



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΠΜΣ ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ - ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΡΗΤΙΝΙΤΗ ΟΙΝΟΥ ΑΠΟ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΣΑΒΒΑΤΙΑΝΟ
ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΘΗΚΗ CHIPS
ΔΡΥΟΣ.



ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ Ν. ΚΟΥΤΣΟΥΡΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΚΑΛΛΙΘΡΑΚΑ ΣΤΑΜΑΤΙΝΑ



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΠΜΣ ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ - ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΡΗΤΙΝΙΤΗ ΟΙΝΟΥ ΑΠΟ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΣΑΒΒΑΤΙΑΝΟ
ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΘΗΚΗ CHIPS
ΔΡΥΟΣ.

ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ Ν. ΚΟΥΤΣΟΥΡΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΚΑΛΛΙΘΡΑΚΑ ΣΤΑΜΑΤΙΝΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΡΗΤΙΝΙΤΗ ΟΙΝΟΥ ΑΠΟ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΣΑΒΒΑΤΙΑΝΟ
ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΘΗΚΗ CHIPS
ΔΡΥΟΣ.

ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ Ν. ΚΟΥΤΣΟΥΡΗΣ

Εξεταστική Επιτροπή

Καλλίθρακα Σταματίνα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οινολογίας, Τμήματος
Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

Κοτσερίδης Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Οινολογίας, Τμήματος Επιστήμης
και Τεχνολογίας Τροφίμων Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

Μπινιάρη Αικατερίνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Αμπελουργίας, Τμήματος Επιστήμης
Φυτικής Παραγωγής Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

Περίληψη

Ο ρητινίτης οίνος, ο πιο γνωστός παραδοσιακός ελληνικός οίνος, παράγεται εδώ και χιλιάδες χρόνια, όπως αποδεικνύεται από αρχαιολογικά ευρήματα, αλλά και από αμέτρητες γραπτές αναφορές. Σύμφωνα με τη νομοθεσία «Ρετσίνα» είναι ο οίνος που παράγεται αποκλειστικά στη γεωγραφική επικράτεια της Ελλάδας από γλεύκος σταφυλιών επεξεργασμένο με ρητίνη Πεύκης Χαλεπίου.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η παρακολούθηση της επίδρασης δύο διαφορετικών ζυμομυκήτων (Zymaflore X5, Vivace), προσθήκης δυο διαφορετικών ποσοτήτων ρετσινιού (0,5 g/L , 1 g/L) και προσθήκης δύο διαφορετικών ειδών medium toast δρυός (Αμερικάνικης, Γαλλικής) με τελικό στόχο την βελτίωση της ποιότητας του ρητινίτη οίνου. Μετά το πέρας της ζύμωσης πραγματοποιήθηκαν κλασικές αναλύσεις, τεστ οξειδωσιμότητας, αναλύσεις πτητικών ενώσεων, οργανικών οξέων. φαινολικών ενώσεων και τέλος οργανοληπτικός έλεγχος στα δείγματα ρητινίτη οίνου από ποικιλία σαββατιανό.

Επιστημονικό πεδίο: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: Σαββατιανό, Ρετσίνα, chips δρυός, τεστ οξειδωσιμότητας, πτητικές ενώσεις, οργανικά οξέα, φαινολικές ενώσεις

Abstract

The resinated wine, the most known traditional greek wine is produced for thousands of years, this has been proven by archeological findings, but also there are plethora of written references in the literature. According to the legal framework "Retsina" is named the wine which is produced exclusively in the geographical territory of Greece by grapemust processed with *Pinus halepensis* resin.

The purpose of this study was to monitor the effect of two different yeast strains (Zymaflore X5, Vivace), adding two different quantities of resin (0.5 g / L, 1 g / L) and adding two different types of medium toast oak (American, French) with the ultimate goal of improving the quality of resin wine. At the end of the fermentation, classical analyzes, oxidation tests, analyzes of volatile compounds, organic acids, phenolic compounds and finally sensory evaluation were carried out on samples of resinate wine from the variety of savatiano.

Scientific field: Oenology

Keywords: Savvatiano, resinated wine, oak chips, oxidisability tests, volatile compounds, organic acids, phenolic compounds

Περιεχόμενα

1.1	Θεωρητικό Μέρος	1
1.2	Ρητινίτης οίνος	1
1.3	Ιστορικά στοιχεία	2
1.4	Τρόπος παραγωγής και σύσταση της ρετσίνας	4
1.5	Νομοθεσία για το ρητινίτη οίνο	5
1.5.1	PETΣΙΝΑ/Retsina	5
1.6	Χαλέπιος Πεύκη(Pinus Halepensis)	6
1.6.1	Ρητίνη κωνοφόρων δέντρων (τερεβινθίνη)	7
1.5.2	Συλλογή της ρητίνης.....	8
1.5.3	Πτητικά συστατικά της ρητίνης.....	8
1.7	Ποικιλία σταφυλιών Σαββατιανό	9
1.8	Το άρωμα του οίνου.....	10
1.8.1	Οσμηρά πτητικά συστατικά που παράγονται κατά τη διάρκεια της οινοποίησης	12
2	Σκοπός και σχεδιασμός πειράματος	15
2.1	Σκοπός	15
2.2	Οινοποίηση και σχεδιασμός πειράματος	15
3	Υλικά και Μέθοδοι	17
3.1	Κλασικές Αναλύσεις	17
3.1.1	Αναλύσεις ολικής οξύτητας.....	17
3.1.2	Ενεργός οξύτητα-pH.....	18
3.1.3	Ολικός και ελεύθερος SO ₂	19
3.1.4	Πτητική οξύτητα	21
3.1.5	Ανάγοντα Σάκχαρα	22
3.1.6	Αλκοολικός τίτλος.....	28
3.1.7	Ένταση Απόχρωση	29
3.1.8	Δείκτης FOLIN-CIOCALTEU.....	29
3.1.9	ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (ΔΦΟ).....	31
3.2	Οξειδωσιμότητα	32
3.2.1	Τεστ ταχείας αμαύρωσης.....	32
3.2.2	Αντιοξειδωτική ικανότητα – μέθοδος DPPH	33
3.3	Μέθοδος υγρής-υγρής εκχύλισης αρωματικών συστατικών (liquid/liquid extraction)	36
3.4	Μέτρηση οργανικών οξέων και φαινολικών οξέων με τη χρήση υγρή χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC).....	37

3.5	Οργανοληπτικός Έλεγχος	38
4	Αποτελέσματα Συζήτηση.....	40
4.1	Κλασικές Αναλύσεις	40
4.1.1	Ογκομετρούμενη οξύτητα.....	41
4.1.2	Ενεργός οξύτητα – pH	44
4.1.3	Πτητική οξύτητα	47
4.1.4	Ανάγοντα Σάκχαρα	50
4.1.5	Αλκοολικός Βαθμός.....	53
4.1.6	Ένταση Απόχρωση	56
4.1.7	Δείκτης FOLIN-CIOCALTEU.....	59
4.1.8	Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)	62
4.2	Οξειδωσιμότητα	65
4.2.1	Τεστ ταχείας αμαύρωσης.....	65
4.2.2	Αντιοξειδωτική ικανότητα – μέθοδος DPPH	71
4.3	Πτητικές Ενώσεις.....	74
4.4	Οργανικά Οξέα	77
4.5	Φαινολικές Ενώσεις	80
4.6	Οργανοληπτικός Έλεγχος	84
5	Συμπεράσματα	89
6	Βιβλιογραφία.....	90

Περιεχόμενα Εικόνων

Εικόνα 1: Φυσική ροή ρητίνης(www.el.wikipedia.org).	7
Εικόνα 2 Σχεδιασμός Πειράματος.....	16
Εικόνα 3 Έντυπο Οργανοληπτικού	39

Περιεχόμενα Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1 Πρότυπη Καμπύλη αναφοράς DPPH.	36
Διάγραμμα 2 Διαχωρισμός αναλύσεων με βάση τη ζύμη.	40
Διάγραμμα 3 Διαχωρισμός κλασικών αναλύσεων με βάση τη ζύμη.	40
Διάγραμμα 4 Ογκομετρούμενη Οξύτητα με βάση το ζυμομύκητα.	41
Διάγραμμα 5 Ογκομετρούμενη Οξύτητα με βάση τη δρυ.	42
Διάγραμμα 6 Ογκομετρούμενη Οξύτητα με βάση τη ρητίνη.	43
Διάγραμμα 7 Ενεργός Οξύτητα με βάση το ζυμομύκητα.	44
Διάγραμμα 8 Ενεργός Οξύτητα με βάση τη δρυ.	45
Διάγραμμα 9 Ενεργός Οξύτητα με βάση τη ρητίνη.	46
Διάγραμμα 10 Πτητική οξύτητα με βάση το ζυμομύκητα.	47
Διάγραμμα 11 Πτητική οξύτητα με βάση τη δρυ.	48
Διάγραμμα 12 Πτητική οξύτητα με βάση τη ρητίνη.	49
Διάγραμμα 13 Ανάγοντα σάκχαρα με βάση το ζυμομύκητα.	50
Διάγραμμα 14 Ανάγοντα σάκχαρα με βάση τη δρυ.	51
Διάγραμμα 15 Ανάγοντα σάκχαρα με βάση τη ρητίνη.	52
Διάγραμμα 16 Αλκοολικός βαθμός με βάση το ζυμομύκητα.	53
Διάγραμμα 17 Αλκοολικός βαθμός με βάση τη δρυ.	54
Διάγραμμα 18 Αλκοολικός βαθμός με βάση τη ρητίνη.	55
Διάγραμμα 19 Ένταση απόχρωση με βάση το ζυμομύκητα.	56
Διάγραμμα 20 Ένταση απόχρωση με βάση τη δρυ.	57
Διάγραμμα 21 Ένταση απόχρωση με βάση τη ρητίνη.	58
Διάγραμμα 22 Δείκτης FC με βάση το ζυμομύκητα.	59
Διάγραμμα 23 Δείκτης FC με βάση τη δρυ.	60
Διάγραμμα 24 Δείκτης FC με βάση τη ρητίνη.	61
Διάγραμμα 25 ΔΦΟ με βάση το ζυμομύκητα.	62
Διάγραμμα 26 ΔΦΟ με βάση τη δρυ.	63
Διάγραμμα 27 ΔΦΟ με βάση τη ρητίνη.	64
Διάγραμμα 28 Ρυθμός οξείδωσης με βάση το ζυμομύκητα.	65
Διάγραμμα 29 Ρυθμός οξείδωσης με βάση τη δρυ.	66
Διάγραμμα 30 Ρυθμός οξείδωσης με βάση τη ρητίνη.	67
Διάγραμμα 31 Ποσοστό οξείδωσης με βάση το ζυμομύκητα.	68
Διάγραμμα 32 Ποσοστό οξείδωσης με βάση τη δρυ.	69
Διάγραμμα 33 Ποσοστό οξείδωσης με βάση τη ρητίνη.	70
Διάγραμμα 34 Αντιοξειδωτική ικανότητα με βάση το ζυμομύκητα.	71
Διάγραμμα 35 Αντιοξειδωτική ικανότητα με βάση τη δρυ.	72
Διάγραμμα 36 Αντιοξειδωτική ικανότητα με βάση τη ρητίνη.	73
Διάγραμμα 37 Διαχωρισμός πτητικών ενώσεων με βάση τη ζύμη και τη συγκέντρωση ρητίνης.	74
Διάγραμμα 38 Αλκοόλες - Εστέρες με βάση το ζυμομύκητα.	75
Διάγραμμα 39 α - πινένιο με βάση τη ρητίνη.	76
Διάγραμμα 40 Οργανικά οξέα με βάση το ζυμομύκητα.	77
Διάγραμμα 41 Οργανικά οξέα με βάση τη δρυ.	78
Διάγραμμα 42 Οργανικά οξέα με βάση τη ρητίνη.	79
Διάγραμμα 43 Διαχωρισμός φαινολικών ενώσεων με βάση τη ζύμη και τη δρυ.	80
Διάγραμμα 44 Φαινολικές ενώσεις με βάση το ζυμομύκητα.	80
Διάγραμμα 45 Φαινολικές ενώσεις με βάση τη δρυ.	82

Διάγραμμα 46 Φαινολικές ενώσεις με βάση τη ρητίνη.....	83
Διάγραμμα 47 Οπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων με βάση το ζυμομύκητα.....	84
Διάγραμμα 48 Αποτελέσματα οσμής με βάση τον ζυμομύκητα.	85
Διάγραμμα 49 Αποτελέσματα γευσιγνωσίας για το άρωμα της ρητίνης.....	86
Διάγραμμα 50 Αποτελέσματα οργανοληπτικού με βάση την δρυ.	87
Διάγραμμα 51 Αποτελέσματα γευσιγνωσίας για τα γευστικά χαρακτηριστικά.	88

Περιεχόμενα Πινάκων

Πίνακας 1 Προτεινόμενες αραιώσεις - Μέθοδος LUFFF.....	25
Πίνακας 2 Αντιστοιχία όγκου ($n' - n$) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N & ποσότητας (mg) αναγόντων σακχάρων.	27
Πίνακας 3 Ποσοτική προσθήκη διαλύματος A για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς σε trolox.....	35
Πίνακας 4 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζύμη.	41
Πίνακας 5 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	42
Πίνακας 6 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	43
Πίνακας 7 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	44
Πίνακας 8 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	45
Πίνακας 9 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	46
Πίνακας 10 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	47
Πίνακας 11 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	48
Πίνακας 12 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	49
Πίνακας 13 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	50
Πίνακας 14 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	51
Πίνακας 15 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	52
Πίνακας 16 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	53
Πίνακας 17 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	54
Πίνακας 18 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	55
Πίνακας 19 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	56
Πίνακας 20 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	57
Πίνακας 21 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	58
Πίνακας 22 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	59
Πίνακας 23 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	60
Πίνακας 24 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	61
Πίνακας 25 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	62
Πίνακας 26 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	63
Πίνακας 27 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	64
Πίνακας 28 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	65
Πίνακας 29 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	66
Πίνακας 30 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	67
Πίνακας 31 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	68
Πίνακας 32 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	69
Πίνακας 33 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	70
Πίνακας 34 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	71
Πίνακας 35 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	72
Πίνακας 36 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	73
Πίνακας 37 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	75
Πίνακας 38 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	76
Πίνακας 39 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	77
Πίνακας 40 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	78
Πίνακας 41 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	79
Πίνακας 42 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	81
Πίνακας 43 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.	82
Πίνακας 44 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.	83

Πίνακας 45 Ανάλυση διακύμανσης οπτικών χαρακτηριστικών με βάση το παράγοντα ζυμομύκητα.	84
Πίνακας 46 Ανάλυση διακύμανσης για την όσφρηση για τον παράγοντα ζυμομύκητα.	85
Πίνακας 47 Ανάλυση διακύμανσης για το άρωμα ρετσινιού με βάση τον παράγοντα της συγκέντρωσης σε ρητίνη.	86
Πίνακας 48 Ανάλυση διακύμανσης για τα αρώματα της δρυός με βάση τον παράγοντα δρυ.	87
Πίνακας 49 Ανάλυση διακύμανσης για τα γευστικά χαρακτηριστικά με βάση τον παράγοντα ζυμομύκητα.	88

1.1 Θεωρητικό Μέρος

1.2 Ρητινίτης οίνος

Ο ρητινίτης οίνος ή ρετσίνα ανήκει στην κατηγορία των επιτραπέζιων οίνων και προστατεύεται από την κοινοτική νομοθεσία ως αποκλειστικά ελληνικό παραδοσιακό προϊόν. Καμία άλλη χώρα της Ευρωπαϊκής Ένωσης δεν έχει το δικαίωμα να παράγει αυτό τον τύπο επιτραπέζιου κρασιού και καμία τρίτη χώρα δεν μπορεί να εισάγει στις κοινοτικές αγορές κρασί με την επωνυμία «ρετσίνα». Το προνόμιο αυτό δόθηκε στην Ελλάδα με τη συμφωνία προσχώρησης στην Ευρωπαϊκή Ένωση, ως αναγνώριση από μέρους της Κοινότητας, ότι η ρετσίνα είναι ένας παραδοσιακός ελληνικός τύπος κρασιού. Γι' αυτό ακριβώς στην ετικέτα των κρασιών αυτού του τύπου, κάτω ακριβώς από την ένδειξη Ρετσίνα γράφεται και μία άλλη ένδειξη: Ονομασία κατά παράδοση.

Παρόλο που ρετσίνα παράγεται πια σε όλα σχεδόν τα αμπελουργικά διαμερίσματα της χώρας από διάφορες ποικιλίες αμπέλου, όμως δυο θεωρούνται οι πιο κατάλληλες για την παρασκευή ρετσίνας με παραδοσιακό χαρακτήρα, το Σαββατιανό και ο Ροδίτης. Ακόμη και η ποιότητα της ρητίνης πεύκου διαφέρει από περιοχή σε περιοχή. Η πιο κατάλληλη για οινολογικούς σκοπούς θεωρείται η ρητίνη από πεύκα της Αττικής.

Η ρετσίνα ανήκει στην κατηγορία των ξηρών κρασιών και είναι συνήθως λευκή ή ροζέ. Παράγεται με την ίδια ακριβώς τεχνολογία όπως και όλα τα λευκά ή ροζέ κρασιά. Η μόνη διαφορά τους οφείλεται στην προσθήκη της ρητίνης στο γλεύκος πριν από την έναρξη της ζύμωσης ή κατά την διάρκεια αυτής σε ποσότητα που υπερβαίνει το 1%. Αποτέλεσμα της προσθήκης της ρητίνης είναι να εκχυλιστούν ορισμένα συστατικά της και να δώσουν στην ρετσίνα τα ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της.

Επικρατεί επίσης η εντύπωση ότι η προσθήκη ρητίνης εκτός από τις οργανοληπτικές ιδιότητες που προσδίδει στον οίνο συντελεί και στην καλύτερη συντήρηση του επιδρώντας ανασταλτικά στην ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών.

1.3 Ιστορικά στοιχεία

Ο τύπος του ρητινωμένου οίνου πρωτοεμφανίστηκε πριν από πολλές χιλιετίες, όπως μαρτυρούν διάφορες πηγές. Τα παλαιότερα ευρήματα (5400-5000 π.Χ.), τα οποία αποδεικνύουν την ύπαρξη οίνου, αλλά και τεχνολογίας οινοποίησης κατά τους νεολιθικούς χρόνους, είναι οινοδοχεία που ήρθαν στο φως από την αρχαιολογική σκαπάνη της Mary M. Voigt (University of Pennsylvania Museum) στο όρος Zagros του Βορειοδυτικού Ιράν (περιοχή Hajji Firuz).

Στα συγκεκριμένα δοχεία βρέθηκαν υπολείμματα ρητίνης κοκορεβιθιάς με την οποία είχαν επικαλυφθεί εσωτερικώς. Με τη ρητίνη αυτή επιτυγχάνονταν αδιαβροχοποίηση του δοχείου και επιβράδυνση της ανάπτυξης του βακτηρίου *Acetobacter acetii* που είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή της αιθανόλης σε οξικό οξύ, βασικό συστατικό του όξους (Estreicher, 2006, McGovern et al., 1996).

Ανάλογα ευρήματα πιστοποιούν την προσθήκη φυτών σε ζυμούμενα ποτά κατά τη νεολιθική περίοδο στην Κίνα (McGovern et al., 2004) και λίγο αργότερα στην Αίγυπτο (McGovern et al., 2009). Έρευνες σε οργανικά υπολείμματα σκευών που βρέθηκαν στην Κρήτη και την ηπειρωτική Ελλάδα έδειξαν ότι οι Μινωίτες καλλιεργούσαν σταφύλια και παρήγαγαν οίνο με ρητίνη ήδη από το 1700 π.Χ. Αυτοί χρησιμοποιούσαν τη ρητίνη ως φυσικό συντηρητικό προκειμένου να επιμηκύνουν το χρόνο ζωής του προϊόντος (Shugart, et al., 2000). Αναφορές σχετικά με το ρητινίτη οίνο στην αρχαία Ελλάδα βρίσκουμε στο Ριανό (ποιητής από την Κρήτη), τον Κάτωνα, το Διοσκουρίδη και τον Αριστοφάνη (Στεφανόπουλος, 1976). Η ρητίνη αρχικά χρησιμοποιήθηκε για τη σφράγιση των αμφορέων, αλλά και το σχηματισμό ενός προστατευτικού υμενίου στην επιφάνεια του οίνου.

Στην αρχαιότητα χρησιμοποιούνταν γενικά καρκεύματα, μέλι, άνθη, βότανα ή αρωματικά έλαια για τη συντήρηση του οίνου καθιστώντας τον λιγότερο ευαίσθητο στην επαφή με το οξυγόνο και τη μικροβιακή οξίνιση, που όταν είχε ήδη λάβει χώρα, κάλυπταν την πτητική οξύτητα. Ο λόγος που επικράτησε η χρήση της ρητίνης στον ελλαδικό χώρο ήταν προφανώς η αφθονία πεύκων στην περιοχή (Λαζαράκης, 2005).

Ο Πλίνιος ο Πρεσβύτερος (23-79 μ.Χ.), ονομαστός Ρωμαίος εγκυκλοπαιδιστής και επιστήμονας, αφιέρωσε στην αλλοίωση του οίνου ένα μεγάλο τμήμα του XIV βιβλίου 16 «Φυσική Ιστορία» (*Historia naturalis*). Στο βιβλίο αναφέρεται η προσθήκη ρητίνης συγκεκριμένων δέντρων (πεύκου, κέδρου, λιβάνου, μύρου ή κοκορεβιθιάς) ως ο καλύτερος τρόπος για να αποφευχθεί η μετατροπή του οίνου σε ξίδι. Σύμφωνα με τον Πλίνιο η ρητίνη της κοκορεβιθιάς αποτελεί την «καλύτερη και πιο φινετσάτη ρητίνη»,

ή παρουσία της οποίας στο οινοδοχείο συμβάλλει στη συντήρηση του οίνου για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Ο Πλίνιος συνιστούσε επίσης τη χρήση ρητίνης κοκορεβιθιάς και ως φάρμακο για διάφορες ασθένειες, θεωρώντας ότι, αφού η ρητίνη ήταν ικανή να προλαμβάνει με φυσικό τρόπο πιθανή προσβολή του τραύματος από μικροοργανισμούς στα δέντρα, θα πρέπει να ήταν αποτελεσματική και στον άνθρωπο, και θα πρέπει οπωσδήποτε να ήταν σε θέση να συντηρήσει τον οίνο (Hornsey, 2007).

Παρόμοιες απόψεις εκφράστηκαν και από έναν άλλο συγγραφέα του 1ου αιώνα μ.Χ., τον Columella, ο οποίος στο έργο του «De rustica» (XII 18ff.), αναφέρεται σε ένα *medicamentum* από μύρο, ρητίνη κοκορεβιθιάς, πίσσα και διάφορα μπαχαρικά (Hornsey, 2007). Αργότερα, οι Ρωμαίοι χρησιμοποίησαν μύρο και ρητίνες από εξωτικά δέντρα (π.χ. λιβάνο) για να συντηρήσουν και να αρωματίσουν τους οίνους. Στον 21ο αιώνα, η Ελλάδα είναι πλέον η μόνη χώρα όπου ο ρητινίτης οίνος, η γνωστή μας ρετσίνα, εξακολουθεί να παράγεται κανονικά με χρήση ρητίνης η οποία προέρχεται από την ιθαγενή χαλέπιο πεύκη (*Pinus halepensis*).

Η παραγωγή ρετσίνας πρωτοεμφανίστηκε στην περιοχή της Στερεάς Ελλάδας και εξαπλώθηκε στη συνέχεια στη Μακεδονία και τα νησιά του Αιγαίου. Η χρήση της ρητίνης καθιστούσε τον οίνο λιγότερο επιρρεπή στην οξείδωση (ως αντιοξειδωτικό) και κάλυπτε δυσάρεστες γεύσεις που αναπτύσσονταν κατά την -όχι καλή- οινοποίηση ή την αποθήκευση (ως αρτυματική ύλη).

Η φήμη της ρετσίνας είναι γνωστή από τα τέλη του 19ου αιώνα στα αθηναϊκά καπηλειά και εξαπλώθηκε λόγω της ισχυρής θέσης της Αθήνας ως εμπορικό κέντρο. Η δημοτικότητά της αυξήθηκε μετά τον Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο όταν παραγωγοί όπως ο Κουρτάκης και ο Καμπάς αύξησαν τις πωλήσεις με την εμφιάλωσή της. Στην περίοδο μετά τη δεκαετία του '60 οι πωλήσεις της ρετσίνας μειώθηκαν, γεγονός που αποδόθηκε τόσο στην αλλαγή των προτιμήσεων των καταναλωτών όσο και στην κακή ποιότητα του παραγόμενου οίνου (Λαζαράκης, 2005).

1.4 Τρόπος παραγωγής και σύσταση της ρετσίνας

Σύμφωνα με τον Πλίνιο η παραγωγή του ρητινωμένου οίνου επιτυγχάνεται με επίταση ρητίνης στον ακατέργαστο οίνο κατά τη διάρκεια της πρώτης ζύμωσης, που διαρκεί εννέα ημέρες σε εξωτερικό χώρο, προκειμένου ο οίνος να αποκτήσει οσμή πίσσας (Hornsey, 2007).

Υπάρχουν και άλλες αναφορές από την αρχαιότητα σχετικά με την προσοχή που απαιτείται κατά την παραγωγή του ρητινωμένου οίνου. Σύμφωνα με αυτές, ο ρητινωμένος οίνος πρέπει να φυλάσσεται σε μεγάλα δοχεία με κατάλληλη ποσότητα οινολάσπης. Μεγάλη προσοχή πρέπει να δίνεται στην αποφυγή επαφής του οίνου με τον αέρα, σε συνδυασμό με μια περιστασιακή ανάδευση της οινολάσπης, μια τεχνική που εφαρμόζεται συχνά κατά τους πρώτους μήνες διατήρησης του προϊόντος (Λαζαράκης, 2005).

Η ρετσίνα παράγεται παραδοσιακά στη χώρα μας με προσθήκη ρητίνης στον οίνο που παραμένει στο βαρέλι μέχρι να καταναλωθεί όλη η ποσότητα του προϊόντος ή αφαιρείται όταν ο οίνος αποκτήσει την επιθυμητή γεύση στην επιθυμητή ένταση.

Η ρετσίνα αναγνωρίστηκε κατά τα τελευταία χρόνια ως αποκλειστικό ελληνικό προϊόν και χαρακτηρίστηκε ως οίνος ονομασίας κατά παράδοση (Σουφλερός, 2010). Σύμφωνα με τη νομοθεσία, παράγεται όπως ένας κοινής κατανάλωσης λευκός ξηρός οίνος με μόνη διαφορά την προσθήκη μικρής ποσότητας ρητίνης πεύκου (μέχρι 1%) πριν την αλκοολική ζύμωση ή στη διάρκειά της, εφόσον δεν έχει ζυμωθεί πάνω από το 1/3 της ποσότητας του περιεχόμενου σακχάρου (Π.Δ. 514 / ΦΕΚ 157/12.07.1979). Αν και νομοθετικώς είναι επιτρεπτή η προσθήκη ρητίνης σε αναλογία μέχρι 1%, με την πάροδο του χρόνου μειώθηκε η προστιθέμενη ποσότητά της ως αποτέλεσμα των βελτιώσεων που έχουν γίνει στην οиноποίηση (Λαζαράκης, 2005).

Η ρητίνη παρέχει, εκτός από την ιδιάζουσα γεύση που προσδίδει στον οίνο, και προστασία έναντι της οξείδωσης με το σχηματισμό στρώματος από τερεβινθέλαιο στην ελεύθερη επιφάνειά του. Η ποικιλία στην οποία ανήκουν τα σταφύλια που χρησιμοποιούνται μπορεί να διαφέρει, ωστόσο η ρετσίνα παράγεται σε ποσοστό 85% από σταφύλια των ποικιλιών Σαββατιανό και Ροδίτης, σε αναλογία 10:1.

Ο τεχνητός αρωματισμός οίνων ώστε να αποκτήσουν τα χαρακτηριστικά του ρητινίτη οίνου και η ανάμιξη ρητινίτη οίνου με οίνους άλλου τύπου, δεν επιτρέπονται. Σε ό,τι αφορά τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του προς κατανάλωση ρητινίτη οίνου, ο φυσικός αλκοολομετρικός τίτλος του πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 10 και 13,5% vol και η ολική οξύτητα, εκφρασμένη σε τρυγικό οξύ, πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 4,5

g/L. Η επιτρεπόμενη αύξηση της οξύτητας δεν μπορεί να είναι υψηλότερη από 1,5 g/L σε τρυγικό οξύ. Ο ρητινίτης οίνος στη χώρα μας παράγεται σε όλη την επικράτεια, κυρίως όμως στην Αττική, τη Βοιωτία και την Εύβοια. Κατά τη διάθεσή του στην κατανάλωση μπορεί να αναγράφεται και το όνομα του τόπου παραγωγής, όπως Γιάλτρα, Θήβα, Κάρυστος, Κρωπία, Μαρκόπουλο, Μέγαρα, Μεσόγεια, Παιανία, Παλλήνη, Πικέρμι, Σπάτα, Χαλκίδα (Σουφλερός, 2000).

1.5 Νομοθεσία για το ρητινίτη οίνο

Σύμφωνα με την ισχύουσα ευρωπαϊκή νομοθεσία, «Ρετσίνα» είναι ο οίνος που παράγεται αποκλειστικά στη γεωγραφική επικράτεια της Ελλάδας από γλεύκος σταφυλιών επεξεργασμένο με ρητίνη Πεύκης Χαλεπίου. Η χρησιμοποίηση της ρητίνης της Πεύκης Χαλεπίου επιτρέπεται μόνο για την παραγωγή οίνου «ρετσίνα» υπό τους όρους της ισχύουσας ελληνικής νομοθεσίας (Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, L148/1, 6.6.2008, Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 479/2008 του Συμβουλίου της 29ης Απριλίου 2008 για την κοινή οργάνωση της αμπελοοινικής αγοράς (ΚΟΑ), την τροποποίηση των κανονισμών (ΕΚ) αριθ. 1493/1999, (ΕΚ) αριθ. 1782/2003, (ΕΚ) αριθ. 1290/2005 και (ΕΚ) αριθ. 3/2008, και την κατάργηση των κανονισμών (ΕΟΚ) αριθ. 2392/86 και (ΕΚ) αριθ. 1493/1999, ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV - Κατηγορίες Αμπελοοινικών Προϊόντων).

Η σε ισχύ ελληνική νομοθεσία αναφέρει ότι «Η ονομασία «ρετσίνα» ή «ρητινίτης οίνος» είναι «ονομασία κατά παράδοση», χρησιμοποιούμενη για λευκούς και ροζέ ξηρούς οίνους που παράγονται πατροπαράδοτα μόνο στην Ελλάδα, με προσθήκη στο γλεύκος της σταφυλής ρητίνης Πεύκης της Χαλεπίου (*Pinus Halepensis*)» (ΠΔ514, Περί παραγωγής, ελέγχου και προστασίας των ρητινιτών οίνων, ΦΕΚ 157/12.07.1979). Το έτος 2002, οι παραδοσιακές ενδείξεις οίνων εμπλουτίζονται (ΦΕΚ 179/19.02.2002, Απόφαση 235309, Έγκριση Παραδοσιακών Ενδείξεων Οίνων) και όσον αφορά στη ρετσίνα, εκτός από την κλασσική.

