

# Διαφάνειες Παραδόσεων Οινολογίας 2015-16

## 13. Ανάλυση οίνου

### Πρόλογος

**Οι διαφάνειες παραδόσεων – σημειώσεις είναι υπό επεξεργασία.**

**Υπάρχουν οι παρακάτω ενότητες**

1. Οίνος και Ελληνικός πολιτισμός
2. Κατηγορίες και τύποι κρασιών. Οίνοι στον κόσμο
3. Το σταφύλι. Σύσταση γλεύκους
4. Επισκόπηση οινοποιήσεων
5. Επισκόπηση κατεργασιών οίνου
6. Ο θειώδης ανυδρίτης
7. Ζυμομύκητες γλεύκους και οίνου. Αλκοολική ζύμωση
8. Βακτήρια γλεύκους και οίνου. Μηλογαλακτική ζύμωση
9. Μικροβιακές αλλοιώσεις οίνου
10. Ένζυμα στην οινοποίηση
11. Σύσταση οίνου
12. Οξείδωση οίνου
13. Ανάλυση οίνου
14. Οργανοληπτική εξέταση οίνου
15. Οίνος και υγεία

**Ιωάννης Ρούσσης**

# ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΟΥ



## ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΛΕΥΚΟΥΣ

**Προσδιορισμός σακχάρων γλεύκους:** Προσδιορίζονται με οξείδωση των αναγόντων σακχάρων από το φελίγγειο υγρό, κυρίως με τη μέθοδο Lane-Eynon. Επίσης, προσδιορίζονται με μέτρηση του δείκτη διάθλασης με διαθλασίμετρο, όπως και με μέτρηση του ειδικού βάρους με αραιόμετρο.

**Προσδιορισμός οξύτητας γλεύκους:** Η ογκομετρούμενη οξύτητα προσδιορίζεται με ογκομέτρηση με καυστικό νάτριο και δείκτη κυανού της βρωμοφαινόλης ή φαινολοφθαλείνη.

**Η πυκνότητα** προσδιορίζεται με αραιόμετρα και με λήκυθο.

**Ο προσδιορισμός φαινολικών συστατικών** του γλεύκους γίνεται με τη μέθοδο Folin.

# ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΟΥ

## ΑΛΚΟΟΛΕΣ

### Προσδιορισμός αιθυλικής αλκοόλης

#### **Μέθοδος με το βρασίμετρο Dujardin-Salleron.**

Στη μέθοδο αυτή γίνεται υπολογισμός της θερμοκρασίας βρασμού. Το νερό βράζει στους 100 οC σε ατμοσφαιρική πίεση, και η απόλυτη αλκοόλη στους 78,4 οC. Επομένως, το σημείο ζέσεως ενός μίγματος νερού-αλκοόλης εξαρτάται από την αναλογία νερού-αλκοόλης, δηλαδή τους αλκοολικούς βαθμούς.

#### **Μέθοδος απόσταξης και μέτρησης του ειδικού βάρους.**

Το ειδικό βάρος μίγματος νερού-αλκοόλης εξαρτάται από τη συγκέντρωση της αλκοόλης. Γίνεται απόσταξη, γίνεται συγκέντρωση στον αρχικό όγκο και μετράται το ειδικό βάρος με αραιόμετρο. Χρησιμοποιούνται αλκοολόμετρα, ειδικά αραιόμετρα βαθμολογημένα σε % Vol.

## Προσδιορισμός άλλων αλκοολών

**Μεθανόλη:** οξειδώνεται προς φορμαλδεύδη με υπερμαγγανικά ιόντα σε όξινο περιβάλλον, και η φορμαλδεύδη προσδιορίζεται με το αντιδραστήριο Schiff.

**Ανώτερες αλκοόλες:** ως σύνολο προσδιορίζονται με αντιδράσεις συμπύκνωσης με π-διμεθυλαμινο-βενζαλδεύδη.

Με αέρια χρωματογραφία προσδιορίζεται η κάθε μία ανώτερη αλκοόλη.

