



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΟΙΝΟΥ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΩΝ»

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

ΤΙΤΛΟΣ: «Επίδραση του χρόνου παραμονής με τα στέμφυλα και της χρήσης διαφορετικών ζυμών στα πτητικά συστατικά του οίνου που προήλθε από την οινοποίηση της ποικιλίας «Κακοτρύγης».



Μεταπτυχιακός φοιτητής: Αντώνιος Χ. Χονδρογιάννης

Όνομα Επιβλέποντος: Σταματίνα Καλλίθρακα, Αναπληρώτρια καθηγήτρια

Αθήνα, 2019

## ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΤΙΤΛΟΣ: «Επίδραση του χρόνου παραμονής με τα στέμφυλα και της χρήσης διαφορετικών ζυμών στα πτητικά συστατικά του οίνου που προήλθε από την οινοποίηση της ποικιλίας «Κακοτρύγης»

TITLE: "Influence of residence time with grape skin and the use of different yeasts on the volatile constituents of wine derived from the vinification of the 'Kakotrigis' variety".

Μεταπτυχιακός φοιτητής: Αντώνιος Χ. Χονδρογιάννης

Όνομα Επιβλέποντος: Σταματίνα Καλλίθρακα, Αναπληρώτρια καθηγήτρια

Όνομα Α' μέλους τριμελούς επιτροπής: Σταματίνα Καλλίθρακα, Αναπληρώτρια  
καθηγήτρια

Όνομα Β' μέλους τριμελούς επιτροπής: Γεώργιος Κοτσερίδης, Αναπληρωτής  
καθηγητής

Όνομα Γ' μέλους τριμελούς επιτροπής: Χρήστος Παππάς, Αναπληρωτής καθηγητής

## Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη.....	5
Ευχαριστίες.....	6
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή.....	9
1.1 Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας «Κακοτρύγης» .....	10
1.2 Άρωμα οίνων.....	12
1.2.1 Ταξινόμηση των αρωμάτων των οίνων.....	13
1.2.2 Προέλευση αρώματος οίνων .....	14
1.2.3. Περιγραφή του αρώματος των οίνων .....	15
1.3 Κατηγορίες πτητικών ενώσεων .....	16
1.3.1 Αλκοόλες.....	16
1.3.2 Εστέρες .....	16
1.3.3 Λακτόνες .....	18
1.3.4 Λιπαρά οξέα αλειφατικής αλυσίδας .....	18
1.3.5 Καρβονυλικές ενώσεις .....	19
1.3.6 Ακετάλες .....	19
1.4 Ποικιλιακό άρωμα- Πρόδρομες ενώσεις αρώματος .....	20
1.4.1 Τερπένια.....	21
1.4.2 Μη ισοπρενοειδείς ενώσεις .....	22
1.4.3 Μεθοξυπυραζίνες.....	23
1.4.4 Πτητικές θειούχες ενώσεις .....	23
1.5 Καλλιεργητικές τεχνικές- Επηρεάζουν τα αρώματα; .....	24
1.6 Η αίσθηση της οσμής.....	26
1.7 Μέθοδοι απομόνωσης ενώσεων αρώματος.....	27
1.7.1 Εκχύλιση υγρού-υγρού .....	27
1.7.2 Static Headspace technique .....	28
1.7.3 Dynamic Headspace technique.....	28
1.7.4 Εκχύλιση και μικροεκχύλιση στερεάς φάσης.....	28
1.8 Μέθοδοι ανίχνευσης ενώσεων αρώματος .....	29
1.8.1 GC-FID (Παπαδογιάννης & Σαμανίδου, 2011).....	29
1.8.2 GC-MS (Παπαδογιάννης & Σαμανίδου, 2011, p. 441).....	31
Κεφάλαιο 2: Υλικά και μέθοδοι.....	33
2.1 Σκοπός και σχεδιασμός του πειράματος .....	33

2.2 Κλασικές αναλύσεις στους οίνους.....	36
2.2.1 Προσδιορισμός ενεργού και ολικής οξύτητας.....	36
2.2.2 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας.....	36
2.2.3 Προσδιορισμός αναγόντων σακχάρων.....	36
2.2.4 Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου .....	36
2.3 Προσδιορισμός φαινολικών ουσιών .....	36
2.3.1 Ολικά φαινολικά συστατικά.....	36
2.3.2 Δείκτης Ολικών Φαινολικών (ΔΦΟ) .....	37
2.3.3 Μέθοδος Folin – Ciocalteu.....	37
2.3.4 Τεστ ταχείας αμαύρωσης .....	38
2.4 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας με την δοκιμή DPPH.....	39
2.5 Ανάλυση πτητικών ουσιών με την μέθοδο GC-MS. ....	41
2.6 Οργανοληπτικός έλεγχος .....	43
2.6.1 Τρόπος δοκιμής κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο .....	45
2.7 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων .....	46
Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα .....	47
3.1 Αποτελέσματα κλασικών αναλύσεων.....	47
3.2 Προσδιορισμός φαινολικών ουσιών .....	49
3.2.1 Προσδιορισμός δείκτη φαινολικών ουσιών .....	49
3.2.2 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu.....	51
3.2.3 Test ταχείας αμαύρωσης .....	53
3.2.4 Μέτρηση αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο DPPH.....	56
3.3 Προσδιορισμός πτητικών ουσιών.....	58
3.4 Οργανοληπτικός έλεγχος .....	64
4. Συζήτηση .....	68
5. Συμπεράσματα .....	72
Βιβλιογραφία .....	73

## Περίληψη

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή πραγματοποιήθηκε, με σκοπό να δοθεί μία εικόνα των προκύπτοντων από την ποικιλία «Κακοτρύγης», οίνων, με έμφαση στα πτητικά συστατικά τους. Για την πραγματοποίηση των οινοποιήσεων, οι οποίες ήταν απαραίτητες για την εκπόνηση αυτής της διατριβής, χρησιμοποιήθηκαν σταφύλια από την περιοχή της Κέρκυρας. Συγκεκριμένα έγιναν τέσσερις (4) διαφορετικές οινοποιήσεις, με μία επανάληψη η κάθε μία, όπου διαφοροποιούνταν ο χρόνος παραμονής με τα στέμφυλα (0 και 24 ώρες) και το είδος των ζυμών (γηγενείς και εμπορικές). Μελετήθηκαν έτσι, οι διαφορές που προκύπτουν αναλόγως την διαφοροποίηση αυτών των παραγόντων, στα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων αυτών, με έμφαση στα πτητικά συστατικά τους, τα οποία αναλύθηκαν με την τεχνική της GC-MS. Η διαφοροποίηση αυτών των παραγόντων σχετίζεται αφενός με μαρτυρίες, στην περιοχή της Κέρκυρας όπου προτιμώταν παραδοσιακά κατά την οινοποίηση της εν λόγω ποικιλίας να παραμένουν τα στέμφυλα με το γλεύκος, για μία ή δύο ημέρες. Γίνεται έτσι μία σύγκριση με ορισμένες νεότερες τεχνικές κατά τις οποίες δεν πραγματοποιείται παραμονή με τα στέμφυλα, μετά την αποχύμωση των ραγών. Αφετέρου για να γίνει μία συγκριτική μελέτη στα χαρακτηριστικά των οίνων (κυρίως στα πτητικά), αναλόγως με την χρήση γηγενών ή εμπορικών ζυμών. Ως ο πλέον επιθυμητός, κατά την προσωπική άποψη του συγγραφέα φυσικά, είναι εκείνος ο συνδυασμός τεχνικών που θα οδηγήσει στην μεγαλύτερη ανάδειξη των ποικιλιακών χαρακτηριστικών του Κακοτρύγη.

Λέξεις κλειδιά: Κακοτρύγης, πτητικά, παραμονή με στέμφυλα, γηγενείς και εμπορικές ζύμες, σύγκριση

## Abstract

This postgraduate thesis was conducted in order to give an overview of the wines produced from the "Kakotrigis" variety, with emphasis on their volatile ingredients. Grapes from the Corfu region were used to make the wines, which were necessary for this thesis. Specifically, four (4) different vinifications were done, with one replication each, which varied the residence time with grapes (0 and 24 hours) and the type of yeasts (native and commercial). The differences resulting from the differentiation of these agents in the physicochemical and organoleptic characteristics of these wines were therefore studied, with an emphasis on their volatile constituents, which were analyzed by GC-MS technique. The differentiation of these factors relates, on the one hand, to testimonies, in the area of Corfu, where it was traditionally preferred for grape skin to remain for one or two days during the vinification of this variety. This is a comparison with some of the newer techniques that don't prefer must to remain with grape skin, after juicing. On the other hand, for a comparative study on the characteristics of wines (mainly volatiles), depending on the use of native or commercial yeasts. Most desirable, in the author's personal opinion, of course, is the combination of techniques that will lead to a greater appreciation of Kakotrigi's varietal characteristics.

Key words: Kakotrigis, volatiles, remain with grapes, native and commercial yeast, comparison

## Ευχαριστίες

Με την εκπόνηση της εν λόγω μεταπτυχιακής διατριβής, κλείνει για εμένα κατά 99% ο κύκλος της φοιτητικής μου ζωής-το 1% αποτελεί το στατιστικό σφάλμα (sic!). Τα συναισθήματα οι σκέψεις και τα συμπεράσματα, είναι πολλά και ανάμικτα για να χωρέσουν σε λίγες γραμμές, όμως το απόσταγμα τους είναι σίγουρα ευχάριστο, γεμάτο, και μάλλον στο μέλλον θα διανθίζεται και από πολλή νοσταλγία.

Θεωρώ ότι πρώτα οφείλω να ευχαριστήσω από την καρδιά μου, την οικογένεια μου, η οποία με κόπο και κούραση, μου έδωσε την ευκαιρία και την δυνατότητα να σπουδάσω, να ζήσω σε διαφορετικά μέρη, να γεμίσω εμπειρίες και χρήσιμα συμπεράσματα, μου στάθηκε δίπλα, στα δύσκολα και στα εύκολα. Σε αυτούς αφιερώνω και αυτήν την εργασία και τους χρωστώ τεράστια ευγνωμοσύνη.

Θέλω να ευχαριστήσω θερμά την Αναπληρώτρια καθηγήτρια οινολογίας, κυρία Σταματίνα Καλλίθρακα, η οποία ως επιβλέπουσα, με εμπιστεύτηκε για την εκπόνηση της μεταπτυχιακής διατριβής μου και πολλές φορές με ιδιαίτερη υπομονή, παρά την πίεση λόγω των ευθυνών της, απαντούσε και βοηθούσε στις συνεχείς απορίες και δυσκολίες που μου προέκυπταν.

Στο ίδιο πνεύμα, ευχαριστώ τον κύριο Γεώργιο Κοτσερίδη, Αναπληρωτή καθηγητή οινολογίας, ο οποίος όποτε χρειάστηκε, όπως π.χ. στον οργανοληπτικό έλεγχο, μου έδωσε πολύτιμες γνώμες και συμβουλές.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην κυρία Νίκη Προξενιά, η οποία είναι η «μαέστρος» του εργαστηρίου οινολογίας και η οποία αφιέρωσε εξαιρετική υπομονή, σκέψη και φιλική διάθεση ώστε να με βοηθήσει σε κάθε βήμα της διατριβής μου, παρά τον βαρύ φόρτο εργασίας της.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά την κυρία Μαρία Μετάφα, ερευνήτρια στο Ινστιτούτο Οίνου, για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε στην ανάλυση των πτητικών ουσιών των δειγμάτων.

Δεν μπορώ φυσικά, να μην ευχαριστήσω ιδιαίτερα όλους τους συναδέλφους μου στο εργαστήριο οινολογίας, προπτυχιακούς, μεταπτυχιακούς, υπ. διδάκτορες, οι οποίοι συνέβαλαν στο να υπάρχει κλίμα και πνεύμα συνεργασίας, διάθεση για να επιλύονται όλα τα προβλήματα που προέκυπταν, συναδελφικότητα και φιλία. Η χρονιά αυτή μέσα στο εργαστήριο, εκτός από κούραση και δουλειά, ήταν γεμάτη με πολλές στιγμές με ατελείωτο γέλιο και πλάκα στο υπόγειο του κτιρίου «Χασιώτης»,

συζητήσεις για σοβαρά και «ασόβαρα» θέματα. Σε κάθε περίπτωση, όλοι οι συνάδελφοι μου ανεξαιρέτως, συνέβαλαν, ώστε αυτή την χρονιά να την θυμάμαι πολύ ευχάριστα.

Νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω πολλούς ακόμα και κάποιους πολύ ξεχωριστά. Ωστόσο, οι γραμμές δεν αρκούν. Ελπίζω, οι πράξεις μου ως προς αυτούς, να φανερώσουν την ευγνωμοσύνη μου.

Με ειλικρίνεια



## Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Ευρύτερα γνωστή ήταν από τα αρχαία χρόνια η καλλιέργεια του αμπελιού στο νησί των Φαιάκων. Αναφορές για τον αμπελώνα και το κρασί της Κέρκυρας συναντάμε τόσο στον Όμηρο αλλά και στον Ξενοφώντα. Στα «Ελληνικά» μας πληροφορεί ο Αθηναίος ιστορικός, ότι ο Λακεδαιμών Μνάσιππος και οι στρατιώτες του εκτιμούσαν ιδιαίτερα τα κρασιά της Κέρκυρας και τα θεωρούσαν εξαιρετικής ποιότητας. Ακόμη, εντύπωση είχε προκαλέσει στο μεγάλο ιστορικό ότι στο νησί υπήρχαν οικήματα που χρησίμευαν για αποθήκες κρασιού (οινώνες).

Αρκετούς αιώνες μετά, πληροφορούμαστε από τις πηγές ότι την περίοδο της κατοχής του νησιού από τους Ανδηγαυούς (1267-1386), η τοπική παραγωγή ήταν αρκετά μεγάλη για να καλύψει τις ανάγκες του πληθυσμού. Στα τέλη του 14ου αιώνα οι αμπελώνες είχαν εξαπλωθεί παντού στην εξοχή, περισσότερο δε κοντά στην πόλη.

Το 1808 με τα Ιόνια Νησιά να βρίσκονται υπό την κατοχή του Ναπολέοντα συστήθηκε η Ιονική Ακαδημία. Από τους κόλπους της προέκυψε η Αγρονομική Εταιρεία, η οποία είχε την επιμέλεια της γεωργίας και των αγρών των Επτανήσων. Μεταξύ άλλων, μέσω των υποκαταστημάτων, ελήφθη μέριμνα και για τους αμπελώνες. Αρκετά χρόνια μετά, επί Αγγλοκρατίας, με την επανίδρυση της από τον Φρειδερίκο Άνταμ στις αρμοδιότητές της προστέθηκε και η ενίσχυση της οινοποιίας και της οινοπνευματουργίας. Πολύ σημαντικές για το θέμα αυτό είναι και οι πληροφορίες από τους ξένους αξιωματούχους και περιηγητές που επισκέφθηκαν την Κέρκυρα τους περασμένους αιώνες. Ο περιηγητής και Γερμανός καθηγητής της Γεωγραφίας Joseph Partsch στο βιβλίο για την Κέρκυρα, αναφέρει ότι τα καλύτερα κρασιά παράγονταν στις περιοχές των Πάγων, Λιαπάδων, Σιναράδων και στο Πεντάτι ενώ κατά τη διετία 1885-1886 είχαν αποσταλεί στο εξωτερικό 65.000 βαρέλια (4.615 τόνοι).

Το 1898, με Βασιλικό Διάταγμα, ιδρύθηκε ο «Γεωργικός Σταθμός» στο νησί του Βίδου, με πρώτο αντικείμενο της έρευνάς του την αμπελουργία. Αξίζει να αναφερθεί ότι ο σταθμός αυτός κατείχε 50 στρέμματα αμπελώνων με κλήματα μαυροδάφνης, ροδίτη, σαββατιανού, σουλτανίνας.

Τα νούμερα για την παραγωγή του αμπελιού παραμένουν εντυπωσιακά και στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα. Σύμφωνα με τα στατιστικά στοιχεία του Γάλλου αξιωματικού Ντεκόρς, το 1917 σε όλο το νησί καλλιεργούνταν 49.560 στρέμματα

αμπελιού με ετήσια απόδοση 1.747.000 λίτρα κρασιού. Ωστόσο, την πρώτη θέση στην παραγωγή σταφυλιών και κρασιού κατείχαν τα χωριά του Νότου.

Από τη δεκαετία του 1960 και μετά ο κερκυραϊκός αμπελώνας άρχισε σταδιακά να εγκαταλείπεται. Οι λόγοι της εγκατάλειψης αυτής ήταν η ενασχόληση με τον τουρισμό και η μετανάστευση των Κερκυραίων προς τα μεγάλα αστικά κέντρα (π.χ. Αθήνα, Θεσσαλονίκη) και το εξωτερικό (Γερμανία, Αυστραλία, Αμερική κ.α.). Επιπλέον, βασικό ρόλο έπαιξε και δυσπιστία των κερκυραίων αμπελουργών σε καινοτόμες ιδέες για την αντιμετώπιση των ασθενειών του αμπελιού. (Πανδή-Αγαθοκλή) (Κέρκυρας)

### **1.1 Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας «Κακοτρύγης»**

Ο κακοτρύγης ή κακοτρίχι είναι οινοποιήσιμη ποικιλία, η οποία καλλιεργείται στην νήσο Κέρκυρα και σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία, η καλλιέργεια της ποικιλίας συνίσταται στο αμπελουργικό διαμέρισμα Ιονίων νήσων.

Τα αμπελογραφικά χαρακτηριστικά του είναι τα εξής:

Η κορυφή νεαρού βλαστού είναι ανοιχτή, έντονα χνουδωτή και λευκοπράσινη. Το ανεπτυγμένο φύλλο του είναι μεγάλο, κυκλικό προς σφηνοειδές, τρίλοβο ή πεντάλοβο με ανώτερους πλάγιους κόλπους αβαθείς έως μέσου βάθους, και μισχικό κόλπο σε σχήμα V κλειστό με επικαλυπτόμενα χείλη. Το έλασμα του είναι κυματώδες με ελαφρές εξογκώσεις μεταξύ των νευρώσεων και χρώμα πράσινο γυαλιστερό στην άνω επιφάνεια και πρασινόλευκο στην κάτω επιφάνεια. Οι κύριες νευρώσεις στην κάτω επιφάνεια είναι εξέχουσες, ερυθροπράσινες, χνουδωτές και στην άνω ελαφρώς ερυθρές κοντά στον μίσχο. Τα άνθη του είναι ερμαφρόδιτα και αυτογόνιμα. Η σταφυλή είναι μεγάλου έως μέτριου μεγέθους, κωνική συνήθως πτερυγωτή και πυκνή. Ο μίσχος είναι ξυλοποιημένος και σκληρός πράγμα που δυσκολεύει τον τρύγο, εξ ου και το όνομα της εν λόγω ποικιλίας. Η ράγα είναι μεσαίου μεγέθους προς μικρή, σφαιρική, κιτρινόλευκη και χρυσίζουσα με τον φλοιό της να είναι μέσου πάχους, την επιδερμίδα της διαφανής με λεπτή ανθηρότητα και την σάρκα της μαλακή και χυμώδης.

Οι ιδιότητες της ποικιλίας είναι οι εξής:

Τα πρέμνα του κακοτρύγη είναι ζωνρά και η ίδια η ποικιλία είναι παραγωγική, αφού συνήθως έχουμε 2 σταφύλια ανά καρποφόρο βλαστό. Η διαμόρφωση του είναι συνήθως κυπελλοειδής και το κλάδεμα της καρποφορίας βραχύ (συνήθως 1-2 μάτια). Η ποικιλία καλλιεργείται ως αυτόριξη, αλλά είναι ευαίσθητη στον περονόσπορο. Η εκβλάστηση της είναι στο 3<sup>ο</sup> 10ήμερο του Μαρτίου, η άνθηση στο 3<sup>ο</sup> 10ήμερο του Μαΐου, ο περκασμός στις αρχές Αυγούστου και η τεχνολογική ωριμότητα στο 2<sup>ο</sup> 10ήμερο με τέλος Σεπτεμβρίου.

Οι παραγόμενοι οίνοι είναι συνήθως υψηλόβαθμοι. Από την ποικιλία «Κακοτρύγης» παράγονται οι λευκοί ξηροί Τοπικοί οίνοι «Χαλικούνας» και «Κέρκυρας». (Σταύρακας, 2010)

## 1.2 Άρωμα οίνων

Κάνοντας αναδρομή στον χρόνο και μελετώντας την οινική ιστορία παρατηρούμε ότι το άρωμα των οίνων έπαιξε ανέκαθεν σημαντικό ρόλο. Γι' αυτό τον λόγο οι πρόγονοι μας αρωμάτιζαν τον οίνο με διάφορα αρωματικά φυτά καθώς έτσι πίστευαν ότι αναβαθμίζουν την ποιότητα του. Παραδείγματος χάρη, ήταν πολύ συνηθισμένο φαινόμενο στην αρχαία Ελλάδα ο αρωματισμός οίνων με άψινθο, αρωματικό φυτό το οποίο χρησιμοποιείται έως σήμερα για την παραγωγή του γνωστού σε όλους βερμούτ. Κάπως έτσι προέκυψε και ο αρωματισμός οίνων με ρητίνη πεύκου η οποία πέρα από το χαρακτηριστικό άρωμα που προσδίδει στον οίνο με την γνωστή ονομασία «ρετσίνα», πιστεύεται ότι η προσθήκη του αποσκοπούσε και στην συντήρηση του ίδιου του οίνου από οξειδωτικές μεταβολές. Αμφορείς που βρέθηκαν στην Κρήτη και χρονολογούνται στο 2700 π.Χ. σύμφωνα με αναλύσεις βρέθηκε ότι περιείχαν οίνο με ρητίνη.

Με το πέρασμα φυσικά των χρόνων, οι προτιμήσεις των ανθρώπων θα αλλάξουν με αποτέλεσμα κάποιες να παραμείνουν ίδιες, κάποιες να βελτιωθούν ενώ κάποιες άλλες να εγκαταλειφθούν. Παράλληλα η πρόοδος της τεχνολογίας στον τομέα της οινολογίας είχε ως αποτέλεσμα την ανάδειξη νέων αρωμάτων, την ποσοτική και ποιοτική μελέτη τους, την εύρεση των παραγόντων που επηρεάζουν το άρωμα ενός οίνου. (Τσουνής, 2011)

Η πρόοδος αυτή στον τομέα της οινολογίας προϋπέθετε φυσικά την ανάπτυξη συναφών επιστημονικών πεδίων που ενυπάρχουν σε αυτήν όπως π.χ. της ενόργανης ανάλυσης και των προχωρημένων χρωματογραφικών τεχνικών. Οι τεχνικές αυτές (αναλυτικές και υβρίδια αναλυτικών/οργανοληπτικών τεχνικών) (Chapman, Thorngate, Matthews, & Ebeler, 2004) καθώς και η περιγραφική στατιστική ανάλυση με την βοήθεια πολυπαραγοντικών στατιστικών συγκρίσεων, (Saenz-Najavas, Campo, L.Cullere, Fernandez-Zurbano, Valentin, & V.Ferreira, 2010) οδήγησαν σε αυξημένο ενδιαφέρον τον τελευταίο αιώνα για το άρωμα του οίνου. Μάλιστα ο συνδυασμός οργανοληπτικών και αναλυτικών τεχνικών μπόρεσαν να φωτίσουν φαινόμενα αλληλεπίδρασης μεταξύ των ενώσεων αρώματος με τα μη πτητικά συστατικά του οίνου. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές μπορούν να έχουν αντίκρουσμα στον οργανοληπτικό χαρακτήρα ενός οίνου λόγω φαινομένων ενίσχυσης και καταστολής της αίσθησης ενός αρώματος, αλλά και λόγω φυσικοχημικών φαινομένων που

επηρεάζουν την πτητικότητα μίας ουσίας. (Pineau, Barbe, Leeuwen, & Dubourdieu, 2009) (Βουκίδης, 2014)

Σήμερα, περισσότερες από 700 ενώσεις αρώματος έχουν εντοπιστεί και ταυτοποιηθεί από διάφορες ποικιλίες οίνου. Από τις 700 ενώσεις, περίπου οι 160 ανήκουν στην κατηγορία των εστέρων. Οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις βρίσκονται σε συγκεντρώσεις μεταξύ  $10^{-4}$  και  $10^{-9}$  gr/lit. Σε αυτά τα εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα, πολλές από αυτές τις ενώσεις βρίσκονται χαμηλότερα από το κατώφλι της ανθρώπινης οσφρητικής αντίληψης. Είναι άξιο αναφοράς ότι πολλές ενώσεις αυτού του είδους που εντοπίζονται στον οίνο, από μόνες του δεν διαδραματίζουν κανέναν οργανοληπτικό ρόλο.. Μάλιστα ο Grosch (2000) εκτιμά σε σχετική εργασία του ότι λιγότερο από το 5% των συνολικών πτητικών ενώσεων που εντοπίζονται γενικά στα τρόφιμα, συμβάλλουν στο άρωμα τους. Ωστόσο σε συνδυασμό με άλλες ενώσεις ενδεχομένως να έχουν οργανοληπτική σημασία. (Jackson, 2008)

### 1.2.1 Ταξινόμηση των αρωμάτων των οίνων

Όλες αυτές οι χημικές ενώσεις που προαναφέρθηκαν και συνιστούν το άρωμα του οίνου μπορούν να προέρχονται είτε από πρόδρομες ενώσεις αρώματος που υπάρχουν στα σταφύλια που προορίζονται για οινοποίηση, είτε δημιουργούνται κατά την αλκοολική ζύμωση με ενζυμικές, θερμικές και χημικές διεργασίες ή ακόμη παράγονται κατά την ωρίμαση και παλαίωση των οίνων λόγω χημικών και ενζυμικών διεργασιών. Έτσι σε πρώτη φάση μπορούμε να ταξινομήσουμε το άρωμα στο πρωτογενές, αυτό δηλαδή που προέρχεται από το ίδιο το σταφύλι και εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά της κάθε ποικιλίας αμπέλου, στο δευτερογενές δηλαδή σε αυτό που παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση και στο τριτογενές δηλαδή σε αυτό που παράγεται κατά την ωρίμαση και παλαίωση του οίνου.

