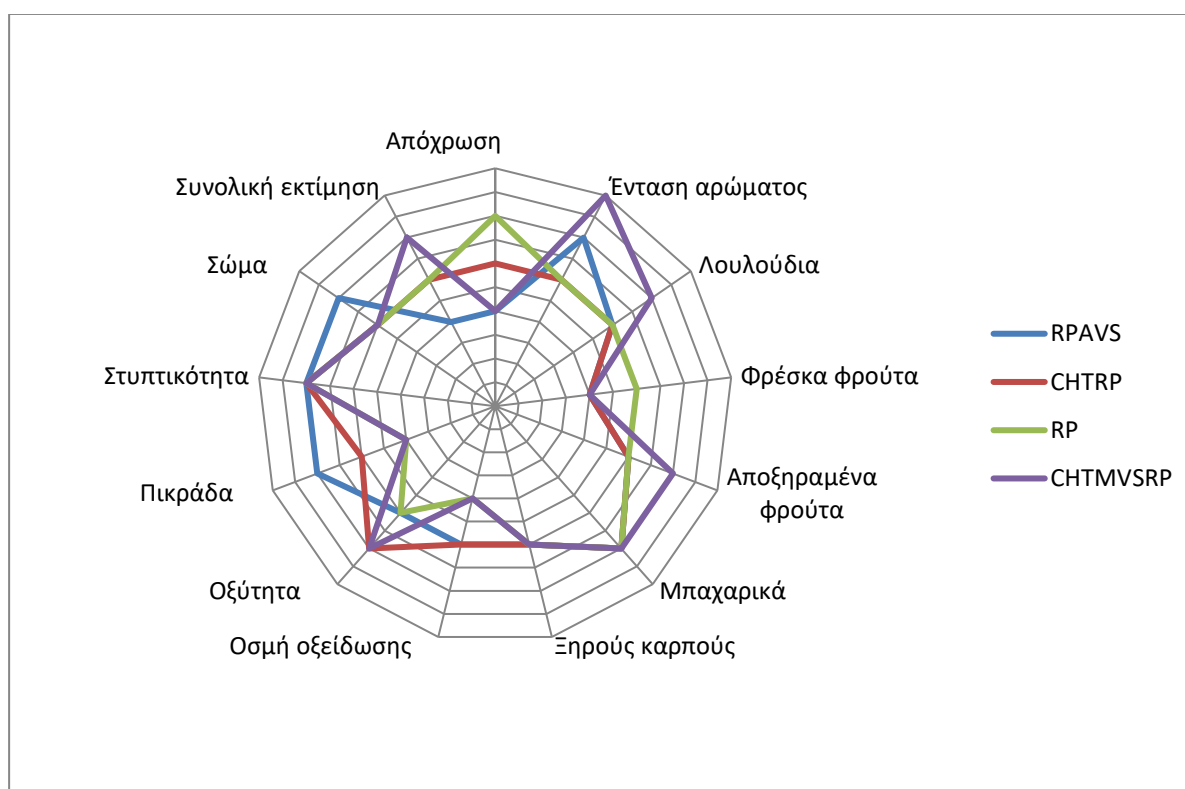
Διάγραμμα 36. Αποτύπωση οργανοληπτικού ελέγχου δειγμάτων με προσθήκη αντιοξειδωτικών

Συνολικότερα, το πάνελ των δοκιμαστών δεν αποτύπωσαν αξιοσημείωτες διαφορές ανάμεσα στα διάφορα δείγματα. Δεν εντοπίστηκαν αξιόλογες διαφορές ανάμεσα στα δείγματα με προσθήκη metabisulphite, χιτοζάνης ή του συνδυασμού τους.

Τα δείγματα με την προσθήκη εκχυλισμάτων είχαν μετονομαστεί ως εξής:

- 782= RPAVS,
- 621= CHTRP,
- 323=RP,
- 548=CHTMVSRP.