1.5.1 PETΣINA/Retsina

Υποχρεωτική ένδειξη που επιφυλάσσεται αποκλειστικά για τους ελληνικούς οίνους, οι οποίοι παρασκευάζονται σύμφωνα με το Π.Δ. 514/1979 (ΦΕΚ 157/12.7.79) εγκρίνονται και οι εξής ενδείξεις:

- **PETΣINA NEAPH Ή PETΣINA ΦΡΕΣΚΙΑ/ Retsina neuve**

Επιφυλάσσεται για οίνο «ρετσίνα» με γεωγραφική επωνυμία καταγωγής, εφόσον περιέχει διοξείδιο του άνθρακα περί το 1g/L. Στην κύρια ετικέτα και σε εμφανές σημείο

αναγράφεται η φράση «ενδείκνυται να καταναλωθεί μέχρι τέλος Απριλίου 20..» του έτους που ακολουθεί την τρυγητική περίοδο παραγωγής του οίνου.

- **ΠΕΤΣΙΝΑ ΒΑΡΕΛΙΣΙΑ**

Οινοποιήθηκε σε βαρέλι.

Στη σήμανση των οίνων, οι ενδείξεις Ρετσίνα νεαρή ή Ρετσίνα φρέσκια και Ρετσίνα βαρελίσια, συνοδεύονται από τη γεωγραφικά επωνυμία καταγωγής, το δε σύνολο είναι γραμμένο με γράμματα του ίδιου τύπου, διαστάσεων και χρώματος προκειμένου να αποτελούν ενιαίο σύνολο. Αμέσως δε πάνω ή κάτω από τις ενδείξεις αυτές αναγράφεται με πεζά γράμματα η υποχρεωτική ένδειξη «Ονομασία κατά Παράδοση Ρετσίνα».

Δεν επιτρέπεται στη σήμανση των εμφιαλωμένων οίνων, η χρήση της ένδειξης «Γιοματάρι» ως εμπορικό σήμα.

1.6 Χαλέπιος Πεύκη(Pinus Halepensis)

Το γένος Pinus (Pinaceae) περιλαμβάνει 250 είδη και είναι ευρέως διαδεδομένο σε όλο το βόρειο ημισφαίριο, ιδίως στην Ασία, την βόρεια και κεντρική Αμερική (κυρίως στην περιοχή της Καραϊβικής) και την Ευρώπη (κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου).

Το πεύκο και τα προϊόντα που προέρχονται από αυτό (τερεβινθέλαιο, κολοφώνιο, αιθέριο έλαιο) χρησιμοποιούνται σ' όλο τον κόσμο χάρη στις θεραπευτικές και αρωματικές τους ιδιότητες (Dob, 2005).

Το χαλέπιος πεύκη (Aleppo pine, Pinus halepensis) είναι ένα ευρέως διαδεδομένο είδος του γένους Pinus, μεγάλης απόδοσης σε ελαιορητίνη, που ενδημεί στην περιοχή της Μεσογείου. Η παρουσία της εκτείνεται από το Μαρόκο έως τη Λιβύη στη βόρεια Αφρική, από την ανατολική Ισπανία έως τη νότια Γαλλία, Ιταλία, Κροατία Ελλάδα και από τη βόρεια Συρία έως την Ιορδανία, το Λίβανο και το Ισραήλ (Kaundun et al., 1998; Panetsos, 1999; Karanikas et al., 2010). Είναι ανθεκτική στην ξηρασία και απαντάται συνήθως σε θερμά και ασβεστώδη εδάφη και χαμηλά υψόμετρα, γύρω στα 200 m από το επίπεδο της θάλασσας, ωστόσο μπορεί να αναπτυχθεί σε υψόμετρο μέχρι και 1.000 m στη νότια Ισπανία ή μέχρι 1.700 m στο Μαρόκο και την Αλγερία. Στην Ελλάδα απαντάται στην Πελοπόννησο, τα Ιόνια νησιά, την κεντρική Ελλάδα, την Εύβοια και τις Σποράδες, και στη Χαλκιδική (Karanikas et al., 2010).

Συμβάλλει σημαντικά στην προστασία του εδάφους από τη διάβρωση και καλλιεργείται με σκοπό την αξιοποίηση της ξυλείας και της ρητίνης . Πρόκειται για δέντρο μικρού έως μεσαίου μεγέθους που φτάνει σε ύψος τα 15-25 m και έχει διάμετρο

κορμού από 60 cm έως και 1 m. Τα φύλλα της είναι μακρόστενες «βελόνες» με μήκος 6-12cm που έχουν χαρακτηριστικό κιτρινοπράσινο χρώμα. Οι καρποί της (κουκουνάρια) έχουν σχήμα στενού κώνου και μήκος 5-12cm. Το χρώμα τους είναι αρχικώς πράσινο, ενώ με την πάροδο του χρόνου μετατρέπεται σε καστανέρυθρο (σε 24 μήνες). Οι καρποί ανοίγουν βραδέως στην πορεία του χρόνου με συνέπεια οι σπόροι τους να διασπείρονται στο έδαφος.

1.6.1 Ρητίνη κωνοφόρων δέντρων (τερεβινθίνη)

Είναι ένα παχύρρευστο, άχρωμο υγρό που εκκρίνεται από ορισμένα κωνοφόρα δέντρα, ιδίως από διάφορα είδη Πεύκης, όταν αυτά πληγωθούν (εικόνα 1). Αυτή έχει ως κύρια αποστολή τη σφράγιση της πληγής και τη δημιουργία τοξικού περιβάλλοντος που αποτρέπει την είσοδο εντόμων και παθογόνων μικροοργανισμών στο εσωτερικό του δέντρου. Εκρέει από ρητινοφόρους αγωγούς, που είναι ορατοί με γυμνό μάτι ή με φακό σε μια τομή του ξύλου, η δομή τους διακρίνεται όμως μόνο με τη χρήση μικροσκοπίου.



Εικόνα 1: Φυσική ροή ρητίνης(www.el.wikipedia.org).

Η ρητίνη είναι μίγμα κολοφωνίου (ρητινικά οξέα) και τερεβινθελαίου (πηκτικό έλαιο). Το τερεβινθέλαιο (turpentine, spirit of turpentine, oil of turpentine, wood turpentine), είναι ένα παχύρρευστο υγρό που παραλαμβάνεται με απόσταξη από τη ρητίνη του πεύκου. Αυτό έχει χαρακτηριστική οσμή και γεύση, είναι αδιάλυτο στο νερό και διαλυτό στην αιθανόλη και άλλους οργανικούς διαλύτες, και είναι ιδιαίτερα εύφλεκτο με αποτέλεσμα να απαιτείται ιδιαίτερα μεγάλη προσοχή κατά την κατεργασία του. Το τερεβινθέλαιο είναι μίγμα μονοτερπενίων και σεσκιτερπενίων (Karanikas 2010).

Η ρητίνη από τη χαλέπιο Πεύκη στη χώρα μας αποτελούνταν, σύμφωνα με μια μελέτη του Υπουργείου Εμπορίου, από ρητινικά οξέα (60-65%), τερεβινθέλαιο (20-25%), νερό (8-12%), μη σαπωνοποιήσιμα συστατικά (4-8%) και ξένες ύλες (0,5-2%). Σε νεότερη μελέτη αναφέρεται ότι η εγχώριος παραγόμενη ρητίνη αποτελείται κατά 78,6% από κολοφώνιο και κατά 17% από τερεβινθέλαιο (Στεφανόπουλος, 1976).

1.5.2 Συλλογή της ρητίνης

Η συγκομιδή της ρητίνης από παραγωγικά δέντρα μπορεί να γίνει με πελέκηση και με αποφλοΐωση (και χημική κατεργασία). Η πελέκηση ή η αποφλοΐωση αρχίζει συνήθως από τη βάση του δέντρου και προχωρεί στο ανώτερο δυνατό ύψος που μπορεί να φτάσει ο ρητινεργάτης. Οι διαστάσεις (ύψος, πλάτος) του ετήσιου μετώπου εξαρτώνται από τη μέθοδο ρητίνευσης και τη διάμετρο (ή περίμετρο) του δέντρου και διαφέρει από χώρα σε χώρα. Η ρητίνη συλλέγεται σε πήλινα, μεταλλικά ή πλαστικά δοχεία, στερεωμένα στον κορμό του δέντρου. Η περίοδος της ρητίνευσης διαρκεί από το μήνα Μάρτιο έως τους μήνες Οκτώβριο ή Νοέμβριο. Στην Ελλάδα η ρητίνευση αφορά μόνο τη χαλέπιο Πεύκη που είναι παραγωγική για 60 περίπου έτη και δίνει μεγαλύτερη ετήσια παραγωγή, που κυμαίνεται από 1,7 έως 3,3 kg/δέντρο (Papagiannopoulos 2002,). Υπάρχουν ωστόσο κάποιοι γενότυποι των οποίων η ετήσια παραγωγή αγγίζει τα 10 kg/δέντρο (Moulalis, 1981).

1.5.3 Πτητικά συστατικά της ρητίνης

Η σύσταση της ρητίνης μεγάλου αριθμού κωνοφόρων δέντρων είναι σε γενικές γραμμές γνωστή από μελέτες που έχουν γίνει στο παρελθόν, ωστόσο αυτή των διαφόρων ειδών πεύκου που φύονται στην περιοχή της Μεσογείου δεν είναι γνωστή καθώς η έρευνα που έχει γίνει είναι σχετικά περιορισμένη (Dob et al., 2005).

Έρευνα έχει γίνει με σκοπό τη διερεύνηση της σύστασης του πτητικού κλάσματος της ρητίνης της χαλεπίου πεύκης είναι σε γενικές γραμμές περιορισμένη (Karanikas, 2010). Το τερεβινθέλαιο έχει βρεθεί ότι αποτελείται κυρίως από α-πινένιο (90-96%), ενώ περιέχει και αρκετούς άλλους τερπενικούς υδρογονάνθρακες, κυρίως Δ3-καρένιο, καμφένιο, λεμονένιο, μυρκενίο, β-πινένιο, π-κυμένιο, τερπινολένιο και φελλανδρόνιο. Το κολοφώνιο αποτελείται κατά κύριο λόγο από ρητινικά οξέα και ακόμη από μη όξινα μονοτερπένια, σεσκιτερπένια και τερπινόλες. Τα ρητινικά οξέα είναι μονοκαρβοξυλικά οξέα (με το γενικό εμπειρικό τύπο $C_{19}H_{29}COOH$). Το κολοφώνιο που έχει απομονωθεί από ρητίνη χαλεπίου πεύκης που φύεται στη χώρα μας περιέχει

διπλάσια ποσότητα αβιετικού οξέος σε σχέση με το βορειοαμερικανικό, δεν περιέχει ωστόσο πιμαρικό οξύ.

Οι Οικονόμου και Βαλκάνας (1966) αναφέρουν ότι αυτό αποτελείται από αβιετικό (34%), παλουστρικό και λαιβοπιμαρικό (38%), ισοπιμαρικό (11,5%), νεοαβιετικό (9%), διυδροαβιετικό (5,7%) και σανδαροπιμαρικό οξύ (1,8%), ενώ ο Καρανίκας και οι συνεργάτες του (2010), οι οποίοι μελέτησαν τη χημική σύσταση της ελαιορητίνης με σκοπό την αξιοποίηση της ως ένα διαγνωστικό εργαλείο για τη διάκριση της χαλεπίου πεύκης ανάλογα με την περιοχή ή την απόδοση της σε ρητίνη, διαπίστωσαν ότι το 97,4% της ρητίνης αποτελείται από 40 συνολικά ενώσεις, 11 μονοτερπενικές, 12 σεσκιτερπενικές και 17 διτερπενικές.

Οι κυριότερες από αυτές είναι το α-πινένιο, ο μεθυλεστέρας του αβιετικού οξέος και τα οξέα παλουστρικό, αβιετικό, ισοπιμαρικό και νεοαβιετικό. Πολλές μελέτες έχουν γίνει για τη διερεύνηση της σύστασης του αιθέριου ελαίου που παραλαμβάνεται από ορισμένα μέρη της χαλεπίου πεύκης. Σε αιθέριο έλαιο που έχει παραληφθεί από τις βελόνες χαλεπίου πεύκης τακτοποιήθηκαν μονο-, δι- και σεσκιτερπένια (Roussis et al., 1994; Dob et al., 2005), ενώ ο Macchioni και οι συνεργάτες του (2003) μελέτησαν τη σύσταση του αιθέριου ελαίου που παραλαμβάνεται από βελόνες, κλαδιά και θηλυκούς κώνους. Σύμφωνα με τις παραπάνω έρευνες, τα κύρια συστατικά των αιθέριων ελαίων είναι το α-πινένιο, το μυρκένιο, το β-καρυοφυλλένιο, το Δ3-καρένιο)

1.7 Ποικιλία σταφυλιών Σαββατιανό

Η πλέον διαδεδομένη λευκή ελληνική ποικιλία, καταλαμβάνει έκταση περίπου 160.000 στμ. Καλλιεργείται συστηματικά στην Αττική μέχρι πρόσφατα καταλάμβανε το 90 % των αμπελουργικών εκτάσεων. Πιο συγκεκριμένα καλλιεργείται ποικιλία στους νομούς Αττικής, Ευβοίας, Βοιωτίας και, σε μικρότερη έκταση, στις Κυκλάδες, τη Δυτική Κρήτη, την Πελοπόννησο και τη Μακεδονία.

Σαν φυτό είναι μέτρια ζωηρό, γόνιμο, παραγωγικό, ανθεκτικό στον περονόσπορο, το ωίδιο και την ξηρασία. Παρουσιάζει καλή συγγένεια με τα περισσότερα υποκείμενα που έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν, καθώς και με αυτά που χρησιμοποιούνται σήμερα στην Ελλάδα. Διαμορφώνεται σε κύπελλο και γραμμικό αμφίπλευρο κορδόνι (Royat) και δέχεται κλάδεμα κοντό στα 2 μάτια. Προσαρμόζεται σε διαφορετικούς τύπους εδαφών, δίνει όμως καλύτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά σε εδάφη ξηρά, ασβεστώδη, μέσης γονιμότητας. Ξεκινά τη βλάστηση στα τέλη του Μάρτη και

ωριμάζει μέσα Σεπτέμβρη. Κάθε καρποφόρα κληματίδα φέρνει 2 σταφύλια μέτρια ως μεγάλα, που ξεπερνούν τα 450g, κυλινδρικών, πολύ πυκνόρραγα. Οι ράγες είναι μέσου μεγέθους, 2,8g, σφαιρικές, με λεπτό φλοιό κιτρινόλευκου χρωματισμού και σάρκα μαλακή, νερουλή, γλυκιά, με 2-3 μικρά γίγαρτα. Οι ράγες αποτελούν το 95,2% του βάρους του σταφυλιού και οι φλοιοί με τα γίγαρτα του 8% το βάρους των ραγών.

1.8 Το άρωμα του οίνου

Το άρωμα και η γεύση είναι δύο από τα κύρια χαρακτηριστικά του οίνου. Αυτά καθορίζουν την ποιότητα και την προτίμησή του από τους καταναλωτές (Swiegers & Pretorius, 2005). Στο άρωμα συνεισφέρει ένας σημαντικός αριθμός πτητικών συστατικών του οίνου (Varnam et al., 2006). Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί σε διάφορους οίνους περισσότερα από 700 πτητικά συστατικά (Fischer, 2007). Η αντίληψη των επιμέρους χαρακτηριστικών του αρώματος είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης αρκετών πτητικών συστατικών του οίνου με τα αισθητήρια όργανα της όσφρησης και της γεύσης (Rapp & Mandery, 1986; Styger et al., 2011).

Το άρωμα μπορεί να γίνει αντιληπτό και να περιγραφεί με τη βοήθεια μιας οργανοληπτικής δοκιμής. Ωστόσο, η ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών που συνεισφέρουν σ' αυτό είναι εργασία ιδιαίτερα επίπονη και δύσκολη επειδή καθένα από αυτά έχει μία διαφορετική συνεισφορά. Η αντίληψη της οσμής τους εξαρτάται τόσο από τη συγκέντρωσή τους στον οίνο όσο και από τη δομή τους.

Πτητικά συστατικά που απαντώνται σε συγκεντρώσεις μερικών ng/L ενδέχεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του αρώματος, ενώ άλλα, που απαντώνται σε πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις, μπορεί να έχουν μικρή μόνο συνεισφορά στο άρωμα οίνου.

Η τελευταία εξαρτάται από την ένταση της οσμής, τη συγκέντρωση και το κατώφλι αντίληψης του κάθε επιμέρους πτητικού συστατικού, αλλά και από την παρουσία των άλλων πτητικών συστατικών που εμφανίζουν είτε συνεργιστική δράση, η οποία ενισχύει την ένταση της οσμής του, είτε ανταγωνιστική δράση, η οποία αμβλύνει την ένταση της οσμής του. Ένα πτητικό συστατικό μπορεί για το λόγο αυτό να έχει μία διαφορετική συνεισφορά στο άρωμα δύο οίνων στους οποίους απαντάται ακόμη και σε παρόμοια συγκέντρωση (Styger et al., 2011)

Τα πτητικά συστατικά που έχουν συνεισφορά στο άρωμα του οίνου διακρίνονται σε τρεις ομάδες:

- Αυτά που προέρχονται από το σταφύλι και ευθύνονται για το πρωτογενές άρωμα των οίνων, προέρχονται από τα οποία είναι κυρίως μονοτερπένια, C13νορισοπρενοειδή, μεθοξυπυραζίνες και θειόλες (Fischer, 2007). Στα συστατικά αυτά ανήκουν επίσης αλκοόλες με έξι C-άτομα και η μεθανόλη που ελευθερώνονται κατά τη διάρκεια ορισμένων τεχνολογικών διεργασιών πριν το κύριο στάδιο της οινοποίησης. Ειδική περίπτωση αποτελούν οι άοσμες πρόδρομες μορφές οσμηρών πτητικών συστατικών από τις οποίες με ενζυμική ή χημική υδρόλυση απελευθερώνονται αυτά. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι γλυκοζίτες των τερπενολών. Στο πρωτογενές άρωμα πολλών ποικιλιών σταφυλιών έχει αποδειχθεί ότι συνεισφέρουν τα ίδια πτητικά συστατικά. Ωστόσο, η συγκέντρωσή τους μεταβάλλεται από ποικιλία σε ποικιλία (Castino, 1988).
- Αυτά που σχηματίζονται στη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και ευθύνονται για το δευτερογενές άρωμα των οίνων που εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις συνθήκες της οινοποίησης (περιεκτικότητα του γλεύκους σε άζωτο, θερμοκρασία κατά την αλκοολική ζύμωση) και το στέλεχος του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* (Lambrechts & Pretorius, 2000; Swiegers & Pretorius, 2006). Κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης συντίθενται πτητικά συστατικά και από τους ζυμομύκητες με αποτέλεσμα το άρωμα να γίνεται πιο σύνθετο (Swiegers & Pretorius, 2005). Αυτοί συμβάλλουν στο σχηματισμό γλυκερόλης και πυροσταφυλικού οξέος που αποικοδομείται με συνέπεια να σχηματίζονται πολλά νέα πτητικά συστατικά. Η ενέργεια που ελευθερώνεται κατά τη γλυκόλυση παίζει ρόλο στο μεταβολισμό και άλλων συστατικών του γλεύκους (Τσακίρης, 2005). Τα πτητικά συστατικά με συνεισφορά στο δευτερογενές άρωμα του οίνου είναι κυρίως αλκοόλες, εστέρες και καρβονικά οξέα, αλλά και πτητικές φαινολικές ενώσεις μερκαπτάνες, λακτόνες κ.α. Τα συστατικά αυτά έχουν σημαντική συμβολή στη διαμόρφωση του αρώματος οίνων που παράγονται με αξιοποίηση σταφυλιών από ουδέτερες αρωματικά ποικιλίες αμπέλου (Dubois, 1994).
- Αυτά που σχηματίζονται, με σχετικά βραδύ ρυθμό, στη διάρκεια της παλαίωσης ορισμένων οίνων (όσων είναι επιδεκτικοί παλαίωσης) και ευθύνονται για το τριτογενές άρωμα, που είναι γνωστό ως μπουκέτο. Η ανάπτυξή του οφείλεται σε μετασχηματισμό συστατικών που συνεισφέρουν στο άρωμα των νέων οίνων

(Σουφλερός, 1997) λόγω οξειδωτικών και αναγωγικών αντιδράσεων οι οποίες λαμβάνουν χώρα στο βαρέλι και τη φιάλη, αντίστοιχα, και ευθύνονται για σημαντικές διαφοροποιήσεις στο άρωμα των οίνων. Κατά την παλαίωση του οίνου σε νέο βαρέλι εκχυλίζονται και φαινολικά συστατικά του ξύλου από τα οποία προέρχονται πτητικά συστατικά που ευθύνονται για το ιδιαίτερο άρωμα του παλαιωμένου οίνου.

1.8.1 Οσμηρά πτητικά συστατικά που παράγονται κατά τη διάρκεια της οινοποίησης

Το κύριο κλάσμα των πτητικών συστατικών που συνεισφέρει στο άρωμα του οίνου παράγεται στη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Στα συστατικά αυτά περιλαμβάνονται ανώτερες αλκοόλες, οξικοί εστέρες και αιθυλεστέρες καρβονικών οξέων, καρβονικά οξέα, κετόνες και αλδεϋδες (Nykanen & Suomalainen, 1983 Rapp & Mandery, 1986 Stashenko, 1992 Lambrechts & Pretorius, 2000; Delfini, 2001). Τρεις μόνο από τις πιο πάνω ομάδες πτητικών οργανικών ενώσεων παίζουν σημαντικό ρόλο στην ποιότητα των λευκών οίνων οι ανώτερες αλκοόλες, οι εστέρες καρβονικών οξέων και τα πτητικά καρβονικά οξέα.

1.8.1.1 Ανώτερες αλκοόλες

Εκτιμάται ότι δίνουν μη επιθυμητά χαρακτηριστικά στο άρωμα, πλην της 2-φαινυλοαιθανόλης, με τη χαρακτηριστική οσμή τριαντάφυλλου, επειδή έχουν δυσάρεστη και δριμυία οσμή (Simpson, 1979b). Η παρουσία τους σε συγκέντρωση 300 έως 400 mg/L (ή χαμηλότερη) είναι αναγκαία γιατί καθιστά πιο πολύπλοκο το άρωμα του οίνου, ενώ η παρουσία τους σε υψηλότερη συγκέντρωση εκτιμάται ότι επιδρά αρνητικά (Etievant, 1991 Clarke and Bakker, 2004). Η συγκέντρωσή τους εκτιμάται ότι πρέπει να είναι μειωμένη για να διευκολυνθεί η ανάδειξη της επιθυμητής οσμής άλλων πτητικών συστατικών (Τσακίρης, 2005). Ο σχηματισμός τους έχει σχέση με το μεταβολισμό των αμινοξέων και επηρεάζεται κυρίως από την περιεκτικότητα του γλεύκους σε αζωτούχα συστατικά (Jiranec et al., 1990). Ο σχηματισμός τους σε μεγαλύτερες ποσότητες επιτυγχάνεται με βελτίωση των συνθηκών που συμβάλλουν στην αύξηση της βιομάζας των κυττάρων του ζυμομύκητα, κυρίως με αύξηση της θερμοκρασίας, συνθήκες που δεν ευνοούν το σχηματισμό εστέρων σε μεγαλύτερες ποσότητες (Monk & Costello, 1984). Ανώτερες αλκοόλες σχηματίζονται, επίσης, και κατά τη βιοσύνθεση οξο-οξέων από σάκχαρα (Nykanen, 1986). Η ποσότητα στην

οποία παράγονται αυτές είναι ωστόσο πιο περιορισμένη λόγω μετατροπής των σακχάρων κυρίως σε αιθανόλη.

1.8.1.2 Εστέρες καρβονικών οξέων

Αποτελούν μία από τις πιο σημαντικές τάξεις ενώσεων που συνεισφέρουν στο φρουτώδες άρωμα του οίνου (Styger et al., 2011). Τα σταφύλια περιέχουν ελάχιστους εστέρες. Η εκτεταμένη παρουσία τους στους οίνους οφείλεται σε ενζυμική εστεροποίηση των καρβονικών οξέων κατά την αλκοολική ζύμωση ή σε χημική εστεροποίησή τους κατά την παλαίωση.

Οι εστέρες ευθύνονται, όταν απαντώνται σε αυξημένες συγκεντρώσεις στους οίνους, για τον ευχάριστο φρουτώδη χαρακτήρα της ζύμωσης (Etievant, 1991). Εξαιρέση αποτελεί ο οξικός αιθυλεστέρας, ιδιαίτερα όταν απαντάται σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από 200 mg/L (Amerine & Roesser, 1976).

Ο σχηματισμός των εστέρων ευνοείται όταν η θερμοκρασία στη διάρκεια της ζύμωσης είναι χαμηλή και όταν δεν δημιουργείται στερεό αιώρημα κατά την αλκοολική ζύμωση, αλλά και από το στέλεχος του ζυμομύκητα (Mareo, 2000), καθώς και από κάθε παράγοντα που ευθύνεται για μία μείωση της ταχύτητας της ζύμωσης, προσδιορίζοντας έτσι τις συνθήκες της σύγχρονης οινοποίησης κατά την παραγωγή λευκών οίνων (Simpson, 1979).

Αυτός ενδέχεται να έχει σχέση με το πιο παχύ κυτταρικό τοίχωμα των ζυμομυκήτων όταν αυτοί αναπτύσσονται σε περιβάλλον δυσμενές γι' αυτούς. Η υψηλή περιεκτικότητα των οίνων υψηλής ποιότητας σε εστέρες δεν είναι πάντα θετική επειδή αυτοί καλύπτουν εν μέρει το πρωτογενές άρωμα. Η παραμονή του οίνου σε επαφή με τις οινολάσπες ευνοεί την αύξηση της περιεκτικότητάς τους σε εστέρες και ανώτερες αλκοόλες.

1.8.1.3 Πτητικά καρβονικά οξέα

Είναι δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης, κυρίως λιπαρά οξέα, ουσιώδη συστατικά της μεμβράνης του πλάσματος και πρόδρομες ενώσεις πιο πολύπλοκων μορίων, όπως τα φωσφολιπίδια (Lambrechts & Pretorius, 2000). Το βουτυρικό και το ισοβαλερικό οξύ έχουν οσμή που θυμίζει τυρί, ενώ τα υπόλοιπα πτητικά λιπαρά οξέα με 5 έως 12 C-άτομα έχουν πιο ουδέτερη οσμή, δίνουν όμως εστέρες με πιο ευχάριστη οσμή. Οξικό οξύ σχηματίζεται κυρίως κατά την οξείδωση της ακεταλδεϋδης και την αποικοδόμηση του κιτρικού οξέος από τα οξυγαλακτικά βακτήρια.

Σε περιπτώσεις εκτροπής της οινοποίησης σχηματίζεται και εξαιτίας της οξείδωσης της αιθανόλης από τα οξικά βακτήρια (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Είναι το πτητικό οξύ που απαντάται σε υψηλότερη συγκέντρωση στον οίνο (500 mg/L), έχει μάλλον υψηλό κατώφλι αντίληψης (50 mg/L) και χαρακτηριστική οσμή, ενώ συνεισφέρει πάντα στο άρωμα του οίνου (Clarke and Bakker, 2004) και είναι αναγκαίο για τη διαμόρφωση του αρώματός του (Dubois, 1994 a, b).

Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα ευθείας αλυσίδας με άρτιο αριθμό C-ατόμων εξανοϊκό, οκτανοϊκό, δεκανοϊκό και δωδεκανοϊκό σχηματίζονται στο εσωτερικό του κυττάρου του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* κατά το μεταβολισμό των λιπιδίων. Αυτά τα οξέα ευθύνονται για οσμές που θυμίζουν κάποια τυριά, ωστόσο η έντασή τους είναι σχετικά ασθενής (Τσακίρης, 2005).

2 Σκοπός και σχεδιασμός πειράματος

2.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η παρακολούθηση της επίδρασης δύο διαφορετικών ζυμομυκήτων (Zymaflore X5, Vivace), προσθήκης δυο διαφορετικών ποσοτήτων ρετσινιού (0,5 g/L , 1 g/L) και προσθήκης δύο διαφορετικών ειδών medium toast chips δρυός (Αμερικάνικης, Γαλλικής) με τελικό στόχο την βελτίωση της ποιότητας του ρητινίτη οίνου.

2.2 Οινοποίηση και σχεδιασμός πειράματος

Για την διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν σταφύλια της ελληνικής λευκής ποικιλίας *Vitis vinifera* L. cv. Σαββατιανό που προήλθαν κατά το τρύγο του 2017, από τον αμπελώνα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στα Σπάτα. Η οινοποίηση έγινε στο οινοποιείο του εργαστηρίου Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών , στο υπόγειο του κτιρίου Χασιώτη. Αρχικά, τα σταφύλια μεταφέρθηκαν σε θλιπτήριο και στη συνέχεια στην υδρόπρεσσα.

Το γλεύκος στην συνέχεια, με τη βοήθεια αντλίας, μεταφέρθηκε στη δεξαμενή οινοποίησης. Στη συνέχεια, έγινε θείωση του γλεύκους με προσθήκη 10 g/hL metabisulfite και προστέθηκαν ένζυμα απολάσπωσης (rohavin clear) 4 g/hL. Μετά το πέρας δύο ωρών, έγινε προσθήκη 20 g/hL Polyclal, 5 g/hL Tannin antiox white και Springarom 10g/hL το γλεύκος αφέθηκε για στατική απολάσπωση υπό ψύξη, στους 10 °C.

Μετά το πέρας δύο ημερών έλαβε μέρος η μετάγγιση του γλεύκους και στη συνέχεια ακολούθησε η διαίρεσή του γλεύκους σε 2 δεξαμενές, στις οποίες τοποθετήθηκαν 60 λίτρα γλεύκους στην καθεμία. Ακολούθως, έγινε ο εμβολιασμός της κάθε δεξαμενής με διαφορετικό στέλεχος ζυμομύκητα η κάθε μια (Zymaflore X5, Vivace), και προσθήκη οργανικού αζώτου σε συγκέντρωση 25 g/hL (Springferm, Fermentis). Το springferm αποτελεί ενεργοποιητή της ζύμωσης που βασίζεται σε μερικώς αυτολυμένα κύτταρα ζυμών, περίπου 3 φορές πλουσιότερα σε αφομοιώσιμο άζωτο σε σχέση με τα μη-ενεργοποιημένα κύτταρα ζυμών. Παράγει αμινοξέα, στερόλες, μέταλλα και βιταμίνες (www.fermentis.com).

Την επόμενη ημέρα ακολούθησε η διαίρεση των 2 δεξαμενών, σε 18 περιέκτες των 5L η κάθε μια και έγινε προσθήκη ρητίνης σε 2 διαφορετικές συγκεντρώσεις (0, 0,5, 1 g/L) και η προσθήκη medium toast Αμερικάνικης και Γαλλικής δρυός σε

συγκέντρωση 1,5 g/L. Με αυτόν τον τρόπο το γλεύκος χωρίστηκε στα δείγματα όπως φαίνονται στην εικόνα 2.

Μετά το πέρας 4 ημερών από την αρχή της ζύμωσης έγινε προσθήκη ανόργανου αζώτου (DAP, διφωσφορικό διαμμώνιο) σε συγκέντρωση 25 g/L. Καθημερινά γινόταν δειγματοληψία από όλες τις δεξαμενές (συλλέγονταν γλεύκος σε αεροστεγείς και υδατοστεγείς περιέκτες των 60 ml) και γίνονταν μετρήσεις σακχαροπεριεκτικότητας (°Brix) και θερμοκρασιών (T).

Η αλκοολική ζύμωση ολοκληρώθηκε σε διάστημα 13 ημερών. Μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης, έγινε αφαίρεση της ρητίνης ενώ τα chips δρυός στις 30 μέρες από την ημέρα που έγινε η προσθήκη τους. Οι περιέκτες τοποθετήθηκαν σε ψύξη στους 4 °C και εμφιαλώθηκαν αργότερα. Κατά την εμφιάλωση προστέθηκαν 5 g/hl metabisulfite.