Το άρωμα των νέων οίνων συνίσταται στην συνέργεια του πρωτογενούς χαρακτηριστικού της ποικιλίας και δευτερογενούς αρωματικού δυναμικού του. Αντίθετα το άρωμα των παλαιωμένων οίνων που ονομάζεται ανθοσμία ή μπουκέτο, συνίσταται στο τριτογενές άρωμα των οίνων.

Η διάκριση, ταξινόμηση και μελέτη των ενώσεων αρώματος που συνιστούν τις διαφορετικές κατηγορίες αρώματος είναι αρκετά δύσκολη, κοστοβόρα και χρονοβόρα. Αιτία γι' αυτό είναι αφενός οι πολύ μικρές συγκεντρώσεις των ενώσεων

αυτών που κυμαίνονται σε επίπεδα από μερικά mg/l έως ελάχιστα ng/l, αφετέρου η διαφορετική φύση τους που επιφέρει μεταβολές στην σταθερότητα τους, στην πολικότητα τους, στην διαλυτότητα, στο pH τους και στην πτητικότητα τους.

### 1.2.2 Προέλευση αρώματος οίνων

Το άρωμα του οίνου έχει ως προέλευση πολλαπλές πηγές και διεργασίες κάποιες από τις οποίες είναι οι εξής:

Απευθείας συμβολή των ενώσεων αρώματος του σταφυλιού, μεταξύ των οποίων, μονοτερπένια, μη ισοπρενοειδή, αλειφατικές ενώσεις, μεθοξυπυραζίνες και πτητικές θειούχες ενώσεις. (González-Barreiro, Rial-Otero, Cancho-Grande, & Simal-Gándara, 2013)

Δευτερογενείς μεταβολίτες μετά από μικροβιακή επίδραση που σχηματίζονται από τον μεταβολισμό των σακχάρων, των λιπαρών οξέων, οργανικών αζωτούχων ενώσεων (πυριμιδίνες πρωτείνες και νουκλεικά οξέα), κινναμωνικών οξέων που βρίσκονται στο σταφύλι.

Η συμβολή των αρωμάτων με προέλευση το ξύλο της δρυός που εκχυλίζονται κατά την ωρίμαση του οίνου και ποικίλλουν ανάλογα με την προέλευση, ωρίμαση και καύση του ξύλου. (Garde-Cerdán, Lorenzo, L.Alonso, & Salinas, 2010).

Χημικές μεταβολές που σχετίζονται με οξέα και ενζυματική κατάλυση μη αρωματικών και αρωματικών ενώσεων του σταφυλιού.

Χημικές μετατροπές που σχετίζονται με οξειδωτικές μεταβολές στον οίνο και οι οποίες σχετίζονται με την παρουσία οξυγόνου κατά τις οινολογικές πρακτικές, την αποθήκευση και τέλος το υλικό συσκευασίας. (Ribereau-Gayon, Y.Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2006)

Φυσικά το μεγαλύτερο ποσοστό ενώσεων αρώματος στους οίνους, παράγεται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και αποτελείται κυρίως από αλκοόλες, αιθυλεστέρες των λιπαρών οξέων, οξικούς εστέρες αλκοολών, αλειφατικά οξέα και καρβονυλικές ενώσεις. (Rapp & Mandery, 1986)

### 1.2.3. Περιγραφή του αρώματος των οίνων

Η περιγραφή του αρώματος των οίνων αποτελεί την πιο δύσκολη διαδικασία σε γευσιγνωσίες, αντίθετα με τις διαδικασίες περιγραφής του χρώματος και της γεύσης τους. Αυτό συμβαίνει λόγω της αλληλεπίδρασης μεταξύ των αρωμάτων, στοιχείο που συμβάλλει όμως στην πολυπλοκότητα και τη διαμόρφωση του χαρακτήρα των οίνων. (Jackson, *Winetasting- A professional Handbook*, 2017) Κάποια από τα βασικά αρώματα που συναντιούνται στους οίνους και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους είναι τα παρακάτω:

- Αρώματα λουλουδιών (βιολέτα, γιασεμί, κ.α.)
- Αρώματα φρούτων (μαύρο κεράσι, ροδάκινο, κ.α.)
- Αρώματα αποξηραμένων φρούτων (αποξηραμένο δαμάσκηνο, αποξηραμένο μήλο, κ.α.)
- Αρώματα ξηρών καρπών (καβουρδισμένο αμύγδαλο, φουντούκι, κ.α.)
- Αρώματα λαχανικών (πιπεριά, σπαράγγια, κ.α.)
- Αρώματα μπαχαρικών (μαύρο πιπέρι, κανέλα, κ.α.) (Systematic Approache to Tasting (SAT), 2016)

Εκτός από τα παραπάνω επιθυμητά αρώματα, που συναντάμε συχνά στους οίνους, μπορεί να υπάρξουν και σφάλματα (οσμές), τα οποία τους καθιστούν ελαττωματικούς. Ομοίως με το άρωμα, και οι οσμές οφείλονται σε συγκεκριμένες πτητικές ουσίες, η ύπαρξη των οποίων κάποιες φορές μπορεί να θεωρηθεί και επιθυμητή, όταν βρίσκονται κοντά στο κατάφλι αντίληψής τους, αφού προσδίδουν επιπλέον αρωματική πολυπλοκότητα. Τέτοια παραδείγματα είναι τόσο τα οξειδωτικά αρώματα των Sherries, όσο και το άρωμα καυσίμων στο port. Σήμερα διεξάγονται όλο και περισσότερες έρευνες για τη μελέτη όλων των ενώσεων που δημιουργούν τόσο το «επιθυμητό» άρωμα όσο και τις οσμές. Οι έρευνες αυτές επικεντρώνονται στην ανάλυση των πτητικών ενώσεων (ποιοτική, ποσοτική), που είναι υπεύθυνες για την εμφάνισή των αρωμάτων/οσμών, στην ταυτοποίησή τους αλλά και στη συσχέτιση ορισμένων με συγκεκριμένες ποικιλίες αμπέλου. (Jackson, *Winetasting- A professional Handbook*, 2017)

### 1.3 Κατηγορίες πτητικών ενώσεων

Οι σημαντικότερες κατηγορίες πτητικών ενώσεων που απαντώνται στο γλεύκος και στον οίνο είναι οι εξής: αλκοόλες, εστέρες, λιπαρά οξέα, καρβονυλικές ενώσεις, θειούχες ενώσεις, τερπένια και μεθοξυπυραζίνες.

#### 1.3.1 Αλκοόλες

Οι σημαντικότερες αλκοόλες που περιέχονται σε όλους τους οίνους ανεξαιρέτως, είναι η μεθανόλη η οποία προέρχεται από την υδρόλυση των πηκτινών του φλοιού των σταφυλιών και η αιθανόλη η οποία είναι το κύριο προϊόν του μεταβολισμού των σακχάρων από τις ζύμες και αντιπροσωπεύει τον μεγαλύτερο όγκο του οίνου μετά το νερό.

Οι ανώτερες αλκοόλες είναι δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης με εξαίρεση την 1-εξανόλη, η οποία δεν προέρχεται από την ζύμωση, αλλά από το σταφύλι και προσδίδει στους οίνους χορτώδη οσμή και γεύση. Οι ανώτερες αλκοόλες προέρχονται από κετονοξέα, τα οποία πάλι σχηματίζονται με μηχανισμούς διαφορετικούς, τόσο από ζάχαρα όσο και από αμινοξέα. Η προπανόλη δεν φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων, διότι έχει ουδέτερη οσμή. Οι αμυλικές αλκοόλες δείχνουν να μην έχουν ευνοϊκή επίδραση στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων.

Όσον αφορά την φαίνυλο-2-αιθανόλη προσδίδει στους οίνους ευχάριστη οσμή τριαντάφυλλου.

Ακόμη μία κατηγορία αλκοολών αποτελούν οι πολυόλες, στις οποίες ανήκουν οι: γλυκερόλη, η οποία αποτελεί δευτερεύον προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης, έχει γλυκιά γεύση και καθιστά τους οίνους πιο «μυελλώδεις», η 2,3-βουτανοδιόλη, η μαννιτόλη, η σορβιτόλη, η ινσιτόλη και η τυροσόλη. (Σουφλερός, 2009)

#### 1.3.2 Εστέρες

Οι εστέρες σχηματίζονται κατά την αντίδραση των ελεύθερων οργανικών οξέων του οίνου με την αιθανόλη. Οι εστέρες των οίνων σχηματίζονται είτε μέσω της χημικής οδού κατά την παλαίωση τους, είτε μέσω της ενζυμικής οδού κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Λόγω του οργανοληπτικού τους χαρακτήρα παρουσιάζουν τεχνολογικό ενδιαφέρον. (Σουφλερός, 2009)



Ακριβώς επειδή υπάρχει ένας τεράστιος αριθμός οργανικών οξέων και αλκοολών στον οίνο, είναι λογικό να υπάρχει και ένας αντίστοιχα μεγάλος αριθμός πιθανών εστέρων. Ο οξικός αιθυλεστέρας είναι ο εστέρας που βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στον οίνο για λόγους χημικής κινητικής δηλ. εξαιτίας του γεγονότος ότι η αιθανόλη βρίσκεται σε μεγάλη ποσότητα και ότι οι πρωτοταγείς αλκοόλες είναι οι πιο δραστικές. Το τεχνολογικό του ενδιαφέρον έγκειται στο γεγονός ότι αυτή η χημική ένωση δίνει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου που έχει προσβληθεί από οξικά βακτήρια και όχι το οξικό οξύ όπως πιστευόταν παλαιότερα. Επίσης σε μεγάλη συγκέντρωση στον οίνο είναι αιθυλεστέρες μήκους ανθρακικής αλυσίδας 4-10 ατόμων άνθρακα, οργανικών οξέων, λιπαρών οξέων και οξικοί εστέρες ανώτερων αλκοολών. (Pérez-Martín, Izquierdo-Cañas, Seseña, García-Romero, & Palop, 2014) Οι αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων κυρίως ο καπροικός και ο καπρυλικός παράγονται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Οι εστέρες αυτοί, έχουν ευχάριστη οσμή μελιού και προσδίδουν ειδικά στους λευκούς οίνους μία ευχάριστη λιπαρότητα.

Οι οξικοί εστέρες ανώτερων αλκοολών όπως ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας και ο οξικός ισοαμυλεστέρας, συμπεριλαμβάνονται και αυτοί στους εστέρες που προκύπτουν από την αλκοολική ζύμωση. Έχουν ιδιαίτερα έντονη οσμή μπανάνας και μήλου, συνεισφέροντας έτσι στην αρωματική πολυπλοκότητα των οίνων. Ο σχηματισμός των εστέρων αυτών ευνοείται σε αργές αλκοολικές ζυμώσεις που διεξάγονται παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων οξυγόνου και χαμηλών θερμοκρασιών. (Bertrand 1983, Dubois 1993)

Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας αποτελεί μία ξεχωριστή περίπτωση. Η παρουσία του στους οίνους είναι συνυφασμένη με την μηλικογαλακτική μετατροπή και πέρα από την χημική εστεροποίηση του γαλακτικού οξέος με την αιθανόλη, δεν μπορεί να αποκλειστεί και η δράση μίας βακτηριακής προέλευσης εστεράσης. Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας έχει οσμή χαρακτηριστική, που θυμίζει βούτυρο, ακόμη και ξινόγαλα.

Αν οι εστέρες είναι συχνά ευρισκόμενες χημικές ενώσεις στον οίνο, δεν μπορούμε να πούμε το ίδιο και για τα σταφύλια, όπου σε αυτά πολύ λίγοι εστέρες είναι παρόντες. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

### 1.3.3 Λακτόνες

Οι λακτόνες σχηματίζονται κατά την αντίδραση μίας κυκλικής εστεροποίησης που συμβαίνει μεταξύ ενός οξέος και μίας αλκοόλης στο ίδιο μόριο. Η πιο διαδεδομένη είναι η γ-βουτυρολακτόνη η οποία εντοπίζεται στον οίνο σε συγκεντρώσεις της τάξης των mg/l. Οι λακτόνες μπορεί να προέρχονται και από το ίδιο το σταφύλι συμμετέχοντας στο ποικιλιακό άρωμα όπως στην ποικιλία Riesling. Στα προσβεβλημένα από *Botrytis cinerea* σταφύλια, παράγεται σοτολόνη, η οποία συμβάλλει στο χαρακτηριστικό «ψημένο» άρωμα που έχουν οι οίνοι που παράγονται από σταφύλια που έχουν υποστεί ευγενή σήψη.

Τέλος, λακτόνες στους οίνους μπορούν να απελευθερωθούν κατά την παλαίωση τους σε δρύινα βαρέλια. Το cis- και trans- ισομερές της 3-μέθυλο-γ-οκταλακτόνης είναι γνωστά ως λακτόνες της δρυός ή whiskey λακτόνες. Οι λακτόνες αυτές έχουν χαρακτηριστική οσμή καρύδας και δίνουν στους οίνους το χαρακτηριστικό άρωμα που προκύπτει από την παλαίωση τους. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdiou, 2000)

### 1.3.4 Λιπαρά οξέα αλειφατικής αλυσίδας

Από την κατηγορία των λιπαρών οξέων, σημαντικότερο θεωρείται το οξικό οξύ, που είναι βασικό στοιχείο της πτητικής οξύτητας. Η συγκέντρωση του υποδηλώνει την ύπαρξη και δράση βακτηρίων (γαλακτικών ή οξικών) που εξηγεί την επακόλουθη αλλοίωση. Φυσικά πτητική οξύτητα υπάρχει έως έναν βαθμό ούτως ή άλλως στον οίνο λόγω της μεταβολικής δραστηριότητας των ζυμών. Άλλα οξέα τα οποία σχετίζονται με βακτηριακή μόλυνση του οίνου είναι το προπιονικό και βουτυρικό οξύ.

Τα λιπαρά οξέα μήκους αλυσίδας 6,8 και 10 ατόμων άνθρακα σχηματίζονται από τις ζύμες. Είναι ανασταλτικοί παράγοντες ως προς την αλκοολική ζύμωση σε επίπεδα συγκέντρωσης λίγων mg/l και γι'αυτό τον λόγο θεωρούνται πιθανώς υπεύθυνα για «κολλημένες» ζυμώσεις.

Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας, δηλ 18-20 ατόμων άνθρακα είναι ενταγμένα στην κατηγορία των στερολών. Τα λιπαρά οξέα αυτής της κατηγορίας είναι ενεργοποιητές των αλκοολικών ζυμώσεων, κυρίως κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Το πιο σημαντικό από αυτά θεωρείται το ελαιικό οξύ και το λινελαικό οξύ. Είναι ενεργά ακόμη και σε ελάχιστες ποσότητες και προέρχονται από το κηρώδες

μέρος της επιφάνειας των σταφυλιών. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

### 1.3.5 Καρβονυλικές ενώσεις

Η αιθανάλη ή ακεταλδεΐδη είναι η πιο σημαντική ένωση από αυτήν την κατηγορία ενώσεων. Οι πολλοί διαφορετικοί τρόποι με τους οποίους μπορεί να παραχθεί και η υψηλή δραστηριότητά της, καθώς και η πολύ ταχεία αντίδραση και ένωση της με τον θειώδη ανυδρίτη σε χαμηλές θερμοκρασίες, καθιστούν την αιθανάλη ένα πολύ σημαντικό συστατικό του κρασιού και για οργανοληπτικούς λόγους.

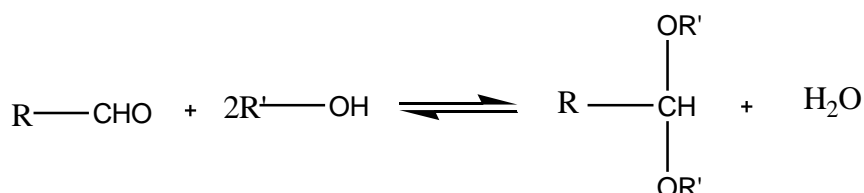
Κάποιες ακόμη αλδεΐδες είναι παρούσες στον οίνο, σε πολύ χαμηλά όμως επίπεδα. Οι αλδεΐδες μεγαλύτερου μοριακού βάρους συμβάλλουν στο μπουκέτο κάποιων οίνων.

Οι αλδεΐδες με αρωματικό δακτύλιο επίσης είναι παρούσες στον οίνο. Η πιο αξιοσημείωτη από αυτές είναι η βανιλίνη που σχετίζεται με την παλαίωση σε βαρέλι και έχει ένα χαρακτηριστικό άρωμα βανίλιας.

Επίσης έχουν ταυτοποιηθεί πολλές ενώσεις με κετονική ομάδα, συμπεριλαμβανομένης της προπανόνης, της βουτανόνης και της πεντανόνης. Οι πιο σημαντικές κετόνες φυσικά είναι η ακετοίνη και το διακετύλιο. Άλλες σημαντικές καρβονυλικές ενώσεις είναι η γλυοξάλη, η μεθυλο-γλυοξάλη και η υδροξυπροπανεδιάλη. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

### 1.3.6 Ακετάλες

Οι ακετάλες προέρχονται από την συμπύκνωση μίας αλδεΐδης και μίας αλκοόλης. Η ακεταλοποίηση περιλαμβάνει δύο μόρια αλκοόλης και ένα μόριο αλδεΐδης όπως φαίνεται στο σχήμα:



Σε οίνους με μικρή συγκέντρωση ακεταλδεΐδης, το περιεχόμενο τους σε ακετάλες είναι πρακτικά μηδενικά. Μόνο σε οίνους με υψηλό φορτίο αιθανάλης υπάρχει μία αξιόλογη ποσότητα ακεταλών. Οι ακετάλες έχουν έναν βοτανικό χαρακτήρα που προσθέτουν στην αρωματική πολυπλοκότητα των οίνων τύπου Sherry. Μάλιστα το

διοξυαιθάνιο προσθέτει στους οίνους ένα ευχάριστο και φρουτώδες άρωμα. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

#### **1.4 Ποικιλιακό άρωμα- Πρόδρομες ενώσεις αρώματος**

Η έννοια του όρου «ποικιλιακό άρωμα» έγκειται στο γεγονός ότι στον οίνο υπάρχουν αρώματα που οφείλονται σε αρκετές εκατοντάδες πτητικές ενώσεις που κυμαίνονται σε συγκεντρώσεις από αρκετά mg/l σε ελάχιστα ng/l, ή και λιγότερο. Τα όρια της οσφρητικής αντίληψης τους από τον άνθρωπο επίσης ποικίλλουν σε πολύ μεγάλο βαθμό. Αυτό έχει ως συνέπεια, το οργανοληπτικό αποτέλεσμα των πτητικών ενώσεων στον οίνο να εξαρτάται τόσο από την συγκέντρωσή τους όσο και από τον τύπο τους. Υπάρχει δηλαδή και ποσοτική αλλά και ποιοτική διαφορά. Υπάρχουν δηλαδή ορισμένες ενώσεις οι οποίες βρίσκονται σε ίχνη στον οίνο, όμως παίζουν εξέχοντα ρόλο στο αρωματικό δυναμικό του, την ίδια στιγμή που άλλες ενώσεις ευρισκόμενες σε αφθονία στον οίνο έχουν απλά μία ελάχιστη συμβολή.

Οι πτητικές ενώσεις που προέρχονται από το σταφύλι, αντικατοπτρίζοντας έτσι την ποικιλία του, το κλίμα και τις εδαφολογικές συνθήκες στις οποίες αναπτύχθηκε, παίζουν αποφασιστικό ρόλο στην ποιότητα και στον ξεχωριστό αρωματικό χαρακτήρα κάθε οίνου, πολύ περισσότερο από οποιαδήποτε άλλη πτητική ένωση. Αυτές οι ενώσεις είναι υπεύθυνες για το λεγόμενο ποικιλιακό ή πρωτογενές άρωμα των οίνων. Παραδόξως όμως, οι ενώσεις αυτού του είδους που ανιχνεύονται στον οίνο διαφέρουν από αυτές που βρίσκονται σε ελεύθερη κατάσταση στα σταφύλια. Οι λεγόμενες αρωματικές ποικιλίες, όπως οι Μοσχάτες, παράγουν οσμηρά γλεύκη με παρεμφερή αρώματα με αυτά του εν συνεχεία προκύπτοντος οίνου. Ωστόσο σε άλλες ποικιλίες παρατηρείται το εξής φαινόμενο: ενώ τα γλεύκη τους είναι μη οσμηρά, οι προκύπτοντες οίνοι έχουν άρωμα χαρακτηριστικό της ποικιλίας από την οποία προήλθαν. Αυτό συμβαίνει σε πολλές από τις κυριότερες οινοποιήσιμες ποικιλίες όπως το Merlot, το Cabernet Sauvignon, το Semillon κλπ. Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στο συμπέρασμα ότι στο σταφύλι υπάρχουν πρόδρομες ενώσεις αρώματος μη οσμηρές, όπου στον οίνο όμως δίνουν το χαρακτηριστικό ποικιλιακό του άρωμα μέσω διάφορων βιολογικών, βιοτεχνολογικών και φυσικοχημικών μετατροπών. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

Οι ενώσεις αυτές, που θα αναφερθούν και παρακάτω πιο αναλυτικά είναι τα τερπένια, τα C<sub>13</sub>-νορισοπρενονοειδή, τα βενζολικά παράγωγα και αλειφατικές ενώσεις. Οι ενώσεις αυτές συχνά ευρίσκονται στο σταφύλι με την μορφή d-γλυκοπυρανοζιτών όπου το άγλυκο πτητικό μέρος είναι ενωμένο με β-γλυκοζιτικό δεσμό με μία d-γλυκοπυρανόζη. Επίσης μπορεί να ευρεθεί ενωμένο και πάλι με β-γλυκοζιτικό δεσμό με έναν δισακχαρίτη. Το μόριο της γλυκόζης ή του δισακχαρίτη στην συνέχεια μπορεί να είναι ενωμένο με ένα μόριο αραβινόζης, ραμνόζης, ξυλόζης ή με κάποιον άλλο πολυσακχαρίτη. Όσο οι ενώσεις αυτές παραμένουν γλυκοζυλιωμένες «δεν ίπτανται» με αποτέλεσμα να μην είναι οσμηρές. Μόλις όμως υδρολυθεί ο β-γλυκοζιτικός δεσμός στον οίνο, οι πτητικές ενώσεις απελευθερώνονται και ο οίνος αποκτά το χαρακτηριστικό ποικιλιακό άρωμα. Μάλιστα για να αυξηθεί το ποικιλιακό άρωμα στους οίνους χρησιμοποιούνται ζυμομύκητες με έντονη δράση γλυκοσιδασών. (Pérez-Martín, Izquierdo-Cañas, Seseña, García-Romero, & Palop, 2014)

#### 1.4.1 Τερπένια

Η μεγάλη οικογένεια των τερπενίων που περιλαμβάνει πάνω από 4000 ενώσεις είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη στο φυτικό βασίλειο. Οι ενώσεις που συγκαταλέγονται σε αυτήν την οικογένεια και μπορούμε να πούμε ότι είναι οσμηρές είναι τα μονοτερπένια (ενώσεις με 10 άτομα άνθρακα) και τα σεσκιτερπένια (ενώσεις με 15 άτομα άνθρακα), τα οποία αποτελούνται από δύο και τρεις μονάδες ισοπρενίου αντίστοιχα. Τα μονοτερπένια απαντούν στην μορφή απλών υδρογονανθράκων (λιμονένιο), αλδευδών (γερανιάλη), αλκοολών (λιναλοόλη, γερανιόλη), οργανικών οξέων (λινολειακό και γερανικό οξύ) και εστέρων (οξικός λιναλυνεστέρας).