Σύμφωνα με το πάνελ που αξιολόγησε τα δείγματα, τα αποτελέσματα διαμορφώθηκαν, όπως αποτυπώνονται στο Διάγραμμα 37, παρακάτω:



Διάγραμμα 37. Αποτύπωση οργανοληπτικού ελέγχου δειγμάτων με προσθήκη εκχυλισμάτων

Συνολικότερα, το πάνελ των δοκιμαστών δεν αποτύπωσαν αξιοσημείωτες διαφορές ανάμεσα στα διάφορα δείγματα. Τα δείγματα με την προσθήκη εκχυλισμάτων αξιολογήθηκαν ως ερυθροί ξηροί οίνοι. Δεν εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα δείγματα με τις διάφορες προσθήκες εκχυλισμάτων, με εξαίρεση το δείγμα που περιείχε χιτοζάνη, εκχύλισμα βλαστών από Μοσχάτο και εκχύλισμα φλοιού σταφυλιού από Αυγουστιάτη, το οποίο ξεχώρισε θετικά, ως προς το αρωματικό του προφίλ.

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα διπλωματική εργασία διερεύνησε τη δυνατότητα αντικατάστασης των θειωδών από τη χιτοζάνη και εκχυλίσματα από υποπροϊόντα της οινοποίησης και του αμπελιού, εξετάζοντας τη συνολική αντιοξειδωτική τους ικανότητα και την επίδρασή τους στη διατήρηση των οίνων. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι οι φυσικές αυτές ουσίες, παρουσιάζουν σημαντικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες, οι οποίες θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν για τη μείωση ή την αντικατάσταση των θειωδών στους οίνους.

Ειδικότερα, η χιτοζάνη αναδείχθηκε ως μια πολλά υποσχόμενη φυσική εναλλακτική λύση έναντι του θειώδους ανυδρίτη, για την οινοποίηση. Έδειξε ικανότητα στη μείωση της οξείδωσης στον οίνο, βέβαια όχι ανάλογη με του θειώδους ανυδρίτη αλλά επαρκή, διατηρώντας ταυτόχρονα τη σταθερότητα των φαινολικών ενώσεων και το χρώμα του προϊόντος. Παράλληλα, δεν παρατηρήθηκαν αρνητικές επιδράσεις στις οργανοληπτικές ιδιότητες του οίνου, όπως το άρωμα και η γεύση. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι η χιτοζάνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για την παραγωγή οίνων με μειωμένα πρόσθετα εν δυνάμει αλλεργιογόνα, διατηρώντας την ποιότητα, την αντοχή και την σταθερότητα του προϊόντος. Ωστόσο, για την πλήρη αξιοποίηση των δυνατοτήτων της χιτοζάνης, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τη βελτιστοποίηση της χρήσης της και την κατανόηση της μακροπρόθεσμης επίδρασής της στον οίνο.

Κατά τη διάρκεια της μελέτης αξιολογήθηκε, επίσης, η αποτελεσματικότητα των εκχυλισμάτων από υποπροϊόντα της οινοποίησης και της αμπέλου, ως αντιοξειδωτικά, στη διατήρηση της ποιότητας του οίνου. Είχαμε θετικά αποτελέσματα και με αυτές τις προσθήκες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα εκχυλίσματα, κυρίως από στέμφυλα και βλαστούς αμπέλου, έχουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση, συμβάλλοντας στη μείωση της οξείδωσης και στη σταθεροποίηση των φαινολικών ενώσεων στον οίνο. Φαίνεται πως υπάρχει αντιοξειδωτική ικανότητα, ξεχωρίζοντας θετικά το δείγμα που περιείχε χιτοζάνη, εκχύλισμα βλαστών από Μοσχάτο και εκχύλισμα φλοιού σταφυλιού από Αυγουστιάτη. Παρά τα ενθαρρυντικά αυτά αποτελέσματα, συνιστάται περαιτέρω έρευνα για να διασαφηνιστεί ο βέλτιστος τρόπος χρήσης αυτών των εκχυλισμάτων και να αξιολογηθεί η μακροχρόνια επίδρασή τους στην ποιότητα του οίνου.