**Γλυκερόλη:** γίνεται με πολλές μεθόδους όπως φθορισμομετρική, ογκομετρική, χρωματομετρική, αεροχρωματογραφική.

Με τη φθορισμομετρική, που είναι εξειδικευμένη μέθοδος, η γλυκερόλη οξειδώνεται με υπεριοδικά προς φορμαλδεύδη, που με 2,4-πεντανοδιόνη και αμμωνία δίνει τη φθορίζουσα 1,2-διακετυλ-1,4-διυδρολουτιδίνη.

**Σορβιτόλη:** ανώτερη πολυαλκοόλη (εξόλη) που είναι δείκτης ανάμειξης του οίνου με μηλίτη.

**Μανιτόλη:** ισομερές της σορβιτόλης, και είναι προϊόν βακτηριακής μετατροπής της φρουκτόζης σε υψηλή θερμοκρασία, και είναι δείκτης αλλοίωσης του οίνου.

**Σορβιτόλη και μανιτόλη προσδιορίζονται ενζυμικά μετά από διαχωρισμό με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.**

**Ινοσιτόλη:** είναι κυκλική αλκοόλη, παράγοντας ανάπτυξης της ζύμης και προϊόν των ζυμομυκήτων κατά τη ζύμωση. Προσδιορίζεται με χημικές, ενζυμικές, μικροβιολογικές και αεριοχρωματογραφικές μεθόδους.

## **ΣΑΚΧΑΡΑ**

**Για τον προσδιορισμό των αναγόντων σακχάρων γίνεται διαύγαση και ακολουθεί οξείδωσή τους από το δισθενή χαλκό (φελίγγειο υγρό).**

**Η διαύγαση (αποχρωματισμός) των ερυθρών οίνων γίνεται με βασικό οξικό μόλυβδο, και των λευκών και ελαφρά χρωματισμένων με σιδηροκυανιούχο ψευδάργυρο.**

**Οι μέθοδοι προσδιορισμού Lane-Eynon και Shcoorl-Regenbogen στηρίζονται στην οξείδωση των αναγόντων σακχάρων από τον δισθενή χαλκό (φελίγγειο υγρό) προς μίγμα οξέων.**

**Ο προσδιορισμός των σακχάρων μπορεί επίσης να γίνει με πολωσιμετρία, φασματοφωτομετρία, διαθλασιμετρία, αέρια χρωματογραφία, υγρή χρωματογραφία, και ενζυμικές μεθόδους.**

## ΟΞΥΤΗΤΑ ΚΑΙ ΟΞΕΑ

**Ολική η ογκομετρούμενη οξύτητα:** το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων, που είναι σε διάσταση είτε όχι, προσδιορίζεται με ογκομέτρηση με βάση.

**Ενεργός οξύτητα:** το σύνολο των καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και αντιστοιχεί στο σύνολο των ιόντων υδρογόνου, προσδιορίζεται με πεχάμετρο.

**Πτητική οξύτητα:** το σύνολο των οξέων της σειράς του οξικού οξέος που βρίσκονται ελεύθερα ή δεσμευμένα. Για τον προσδιορισμό γίνεται απόσταξη με υδρατμούς και ογκομέτρηση με βάση.

Με χρωματογραφία χάρτου γίνεται διαχωρισμός του τρυγικού οξέος (κάτω μέρος χρωματογραφήματος), του μηλικού οξέος (υψηλότερα από το τρυγικό), και του γαλακτικού και ηλεκτρικού οξέος (στο πάνω μέρος του χρωματογραφήματος).

**Τρυγικό οξύ:** μπορεί να προσδιοριστεί με καταβύθιση και στη συνέχεια σταθμικά ή ογκομετρικά με βάση.

Τα οξέα γενικά προσδιορίζονται συνήθως με διάφορες χρωματομετρικές ή χρωματογραφικές μεθόδους.



## ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

**Ολικά φαινολικά:** συχνά χρησιμοποιείται η μέθοδος Folin. Οι φαινόλες οξειδώνονται σε αλκαλικό περιβάλλον με ταυτόχρονη αναγωγή του φωσφομολυβδαινικού και φωσφοβολφραμικού συμπλόκου του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu. Το σχηματιζόμενο σύμπλοκο περιέχει τα δύο μέταλλα (μολυβδαίνιο και βολφράμιο) με ελαττωμένο σθένος και έχει μπλέ χρώμα που μετράται στα 750 nm.