Στον οίνο έχουν ανιχνευτεί περί τα 40 διαφορετικά τερπένια. Κάποιες από τις μονοτερπενικές αλκοόλες είναι και οι πιο οσμηρές, κύριως η λιναλοόλη, η α-τερπενεόλη, η γερανιόλη, η σιτρονελλόνη κλπ. Οι ενώσεις αυτές έχουν κυρίως ανθικό χαρακτήρα ο οποίος θυμίζει άρωμα τριαντάφυλλου. Το κατώφλι αντίληψης αυτών των ενώσεων είναι γενικά χαμηλό. Άξιο αναφοράς είναι και το γεγονός ότι το οργανοληπτικό αποτέλεσμα των τερπενίων είναι συνεργιστικό. Σε γενικές γραμμές μπορούμε να πούμε ότι τα τερπένια παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στο ποικιλιακό άρωμα των λευκών οίνων προερχόμενοι από Μοσχάτες ποικιλίες και από αρωματικές μη Μοσχάτες ποικιλίες όπως το Gewürztraminer, Riesling κλπ. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

Οι ερυθρές ποικιλίες δεν χαρακτηρίζονται γενικά από υψηλές συγκεντρώσεις τερπενίων. Παρόλα αυτά τα τερπένια είναι ανιχνεύσιμα σε ορισμένες ερυθρές ποικιλίες όπως το Cabernet Sauvignon, σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Παρά την μικρή συγκέντρωση τους όμως στις ερυθρές ποικιλίες, έχουν εντοπιστεί πολυάριθμα γονίδια που εμπλέκονται στον μεταβολισμό τερπενίων και ισοπρενίων, γεγονός που ίσως καταδεικνύει ένα σημαντικό ρόλο των τερπενίων στην εξέλιξη των σταφυλιών και ίσως και στην αντοχή τους σε εχθρούς και ασθένειες. (Martin & Brun, 1987)

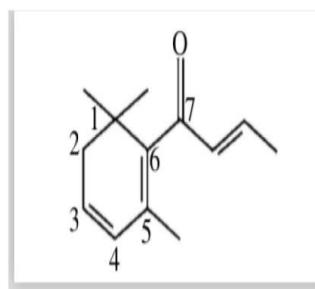
#### 1.4.2 Μη ισοπρενοειδείς ενώσεις

Η οξειδωτική αποικοδόμηση των καροτενοειδών, δηλαδή τερπενικών ενώσεων με 40 άτομα άνθρακα, παράγει ενώσεις με 9, 10, 11, ή και 13 άτομα άνθρακα. Από όλα αυτά τα παράγωγα, αυτά με τα 13 άτομα άνθρακα έχουν τις πιο ενδιαφέρουσες οργανοληπτικές ιδιότητες. (Enzel, 1985)

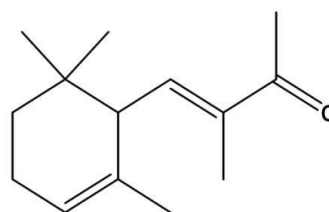
Από χημικής άποψης τα μη ισοπρενοειδή χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Στα megastigmanes και στα μη-megastigmanes. Κάθε μία από αυτές τις δύο κατηγορίες περιλαμβάνει έναν μεγάλο αριθμό πτητικών ενώσεων. Ο σκελετός των megastigmanes χαρακτηρίζεται από έναν βενζολικό δακτύλιο υποκατεστημένο στους άνθρακες 1,5 και 6 και μία ακόρεστη αλειφατική αλυσίδα συνδεδεμένη στο άνθρακα 4 του βενζολικού δακτυλίου.

Αναλόγως με το αν τα megastigmanes είναι οξυγονωμένα στον άνθρακα 7 ή στον άνθρακα 9, διακρίνονται στις δαμασκηνόνες και στις ιονόνες αντίστοιχα.

Οι πιο γνωστές ενώσεις αυτής της κατηγορίας στους οίνους είναι η β-δαμασκηνόνη με χαρακτηριστικά αρώματα τροπικών φρούτων και ψημένου μήλου και η β-ιονόνη με χαρακτηριστικό άρωμα αυτό της βιολέτας. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)



Σειρά Δαμασκηνόνης



Σειρά Ιονόνης

### 1.4.3 Μεθοξυπυραζίνες

Οι Μεθοξυπυραζίνες είναι ενώσεις που το μόριό τους αποτελείται από ένα ετεροκυκλικό δακτύλιο με άζωτο και προέρχονται από το μεταβολισμό των αμινοξέων, αν και κάποιες μελέτες υποστηρίζουν ότι μπορεί να είναι προϊόν μικροβιακής προσβολής των οίνων. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

Οι ενώσεις αυτές είναι γνωστές για την οσμή σπαραγγιών, πράσινης πιπεριάς ή μπιζελιού και αποτελούν τις βασικές ενώσεις καθορισμού του ποικιλιακού αρώματος των οίνων Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Sauvignon Blanc, Merlot και Carmenere (Calo, Stefano, Costacurta, & Calo, 1991)

Οι μεθοξυπυραζίνες, αν και υπάρχουν σε όλους τους ιστούς του πρέμνου συμπεριλαμβανομένων και των ριζών, των ανθέων, και των ελίκων (εκτός των ιστών των φύλλων), δε μετακινούνται από αυτούς στη ράγα με σκοπό να μεταφερθούν στο γλεύκος.

Αυτό επιβεβαιώνεται αφού, σύμφωνα με τον Roujou de Boube, η σύσταση του οίνου σε μεθοξυπυραζίνες εξαρτάται κυρίως από τη σύσταση αυτών των ενώσεων στη ράγα της σταφυλής (Boubee, Cumsille, Pon, & Dubourdieu, 2002). Παράλληλα μελέτες έχουν δείξει ότι η συγκέντρωση των μεθοξυπυραζινών και το άρωμα λαχανικών που δημιουργούν στους οίνους αυξάνεται όσο πιο άγουρα είναι τα σταφύλια που έχουν χρησιμοποιηθεί για την οينوποίηση.

### 1.4.4 Πτητικές θειούχες ενώσεις

Στην αρχή της μελέτης τους, οι θειούχες ενώσεις που υπάρχουν στους οίνους συσχετίστηκαν αποκλειστικά και μόνο με την εμφάνιση ελαττωματικών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, θεωρία όμως που στις ημέρες μας έχει καταρριφθεί. Μέχρι και σήμερα έχουν απομονωθεί αρκετές θειούχες ενώσεις που είναι υπεύθυνες για τη δημιουργία επιθυμητών αρωμάτων στους οίνους, όπως αρώματα βοτάνων, φρούτων και καπνού.

Οι βασικότερες και σε μεγαλύτερα αφθονία τέτοιες ενώσεις είναι οι θειόλες ή αλλιώς μερκαπτάνες, πολλές εκ των οποίων είναι υπεύθυνες για τη δημιουργία των χαρακτηριστικών αρωμάτων κάποιων φρούτων, με πιο σημαντικό παράδειγμα αυτό του μαύρου φραγκοστάφυλου. Μεγάλος αριθμός θειολών έχουν απομονωθεί μέχρι και σήμερα τόσο σε Αμερικάνικα είδη αμπέλου (*Vitis Labrusca*) όσο και σε

Ευρωπαϊκά (Sauvignon Blanc), με την 4-μέρκαπτο-4-μέθυλο-πενταν-2όνη να αποτελεί τη βασικότερη ένωση δημιουργίας του χαρακτηριστικού βοτανικού αρώματος λαχανικών στην τελευταία ποικιλία.

Ακόμα μία βασική θειόλη που έχει μελετηθεί είναι η μεθειονόλη, η ύπαρξη της οποίας προσδίδει -ιδιαίτερα στους λευκούς οίνους που έχουν εκτεθεί σε υψηλή θερμοκρασία και Οξυγόνο- αρώματα λαχανικών, όπως ωμής πατάτας ή κουνουπιδιού. Η συγκεκριμένη ένωση μπορεί να ανιχνευτεί στους οίνους σε συγκεντρώσεις έως και 5 mg/l. Μελέτες έχουν δείξει ότι μπορεί να παραχθεί τόσο από το *Saccharomyces cerevisiae*, όσο και από τον *Oenococcus oeni*, μέσω του μονοπατιού για τον καταβολισμό του αμινοξέος μεθειονίνη. (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

### **1.5 Καλλιεργητικές τεχνικές- Επηρεάζουν τα αρώματα;**

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι συνθήκες καλλιέργειας της αμπέλου επηρεάζουν με διάφορους τρόπους την παραγωγή πτητικών ενώσεων που είναι υπεύθυνες για το άρωμα των οίνων.

Το σύστημα διαμόρφωσης των πρέμων αφορά τον τρόπο με τον οποίον είναι διευθετημένο στον χώρο το υπέργειο τμήμα της αμπέλου. Επιτυγχάνεται με τα κατάλληλα κλαδέματα και την υποστήριξη της βλάστησης. Επίσης με τον όρο αυτόν περιγράφονται οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται ώστε να αξιοποιηθούν με τον βέλτιστο τρόπο οι δυνατότητες μίας ποικιλίας αναλόγως με τις εδαφοκλιματικές συνθήκες που επικρατούν.

Η επίδραση των συστημάτων διαμόρφωσης στο αρωματικό δυναμικό των σταφυλιών και των οίνων δεν έχει μελετηθεί εκτενώς, ωστόσο υπάρχουν έρευνες που δείχνουν ότι το σύστημα διαμόρφωσης μπορεί να επηρεάσει την συσσώρευση αρωματικών πρόδρομων ενώσεων στο σταφύλι.

Παραδείγματος χάρη, η έκθεση των σταφυλιών στο ηλιακό φως κατά την διάρκεια της ωρίμασης επιταχύνει την αποικοδόμηση των καροτενοειδών η οποία συνοδεύεται από μία αύξηση του φορτίου τους σε C<sub>13</sub>-μη ισοπρενοειδή. Αυτό το φαινόμενο έχει παρατηρηθεί σε σταφύλια των ποικιλιών Syrah και Riesling. Από αυτό το γεγονός συνάγεται το συμπέρασμα ότι η τεχνική του ξεφυλλίσματος σε αυτές τις ποικιλίες

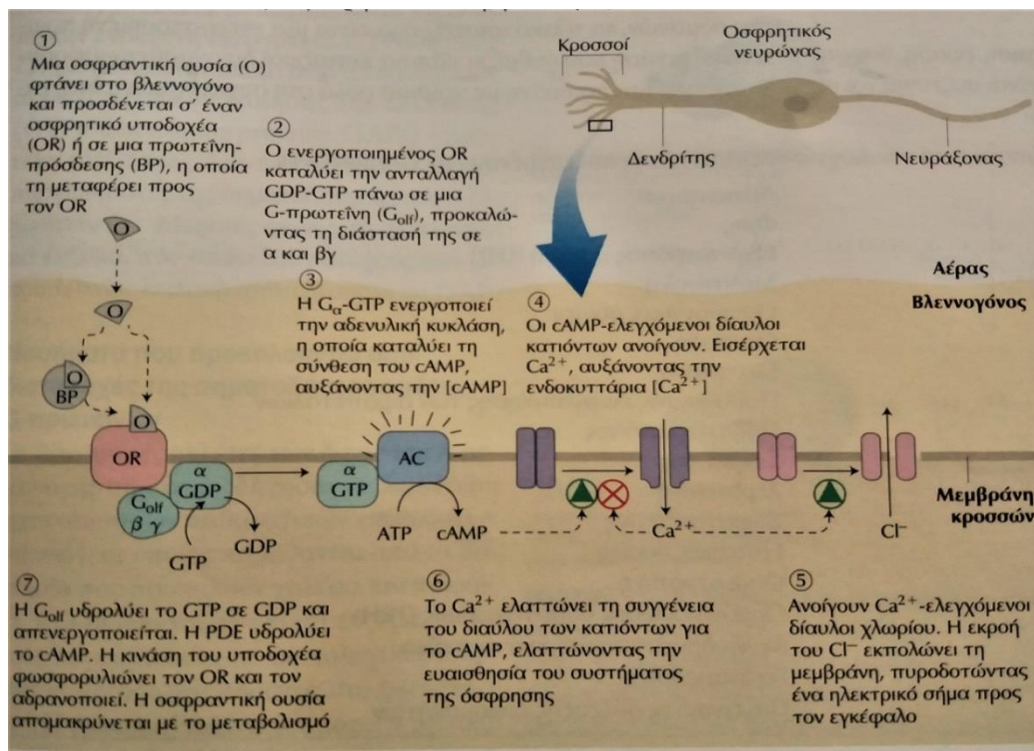


οδηγεί σε αύξηση των συγκεντρώσεων αυτών των πτητικών ενώσεων στα σταφύλια.(Marais, 1993; Razungles and Bayonove, 1996) (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

Όσον αφορά την άρδευση, είναι γνωστό ότι η άμπελος είναι καλά προσαρμοσμένη σε ξηροθερμικά κλίματα όπως αυτά της Μεσογείου. Η επίδραση της άρδευσης στην σύνθεση και συσσώρευση των αρωματικών ενώσεων στο σταφύλι και κατά συνέπεια στον οίνο δεν είναι μελετημένη στον ίδιο βαθμό που έχει μελετηθεί η επίδραση της στο φαινολικό φορτίο. Ωστόσο υπάρχουν ορισμένες έρευνες οι οποίες αναφέρουν ότι η ελλειμματική άρδευση σε πρέμνα της ποικιλίας Cabernet Sauvignon οδήγησε σε πιο φρουτώδεις οίνους με λιγότερα χορτώδη αρώματα σε σχέση με οίνους πλήρως αρδευόμενους (Charman et al, 2005). Άλλη μελέτη έδειξε ότι σε μη αρδευόμενα πρέμνα, υπήρχε αύξηση των γλυκοζυλιωμένων πρόδρομων ενώσεων στο σταφύλι σε σχέση με μερικώς ή πλήρως αρδευόμενα πρέμνα. Ακόμη έρευνες σε σταφύλια και οίνους της ποικιλίας Merlot αναφέρουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις της β-δαμασκηνόνης και των πρόδρομων ενώσεων αυτής όταν εφαρμόστηκε ήπιο υδατικό stress σε σχέση με την πλήρη άρδευση των πρέμνων. (Qian et al, 2009; Song et al. 2012).

## 1.6 Η αίσθηση της οσμής

Είναι εντυπωσιακό το γεγονός ότι τα αισθητηριακά κέντρα που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των οσμών και των γεύσεων έχουν πολλά κοινά με τα ραβδιοφόρα και κωνιοφόρα κύτταρα που ανιχνεύουν το φως, στα σπονδυλωτά. Οι οσφρητικοί νευρώνες έχουν αρκετούς επιμήκεις λεπτούς κροσσούς οι οποίοι προεξέχουν από το ένα άκρο του κυττάρου στον υπερκείμενο βλεννογόνο. Αυτοί οι κροσσοί προσφέρουν μία μεγάλη επιφάνεια για αλληλεπίδραση με τα οσφρητικά σήματα. Οι υποδοχείς των οσφρητικών σημάτων είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες των κροσσών. Το οσφρητικό σήμα-ερέθισμα μπορεί να είναι μία από τις πολλές πτητικές ενώσεις για τις οποίες υπάρχουν ειδικοί υποδοχείς. Η ικανότητα διάκρισης των οσμών πηγάζει από την ύπαρξη εκατοντάδων διαφορετικών οσφρητικών υποδοχέων στην μύτη και την γλώσσα και από την ικανότητα του εγκεφάλου να συνδυάζει σήματα από διαφορετικά είδη οσφρητικών υποδοχέων ώστε να αναγνωρίζει ένα «υβριδικό» πρότυπο. Έτσι το εύρος της διάκρισης υπερβαίνει κατά πολύ τον αριθμό των υποδοχέων. (Nelson & Cox, 2011)



Εικόνα 1.6.1 Ο βιοχημικός μηχανισμός της οσμής.

## 1.7 Μέθοδοι απομόνωσης ενώσεων αρώματος

Η απομόνωση και μελέτη των συστατικών του αρώματος των οίνων συνιστά μία δύσκολη υπόθεση για πολλούς λόγους (Παπαδογιάννης & Σαμανίδου, 2011) (Andujar-Ortiz, Moreno-Arribas, Martín-Álvarez, & Pozo-Bayón, 2009) (Ortega-Heras, González-SanJosé, & Beltrán, 2002) Κάποιοι από αυτούς τους λόγους είναι οι εξής:

Συνολικά έχουν εντοπιστεί πάνω από 700 πτητικές ενώσεις στους οίνους, όπου μεταξύ τους εντοπίζονται πολύ μεγάλες διαφορές στην πτητικότητα τους, την πολικότητα τους, το pH τους και την διαλυτότητα τους. Κάποιες ενώσεις βρίσκονται σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις στους οίνους. Αυτό σημαίνει ότι για να απομονωθούν και να εντοπιστούν απαιτούνται πιο απαιτητικές μέθοδοι απομόνωσης και συγκεντροποίησης τους. Ακόμη, πολλές πτητικές ενώσεις είναι ασταθείς. Σε επαφή με τον αέρα, ή σε διαφορετικές τιμές pH διασπώνται με αποτέλεσμα να καταλήγουμε σε ψευδή αποτελέσματα για την φύση των ενώσεων αυτών.

Για τους παραπάνω λόγους και όχι μόνο, οι ερευνητές που ασχολούνται με την μελέτη των πτητικών ενώσεων σε οίνους δυσκολεύονται κάθε φορά να επιλέξουν μία μέθοδο απομόνωσης που θα είναι κατάλληλη στο μέγιστο δυνατό βαθμό για τον εκάστοτε οίνο. Η μέθοδος απομόνωσης που θα χρησιμοποιηθεί πρέπει να εγγυάται την σταθερότητα των πτητικών ενώσεων και να διασφαλίζει την απομόνωση όσο το δυνατόν περισσότερων πτητικών ενώσεων που υπάρχουν στον εκάστοτε οίνο. Έτσι, έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι απομόνωσης των πτητικών ουσιών με κάθε μία από αυτές να παρουσιάζει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα.

### 1.7.1 Εκχύλιση υγρού-υγρού

Η πρώτη αρκετά συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος, που αποτελεί και μέθοδο αναφοράς για την απομόνωση πτητικών ενώσεων στους οίνους είναι η εκχύλιση υγρού-υγρού. Σε αυτήν την μέθοδο όλες οι πτητικές ενώσεις, χαμηλής, μεσαίας και υψηλής πτητικότητας, έχουν υψηλό συντελεστή κατανομής στην οργανική φάση με αποτέλεσμα οι πτητικές ενώσεις να «μετακινούνται» από την υδατική φάση (οίνος), στον οργανικό διαλύτη. Η μέθοδος αυτή απαιτεί στην συνέχεια εξάτμιση του οργανικού διαλύτη, προκειμένου να αυξηθεί η συγκέντρωση των πτητικών ουσιών, με αποτέλεσμα την απώλεια κάποιων πτητικών ουσιών, την διάσπαση κάποιων άλλων ή και την μετατροπή τους σε άλλες πτητικές ενώσεις που κανονικά δεν

υπάρχουν στον οίνο. Επίσης μειονέκτημα αποτελεί το γεγονός ότι απαιτούνται μεγάλες ποσότητες οργανικών διαλυτών. Τα κύρια πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι η ικανότητα του οργανικού διαλύτη, συνήθως του διχλωρομεθανίου, να εκχυλίζει ένα μεγάλο εύρος διαφορετικών πτητικών ενώσεων, η μεγάλη επαναληψιμότητα της μεθόδου και η δυνατότητα να διεξάγονται ταυτόχρονα πολλές εκχυλίσεις. (Παπαδογιάννης & Σαμανίδου, 2011)

### **1.7.2 Static Headspace technique**

Άλλη αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται είναι η στατική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο (static headspace technique). Η τεχνική αυτή παρουσιάζει πολλές παραλλαγές και γενικά έχει αρκετά πλεονεκτήματα, όπως ταχύτητα και εύκολη προετοιμασία του δείγματος που πρόκειται να αναλυθεί. Επίσης σε σύγκριση με την εκχύλιση υγρού-υγρού, δεν απαιτείται διαλύτης για την εκχύλιση των πτητικών ουσιών. Έτσι στα χρωματογραφήματα δεν εμφανίζεται κορυφή του διαλύτη, γεγονός ιδιαίτερα ικανοποιητικό, αφού ο οργανικός διαλύτης ορισμένες φορές συνεκλύεται με πτητικές ενώσεις. Το κύριο μειονέκτημα της, είναι η χαμηλή ευαισθησία. (Παπαδογιάννης & Σαμανίδου, 2011)

### **1.7.3 Dynamic Headspace technique**

Βέβαια πλέον, έχει αναπτυχθεί και η δυναμική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο (dynamic headspace sampling), η οποία γίνεται συνεχώς όλο και πιο δημοφιλής και πολλοί ερευνητές την προτιμούν για την μελέτη των πτητικών ενώσεων στον οίνο.

### **1.7.4 Εκχύλιση και μικροεκχύλιση στερεάς φάσης**

Οι παραπάνω μέθοδοι αντίστοιχα με την σειρά αναφοράς βασίζονται στην διαλυτότητα των πτητικών ενώσεων σε οργανικούς διαλύτες, και στην πτητικότητά τους. Στις τεχνικές εκχύλισης στερεάς φάσης και μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (solid phase extraction SPE, solid phase microextraction SPME) ο αναλυτής βασίζεται στην ικανότητα των πτητικών ενώσεων να προσροφώνται σε διάφορα πολυμερικά υποστρώματα. Οι τεχνικές αυτού του είδους, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές που προαναφέρθηκαν, πχ την δυναμική δειγματοληψία από υπερκείμενο χώρο.

Η δυνατότητα χρήσης πολλών διαφορετικών προσροφητικών υποστρωμάτων και διαλυτών και το γεγονός ότι χρησιμοποιούνται μόνο πολύ μικρές ποσότητες

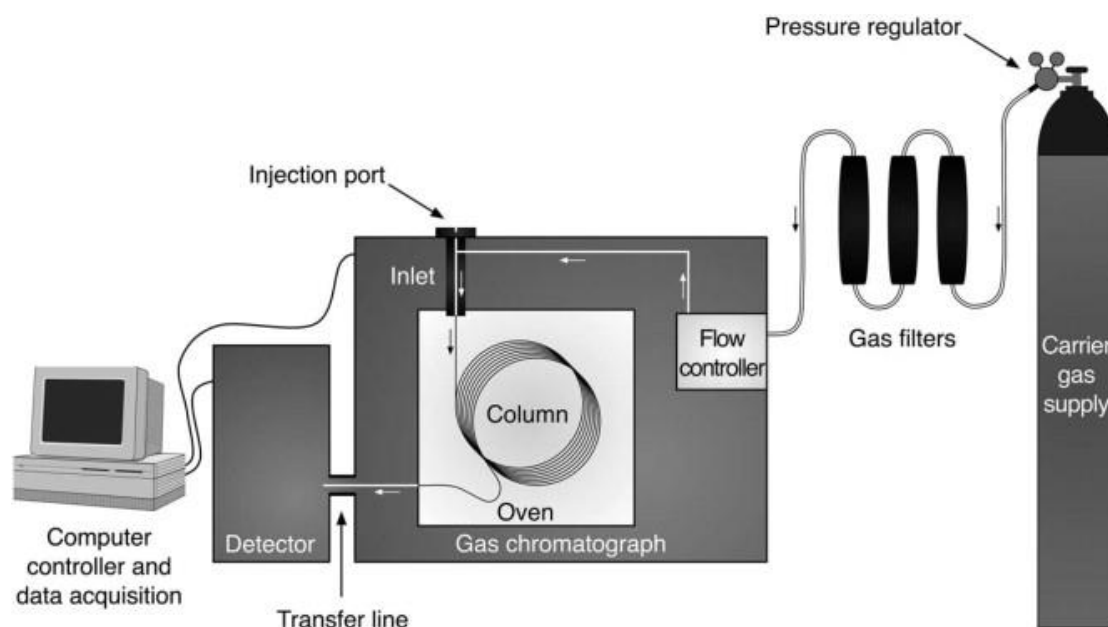
οργανικών διαλυτών σε σχέση με την εκχύλιση υγρού-υγρού, είναι οι λόγοι που η τεχνική SPE χρησιμοποιείται ευρύτατα στην ανάλυση πτητικών ενώσεων σε οίνους.