Ταυτόχρονα, παρατηρούμε πως η συνεργατική δράση των εκχυλισμάτων αυτών με τη χιτοζάνη έδειξε να μειώνει την ανάγκη για προσθήκη θειώδη ανυδρίτη (SO_2), ενώ παράλληλα διατηρεί τη συνολική ποιότητα του οίνου. Αυτό υποδηλώνει ότι τα εκχυλίσματα από στέμφυλα και βλαστούς αμπέλου δεν είναι μόνο μια βιώσιμη λύση για τη μείωση των αποβλήτων από την οινοποίηση αλλά και ένας πολύτιμος πόρος για τη βελτίωση της σταθερότητας και της ποιότητας του οίνου.

Συνολικότερα, μπορούμε να εξάγουμε το συμπέρασμα πως το metabisulphite είναι αποτελεσματικότερο στην αντιοξειδωτική προστασία των οίνων αλλά και στη συντήρηση αυτών, έστω και σε αυτές τις ελάχιστες ποσότητες προσθήκης, συγκριτικά με τη χιτοζάνη ή τα εκχυλίσματα. Το συμπέρασμα αυτό, όμως, δε θα πρέπει να δημιουργήσει την οποιαδήποτε υποτίμηση για τα πολύ σημαντικά συμπεράσματα που εξάγουμε με την προσθήκη των αντιοξειδωτικών στα διάφορα δείγματα και την αποτελεσματικότητά τους. Παρατηρείται, πως η χιτοζάνη έχει περιθώρια αξιοποίησής της μόνη της, αλλά ακόμα καλύτερα αξιοποιείται όταν λειτουργεί συνεργατικά με το θειώδες.

Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη πριν εξεταστεί η εμπορική εφαρμογή ουσιών προστιθέμενης αξίας, όπως υποπροϊόντα του σταφυλίου και της αμπέλου, αλλά και φυσικών αντιοξειδωτικών, όπως είναι η χιτοζάνη. Θα ήταν ιδιαίτερα σημαντικό να εντατικοποιηθεί η έρευνα σχετικά με τα φυσικά αντιοξειδωτικά στους οίνους και η έρευνα σχετικά με την προσθήκη χιτοζάνης, με σκοπό έστω τη μείωση προσθήκης του θειώδη ανυδρίτη. Επιβεβαιώνοντας την αποτελεσματικότητα άλλων αντιοξειδωτικών ακόμα και προερχόμενα από υποπροϊόντα της ίδιας της αμπέλου και του σταφυλίου, δίνεται η ευκαιρία για δημιουργία νέων ειδών οίνων ή βελτίωση των σύγχρονων προϊόντων με υπεροχή στην περαιτέρω προστασία της υγείας των καταναλωτών. Φαίνεται πως τα διάφορα φυσικά αντιοξειδωτικά που εξετάστηκαν θα μπορούσαν να αποτελέσουν αντικείμενο σχεδιασμού μείγματος για τη σύνθεση νέων, εμπλουτισμένων οίνων, με αυξημένη αντιοξειδωτική δράση.