**Μέτρο των ολικών φαινολικών αποτελεί η απορρόφηση στα 280 nm.**

Η απορρόφηση στα 320 nm αποτελεί μέτρο των υδροξυκινναμωμικών, η απορρόφηση στα 360 nm των φλαβονολών και στα 520 nm των ανθοκυανών.

**Οι φλαβανόλες-3 (κατεχίνες) προσδιορίζονται με αντίδραση με π-διμεθυλαμινοκινναμαλδεύδη και μέτρηση της απορρόφησης στα 640 nm.**

Ο προσδιορισμός των ταννινών βασίζεται στην ιδιότητά τους να μετατρέπονται μερικώς σε ανθοκυάνες, και μέτρηση της απορρόφησης στα 520 nm.

**Οι ανθοκυάνες προσδιορίζονται με αποχρωματισμό με όξινο θειώδες και μέτρηση της απορρόφησης στα 520 nm.**

Τα διάφορα φαινολικά συστατικά συχνά προσδιορίζονται με υγρή χρωματογραφία και ανιχνευτή ορατού-υπεριώδους.

## ΠΤΗΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Οι ενώσεις αρώματος των οίνων προσδιορίζονται κυρίως με αέριο χρωματογραφία και ανιχνευτή ανάλογα με τις ενώσεις που προσδιορίζονται. Συχνά χρησιμοποιείται ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (GC-FID). Πολύ επιτυχής είναι ο συνδυασμός αέριας χρωματογραφίας με φασματοσκοπία μάζας (GC-MS). Για πτητικές ενώσεις σε σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις μπορεί να γίνει απευθείας έγχυση του δείγματος οίνου, ενώ πιο συχνά προηγείται εκχύλιση. Εφαρμόζεται εκχύλιση υγρού-υγρού, εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME). Προσδιορισμός των συνολικών πτητικών εστέρων και των συνολικών ανώτερων αλκοολών μπορεί να γίνει φωτομετρικά, μετά από απόσταξη του οίνου και αντίδραση με ειδικά αντιδραστήρια.

## ΑΖΩΤΟΥΧΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Το ολικό άζωτο μπορεί να προσδιοριστεί με τη μέθοδο Kjeldahl. Επίσης, οι πρωτεΐνες, πεπτίδια προσδιορίζονται με τη μέθοδο, Bradford, και αμινοξέα με αντίδραση με νινυδρίνη.

## **ΣΤΕΡΕΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑ**

**Ολικό στερεό υπόλειμμα** καλείται το σύνολο των ουσιών που δεν είναι πτητικές σε καθορισμένες συνθήκες.

**Το στερεό υπόλειμμα προσδιορίζεται με εξάτμιση ορισμένου όγκου οίνου σε υδατόλουτρο στους 100 °C και ζύγιση.**

**Επίσης, μπορεί να προσδιοριστεί με πυκνομετρική μέθοδο. Κατ'αυτή το στερεό υπόλειμμα υπολογίζεται έμμεσα από τη σχετική πυκνότητα του χωρίς αλκοόλη υπολείμματος.**

**Αναγμένο στερεό υπόλειμμα** καλείται το υπόλειμμα που προκύπτει εάν από το ολικό στερεό υπόλειμμα αφαιρεθούν τα ολικά σάκχαρα, τα θειικά, ο μαννίτης και κάθε ένωση που έχει προστεθεί.

**Υπόλοιπο στερεού υπολείμματος** καλείται το υπόλειμμα που προκύπτει εάν από το αναγμένο στερεό υπόλειμμα αφαιρεθεί η οξύτητα.

## ΤΕΦΡΑ ΚΑΙ ΙΟΝΤΑ

**Τέφρα:** προσδιορίζεται με αποτέφρωση του στερεού υπολείμματος στους 500-550 °C.

**Αλκαλικότητα τέφρας:** προσδιορίζεται με περίσσεια οξέος (θεικό οξύ) στην τέφρα και ογκομέτρηση της περισσειας με βάση και δείκτη ηλιανθίνη ή πορτοκαλόχρουν του μεθυλίου.