Ζύμη Zymaflore X5								
Μάρτυρας ZM			Ρετσίινι ZP1 0,5 g/L			Ρετσίινι ZP2 1 g/L		
Προσθήκη chips (Α)μερικανική δρυ (Γ)αλλική δρυ			Προσθήκη chips (Α)μερικανική δρυ (Γ)αλλική δρυ			Προσθήκη chips (Α)μερικανική δρυ (Γ)αλλική δρυ		
↙	↓	↘	↙	↓	↘	↙	↓	↘
Μάρτ	1,5 g/L Αμερικανική	1,5 g/L Γαλλική	Μάρτ	1,5 g/L Αμερικανική	1,5 g/L Γαλλική	Μάρτ	1,5 g/L Αμερικανική	1,5 g/L Γαλλική
ZMM	ZMA	ZMG	ZP1M	ZP1A	ZP1Γ	ZP2M	ZP2A	ZP2Γ

Ζύμη Vivace								
Μάρτυρας VM			Ρετσίινι VP1 0,5 g/L			Ρετσίινι VP2 1 g/L		
Προσθήκη chips (Α)μερικανική δρυ (Γ)αλλική δρυ			Προσθήκη chips (Α)μερικανική δρυ (Γ)αλλική δρυ			Προσθήκη chips (Α)μερικανική δρυ (Γ)αλλική δρυ		
↙	↓	↘	↙	↓	↘	↙	↓	↘
Μάρτ	1,5 g/L Αμερικανική	1,5 g/L Γαλλική	Μάρτ	1,5 g/L Αμερικανική	1,5 g/L Γαλλική	Μάρτ	1,5 g/L Αμερικανική	1,5 g/L Γαλλική
VMM	VMA	VMΓ	VP1M	VP1A	VP1Γ	VP2M	VP2A	VP2Γ

Εικόνα 2 Σχεδιασμός Πειράματος.

Στα δείγματα των μικροοινοποιήσεων (των παραγόμενων οίνων), πραγματοποιήθηκαν κλασικές αναλύσεις και εξειδικευμένες αναλύσεις όπως: προσδιορισμός ρυθμού οξείδωσης, προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας, ανάλυση GC για τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων ανάλυση HPLC για τον προσδιορισμό οργανικών οξέων και των φαινολικών ενώσεων. Επίσης διεξήχθη και οργανοληπτικός έλεγχος.

3 Υλικά και Μέθοδοι

3.1 Κλασικές Αναλύσεις

3.1.1 Αναλύσεις ολικής οξύτητας

Ποτενσιομετρική ογκομέτρηση ή ογκομέτρηση παρουσία κυανού της βρωμοθυμόλης ως δείκτη του τέλους της αντίδρασης με σύγκριση προς ένα χρωματικό πρότυπο.

➤ Αντιδραστήρια

1. Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 0,1 N
2. Διάλυμα κυανού της βρωμοθυμόλης 4 g/l

➤ Παρασκευή διαλυμάτων :

- **Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου NaOH κανονικότητας 0,1 N:** Σε ποτήρι ζέσεως διαλύονται 4g NaOH σε ικανή ποσότητα απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα μεταφέρεται και ξεπλένεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 1000mL όπου συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή στους 20° C.

➤ Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

- Ποτήρια ζέσεως χωρητικότητας 50 ml
- Σιφόνιο πλήρωσης 10 mL
- Ογκομετρικός κύλινδρος
- Ελαστικό poire (πληρωτής σιφωνίων)
- Προχοΐδα
- Ορθοστάτης με λαβίδα
- Υδροβολέας με απιονισμένο νερό
- Κωνική φιάλη 250 mL

Ογκομέτρηση με δείκτη κυανό της βρωμοθυμόλης (BBT)

- Προετοιμασία του δείγματος: απομάκρυνση του διοξειδίου του άνθρακα .

Σε φιάλη κενού φέρονται περίπου 50 ml οίνου, αναδεύονται και ταυτόχρονα δημιουργείται κενό με τη βοήθεια της υδραντλίας. Η ανάδευση πρέπει να διαρκεί ένα έως δύο λεπτά.

- Ποσοτικός προσδιορισμός

Σε κωνική φιάλη ή ποτήρι ζέσεως φέρονται: 10 ml δείγματος οίνου, 30 ml απεσταγμένου νερού και 1mL διαλύματος κυανού της βρωμοθυμόλης. Προστίθεται, σταδιακά, διάλυμα NaOH 0,1 N μέχρι να επιτευχθεί αλλαγή στο χρωματισμό. Έστω n ο αριθμός των χλιοστολίτρων διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου 0,1 N που καταναλώνονται.

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Μονάδες μέτρησης

Η ολική οξύτητα εκφράζεται σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο (g/L).

Τρόπος υπολογισμού

Η ολική οξύτητα, εκφραζόμενη σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο, δίδεται από τον τύπο: $A' = 0,075 \times A$ με ένα δεκαδικό ψηφίο.

3.1.2 Ενεργός οξύτητα-pH

Μέτρηση της διαφοράς δυναμικού μεταξύ δύο ηλεκτροδίων βυθισμένων στο εξεταζόμενο υγρό. Το δυναμικό του ενός από τα δύο ηλεκτρόδια αποτελεί συνάρτηση του pH του υγρού, ενώ το δεύτερο ηλεκτρόδιο διατηρεί σταθερό και γνωστό δυναμικό και αποτελεί το ηλεκτρόδιο αναφοράς.

- Αντιδραστήρια

Ρυθμιστικά διαλύματα βαθμονόμησης-buffer solutions:

- Ρυθμιστικό διάλυμα pH=4,01 στους 25° C
- Ρυθμιστικό διάλυμα pH=6,85 στους 25° C

- Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

- **Ηλεκτρόδια:**

Ηλεκτρόδιο που αντικαθιστά το γυάλινο και το ηλεκτρόδιο αναφοράς πρέπει να φυλάσσεται μέσα σε απεσταγμένο νερό.

Πριν από κάθε μέτρηση ρυθμίζεται το μηδέν της κλίμακας, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή της χρησιμοποιούμενης συσκευής.

Τρόπος εργασίας

Βυθίζεται το ηλεκτρόδιο στο προς ανάλυση δείγμα, του οποίου η θερμοκρασία πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 20 και 25 °C, αλλά να είναι όσο το δυνατόν πλησιέστερη στους 20 °C. Η τιμή του pH προκύπτει με απευθείας ανάγνωση από την κλίμακα του οργάνου. Εκτελούνται τουλάχιστον δύο προσδιορισμοί στο ίδιο δείγμα. Το αποτέλεσμα είναι ο αριθμητικός μέσος όρος των αποτελεσμάτων των προσδιορισμών.

Έκφραση των αποτελεσμάτων

Το pH του γλεύκους, του οίνου ή του διαλύματος διορθωμένου συμπυκνωμένου γλεύκους 25% (m/m) (25° Brix) εκφράζεται με δύο δεκαδικά ψηφία.

EL C 43/40 Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης 19.2.201

3.1.3 Ολικός και ελεύθερος SO₂

Ο προσδιορισμός του θειώδη ανυδρίτη βασίζεται στην ιδιότητα του να οξειδώνεται από το I₂:

1. Οξείδωση του SO₂⁻: $\text{SO}_2^- + 2 \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{SO}_4 + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^-$
2. Αναγωγή του I₂: $\text{I}_2 + 2\text{e}^- \longrightarrow 2\text{I}^-$
3. Συνολική αντίδραση: $\text{SO}_2^- + 2 \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{H}_2\text{SO}_4 + 2 \text{HI}$

Η οξείδωση γίνεται σε όξινο περιβάλλον, διαφορετικά το ιώδιο οξειδώνει τις πολυφαινόλες. Επιπλέον, η αντίδραση δεν είναι ποσοτική σε μη όξινο περιβάλλον.

➤ Αντιδραστήρια

- Διάλυμα υδροξυλίου του καλίου KOH 1N
- Διάλυμα θεικού οξέος H₂SO₄ 25%
- Διάλυμα αμύλου 11 g/L
- Διάλυμα ιωδίου I₂ N/50

➤ Παρασκευή διαλυμάτων:

- **Διάλυμα αμύλου 5 g/l** : Ποσότητα 5 g αμύλου διαλύεται σε 500 ml νερού περίπου. Το διάλυμα θερμαίνεται μέχρι βρασμού υπό ανάδευση και ο βρασμός διατηρείται επί δέκα λεπτά. Προστίθενται 200 g χλωριούχου

νατρίου (NaCl) και, αφού ψυχθεί το διάλυμα, συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι ένα λίτρο.

- **Διάλυμα ιωδίου (I₂) N/50:** Παρασκευάστηκε από πυκνό διάλυμα ιωδίου 0.1 N μετά από αραίωση

➤ Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

1. Κωνική φιάλη των 250 mL
2. Σιφώνιο πλήρωσης των 50mL, 25 mL και των 10mL
3. Ελαστικό poire (πληρωτής σιφωνίων)
4. Προχοΐδα
5. Ορθοστάτης με λαβίδα
6. Χωνί

Τρόπος εργασίας

➤ Για τον προσδιορισμό του ελεύθερου SO₂:

Σε κωνική φιάλη των 250 mL φέρονται:

- 50 mL δείγματος οίνου
- 5 mL H₂SO₄ 25%
- 1 mL διαλύματος αμύλου

Ακολουθεί άμεση ογκομέτρηση με διάλυμα ιωδίου (I₂) N/50 μέχρι το τελικό σημείο όπου η κυανή χροιά παραμένει σαφής για 10 – 15 sec.

Έκφραση αποτελεσμάτων

Έστω n ο αριθμός των καταναλωθέντων mL (I₂) N/50. Η περιεκτικότητα του οίνου σε ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη είναι $n \cdot 12.8 \text{ mg/L free SO}_2$.

➤ Για τον προσδιορισμό του ολικού SO₂⁻

Σε κωνική φιάλη των 250 mL φέρονται:

- 50 mL δείγματος οίνου
- 25 mL KOH 1N

Το μίγμα ανακινείται και αφήνεται να αντιδράσει για 10 min. Στην συνέχεια προστίθενται :

- 10 mL H₂SO₄ 25%
- 1 mL διαλύματος αμύλου

Ακολουθεί άμεση ογκομέτρηση με διάλυμα ιωδίου (I₂) N/50 μέχρι το τελικό σημείο όπου η κυανή χροιά παραμένει σαφής για 10 – 15 sec.

Έκφραση αποτελεσμάτων

Έστω n ο αριθμός των καταναλωθέντων mL (I₂) N/50. Η περιεκτικότητα του οίνου σε ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη είναι $n \cdot 12.8 \text{ mg/l total SO}_2^-$

3.1.4 Πτητική οξύτητα

Ογκομέτρηση των πτητικών οξέων που διαχωρίζονται από τον οίνο με απόσταξη με υδρατμούς και συμπύκνωση των ατμών.

➤ Αντιδραστήρια

1. Κρυσταλλικό τρυγικό οξύ (C₄H₆O₆)
2. Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 0,1 N
3. Διάλυμα φαινολοφθαλεΐνης 1 % σε ουδέτερη αλκοόλη 96 % vol.
4. Υδροχλωρικό οξύ ($\rho_{20} = 1,18$ έως $1,19 \text{ g/ml}$) αραιωμένο σε αναλογία 1:4 (v/v)
5. Διάλυμα ιωδίου (I₂) 0,005 M
6. Κρυσταλλικό ιωδιούχο κάλιο (KI)
7. Διάλυμα αμύλου 5 g/l
8. Κορεσμένο διάλυμα βορικού νατρίου (Na₂B₄O₇ · 10 H₂O)

➤ Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

- Συσκευή απόσταξης με υδρατμούς αποτελούμενη από:

- 1) φιάλη παραγωγής υδρατμών οι παραγόμενοι υδρατμοί πρέπει να είναι απαλλαγμένοι διοξειδίου του άνθρακα,
- 2) φιάλη απόσταξης,
- 3) αποστακτική στήλη,
- 4) ψυκτήρα.

➤ Ποσοτικός προσδιορισμός

- a) Προετοιμασία δείγματος:

Απομάκρυνση CO₂ με αντλία σε φιάλη κενού όπως περιγράφηκε στην προετοιμασία δείγματος για την μέτρηση της ολικής οξύτητας

b) Απόσταξη με υδρατμούς

Στη φιάλη απόσταξης φέρονται 20 ml οίνου από τον οποίο έχει απομακρυνθεί το διοξείδιο του άνθρακα. Προστίθενται περίπου 0,5 g τρυγικού οξέος και συλλέγονται τουλάχιστον 250 ml αποστάγματος.

c) Ογκομέτρηση

Αρχικά το απόσταγμα ογκομετρείται με διάλυμα NaOH 0,1 N, με δείκτη την φαινολοφθαλεΐνη. Έστω n ml ο όγκος που καταναλώνεται.

Έπειτα, προστίθενται τέσσερις σταγόνες υδροχλωρικού οξέος, αραιωμένου σε αναλογία 1:4, 2 ml διαλύματος αμύλου και μερικοί κρύσταλλοι ιωδιούχου καλίου. Ογκομετρείται, έτσι, το ελεύθερο διοξείδιο του θείου με διάλυμα ιωδίου 0,005 M. Έστω n' ml ο όγκος που καταναλώνεται.

Τέλος, προστίθεται το κορεσμένο διάλυμα βορικού νατρίου μέχρι να επανεμφανιστεί ο ρόδινος χρωματισμός. Ογκομετρείται το δεσμευμένο διοξείδιο του θείου με διάλυμα ιωδίου 0,005 M. Έστω n'' ml ο όγκος που καταναλώνεται.

Έκφραση αποτελεσμάτων

Επειδή από τα οξέα αυτά, επικρατέστερο είναι το οξικό, η πτητική οξύτητα εκφράζεται συνήθως σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο.

Τρόπος υπολογισμού : ο τύπος $A = 5 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$ δίνει την πτητική οξύτητα σε χιλιοστοϊσοδύναμα ανά λίτρο, με ένα δεκαδικό ψηφίο, ενώ, ο τύπος $0,300 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$ σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο, με δύο δεκαδικά ψηφία.

3.1.5 Ανάγοντα Σάκχαρα

Τα αναγωγικά σάκχαρα αποτελούνται από το σύνολο των σακχάρων που διαθέτουν ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα και προσδιορίζονται κάνοντας χρήση της θεμελιώδους ιδιότητας των ομάδων αυτών να ανάγουν το αλκαλικό διάλυμα του χαλκού.

➤ Προετοιμασία δείγματος : Αποχρωματισμός οίνων με ενεργό άνθρακα

- Ποσότητα οίνου μεταφέρεται σε ποτήρι ζέσεως και προστίθεται σε αυτό ποσότητα λεπτόκοκκου ενεργού άνθρακα ανάλογη του δείγματος.

- Ακολουθεί ανάδευση και το δείγμα αφήνεται σε ηρεμία για 1-2 λεπτά. Ο χρόνος παραμονής είναι ανάλογος της συγκέντρωσης των χρωστικών που περιέχονται στον οίνο. Δεν πρέπει να ξεπερνιούνται τα 10 λεπτά γιατί υπάρχει κίνδυνος ο ενεργός άνθρακας να απορροφά ένα μέρος των σακχάρων.
- Μετά την δράση του ενεργού άνθρακα ακολουθείται διήθηση σε πτυχωτό ηθμό με χρήση διηθητικού χαρτιού. Το μέγεθος πόρων πρέπει να είναι μικρότερο της διαμέτρου των σωματιδίων του ενεργού άνθρακα, ώστε αυτός να κατακρατηθεί στον ηθμό και να περάσει στο διήθημα ο διαυγής πλέον οίνος. Όσο μικρότερο είναι το μέγεθος των πόρων του διηθητικού χαρτιού τόσο μεγαλύτερη θα είναι και η διάρκεια της διήθησης.
- Κατά τον αποχρωματισμό των ερυθρών οίνων ενδείκνυται προσθήκη μικρής ποσότητας λεπτόκοκκου ενεργού άνθρακα στη βάση του ηθμού, στον οποίο θα πραγματοποιηθεί η διήθηση. Στους λευκούς οίνους το στάδιο αυτό δεν είναι απαραίτητο.

Προσδιορισμός των αναγωγικών σακχάρων του οίνου με την μέθοδο Luff

Αρχή της μεθόδου

Το προς ανάλυση δείγμα οίνου ή γλεύκους, μετά την διαύγαση του, αφήνεται υπό την επίδραση ορισμένης ποσότητας αλκαλικού διαλύματος χαλκού και η περίσσεια των ιόντων χαλκού προσδιορίζεται ιωδιομετρικώς

➤ Αντιδραστήρια

- Αλκαλικό διάλυμα χαλκού
- Διάλυμα ιωδιούχου καλίου 30 %
- Θεικό οξύ H_2SO_4 25 %
- Πυκνό διάλυμα αμύλου 5 g/l:
- Διάλυμα θειοθειικού νατρίου $\text{Na}(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$ 0,1 N

➤ Παρασκευή Διαλυμάτων

- **Αλκαλικό διάλυμα θεικού χαλκού :** Σε ποτήρι ζέσεως των 200mL, μεταφέρονται 25 g χημικά καθαρού θεικού χαλκού ($\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$) και διαλύονται σε 100 mL αποσταγμένου νερό, υπό ανάδευση. 50 g κιτρικού οξέος ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7, \text{H}_2\text{O}$) διαλύονται υπό ανάδευση σε 300 mL αποσταγμένου νερού, σε ποτήρι ζέσεως των 500mL. Κρυσταλλικό ανθρακικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{CO}_3, 10\text{H}_2\text{O}$) 388 g διαλύεται σε 300mL αποσταγμένου νερού που βράζει,

σε ποτήρι ζέσεως των 1000mL. Αναμιγνύεται στη συνέχεια, το διάλυμα του κιτρικού οξέος με το διάλυμα του ανθρακικού νατρίου. Προστίθεται τέλος, το διάλυμα του θεικού χαλκού υπό συνεχή ανάδευση. Το τελικό διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 1000mL, συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι την χαραγή, στους 20° C.

- **Διάλυμα ιωδιούχου καλίου 30 %:** Διαλύονται 30g Ιωδιούχου καλίου (KI) σε απεσταγμένο νερό. Το διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 100mL . Απογεμίζεται με αποσταγμένο νερό στους 20°C. Το διάλυμα φυλάσσεται σε σκούρα φιάλη, καθώς το KI είναι ευαίσθητο στην παρουσία φωτός.
- **Θεικό οξύ 25 %:** Θεικό οξύ καθαρό (H_2SO_4) $\rho_{20} = 1,84$ g/ml 25 g προστίθεται σε αποσταγμένο νερό. Το διάλυμα αφήνεται να ψυχθεί και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 100ml.
- **Πυκνό διάλυμα αμύλου 5 g/l:** Διαλύονται 5 g αμύλου σε 500 ml περίπου ύδατος. Φέρεται σε βρασμό υπό ταυτόχρονη ανάδευση και ο βρασμός διατηρείται επί δέκα λεπτά. Προστίθενται 200 g χλωριούχου νατρίου (NaCl). Αφού ψυχθεί, το διάλυμα συμπληρώνεται μέχρις όγκου ενός λίτρου.

➤ Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

1. Κωνική φιάλη με εσμύρισμα 250 mL
2. Σιφώνια πλήρωσης των 25 mL και 10mL
3. Ποτήρια ζέσεως χωρητικότητας 50 ml
4. Ελαστικό poire (πληρωτής σιφωνίων)
5. Προχοΐδα
6. Ορθοστάτης με λαβίδα
7. Χωνί
8. Ογκομετρική φιάλη των 100mL
9. Υδροβολέας με απιονισμένο νερό

Τρόπος εργασίας

Σε κωνική φιάλη των 250 mL με εσμύρισμα μεταφέρεται ποσότητα καθαρού, διαυγούς δείγματος, ανάλογη της περιεκτικότητας του σε σάκχαρα, σύμφωνα με τον πίνακα 7.

Πίνακας 1 Προτεινόμενες αραιώσεις - Μέθοδος LUFF.

ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΟΙΝΟΥ ΑΡΑΙΩΣΕΙΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΣΑΚΧΑΡΩΝ	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΔΙΑΙΡΕΣΗΣ
25 ml	< 2 g/l	25
20 ml	< 3 g/l	20
10 ml	< 6 g/l	10
5 ml	< 12 g/l	5
20 ml → 200 ml ↓ 20 ml	< 30 g/l	2
10 ml → 200 ml ↓ 20 ml	< 60 g/l	1
10 ml → 200 ml ↓ 10 ml	< 120 g/l	0,5
10 ml → 200 ml ↓ 5 ml	< 240 g/l	0,25

- 25mL αλκαλικού διαλύματος χαλκού μεταφέρονται με σιφώνιο πλήρωσης σε κωνική φιάλη με εσμύρισμα , όπου υπάρχει η κατάλληλη ποσότητα δείγματος
- Η κωνική φιάλη εφαρμόζεται κάθετο ψυκτήρα και το δείγμα υφίσταται βρασμό για 10 min.
- Στη συνέχεια η κωνική φιάλη εφαρμόζεται σε κάθετο ψυκτήρα και το μίγμα εκτίθεται σε βρασμό για 10 λεπτά (υπολογίζεται από τη στιγμή που αρχίζει να βράζει). Επακολουθεί ψύξη με τρεχούμενο νερό και προστίθενται σταδιακά και υπό ανάδευση 10mL KI 30%(w/v), 25mL θειικό οξύ (H_2SO_4) 25% και δείκτης άμυλου.

Τιτλοδότηση

Ακολουθεί τιτλοδότηση με θειοθειικό νάτριο ($Na_2S_2O_3$) 0,1N. Το τελικό σημείο της ογκομέτρησης προσδιορίζεται με την αλλαγή του χρώματος σε λευκό, όπως φαίνεται στην εικόνα.

Έκφραση αποτελεσμάτων

Έστω n τα mL που καταναλώθηκαν από την ογκομέτρηση μέχρι το διάλυμα να πάρει χρώμα λευκό του γάλακτος και n' τα mL που καταναλώθηκαν στο λευκό προσδιορισμό (τυφλό).

Υπολογισμός αποτελεσμάτων

Από το σχετικό πίνακα βρίσκεται η αντιστοιχία της διαφοράς ($n'-n$) και των mg των σακχάρων που περιέχονται στα mL διηθήματος που χρησιμοποιήθηκαν. Το αποτέλεσμα του πίνακα διαρείται με τον συντελεστή διαίρεσης ανάλογα με την ποσότητα του διηθήματος που χρησιμοποιήθηκε. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε g σακχάρων ανά λίτρο οίνου.

π.χ. έστω ότι χρησιμοποιήθηκαν 20mL διηθήματος και καταναλώθηκαν για το τυφλό $n'=25$ mL και για το δείγμα $n=12$ mL, τότε έχουμε

$n'-n = 25 - 12.2 = 12.8$, από τον πίνακα βρίσκουμε ότι το 12.8 αντιστοιχεί σε 32.46 και διαιρούμε με τον συντελεστή που αντιστοιχεί στα 20mL διαηγούς διηθήματος δηλ, $32.46/20 = 1,62$ g/L ανάγοντα σάκχαρα στον οίνο.

Πίνακας 2 Αντιστοιχία όγκου (n' - n) Na₂S₂O₃ 0,1N & ποσότητας (mg) αναγόντων σακχάρων.

ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΙΑ ΟΓΚΟΥ (n' - n) Na₂S₂O₃ 0,1N & ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ (mg) ΑΝΑΓΩΝΤΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ										
		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	0	0,24	0,48	0,72	0,96	1,20	1,44	1,68	1,92	2,16
1	2,40	2,64	2,88	3,12	3,36	3,60	3,84	4,08	4,32	4,56
2	4,80	5,05	5,30	5,55	5,80	6,05	6,30	6,55	6,80	7,05
3	7,20	7,45	7,70	7,95	8,20	8,45	8,70	8,95	9,20	9,45
4	9,70	9,95	10,20	10,45	10,70	10,95	11,20	11,45	11,70	11,95
5	12,20	12,45	12,70	12,95	13,20	13,45	13,70	13,95	14,20	14,45
6	14,70	14,95	15,20	15,45	15,70	15,95	16,20	16,45	16,70	16,95
7	17,20	17,46	17,72	17,98	18,24	18,50	18,76	19,02	19,28	19,54
8	19,80	20,06	20,32	20,58	20,84	21,10	21,36	21,62	21,88	22,14
9	22,40	22,66	22,92	23,18	23,44	23,70	23,96	24,22	24,48	24,74
10	25,00	25,26	25,52	25,78	26,04	26,30	26,56	26,82	27,08	27,34
11	27,60	27,87	28,14	28,41	28,68	28,95	29,22	29,49	29,76	30,03
12	30,80	30,57	30,84	31,11	31,38	31,65	31,92	32,19	32,46	32,73
13	33,00	33,27	33,54	33,81	34,08	34,35	34,62	34,98	35,16	35,43
14	35,70	35,98	36,26	36,54	36,82	37,10	37,38	37,66	37,94	38,22
15	38,50	38,78	39,06	39,34	39,62	39,90	40,18	40,46	40,74	41,02
16	41,80	41,59	41,88	42,17	42,46	42,75	43,04	43,33	43,62	43,91
17	44,20	44,49	44,78	46,07	45,36	45,65	45,94	46,23	46,52	46,81
18	47,10	47,39	47,68	47,97	48,26	48,55	48,84	49,13	49,42	49,71
19	50,00	50,30	50,60	50,90	51,20	51,50	51,80	52,10	52,40	52,70

20	53,00	53,30	53,60	53,90	54,20	54,50	54,80	55,10	55,40	55,70
21	56,00	56,31	56,62	56,93	57,24	57,55	57,86	58,17	58,48	58,79
22	59,10	59,41	59,72	60,03	60,34	60,65	60,95	61,27	61,58	61,89
23	62,20	62,52	62,84	63,15	63,46	63,77	64,09	64,39	64,40	64,70
24	65,00	65,30	65,60							67,50
25	67,5									70,00

3.1.6 Αλκοολικός τίτλος

Ο αλκοολικός τίτλος κατ' όγκον ισούται με τον αριθμό των λίτρων αιθανόλης που περιέχονται σε 100 λίτρα οίνου, των δύο αυτών όγκων μετρουμένων σε θερμοκρασία 20ο C. Συμβολίζεται με το σύμβολο "% vol".

Μέθοδο απλής απόσταξης

Η μέθοδος αυτή συνίσταται στην απλή απόσταξη του υγρού αφού πρώτα το καταστήσουμε αλκαλικό. Η μέτρηση της πυκνότητας του αποστάγματος γίνεται με αραιόμετρο και ο αλκοολικός τίτλος προσδιορίζεται με προσέγγιση ενός δεκάτου (0,1 vol) περίπου.

➤ Εργαστηριακά σκεύη και όργανα

- Απλή αποστακτική συσκευή αποτελούμενη από
 - μία σφαιρική φιάλη από pyrex των 500ml που χρησιμεύει ως βραστήρας.
 - έναν επιμήκη ψυκτήρα από γυαλί και καταλήγει σε λεπτό σωλήνα, ο οποίος συνδέεται με την φιάλη.
- Προετοιμασία του δείγματος

Απομάκρυνση της μεγαλύτερης ποσότητας του εμπεριεχομένου διοξειδίου του άνθρακα με ανάδευση 250 - 300 ml οίνου σε φιάλη των 500 ml.

Τρόπος εργασίας

Σε μια ογκομετρική φιάλη των 200 ml ο οίνος μετριέται και σημειώνεται η θερμοκρασία.

Ο περιεχόμενος στην ογκομετρική φιάλη οίνος μεταγγίζεται στη σφαιρική φιάλη της συσκευής αποστάξεως. Η ογκομετρική φιάλη ξεπλένεται τέσσερις φορές με 5 mL ύδωρ το οποίο προστίθεται επίσης στη σφαιρική φιάλη ή στη φιάλη εισόδου των υδρατμών. Έπειτα προστίθενται μερικά τεμαχίδια του πορώδους ανενεργού υλικού (ελαφρόπετρα).

Το απόσταγμα συλλέγεται στην ογκομετρική φιάλη των 200 mL που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση του οίνου. Συλλέγεται απόσταγμα όγκου ίσου με τα τρία τέταρτα περίπου του αρχικού όγκου. Συμπληρώνεται μέχρι τα 200 mL με απεσταγμένο ύδωρ. Η θερμοκρασία του αποστάγματος δεν πρέπει να αποκλίνει από την αρχική θερμοκρασία περισσότερο από $\pm 2^{\circ}\text{C}$. Το απόσταγμα αναμειγνύεται προσεκτικά με κυκλικές κινήσεις. Το απόσταγμα φέρεται στον κυλινδρικό σωλήνα.. Εμβαπτίζονται το θερμόμετρο και το αλκοολόμετρο. Η ανάγνωση του θερμομέτρου γίνεται ένα λεπτό μετά από την ανακίνηση του συνόλου προς εξισορρόπηση των θερμοκρασιών του σωλήνα, του θερμομέτρου, του αλκοολομέτρου και του αποστάγματος. Το θερμόμετρο απομακρύνεται και μετά από ένα λεπτό διαβάζεται στο αλκοολόμετρο ο φαινομενικός αλκοολικός τίτλος. Γίνονται τουλάχιστον τρεις αναγνώσεις. Ο φαινομενικός τίτλος που μετράτε στους 20°C διορθώνεται ως προς τη θερμοκρασία.

Η θερμοκρασία του υγρού πρέπει να είναι παραπλήσια της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος (διαφορά όχι μεγαλύτερη από 5°C).

3.1.7 Ένταση Απόχρωση

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, οι φασματοφωτομετρικές μετρήσεις γίνονται σε κυψελίδα πάχους 10 mm και με απεσταγμένο νερό ως τυφλό. Η εκτίμηση του χρώματος των λευκών οίνων γίνεται με μέτρηση της απορρόφησης στα 420 nm, όπου μετριέται το κίτρινο χρώμα. Η ένδειξη στα 420nm δείχνει το βαθμό οξείδωσης των λευκών οίνων, όσο πιο οξειδωμένος είναι ένας οίνος τόσο μεγαλύτερη η απορρόφηση στα 420nm.

3.1.8 Δείκτης FOLIN-CIOCALTEU

Είναι η επίσημη μέθοδος του OIV. Μετρά το σύνολο των φαινολικών ουσιών αλλά υστερεί σε ευκολία έναντι του ΔΦΟ. Πρόκειται για φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων του οίνου από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu.

Χρησιμοποιείται για την μέτρηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου χωρίς να γίνεται διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών ή μεγαλύτερων φαινολικών συστατικών. Το κύριο αντιδραστήριο της μεθόδου, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu, είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφο-μολυβδαινικά ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) και φωσφο-βολφραμικά ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) ετεροπολυμερή οξέα.

Τα φαινολικά ιόντα οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Κατά την οξείδωση των φαινολών, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}). Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750 nm και είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων.

Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα Na_2CO_3 . Οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται με τον δείκτη Folin-Ciocalteu εκφράζονται πολύ συχνά σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος.