10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- A Scalbert, J. I. (2005). *Polyphenols: antioxidants and beyond*,. The American Journal Nutrition.
- A. Baliska- Ramisz, W. P. (2005). *Antibacterial and antifungal activity of chitosan*. ISAH-Warsaw, Poland 1-3.
- *Alcoholic Strength by Volume (Method OIV-MA-AS312-01B), Condendum of International Methods of Wine and Must Analysis*. International Organisation of Vine and Wine. (2016)
- Amin, R., Kunaparaju, N., Kumar, S., Taldone, T., Barletta, M., & Zito, S. (2013). Structure Elucidation and Inhibitory Effects on Human Platelet Aggregation of Chlorogenic Acid from *Wrightia Tinctoria*. . Στο *J. Complement. Integr. Med.* (σσ. 10, 97–104).
- Andrade, R., Machado, B., Barreto, G., Nascimento, R., Corrêa, L., Leal, I., και συν. (Biology 2021). M.A. Syrah Grape Skin Residues Has Potential as Source of Antioxidant and Anti-Microbial Bioactive Compounds.
- Ashby J., T. H. (1999). *Partial and weak oestrogenicity of the red wine constituent resveratrol: consideration of its superagonist activity in MCF-7 cells and its suggested cardiovascular protective effects*. Journal of Applied Toxicology, 39-45.
- B. Halliwell., & G. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA.
- Bakshi, A., Chhabra, S., & Kaur, R. (2020). Consumers' Attitudes Toward Functional Foods: A Review. Curr. Top. Nutraceutical Res. , .
- Biancalana, A. (2006). *Making Wine: Sulfur Dioxide*, . Internet magazine Di Wine Taste, 11.
- Bomfim, G., Musial, D., Miranda-Ferreira, R., Nascimento, S., Jurkiewicz, A., Jurkiewicz, N., και συν.
- C.S. Ough. (1992). *Winemaking Basics*. Food Products Press, U.S.A.,101-103, 190, 275-277.
- Cho, H.-J., Kang, H.-J., Kim, Y.-J., Lee, D.-H., Kwon, H.-W., Kim, Y.-Y., και συν. (2012). Inhibition of Platelet Aggregation by Chlorogenic Acid via CAMP and CGMP-Dependent Manner. . Στο *Blood Coagul Fibrinolysis* (σσ. 23, 629–635).
- Cleophas TJ., 1. (1999). *Wine, beer and spirits and the risk of myocardial infarction: a systematic review*. Biomedicine and pharmacotherapy, 417-423.
- Costa, A. B.-F. (2008). Στο *Evaluation of the inhibitory effect of dimethyl dicarbonate (DMDC) against wine microorganisms*. Food microbiology (σσ. 422-427).