Παρόλ' αυτά ακόμη και η SPE έχει αρχίσει να αντικαθίσταται σε μεγάλο βαθμό από την τεχνική SPME. Από την πρώτη εφαρμογή της την δεκαετία του 1990 έως και σήμερα, συνεχώς κερδίζει έδαφος λόγω της μεγάλης εμπορικής διαθεσιμότητας πολλών πολυμερικών υποστρωμάτων, της ταχύτητας της, της απλότητας της, εξαιτίας του γεγονότος ότι δεν απαιτούνται διαλύτες και της δυνατότητας να αυτοματοποιείται η όλη διαδικασία εξαγωγής των πτητικών ουσιών από τον οίνο. (Παπαδογιάννης & Σαμανίδου, 2011)

## 1.8 Μέθοδοι ανίχνευσης ενώσεων αρώματος

### 1.8.1 GC-FID (Παπαδογιάννης & Σαμανίδου, 2011)

Η αέρια χρωματογραφία υπάρχει και αναπτύσσεται ως αναλυτική τεχνική τα τελευταία 50 σχεδόν χρόνια. Η τεχνική αυτή είναι σχετικά απλή, αν συγκριθεί με ανάλογες τεχνικές ανάλυσης και με τις μεγάλες δυνατότητες εφαρμογής που έχει. Η αέρια χρωματογραφία σήμερα χρησιμοποιείται για την ανάλυση πτητικών ουσιών σε τρόφιμα, φάρμακα, βιομηχανίες αρωματοποιίας κτλ.



**Σχήμα 1.8.1.** Διάταξη μίας συστοιχίας GC-FID. Το φέρον αέριο (συνήθως άζωτο, αργό, υδρογόνο) από την φιάλη υψηλής πίεσης, μέσα από ρυθμιστές παροχής, οδηγείται στην στήλη. Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται με μικροσύριγγα στην βαλβίδα

εισαγωγής του δείγματος στην κορυφή της στήλης. Τα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται από το φέρον αέριο κατά μήκος της στήλης και διαχωρίζονται. Τα κλάσματα στην συνέχεια ανιχνεύονται από τον ανιχνευτή και τα σήματα της ανίχνευσης καταγράφονται από το καταγραφικό ή οδηγούνται σε μικροπολογιστή. Σε ορισμένες περιπτώσεις, στην συνέχεια υπάρχει μία διάταξη, όπου συλλέγονται τα διάφορα κλάσματα και τέλος ένα ροόμετρο για τον έλεγχο της ταχύτητας ροής του φέροντος αερίου.

Ο αέριος χρωματογράφος αποτελείται από δύο τμήματα:

- Το φέρον αέριο και το κύριο μέρος του χρωματογράφου όπου γίνεται ο διαχωρισμός.
- Το σύστημα ανίχνευσης, καταγραφής και αποτίμησης του σήματος.

Ως φέρον αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε αέριο σε υπερκαθαρή κατάσταση, το οποίο μπορεί να διαχωριστεί στον ανιχνευτή από τα διάφορα συστατικά του μίγματος. Το φέρον αέριο πρέπει να είναι αδρανές και απαλλαγμένο από προσμίξεις. Επίσης δεν πρέπει να υπάρχει οξυγόνο γιατί οξειδώνει την στατική φάση, πράγμα που σημαίνει καταστροφή της στήλης. Ίχνη υγρασίας επίσης αδρανοποιούν την στήλη, γι' αυτό το φέρον αέριο πρέπει να είναι εντελώς απαλλαγμένο από υγρασία. Η επιλογή του φέροντος αερίου εξαρτάται κυρίως από τον τύπο του ανιχνευτή που χρησιμοποιούμε. Ως φέροντα αέρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ήλιο, αργό, άζωτο και υδρογόνο.

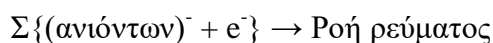
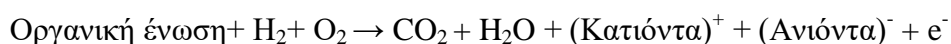
Η στήλη αποτελεί την «καρδιά» του χρωματογράφου. Οι στήλες που χρησιμοποιούνται στην χρωματογραφία είναι συνήθως γυάλινες ή χαλύβδινες πληρωμένες με διάφορα υλικά αναλόγως με τα συστατικά που θέλουμε να διαχωρίσουμε (στήλες υλικού πλήρωσης, packed columns). Το σχήμα τους έχει μορφή έλικας και η διάμετρος τους είναι πολύ μικρή. Σήμερα χρησιμοποιούνται τριχοειδείς γυάλινες στήλες μήκους έως 25 m, οι οποίες εσωτερικά είναι πληρωμένες με διάφορα υλικά (coated capillary glass columns).

Η ταχύτητα και η ικανότητα διαχωρισμού εξαρτώνται από την θερμοκρασία. Οι στήλες βρίσκονται μέσα σε έναν φούρνο ακριβείας ο οποίος δίνει αυστηρά επαναλήψιμες συνθήκες. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται λόγω των διαφορών

δυνάμεων συγκράτησης και έκλουσης ανάμεσα στα συστατικά του μίγματος, της ροής του φέροντος αερίου και της στατικής φάσης.

Το δεύτερο μέρος του χρωματογράφου περιλαμβάνει τον ανιχνευτή, ο οποίος τοποθετείται στο τέλος της στήλης, ανιχνεύει τα διάφορα συστατικά και εκπέμπει ηλεκτρικά σήματα. Τα σήματα ενισχύονται και καταγράφονται σε υπολογιστή. Ο σκοπός του ανιχνευτή είναι να δίνει μία απόκριση ανάλογη της συγκέντρωσης ή της ποσότητας του συστατικού που περνά μέσα από αυτόν και η απόκριση αυτή να έχει την μορφή ενός σήματος, το οποίο να είναι μετρήσιμο. Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί ανιχνευτές από τους οποίους επιλέγεται ο καταλληλότερος κάθε φορά, δεδομένου ότι δεν υπάρχει ανιχνευτής που να συνδυάζει ευαισθησία, γραμμικότητα και εκλεκτικότητα και να μπορεί να εφαρμοστεί σε όλες τις χρωματογραφικές τεχνικές.

Η λειτουργία του FID στηρίζεται στο γεγονός ότι, όταν μία οργανική ένωση καίγεται σε μία φλόγα υδρογόνου και αέρα, παράγονται ιόντα. Ο μηχανισμός της καύσης αυτής μπορεί να αποδοθεί με τις παρακάτω αντιδράσεις.



Τα ιόντα αυτά συλλέγονται πάνω σε ένα ζεύγος πολωμένων ηλεκτροδίων μέσα στον ανιχνευτή και το ρεύμα που παράγεται ενισχύεται στον ανιχνευτή και καταγράφεται. Ο λύχνος του ανιχνευτή είναι μεταλλικός και είναι ταυτόχρονα ο ένας πόλος του ηλεκτροδίου. Ο άλλος πόλος ο οποίος συλλέγει τα ιόντα έχει την μορφή σωλήνα.

Ο FID χρησιμοποιείται στις περισσότερες διατάξεις αέριας χρωματογραφίας γιατί προσφέρει ικανοποιητική γραμμικότητα μέχρι την τάξη του  $10^7$ , έχει χαμηλό όριο ανίχνευσης  $10^{-9}$  gr και ανιχνεύει ουσιαστικά όλες τις οργανικές ενώσεις. Επίσης αποκρίνεται γρήγορα, είναι αξιόπιστος και η λειτουργία του ρυθμίζεται εύκολα.

### 1.8.2 GC-MS (Παπαδογιάννης & Σαμανίδου, 2011, p. 441)

Η συνδυασμένη τεχνική GC-MS ήταν από τις πρώτες που εφαρμόστηκαν και ο στόχος τους, μπορεί να είναι διπλός. Αυτό σημαίνει ότι ο φασματογράφος μαζών

μπορεί να αποτελέσει ανιχνευτή στη αέρια χρωματογραφία, αλλά και ο αέριος χρωματογράφος να είναι το σύστημα κατεργασίας εισαγωγής του δείγματος για τον φασματογράφο μαζών.

Η συνδυασμένη τεχνική αυτή, αξιοποιεί τα πλεονεκτήματα των δύο μεμονωμένων τεχνικών, δηλαδή την δυνατότητα άριστου διαχωρισμού και ποσοτικού προσδιορισμού που παρέχει ο αέριος χρωματογράφος και την δυνατότητα ταυτοποίησης που παρέχει το φασματόμετρο μαζών.

Η πίεση του αερίου ρεύματος που εξέρχεται από τον αέριο χρωματογράφο είναι η ατμοσφαιρική, ενώ αυτή που επιτρέπεται στο φασματόμετρο μαζών είναι  $\leq 10^{-3}$  Pa για ιονισμό ηλεκτρονίων ή 10 Pa για χημικό ιονισμό. Επειδή όμως τα προσδιοριζόμενα συστατικά βρίσκονται σε μικρό ποσοστό, η μείωση της πίεση θα οδηγήσει σε μη ανιχνεύσιμες ποσότητες. Επομένως πρέπει να διαχωρισθεί το μείγμα από το φέρον αέριο. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με διατάξεις οι οποίες στηρίζονται στις φυσικές ιδιότητες των αερίων

Όλα σχεδόν τα φασματόμετρα μαζών μπορούν να συζευχθούν με χρωματογράφους αερίου, αλλά υπάρχει ο περιορισμός ότι είναι σχεδόν αδύνατη η σάρωση του μαγνητικού πεδίου με ταχύτητα τέτοια ώστε να καταγραφεί όλο το φάσμα των θραυσμάτων, κατά την έκλυση μιας κορυφής του χρωματογραφήματος. Τα τετραπολικά φασματόμετρα έχουν την απαιτούμενη ταχύτητα, αλλά η διακριτική τους ικανότητα, είναι μικρότερη από την επιθυμητή.

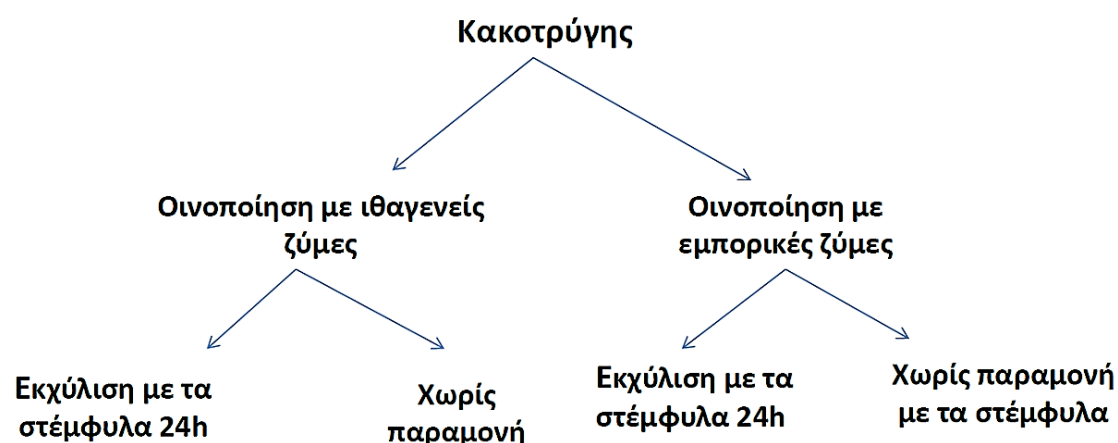


## Κεφάλαιο 2: Υλικά και μέθοδοι

### 2.1 Σκοπός και σχεδιασμός του πειράματος

Η ποικιλία Κακοτρύγης και οι προκύπτοντες από αυτήν την ποικιλία οίνοι έως τώρα δεν έχουν μελετηθεί σε κανένα επίπεδο, ή τουλάχιστον δεν υπάρχει κάποια δημοσιευμένη έρευνα. Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι να δώσει μία πρώτη εικόνα των οίνων που προκύπτουν από την ποικιλία, με έμφαση στην μελέτη των ενώσεων αρώματος.

Γι' αυτόν τον σκοπό πραγματοποιήθηκαν τέσσερις διαφορετικές οινοποιήσεις από σταφύλια της ποικιλίας «Κακοτρύγης».



**Σχήμα 2.1.1** Περιγραφικό σχήμα οινοποίησης

Στο παραπάνω σχεδιάγραμμα αποτυπώνεται με σαφήνεια η πορεία των οινοποιήσεων που ακολουθήθηκε προκειμένου να καταλήξουμε στους πειραματικούς οίνους.

Αναλυτικά η πορεία έχει ως εξής:

Τα σταφύλια μάζας περίπου 68 kg, μετά τον τρύγο μεταφέρθηκαν σε αποβοστρυχωτή και στην συνέχεια υπέστησαν έκθλιψη. Η ποσότητα σταφυλοπολτού που προέκυψε διαμοιράστηκε σε δύο ίσα μέρη μάζας περίπου 33 kg έκαστο, εκ των οποίων το ένα παρέμεινε για 24 ώρες ως έχει, ενώ το άλλο άμεσα αποχυμώθηκε χειρωνακτικά και έμεινε μόνον το γλεύκος. Και τα δύο μέρη μετά την πρώτη αυτή διαδικασία που υπέστησαν θειώθηκαν ελαφρώς (10 gr/hl) και παρέμειναν σε θερμοκρασία 15° C σε ψυκτικό θάλαμο.

Η ποσότητα σταφυλοπολλτού που παρέμεινε για εκχύλιση με τα στέμφυλα, μετά από 24 ώρες αποχυμώθηκε επίσης χειρωνακτικά. Στην συνέχεια έκαστο εκ των δύο ίσων μερών γλεύκους (χωρίς και με παραμονή με τα στέμφυλα), διαμοιράστηκε σε 8 ίσα μέρη (4 μέρη\*2 επαναλήψεις). Κάθε περιέκτης από τους 8 συνολικά περιείχε περίπου 5,5-6,5 l γλεύκους. Για την απομάκρυνση των οινολασπών, το γλεύκος κολλαρίστηκε με 25 gr/hl μπεντονίτη και την επόμενη μέρα μετά την παραμονή σε ψυχόμενο περιβάλλον ακολούθησε απολάσπωση.

Μετά την απολάσπωση έγινε μέτρηση των σακχάρων (13,1 Be), της οξύτητας (6,1 gr/lit τρυγικό οξύ). Ακολούθησε προσθήκη 25 gr/hl DAP σε κάθε περιέκτη και 25 gr/hl ενεργοποιητής ζυμών.

Τα ήμισυ αυτών των μερών εμβολιάστηκε με γηγενείς ζύμες του ίδιου γλεύκους με εμβόλιο το οποίο δημιουργήθηκε επιτόπου (οινοποίηση με ιθαγενείς ζύμες-«αυθόρμητη ζύμωση»), ενώ το δεύτερο ήμισυ εμβολιάστηκε με εμπορικές ζύμες. Στα εν ζυμώσει γλεύκη πραγματοποιούνταν καθημερινά έλεγχος της θερμοκρασίας ζύμωσης (σταθερά 18° C) και της περιεκτικότητας σε σάκχαρα με αραιομετρία.

Αφού ολοκληρώθηκαν οι ζυμώσεις, οι οίνοι θειώθηκαν επαρκώς, κολλαρίστηκαν για την αποφυγή θολωμάτων και παρέμειναν για έναν μήνα σε ψυκτικό θάλαμο.

Για την καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων ακολούθησε η κωδικοποίηση των δειγμάτων. Στον πίνακα που ακολουθεί αναφέρεται η κωδικοποίηση των δειγμάτων και η περιγραφή της συνθήκης οινοποίησης.

**Πίνακας 2.1.2** Κωδικοποίηση των δειγμάτων και περιγραφή συνθηκών οινοποίησης.

<b>Κωδικός δείγματος</b>	<b>Περιγραφή συνθηκών οινοποίησης</b>
ΓΟ1	Γηγενείς ζύμες, χωρίς εκχύλιση με στέμφυλα
ΓΟ2	Γηγενείς ζύμες, χωρίς εκχύλιση με στέμφυλα,επαναλ.
ΕΟ1	Εμπορικές ζύμες, χωρίς εκχύλιση με στέμφυλα
ΕΟ2	Εμπορικές ζύμες, χωρίς εκχύλιση με στέμφυλα, επαναλ.
Γ241	Γηγενείς ζύμες, 24h εκχύλιση με στέμφυλα
Γ242	Γηγενείς ζύμες, 24h εκχύλιση με στέμφυλα, επαναλ.
Ε241	Εμπορικές ζύμες, 24h εκχύλιση με στέμφυλα
Ε242	Εμπορικές ζύμες, 24h εκχύλιση με στέμφυλα, επαναλ.

Συνοπτικά, οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης και θα περιγραφούν αναλυτικότερα παρακάτω είναι :

- pH
- προσδιορισμός ολικής οξύτητας
- προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου
- προσδιορισμός ελεύθερου και ολικού SO<sub>2</sub>
- προσδιορισμός πτητικής οξύτητας
- προσδιορισμός συγκέντρωσης αναγόντων σακχάρων
- απορρόφηση στα 420 nm
- Δείκτης φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ)
- Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu.
- Test ταχείας αμαύρωσης

Επίσης πραγματοποιήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός αρωματικού δυναμικού με χρήση GC-MS, ακριβής ανάλυση για έλεγχο της ποσότητας των οξέων με χρήση HPLC και οργανοληπτικός έλεγχος του τελικού προϊόντος.

Τα δεδομένα αναλύθηκαν με την ανάλυση της διακύμανσης (analysis of variance – ANOVA) για ένα παράγοντα, με επίπεδο σημαντικότητας  $p < 0.05$ , του προγράμματος Statgraphics. Για τη σύγκριση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το Tukey's HSD test.

## **2.2 Κλασικές αναλύσεις στους οίνους**

Σε όλους τους παραχθέντες οίνους πραγματοποιήθηκαν οι κλασικές αναλύσεις προσδιορισμού ενεργού και ολικής οξύτητας, πτητικής οξύτητας, αναγόντων σακχάρων και αλκοόλης. Οι μέθοδοι αυτοί προβλέπονται από την ευρωπαϊκή νομοθεσία και χρησιμοποιούνται εκτενώς σε εργαστηριακούς χώρους (International organization of vine and wine, 2006).

### **2.2.1 Προσδιορισμός ενεργού και ολικής οξύτητας**

Για τον προσδιορισμό της ενεργού οξύτητας των οίνων χρησιμοποιήθηκε ψηφιακό pH-μετρο HANNA HI 112.

Η ολική οξύτητα παρουσιάζεται σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανα L. Για τον προσδιορισμό της έγινε τιτλοδότηση με διάλυμα NaOH 0,1 N, με δείκτη κυανό της βρωμοθυμόλης, ύστερα από θέρμανση του ογκομετρούμενου δείγματος για την απομάκρυνση του διαλυτοποιημένου σε αυτό CO<sub>2</sub>.

### **2.2.2 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας**

Ο προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας πραγματοποιήθηκε με τιτλοδότηση των πτητικών οξέων που διαχωρίζονται από τον οίνο με απόσταξη με υδρατμούς και ανακαθαρισμό των ατμών (Amerine, M and Ough C., 1980) και εκφράζεται σε g οξικού οξέος ανά L οίνου.

### **2.2.3 Προσδιορισμός αναγόντων σακχάρων**

Ο προσδιορισμός των αναγόντων σακχάρων των οίνων έγινε με τη μέθοδο Luff και εκφράζονται σε g γλυκόζης/L.

### **2.2.4 Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου**

Ο προσδιορισμός του αλκοολικού τίτλου πραγματοποιήθηκε με απόσταξη των οίνων και εκφράζεται σε % αιθανόλης κατ' όγκο.

## **2.3 Προσδιορισμός φαινολικών ουσιών**

### **2.3.1 Ολικά φαινολικά συστατικά**

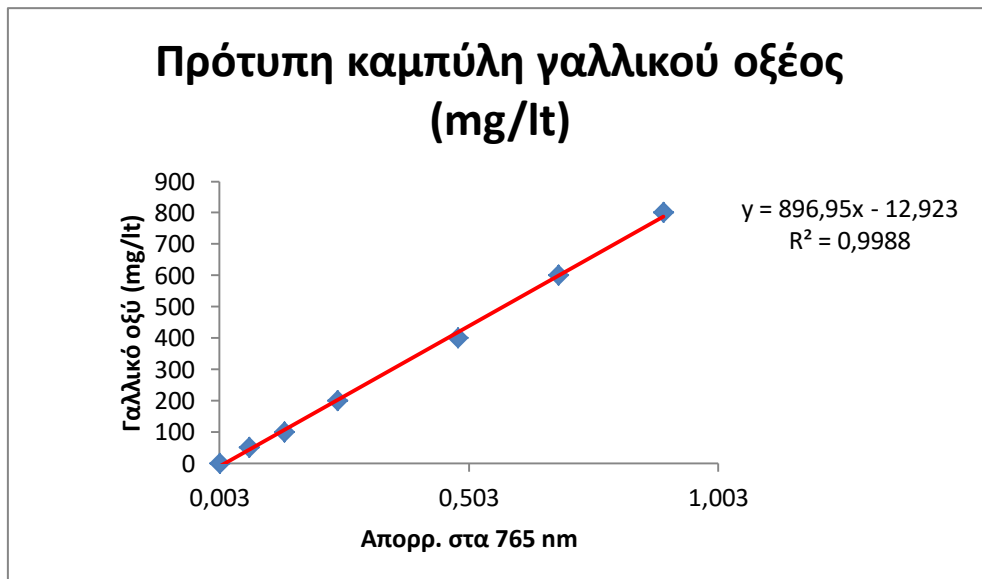
Για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών των οίνων εφαρμόστηκε η μέθοδος του Δείκτη Ολικών Φαινολών (ΔΦΟ) των (Flanzy & Poux, 1958) και (Gayon & Stonestreet, 1965), καθώς και η μέθοδος Folin-Ciocalteu, όπως περιγράφεται από τους (Waterman & Mole, 1994).