➤ Υλικά και εξοπλισμός

- Πιπέτες ή σιφόνια
- Ογκομετρικές φιάλες των 20 mL
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu
- - Ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3) 20% (w/v)
- Φασματοφωτόμετρο, κυψελίδες

➤ Διαδικασία προσδιορισμού

Ερυθροί οίνοι

➤ Σε ογκομετρική φιάλη των 20 mL φέρονται με την ακόλουθη σειρά:

- 0,2 mL οίνου αραιωμένου στο 1/5
- 10 mL απεσταγμένου ύδατος
- 1 mL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu
- 4 mL διαλύματος ανθρακικού νατρίου

Το διάλυμα συμπληρώνεται μέχρι τα 20 mL με απεσταγμένο νερό. Ακολουθεί ανάδευση ώστε το διάλυμα να γίνει ομοιόμορφο και αφήνεται σε ηρεμία για 30 λεπτά για να αναπτυχθεί και να σταθεροποιηθεί το χρώμα της αντίδρασης. Στο τέλος του χρόνου μετريέται η απορρόφηση στα 750 nm με κυψελίδα 1 cm. Για τον μάρτυρα της μεθόδου ακολουθείται η ίδια διαδικασία μόνο που στη θέση του οίνου χρησιμοποιείται νερό.

Λευκοί οίνοι

Ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τη διαφορά ότι ο λευκός οίνος δεν αραιώνεται.

Έκφραση αποτελεσμάτων

Το αποτέλεσμα εκφράζεται με τη μορφή δείκτη με την παρακάτω σχέση

$$\text{Δείκτης FC} = A_{750} \times 100$$

για ερυθρούς οίνους αραιωμένους στο 1/5 (ή με το συντελεστή που αντιστοιχεί στη αραιώση) και

$$\text{Δείκτης FC} = A_{750} \times 20$$

για λευκούς οίνους (μη αραιωμένους).

3.1.9 ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (ΔΦΟ)

Ο προσδιορισμός βασίζεται στην ισχυρή απορρόφηση που παρουσιάζουν οι βενζολικοί δακτύλιοι των φαινολικών ενώσεων στο υπεριώδες φως, το μέγιστο της οποίας παρατηρείται γύρω στα 280 nm. Μετρά την περιεκτικότητα των φλαβανοειδών φαινολών (ανθοκυάνες, ταννίνες), των μη φλαβανοειδών (φαινολικά οξέα) και κάποιων μη φαινολικών ουσιών που απορροφούν στα 280 nm.

Ο ΔΦΟ είναι γρήγορη και εύκολη μέθοδος και δίνει επαναλήψιμα αποτελέσματα. Ο δείκτης αυτός χρησιμοποιείται, σχεδόν κατά αποκλειστικότητα, στην οινοποιητική τεχνική, έναντι του δείκτη Folin–Ciocalteu λόγω της ευκολίας εφαρμογής. Μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί το γεγονός ότι ορισμένες ενώσεις όπως τα κινναμωμικά οξέα και οι χαλκόνες, δεν παρουσιάζουν μέγιστο απορρόφησης στα 280 nm. Το σφάλμα αυτό θεωρείται μικρό, μια και η περιεκτικότητα των παραπάνω ουσιών στα σταφύλια και τους οίνους είναι χαμηλή.

➤ Υλικά και εξοπλισμός

- Φασματοφωτόμετρο
- Φυγόκεντρος ή ηθμός 1,2 μm
- Κυψελίδες χαλαζία μήκους οπτικής διαδρομής 1 cm
- Ογκομετρική φιάλη των 100 mL
- Σιφώνιο 1 mL

➤ Διαδικασία προσδιορισμού

Το δείγμα του γλεύκους ή του οίνου φυγοκεντρείται στις 4000 rpm για 5 min. Στην συνέχεια λαμβάνεται με σιφώνιο 1 mL από αυτό και μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL όπου αραιώνεται με απιονισμένο νερό μέχρι την χαραγή των 100

mL (αραίωση 1:100). Μετρίεται η απορρόφηση σε μήκος κύματος 280 nm. Ο ΔΦΟ προκύπτει από την ακόλουθη σχέση:

$$\Delta\Phi\text{O} = \text{OD} \times \text{Αραίωση δείγματος (εδώ 100)}$$

Όπου OD: η ένδειξη του οργάνου

3.2 Οξειδωσιμότητα

3.2.1 Τεστ ταχείας αμαύρωσης

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της ανάπτυξης της αμαύρωσης των οίνων (Sioumis, Kallithraka, Makris, Kefalas, 2006) είναι μια παραλλαγή αυτής που περιεγράφηκε από τους Singleton and Kramling(1976). Συγκεκριμένα σε κάθε μπουκάλι του πειράματος αντιστοιχούν 3 φιαλίδια βιδωτά με καπάκι (vial). Τα φιαλίδια είναι 3 με σκοπό τη μεγαλύτερη ακρίβεια, τον έλεγχο της επαναληψιμότητας και συνεπώς πιο ακριβή αποτελέσματα.

Στα γυάλινα φιαλίδια βιδωτού καλύμματος των 45 mL (μήκος 9,5 cm, εσωτερική διάμετρος 2,5 cm) μεταφέρθηκαν μέσω ογκομετρικού κυλίνδρου και στη συνέχεια διηθήθηκαν μέσω φαρμακευτικού βαμβακιού 30 mL δείγματος οίνου, πάνω στα οποία επισημαίνεται ο αντίστοιχος κωδικός του οίνου. Τα vials γεμίζονται κατά τα 2/3 έτσι ώστε να παραμείνει 1/3 κενός χώρος για να εισέλθει το οξυγόνο και να επέλθει οξείδωση.

Έπειτα όλα τα vials υποβάλλονται σε θέρμανση υπό σταθερή θερμοκρασία $55,0 \pm 0,2$ °C (τακτική παρατήρηση με τη βοήθεια θερμομέτρου) μέσα σε ειδικό υδατόλουτρο (προσθήκη νερού σε περίπτωση που δεν καλύπτονται τα vials) και συνθήκες σκότους. Τα vials αποσύρονται από το υδατόλουτρο κάθε 24 ώρες και αφού αφεθούν για διάστημα περίπου 1 ώρας να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος, με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου καταγράφεται η απορρόφηση των δειγμάτων στα 420 nm (A420).

Για το μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου χρησιμοποιείται απιονισμένο νερό ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε γυάλινες κυψελίδες και λάμπα αλογόνου. Το περιεχόμενο των κυψελίδων επιστρέφει πάντα στα φιαλίδια από τα οποία αντλήθηκε έτσι ώστε να διατηρηθεί σταθερός ο αρχικός όγκος του δείγματος και ο κενός χώρος, τα vials τοποθετούνται ξανά στο υδατόλουτρο. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για 12 μέρες.

Για κάθε δείγμα προκύπτει μία καμπύλη μεταβολής της απορρόφησης του μήκους κύματος στα 420 nm σε συνάρτηση με το χρόνο. Η εκτίμηση του χρώματος για

συγκεκριμένο χρονικό διάστημα δίνεται από την εξίσωση $A_{420} = A_{420_0} + kt$ όπου θεωρούμε ως A_{420} τη μεταβολή του χρώματος που προκύπτει στον οίνο, A_{420_0} την αρχική μέτρηση του χρώματος, συντελεστή k το ρυθμό μεταβολής του χρώματος και t το χρονικό διάστημα. Ο συντελεστής k χαρακτηρίζει την ταχύτητα μεταβολής του χρώματος και για κάθε δείγμα είναι διαφορετικός.

Όσο μικρότερη τιμή έχει που αντιστοιχεί στη μεταβολή της απορρόφησης του μήκους κύματος 420 nm τόσο πιο αργά θα εμφανιστούν οι καφέ αποχρώσεις και θα οξειδωθεί ο οίνος.

3.2.2 Αντιοξειδωτική ικανότητα – μέθοδος DPPH

Με την μέθοδο DPPH πραγματοποιείται η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Η μέθοδος, που αποτελεί μία παραλλαγή της μεθόδου που περιγράφηκε από τον Brand-Williams και τους συνεργάτες του (1995), στηρίζεται στην απορρόφηση της ρίζας 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH) (Εικόνα 5A). Όταν στο διάλυμα προστεθεί μία ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα DPPH ανάγεται με πρόσληψη ενός ατόμου υδρογόνου (ή ενός e^-) και μετατρέπεται σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη (Εικόνα 5B), η οποία έχει κίτρινο χρώμα, με αποτέλεσμα να ελαττώνεται η οπτική απορρόφηση. Η μέτρηση της απορρόφησης πραγματοποιείται στα 515nm.

➤ Υλικά και εξοπλισμός

- Πιπέτες, tips, κυψελίδες
- Ποτήρια ζέσεως
- Ζυγός
- Ογκομετρικός κύλινδρος
- Ογκομετρική φιάλες των 250, 25, 5 ml
- Φασματοφωτόμετρο
- Eppendorf
- Vortex
- DPPH (υπό μορφή κόκκων σε μικρό vial καλυπτόμενο με αλουμινόχαρτο για προστασία από το φώς. Συντήρηση εντός ψυγείου)
- Μεθανόλη
- Αιθανόλη 12%

➤ **Διαλύματα*:**

a) Μητρικό διάλυμα DPPH : Ο ζυγός μηδενίζεται με το ποτήρι ζέσεως που θα χρησιμοποιηθεί και προστίθεται σε αυτό ακριβώς 5,9 mg DPPH με την βοήθεια ειδικής σπάτουλας. Ακολούθως, πραγματοποιείται προσθήκη κάθε φορά μικρής ποσότητας μεθανόλης στο ποτήρι ζέσεως με ταυτόχρονη ανάδευση μέχρι διάλυσης των κόκκων DPPH. Τέλος, τοποθέτηση του περιεχομένου του ποτηριού σε ογκομετρική φιάλη των 250 ml και προσθήκη μεθανόλης μέχρι χαραγής. Το διάλυμα πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως. Διατηρείται στο ψυγείο μόνο μια μέρα.

b) Διάλυμα T (trolox 2mM) : Ο ζυγός μηδενίζεται με το ποτήρι ζέσεως που θα χρησιμοποιηθεί και προστίθεται σε αυτό ακριβώς 12,5 mg trolox με την βοήθεια ειδικής σπάτουλας. Αυτά διαλύονται σε 3ml αιθανόλης 12% και το διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml όπου και συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό μέχρι χαραγής.

➤ **Διαδικασία προσδιορισμού**

Σε erpendorf προστίθενται 25μL δείγματος οίνου (από τα φιαλίδια που βρίσκονται στο υδατόλουτρο) και 975μL μητρικού διαλύματος DPPH με την βοήθεια πιπετών.

Μετά την ανάδευση σε vortex για 30 sec μετράται η απορρόφηση σε μήκος κύματος 515nm (t=0) σε κυψελίδες με στένωση και χρήση λάμπας αλογόνου. Μετά το πέρας 30 λεπτών, πραγματοποιείται vortex και μετράται η απορρόφηση ξανά (t=30). Το φασματοφωτόμετρο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό.

Από τις δύο απορροφήσεις υπολογίζεται η % διαφορά στην απορρόφηση σύμφωνα με τον τύπο:

$$\% \Delta A (515) = [A(0)-A(30)/A(0)] \times 100$$

και μέσω της καμπύλης αναφοράς σε trolox εκφράζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα σε mg/L trolox.

Καμπύλη αναφοράς σε trolox

Για την πρότυπη καμπύλη αναφοράς παρασκευάζεται διάλυμα trolox με συγκέντρωση 2mM (διάλυμα A). Η καμπύλη αναφοράς γίνεται για τις συγκεντρώσεις 0.08, 0.5, 1, 1.5, 2 mM trolox.

Σε ογκομετρικές φιάλες των 5mL προστίθενται οι ανάλογες ποσότητες 0.2, 1.25, 2.5, 3.75 ml διαλύματος A και ο όγκος συμπληρώνεται με καθαρή αιθανόλη.

Πίνακας 3 Ποσοτική προσθήκη διαλύματος Α για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς σε trolox.

	τελική συγκέντρωση trolox σε mM	ποσότητα δ/τος Α σε τελικό όγκο 5ml με αιθανόλη
1	0,08	0,2 ml
2	0,5	1,25 ml
3	1	2,5 ml
4	1,5	3,75 ml
5	2	διάλυμα Α χωρίς αραίωση

Σε erppendorf προστίθενται 25μL του κάθε διαλύματος trolox και 975 μL μητρικού διαλύματος DPPH.

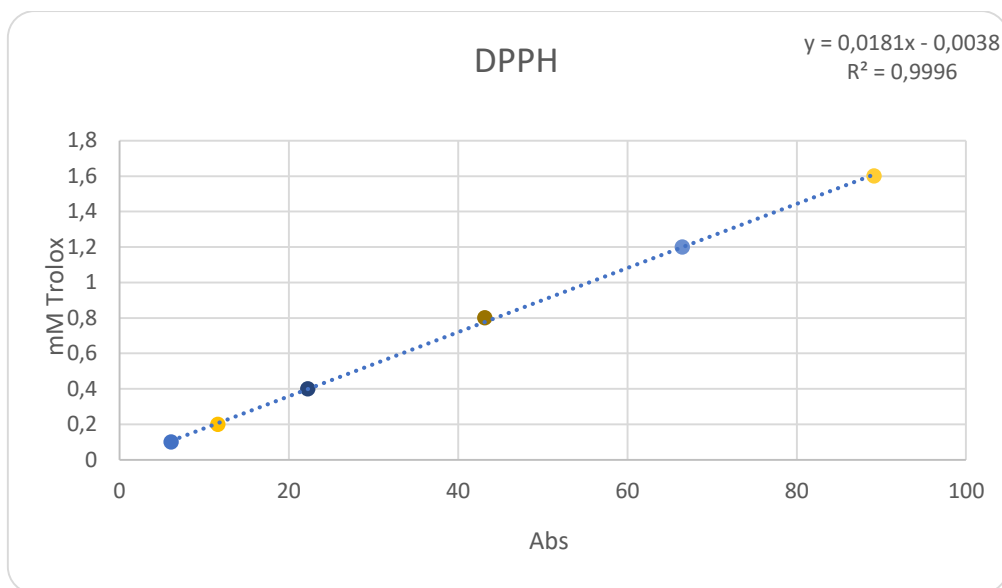
Μετά την ανάδευση σε vortex για 30 δευτερόλεπτα μετράται η απορρόφηση σε μήκος κύματος 515nm (t=0) σε κυψελίδες με στένωση και λάμπα αλογόνου. Μετά από 30 λεπτά μετράται η απορρόφηση ξανά (t=30). Το φωτόμετρο μηδενίζεται με απιονισμένο H₂O. Από τις δύο απορροφήσεις υπολογίζεται η % διαφορά στην απορρόφηση.

$$\% \Delta A (515) = [A(0) - A(30)/A(0)] \times 100$$

Η καμπύλη αναφοράς γίνεται μεταξύ των συγκεντρώσεων trolox και της % διαφοράς στην απορρόφηση.

➤ **Διαλύματα*:**

- Μητρικό διάλυμα DPPH : 5,9mg DPPH σε 250 mL μεθανόλης. Το διάλυμα πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως, διατηρείται στο ψυγείο μόνο μία μέρα.
- Διάλυμα Α (2mM trolox) : 12,5 mg trolox διαλύονται σε 25 mL 12% αιθανόλης.



Διάγραμμα 1 Πρότυπη Καμπύλη αναφοράς DPPH.

3.3 Μέθοδος υγρής-υγρής εκχύλισης αρωματικών συστατικών (liquid/liquid extraction)

➤ Αντιδραστήρια

- 3-οκτανόλη (0,1g/L)
- διχλωρομεθάνιο
- Na₂SO₄

➤ Διαδικασία

Σε 20 mL οίνου προστίθενται 200 mL 3-οκτανόλης, η οποία αποτελεί το εσωτερικό πρότυπο της μεθόδου. Στη συνέχεια προστίθενται 8 mL διχλωρομεθανίου, το οποίο είναι ο οργανικός διαλύτης στον οποίο εκχυλίζονται οι πτητικές ενώσεις, και μετά αναδεύουμε σε vortex για 1'. Έπειτα, φυγοκεντρούνται τα διαλύματα για 15' στις 6000 rpm και συλλέγεται η οργανική φάση με σύριγγα. Μετά διηθείται με ηθμό ο οποίος περιέχει Na₂SO₄ (~300mg) για κατακράτηση τυχόν ποσότητας υδατικής φάσης.

Ύστερα η οργανική φάση συμπυκνώνεται με αέριο άζωτο προς 1,5 mL και τοποθετείται στα κατάλληλα vials. Στη συνέχεια φορτώνονται στον αέριο χρωματογράφο.

Χρησιμοποιήθηκε το Agilent Technologies 7890A GC System συζευγμένο με το Agilent Technologies 5975C VL MSD with Triple-Axis Detector. Το πρόγραμμα του φούρνου είχε θερμοκρασία εισαγωγής τους 220°C.

Η θερμοκρασία αρχικά ήταν 40°C για 3 min, έπειτα αυξανόταν με ρυθμό 3°C/min έως τους 160°C και μετά με ρυθμό 10°C/min έως τους 240°C, όπου και παρέμεινε σταθερή για 10 min.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων με γνωστές συγκεντρώσεις των πτητικών ενώσεων ενδιαφέροντος, με σκοπό τον εντοπισμό του χρόνου έκλουσης καθεμιάς από αυτές και συνεπώς τον ποιοτικό προσδιορισμό τους, αλλά και την κατασκευή πρότυπων καμπυλών αναφοράς με σκοπό τον ποιοτικό προσδιορισμό τους.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που αναζητήθηκαν στα δείγματα ολοκληρώθηκε με τη σύγκριση των φασμάτων μάζας κορυφών στους χρόνους έκλουσης που σημειώθηκαν στα αντίστοιχα πρότυπα διαλύματα, με τα φάσματα μάζας των ενώσεων αυτών από βιβλιοθήκη (<https://webbook.nist.gov/chemistry/>).

3.4 Μέτρηση οργανικών οξέων και φαινολικών οξέων με τη χρήση υγρή χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)

Η HPLC είναι μια κατάλληλη τεχνική για τον ακριβή και επαναλήψιμο προσδιορισμό ενός μεγάλου φάσματος χημικών ενώσεων. Αποτελεί παραλλαγή της κλασικής χρωματογραφίας στήλης και η ταχύτατη εδραίωση της στο χώρο της ενόργανης ανάλυσης βασίστηκε κατά κύριο λόγο στην εξέλιξη των υλικών πλήρωσης της στήλης. Το κύριο πεδίο εφαρμογών της HPLC' είναι η ανάλυση φαρμάκων, τροφίμων και περιβαλλοντικών δειγμάτων (McMurry. 2005).

Ο διαχωρισμός των συστατικών στο συγκεκριμένο χρωματογραφικό σύστημα είναι αποτέλεσμα της συνδυαστικής δράσης μιας κινητής και μιας στατικής φάσης. Σε πρώτο στάδιο, το προς ανάλυση δείγμα εισάγεται στη χρωματογραφική στήλη όπου βρίσκεται η στατική φάση. Τα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται από την κινητή φάση, η οποία προωθείται στη στήλη με τη βοήθεια μιας αντλίας υψηλής πίεσης και κάτω από σωστά επιλεγμένες πειραματικές συνθήκες μετακινούνται διαμέσου της φάσης με διαφορετικές ταχύτητες και διαχωρίζονται.

Τα συστατικά, τα οποία εκλούνται από το άκρο της χρωματογραφικής στήλης, εισέρχονται στον κατάλληλο ανιχνευτή και τα σήματα καταγράφονται ως συνάρτηση του χρόνου, δίνοντας ένα διάγραμμα με μια σειρά κορυφών, το λεγόμενο χρωματογράφημα. Οι θέσεις των κορυφών ως προς τον άξονα του χρόνου εξυπηρετούν την ταυτοποίηση των συστατικών του δείγματος και το εμβαδόν κάθε κορυφής αποτελεί το ποσοτικό τους μέτρο (Skoog et al.. 2005).

➤ **Οργανολογία**

- Φιάλες αποθήκευσης διαλυτών
- Αντλία (σταθερής ροής, σταθερής πίεσης)
- Μονάδα εισαγωγής δείγματος (βαλβίδα εισαγωγής δείγματος)
- Χρωματογραφική στήλη
- Ανιχνευτής
- Καταγραφικό

Το μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το μοντέλο Waters Alliance 2695. Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν το H₂SO₄ συγκέντρωσης 5 mM (ο οποίος φιλτράρονταν υπό πίεση 300 atm). Το καταγραφικό ήταν ο υπολογιστής. Τα συστατικά που ανιχνεύθηκαν και μετέπειτα αναλύθηκαν μέσω αυτής της μεθόδου είναι το κιτρικό οξύ, το τρυγικό οξύ, το μηλικό οξύ, το γαλακτικό οξύ, το ηλεκτρικό οξύ.

3.5 Οργανοληπτικός Έλεγχος

Η οργανοληπτική διαδικασία έλαβε χώρα με τους αντίστοιχους οίνους του πειράματος τα οποία εμφιαλώθηκαν στο οινοποιείο του εργαστηρίου Οινολογίας, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου.

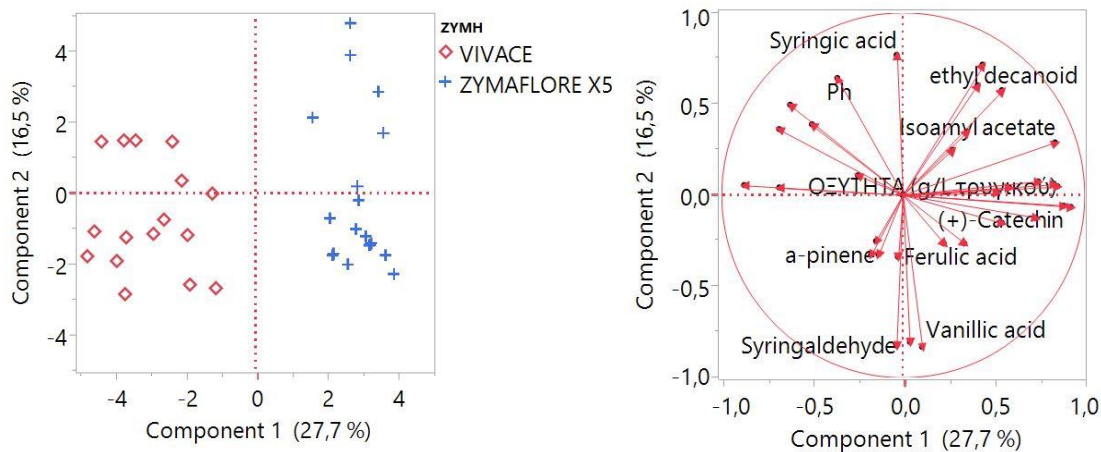
Όλα τα δείγματα ήταν εμφιαλωμένα σε μπουκάλια των 750 mL. Ο οργανοληπτικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε από μία ομάδα εκπαιδευμένων μεταπτυχιακών φοιτητών,.

Τα δείγματα του οίνου τοποθετήθηκαν με δοσομετρητή των 30 ml σε γυάλινα ποτήρια σε σχήμα τουλίπας, κατάλληλα για οργανοληπτικό έλεγχο και κατόπιν καλύφθηκαν για να μην διαφεύγουν οι πτητικές ενώσεις. Τα ποτήρια ήταν κωδικοποιημένα με τυχαίους τριψήφιους αριθμούς. Σε κάθε θέση υπήρχαν 3 τριάδες ποτηριών.

Ο κάθε δοκιμαστής έπρεπε να αξιολογήσει τα δείγματα ως προς τα οπτικά, τα αρωματικά και τα γευστικά χαρακτηριστικά, το έντυπο αξιολόγησης απεικονίζεται στην εικόνα 3 .

4 Αποτελέσματα Συζήτηση

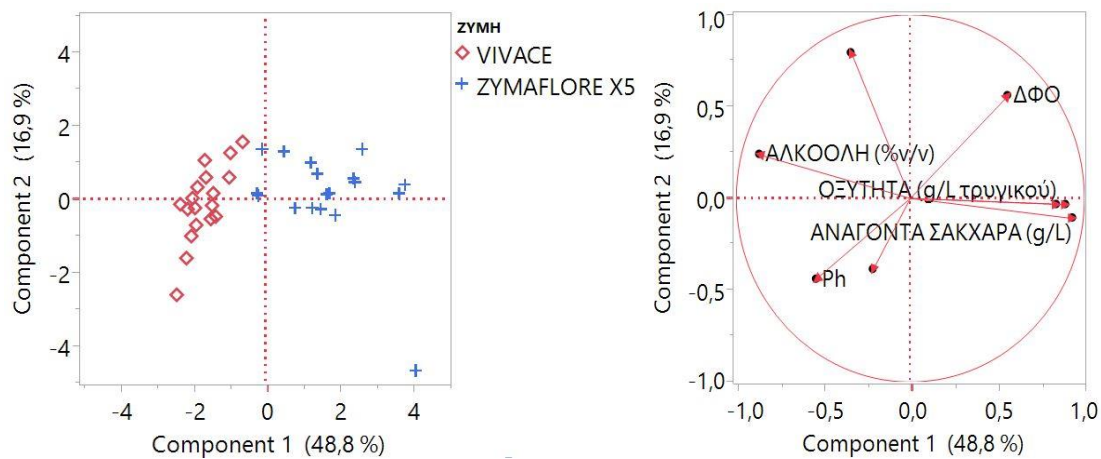
Λαμβάνοντας υπόψη όλες τις αναλύσεις, είναι εμφανής ο διαχωρισμός των δειγμάτων με βάση τη ζύμη (Διάγραμμα 2).



Διάγραμμα 2 Διαχωρισμός αναλύσεων με βάση τη ζύμη.

4.1 Κλασικές Αναλύσεις

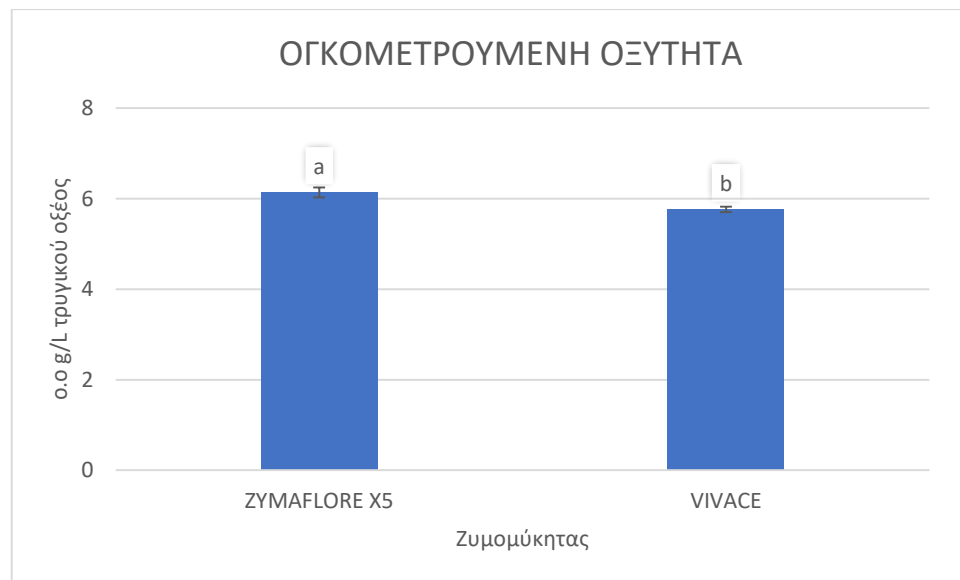
Λαμβάνοντας υπόψη μόνο τις κλασικές αναλύσεις, τα δείγματα διαχωρίζονται με βάση το είδος της ζύμης. (Διάγραμμα 3)



Διάγραμμα 3 Διαχωρισμός κλασικών αναλύσεων με βάση τη ζύμη.

4.1.1 Ογκομετρούμενη οξύτητα

Στο διάγραμμα 4 απεικονίζεται ο μέσος όρος της ογκομετρούμενης οξύτητας για το κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Την υψηλότερη τιμή παρουσιάζουν οι οίνοι που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Zymaflore X5 με στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τους οίνους που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Vivace με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 4).

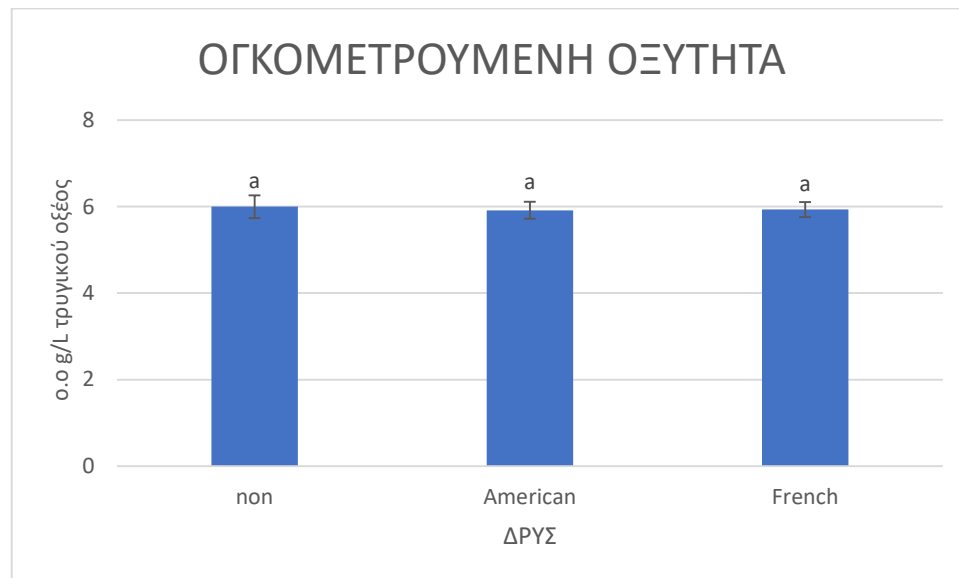


Διάγραμμα 4 Ογκομετρούμενη Οξύτητα με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 4 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζύμη.

Είδος Ζύμης	Ογκομετρούμενη οξύτητα (g/L τρυγικού οξέος)	<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
ZYMAFLORE X5	6.14±0.11 a	164.5	1.4×10 ⁻¹⁴
VIVACE	5.76±0.06 b		

Στο διάγραμμα 5 απεικονίζεται ο μέσος όρος της ογκομετρούμενης οξύτητας για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 5).

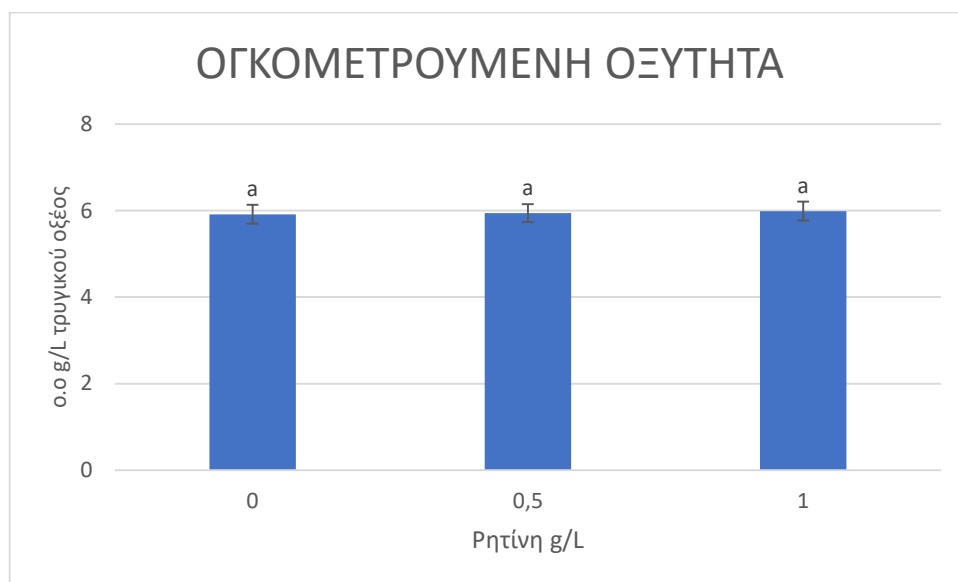


Διάγραμμα 5 Ογκομετρούμενη Οξύτητα με βάση τη δρυ.