- Curko, N., Kelšin, K., Dragović-Uzelac, V., Valinger, D., Tomašević, M., & Kovačević Ganič, K. (2019). Microwave-Assisted Extraction of Different Groups of Phenolic Compounds from Grape Skin Pomaces: Modeling and Optimization. *Polish J. Food Nutr. Sci.* (σσ. 69, 235–246).
- De Costa, G., Ognibene, D., Da Costa, C., Teixeira, M., Da Silva Cristino Cordeiro, V., De Bem, G., και συν. (2020). R.S. *Vitis vinifera* L. Grape Skin Extract Prevents Development of Hypertension and Altered Lipid Profile in Spontaneously Hypertensive Rats: Role of Oxidative Stress. *Prev. Nutr. Food Sci.* (σσ. 25, 25–31.).
- Demopoulos, C., Karantonis, H., & Antonopoulou. (2003). S. Platelet Activating Factor - A Molecular Link between Atherosclerosis Theories. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* .
- D-H Ngo, K. S.-K. (2014). *Antioxidant Effects of Chitin, Chitosan, and Their Derivatives*. *Advances in Food and Nutrition Research*.
- Di Stefano, V., Buzzanca, C., Melilli, M., Indelicato, S., Mauro, M., Vazzana, M., και συν. (2022). Polyphenol Characterization and Antioxidant Activity of Grape Seeds and Skins from Sicily: A Preliminary Study . *Sustainability* (σσ. 14, 6702).
- Dorry, M. E. (2012). *Wine Making in Egypt*.
- Du, Y., Li, X., Xiong, X., Cai, X., Ren, X., & Kong. (2021). An Investigation on Polyphenol Composition and Content in Skin of Grape (*Vitis vinifera* L. Cv. Hutai No.8) Fruit during Ripening by UHPLC-MS2 Technology Combined with Multivariate Statistical Analysis. *Food Biosci.* (σσ. 43, 101276).
- E. Wilkes. (2018). *Practical measurements of total SO2 in wine*. . South Australia: Wine & Viticulture Journal .
- Erälinna, L., & Szymoniuk, B. (2021). Managing a Circular Food System in Sustainable Urban Farming. Experimental Research at the Turku University Campus (Finland). . *Sustainability* (σσ. 13, 6231.).
- F. Shahidi, & Z. (2010). *Lipid oxidation and improving the oxidative stability*. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4067-4079.
- Felice, F., Zambito, Y., Di Colo, G., D'Onofrio, C., Fausto, C., Balbarini, A., και συν. (2012,). R. Red Grape Skin and Seeds Polyphenols: Evidence of Their Protective Effects on Endothelial Progenitor Cells and Improvement of Their Intestinal Absorption. *Eur. J. Pharm. Biopharm* [CrossRef].
- Fernández-Fernández, A., Dellacassa, E., Nardin, T., Larcher, R., Ibañez, C., Terán, D., και συν. (2022). Tannat Grape Skin: A Feasible Ingredient for the Formulation of Snacks with Potential for Reducing the Risk of Diabetes. *Nutrients* .
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAOSTAT. (n.d.). Ανάκτηση 10 September 2022, από <https://www.fao.org/statistics/en/> .
- Forester S.C., W. A. (2009). *Metabolites Are Key To Understanding Health Effects of wine Polyphenolics*. *The journal of nutrition*.
- Fragopoulou, E., Petsini, F., Choleva, M., Detopoulou, M., S Arvaniti, O., Kallinikou, E., και συν. (2020). Evaluation of Anti-Inflammatory, Anti-Platelet and Anti-Oxidant Activity of Wine Extracts Prepared from Ten Different Grape Varieties. . *Molecules* (σσ. 25, 5054).
- Freedman, B. (1980). *Sulfur dioxide in foods and beverages: its use as a preservative and its effect on asthma*. *British Journal of Diseases of the Chest*.
- Fuhrman, B., Volkova, N., Suraski, A., & Aviram, M. (2001). White Wine with Red Wine-like Properties: Increased Extraction of Grape Skin Polyphenols Improves the Antioxidant Capacity of the Derived White Wine. *J. Agric. Food Chem.* (σσ. 49, 3164–3168).
- GLOSSARYCHEMISTRY. (n.d.). *CHEMISTRY GLOSSARY* . Ανάκτηση από <https://glossary.periodni.com/glossary.php?page=4&en=glikozidna+veza>.
- Goode, J. (2005). *The Science of Wine: From Vine to Glass*, . University of California .
- Goode, J. (2005). *The Science of Wine: From Vine to Glass*, University of California Press, 1,.
- Gorrasi, G., Viscusi, G., Gerardi, C., Lamberti, E., & Giovino. (2022). G. Physicochemical and Antioxidant Properties of White (Fiano Cv) and Red (Negroamaro Cv) Grape Pomace Skin Based Films. *J. Polym. Environ.* .
- Hasenberg, L. (2008). *Sulfur Dioxide*,. *DECHEMS e.V.*, 6-9 .