### 2.3.2 Δείκτης Ολικών Φαινολικών (ΔΦΟ)

Ο δείκτης Ολικών Φαινολικών αποτελεί μια γρήγορη και εύκολη ένδειξη των ολικών φαινολικών συστατικών που βρίσκονται στον οίνο. Γίνεται εφαρμογή της μεθόδου ΔΦΟ όπως περιγράφεται από τους (Flanzy & Roux, 1958) και (Gayon & Stonestreet, 1966), βάσει της οποίας μετράται η απορρόφηση δείγματος ερυθρού οίνου αραιωμένου 100 φορές με απεσταγμένο νερό, σε μήκος κύματος 280 nm του υπεριώδους φωτός. Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως «δείκτης ολικών φαινολικών» πολλαπλασιάζοντας την απορρόφηση επί 100. Βέβαια, αν και οι βενζολικοί πυρήνες έχουν τη μέγιστη απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος, ορισμένα μόρια, όπως τα κινναμωμικά οξέα και οι χαλκόνες, δεν παρουσιάζουν μέγιστο απορρόφησης στο ίδιο μήκος κύματος. Παρόλα αυτά, αφού τα μόρια αυτά απαντώνται στον οίνο σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, το σφάλμα της μέτρησης θεωρείται αμελητέο. Η τιμή του δείκτη ολικών φαινολικών κυμαίνεται από 6 έως 120 (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)

### 2.3.3 Μέθοδος Folin – Ciocalteu

Με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, που αναφέρεται από τους (Waterman & Mole, 1994), προσδιορίζεται η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενός δείγματος οίνου. Βασίζεται στην οξειδωση των φαινολών σε αλκαλικό περιβάλλον, παρουσία φωσφοροβολφραμικού και φωσφορομολυβδαινικού οξέος. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, σε ογκομετρική φιάλη των 10mL τοποθετούνται 10μL οίνου, 0,5 mL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu και 1,5mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%. Ακολουθεί ανάδευση και η φιάλη συμπληρώνεται με νερό. Παράλληλα δημιουργείται ένα τυφλό δείγμα όπου αντί για οίνο περιέχει νερό. Μετά από παραμονή 30 λεπτών για την ανάπτυξη του χρώματος, μετριοούνται οι απορροφήσεις των διαλυμάτων σε φασματοφωτόμετρο στα 765nm. Ο μηδενισμός γίνεται με το τυφλό δείγμα. Το αποτέλεσμα εκφράζεται mg/L γαλλικού οξέος που προκύπτουν από την καμπύλη αναφοράς, η χάραξη της οποίας γίνεται με διαλύματα γαλλικού οξέος γνωστών συγκεντρώσεων. (Flanzy & Roux, 1958)(Χαρβαλιά & Τζούρου, 1982) (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000)



**Διάγραμμα 2.1.3** Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος υπολογισμένη στα 765 nm.

#### 2.3.4 Τεστ ταχείας αμαύρωσης

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της ανάπτυξης της αμαύρωσης των οίνων (Sioumis, Kallithraka, Tsoutsouras, Makris, & Kefalas, 2005) 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 κύλινδρου 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 υπο 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 ( $A_{420}$ ). Για το μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου χρησιμοποιείται απιονισμένο νερό ενώ οι μετρήσεις

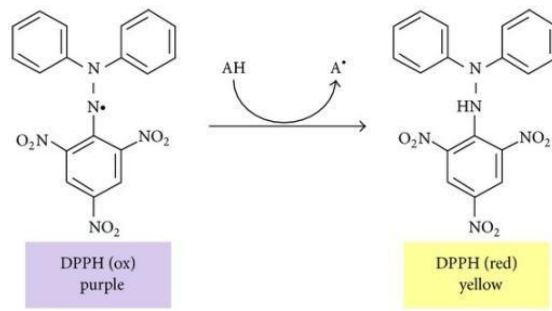
πραγματοποιούνται σε γυάλινες κυψελίδες και λάμπα αλογόνου. Το περιεχόμενο των κυψελίδων επιστρέφει πάντα στα φιαλίδια από τα οποία αντλήθηκε έτσι ώστε να διατηρηθεί σταθερός ο αρχικός όγκος του δείγματος και ο κενός χώρος, τα vials τοποθετούνται ξανά στο υδατόλουτρο. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για 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.

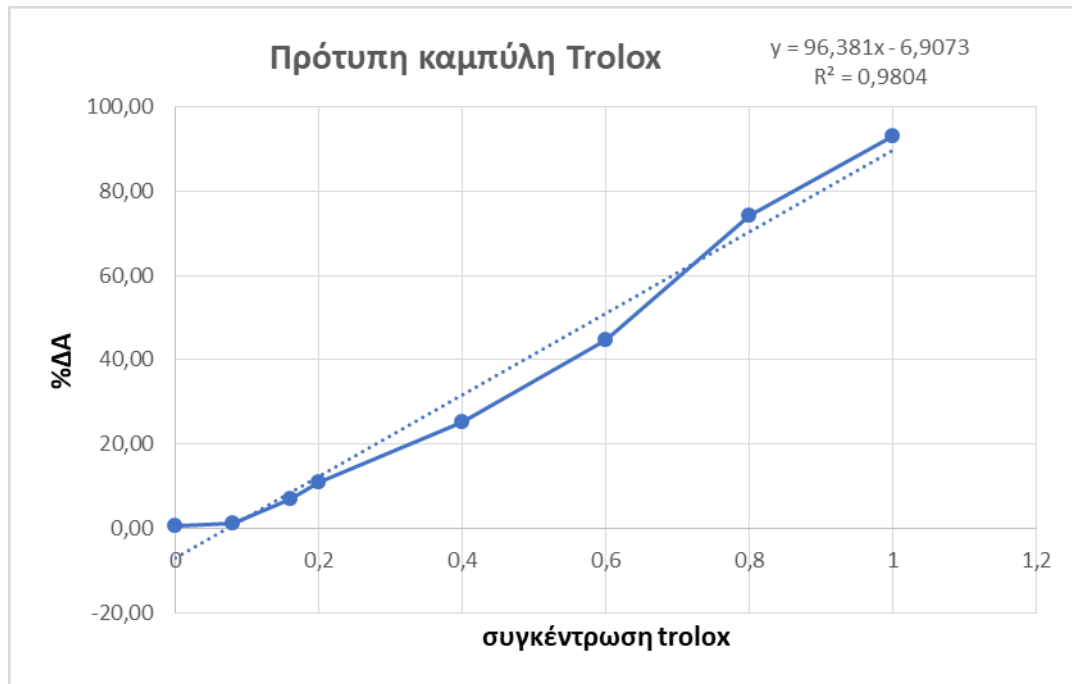
#### 2.4 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας με την δοκιμή DPPH.

Η δοκιμή DPPH προσδιορίζει την αντιοξειδωτική δράση μιας ουσίας. Το DPPH είναι μια σταθερή ρίζα, το οργανικό διάλυμα της οποίας παρουσιάζει έντονο ιώδες (μωβ) χρώμα. Η δοκιμή βασίζεται στην ικανότητα των εκχυλισμάτων να αποχρωματίζουν το διάλυμα του DPPH. Η δοκιμασία δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH, μετρά τη μείωση της DPPH από τη δράση των αντιοξειδωτικών, δηλαδή την εκατοστιαία % παρεμπόδιση της ελεύθερης ρίζας του διαλύματος-αντιδραστηρίου DPPH, η οποία καταγράφεται ως αλλαγή χρώματος (Singh et al., 2002). Το DPPH, σύμφωνα με τους (Foti et al., 2004), αντιδρά με τις φαινολικές ενώσεις (ArOH) με δύο διαφορετικούς τρόπους:

- Με απόσπαση ενός φαινολικού υδρογόνου από τη ρίζα του DPPH (HAT- αντίδραση).
- Με μεταφορά ηλεκτρονίου από τη φαινολική ένωση ή από το φαινολικό ανιόν προς την ελεύθερη ρίζα (ET- αντίδραση).







**Διάγραμμα 2.4.** Πρότυπη καμπύλη Trolox υπολογισμένη στα 515 nm.

## 2.5 Ανάλυση πτητικών ουσιών με την μέθοδο GC-MS.

Προκειμένου να προσδιορισθεί η ποσότητα των πτητικών ουσιών στους οίνους που προήλθαν από την ποικιλία Κακοτρύγης, χρησιμοποιήθηκε αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή MS, του οποίου η λειτουργία αναπτύχθηκε εκτενώς στο θεωρητικό μέρος. Η απομόνωση των πτητικών ουσιών έγινε με την τεχνική της εκχύλισης υγρού-υγρού. Πιο συγκεκριμένα η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

- Σε falcon των 50 mL μεταφέρθηκαν 20 mL δείγμα μαζί με 20  $\mu$ L διάλυμα εσωτερικού προτύπου 3-οκτανόλης.
- Προστέθηκαν 5 mL διχλωρομεθάνιο. Ακολούθησε ήπια ανακίνηση 2-3 φορές κι εκτόνωση του falcon. Κατόπιν, ομογενοποίηση στο vortex για 1 min.
- Για τον διαχωρισμό των φάσεων το μίγμα φυγοκεντρήθηκε στις 4000 rpm για 20 min. Η φάση του διχλωρομεθανίου συλλέχθηκε με σύριγγα που φέρει μεγάλη βελόνα (κάτω φάση).
- Η εκχύλιση επαναλήφθηκε άλλες 2 φορές με τους ίδιους όγκους. Οι φάσεις του διχλωρομεθανίου ενώθηκαν.

- Για την πλήρη αφύγρανση του εκχυλίσματος ζυγίστηκαν περίπου 0.4 g θειικού νατρίου, τοποθετήθηκαν μέσα στο φιαλίδιο και αναδεύτηκαν ήπια. Κατόπιν προετοιμάστηκε ηθμός με φίλτρο Whatman GFC και διαβρέχθηκε με 1 mL διχλωρομεθάνιο. Το εκχύλισμα διηθήθηκε και συλλέχθηκε σε φιαλίδιο.
- Η οργανική φάση συμπυκνώθηκε υπό ροή αζώτου μέχρι  $\approx 1.5$  mL και μεταφέρθηκε σε φιαλίδιο των 2 mL. Κλείστηκε με σταθερό καπάκι που φέρει στεγανωτικό Teflon και αποθηκεύθηκε στην κατάψυξη μέχρι την ανάλυσή του.

Η αεριοχρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε αέριο χρωματογράφο Hewlett Packard μοντέλο HP 6890N, συζευγμένο με φασματογράφο μάζας HP 5972 (Hewlett PackardCo., PaloAlto, CA). Οι πτητικές ενώσεις διαχωρίστηκαν σε τριχοειδή στήλη Innowax (crosslinked polyethylene glycol), διαστάσεων 60m\*0.2mm\*0.2μm. Το φέρον αέριο ήταν ήλιον υψηλής καθαρότητας (He 5.0), με πίεση 18 psi και ροή 1ml/min.

Η εισαγωγή δείγματος, όγκου 1μl, πραγματοποιήθηκε με αυτόματο δειγματολήπτη. Χρησιμοποιήθηκε γυάλινος εισαγωγέας με λειτουργία split/splitless (μη διαμοιρασμός για 1 min και ακολούθως διαμοιρασμός 1/50). Το πρόγραμμα θερμοκρασίας του κλιβάνου είχε ως εξής: 60 °C για 5 min (ισόθερμα), στην συνέχεια ρυθμός αύξησης 1.5 °C έως τους 140 °C και κατόπιν ρυθμός αύξησης 3 °C έως τους 205 °C. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα και της γραμμής μεταφοράς (transfer line) των αναλυτών στον ανιχνευτή ήταν σταθερή στους 200 °C και 280 °C αντίστοιχα. Η ενέργεια των ηλεκτρονίων στον φασματογράφο μάζας για την θραυσματοποίηση των μορίων ήταν 70 eV.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων έγινε με σύγκριση των χρόνων ανάλυσης και των σχετικών αφθονιών των χαρακτηριστικών ιόντων με τα αντίστοιχα των προτύπων ουσιών. Για την αύξηση της ευαισθησίας της μεθόδου η ποσοτική ανάλυση έγινε με μέθοδο καταγραφής επιλεγμένων ιόντων (SIM).

## 2.6 Οργανοληπτικός έλεγχος

Ο οργανοληπτικός έλεγχος που διεξήχθη, είχε στόχο την αξιολόγηση των παραγόμενων λευκών οίνων, ποικιλίας Κακοτρύγη, από εκπαιδευμένους δοκιμαστές για να διακρίνουν τις διαφορές ανάμεσά τους. Η διεξαγωγή του οργανοληπτικού ελέγχου έλαβε χώρα στο εργαστήριο οινολογίας στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, σε κατάλληλα διαμορφωμένο χώρο, εξοπλισμένο με ξεχωριστούς λευκούς πάγκους και ποτήρια δοκιμής οίνων. Πραγματοποιήθηκαν 2 συνεδρίες με επικεφαλής και επιβλέπουσα, την κυρία Σταματίνα Καλλίθρακα, για τον καθορισμό των χαρακτηριστικών του οίνου που θα εξεταστούν. Πιο συγκεκριμένα αποφασίστηκε :

### α) Οπτική αξιολόγηση

- διαύγεια
- απόχρωση
- ένταση χρώματος

### β) η οσφρητική αξιολόγηση

- ένταση αρώματος
- αίσθηση οξείδωσης
- φρουτώδη αρώματα
- βοτανικά αρώματα
- αρώματα λουλουδιών
- χορτώδη αρώματα

### γ) Γευστική αξιολόγηση

- Οξύτητα
- Πικράδα
- Στυπτικότητα
- Σώμα
- Επίγευση

Ακολούθως διεξήχθη ο οργανοληπτικός έλεγχος των 8 δειγμάτων από εκπαιδευμένο πάνελ 12 δοκιμαστών. Σε κάθε δοκιμαστή δόθηκε ένα φύλλο χαρτί με αναγεγραμμένα τα χαρακτηριστικά του οίνου που προαναφέρθηκαν ότι τέθηκαν προς αξιολόγηση και τη κλίμακα με βάση την οποία θα γινόταν η βαθμολόγηση. Οι δοκιμαστές χρησιμοποίησαν για την βαθμολογία τιμές από 0 έως 5. Η τιμή 0 αντιπροσωπεύει την ελάχιστη αντίληψη για κάθε παράμετρο και η τιμή 5 την μέγιστη. Εξαιρέση αποτέλεσαν οι παράμετροι της διαύγειας και απόχρωσης όπου στην περίπτωση της πρώτης οι επιλογές ήταν δύο, θολό ή διαυγές και στην περίπτωση της δεύτερης, οι επιλογές ήταν τρεις, λευκό χρυσό ή καφέ.

Ο οργανοληπτικός έλεγχος έγινε εις διπλούν κάτω υπό τις ίδιες συνθήκες, με τους ίδιους δοκιμαστές, με διαφορετική τριψήφια κωδικοποίηση των δειγμάτων.

Για τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου υπολογίστηκε ο μέσος όρος του κάθε χαρακτηριστικού, αλλά και ο μέσος όρος της συνολικής βαθμολογίας όλων των χαρακτηριστικών για κάθε δείγμα. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο Statgraphics.

### 2.6.1 Τρόπος δοκιμής κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο

Ο τρόπος δοκιμής σε στάδια είναι ο ακόλουθος :

Κάθε δείγμα εισάγεται σε πανομοιότυπα, καθαρά και σε σχήμα τουλίπας, ποτήρια κρασιού. Θα πρέπει να γεμίζει το 1/4 έως το 1/3 του ποτηριού, δηλαδή 8–10 ml. Το δείγμα φέρεται σε μία γωνία 30ο έως 45ο και παρατηρείται πάνω σε ένα φωτεινό, λευκό φόντο. Αυτό είναι σημαντικό για την ολοκληρωμένη παρατήρηση των σχηματιζόμενων “δακρύων”, της έντασης και της απόχρωσης του εξεταζόμενου οίνου. (OIV 2009).

Ακολουθεί οσφρητική εξέταση επί μακρόν, πριν να γίνει ανάδευση του οίνου.

Και σε μία δεύτερη φάση της οσφρητικής εκτίμησης, να γίνεται και ανάδευση του κρασιού με περιστροφικές κινήσεις, μία διαδικασία μέσω της οποίας επιτρέπει τη μεγέθυνση της επιφάνειας εξάτμισης και συνεπώς τη μεγαλύτερη απελευθέρωση αρώματος. (OIV 2009).

Ακολουθεί εισαγωγή μικρής ποσότητας δείγματος, 6 έως 10 ml, στο στόμα. Το κρασί “μετακινείται” στο στόμα για να καλυφθούν όλες οι επιφάνειες στο στόμα, όπως η γλώσσα, τα μάγουλα και ο ουρανίσκος. Οι διάφορες διαταραχές της γεύσης (γλυκιά, ξινή, πικρή) οι οποίες γίνονται αντιληπτές, σχετίζονται με τη διάρκεια του χρόνου αλλά και το πώς αλλάζουν στην αντίληψη και την ένταση.

Όσον αφορά την αφή (αίσθηση του στόματος), θα μπορούσαν να διαχωριστούν στη στυπτικότητα, το σώμα, το μούδιασμα, η θερμοκρασία και το κάψιμο. Οπότε το κρασί θα πρέπει να παραμείνει στο στόμα για 15 δευτερόλεπτα. (Ronald S.J., 2002).

Επιπλέον γίνεται αναρρόφηση του κρασιού στο στόμα μαζί με αέρα, για να ενισχυθεί η απελευθέρωση των αρωματικών συστατικών, ενώ κατά την εκπνοή οι αναθυμιάσεις περνούν από τη μύτη. Πρέπει να δοθεί βαρύτητα στη φύση, την ανάπτυξη και τη διάρκεια του αρώματος. Σημειώνεται και καταγράφεται οποιαδήποτε διαφορά κατά την εξέλιξη των αρωμάτων. Τέλος εντοπίζονται οι οσφρητικές και γευστικές αισθήσεις που παραμένουν στο στόμα, ενώ ο δοκιμαστής προβαίνει και σε συνολική αξιολόγηση των ελαττωμάτων, της πολυπλοκότητας, της κομψότητας και της ισορροπίας του οίνου. (Ronald S.J., 2002).

## 2.7 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης Statgraphics. Το Tukey's HSD (honest significant difference) test χρησιμοποιήθηκε για την σύγκριση των δειγμάτων, όταν παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές μετά τη εφαρμογή ANOVA ( $p < 0.05$ ) στα αποτελέσματα των αναλύσεων. Στα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στη συνέχεια αναγράφεται το μέσο σφάλμα των επαναλήψεων ως  $\pm$  του μέσου όρου αυτών ή ως μπάρες όταν τα αποτελέσματα απεικονίζονται σε γράφημα. Με a, b, c κ.ο.κ χαρακτηρίζεται η στατιστική διαφορά των δειγμάτων (σε επίπεδο 0.05%), ενώ δείγματα με ίδιο γράμμα δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

## Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα

### 3.1 Αποτελέσματα κλασικών αναλύσεων

Σε προηγούμενο κεφάλαιο αναφέρθηκε ότι στην εν λόγω ερευνητική εργασία έλαβαν χώρα αρχικά, οι βασικές οινολογικές αναλύσεις. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται ο αλκοολικός τίτλος, η ολική, πτητική και ενεργός οξύτητα και η συγκέντρωση των αναγόντων σακχάρων. Με το σύμβολο  $\pm$  υποδεικνύεται η τυπική απόκλιση των μέσων όρων των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα μεταξύ τους, θεωρούνται στατιστικά σημαντικές. (Tukey's test,  $p$ -value<0.05).

**Πίνακας 3.1.** Αποτελέσματα κλασικών αναλύσεων

Κωδ. Δείγματος	Ολική οξύτητα (gr τρυγ. οξέος/l)	Πτητική οξύτητα (gr οξικού οξέος/l)		Ενεργός οξύτητα (pH)	Υπολλειμματικά σάκχαρα (gr/l)
Γ01	6.64 $\pm$ 0.02 a	0.54 $\pm$ 0.00 a	10.47 $\pm$ 0.03 a	3.23 $\pm$ 0.00 a	1.48 $\pm$ 0.00 f
Γ02	6.71 $\pm$ 0.06 a	0.53 $\pm$ 0,00 a	10.8 $\pm$ 0,02 b	3.19 $\pm$ 0.00 a	1.05 $\pm$ 0.02 e
E01	5.4 $\pm$ 0,00 b,c	0.34 $\pm$ 0,00 c,d	11.6 $\pm$ 0,01 e	3.45 $\pm$ 0.03 c	0.66 $\pm$ 0.03 b
E02	4.93 $\pm$ 0.07 d	0.36 $\pm$ 0.01 d	11.6 $\pm$ 0,00 e	3.73 $\pm$ 0.00 e	0.57 $\pm$ 0.03 a
Γ241	5.85 $\pm$ 0.05 b	0.24 $\pm$ 0.01 b	11.5 $\pm$ 0,02 d	3.37 $\pm$ 0,00 b	0.74 $\pm$ 0.03 c
Γ242	5.63 $\pm$ 0.00 b	0.313 $\pm$ 0.01 c	11.4 $\pm$ 0,01c	3.41 $\pm$ 0.00 b,c	0.8 $\pm$ 0.01 c,d
E241	5.33 $\pm$ 0.09 c	0.26 $\pm$ 0.01 b	11.4 $\pm$ 0,00 c	3.55 $\pm$ 0.03 d	0.83 $\pm$ 0.01 d
E242	5.43 $\pm$ 0.02 b,c	0.34 $\pm$ 0.01 c,d	11.4 $\pm$ 0,00 c	3.45 $\pm$ 0.01 c	0.83 $\pm$ 0.02 d

Εξετάζοντας τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον παραπάνω πίνακα, συνάγεται ότι όλοι οι οίνοι που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα της εν λόγω διατριβής, ανήκουν στην κατηγορία των ξηρών οίνων. Μάλιστα, τα υπολλειμματικά σάκχαρα, κυμαίνονται από την ελάχιστη τιμή 0.57 gr/l για τον οίνο E02, έως την τιμή 1,48 gr/l για τον οίνο Γ01.

Όσον αφορά την ολική οξύτητα, μπορούμε να πούμε ότι οι μέσοι όροι των τιμών των μετρήσεων της, κυμαίνονται σε φυσιολογικά επίπεδα για λευκούς οίνους, αν και με στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Το γεγονός αυτό, μπορεί εύκολα να αποδοθεί στο ότι η ολική οξύτητα διορθώθηκε με προσθήκη τρυγικού οξέος μετά το

πέρας της αλκοολικής ζύμωσης. Αν και προστέθηκε η ίδια ποσότητα σε όλα τα οινοδοχεία παρατηρούμε ότι οι τιμές της ολικής οξύτητας διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. Ίσως αυτές οι διαφορές να οφείλονται σε μία ενδεχόμενη αποικοδόμηση του μηλικού οξέος, είτε σε μία διαφορετική συμπεριφορά των οινοδοχείων στον ψυκτικό θάλαμο όπου λαμβάνει χώρα η καθίζηση του τρυγικού οξέος.

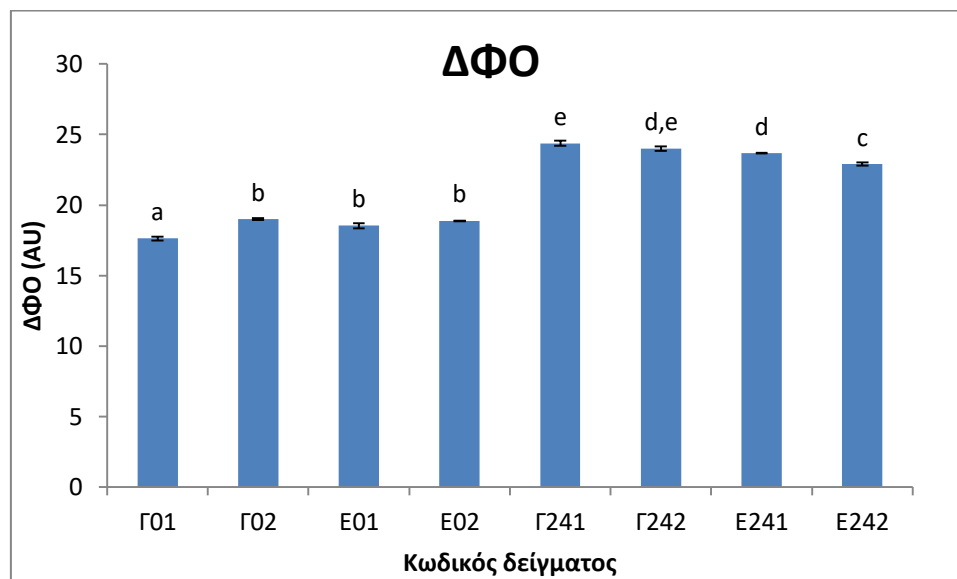
Η πτητική οξύτητα κινείται επίσης σε φυσιολογικές τιμές. Η πιο υψηλή τιμή αφορά τον οίνο Γ01 (0.54 gr/l). Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους οίνους Γ01 και Γ02 ίσως οφείλονται στην διαφορετική μεταβολική δραστηριότητα των γηγενών ζυμών σε σχέση με τις εμπορικές ζύμες.

Στην συνέχεια ακολούθησε προσδιορισμός του δείκτη φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ). Η εύκολη και γρήγορη αυτή μέθοδος, δίνει επαναλήψιμα αποτελέσματα και μετρά την περιεκτικότητα των φλαβανοειδών φαινολών (ανθοκυάνες, ταννίνες), των μη φλαβανοειδών (φαινολικά οξέα) και κάποιων μη φαινολικών ουσιών που απορροφούν στα 280nm.