Πίνακας 5 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	Ογκομετρούμενη οξύτητα (g/L τρυγικού οξέος)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
Μη παρουσία δρυός	6.00±0.26 a	0.52	0.60
Αμερικάνικη	5.92±0.19 a		
Γαλλική	5.93±0.17 a		

Στο διάγραμμα 6 απεικονίζεται ο μέσος όρος της ογκομετρούμενης οξύτητας για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 6).



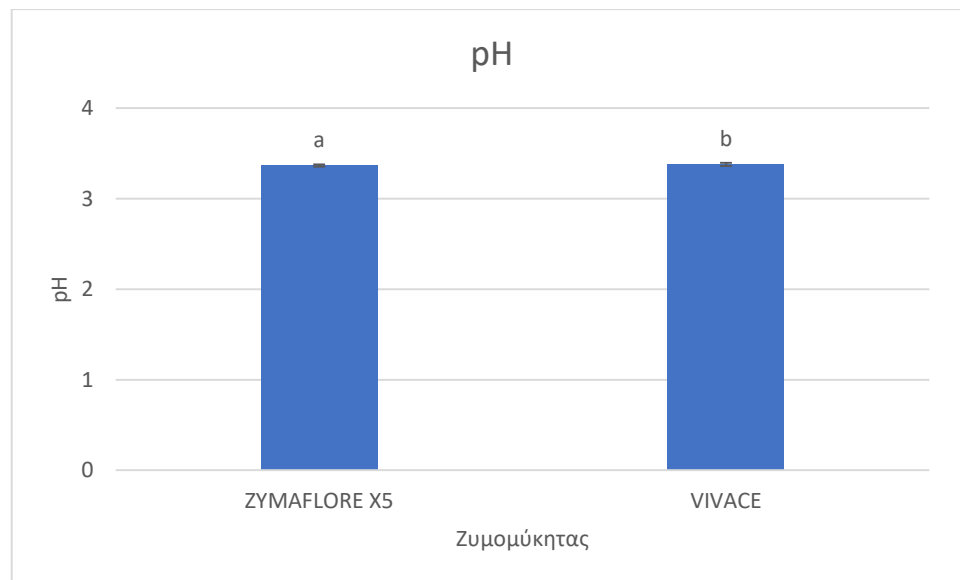
Διάγραμμα 6 Ογκομετρούμενη Οξύτητα με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 6 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	Ογκομετρούμενη οξύτητα (g/L τρυγικού οξέος)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	5.92±0.22 a	0.38	0.68
0,5	5.94±0.21 a		
1	5.99±0.22 a		

4.1.2 Ενεργός οξύτητα – pH

Στο διάγραμμα 7 απεικονίζεται ο μέσος όρος του pH για το κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Ελάχιστα υψηλότερη τιμή παρουσιάζουν οι οίνοι που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Vivace με στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τους οίνους που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Zymaflore X5 με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 7).

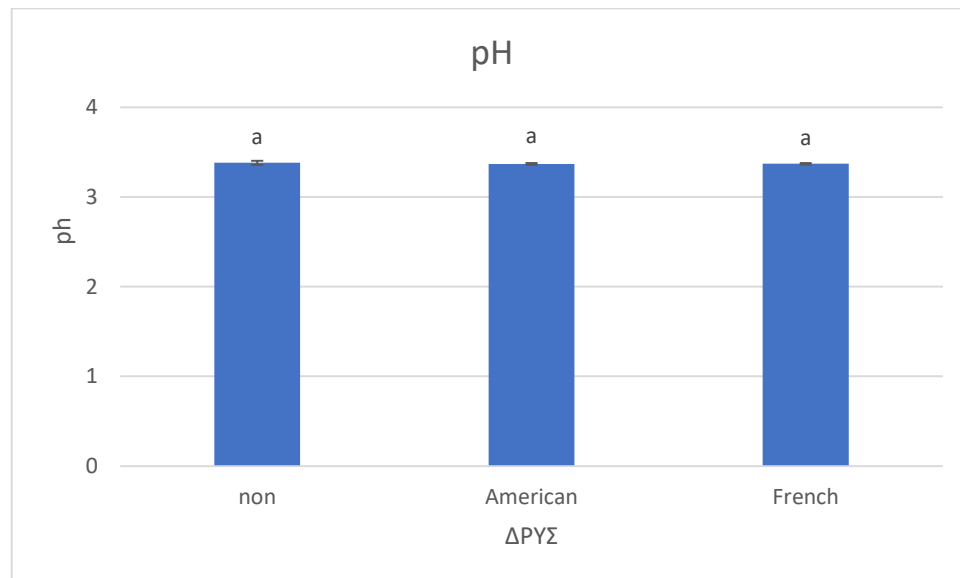


Διάγραμμα 7 Ενεργός Οξύτητα με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 7 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	pH	<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
ZYMAFLORE X5	3.37±0.01 a	6.57	0.015
VIVACE	3.38±0.02 b		

Στο διάγραμμα 8 απεικονίζεται ο μέσος όρος του pH για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 8).

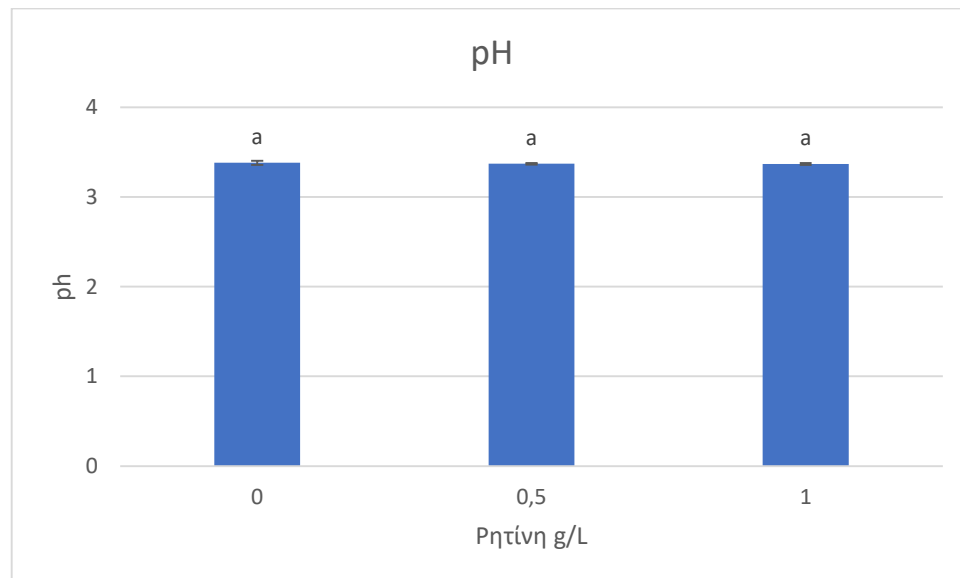


Διάγραμμα 8 Ενεργός Οξύτητα με βάση τη δρυ.

Πίνακας 8 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	pH	<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
Μη παρουσία δρυός	3.38±0.02 a	2.15	0.13
Αμερικάνικη	3.37±0.01 a		
Γαλλική	3.37±0.01 a		

Στο διάγραμμα 9 απεικονίζεται ο μέσος όρος του pH για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 9).



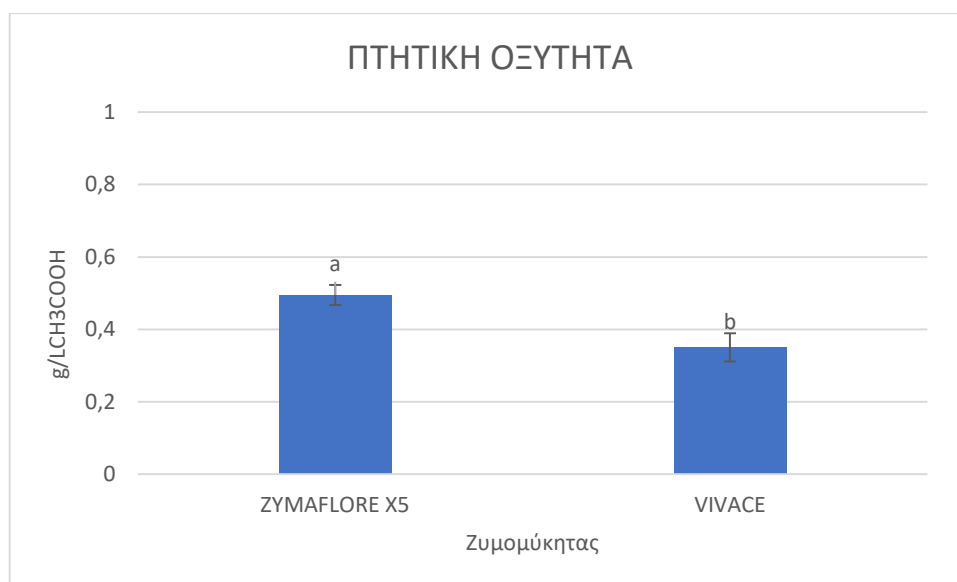
Διάγραμμα 9 Ενεργός Οξύτητα με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 9 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	pH	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	3.38±0.02 a	2.67	0.08
0,5	3.37±0.01 a		
1	3.37±0.01 a		

4.1.3 Πτητική οξύτητα

Στο διάγραμμα 10 απεικονίζεται ο μέσος όρος της πτητικής οξύτητας για το κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Υψηλότερη τιμή παρουσιάζουν οι οίνοι που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Zymaflore X5 με στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τους οίνους που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Vivace με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 10).

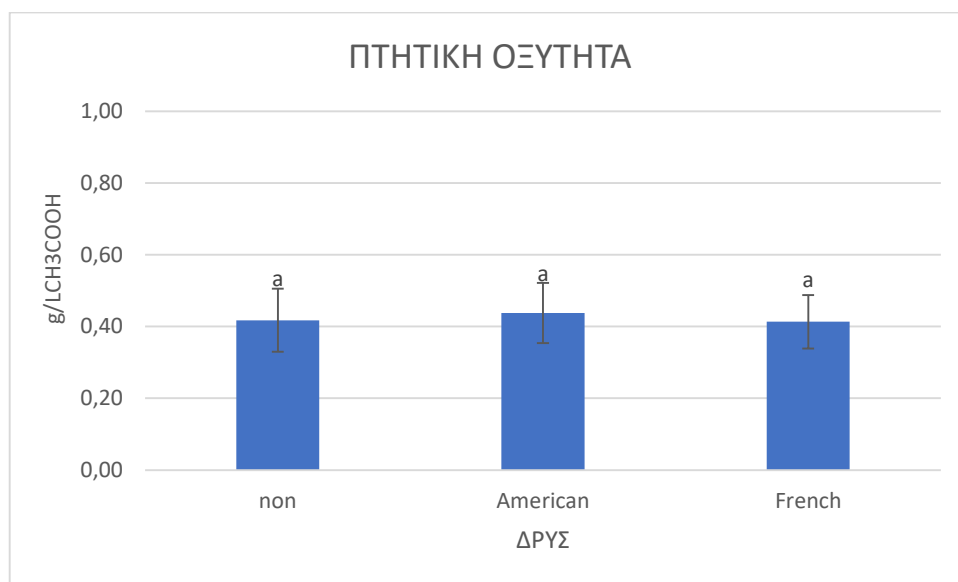


Διάγραμμα 10 Πτητική οξύτητα με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 10 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ (g/L CH ₃ COOH)	<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
ZYMAFLORE X5	0.50±0.03 a	162.27	1.70×10 ⁻¹⁴
VIVACE	0.35±0.04 b		

Στο διάγραμμα 11 απεικονίζεται ο μέσος όρος της πτητικής οξύτητας για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 11).

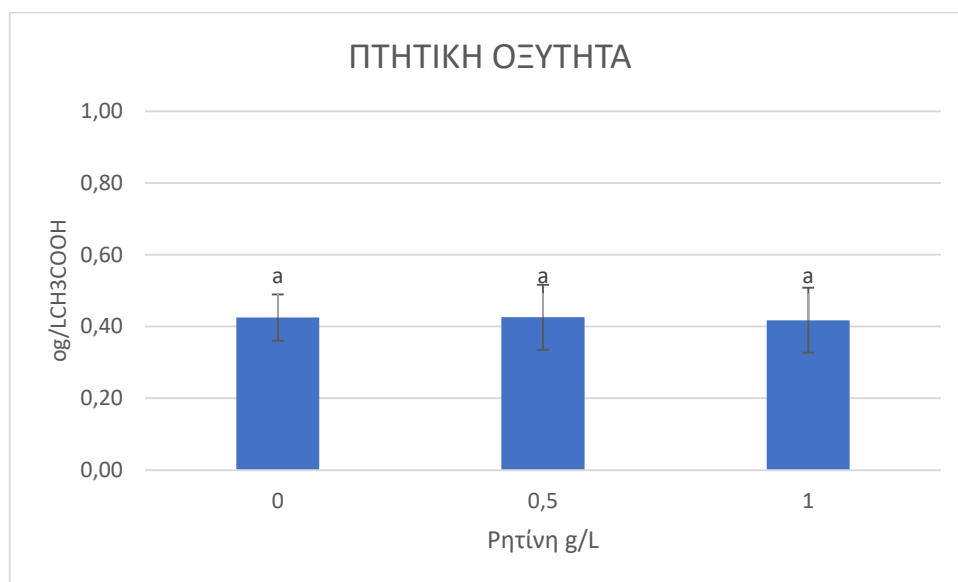


Διάγραμμα 11 Πτητική οξύτητα με βάση τη δρυ.

Πίνακας 11 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ (g/L CH ₃ COOH)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
Μη παρουσία δρυός	0.42±0.09 a	0.29	0.74
Αμερικάνικη	0.44±0.08 a		
Γαλλική	0.41±0.07 a		

Στο διάγραμμα 12 απεικονίζεται ο μέσος όρος της πτητικής οξύτητας για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 12) .



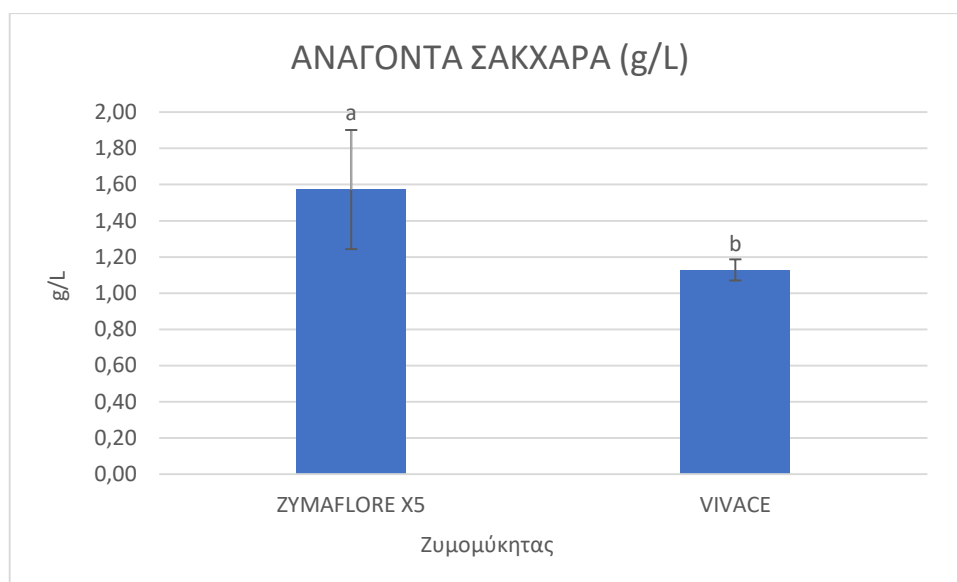
Διάγραμμα 12 Πτητική οξύτητα με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 12 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ (g/L CH ₃ COOH)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	0.43±0.06 a	0.036	0.96
0,5	0.43±0.09 a		
1	0.42±0.09 a		

4.1.4 Ανάγοντα Σάκχαρα

Στο διάγραμμα 13 απεικονίζεται ο μέσος όρος των αναγόντων σακχάρων για το κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Υψηλότερη τιμή παρουσιάζουν οι οίνοι που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Zymaflore X5 με στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τους οίνους που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Vivace με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 13).

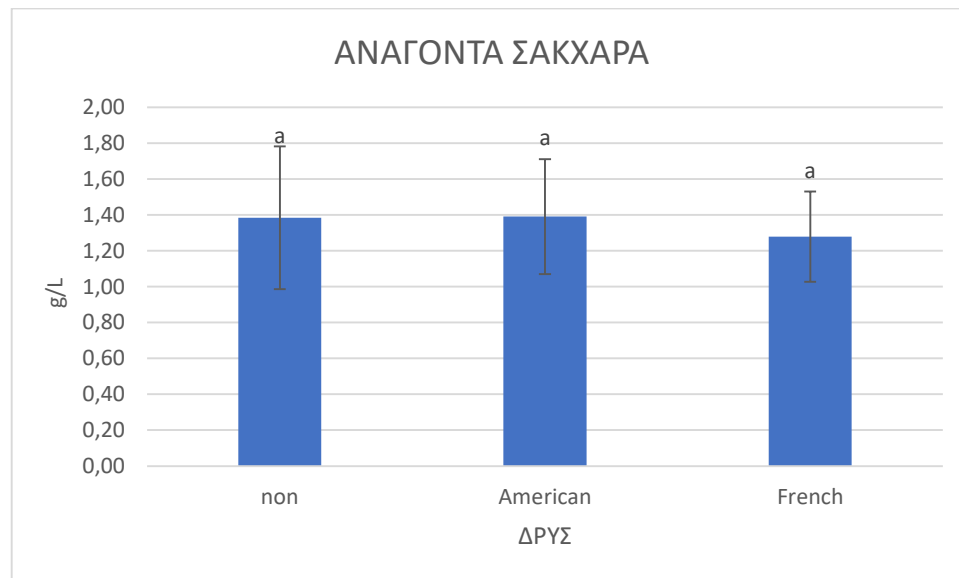


Διάγραμμα 13 Ανάγοντα σάκχαρα με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 13 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	ΑΝΑΓΟΝΤΑ ΣΑΚΧΑΡΑ (g/L)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
ZYMAFLORE X5	1.57±0.33 a	31.753	2.52×10 ⁻⁶
VIVACE	1.13±0.06 b		

Στο διάγραμμα 14 απεικονίζεται ο μέσος όρος των αναγόντων σακχάρων για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 14)..

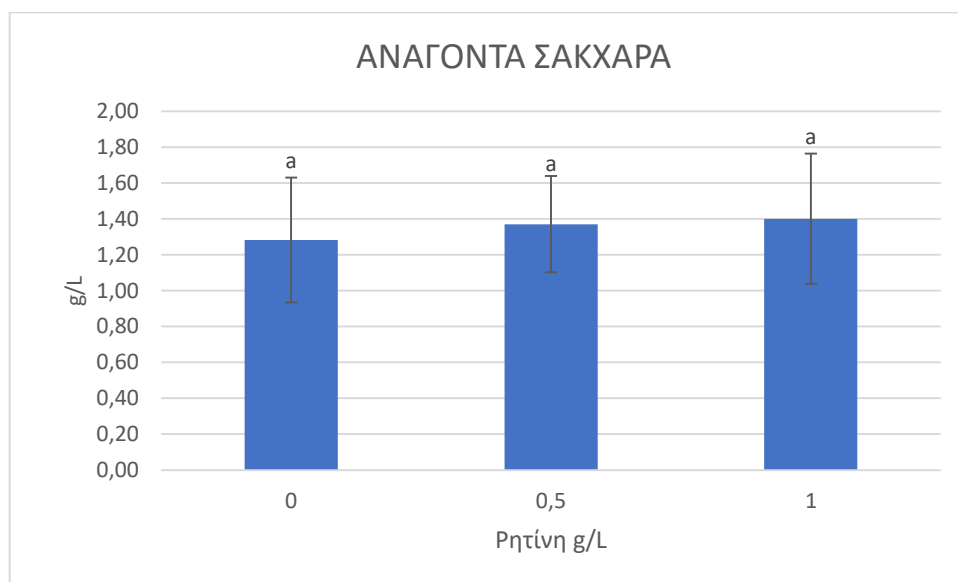


Διάγραμμα 14 Ανάγοντα σάκχαρα με βάση τη δρυ.

Πίνακας 14 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	ΑΝΑΓΟΝΤΑ ΣΑΚΧΑΡΑ (g/L)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
Μη παρουσία δρυός	1.38±0.40 a	0.43	0.65
Αμερικάνικη	1.39±0.32 a		
Γαλλική	1.28±0.25 a		

Στο διάγραμμα 15 απεικονίζεται ο μέσος όρος των αναγόντων σακχάρων για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 15).



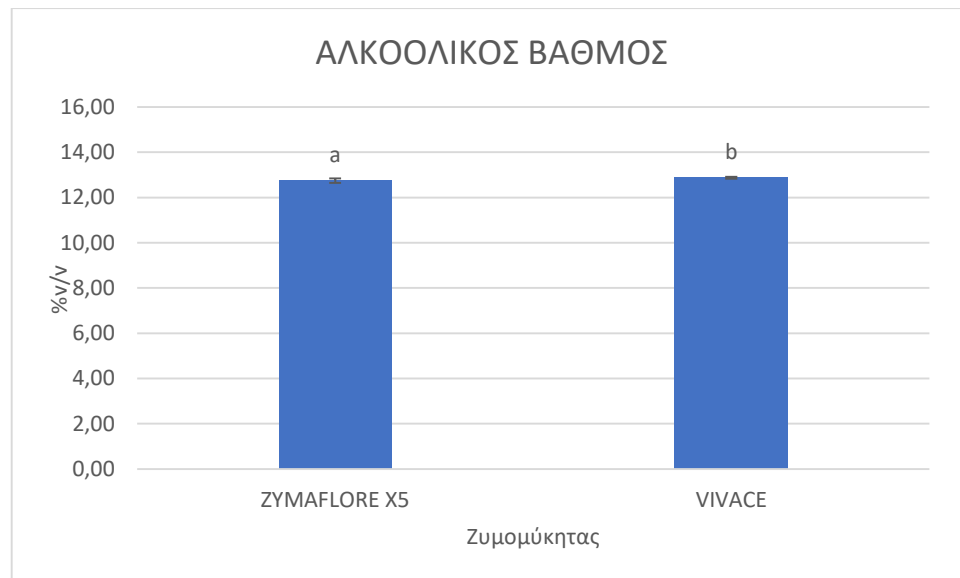
Διάγραμμα 15 Ανάγοντα σάκχαρα με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 15 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	ΑΝΑΓΟΝΤΑ ΣΑΚΧΑΡΑ (g/L)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	1.28±0.35 a	0.41	0.66
0,5	1.37±0.27 a		
1	1.40±0.36 a		

4.1.5 Αλκοολικός Βαθμός

Στο διάγραμμα 16 απεικονίζεται ο μέσος όρος του αλκοολικού βαθμού για το κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Παρόλο που οι τιμές παρουσιάζουν μικρή διαφορά είναι στατιστικά σημαντική σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 16).

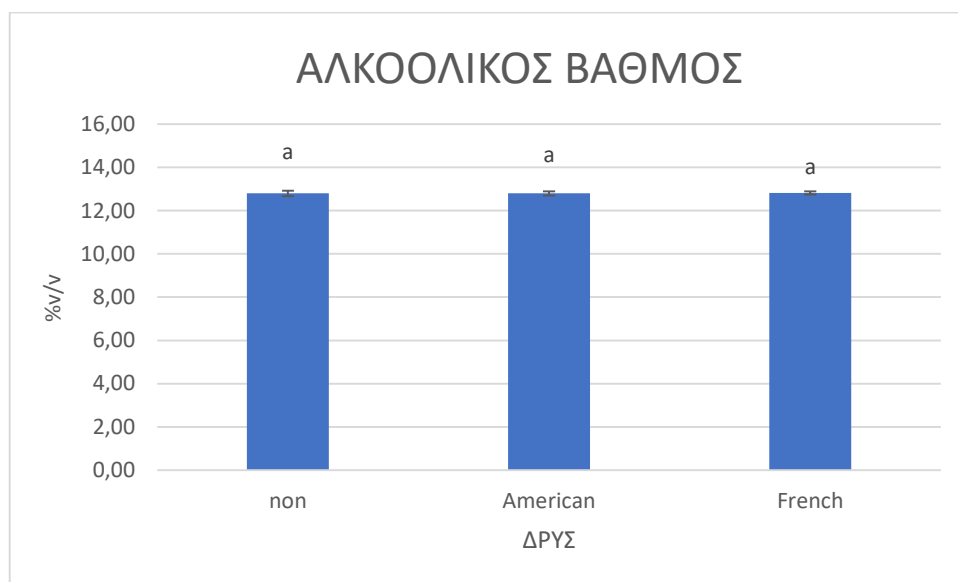


Διάγραμμα 16 Αλκοολικός βαθμός με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 16 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	ΑΛΚΟΟΛΙΚΟΣ ΒΑΘΜΟΣ (%v/v)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
ZYMAFLORE X5	12.74±0.10 a	24.91	1.76×10 ⁻⁵
VIVACE	12.87±0.05 b		

Στο διάγραμμα 17 απεικονίζεται ο μέσος όρος του αλκοολικού βαθμού για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 17).

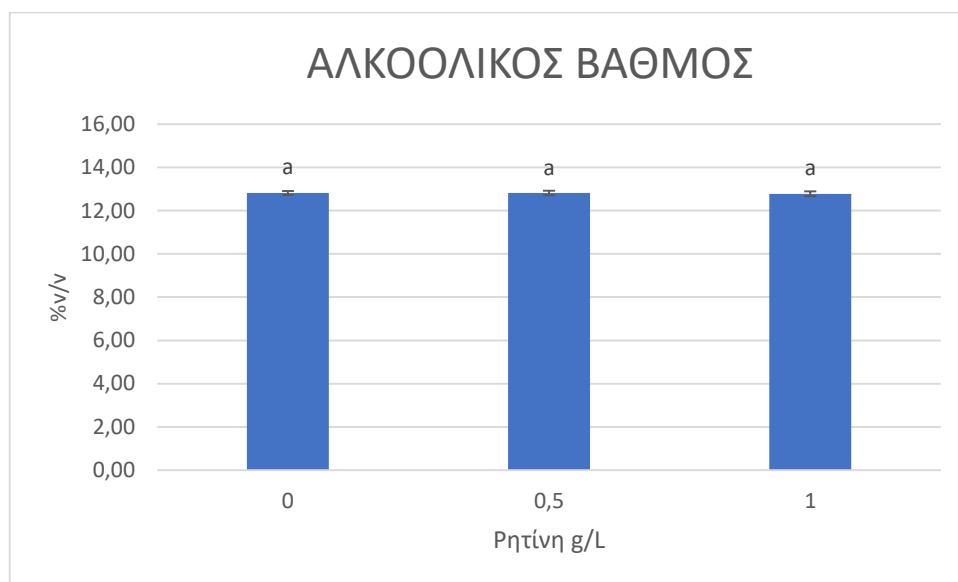


Διάγραμμα 17 Αλκοολικός βαθμός με βάση τη δρυ.

Πίνακας 17 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	ΑΛΚΟΟΛΙΚΟΣ ΒΑΘΜΟΣ (%v/v)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
Μη παρουσία δρυός	12.80±0.13 a	0.24	0.79
Αμερικάνικη	12.80±0.10 a		
Γαλλική	12.83±0.08 a		

Στο διάγραμμα 18 απεικονίζεται ο μέσος όρος του αλκοολικού βαθμού για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 18).



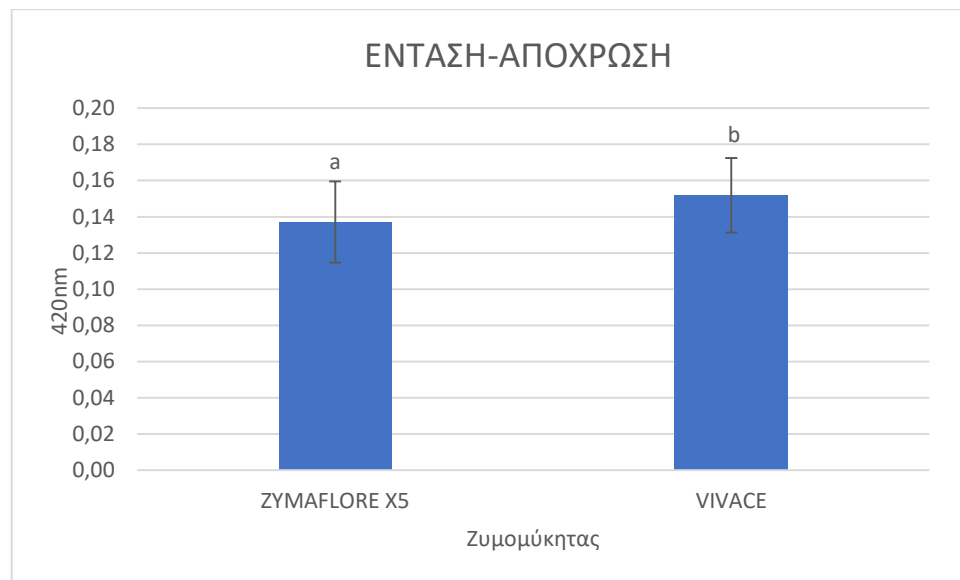
Διάγραμμα 18 Αλκοολικός βαθμός με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 18 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	ΑΛΚΟΟΛΙΚΟΣ ΒΑΘΜΟΣ (%v/v)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	12.83±0.09 a	0.57	0.56
0,5	12.82±0.10 a		
1	12.78±0.11 a		

4.1.6 Ένταση Απόχρωση

Στο διάγραμμα 19 απεικονίζεται ο μέσος όρος των απορροφήσεων στα 420nm για κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Υψηλότερη τιμή παρουσιάζουν οι οίνοι που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Vivace με στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τους οίνους που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Zymaflore X5 με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 19).

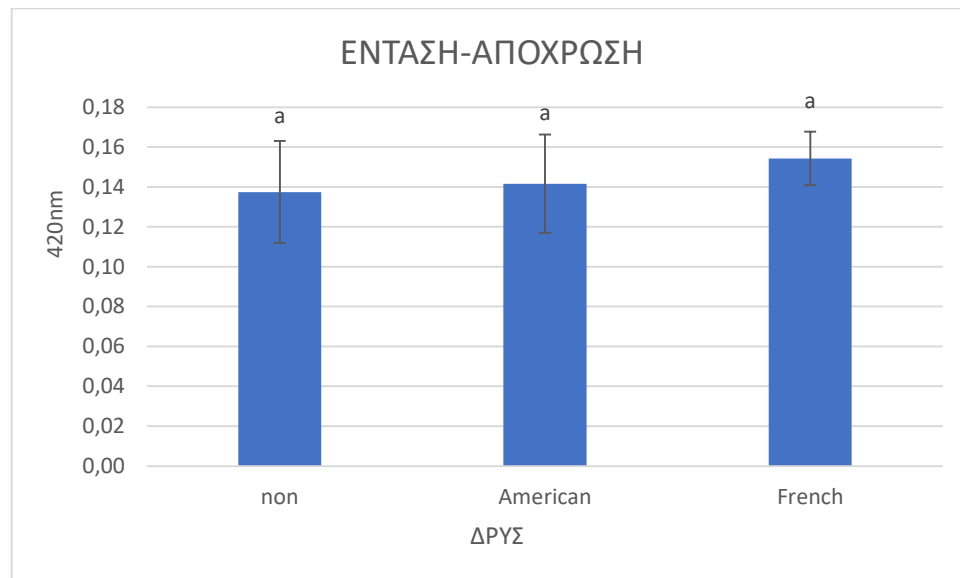


Διάγραμμα 19 Ένταση απόχρωση με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 19 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	ΕΝΤΑΣΗ-ΑΠΟΧΡΩΣΗ (420nm)	<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
ZYMAFLORE X5	0.14±0.02 a	4.25	0.047
VIVACE	0.15±0.02 b		

Στο διάγραμμα 20 απεικονίζεται ο μέσος όρος των απορροφήσεων στα 420nm για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 20).