**Κάλιο, νάτριο:** προσδιορίζονται με φλογοφωτομετρία, όπως και ατομική απορρόφηση.

**Ασβέστιο και μαγνήσιο:** προσδιορίζονται με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης.

**Σίδηρος και χαλκός:** προσδιορίζονται με φωτομετρικές μεθόδους, και με ατομική απορρόφηση.

**Θεικά:** προσδιορίζονται με καταβύθισή τους με χλωριούχο βάριο σε όξινο περιβάλλον, και εξετάζεται η διαύγεια ή το θόλωμα.

## **ΧΡΩΜΑ ΟΙΝΟΥ**

**Το χρώμα του οίνου είναι σημαντικός παράγοντας ποιότητας των οίνων. Οφείλεται, κυρίως, στις ανθοκυάνες, στις ταννίνες και άλλες φαινολικές ενώσεις.**

**Ακριβής αποτίμηση του χρώματος του οίνου μπορεί να γίνει με χρωματόμετρο.**

**Επίσης, εκτίμηση του χρώματος του οίνου μπορεί να γίνει με φωτόμετρο.**

**Το φάσμα των ερυθρών οίνων παρουσιάζει ένα μέγιστο στα 520 nm, που οφείλεται στο κόκκινο χρώμα των ανθοκυανών. Με την παλαίωση των ερυθρών οίνων οι ανθοκυάνες καθιζάνουν είτε σχηματίζουν με ταννίνες σύμπλοκα έγχρωμα (όπως κεραμιδί) είτε άχρωμα. Έτσι, το μέγιστο στα 520 nm μειώνεται, ενώ συμμετέχει και η απορρόφηση στα 620 nm που αποτιμά το μωβ χρώμα.**

**Η απορρόφηση στα 420 nm οφείλεται κυρίως σε διάφορες ταννίνες.**

Η εκτίμηση του χρώματος των λευκών οίνων γίνεται με μέτρηση της απορρόφησης στα 420 nm, που αποτιμάται το κίτρινο χρώμα. Η απορρόφηση ενός λευκού οίνου στα 420 nm (γενικά στην περιοχή 400-440 nm) είναι ανάλογη του βαθμού οξείδωσής του.

Για την εκτίμηση του χρώματος των λευκών οίνων, μετράται η απορρόφηση διαυγούς οίνου στα 420 nm.

Για τους ερυθρούς οίνους, συνήθως μετράται η απορρόφηση διαυγούς οίνου στα 420 και 520 nm.

Η ένταση του χρώματος του χρώματος =  $A_{420 \text{ nm}} + A_{520 \text{ nm}}$ , και η απόχρωση =  $A_{420 \text{ nm}} / A_{520 \text{ nm}}$ .

Επίσης, μετράται η απορρόφηση στα 420, 520 και 620 nm. Στην περίπτωση αυτή ένταση =  $A_{420 \text{ nm}} + A_{520 \text{ nm}} + A_{620 \text{ nm}}$ .

## **ΔΙΑΥΓΕΙΑ ΟΙΝΟΥ**

**Η διαύγεια του οίνου είναι μέτρο της ποιότητάς του, και το διαυγές του οίνου προδιαθέτει ευνοϊκά.**

**Η θολερότητα είναι έκφραση της οπτικής ιδιότητας που προκαλεί διασπορά και απορρόφηση του φωτός κατά τη διέλευσή του μέσω του δείγματος.**

**Οφείλεται στις αιωρούμενες ύλες.**

**Η μέτρηση της θολερότητας με τη νεφελομετρική μέθοδο βασίζεται στη σύγκριση της διασκορπιζόμενης ακτινοβολίας διασποράς από το δείγμα και πρότυπο αιώρημα αναφοράς. Ως πηγή ακτινοβολίας χρησιμοποιείται λάμπα βολφραμίου και ως πρότυπο αιώρημα αναφοράς συνήθως πολυμερές φορμαζίνης.**

## ΠΡΟΣΘΕΤΑ ΟΙΝΟΥ

**Θειώδης ανυδρίτης:** ο ποσοτικός προσδιορισμός του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στηρίζεται στην αντίδραση οξειδοαναγωγής με διάλυμα ιωδίου. Προηγείται οξίνιση, για περιορισμό της οξείδωσης των φαινολικών από το ιώδιο. Για τον προσδιορισμό του ολικού θειώδη ανυδρίτη προηγείται αποδέσμευση του ενωμένου θειώδη ανυδρίτη με προσθήκη καυστικού καλίου.