- He Xin, Y. W. (2011). *Resveratrol enhances the anti-tumor activity of the mTOR inhibitor rapamycin in multiple breast cancer cell lines mainly by suppressing rapamycin-induced AKT signaling.*
- He, X., Guo, X., Ma, Z., Li, Y., Kang, J., Zhang, G., και συν. (2021). Grape Seed Proanthocyanidins Protect PC12 Cells from Hydrogen Peroxide-Induced Damage via the PI3K/AKT Signaling Pathway. Στο *Neurosci. Lett* (σσ. 750, 135793).
- Henderson, P. (2009). *Sulfur Dioxide, Science behind this anti-microbial, anti-oxidant, wine additive, Practical Winery & Vineyard Journal, Winter Edition, 1-6. . Winter Edition, 1-6. .*
- Jackson R.S., J. (2008). *Wine Science: Principles and Applications, 3rd edition.* San Diego: Academy Press, 312-315, 449-464, 491.
- Karaman, H., Küskü, D., & Söylemezog˘lu, G. (2021). Phenolic Compounds and Antioxidant Capacities in Grape Berry Skin, Seed and Stems of Six Wine Grape Varieties Grown in Turkey. Στο *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* (σσ. 20, 15–25).
- Katalinic˘, V., Mořina, S., Skroza, D., Generalic˘, I., Abramovic˘, H., Miloř, M., και συν. (2010). Polyphenolic Profile, Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity of Grape Skin Extracts of 14 Vitis vinifera Varieties Grown in Dalmatia (Croatia). . Στο *Food Chem.* (σσ. 119, 715–723).
- Krzyzanowski Guerra, K., Hanks, A., Plakias, Z., Huser, S., Redfern, T., & Garner, J. (2021). Local Value Chain Models of Healthy Food Access: A Qualitative Study of Two Approaches. . Στο *Nutrients* (σσ. 13, 4145).
- Kumar, M. N. (2000). *A review of chitin and chitosan applications.* . Reactive and Functional Polymers, 46(1), 1-27.
- Kurita, K. (2001). *Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. ;26(9):1921-1971.* Prog Polym Sci. 2001.
- L. Brown, K. P. (2009). *The biological responses to Resveratrol and other polyphenols from alcoholic beverages .*
- L. Li, S. B. (2019). *Grape and wine polymeric polyphenols: Their importance in enology.* Crit Rev Food Sci Nutr, 563-579.
- L.E. Donnelly, N. R. (2004). *Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular mechanisms.* American Journal of Physiology.
- Lage, S. (2012). *Químicos de Aveiro produzem vinho para intolerantes a sulfitos, .* Jornal de Gencia.
- M. López., M. F. (2003). *Study of phenolic compounds as natural antioxidants by fluorescence method.* Talanta.
- M. Yen, M. T. (2008). *Antioxidant properties of chitosan from crab shells. .* Carbohydrate Polymers, 74(4), 840-844.
- Mariutti, L., Rebelo, K., Bisconsin-Junior, A., de Moraes, J., Magnani, M., Maldonade, I., και συν. (2021). The Use of Alternative Food Sources to Improve Health and Guarantee Access and Food Intake. Στο *Food Res. Int.* (σσ. 149, 110709).
- Method OIV-MA-AS313-02), I. O. (2016). *Volatile Acidity). In “Compendium of International Methods of wine and must analysis.*
- Milinc˘ic˘, D., Stanisavljevic˘, N., Kostic˘, A., Sokovic˘ Bajic˘, S., Kojic˘, M., Gařic˘, U., και συν. (2021). Phenolic Compounds and Biopotential of Grape Pomace Extracts from Prokupac Red Grape Variety. Στο *LWT* (σσ. 138, 110739).
- Mokrani, M., Charradi, K., Limam, F., Aouani, E., & Urdaci. (2022). M.C. Grape Seed and Skin Extract, a Potential Prebiotic with Anti-Obesity Effect through Gut Microbiota Modulation. Gut Pathog. .
- Morré, D., & Morré, D. (2006). Anticancer Activity of Grape and Grape Skin Extracts Alone and Combined with Green Tea Infusions. Cancer Lett.
- N Monjotin, A. M. (2022). *Clinical Evidence of the Benefits of Phytonutrients in Human Healthcare.* Nutrients.
- Nomikos, T., Fragopoulou, E., & Antonopoulou. (2007). S. Food Ingredients and Lipid Mediators. Curr. Nutr. Food Sci. .