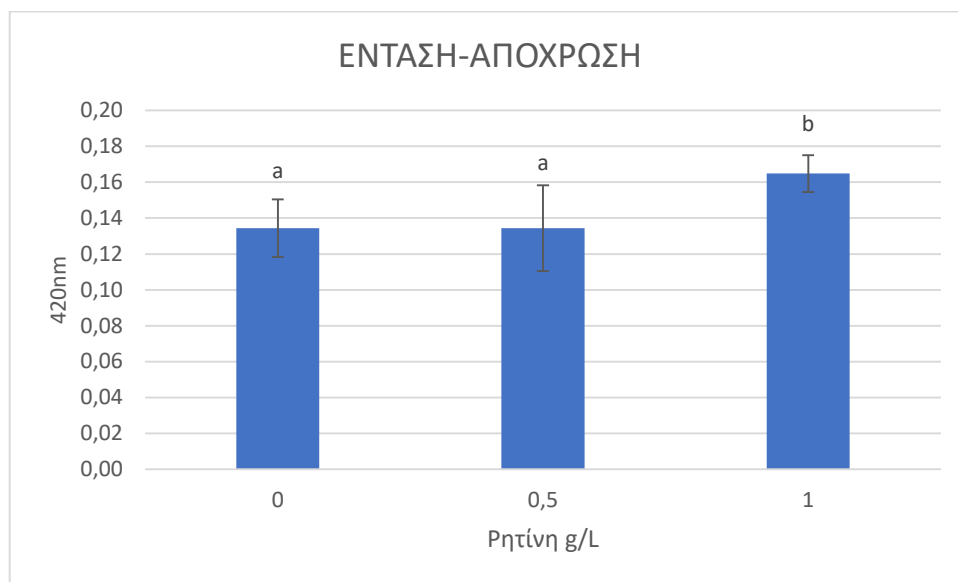


Διάγραμμα 20 Ένταση απόχρωση με βάση τη δρυ.

Πίνακας 20 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	ΕΝΤΑΣΗ-ΑΠΟΧΡΩΣΗ (420nm)	<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
Μη παρουσία δρυός	0.14±0.03 a	1.91	0.16
Αμερικάνικη	0.14±0.02 a		
Γαλλική	0.15±0.01 a		

Στο διάγραμμα 21 απεικονίζεται ο μέσος όρος των απορροφήσεων στα 420nm για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Παρατηρούμε μια μικρή διαφορά ανάμεσα στην μεγάλη συγκέντρωση ρητίνης 1 g/L έναντι των άλλων δυο συγκεντρώσεων η οποία είναι στατιστικά σημαντική σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 21).



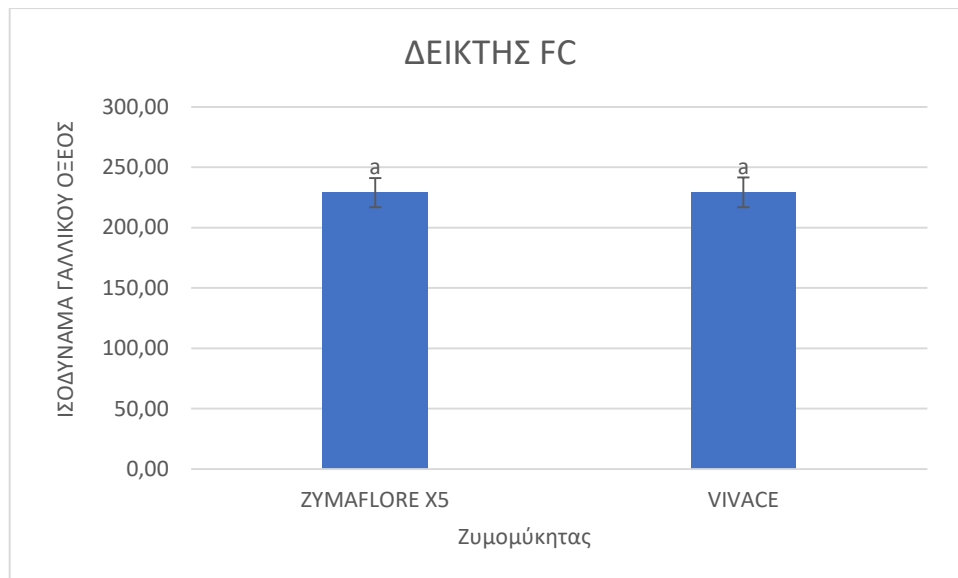
Διάγραμμα 21 Ένταση απόχρωση με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 21 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	ΕΝΤΑΣΗ-ΑΠΟΧΡΩΣΗ (420nm)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	0.13±0.02 a	11.94	0.00012
0,5	0.13±0.02 a		
1	0.16±0.01 b		

4.1.7 Δείκτης FOLIN-CIOCALTEU

Στο διάγραμμα 22 απεικονίζεται ο μέσος όρος του δείκτη Folin-Ciocalteu για το κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 22).

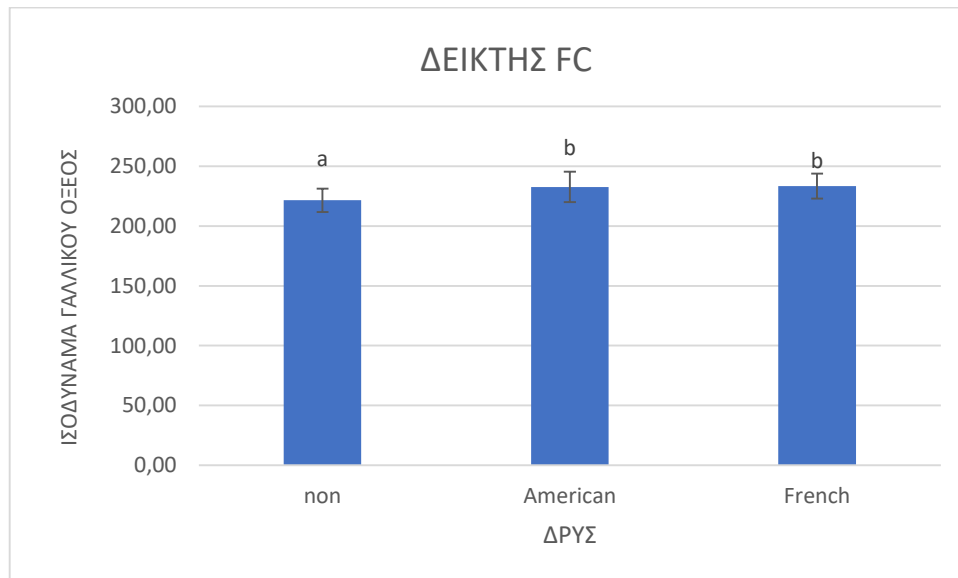


Διάγραμμα 22 Δείκτης FC με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 22 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	ΙΣΟΔΥΝΑΜΑ ΓΑΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
ZYMAFLORE X5	229.09±12.10 a	0.0033	0.95
VIVACE	229.33±12.35 a		

Στο διάγραμμα 23 απεικονίζεται ο μέσος όρος του δείκτη Folin-Ciocalteu για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Παρατηρούμε σημαντική στατιστική διαφορά ανάμεσα στους οίνους στους οποίους δεν έγινε προσθήκη δρυός και στους οίνους που έγινε προσθήκη είτε αμερικάνικης είτε γαλλικής δρυός με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 23).

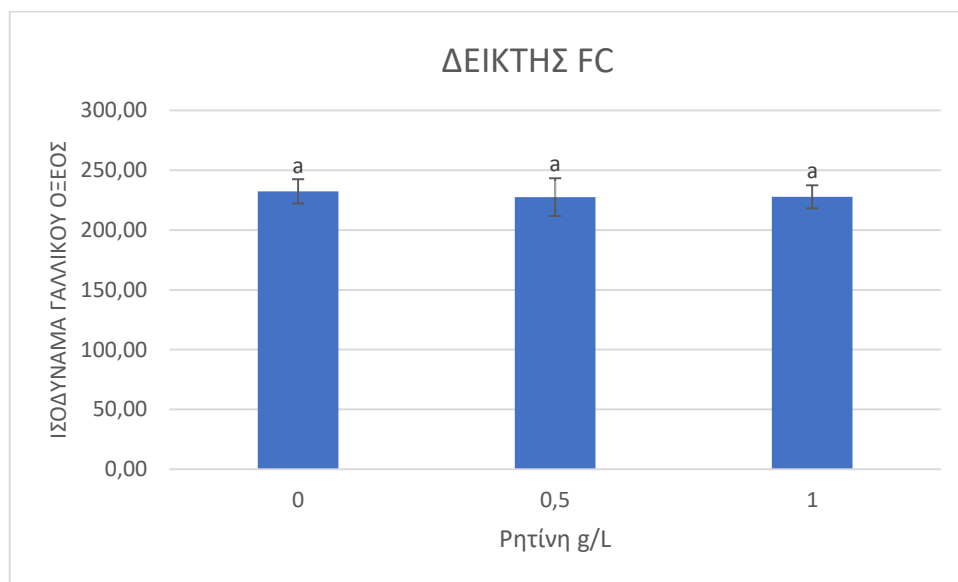


Διάγραμμα 23 Δείκτης FC με βάση τη δρυ.

Πίνακας 23 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	Ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
Μη παρουσία δρυός	221.52±9.66 a	4.39	0.02
Αμερικάνικη	232.68±12.70 b		
Γαλλική	233.44±10.49 b		

Στο διάγραμμα 24 απεικονίζεται ο μέσος όρος του δείκτη Folin-Ciocalteu για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Οι τιμές παρουσιάζουν διαφορά ανάμεσα στους οίνους που έγινε προσθήκη ρητίνης και σε αυτούς που δεν έγινε, όμως η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 24).



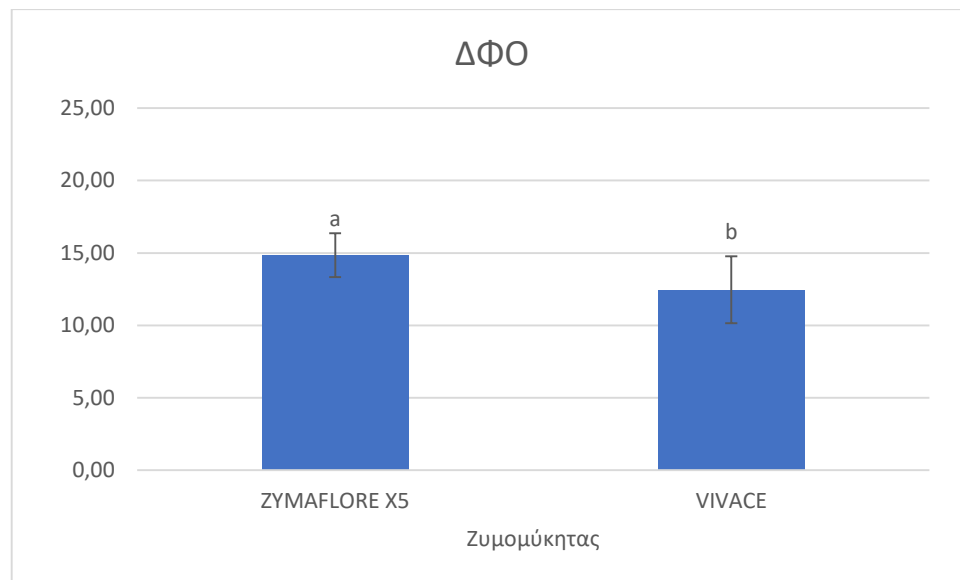
Διάγραμμα 24 Δείκτης FC με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 24 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	ΙΣΟΔΥΝΑΜΑ ΓΑΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	232.32±10.23 a	0.58	0.56
0,5	227.57±15.71 a		
1	227.57±9.72 a		

4.1.8 Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)

Στο διάγραμμα 25 απεικονίζεται ο μέσος όρος του δείκτη φαινολικών ουσιών για κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Υψηλότερη τιμή παρουσιάζουν οι οίνοι που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Zymaflore X5 με στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τους οίνους που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Vivace με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 25).

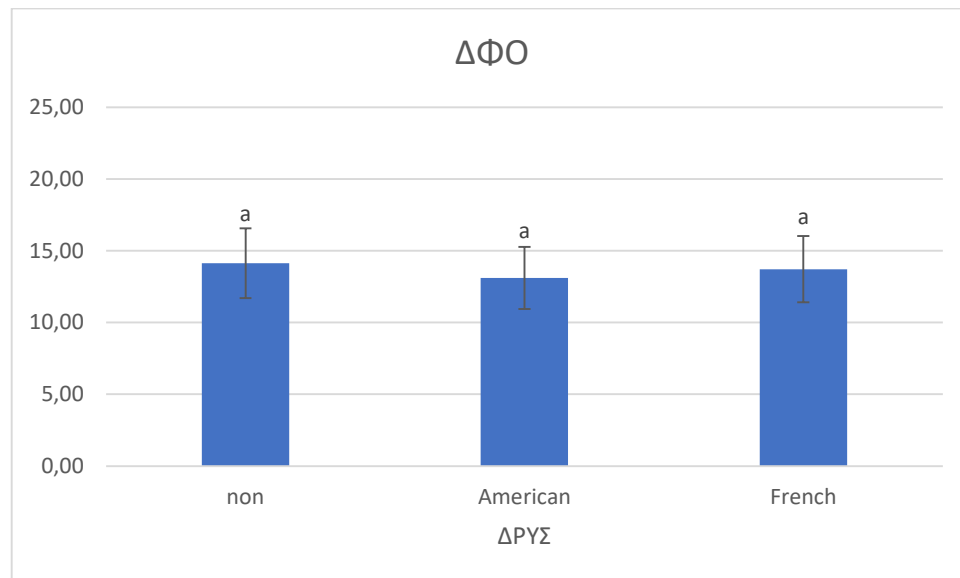


Διάγραμμα 25 ΔΦΟ με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 25 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	ΔΦΟ	<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
ZYMAFLORE X5	14.84±1.51 a	13.39	0.00085
VIVACE	12.46±2.31 b		

Στο διάγραμμα 26 απεικονίζεται ο μέσος όρος του δείκτη φαινολικών ουσιών για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 26).

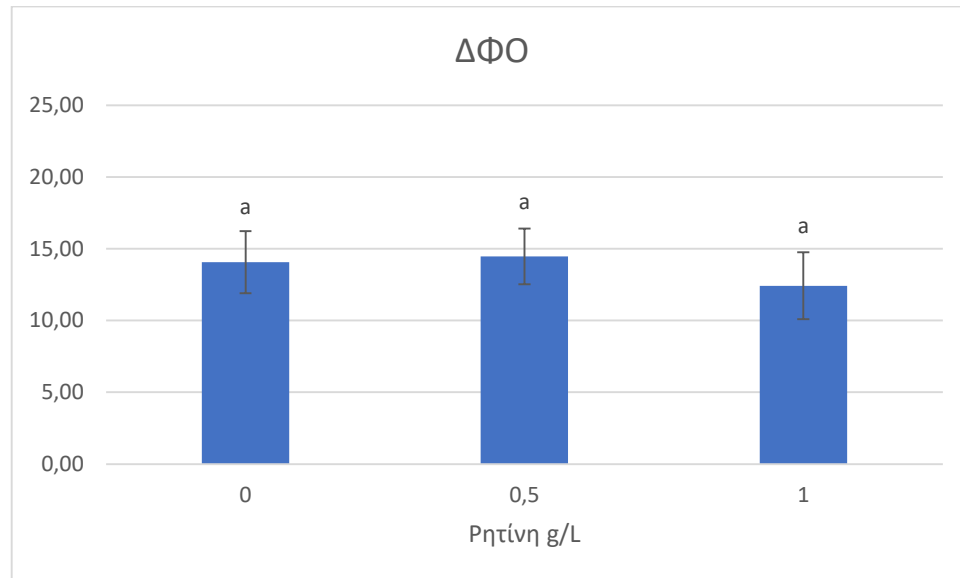


Διάγραμμα 26 ΔΦΟ με βάση τη δρυ.

Πίνακας 26 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	ΔΦΟ	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
Μη παρουσία δρυός	14.13±2.43 a	0.59	0.55
Αμερικάνικη	13.11±2.16 a		
Γαλλική	13.72±2.31 a		

Στο διάγραμμα 27 απεικονίζεται ο μέσος όρος του δείκτη φαινολικών ουσιών για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 27).



Διάγραμμα 27 ΔΦΟ με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 27 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

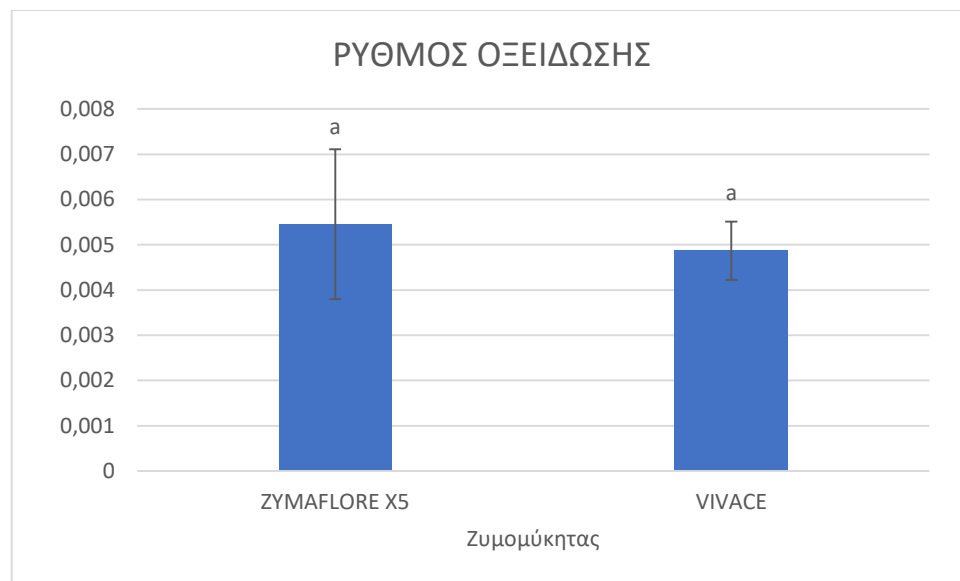
Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	ΔΦΟ	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	14.07±2.17 a	3.06	0.06
0,5	14.47±1.94 a		
1	12.42±2.33 a		

4.2 Οξειδωσιμότητα

4.2.1 Τεστ ταχείας αμαύρωσης

4.2.1.1 Ρυθμός Οξείδωσης

Στο διάγραμμα 28 απεικονίζεται ο μέσος όρος του ρυθμού οξείδωσης για κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Υψηλότερη τιμή παρουσιάζουν οι οίνοι που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Zymaflore X5 χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τους οίνους που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Vivace με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 28).

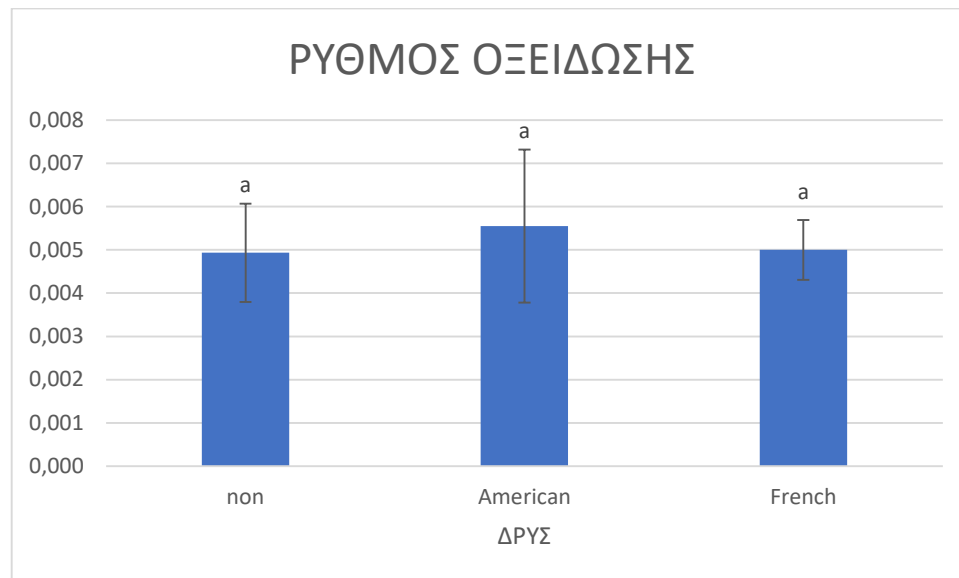


Διάγραμμα 28 Ρυθμός οξείδωσης με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 28 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	Ρυθμός Οξείδωσης	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
ZYMAFLORE X5	0.0055±0.00165 a	1.98	0.16
VIVACE	0.0049±0.00064 a		

Στο διάγραμμα 29 απεικονίζεται ο μέσος όρος του ρυθμού οξείδωσης για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 29).

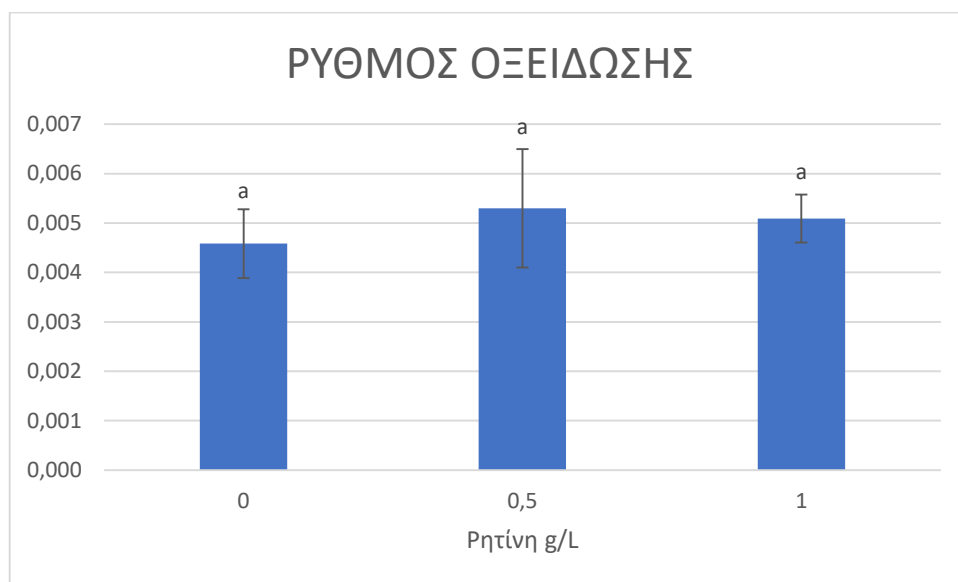


Διάγραμμα 29 Ρυθμός οξείδωσης με βάση τη δρυ.

Πίνακας 29 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	Ρυθμός Οξείδωσης	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
Μη παρουσία δρυός	0.0049±0.00113 a	0.84	0.44
Αμερικάνικη	0.0056±0.00177 a		
Γαλλική	0.0050±0.00070 a		

Στο διάγραμμα 30 απεικονίζεται ο μέσος όρος του ρυθμού οξείδωσης για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Παρατηρούμε διαφορά ανάμεσα στις τρεις συγκεντρώσεις ρητίνης η οποία όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 30).



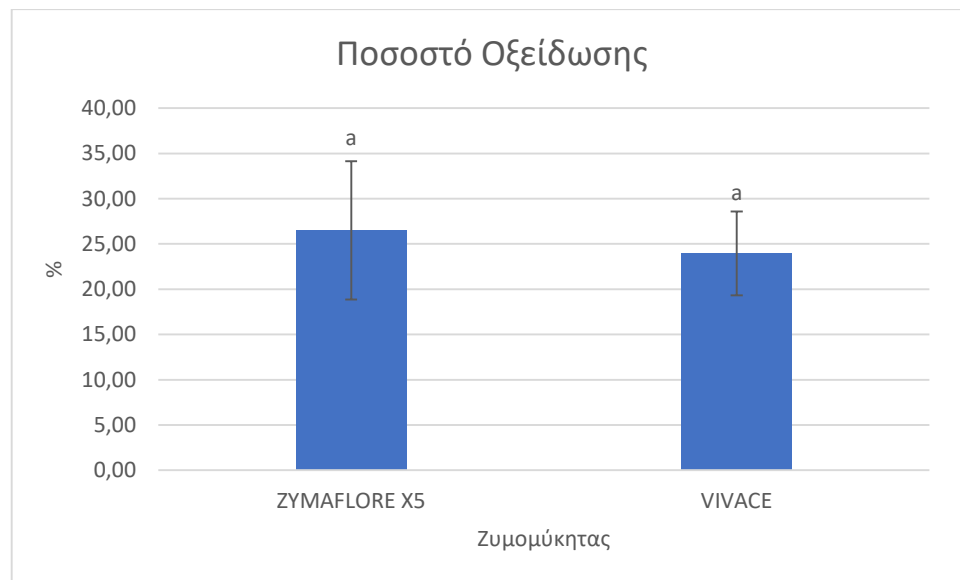
Διάγραμμα 30 Ρυθμός οξείδωσης με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 30 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	Ρυθμός Οξείδωσης	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	0.0046±0.00070 a	3.15	0.055
0,5	0.0053±0.00120 a		
1	0.0051±0.00049 a		

4.2.1.2 Ποσοστό Οξείδωσης

Στο διάγραμμα 31 απεικονίζεται ο μέσος όρος του ποσοστού οξείδωσης για κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Υψηλότερη τιμή παρουσιάζουν οι οίνοι που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Zymaflore X5 χωρίς όμως να είναι στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τους οίνους που προέκυψαν από την ζύμωση με τον Vivace με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 31).

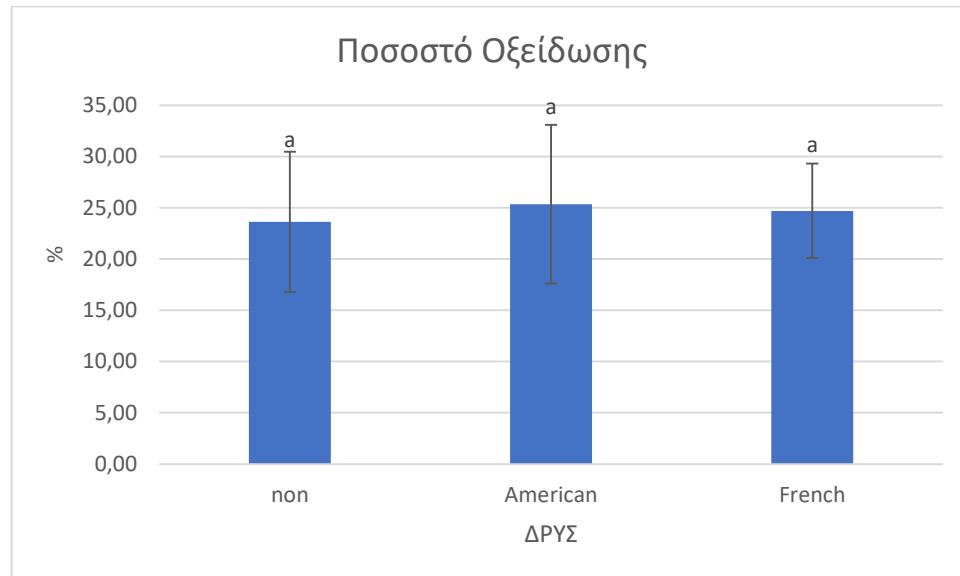


Διάγραμμα 31 Ποσοστό οξείδωσης με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 31 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	Ποσοστό Οξείδωσης	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
ZYMAFLORE X5	26.50±7.65 a	0.77	0.38
VIVACE	23.94±4.64 a		

Στο διάγραμμα 32 απεικονίζεται ο μέσος όρος του ποσοστού οξείδωσης για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 32).

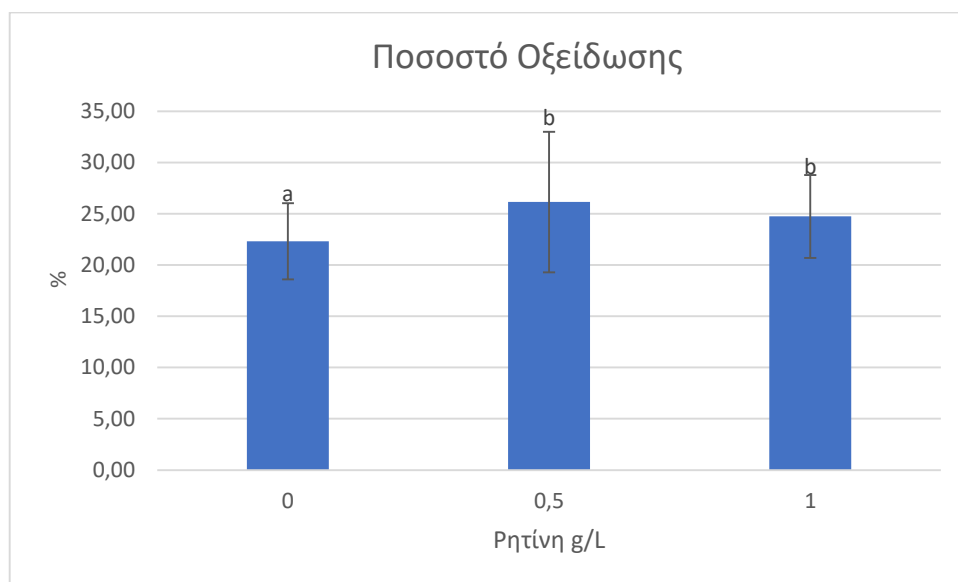


Διάγραμμα 32 Ποσοστό οξείδωσης με βάση τη δρυ.

Πίνακας 32 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	Ποσοστό Οξείδωσης	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
Μη παρουσία δρυός	23.62±6.84 a	1.17	0.32
Αμερικάνικη	25.34±7.74 a		
Γαλλική	24.70±4.60 a		

Στο διάγραμμα 33 απεικονίζεται ο μέσος όρος του ποσοστού οξείδωσης για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Παρατηρούμε διαφορά ανάμεσα στις τρεις συγκεντρώσεις ρητίνης η οποία είναι στατιστικά σημαντική σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 33).