## 3.2 Προσδιορισμός φαινολικών ουσιών

### 3.2.1 Προσδιορισμός δείκτη φαινολικών ουσιών



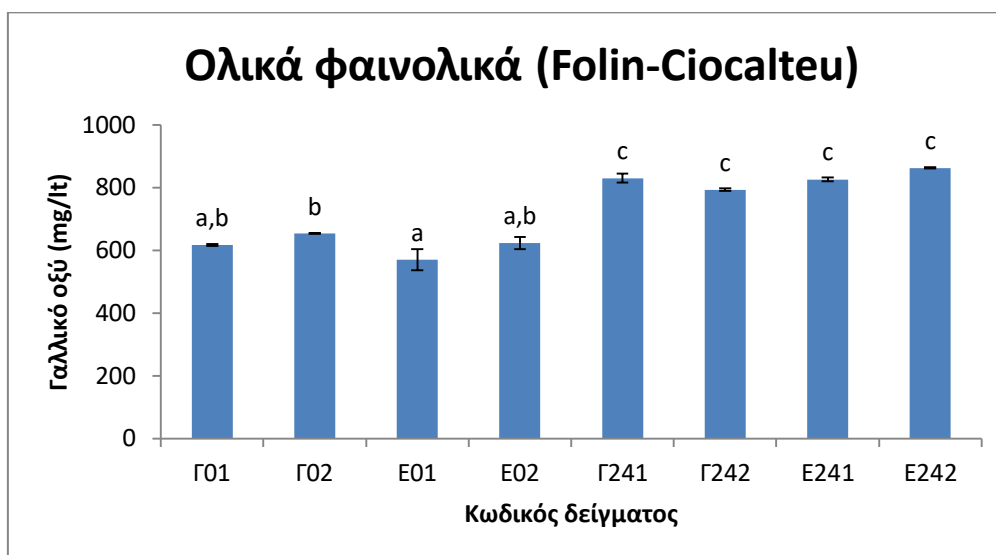
**Διάγραμμα 3.2.** Τιμές ΔΦΟ. Οι μπάρες υποδεικνύουν το τυπικό σφάλμα  $\pm$  του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα μεταξύ τους, είναι στατιστικά σημαντικά, διαφορετικές (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Οι λαμβανόμενες τιμές όσον αφορά τον δείκτη φαινολικών ουσιών βρέθηκαν σε ασυνήθιστα υψηλά επίπεδα, σε σύγκριση με τις τιμές που λαμβάνονται συνήθως σε λευκούς οίνους. Όπως ήταν αναμενόμενο, στους οίνους που προέκυψαν από οινοποίηση 24 ωρών παραμονής με τα στέμφυλα, οι τιμές του ΔΦΟ ήταν σημαντικά αυξημένες σε σχέση με αυτούς με μηδενική παραμονή με τα στέμφυλα. Ακόμη και στους οίνους όμως με 24 ώρες παραμονή, παρατηρούμε σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Μία πιθανή ερμηνεία είναι ότι ρόλο σε αυτές τις διαφορές έπαιξε η κατεργασία με μπεντονίτη που υπέστησαν οι οίνοι καθώς επίσης και οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στην χημική τους σύσταση. Προφανώς παρά το ότι χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες, θεωρητικά, ποσότητες μπεντονίτη σε όλα τα οινοδοχεία, μικροδιαφορές τόσο στον όγκο του οίνου που είχε κάθε οινοδοχείο, όσο και μικροδιαφορές στην μάζα του μπεντονίτη ή και ακόμα μία διαφορετικής έντασης ανάδευση μετά την προσθήκη της εν λόγω κόλλας, οδήγησε σε διαφορετικές τιμές.

Οι παραπάνω ληφθείσες τιμές, όσον αφορά την μέτρηση του ΔΦΟ, δεν ήταν αναμενόμενες, αλλά υψηλές σε σχέση με αυτό που συναντάται σε άλλες λευκές

ποικιλίες. Όμως ο ΔΦΟ αποτελεί όπως περιγράφει και η ονομασία του έναν δείκτη. Έτσι στην αύξηση των τιμών αυτών, είναι πολύ πιθανόν να συμβάλλουν αμινοξέα, κινναμωνικά οξέα κα, τα οποία επίσης απορροφούν στο ίδιο μήκος κύματος.

### 3.2.2 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu



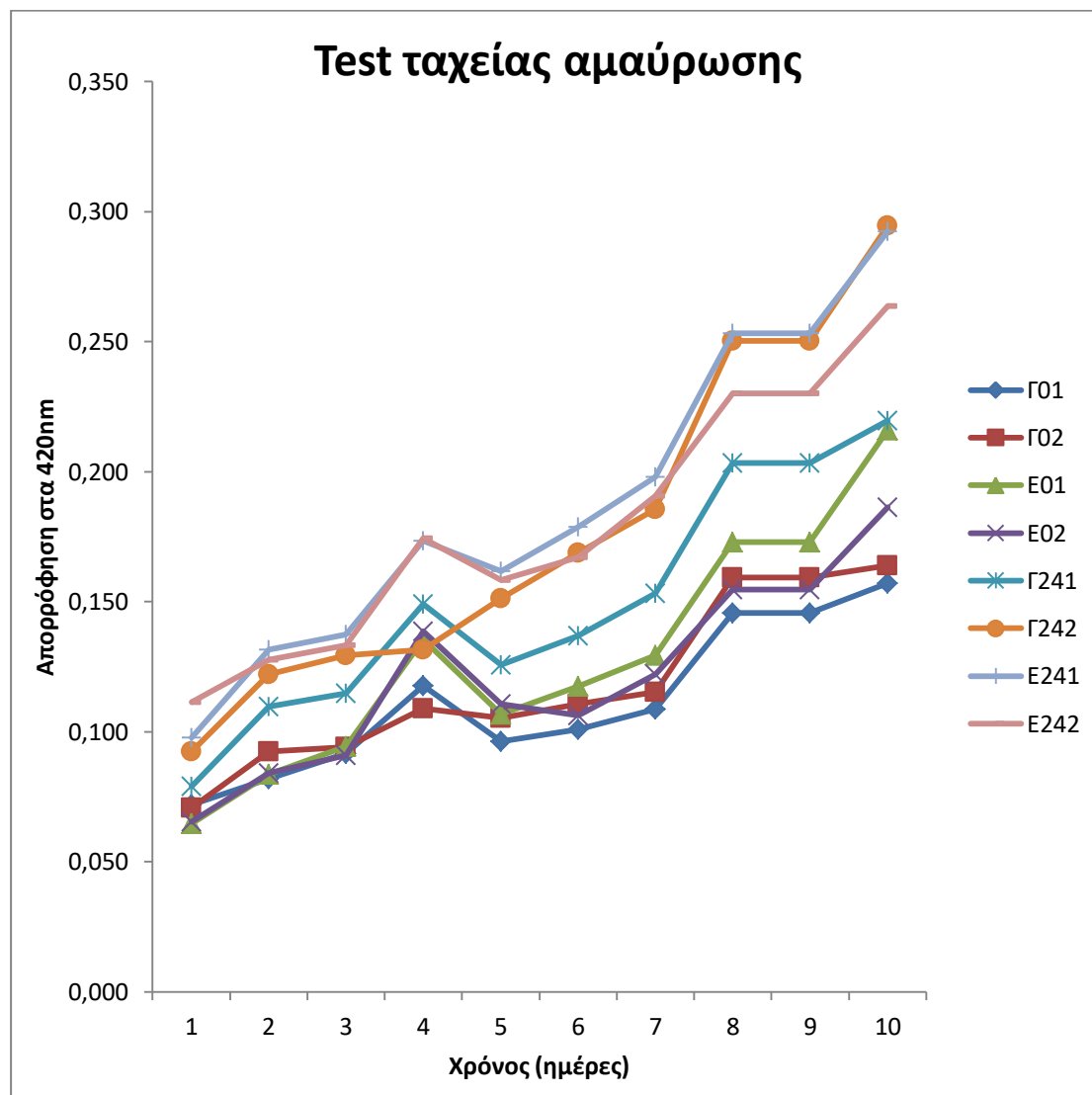
**Διάγραμμα 3.3.** Τιμές ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu. Οι μπάρες υποδεικνύουν το τυπικό σφάλμα  $\pm$  του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα μεταξύ τους, είναι στατιστικά σημαντικά, διαφορετικές (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Μία παρόμοια τάση με το διάγραμμα του ΔΦΟ, παρουσιάζει και το διάγραμμα 3.3, όπου απεικονίζονται οι τιμές των ολικών φαινολικών, μετρημένες με την μέθοδο Folin-Ciocalteu. Παρατηρούμε ότι οι τιμές για τους οίνους που παρέμειναν 24 ώρες με τα στέμφυλα, είναι πιο υψηλές σε σχέση με αυτά που δεν υπέστησαν παραμονή και μάλιστα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά τα μεν από τα δε. Και με την συγκεκριμένη μέθοδο, μπορούμε με ασφάλεια να πούμε ότι οι τιμές των ολικών φαινολικών για μία λευκή ποικιλία είναι υψηλές σε σχέση με τις τιμές που αναφέρονται σε άλλες έρευνες για λευκές ελληνικές ποικιλίες. (Sioumis, Kallithraka, Tsoutsouras, Makris, & Kefalas, 2005) (Kallithraka, Salaha, & Tzourou, 2009)

Κρίθηκε σκόπιμο, εφόσον μελετήθηκε μία λευκή ποικιλία, η οποία μάλιστα κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων βρέθηκε να δίνει οίνους πλούσιους σε φαινολικά, να μελετηθεί και η οξειδωσιμότητα τους. Αυτό επετεύχθη με την διεξαγωγή του τεστ ταχείας αμαύρωσης, με τις τιμές της απορρόφησης στα 420nm που έδιναν καθημερινά τα δείγματα για 13 συνεχόμενες μέρες, να απεικονίζονται στο διάγραμμα 3.3. Παρατηρούμε ότι την χαμηλότερη τιμή για την 1<sup>η</sup> μέρα την δίνει το δείγμα Ε01, ενώ την υψηλότερη τιμή για την 1<sup>η</sup> μέρα το Ε242. Την χαμηλότερη τιμή για την τελευταία ημέρα του τεστ, την δίνει το δείγμα Γ01, ενώ την υψηλότερη το Γ242. Από

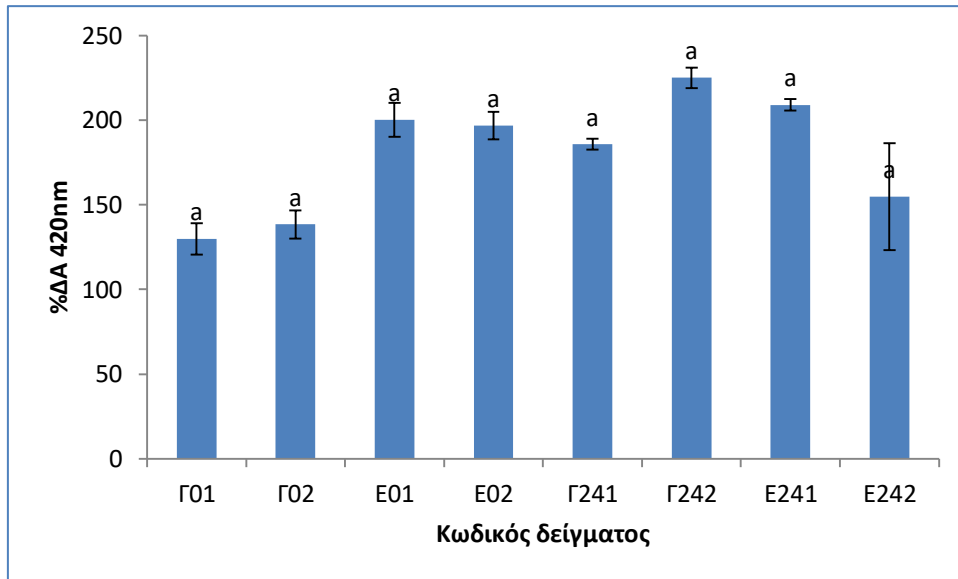
αυτές τις τιμές και μόνον όμως, δεν μπορεί να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα για την ταχύτητα αμαύρωσης των οίνων. Έτσι βρέθηκε η κλίση των παραπάνω καμπυλών, και κατασκευάστηκε το διάγραμμα 3.4, όπου συγκρίνονται οι κλίσεις των καμπυλών, άρα και ο ρυθμός μεταβολής της απορρόφησης στα 420 nm. Είναι προφανές, ότι όσο μεγαλύτερη η κλίση της κάθε καμπύλης τόσο πιο γρήγορα αμαυρώνεται ένας οίνος.

### 3.2.3 Test ταχείας αμαύρωσης

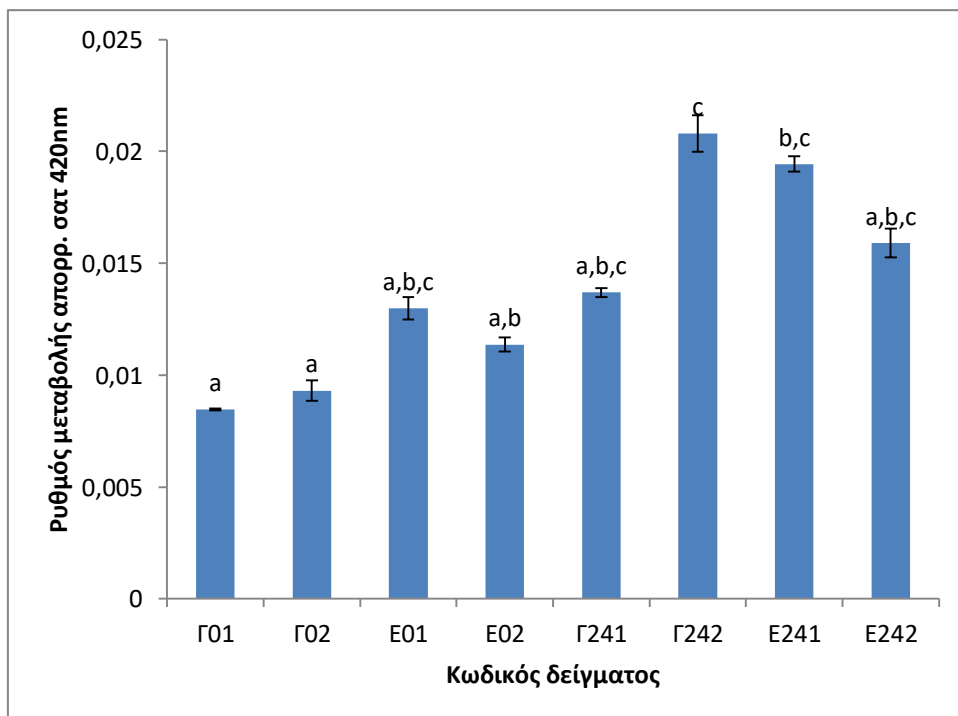


**Διάγραμμα 3.3.** Κινητική μελέτη αμαύρωσης των οίνων-τεστ ταχείας αμαύρωσης. Στον X άξονα, οι μέρες των μετρήσεων, στον Y άξονα η απορρόφηση των δειγμάτων στα 420 nm.

Στο διάγραμμα 3.4 παρουσιάζεται η επί τοις 100 μεταβολή της απορρόφησης των οίνων στα 420 nm. Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταβολών των δειγμάτων ( $p\text{-value}<0,05$ ). Την μικρότερη επί τοις 100 μεταβολή παρουσιάζει το δείγμα Γ01 με 129,93%, ενώ την μεγαλύτερη το δείγμα Γ242 με μεταβολή 224,95%.



**Διάγραμμα 3.4.** Επί τοις 100 μεταβολή απορρόφησης στα 420 nm. Οι μπάρες υποδεικνύουν το τυπικό σφάλμα ± του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα μεταξύ τους, είναι στατιστικά σημαντικά, διαφορετικές (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).



**Διάγραμμα 3.5.** Ρυθμός μεταβολής απορρόφησης στα 420 nm. Οι μπάρες υποδεικνύουν το τυπικό σφάλμα ± του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα μεταξύ τους, είναι στατιστικά σημαντικά, διαφορετικές (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Από το διάγραμμα 3.5 και συγκρίνοντας με αντίστοιχες μελέτες με τη εν λόγω τεχνική σε οίνους προερχόμενους από άλλες ποικιλίες (Sioumis, Kallithraka,

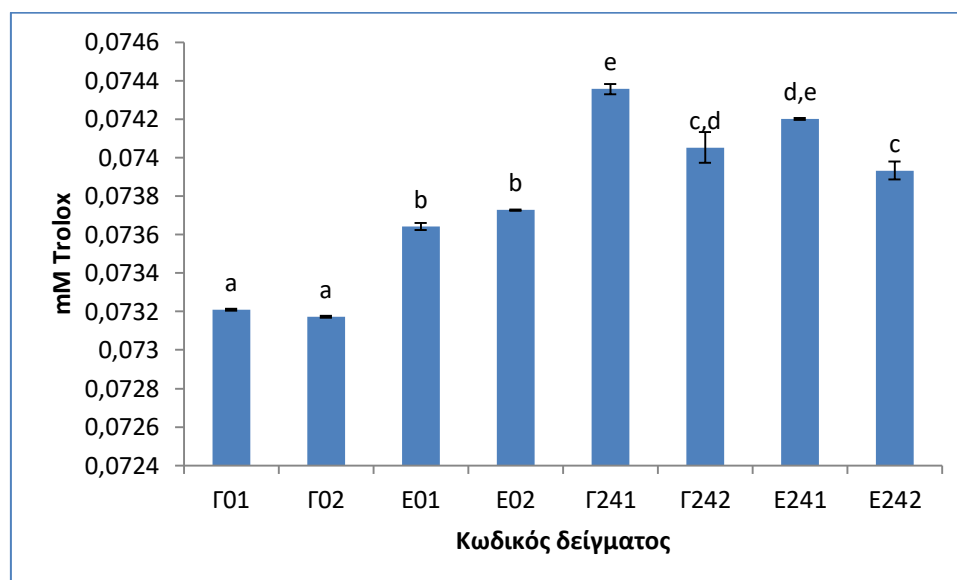
Tsoutsouras, Makris, & Kefalas, 2005) (Kotseridis, S.Kallithraka, M.Kyraleou, Proxenia, & Makris, 2013) μπορούμε γενικά να εκτιμήσουμε ότι ο ρυθμός αύξησης της απορρόφησης στα 420 nm , για τους εν λόγω οίνους, δεν ήταν μεγάλος, άρα και οι οίνοι της εν λόγω ποικιλίας δεν αμαυρώνονται εύκολα. Ωστόσο παρατηρούμε ότι την μικρότερη τιμή του ρυθμού αύξησης την παρουσιάζει ο οίνος Γ01, ενώ την μεγαλύτερη ο οίνος Γ242. Σε συσχέτιση Pearson ( $p < 0.05$ ) που διενεργήθηκε, μεταξύ των τιμών ολικών φαινολικών που προέκυψαν με την μέθοδο Folin-Ciocalteu και των τιμών των ρυθμών αύξησης της απορρόφησης στα 420 nm, φανερώθηκε θετική συσχέτιση, πράγμα που σημαίνει ότι όσο περισσότερα φαινολικά κατέχει ένας λευκός οίνος, τόσο πιο επιρρεπής στην αμαύρωση είναι. Τα αποτελέσματα της συσχέτισης αυτής, παρουσιάζονται στον πίνακα 3.6.

**Πίνακας 3.6.** Συσχέτιση Pearson μεταξύ των δύο μεταβλητών. Οι τιμές που είναι χρωματισμένες με κόκκινο χρώμα και είναι μικρότερες από 0,05 υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις, σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95%.

	Ολικά φαινολικά (Folin Ciocalteu)	Ρυθμ. μεταβολής A420
Ολικά φαινολικά (Folin Ciocalteu)		0,5659
		(24)
		<b>0,0039</b>
Ρυθμ. μεταβολής A <sub>420</sub>	0,5659	
	(24)	
	<b>0,0039</b>	

### 3.2.4 Μέτρηση αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο DPPH

Τέλος, όσον αφορά το φάσμα των αναλύσεων που αφορά την αντιοξειδωτικά και το φαινολικό προφίλ των οίνων πραγματοποιήθηκε μέτρηση αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο DPPH.



**Διάγραμμα 3.7.** Αντιοξειδωτική ικανότητα των οίνων εκφρασμένη σε ισοδύναμα trolox. Οι μπάρες υποδεικνύουν το τυπικό σφάλμα  $\pm$  του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα μεταξύ τους, είναι στατιστικά σημαντικά, διαφορετικές (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Παρατηρούμε ότι τις χαμηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας εκφρασμένης σε ισοδύναμα trolox, τις έχει ο οίνος Γ02, του οποίου η αντιοξειδωτική ικανότητα δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά από αυτήν του Γ01. Την υψηλότερη τιμή της αντιοξειδωτικής ικανότητας εκφρασμένης σε ισοδύναμα trolox, την έχει ο οίνος Γ241. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός, ότι οι οίνοι οι οποίοι προήλθαν από γλεύκος με παραμονή 24 ώρες με τα στέμφυλα, παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά ( $p\text{-value} < 0.05$ ) μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με τους οίνους με μηδενικό χρόνο παραμονής με τα στέμφυλα, διότι η παραμονή με αυτά, αυξάνει την εκχύλιση των φαινολικών ουσιών. Έτσι, είναι λογικό οι οίνοι με μεγαλύτερη παραμονή με τα στέμφυλα να έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση.

Αν συσχετίσουμε μάλιστα, κατά Pearson, τις τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας που προέκυψαν με την μέθοδο DPPH και τις τιμές των ολικών φαινολικών που προέκυψαν με την μέθοδο Folin-Ciocalteu, θα παρατηρήσουμε μία



θετική συσχέτιση των δύο παραμέτρων. Άρα καταλήγουμε στην λογική παρατήρηση ότι όσο περισσότερα τα φαινολικά, τόσο μεγαλύτερη η αντιοξειδωτική ικανότητα των οίνων. Μάλιστα, παρατηρούμε και μία ισχυρή γραμμική συσχέτιση μεταξύ των δύο παραμέτρων.

**Πίνακας 3.8.** Συσχέτιση Pearson μεταξύ των δύο μεταβλητών. Οι τιμές που είναι χρωματισμένες με κόκκινο χρώμα και είναι μικρότερες από 0,05 υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις, σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95%.

	Ολικά φαινολικά( Folin- Ciocalteu)	Αντιοξειδωτική ικανότητα
Ολικά φαινολικά (Folin- Ciocalteu)		0,7446
		(24)
		0,0000
Αντιοξειδωτική ικανότητα	0,7446	
	(24)	
	0,0000	

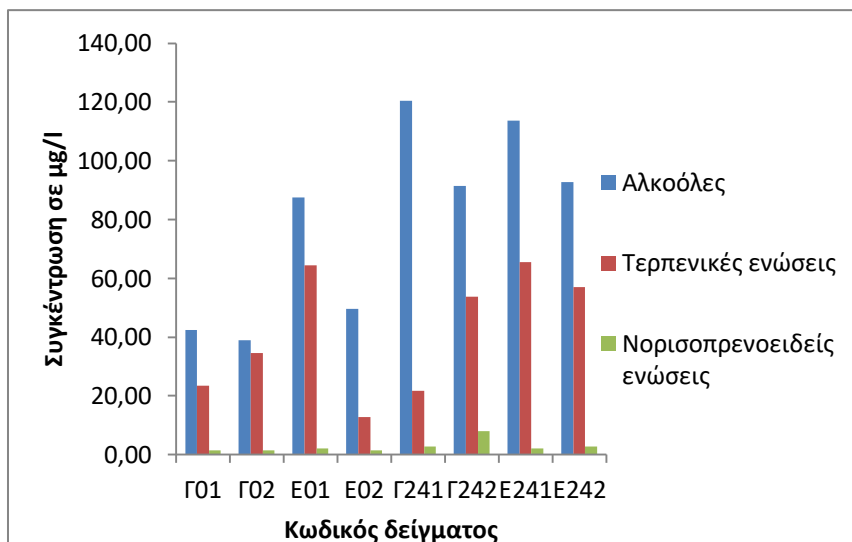
### 3.3 Προσδιορισμός πτητικών ουσιών

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή πραγματοποιήθηκε όπως προαναφέρθηκε ποσοτική ανάλυση με χρήση της αναλυτικής μεθόδου GC-MS, σε 19 ενώσεις- οι οποίες είναι και οι πιο σημαντικές για το πρωτογενές άρωμα. Επιλέχθηκε αυτή η ομάδα ενώσεων διότι όπως αναφέρεται από τις πρώτες γραμμές της εν λόγω διατριβής, σκοπός ήταν να διερευνηθεί ποια από τις δύο τεχνικές οινοποίησης αναδεικνύει σε μεγαλύτερο βαθμό το πρωτογενές-ποικιλιακό άρωμα της ποικιλίας «Κακοτρύγης».