- Oakden, L., Bridge, G., Armstrong, B., Reynolds, C., Wang, C., Panzone, L., και συν. (2021). The Importance of Citizen Scientists in the Move Towards Sustainable Diets and a Sustainable Food System . Στο *Front. Sustain. Food Syst.* (σσ. 5, 596594).
- Oueslati, N., Charradi, K., Bedhiafi, T., Limam, F., & Aouani. (2016). E. Protective Effect of Grape Seed and Skin Extract against DiabetesInduced Oxidative Stress and Renal Dysfunction in Virgin and Pregnant Rat. *Biomed. Pharmacother.*
- Ough, C. a. (1987). Use of sulfur dioxide in winemaking. Στο *Journal of Food Science* (σσ. 386-388).
- Pajovic, R., Božinovic, Z., & Petkov, M. . “*Uticaj SO2 na sadržaj bojenih materija i kvalitet vina Vranac*”, “XXI Naučno-stručna konferencija poljoprivrede i prehrambene industrije. 2010: Zbornik radova, Bosnia i Hercegovina, 29 (11): 813-823.
- PharmaNutrition, R. A. (2019).
- Plasek, B., & Temesi, Á. (2019). The Credibility of the Effects of Functional Food Products and Consumers’ Willingness to Purchase/Willingness to Pay—Review. *Appetite* .
- R Pajovic, R., Božinovic, Z., & Petkov. “*Uticaj SO2 na sadržaj bojenih materija i kvalitet vina Vranac*”, “XXI Naučno-stručna konferencija poljoprivrede i prehrambene industrije. . 2010: Zbornik radova, Bosnia i Hercegovina, 29 (11): 813-823.
- R.B.Boulton, V. S. (1998). *Principles and Practices of Winemaking*. Chapman & Hall, New York.
- RC Goy, D. B. (2009). *A review of the antimicrobial activity of chitosan*, 241-247. Assis OBG Polimeros .
- Ribéreau – Gayon P., D. D. (2006). *Handbook of Enology, The microbiology of wine and vinifications*.
- Rinaudo, M. (2006). *Chitin and chitosan: Properties and applications*. . Prog Polym Sci.
- Rinaudo, M. (2006). *Chitin and chitosan: Properties and applications*. . Prog Polym Science.
- S Islam, B. M. (2017). *Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications in Biomedical Engineering*. J Polym Environ.
- S. Kallithraka, A. I.-Z. (2001). *Instrumental and sensory analysis of Greek wines: implementation of principal component analysis (PCA) for classification according to geographical origin*. Food chem 73, 501-514.
- S. Kallithraka, M. A. (2005). Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, , σσ. 375-386.
- Scollary, G. (2012). *Views grapevine: SO2: a valuable vine component*. Chemistry in Australia: 38,39.
- Serea, D., Horincar, G., Constantin, O., Aprodu, I., Stănciuc, N., Bahrim, G., και συν. (2022). Value-Added White Beer: Influence of Red Grape Skin Extract on the Chemical Composition, Sensory and Antioxidant Properties. Στο *Sustainability* (σσ. 14, 9040).
- Serea, D., Râpeanu, G., Constantin, O., Bahrim, G., Stănciuc, N., & Croitoru. (2021). C. Ultrasound and Enzymatic Assisted Extractions of Bioactive Compounds Found in Red Grape Skins Băbească Neagră (*Vitis vinifera*) Variety. *Ann. Univ. Dunarea Jos Galati Fascicle VI Food Technol.*
- Soares De Moura, R., Da Costa, G., Moreira, A., Queiroz, E., Moreira, D., Garcia-Souza, E., και συν. (2012,). M.T. *Vitis vinifera* L. Grape Skin Extract Activates the Insulin-Signalling Cascade and Reduces Hyperglycaemia in Alloxan-Induced Diabetic Mice. *J. Pharm. Pharmacol.* .
- Sochorova, L., Prusova, B., Cebova, M., Jurikova, T., Mlcek, J., Adamkova, A., και συν. (2020). Health Effects of Grape Seed and Skin Extracts and Their Influence on Biochemical Markers. *Molecules* .
- Topolska, K., Florkiewicz, A., & Filipiak-Florkiewicz, A. (2021). Functional Food—Consumer Motivations and Expectations. *Int. J. Environ. Res. Public Health*.
- Vally, H. M. (2009). Στο *Clinical effects of sulphite additives. Clinical & Experimental Allergy* (σσ. 1643-1651).
- Vlachos, 2. (2017). V.A. *A Macroeconomic Estimation of Wine Production in Greece. Wine Econ. Policy*, 6, 3–13. .