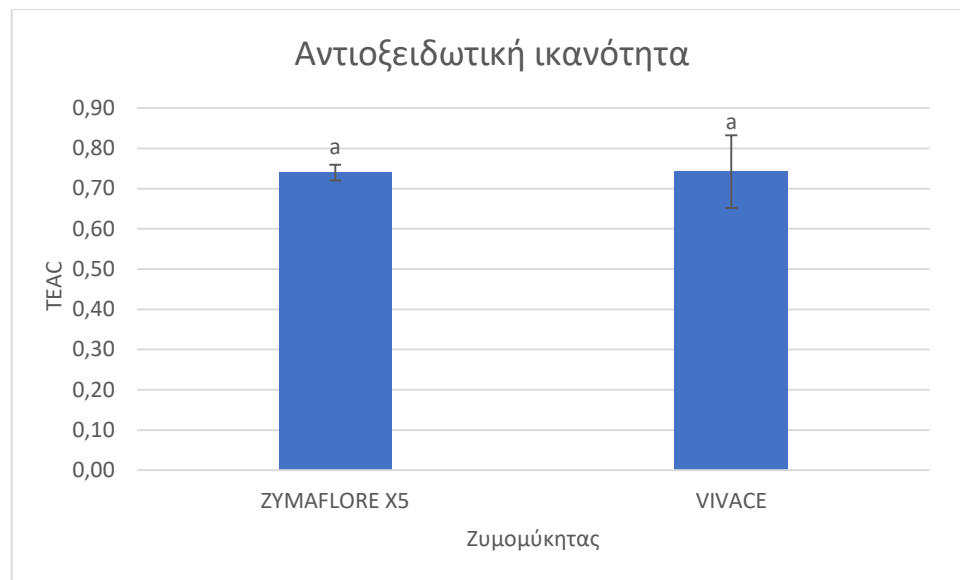
Διάγραμμα 33 Ποσοστό οξείδωσης με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 33 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	Ποσοστό Οξείδωσης	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	22.31±3.71 a	3.55	0.04
0,5	26.14±6.85 b		
1	24.74±4.06 b		

4.2.2 Αντιοξειδωτική ικανότητα – μέθοδος DPPH

Στο διάγραμμα 34 απεικονίζεται ο μέσος όρος της αντιοξειδωτικής ικανότητας για κάθε ένα από τα διαφορετικά στελέχη ζυμομύκητα. Οι τιμές κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 34).

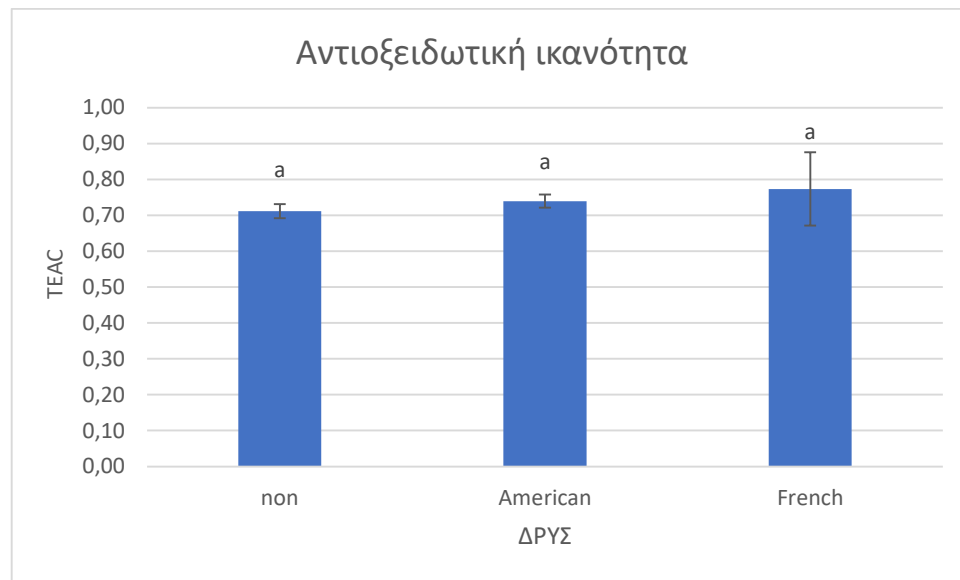


Διάγραμμα 34 Αντιοξειδωτική ικανότητα με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 34 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Είδος Ζύμης	TEAC	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
ZYMAFLORE X5	0.74±0.02 a	0.01	0.91
VIVACE	0.74±0.09 a		

Στο διάγραμμα 35 απεικονίζεται ο μέσος όρος της αντιοξειδωτικής ικανότητας για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Παρατηρούμε ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των οίνων που δεν έγινε προσθήκη δρυός έχουν την χαμηλότερη τιμή, αμέσως μετά ακολουθούν οι οίνοι με την αμερικάνικη δρυ και τέλος την υψηλότερη τιμή έχουν οι οίνοι με την γαλλική δρυ. Η διαφορά μεταξύ των οίνων δεν είναι στατιστικώς σημαντική με επίπεδο σημαντικότητάς 5% (Πίνακας 35).

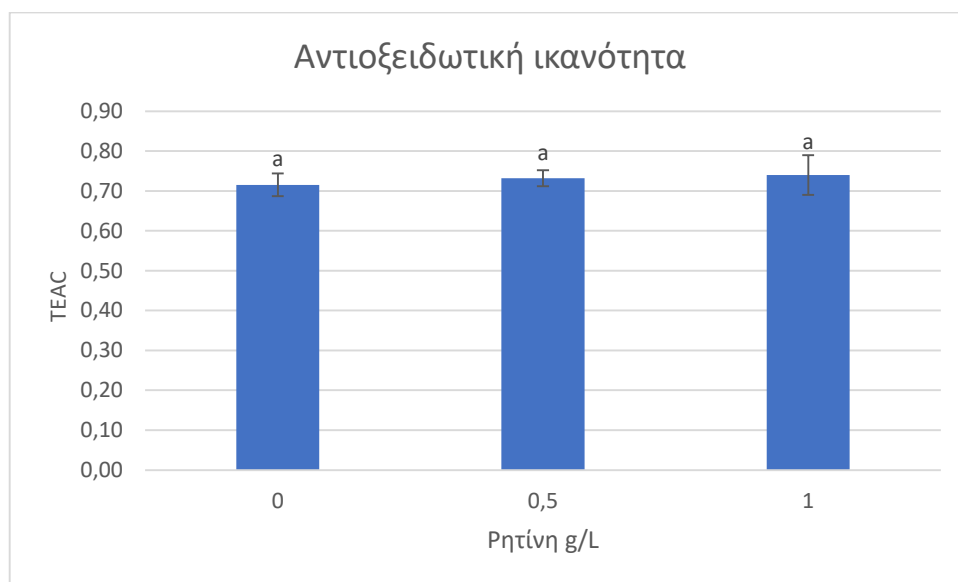


Διάγραμμα 35 Αντιοξειδωτική ικανότητα με βάση τη δρυ.

Πίνακας 35 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Είδος Δρυός	TEAC	<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
Μη παρουσία δρυός	0.71±0.02 a	3.10	0.06
Αμερικάνικη	0.74±0.02 a		
Γαλλική	0.77±0.10 a		

Στο διάγραμμα 36 απεικονίζεται ο μέσος όρος του ποσοστού οξείδωσης για την καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ρητίνης. Παρατηρούμε διαφορά ανάμεσα στις τρεις συγκεντρώσεις ρητίνης η οποία όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 36).



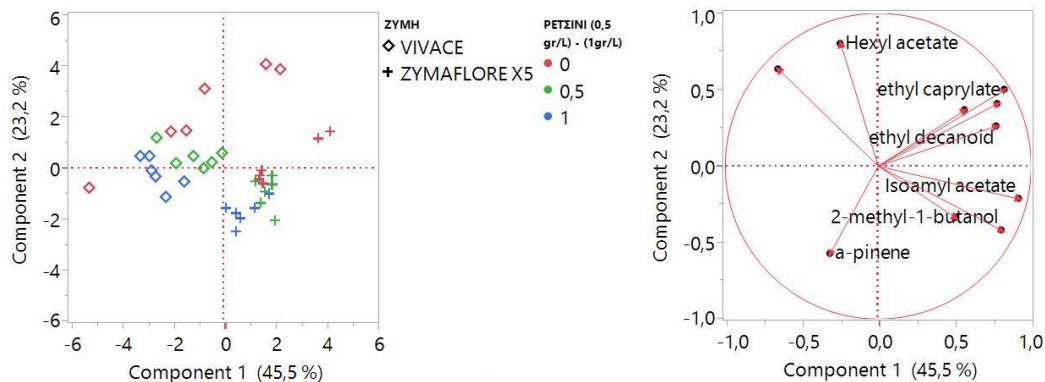
Διάγραμμα 36 Αντιοξειδωτική ικανότητα με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 36 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	TEAC	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	0.72±0.03 a	3.33	0.06
0,5	0.73±0.02 a		
1	0.74±0.05 a		

4.3 Πτητικές Ενώσεις

Σχετικά με τις αναλύσεις των πτητικών συστατικών, υπερισχύει η επίδραση της ζύμης, ωστόσο φαίνεται να υπάρχει ομαδοποίηση των δειγμάτων και με βάση την ποσότητα του ρετσινιού (Διάγραμμα 37).



Διάγραμμα 37 Διαχωρισμός πτητικών ενώσεων με βάση τη ζύμη και τη συγκέντρωση ρητίνης.

Στο διάγραμμα 38 απεικονίζονται οι μέσοι όροι των αλκοολών και των εστέρων για το κάθε ένα από τα δύο στελέχη ζυμομύκητα.

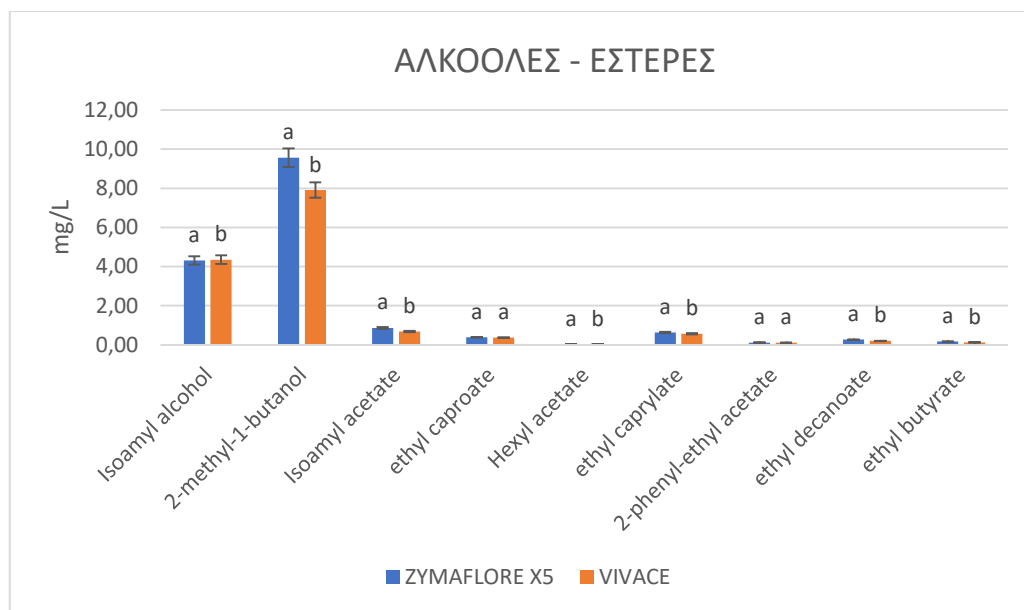
Η ισοαμυλική αλκοόλη κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα για τα δύο στελέχη ζυμομυκήτων παρόλα αυτά αυτή η μικρή διαφορά που παρουσιάζουν είναι στατιστικώς σημαντική.

Η 2-μεθυλο-1-βουτανόλη είχε μεγαλύτερη τιμή για τα δείγματα που ζυμώθηκαν με τον Zymaflore X5 σε σχέση με τα δείγματα που ζυμώθηκαν με τον VIVACE και έχουν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Το ίδιο συμβαίνει και με τον οξικό ισοαμυλεστέρα, τον καπρυλικό αιθυλεστέρα, τον δεκανοϊκό αιθυλεστέρα και τον βουτυρικό αιθυλεστέρα.

Ο οξικός εξυλεστέρας έχει μεγαλύτερη τιμή για τα δείγματα που ζυμώθηκαν με τον VIVACE σε σχέση με τα δείγματα που ζυμώθηκαν με τον Zymaflore X5 και έχουν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Τέλος ο καπροϊκός αιθυλεστέρας και ο οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα για τα δύο στελέχη ζυμομυκήτων και δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά.

Η στατιστική διαφορά όλων των παραπάνω έγινε με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 37).



Διάγραμμα 38 Αλκοόλες - Εστέρες με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 37 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

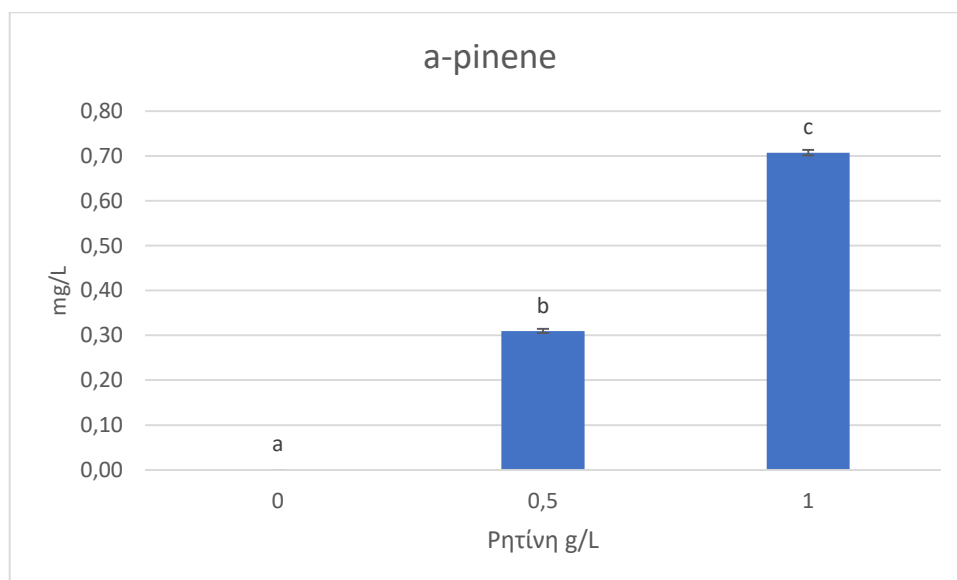
Πτητικές ενώσεις	ZYMAFLORE X5	VIVACE	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
ισοαμυλική αλκοόλη (mg/L)	4.32±0.004 a	4.35±0.01 b	205.1	5.82×10 ⁻¹⁶
2-μεθυλο-1-βουτανόλη (mg/L)	9.57±0.23 a	7.91±0.98 b	48.77	4.69×10 ⁻⁸
οξικός ισοαμυλεστέρας (mg/L)	0.86±0.06 a	0.68±0.08 b	56.70	9.63×10 ⁻⁹
καπροϊκός αιθυλεστέρας (mg/L)	0.39±0.02 a	0.36±0.08 a	1.48	0.23
Οξικός εξυλεστέρας (mg/L)	0.03±0.003 a	0.04±0.01 b	26.88	9.87×10 ⁻⁶
καπρυλικός αιθυλεστέρας (mg/L)	0.63±0.08 a	0.56±0.11 b	4.68	0.037
οξικός 2- φαινυλαιθυλεστέρας(m g/L)	0.11±0.005 a	0.11±0.01 a	2.94	0.095
δεκανοϊκός αιθυλεστέρας (mg/L)	0.27±0.06 a	0.20±0.04 b	12.70	0.001

βουτυρικός αιθυλεστέρας (mg/L)	0.17±0.05 a	0.13±0.01 b	12.23	0.001
---	-------------	-------------	-------	-------

Στο διάγραμμα 39 απεικονίζεται ο μέσος όρος του α-πινένιου για καθεμιά από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις της ρητίνης. Παρατηρούμαι ότι τα δείγματα που δεν είχαν ρητίνη είχαν και μηδαμινή ποσότητα α-πινένιου, αυτό είναι λογικό γιατί το α-πινένιο είναι χαρακτηριστική πτητική ένωση της ρητίνης.

Τα δείγματα που είχαν 0,5 g/L ρητίνη είχαν σχεδόν τη μισή συγκέντρωση α-πινένιου σε σχέση με τα δείγματα που είχαν 1 g/L.

Και οι τρεις συγκεντρώσεις της ρητίνης παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά όσον αφορά τη συγκέντρωση σε α-πινένιο σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 38).



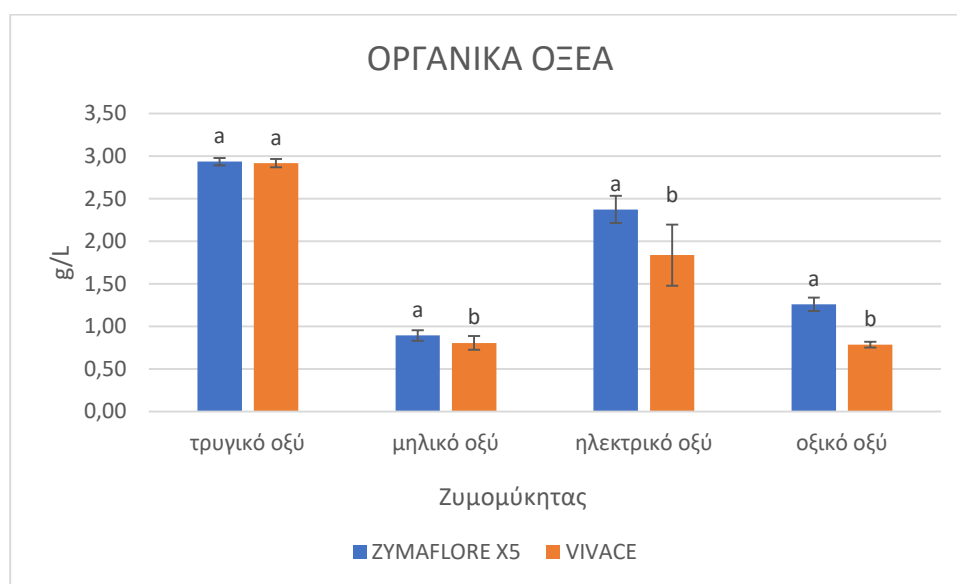
Διάγραμμα 39 α - πινένιο με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 38 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Συγκέντρωση ρητίνης (g/L)	a-pinene (mg/L)	<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
0	0±0 a	73941.5	5.63×10 ⁻⁶¹
0,5	0.31±0.005 b		
1	0.71±0.01 c		

4.4 Οργανικά Οξέα

Στο διάγραμμα 40 απεικονίζονται οι μέσοι όροι των οργανικών οξέων για το κάθε ένα από τα δύο στελέχη ζυμομύκητα. Η συγκέντρωση του τρυγικού οξέος κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα και για τα δυο στελέχη ζυμομυκήτων και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά. Οι συγκεντρώσεις του μηλικού, του ηλεκτρικού και του οξικού οξέος είναι μεγαλύτερες για τα δείγματα που ζυμώθηκαν με τον Zymaflore X5 σε σχέση με τα δείγματα που ζυμώθηκαν με τον Vivace. Η διαφορά αυτή είναι στατιστικώς σημαντική σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 39).



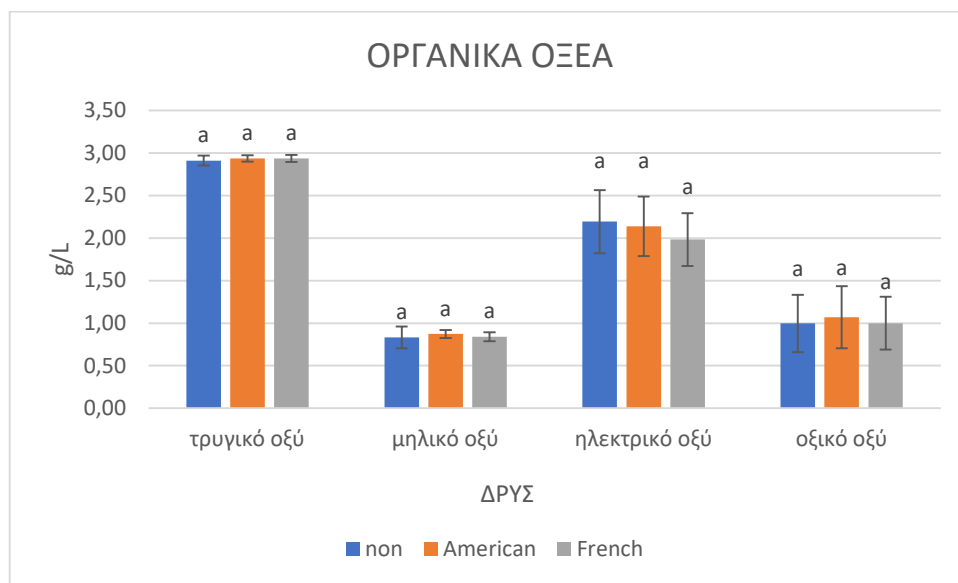
Διάγραμμα 40 Οργανικά οξέα με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 39 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Οργανικά οξέα	Ζυμομύκητας		<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
	ZYMAFLORE X5	VIVACE		
Τρυγικό	2.94±0.04 a	2.92±0.05 a	1.31	0.25
Μηλικό	0.89±0.04 a	0.80±0.08 b	13.07	0.001
Ηλεκτρικό	2.37±0.16 a	1.98±0.26 b	5.66	0.023
Οξικό	1.26±0.08 a	0.79±0.03 b	38.16	5.7×10 ⁻⁷

Στο διάγραμμα 41 απεικονίζονται οι μέσοι όροι των οργανικών οξέων για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. . Οι συγκεντρώσεις του τρυγικού, του μηλικού, του ηλεκτρικού και του οξικού οξέος κυμαίνονται στα ίδια

επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 40).

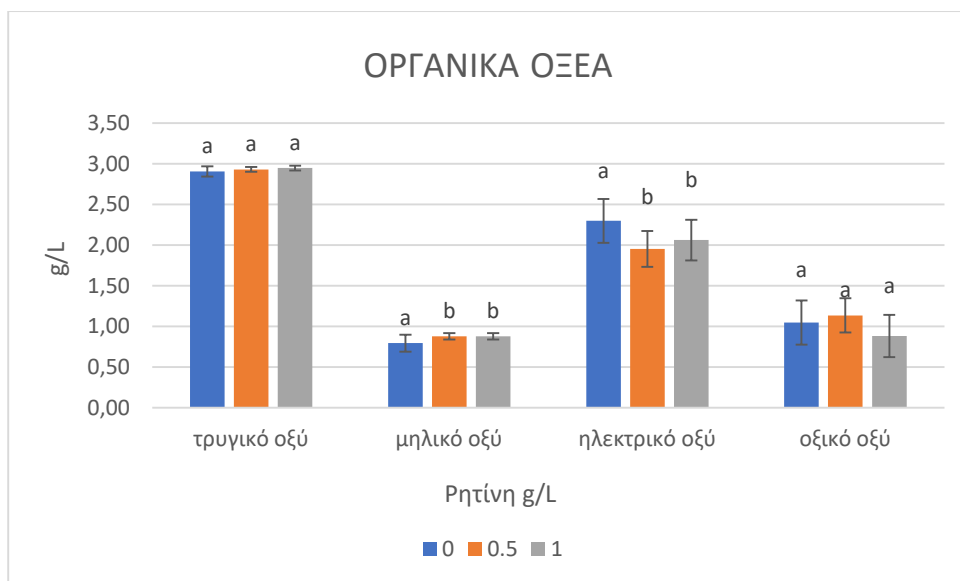


Διάγραμμα 41 Οργανικά οξέα με βάση τη δρυ.

Πίνακας 40 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Οργανικά οξέα	Είδος Δρυός			F ratio	τιμή-P
	non	American	French		
Τρυγικό	2.91±0.06 a	2.94±0.04 a	2.93±0.04 a	1.06	0.35
Μηλικό	0.83±0.13 a	0.87±0.05 a	0.84±0.05 a	0.79	0.46
Ηλεκτρικό	2.19±0.27 a	2.21±0.25 a	1.98±0.21 a	0.06	0.93
Οξικό	1.00±0.24 a	1.07±0.28 a	1.00±0.23 a	0.17	0.84

Στο διάγραμμα 42 απεικονίζονται οι μέσοι όροι των οργανικών οξέων για καθεμιά από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις της ρητίνης. Οι συγκεντρώσεις του τρυγικού οξέος και του οξικού οξέος κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά. Οι συγκεντρώσεις του μηλικού και του ηλεκτρικού οξέος παρουσιάζουν διαφορές και παρατηρούμε ότι διαφέρουν στατιστικώς τα δείγματα που δεν είχαν καθόλου ρητίνη σε σχέση με αυτά που είχαν. Η διαφορά αυτή είναι στατιστικώς σημαντική σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 41).



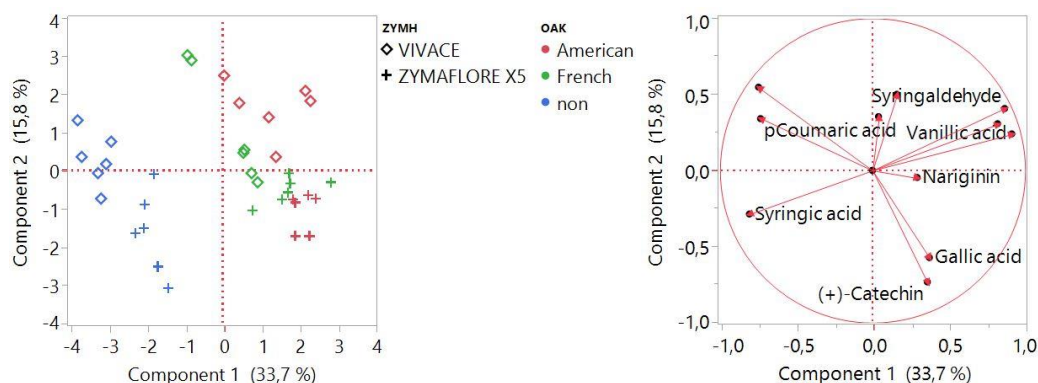
Διάγραμμα 42 Οργανικά οξέα με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 41 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Οργανικά οξέα	Ρητίνη			<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
	0 g/L	0.5 g/L	1 g/L		
Τρυγικό	2.90±0.06 a	2.93±0.03 a	2.95±0.03 a	3.04	0.06
Μηλικό	0.79±0.10 a	0.87±0.04 b	0.88±0.04 b	4.46	0.01
Ηλεκτρικό	2.52±0.21 a	1.95±0.27 b	2.06±0.25 b	4.79	0.01
Οξικό	1.05±0.27 a	1.14±0.21 a	0.88±0.26 a	1.90	0.16

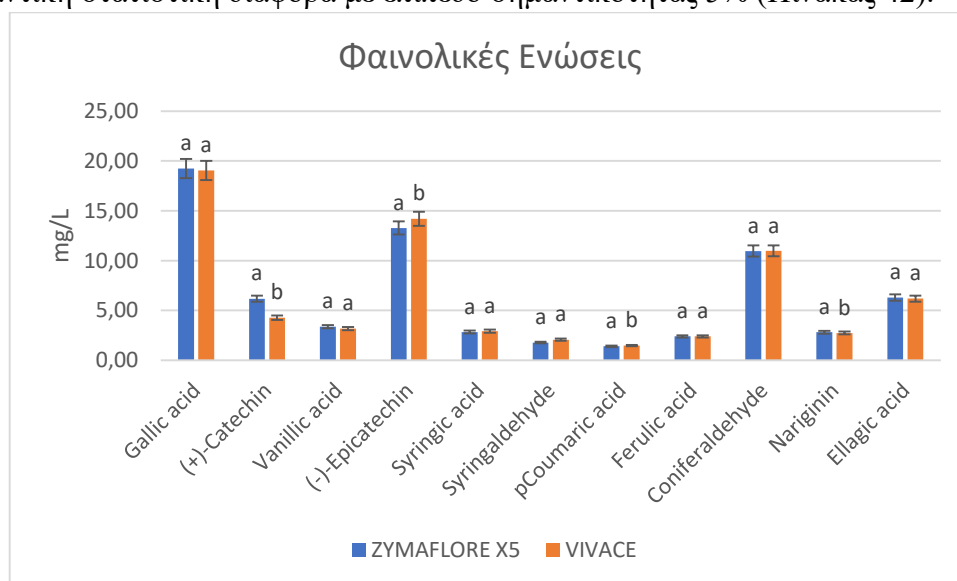
4.5 Φαινολικές Ενώσεις

Λαμβάνοντας υπόψη μόνο τα φαινολικά, βλέπουμε ότι τα δείγματα διαχωρίζονται μεν κυρίως με βάση την ύπαρξη ή μη ξύλου διαχωρίζονται όμως και με βάση το είδος της ζύμης (Διάγραμμα 43).



Διάγραμμα 43 Διαχωρισμός φαινολικών ενώσεων με βάση τη ζύμη και τη δρυ.

Στο διάγραμμα 40 απεικονίζονται οι μέσοι όροι των φαινολικών ενώσεων για το κάθε ένα από τα δύο στελέχη ζυμομύκητα. Παρατηρούμαι ότι οι συγκεντρώσεις της κατεχίνης, της επικατεχίνης, του κουμαρικού οξέος και της ναργινίνης παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 42).

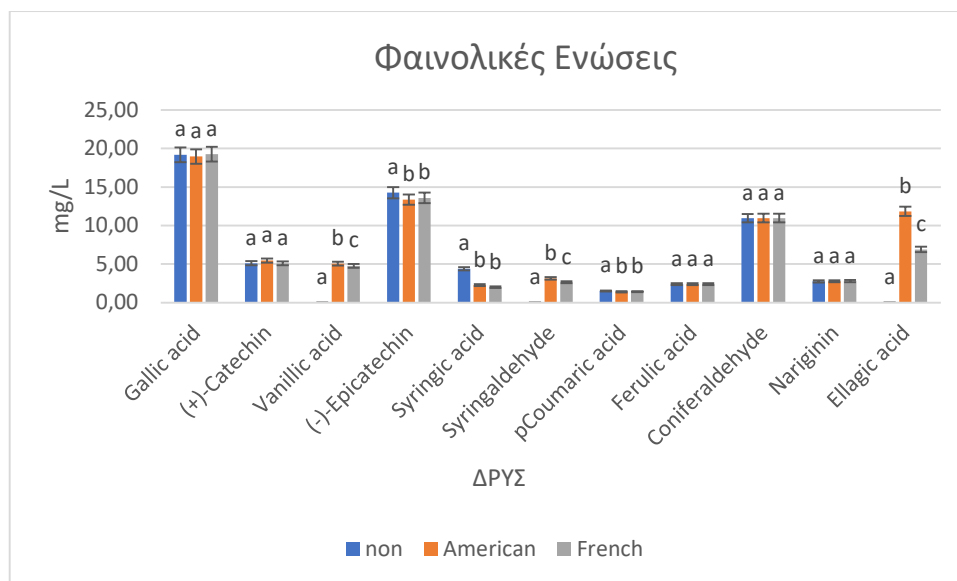


Διάγραμμα 44 Φαινολικές ενώσεις με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 42 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Φαινολικές ενώσεις	Ζυμομύκητας		<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
	ZYMAFLORE X5	VIVACE		
Gallic acid	19.24±0.43 a	19.05±0.19 a	2.82	0.10
(+)-Catechin	6.18±0.68 a	4.28±0.22 b	126.18	5.47×10^{-13}
Vanillic acid	3.37±2.49 a	3.18±2.32 a	0.05	0.81
(-)-Epicatechin	13.28±0.60 a	14.20±0.52 b	24.72	1.86×10^{-5}
Syringic acid	2.84±1.27 a	2.93±1.24 a	0.04	0.83
Syringaldehyde	1.78±1.30 a	2.07±1.72 a	0.31	0.57
pCoumaric acid	1.41±0.07 a	1.48±0.11 b	6.50	0.01
Ferulic acid	2.40±0.01 a	2.40±0.02 a	0.125056	0.72
Coniferaldehyde	10.97±0.02 a	10.98±0.02 a	1.57	0.21
Nariginin	2.82±0.13 a	2.75±0.06 b	4.29	0.04
Ellagic acid	6.30±5.11 a	6.19±4.98 a	0.004	0.94

Στο διάγραμμα 45 απεικονίζονται οι μέσοι όροι των φαινολικών ενώσεων για το κάθε ένα από τα διαφορετικά είδη δρυός που χρησιμοποιήθηκαν. Παρατηρούμαι ότι οι συγκεντρώσεις του βανιλικού οξέος, της συριγκεαλδεύδης και του ελλαγικού οξέος παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 43). Επίσης οι συγκεντρώσεις της επικατεχίνης, του συριγκικού οξέος και του κουμαρικού οξέος παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά όχι ως προς το είδος της δρυός αλλά από την παρουσία της δρυός ή όχι.