**Πίνακας 3.9.** Οι ενώσεις που αναλύθηκαν με την μέθοδο GC-MS.

Τερπενικές ενώσεις	Αλκοόλες	Νορισοπρενοειδείς ενώσεις	Βενζολικά παράγωγα
Λιναλοόλη	1-εξανόλη	a-ιονόνη	b-φαινυλαιθανόλη
Γερανιόλη	Trans-3-εξενεν-1-όλη	b-ιονόνη	Βενζυλική αλκοόλη
Νερόλη	Cis-3-εξενεν-1-όλη	b-δαμασκηνόνη	Βανιλίνη
Γερανικό οξύ			
Cis-Rose οξείδιο			
Trans-rose οξείδιο			
a-τερπινεόλη			
σιτρονελλόλη			

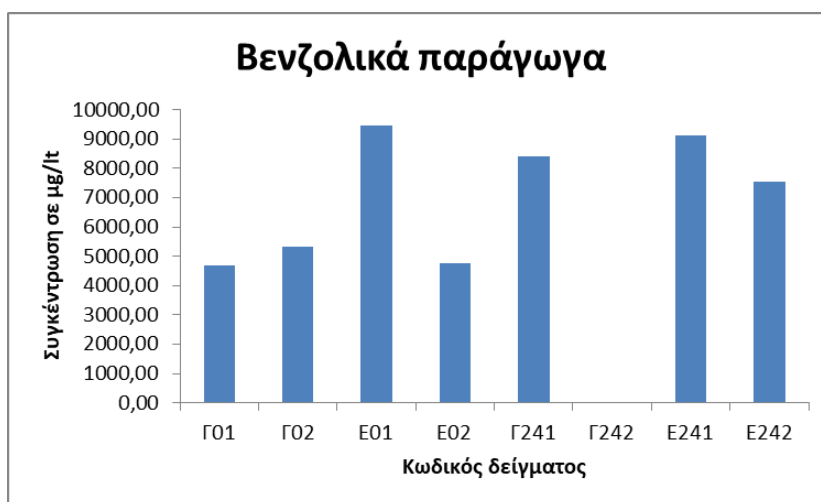
Στα διαγράμματα που ακολουθούν γίνεται η εξής αποτίμηση: Στον πρώτο εμφανίζεται η συγκέντρωση που εντοπίστηκε για τις κατηγορίες των αλκοολών, των τερπενικών ενώσεων και των νορισοπρενοειδών ενώσεων σε κάθε οίνο ξεχωριστά. Παρατηρείται ότι την μεγαλύτερη συγκέντρωση αλκοολών-ενώσεων αρώματος συγκεντρώνει ο οίνος Γ241 και ακολουθούν οι οίνοι E241 και E242. Την μεγαλύτερη συγκέντρωση τερπενικών ενώσεων έχει το δείγμα E241. Την μεγαλύτερη συγκέντρωση νορισοπρενοειδών έχει το δείγμα Γ242.



**Διάγραμμα 3.10** Οι

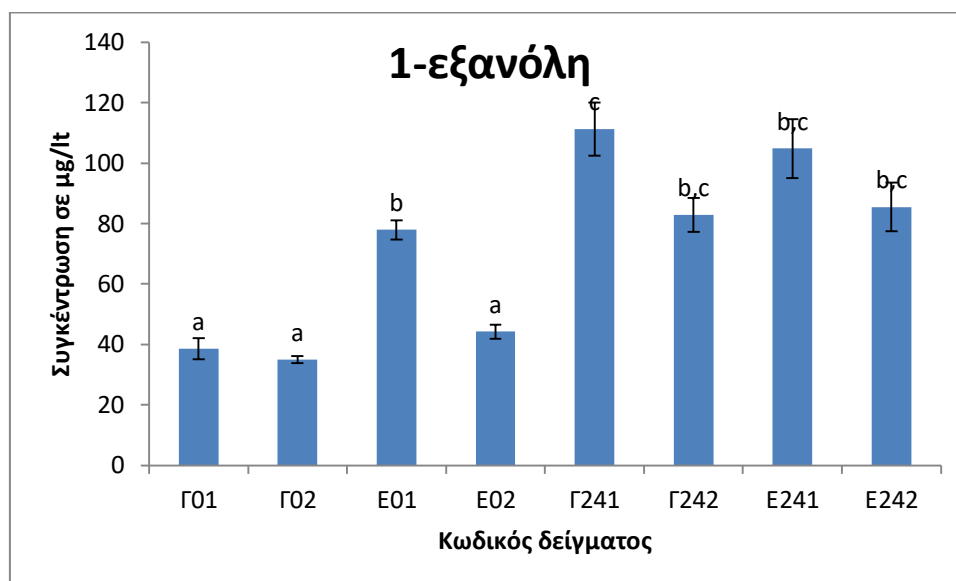
συγκεντρώσεις των κατηγοριών πτητικών ενώσεων που ανιχνεύθηκαν με την μέθοδο GC-MS.

Στον επόμενο διάγραμμα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των βενζολικών παραγώγων που ανιχνεύθηκαν. Παρατηρείται μηδενική συγκεντρωση στο δείγμα G242 όπου μόνο σε πειραματικό σφάλμα μπορεί να αποδοθεί. Παρατηρούμε ότι το δείγμα E01 έχει μία αρκετά μεγάλη συγκεντρωση βενζολικών σε σχέση με τα δείγμα G01, G02 και E02. Επίσης τα δείγματα που έχουν υποστεί εκχύλιση 24 ωρών με τα στέμφυλα και κυρίως αυτά που οινοποιήθηκαν με εμπορικές ζύμες έχουν αυξημένες συγκεντρώσεις βενζολικών παραγώγων.



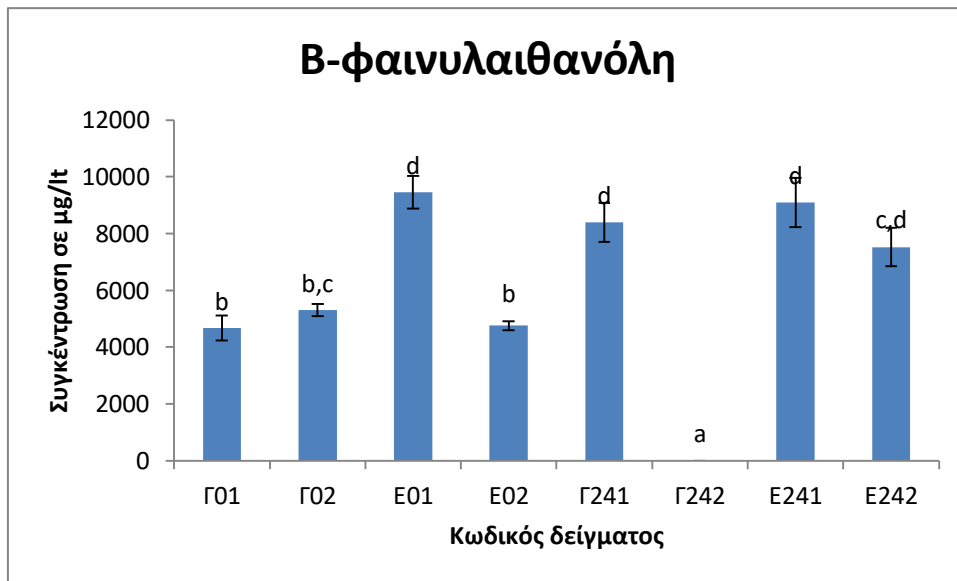
**Διάγραμμα 3.11** Οι συγκεντρώσεις των βενζολικών παραγώγων, όπου ανιχνεύθηκαν με την μέθοδο GC-MS.

Στην συνέχεια επιλέγονται να παρουσιαστούν σε διαγράμματα ξεχωριστά οι ενώσεις 1-εξανόλη, β-φαινυλαιθανόλη και γερανιόλη καθώς ήταν και οι πιο αξιόλογες ενώσεις από άποψη συγκεντρώσεων που ανιχνεύθηκαν.



**Διάγραμμα 3.12** Οι συγκεντρώσεις της 1-εξανόλης, όπου ανιχνεύθηκαν με την μέθοδο GC-MS. Οι μπάρες υποδεικνύουν το τυπικό σφάλμα  $\pm$  του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα μεταξύ τους, είναι στατιστικά σημαντικά, διαφορετικές (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

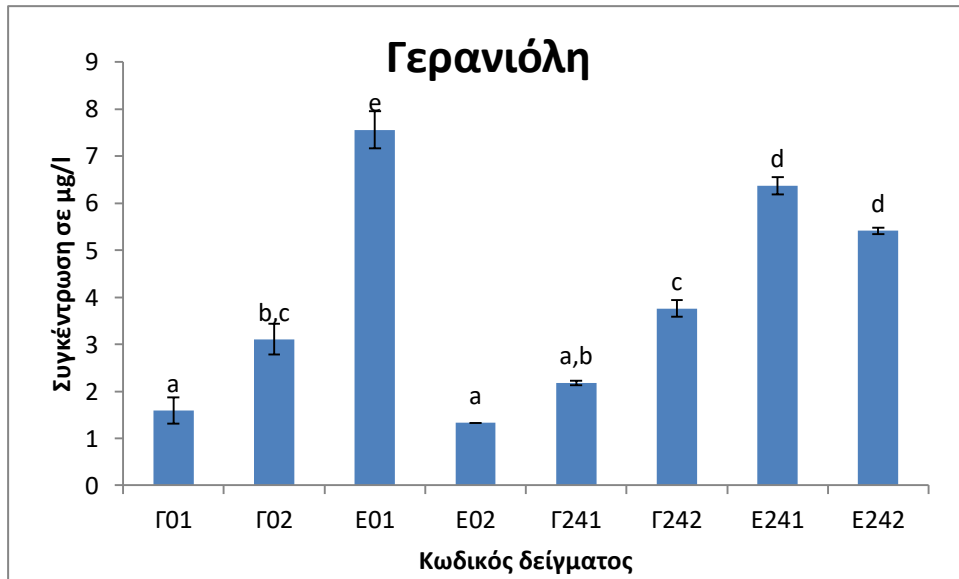
Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα οι συγκεντρώσεις της 1-εξανόλης, ένωσης που ανήκει στην κατηγορία των αλκοολών, παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των οίνων που παρήχθησαν με την χρήση γηγενών ζυμών και των οίνων που παρήχθησαν με εμπορικές ζύμες. Επίσης παρατηρούμε ότι οι οίνοι που παρέμειναν 24 ώρες με τα στέμφυλα κατά την διαδικασία της οινοποίησης έχουν πιο αυξημένες τιμές της 1-εξανόλης σε σχέση με αυτούς που είχαν μηδενική παραμονή.



**Διάγραμμα 3.13** Οι συγκεντρώσεις της β-φαινυλαιθανόλης, όπου ανιχνεύθηκαν με την μέθοδο GC-MS. Οι μπάρες υποδεικνύουν το τυπικό σφάλμα  $\pm$  του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα μεταξύ τους, είναι στατιστικά σημαντικά, διαφορετικές (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Όσον αφορά την β-φαινυλαιθανόλη, η οσμή της οποίας σύμφωνα με την βιβλιογραφία προσομοιάζει αυτήν του τριαντάφυλλου, παρατηρούμε καταρχήν ότι όλες οι συγκεντρώσεις βρίσκονται κάτω από το κατώφλι αντίληψης των 14000 μg/l (Ferreira, Lopez, & Cacho, 2000), με μόνο λίγες τιμές να το προσεγγίζουν οριακά. Εντύπωση προκαλεί το γεγονός ότι στο δείγμα Γ242 δεν ανιχνεύθηκε η β-φαινυλαιθανόλη, πράγμα που μόνο σε πειραματικό σφάλμα μπορεί να αποδοθεί πχ σε μία αποτυχημένη εκχύλιση. Παρατηρούμε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων που είχαν μηδενικό χρόνο παραμονής με τα στέμφυλα (Γ01 και Γ02) και των οίνων που των οίνων που παρέμειναν 24 ώρες με τα στέμφυλα. Ωστόσο η ένωση β-φαινυλαιθανόλη, παράγεται από τις ζύμες με απευθείας καταβολισμό των σακχάρων και όχι με αντίδραση Erlich, όπως άλλες ανώτερες αλκοόλες (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000). Αυτό σημαίνει ότι ρόλο στις τιμές της εν λόγω αλκοόλης, ενδεχομένως δεν παίζει ρόλο ο χρόνος παραμονής με τα στέμφυλα, τα οποία αποτελούν πηγή αμινοξέων για τις αντιδράσεις Erlich, αλλά οι διαφορετικές ζύμες. Γενικά, σύμφωνα με την βιβλιογραφία παράγοντες που σχετίζονται με την αύξηση του ρυθμού της αλκοολικής ζύμωσης (βιομάζα ζυμών, οξυγόνωση κ.α.) αυξάνουν τις συγκεντρώσεις των ανώτερων αλκοολών (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000). Πιθανώς, λοιπόν οι εμπορικές ζύμες να σχετίζονται με κάποιον

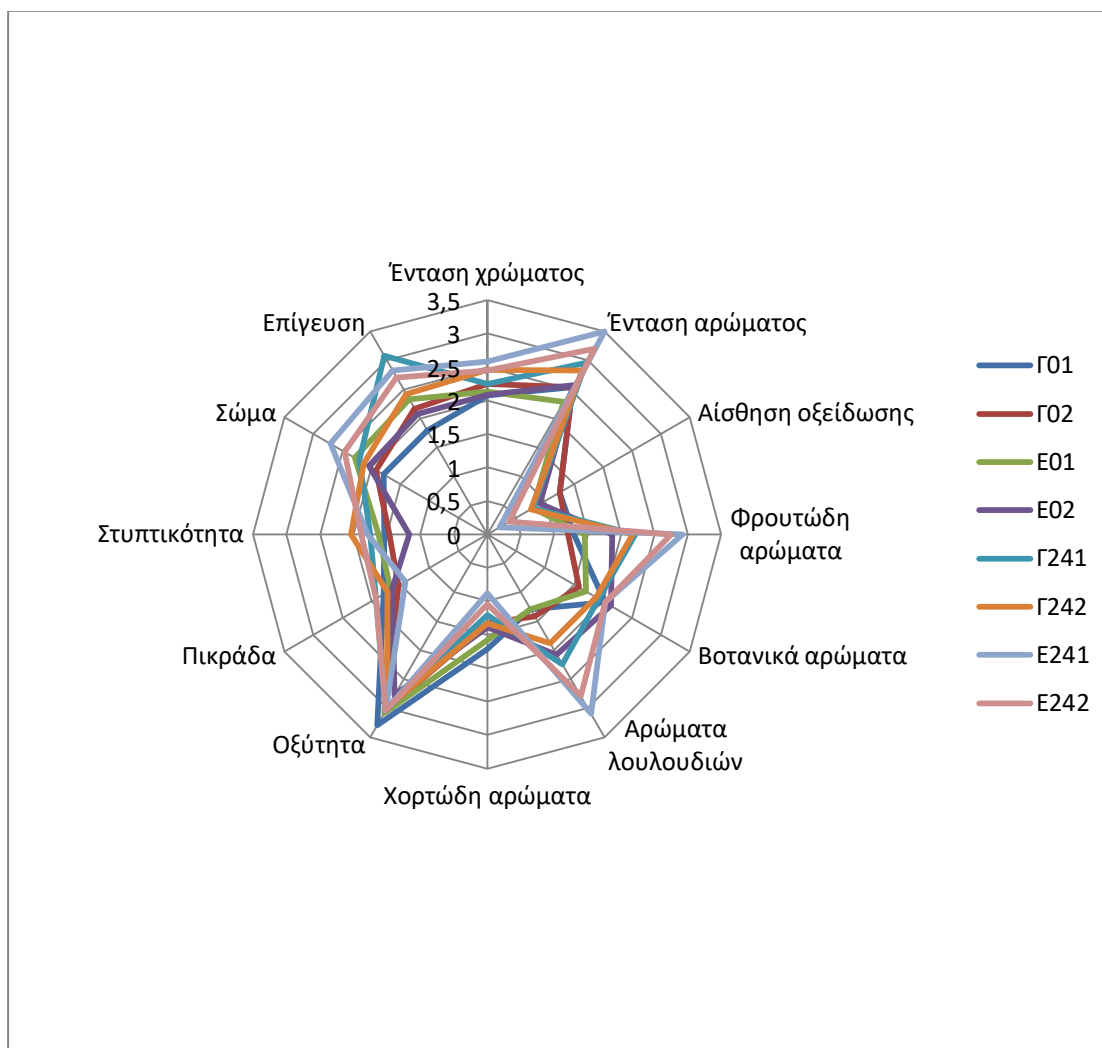
από αυτούς τους παράγοντες, δεδομένου ότι τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις β-φαινυλαιθανόλης τις παρατηρούμε στα δείγματα που ζυμώθηκαν με αυτές.



**Διάγραμμα 3.14** Οι συγκεντρώσεις της γερασιόλης, όπου ανιχνεύθηκαν με την μέθοδο GC-MS. Οι μπάρες υποδεικνύουν το τυπικό σφάλμα  $\pm$  του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα μεταξύ τους, είναι στατιστικά σημαντικά, διαφορετικές (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Αναφορικά με τις συγκεντρώσεις της γερασιόλης, παρατηρούμε ότι είναι αρκετά χαμηλές, πιο κάτω από το κατώφλι αντίληψης των 30  $\mu\text{g/l}$ , όπου αναφέρεται στην βιβλιογραφία. Ωστόσο είχε ένα ενδιαφέρον η μελέτη των διακυμάνσεων των τιμών για τις ανάγκες του πειράματος, ώστε να μελετηθεί η επίδραση επάνω σε αυτές, της αλλαγής των παραμέτρων (χρόνος παραμονής με τα στέμφυλα και διαφορετικές ζύμες), διότι οι τιμές αυτές δεν είναι ασυνήθιστες. Παραδείγματος χάριν σύμφωνα με τον Darriet έχουν μετρηθεί τιμές της τάξης των 5  $\mu\text{g/l}$  στην ποικιλία Sauvignon Blanc (Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2000). Στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι την μεγαλύτερη τιμή με στατιστικά σημαντική διαφορά, την έχει το δείγμα E01. Τις δεύτερες μεγαλύτερες τιμές τις έχουν τα δείγματα E241 και E242, ενώ τις δύο μικρότερες τα δείγματα Γ01 και E02.

### 3.4 Οργανοληπτικός έλεγχος



**Διάγραμμα 3.15.** Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου, σε κλίμακα βαθμολογίας των παραμέτρων από 0 έως 5.

Στο παραπάνω διάγραμμα βλέπουμε να αποτυπώνονται σε ιστόγραμμα, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από οργανοληπτικό έλεγχο των δειγμάτων, ο οποίος διενεργήθηκε από εκπαιδευμένο πάνελ δοκιμαστών, όπως περιγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο της εν λόγω διατριβής.

Ένταση χρώματος: Οι βαθμολογίες των δειγμάτων κινούνται από την ελάχιστη τιμή 2.08 για το G01 έως την μέγιστη 2.58 για το E241. Δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ όλων των δειγμάτων ( $p\text{-value} < 0.05$ ). Ενδεχομένως



λοιπόν, οι 24 ώρες να μην είναι αρκετές για να δώσουν αλλαγές αντιληπτές από το οργανοληπτικό πάνελ.

Απόχρωση: Όλα τα δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως λευκά.

Ένταση αρώματος: Την χαμηλότερη βαθμολογία (2,54) συγκεντρώνουν τα δείγματα Γ01 και Γ02, ενώ την υψηλότερη με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα δείγματα τα Ε241 και Ε242 (3,5 και 3,2 αντίστοιχα). Πράγματι και στην μέτρηση των πτητικών ουσιών τις μεγαλύτερες τιμές, με εξαίρεση το δείγμα Γ241, τις έδιναν τα δείγματα Ε241 και Ε242. Υπάρχει λοιπόν, μία προφανής συσχέτιση.

Αίσθηση οξείδωσης: Την μεγαλύτερη βαθμολογία συγκέντρωσε το δείγμα Γ01 (1,25), ενώ την χαμηλότερη το δείγμα Ε241 (0,21) με στατιστικά σημαντική διαφορά από την βαθμολογία του Γ01. Πράγματι και η μέτρηση πτητικής οξύτητας έδωσε στατιστικά σημαντική υψηλότερη τιμή για το δείγμα Γ01, σε σχέση με το Ε241.

Φρουτώδες άρωμα: Τις μικρότερες βαθμολογίες συγκέντρωσαν τα δείγματα Γ01 και Γ02 (0,19 και 0,23 αντίστοιχα), με στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p\text{-value}<0,05$ ) από την μεγαλύτερη βαθμολογία που συγκέντρωσαν τα δείγματα Ε241 και Ε242 (2,92 και 2,75 αντίστοιχα). Ο σχολιασμός του αποτελέσματος αυτού κινείται στο ίδιο μήκος κύματος με την παράμετρο της έντασης αρώματος.

Βοτανικά αρώματα: Τα δείγματα δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ( $p\text{-value}<0,05$ ).

Αρώματα λουλουδιών: Τις μικρότερες βαθμολογίες συγκεντρώνουν τα δείγματα Γ01, Γ02 και Ε01 ( 1,29, 1,42, και 1,29 αντίστοιχα) με στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p\text{-value}<0,05$ ) από το Ε242 και το Ε241 που συγκεντρώνουν τις υψηλότερες βαθμολογίες (2,79 και 3,2 αντίστοιχα). Ο σχολιασμός του αποτελέσματος αυτού κινείται στο ίδιο μήκος κύματος με την παράμετρο της έντασης αρώματος

Χορτώδη αρώματα: Τα δείγματα δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Οι τιμές κυμαίνονται από 0,88 (για το Ε241), έως 1,71 για το Γ01.

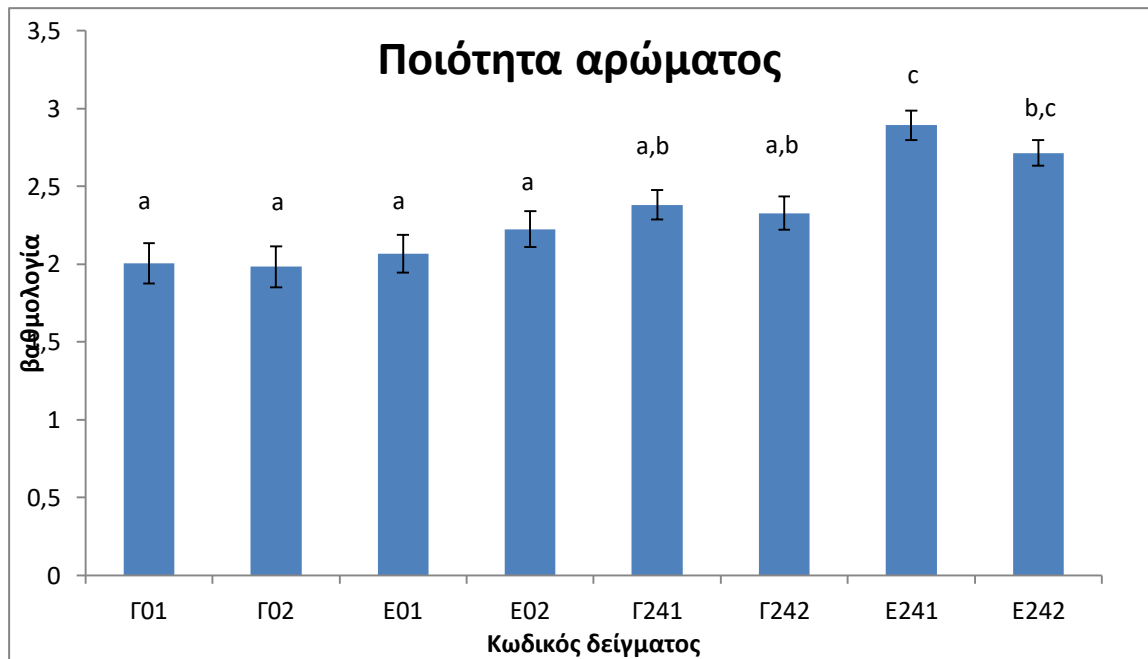
Οξύτητα: Τα δείγματα δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ( $p\text{-value}<0,05$ ). Οι βαθμολογίες κυμαίνονται από 2,78 για το δείγμα Ε02 έως 3,29 για το Γ01.