- Wang, Z., Huang, Y., Zou, J., Cao, K., Xu, Y., & Wu, J. (2002). Effects of Red Wine and Wine Polyphenol Resveratrol on Platelet Aggregation in Vivo and in Vitro. Στο *Int. J. Mol. Med.* (σσ. 9, 77–79).
- Xu, Y., Sismour, E., Abraha-Eyob, Z., McKinney, A., & Jackson, S. (2021). Physicochemical, Microstructural, and Antioxidant Properties of Skins from Pomaces of Five Virginia-Grown Grape Varieties and Their Response to High Hydrostatic Pressure Processing. J. . Στο *Food Meas. Charact.* (σσ. 15, 5547–5555).
- Zhang, Y., Wang, X., Lu, B., Gao, Y., Zhang, Y., Li, Y., και συν. (2022). Functional and Binding Studies of Gallic Acid Showing Platelet Aggregation Inhibitory Effect as a Thrombin Inhibitor. Στο *Chinese Herb. Med.* (σσ. 14, 303–309).
- A.M. Milat, B. M.-P.-M.-P. (2019). *Effects of oxidation and browning of macerated white wine on its antioxidant and direct vasodilatory.* J. Functional Foods, 59, 138-141.
- M. Kumar, E. S. (2000). *Reactive & Functional Polymers.*
- M. Santos, N. C. (2012). *Chemical and physical methodologies for the replacement of sulfur dioxide.* European food research & Technology.
- M.Rinaudo. (2006). *Chitin and chitosan: Properties and applications.* Progress in Polymer Science, 603-632.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βασιλείου, Μ. (1981). *Επίδραση του βαθμού θειώσεως του γλεύκους.*
- Βερεσόγλου, Δ. (2010). *Οικολογία* . γ' έκδοση, Εκδόσεις Διονύσιος Σ. Γαρταγάνης, 260 σελ. .
- Γ. Κοτσερίδης, & Π. (2020). *Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογία Ι.* Αθήνα: Πανεπιστημιακές Σημειώσεις Εργαστηρίου Οινολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο.
- Γ. Κοτσερίδης, Κ. Σ. (2017). *Εργαστηριακές ασκήσεις Οινολογία ΙΙ, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις Εργαστηρίου Οινολογίας.* Αθήνα: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Δραγώνα, Κ. . (1998). *EST laboratories.* επανέκδοση 2011.
- Κουράκου, Σ. Δ. (1998). *Θέματα Οινολογίας, Επιστήμη και τεχνολογία στο τομέα της οινοποιητικής τεχνικής.*
- Ν. Καρακασίδης. *ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ,* . Αθήνα: Εκδόσεις ΙΩΝ.
- Τσέτουρας, Π. (2008). *Οινολογία-Η επιστήμη του κρασιού στην πράξη ISO 22000,* . Β' έκδοση, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης.

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- <https://www.allergy.org.au/patients/otherallergy/sulfite-allergy>
- <https://www.healthline.com/health/allergies/sulfa-sulfite#sulfite-allergy>
- <http://www.naturopataonline.org/articoli/32-inquinamento-e-salute/685-e220-e221-e222-e223-e226-e228-sono-additivi-conservanti-conosciuti-come-solfiti-anidridesolforosa-cosa-sono-in-quali-alimenti-si-trovano-e>