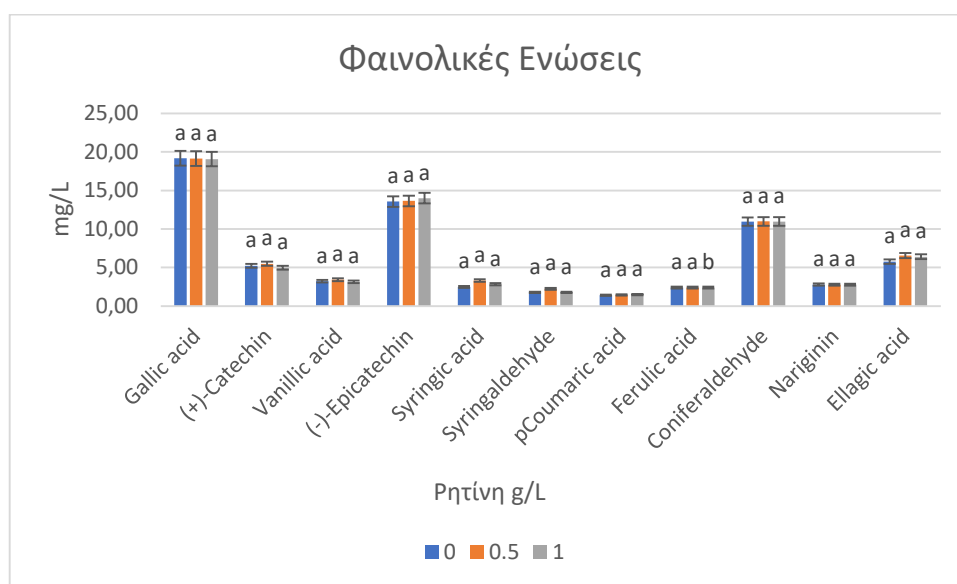
Διάγραμμα 45 Φαινολικές ενώσεις με βάση τη δρυ.

Πίνακας 43 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα δρυ.

Φαινολικές ενώσεις	ΔΡΥΣ			F ratio	τιμή-P
	non	American	French		
Gallic acid	19.19±0.37 a	18.96±0.21 a	19.28±0.43 a	3.19	0.053
(+)-Catechin	5.12±0.87 a	5.47±1.43a	5.09±0.93 a	0.43	0.65
Vanillic acid	0.00 a	5.06±0.59 b	4.76±0.08 c	818.3	7.63×10 ⁻²⁹
(-)-Epicatechin	14.27±0.71 a	13.37±0.64 b	13.59±0.52 b	6.62	0.003
Syringic acid	4.39±0.15 a	2.27±0.80 b	1.99±0.66 b	56.38	2.27×10 ⁻¹¹
Syringaldehyde	0.00 a	3.14±1.01 b	2.64±0.07 c	99.99	9.87×10 ⁻¹⁵
pCoumaric acid	1.51±0.05 a	1.40±0.08 b	1.43±0.11 b	5.52	0.008
Ferulic acid	2.40±0.01 a	2.40±0.01 a	2.40±0.01 a	0.36	0.70
Coniferaldehyde	10.97±0.02 a	10.98±0.02 a	10.98±0.02 a	0.53	0.60
Nariginin	2.76±0.07 a	2.78±0.06 a	2.81±0.16 a	0.60	0.62
Ellagic acid	0.00 a	11.84±1.16 b	6.90±0.13 c	938.42	8.3×10 ⁻³⁰

Στο διάγραμμα 46 απεικονίζονται οι μέσοι όροι των φαινολικών ενώσεων για καθεμιά από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις της ρητίνης. Οι συγκεντρώσεις

κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 44).



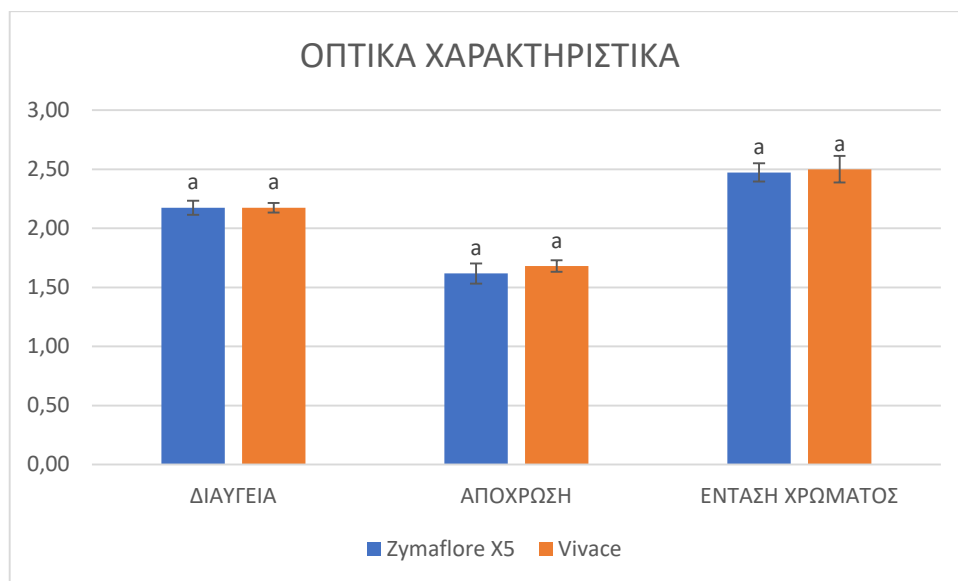
Διάγραμμα 46 Φαινολικές ενώσεις με βάση τη ρητίνη.

Πίνακας 44 Ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ρητίνη.

Φαινολικές ενώσεις	PETΣΙΝΙ (g/L)			<i>F</i> <i>ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
	0	0.5	1		
Gallic acid	19.20±0.48 a	19.13±0.33 a	19.08±0.16 a	0.35	0.70
(+)-Catechin	5.23±0.88 a	5.48±1.42 a	4.97±0.91 a	0.66	0.51
Vanillic acid	3.24±2.40 a	3.42±2.58 a	3.16±2.33 a	0.03	0.96
(-)-Epicatechin	13.56±0.68 a	13.65±0.69 a	14.01±0.78 a	1.32	0.27
Syringic acid	2.50±1.53 a	3.31±0.76 a	2.85±1.26 a	1.31	0.28
Syringaldehyde	1.77±1.30 a	2.23±1.91 a	1.78±1.31 a	0.36	0.69
pCoumaric acid	1.40±0.07 a	1.44±0.09 a	1.49±0.12 b	2.92	0.06
Ferulic acid	2.39±0.01 a	2.40±0.01 a	2.41±0.01 b	7.06	0.002
Coniferaldehyde	10.96±0.01 a	10.99±0.02 a	10.97±0.01 a	4.74	0.02
Nariginin	2.79±0.18 a	2.78±0.05 a	2.78±0.03 a	0.07	0.93
Ellagic acid	5.78±4.50 a	6.56±5.49 a	6.41±5.27 a	0.07	0.92

4.6 Οργανοληπτικός Έλεγχος

Η οργανοληπτική δοκιμή έλαβε χώρα σε διάστημα τριών ημερών, στις 28/3/2018 και στις 30/3/2018. Το πάνελ της γευσιγνωσίας αποτελούνταν από 16 δοκιμαστές.

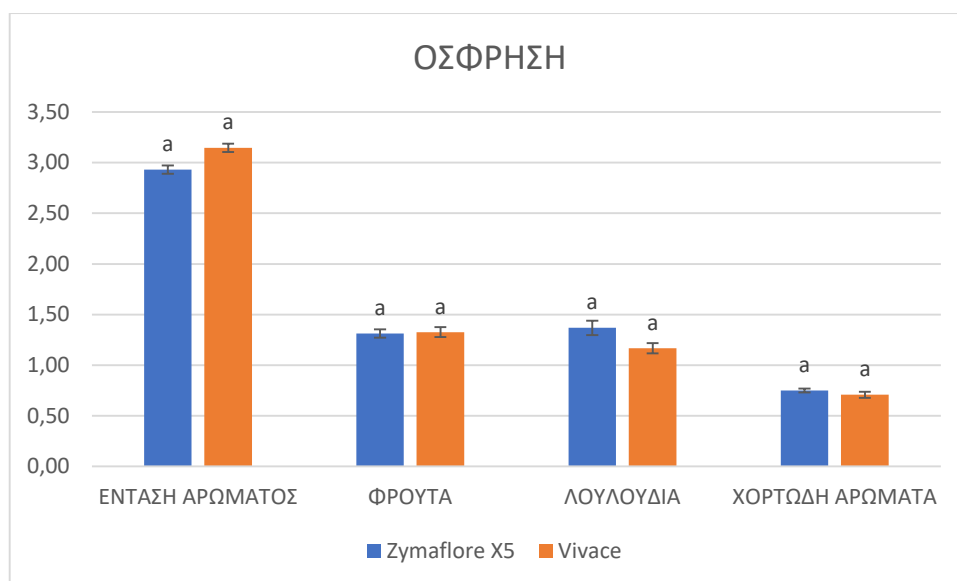


Διάγραμμα 47 Οπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων με βάση το ζυμομύκητα.

Πίνακας 45 Ανάλυση διακύμανσης οπτικών χαρακτηριστικών με βάση το παράγοντα ζυμομύκητα.

Οπτικά Χαρακτηριστικά	Ζυμομύκητας		F ratio	τιμή-P
	ZYMAFLORE X5	VIVACE		
Διαύγεια	2.17±0.06 a	2.17±0.04 a	4,4	0.99
Απόχρωση	1.62±0.09 a	1.68±0.05 a	3.64	0.075
Ένταση Χρώματος	2.47±0.08 a	2.50±0.11 a	0.37	0.55

Στο διάγραμμα 47 απεικονίζονται τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου για τα οπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων με βάση τον παράγοντα ζυμομύκητα. Παρατηρούμε ότι οι τιμές της διαύγειας, της απόχρωσης και της έντασης του χρώματος κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα και για τα δύο στελέχη ζυμομύκητα που χρησιμοποιήθηκαν και δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 45). .

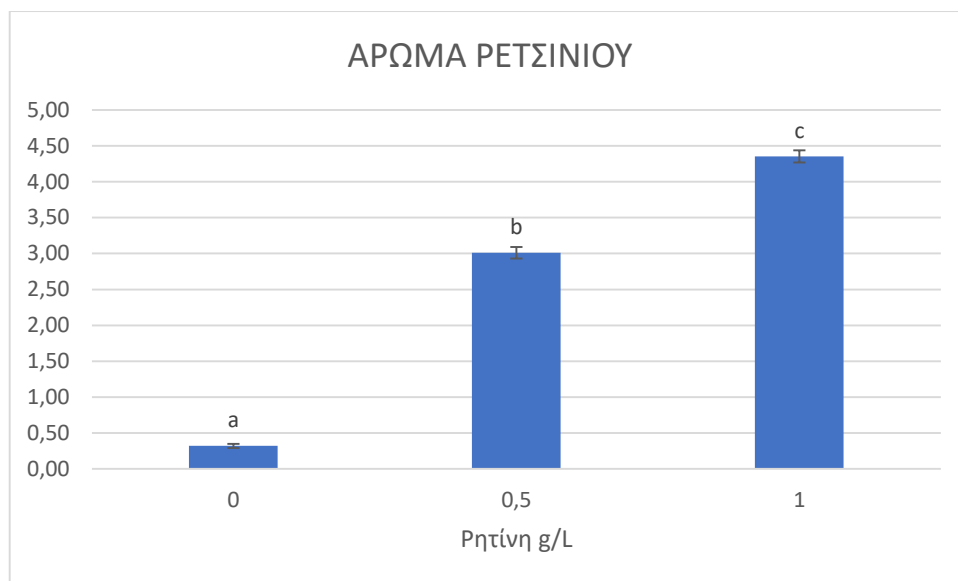


Διάγραμμα 48 Αποτελέσματα οσμής με βάση τον ζυμομύκητα.

Πίνακας 46 Ανάλυση διακύμανσης για την όσφρηση για τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Όσφρηση	Ζυμομύκητας		<i>F ratio</i>	τιμή- <i>P</i>
	ZYMAFLORE X5	VIVACE		
Ένταση Αρώματος	2.93±0.04 a	3.15±0.04 a	1.17	0.29
Φρούτα	1.31±0.04 a	1.33±0.05 a	0.04	0.95
Λουλούδια	1.37±0.07 a	1.17±0.05 a	0.86	0.36
Χορτώδη Αρώματα	0.75±0.02 a	0.71±0.03 a	0.1	0.77

Στο διάγραμμα 48 απεικονίζονται τα αποτελέσματα της γευστιγνωσίας για την ένταση του αρώματος, για τα αρώματα φρούτων, λουλουδιών και για τα χορτώδη αρώματα με βάση τον παράγοντα ζυμομύκητα. Η ένταση των αρωμάτων φρούτων, λουλουδιών χαρακτηρίστηκε από τους δοκιμαστές ως χαμηλή και για τα δύο στελέχη ζυμομυκήτων, το ίδιο συμβαίνει και για τα χορτώδη αρώματα. Παράλληλα παρατηρούμε ότι η ένταση του αρώματος χαρακτηρίστηκε ως μέτρια. Ούτε εδώ παρατηρείται σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 46).

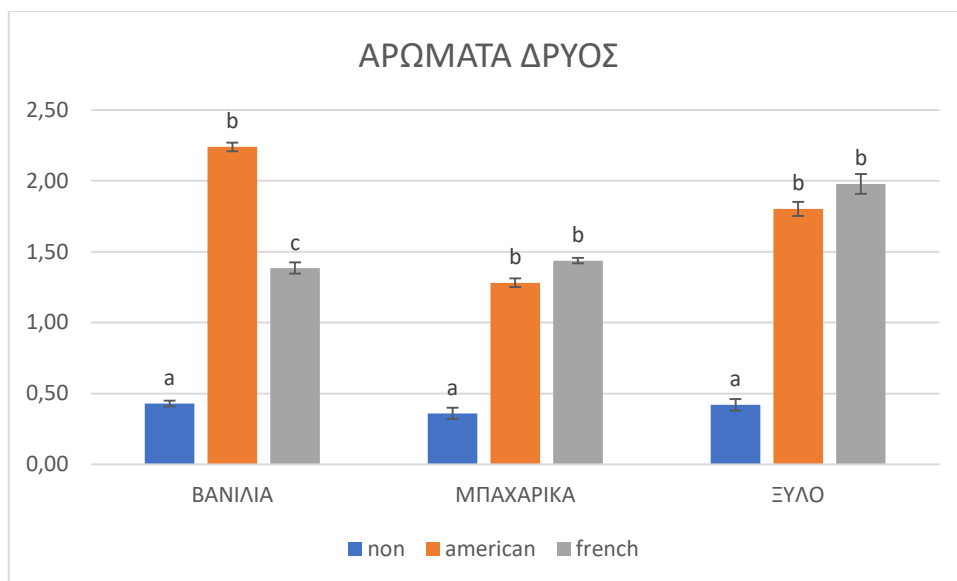


Διάγραμμα 49 Αποτελέσματα γευσισγνωσίας για το άρωμα της ρητίνης.

Πίνακας 47 Ανάλυση διακύμανσης για το άρωμα ρετσινιού με βάση τον παράγοντα της συγκέντρωσης σε ρητίνη.

	Ρητίνη			<i>F ratio</i>	<i>τιμή-P</i>
	0 g/L	0.5 g/L	1 g/L		
Άρωμα ρετσινιού	0.32±0.03 a	3.01±0.08 b	4.35±0.09 c	3.68	4.38×10 ⁻²⁰

Επιπλέον οι δοκιμαστές χαρακτήρισαν την ένταση του αρώματος της ρητίνης μέτρια για τα δείγματα που είχαν 0,5 g/L ρητίνη και υψηλή για τα δείγματα που είχαν 1 g/L ρητίνη ενώ για τα δείγματα που δεν είχε γίνει προσθήκη ρητίνης την χαρακτήρισαν ως πολύ χαμηλή όπως φαίνεται στο διάγραμμα 49. Οι διαφορές μεταξύ των τριών συγκεντρώσεων ρητίνης είναι στατιστικά σημαντικές σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 47).



Διάγραμμα 50 Αποτελέσματα οργανοληπτικού με βάση την δρυ.

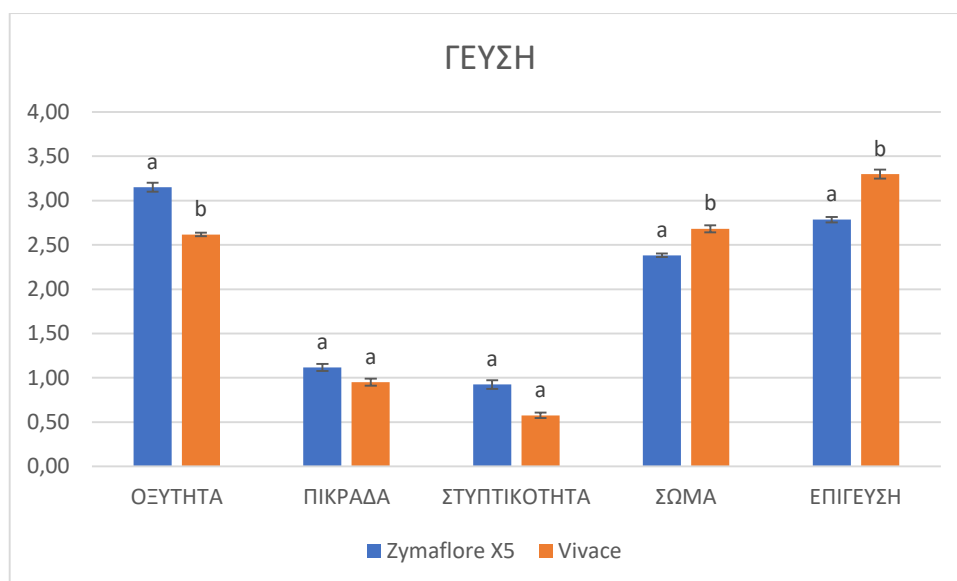
Πίνακας 48 Ανάλυση διακύμανσης για τα αρώματα της δρυός με βάση τον παράγοντα δρυ.

Αρώματα Δρυός	Είδος Δρυός			F ratio	τιμή-P
	non	American	French		
Βανίλια	0.43±0.02 a	2.24±0.03 b	1.39±0.04 c	4.5	0.009
Μπαχαρικά	0.36±0.04 a	1.28±0.03 b	1.44±0.02 b	4.4	0.57
Ξύλο	0.42±0.04 a	1.80±0.05 b	1.98±0.07 b	4.96	0.44

Στο διάγραμμα 50 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου για τα αρώματα της δρυός με βάση τον παράγοντα δρυ. Η ένταση του αρώματος βανίλιας χαρακτηρίστηκε πολύ χαμηλή για τα δείγματα που δεν είχε γίνει προσθήκη κάποιου είδους δρυός, για τα δείγματα με την αμερικάνικη δρυ χαρακτηρίστηκε ως μέτρια ενώ για αυτά με την γαλλική δρυ μέτρια ως χαμηλή και οι τρεις κατηγορίες δειγμάτων παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους σε επίπεδο σημαντικότητας 5% (Πίνακας 48).

Όσον αφορά την ένταση του αρώματος των μπαχαρικών οι δοκιμαστές χαρακτήρισαν τα δείγματα χωρίς προσθήκη δρυός ως πολύ χαμηλή ενώ για τα δείγματα που είχαν είτε αμερικάνικη είτε γαλλική δρυ ως μέτρια προς χαμηλή. Σημαντική στατιστική διαφορά παρουσιάζουν τα δείγματα που δεν είχαν κάποιο είδος δρυός με τα δείγματα που είχαν προσθήκη δρυός ανεξαρτήτου είδους (Πίνακας 48).

Τέλος για την ένταση αρώματος ξύλου τα δείγματα που δεν είχαν κάποιο είδος δρυός χαρακτηρίστηκε από χαμηλή έως καθόλου ενώ για τα δείγματα που είχαν είτε αμερικάνικη είτε γαλλική δρυ χαρακτηρίστηκε ως μέτρια, σημαντική στατιστική διαφορά παρουσιάζουν τα δείγματα που δεν είχαν κάποιο είδος δρυός με τα δείγματα που είχαν προσθήκη δρυός ανεξαρτήτου είδους (Πίνακας 48).



Διάγραμμα 51 Αποτελέσματα γευσισγνωσίας για τα γευστικά χαρακτηριστικά.

Πίνακας 49 Ανάλυση διακύμανσης για τα γευστικά χαρακτηριστικά με βάση τον παράγοντα ζυμομύκητα.

Γεύση	Ζυμομύκητας		F ratio	τιμή-P
	ZYMAFLORE X5	VIVACE		
Οξύτητα	3.15±0.05 a	2.62±0.02 b	4,4	0,04
Πικράδα	1.12±0.04 a	0.95±0.04 a	0.75	0.4
Στυπτικότητα	0.92±0.05 a	0.58±0.13 a	3.8	0.06
Σώμα	2.38±0.02 a	2.68±0.04 b	4.83	0.04
Επίγευση	2.78±0.03 a	3.30±0.05 b	5.96	0.03

Στο διάγραμμα 50 απεικονίζονται τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού για τα γευστικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων. Η οξύτητα χαρακτηρίστηκε από τους δοκιμαστές ως μέτρια με τα δείγματα του Zymaflore X5 να υπερτερούν σε σχέση με τα δείγματα του Vivace, η διαφορά αυτή είναι σημαντική στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%(Πίνακας 49).

Επίσης η ένταση της πικράδας και της στυπτικότητας χαρακτηρίστηκαν ως χαμηλή με τα δείγματα του Zymaflore X5 να υπερτερούν χωρίς όμως να παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%(Πίνακας 49).

Το σώμα των δειγμάτων χαρακτηρίστηκε ως μέτριο με τα δείγματα του Vivace να υπερτερούν με σημαντική στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. (Πίνακας 49).

Τέλος η επίγευση χαρακτηρίστηκε ως μέτρια με τα δείγματα του Zymaflore X5 να υπερτερούν με σημαντική στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. (Πίνακας 49).

5 Συμπεράσματα

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η παρακολούθηση της επίδρασης δύο διαφορετικών ζυμομυκήτων (*Zymaflore X5*, *Vivace*), προσθήκης δυο διαφορετικών ποσοτήτων ρετσινιού (0,5 g/L , 1 g/L) και προσθήκης δύο διαφορετικών ειδών *medium toast* δρυός (Αμερικάνικης, Γαλλικής) με τελικό στόχο την βελτίωση της ποιότητας του ρητινίτη οίνου. Μετά το πέρας της ζύμωσης πραγματοποιήθηκαν κλασικές αναλύσεις, τεστ οξειδωσιμότητας, αναλύσεις πτητικών ενώσεων, οργανικών οξέων. φαινολικών ενώσεων και τέλος οργανοληπτικός έλεγχος στα δείγματα ρητινίτη οίνου από ποικιλία σαββατιανό.

Όσον αφορά τις κλασικές αναλύσεις σημαντικό ρόλο στον διαχωρισμό των δειγμάτων είχε ο παράγοντας του στελέχους του ζυμομύκητα. Ειδικότερα δείγματα είχαν σημαντική στατιστική διαφορά ως προς την ογκομετρούμενη οξύτητα, το pH και την πτητική οξύτητα.

Στο τεστ οξειδωσιμότητας κανένας από τους παράγοντες δεν φαίνεται να επηρεάζει τον ρυθμό οξείδωσης καθώς τα δείγματα δεν παρουσίασαν σημαντική στατιστική διαφορά, όμως φαίνεται ότι η παρουσία της ρητίνης επηρέασε το ποσοστό οξείδωσης.

Όσον αφορά τα πτητικά συστατικά ο διαχωρισμός των δειγμάτων γίνεται με βάση το στέλεχος του ζυμομύκητα αλλά και από την ποσότητα της ρητίνης, λόγω του α-πινένιου.

Τα οργανικά οξέα επίσης φαίνεται να επηρεάζονται κατά βάσει από το στέλεχος του ζυμομύκητα και κατά δεύτερο λόγο παρατηρείται και διαχωρισμός των δειγμάτων με βάση την συγκέντρωση της ρητίνης.

Επιπλέον ο διαχωρισμός των δειγμάτων ως προς τις φαινολικές ενώσεις γίνεται με βάση την προσθήκη ή μη της δρυός στο γλεύκος αλλά και με βάση το στέλεχος του ζυμομύκητα.

Τέλος ο οργανοληπτικός έλεγχος έδειξε διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ως προς την οξύτητα, το άρωμα του ρετσινιού, των αρωμάτων της δρυός, το σώμα και την επίγευση των οίνων.

Συμπερασματικά λοιπόν μπορούμε να διαμορφώσουμε την ποιότητα του τελικού προϊόντος βάσει την επιλογή ζυμομύκητα καθώς και με την προσθήκη δρυός και με την ποσότητα της ρητίνης.

6 Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση

- Amerine, M., Roessler, (1976). E. Wines. Their sensory evaluation. Freeman, New York, 72-77.
- Castino, M. (1988). Connaissance de la composition du raisin et du vin. Passage au vin des substances non transformées par la fermentation. Apparition dans le vin des substances nées lors de la fermentation. *Bull. OIV*, N 61, 539-553.
- Clarke, R. J., Bakker, J. (2004). Wine Flavor Chemistry. Blackwell Publishing
- Delfini, C., Cocito, C., Bonino, M., Schellino, R., Gaia, P., Baiocchi, C. (2001). Definitive evidence for the actual contribution of yeast in the transformation of neutral precursors of grape aromas. *J Agric Food Chem*, 49, 5397–5408.
- Dob, T., Berramdane, T., Chelgoum, C. (2005). Chemical composition of essential oil of *Pinus halepensis* Miller growing in Algeria. *C. R. Chimie*, 8, 1939–1945.
- Dubois, P. (1994). Les Aromes des vins et leurs défauts. *Rev. Fr. OEn.*, 144, 27-72.
- Estreher, S. K. (2006). Wine: from Neolithic times to the 21st century. Algora Publishing, USA.
- Etievant, P. X. (1991) Ch.14 Wine. In: Volatile compounds in food and beverages. Maarse, H.; Marcel Dekker Inc NY, 483-546
- Fischer, U. (2007). Wine aroma. In: Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability. Berger R.G. (Ed.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 241-267.
- Hornsey, I. (2007). Resinated wine, p. 42. In: *Chemistry and Biology of Winemaking*, RSC Publishing.
- Karanikas, C., Walker, V., Scaltsoyiannes. A., Comte, G., Bertrand, C. (2010). High vs. low yielding oleoresin *Pinus halepensis* Mill. Trees GC terpenoids profiling as diagnostic tool. *Ann. For. Sci.*, 67, 412 (1-8)
- Kaundun, S., Lebreton, P., Bruno, F. (1998). Geographical variability of *Pinus halepensis* Mill. as revealed by foliar flavonoids. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26, 83- 96.
- Lambrechts, M. G., Pretorius, I. S. (2000). Yeast and its importance to wine aroma – a review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 21, 97–129.
- Mateo, J., Jimenez, M. (2000). Monoterpenes in grape juice and wines. *J Chromatogr A*, 881, 557–567.
- McGovern, P. E., et al. (2009). Ancient Egyptian herbal wines. *PNAS*, 106, 18, 7361- 7366.
- McGovern, P. E., et al. (2004). Fermented beverages of pre- and proto-historic China. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 17593–17598.
- McGovern, P. E., Voigt, M. M., Glusker, D. L., Exner, L. J. (1996). Neolithic resonated wine. *Nature*, 381, 480–481.
- Monk P. R., Costello P. J. (1984). Effect of ammonium phosphate and vitamin mixtures on yeast growth in preserved grape juice. *Food Technology in Australia*, 36 (1), 25-28.
- Moulalis, D. (1981). Variation of resin yield of *Pinus halepensis* in Kassandra Chalkidiki. *Scientific Annals of the School Agriculture and Forestry*, Vol. 24 – Annex (in Greek, English abstract).

- Nykanen, L. (1986). Formation and occurrence of flavour compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37(1), 84-96.
- Nykanen, L., Suomalainen, H. (1983). Formation of aroma compounds by yeast. In *Aroma of Beer, Wine and Distilled Alcoholic Beverages*. Reidel Publishing: Dordrecht, The Netherlands, 3-15.
- Panetsos, K. P. (1999). Pinus halepensis (Mill.) *Enzyklopädie der Holzgewächse*. 18 (III- 1), 10.
- Rapp, A., Mandery, H. (1986). Wine aroma. *Experientia*, 42, 873–884.
- Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2001). Handbook of Oenology vol. 2 The chemistry of wine stabilization & Treatments. Wiley John & Sons.
- Roussis, V., Petrakis, P., Ortiz, A., Mazomenos, B. (1995). Volatile constituents of needles of five Pinus species grown in Greece. *Phytochemistry*, 39, 357-361.
- Simpson, R. (1979). Some important compounds of white wine. *Food Technol Aust.*, 31,516-522.
- Stashenko, H., Macku, C., Shibamoto, T. (1992). Monitoring volatile chemicals formed from must during yeast fermentation. *J Agric Food Chem*, 40, 2257–2259.
- Styger, G., Prior, B., Bauer, F. F. (2011). Wine flavor and aroma. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38, 1145-1159.
- Swiegers, J. H., Francis, I. L., Herderich, M. J., Pretorius, I. S. (2006). Meeting consumer expectations through management in vineyard and winery: the choice of yeast for fermentation offers great potential to adjust the aroma of Sauvignon Blanc wine. *Aust. N. Z. Wine Ind. J.*, 21, 34–42.
- Swiegers, J. H., Pretorius, I. S., (2005). Yeast modulation of wine flavour. *Adv Appl Microbiol* 57, 131–175.
- Varnam, A. H., Sutherland Jane P., Χατήρης, Ι. (2006). Ποτά: Τεχνολογία, χημεία και μικροβιολογία, Εκδόσεις: Ίων, Αθήνα.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, L148/1, 6.6.2008, ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 479/2008.
- Λαζαράκης, Κ. (2005). Τα ελληνικά κρασιά, Εκδόσεις Ψυχάλου.
- Παπαγιανόπουλος, Α. (2002). Εγχειρίδιο ρητίνευσης, Αθήνα.
- Σουφλερός, Ε. (1997). Οινολογία, Επιστήμη και Τεχνογνωσία, Τόμος Ι. Θεσσαλονίκη.
- Σταύρακας, Δ. Ε. (2010). Αμπελογραφία. Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις Ζήτη
- Σουφλερός, Ε. (2000). Οινολογία: Επιστήμη και Τεχνογνωσία, Τόμος 1 & 2, Θεσσαλονίκη.
- Στεφανόπουλος, Ο. (1976). Ο ρητινίτης οίνος. Επιστημονική επετηρίδα, Τόμος 5, Τεύχος 1, Ανωτ. Βιομηχ. Σχολή Θεσσαλονίκης.
- Τσακίρης, Α. (2005) Οινολογία: Έρευνα και εφαρμογές, Εκδόσεις Ψυχάλου.

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

- <http://www.flavornet.org/>
- <http://webbook.nist.gov/>
- <http://pherobase.com/>
- <http://www.odour.org.uk/>

- <http://en.wikipedia.org/>
- <http://el.wikipedia.org/>
- <http://www.wineandgrapes.gr/>
- [http://www.sigmaaldrich.com /](http://www.sigmaaldrich.com/)
- <http://www.foodanalysislab.blogspot.com/>