Πικράδα: Τα δείγματα δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ( $p\text{-value}<0,05$ ). Οι βαθμολογίες κυμαίνονται από 1,41 για το δείγμα E241 έως 1,92 για τα δείγματα Γ241 και E242.

Στυπτικότητα: Τα δείγματα δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ( $p\text{-value}<0,05$ ). Οι βαθμολογίες κυμαίνονται από 1,17 για το E02 έως 2,04 για το Γ242. Ίσως μία διφορούμενη εκτίμηση σε σχέση με τις υψηλές τιμές φαινολικών που ανιχνεύθηκαν.

Σώμα: Το πιο γεμάτο σώμα, βάσει της βαθμολογίας που έδωσαν οι δοκιμαστές του οργανοληπτικού πάνελ, το έχει ο οίνος E241 με βαθμολογία 2,71, ο οποίος διαφέρει στατιστικά σημαντικά ( $p\text{-value}<0,05$ ), σε σχέση με το δείγμα Γ01 ο οποίος συγκεντρώνει βαθμολογία της τάξης του 1,79.

Επίγευση: Την πιο μακρά επίγευση έχουν οι οίνοι E241 και E242 (2,83 και 2,71 αντίστοιχα), με στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p\text{-value}<0,05$ ) από τον οίνο Γ01 με βαθμολογία για την συγκεκριμένη παράμετρο 1,79.



Τέλος, στο διάγραμμα παρουσιάζεται η βαθμολογία των οίνων ως προς την ποιότητα του αρώματος τους. Όπως φαίνεται την υψηλότερη βαθμολογία με στατιστικά σημαντική διαφορά από τους άλλους, συγκεντρώνει το δείγμα Ε241, ενώ την χαμηλότερη ο Γ01. Και εδώ φαίνεται ότι υπάρχει λογική συσχέτιση μεταξύ αυτής της παραμέτρου και της συνολικής συγκέντρωσης πτητικών ουσιών που ανιχνεύθηκε με την μέθοδο GC-MS.

#### 4. Συζήτηση

Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη πραγματοποιήθηκαν 4 οινοποιήσεις (σε δύο επαναλήψεις), όπου οι παράμετροι που διαφοροποιήθηκαν μεταξύ των οινοποιήσεων ήταν ο χρόνος παραμονής με τα στέμφυλα κατά την διαδικασία της οινοποίησης και η χρήση διαφορετικών ζυμών (εμπορικών και γηγενών). Σκοπός της μελέτης είναι να αναδείξει την επίδραση του χρόνου παραμονής με τα στέμφυλα και της χρήσης των διαφορετικών ζυμών στα πτητικά συστατικά των προκύπτοντων από την ποικιλία «Κακοτρύγης» οίνων, πράγμα που συνιστά και το πρωτότυπο της εν λόγω διατριβής.

Παράλληλα, κατά την διάρκεια της εκπόνησης των πειραμάτων προέκυψε η ανάγκη να γίνει μελέτη της επίδρασης αυτών των παραγόντων και σε άλλες παραμέτρους οι οποίες κρίθηκαν σκόπιμο να μελετηθούν, δεδομένου ότι έως τώρα ελάχιστες πληροφορίες υπάρχουν σε ερευνητικό επίπεδο για τους οίνους της ποικιλίας αυτής. Έτσι έγιναν και αναλύσεις οι οποίες αφορούν το φαινολικό φορτίο των οίνων, την αντιοξειδωτική ικανότητα τους και την ταχύτητα αμύρωσης τους καθώς και οργανοληπτικός έλεγχος από εκπαιδευμένο πάνελ δοκιμαστών. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός ορισμένων σημαντικών για το πρωτογενές άρωμα πτητικών ενώσεων με την μέθοδο GC-MS.

Παρατηρείται ότι οι οίνοι Γ01 και Γ02, έχουν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αναγόντων σακχάρων, την ίδια στιγμή που έχουν τις χαμηλότερες τιμές αλκοολικού τίτλου. Δεδομένου ότι οι οίνοι ζυμώθηκαν στις ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας, αλλά με διαφορετικές ζύμες και χρόνους εκχύλισης με τα στέμφυλα, μία υπόθεση για αυτό το γεγονός είναι το ότι οι γηγενείς ζύμες δεν δύνανται να προωθήσουν την ζύμωση έως εκείνο το τελικό σημείο που μπορούν οι εμπορικές που χρησιμοποιήθηκαν. Όμως στα δείγματα Γ242 και Ε241, δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο δειγμάτων όσον αφορά τον αλκοολικό τίτλο.

Παρομοίως ακόμη και στα δείγματα τα οποία με βάση την στατιστική ανάλυση παρουσιάζονται σημαντικές διαφορές στον αλκοολικό τίτλο, όπως πχ το Ε01 με το Γ241, «οινολογικά» δεν μπορούμε να πούμε ότι πρόκειται για σημαντικές διαφορές, αλλά για αμελητέες. Μόνον οι τιμές των Γ01 και Γ02, όσον αφορά τον αλκοολικό τίτλο μπορούν να θεωρηθούν στατιστικά σημαντικά διαφορετικές ( $p < 0.05$ ). Επομένως εκτιμούμε, ότι αυτές οι διαφορές πολύ πιθανόν να οφείλονται σε

πειραματικό σφάλμα ή στην τυχαιότητα. Ειδάλλως μπορούμε να πούμε ότι ο χρόνος εκχύλισης με τα στέμφυλα καθώς και οι γηγενείς ζύμες παίζουν κάποιο ρόλο σε αυτό το γεγονός. Αυτό όμως αποτελεί πεδίο κατοπιτής μελέτης, καθώς μόνον δύο δείγματα είναι ελάχιστα για την εξαγωγή ενός ασφαλούς συμπεράσματος.

Οι τιμές που προέκυψαν από την μέτρηση του ΔΦΟ και από την μέθοδο Folin-Ciocalteu όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα των αποτελεσμάτων είναι υψηλές σε σχέση με τις τιμές που αναφέρονται στην βιβλιογραφία για άλλες ελληνικές ποικιλίες. Ενδεχομένως έχουμε να κάνουμε με μία ποικιλία πλούσια σε φαινολικές ουσίες, ωστόσο για την διεξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων κρίνεται σκόπιμη η επαναξιολόγηση των οίνων που προέρχονται από αυτήν την ποικιλία. Ενδεχομένως να παίζουν ρόλο οι κλιματικές συνθήκες που επικράτησαν εκείνη το έτος στο νησί της Κέρκυρας. Άλλωστε είναι γνωστό και από την βιβλιογραφία ότι η βιοσύνθεση των φαινολικών ουσιών επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την υδατική κατάσταση του φυτού και κατ'επέκταση από την μέση ετήσια βροχόπτωση όσο και από την μέση ετήσια θερμοκρασία και ηλιοφάνεια.

Στο test ταχείας αμαύρωσης όπως προέκυψε από την στατιστική ανάλυση μπορούμε γενικά να εκτιμήσουμε ότι ο ρυθμός αύξησης της απορρόφησης στα 420 nm , για τους εν λόγω οίνους, δεν ήταν μεγάλος, άρα και οι οίνοι της εν λόγω ποικιλίας δεν αμαυρώνονται σε σύντομο χρονικό διάστημα. Ωστόσο παρατηρούμε ότι την μικρότερη τιμή του ρυθμού αύξησης την παρουσιάζει ο οίνος Γ01, ενώ την μεγαλύτερη ο οίνος Γ242. Σε συσχέτιση Pearson ( $p < 0.05$ ) που διενεργήθηκε, μεταξύ των τιμών ολικών φαινολικών που προέκυψαν με την μέθοδο Folin-Ciocalteu και των τιμών των ρυθμών αύξησης της απορρόφησης στα 420 nm, φανερώθηκε θετική συσχέτιση, πράγμα που σημαίνει ότι όσο περισσότερα φαινολικά κατέχει ένας λευκός οίνος, τόσο πιο επιρρεπής στην αμαύρωση είναι.

Όσον αφορά τον οργανοληπτικό έλεγχο έχει ενδιαφέρον ότι την μεγαλύτερη βαθμολογία ως προς την ποιότητα του αρώματος συγκέντρωσαν οι οίνοι E241 και E242. Μία σκέψη ως προς αυτό το γεγονός θα αναπτυχθεί, στο επόμενο σκέλος, στον σχολιασμό των πτητικών ουσιών.

Οι πτητικές ουσίες όπως διαπιστώθηκε και από τον ποσοτικό προσδιορισμό τους, βρίσκονται στην πλειονότητα τους σε χαμηλές συγκεντρώσεις, πολλές από αυτές

κάτω από το κατώφλι αντίληψης. Τα δεδομένα αυτά δεν είναι απολύτως ασφαλή, ώστε να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η ποικιλία γενικά δεν μπορεί να δώσει οίνους με ικανοποιητικό αρωματικό δυναμικό και αυτό αιτιολογείται από τους εξής λόγους: Πρώτον, οι πειραματικές οινοποιήσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν μόλις οκτώ. Δεύτερον, δεν έγιναν επαναληπτικές οινοποιήσεις όσον αφορά το έτος παραγωγής. Τρίτον, οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος, αφορούσαν ένα περιορισμένο εύρος πτητικών ενώσεων. Τέταρτον, σύμφωνα με την βιβλιογραφία τα κατώφλια αντίληψης πολλές φορές διαμορφώνονται σε model wines, από ενώσεις απομονωμένες. Ως ομάδες ενώσεων σε υπόστρωμα πραγματικού οίνου ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις δεν είναι δυνατόν να είναι γνωστό a priori ποιο είναι το οργανοληπτικό τους αποτέλεσμα.

Παρατηρείται ότι τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αλκοολών-ενώσεων αρώματος συγκέντρωσαν οι οίνοι που υπέστησαν 24 ώρες εκχύλιση με τα στέμφυλα. Μία τέτοια τάση παρατηρήθηκε και για το δείγμα E02 βέβαια, όμως σχετικά επαναλήψιμα υψηλές τιμές έδωσαν τα δείγματα με 24 ώρες εκχύλιση.

Έχει ενδιαφέρον ότι η ένωση της β-φαινυλαιθανόλης, η οποία προσδίδει άρωμα τριαντάφυλλου σύμφωνα με την βιβλιογραφία, βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα δείγματα που οινοποιήθηκαν με εμπορικές ζύμες και με εκχύλιση 24 ωρών με τα στέμφυλα, με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα δείγματα με μηδενική εκχύλιση και ζύμωση με γηγενείς ζύμες. Επίσης η 1-εξανόλη βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους οίνους με 24 ώρες εκχύλιση με τα στέμφυλα. Το ίδιο μπορούμε να πούμε και για τα τερπένια και τις νορισοπρενοειδείς ενώσεις.

Μία τέτοια τάση παρατηρείται και στις βενζολικές ενώσεις, όπου τις υψηλότερες τιμές συγκεντρώσεων έχουν τα δείγματα E241 και E242. Το αυτό ισχύει και για την β-φαινυλαιθανόλη ξεχωριστά.

Εξαίρεση σε όλες σχεδόν τις κατηγορίες πτητικών ενώσεων αποτέλεσε το δείγμα E01 το οποίο “ξέφυγε” από την τάση χαμηλών συγκεντρώσεων πτητικών ουσιών που παρουσίασαν τα δείγματα με μηδενικό χρόνο εκχύλισης με τα στέμφυλα.

Έχει επίσης ένα ενδιαφέρον η βαθμολογία ποιότητας αρώματος στον οργανοληπτικό έλεγχο να συσχετισθεί με τις συγκεντρώσεις πτητικών ουσιών που ανιχνεύθηκαν. Τις

υψηλότερες βαθμολογίες με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα άλλα δείγματα συγκέντρωσαν τα E241 και E242. Χωρίς απόλυτη ασφάλεια και με ανάγκη αρκετά μεγαλύτερης διερεύνησης ώστε τα αποτελέσματα αυτά να μην εμπίπτουν στην τυχαιότητα, θα μπορούσαμε να πούμε ότι ίσως αυτό να είναι και το αποτέλεσμα της σταθερά μεγαλύτερης συγκέντρωσης ορισμένων πτητικών ουσιών από τα άλλα δείγματα.

## 5. Συμπεράσματα

Το ασφαλέστερο επιστημονικό συμπέρασμα κατά την άποψη του συγγραφέα όσον αφορά την συγκεκριμένη μελέτη είναι το εξής: Η πρακτική των 24 ωρών εκχύλισης με τα στέμφυλα η οποία παραδοσιακά προτιμάται, προσδίδει θετικά τόσο στο προφίλ των πτητικών ενώσεων, όσο και στις άλλες παραμέτρους που μελετήθηκαν με σημαντικότερες το φαινολικό και οργανοληπτικό προφίλ. Αναφορικά με την χρήση εμπορικών ή γηγενών ζυμών, τα αποτελέσματα των αναλύσεων των πτητικών ενώσεων και του οργανοληπτικού ελέγχου επίσης ρέπουν ως προς το ότι είναι προτιμότερες οι πρώτες. Ωστόσο και πάλι η περαιτέρω έρευνα κρίνεται αναγκαία διότι οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί πάνω στην συγκεκριμένη ελληνική ποικιλία είναι ελάχιστες.

Οι συγκεντρώσεις των πτητικών ενώσεων, όπως φάνηκε και από τον σχολιασμό των αποτελεσμάτων, είναι μεγαλύτερες στους οίνους που ζυμώθηκαν με εμπορικές ζύμες. Ωστόσο είναι απαραίτητο σε επόμενη μελέτη να γίνουν πειραματικές οινοποιήσεις αρκετά περισσότερες σε αριθμό, οι οποίες όμως δεν θα παραλλάσσονται σε δύο παραμέτρους όπως στην παρούσα διατριβή αλλά μόνο σε μία κάθε φορά. Έτσι, με τον μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων εξαλείφεται ο κίνδυνος της τυχαιότητας και οι τυχόν διαφορές αποδίδονται αποκλειστικά μόνο σε έναν παράγοντα

Σε κάθε περίπτωση-και αυτό ας μην εκληφθεί ως ιδιοτελής νοθεσία λόγω της αγάπης του συγγραφέα για την ιδιαίτερη πατρίδα του- η κατοπινή περαιτέρω μελέτη του Κακοτρύγη θα είναι ιδιαίτερα χρήσιμη αφενός λόγω των ενδιαφερόντων αποτελεσμάτων που προέκυψαν από αυτήν την διατριβή, αλλά χρήζουν μεγαλύτερης έρευνας, αφετέρου αναγκαία στα πλαίσια της ανάγκης ανάδειξης ποιοτικών οίνων από ελληνικές ποικιλίες..

Τέλος, για την ακόμη μεγαλύτερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων και για την πλήρη διερεύνηση της ποικιλίας, θα έχει αξία σε κατοπινή μελέτη προτού μελετηθούν οι πτητικές ενώσεις σε οίνο, να γίνει ταυτοποίηση πρόδρομων ενώσεων στον ίδιο τον καρπό της ποικιλίας, ενδεχομένως στο στάδιο της τεχνολογικής ωρίμασης.



## Βιβλιογραφία

- Andujar-Ortiz, I., Moreno-Arribas, M., Martín-Álvarez, P., & Pozo-Bayón, M. (2009). Analytical performance of three commonly used extraction methods for the gas chromatography–mass spectrometry analysis of wine volatile compounds. *Journal of chromatography*, 7351–7357.
- Chapman, D., Thorngate, J., Matthews, M., & Ebeler, J. G. (2004). Yield effects on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine concentration in Cabernet Sauvignon using a solid phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52:5431-5435.
- Flanzy, M., & Poux. (1958). *Annals of Agricultural Sciences*, 377.
- Gayon, P. R., & Stonestreet, E. (1965). Determination of Anthocyanins in Red Wine. *Bulletin de la Societe Chimique de France*, 2649-2652.
- Gayon, P. R., & Stonestreet, E. (1966). Le dosage des tannins du vin rouge et la détermination de leur structure. *Chimie Analytique*, 188-196.
- Gayon, P. R., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2000). *Handbook of enology, Vol 2, The chemistry of wine stabilization and Treatments*. Wiley .
- González-Barreiro, a., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2013). Wine Aroma Compounds in Grapes: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 202-218.
- Jackson, R. S. (2008). *Wine Science*. Elsevier Inc.
- Jackson, R. S. (2017). *Winetasting- A professional Handbook*. Academic Press.
- Kallithraka, S., Salaha, M., & Tzourou, E. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Journal of Food Chemistry*, 113: 500-505.
- Kotseridis, Y., S.Kallithraka, M.Kyraleou, Proxenia, N., & Makris, D. (2013). Browning rate of white wines: Dependence on antioxidant activity kinetics and changes in phenolic composition. *Ampelos*.
- London, W. (2016). *Systematic Approache to Tasting (SAT)*.

- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2011). *Lenninger Βασικές αρχές Βιοχημείας*. Broken Hill Publisher LTD.
- Ortega-Heras, M., González-SanJosé, M., & Beltrán, S. (2002). Aroma composition of wine studied by different extraction methods. *Analytica Chimica Acta*, 85-93.
- Pérez-Martín, F., Izquierdo-Cañas, P. M., Seseña, S., García-Romero, E., & Palop, M. L. (2014). Aromatic compounds released from natural precursors. *Eur Food Res Technol.*
- Pineau, B., Barbe, J., Leeuwen, C. v., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific "red" and "black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 3702-3708.
- Ribereau-Gayon, P., Y.Glories, Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of Enology, Volume 1- The microbiology of wine and vinifications* (2nd ed.). John Wiley & Sons, Ltd.
- Saenz-Najavas, M., Campo, E., L.Cullere, Fernandez-Zurbano, P., Valentin, D., & V.Ferreira. (2010). Effects of the nonvolatile matrix on the aroma perception of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 5574-5585.
- Sioumis, N., Kallithraka, S., Tsoutsouras, E., Makris, D., & Kefalas, P. (2005). Browning development in white wines: dependence on compositional parameters and impact on antioxidant characteristics. *European Food Research and Technology*, 220: 326 – 330.
- Waterman, P., & Mole, S. (1994). *Analysis of plant metabolites*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Βουκίδης, Ι. Ε. (2014). *Μελέτη αρωματικών συστατικών οίνων λευκών ποικιλιών με χρήση χρωματογραφίας-ολφακτομετρίας*. Μεταπτυχιακή διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Κέρκυρας, Π. ο. (n.d.). *www.corfuland.gr*. (Θ. Ι. Κυπριώτης, Ed.)
- Πανδή-Αγαθοκλή, Β. (n.d.). *www.corfuland.gr*. (α. Δελτίο Αναγνωστικής Εταιρίας Κέρκυρας 2012-2015, Επιμ.)
- Παπαδογιάννης, Ι. Ν., & Σαμανίδου, Β. Φ. (2011). *Ενόργανη χημική ανάλυση*. Θεσσαλονίκη: Πήγασος.

- Σουφλερός, Ε. Η. (2009). *Οίνος και αποστάγματα*. Θεσσαλονίκη.
- Σταύρακας, Δ. Ε. (2010). *Αμπελογραφία*. Εκδόσεις Ζήτη.
- Τσούνης, Χ. (2011). *Η προέλευση και η εξέλιξη των αρωματικών συστατικών του οίνου*.  
Καλαμάτα: ΤΕΙ Καλαμάτας.
- Χαρβαλιά, Α., & Τζούρου, Ε. Μ. (1982). Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων. *Ελληνικά Οινολογικά χρονικά*, 2, 1-77.
- Andujar-Ortiz, I., Moreno-Arribas, M., Martín-Álvarez, P., & Pozo-Bayón, M. (2009). Analytical performance of three commonly used extraction methods for the gas chromatography–mass spectrometry analysis of wine volatile compounds. *Journal of chromatography*, 7351–7357.
- Boubee, D. R., Cumsille, A., Pon, M., & Dubourdieu, D. (2002). *Am. J. Enol. Vitic*, 1-5.
- Calo, A., Stefano, R. D., Costacurta, A., & Calo, G. (1991). *Riv. Viticult. Enol.*
- Chapman, D., Thorngate, J., Matthews, M., & Ebeler, J. G. (2004). Yield effects on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine concentration in Cabernet Sauvignon using a solid phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52:5431-5435.
- Flanzy, M., & Poux. (1958). *Annals of Agricultural Sciences*, 377.
- Garde-Cerdán, A. I., Lorenzo, C., L. Alonso, G., & Salinas, M. (2010). Employment of near infrared spectroscopy to determine oak volatile compounds and ethylphenols in aged red wines. *Food Chemistry*, 823-828.
- Gayon, P. R., & Stonestreet, E. (1965). Determination of Anthocyanins in Red Wine. *Bulletin de la Societe Chimique de France*, 2649-2652.
- Gayon, P. R., & Stonestreet, E. (1966). Le dosage des tannins du vin rouge et la détermination de leur structure. *Chimie Analytique*, 188-196.
- Gayon, P. R., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2000). *Handbook of enology, Vol 2, The chemistry of wine stabilization and Treatments*. Wiley .

- González-Barreiro, a., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2013). Wine Aroma Compounds in Grapes: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 202-218.
- Jackson, R. S. (2008). *Wine Science*. Elsevier Inc.
- Jackson, R. S. (2017). *Winetasting- A professional Handbook*. Academic Press.
- Kallithraka, S., Salaha, M., & Tzourou, E. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Journal of Food Chemistry*, 113: 500-505.
- Kotseridis, Y., S.Kallithraka, M.Kyraleou, Proxenia, N., & Makris, D. (2013). Browning rate of white wines: Dependence on antioxidant activity kinetics and changes in phenolic composition. *Ampelos*.
- London, W. (2016). Systematic Approache to Tasting (SAT).
- Martin, G., & Brun, S. (1987). *Bull. OIV*, 671-672.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2011). *Lenninger Βασικές αρχές Βιοχημείας*. Broken Hill Publisher LTD.
- Ortega-Heras, M., González-SanJosé, M., & Beltrán, S. (2002). Aroma composition of wine studied by different extraction methods. *Analytica Chimica Acta*, 85-93.
- Pérez-Martín, F., Izquierdo-Cañas, P. M., Seseña, S., García-Romero, E., & Palop, M. L. (2014). Aromatic compounds released from natural precursors. *Eur Food Res Technol*.
- Pineau, B., Barbe, J., Leeuwen, C. v., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific "red" and "black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 3702-3708.
- Rapp, A., & Mandery, H. (1986). Wine aroma. *Experientia*, 873-884.
- Ribereau-Gayon, P., Y.Glories, Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of Enology, Volume 1- The microbiology of wine and vinifications* (2nd εκδ.). John Wiley & Sons, Ltd.

- Saenz-Najavas, M., Campo, E., L.Cullere, Fernandez-Zurbano, P., Valentin, D., & V.Ferreira. (2010). Effects of the nonvolatile matrix on the aroma perception of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 5574-5585.
- Schreier, P., Drawert, F., & Junker, A. (1976).
- Sioumis, N., Kallithraka, S., Tsoutsouras, E., Makris, D., & Kefalas, P. (2005). Browning development in white wines: dependence on compositional parameters and impact on antioxidant characteristics. *European Food Research and Technology*, 220: 326 – 330.
- Waterman, P., & Mole, S. (1994). *Analysis of plant metabolites*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Βουκίδης, Ι. Ε. (2014). *Μελέτη αρωματικών συστατικών οίνων λευκών ποικιλιών με χρήση χρωματογραφίας-ολφακτομετρίας*. Μεταπτυχιακή διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Κέρκυρας, Π. ο. (n.d.). *www.corfuland.gr*. (Θ. Ι. Κυπριώτης, Επιμ.)
- Πανδή-Αγαθοκλή, Β. (n.d.). *www.corfuland.gr*. (α. Δελτίο Αναγνωστικής Εταιρίας Κέρκυρας 2012-2015, Επιμ.)
- Παπαδογιάννης, Ι. Ν., & Σαμανίδου, Β. Φ. (2011). *Ενόργανη χημική ανάλυση*. Θεσσαλονίκη: Πήγασος.
- Σουφλερός, Ε. Η. (2009). *Οίνος και αποστάγματα*. Θεσσαλονίκη.
- Σταύρακας, Δ. Ε. (2010). *Αμπελογραφία*. Εκδόσεις Ζήτη.
- Τσούνης, Χ. (2011). *Η προέλευση και η εξέλιξη των αρωματικών συστατικών του οίνου*. Καλαμάτα: ΤΕΙ Καλαμάτας.
- Χαρβαλιά, Α., & Τζούρου, Ε. Μ. (1982). Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων. *Ελληνικά Οινολογικά χρονικά*, 2, 1-77.