**Ασκορβικό οξύ:** προσδιορίζεται με προσθήκη διαλύματος ακεταλδεύδης και στη συνέχεια με ιωδιομετρία.

**Σορβικό οξύ:** ο ποσοτικός προσδιορισμός του στηρίζεται στην απορρόφηση στα 256 nm αποστάγματος με υδρατμούς.



## **ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΙΝΟΥ**

**Ο μικροβιολογικός έλεγχος του οίνου μπορεί να γίνει με μικροσκοπική εξέταση.**

**Εφαρμόζεται στον οίνο είτε στο ίζημα μετά από φυγοκέντρησή του (κατακάθιση αιωρούμενων μικροοργανισμών). Μπορεί να γίνει διάκριση ζυμών και βακτηρίων, και επίσης διάκριση μεταξύ γενών ή ακόμη ειδών μεταξύ τους.**

**Για τα βακτήρια με τη χρώση Gram μπορεί να γίνει διάκριση μεταξύ των Gram θετικών γαλακτικών βακτηρίων και των Gram αρνητικών οξικών βακτηρίων, πέρα από την παρατήρηση του σχήματός τους.**

**Προσδιορισμός συνολικού αριθμού κυττάρων μπορεί να γίνει με αιμοκυττόμετρο.**

**Με χρωστικές όπως το κυανού του μεθυλενίου μπορεί να γίνει διάκριση μεταξύ των ζώντων και νεκρών κυττάρων, καθόσον τα ζώντα ανάγουν την χρωστική ενώ τα νεκρά όχι.**

**Ο προσδιορισμός του πληθυσμού των μικροοργανισμών γίνεται με στερεές καλλιέργειες σε επιλεγμένα θρεπτικά υλικά.**

**Μπορεί να γίνει κατακράτηση των μικροοργανισμών σε φίλτρο που στη συνέχεια μεταφέρεται σε τρυβλίο.**

Η εκλεκτική καταμέτρηση των ζυμομυκήτων σε γλεύκη και οίνους μπορεί να γίνει σε συνθετικό θρεπτικό υλικό από εκχύλισμα ζύμης, αμινοξέα καζεΐνης και γλυκόζη, με pH 3,0. Χρησιμοποιείται πενικιλίνη για αναστολή γαλακτικών βακτηρίων και διφαινύλιο για αναστολή μυκήτων. Η επώαση γίνεται αερόβια. Στη θέση του συνθετικού θρεπτικού υλικού μπορεί να χρησιμοποιηθεί γλεύκος, αραιωμένο 1:1.

Η εκλεκτική καταμέτρηση των γαλακτικών βακτηρίων σε γλεύκη και οίνους μπορεί να γίνει σε συνθετικό θρεπτικό υλικό από εκχύλισμα ζύμης, αμινοξέα καζεΐνης και γλυκόζη, με pH 4,5. Χρησιμοποιείται πιμαρισίνη για αναστολή ζυμομυκήτων-μυκήτων. Η επώαση γίνεται σε ατμόσφαιρα διοξειδίου του άνθρακα.

Η εκλεκτική καταμέτρηση των οξικών βακτηρίων σε γλεύκη και οίνους μπορεί να γίνει σε συνθετικό θρεπτικό υλικό από εκχύλισμα ζύμης, αμινοξέα καζεΐνης και γλυκόζη, με pH 4,5. Χρησιμοποιείται πενικιλίνη για αναστολή γαλακτικών βακτηρίων και πιμαρισίνη για αναστολή ζυμομυκήτων-μυκήτων. Η επώαση γίνεται αερόβια.