

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ,ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΛΕΥΚΩΝ  
ΟΙΝΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΩΝ ΑΥΤΩΝ, ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΣΥΡΤΙΚΟ  
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΔΕΣΠΟΙΝΑ Π. ΚΕΧΑΓΙΑ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΤΣΕΡΙΔΗΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2019**



ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΚΕΧΑΓΙΑ

**ΘΕΜΑ : ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΩΝ  
ΛΕΥΚΩΝ ΟΙΝΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΩΝ ΑΥΤΩΝ, ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ  
ΑΣΥΡΤΙΚΟ ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ**

STUDY OF THE ORGANOLEPTIC CHARACTERISTICS OF WHITE WINES AND  
THEIR DISTILLATES, FROM THE VARIETY OF ASYRTIKO FROM SANTORINI

Τριμελής επιτροπή:

Κοτσερίδης Γεώργιος Αναπλ.Καθηγητής Γ.Π.Α.(Επιβλέπων)

Καλλίθρακα Σταματίνα Αναπλ.Καθηγήτρια

Παρασκευόπουλος Ιωάννης Καθηγητής

Επταμελής εξεταστική επιτροπή:

Κοτσερίδης Γ.Αν.Καθ. ΓΠΑ

Καλίθρακα Στ.Αν.Καθ. ΓΠΑ

Παρασκευόπουλος Ι.Καθ.ΠΑΔΑ

Χαρουτουνιάν Σ.Καθ.ΓΠΑ

Τσακίρης Α.Καθ.ΠΑΔΑ

Μανούρας Α.Καθ.Πρώην ΤΕΙ Λάρισας

Ταταρίδης Π.Επ.Καθ.ΠΑΔΑ

ΑΘΗΝΑ 2019



## Περίληψη

Η ποικιλία Ασύρτικο θεωρείται αν όχι η σημαντικότερη, μία από τις σημαντικότερες ελληνικές λευκές ποικιλίες. Παρότι γηγενής ποικιλία από το νησί της Σαντορίνης, η προσαρμοστικότητά της και οι μεγάλες δυνατότητες των παραγόμενων οίνων μετέδωσαν γρήγορα την καλλιέργειά της σε πολλές διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές εντός και εκτός του Ελλαδικού χώρου. Το μεγάλο ενδιαφέρον, εγχώριο και μή αποτέλεσε κίνητρο για την περαιτέρω μελέτη της ποικιλίας Ασύρτικο.

Οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν και διαμορφώνουν το αρωματικό και γευστικό προφίλ ενός οίνου ξεκινούν από το αμπέλι και συμπεριλαμβάνουν το έδαφος και το μικροκλίμα (terroir) και φτάνουν μέχρι τη διαδικασία οινοποίησης και ωρίμανσης.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετάται η επίδραση που μπορεί να έχουν στη διαμόρφωση του οργανοληπτικού χαρακτήρα ενός οίνου ή ενός αποστάγματος αυτού, η γεωγραφική περιοχή καλλιέργειας των σταφυλιών καθώς και η εφαρμοζόμενη οινοποιητική τεχνική. Για την επίδραση του terroir παρελήφθησαν σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από 3 διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές της Ελλάδας, το νησί της Σαντορίνης στις Κυκλάδες, την περιοχή της Δράμας στη Βόρεια Ελλάδα και την περιοχή της Νεμέας στην Πελοπόννησο από τους ίδιους αμπελώνες για 3 συνεχόμενες χρονιές. Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση του βαθμού ωριμότητας των σταφυλιών (συλλέγοντας τα σταφύλια σε 2 διαφορετικές τεχνολογικές ωριμότητες) από τις 3 διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές καθώς και η διαφοροποίηση της οινοποιητικής τεχνικής εφαρμόζοντας προζυμωτική κρουοεκχύλιση και κλασσική λευκή οινοποίηση.

Για τη μελέτη του αρώματος των παραγόμενων οίνων πραγματοποιήθηκαν οργανοληπτικές δοκιμές από εξειδικευμένο πάνελ κριτών και τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με τα αποτελέσματα του ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού των πτητικών συστατικών του αρώματος των οίνων μέσω αέριας χρωματογραφίας GC/O, GC-FID και GC/MS.

Προκειμένου να προσδιοριστούν τα πτητικά συστατικά του αρώματος αναπτύχθηκε μια μεθοδολογία επιλογής και σύγκρισης διαφορετικών μεθόδων εκχύλισης (στερεής SPE και υγρής-υγρής) με σκοπό την ανάκτηση και ποσοτικοποίηση 23 ελεύθερων συστατικών των οίνων.

Για την μελέτη της διαμόρφωσης της ποιότητας των οίνων στο χρόνο λόγω της επίδρασης της οξειδωτικής αμαύρωσης έγινε μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας αυτών με την μέθοδο της επιταχυνόμενης οξείδωσης καθώς και προσδιορισμός της ενεργότητας του ενζύμου τυροσινάση σε δείγματα σταφυλιών.

Για την επίδραση της διαφορετικής οινοποιητικής τεχνικής σε συνδιασμό με τη διαύγαση ή μή του γλεύκους, στο πρώτο μέρος της διδακτορικής διατριβής όπου

μελετάται η ποικιλία Ασύρτικο στο νησί της Σαντορίνης εφαρμόστηκαν δύο διαφορετικές οινοποιήσεις, αυτή της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης και της κλασσικής λευκής οινοποίησης σε γλεύκος διαυγές και σε γλεύκος με παρουσία οινολασπών.

Τέλος, εκτός από τη μελέτη των πτητικών συστατικών του αρώματος στους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο, πραγματοποιήθηκαν αποστάξεις στους μελετώμενους οίνους αλλά και σε οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο παλαιότερων ετών από τους ίδιους αμπελώνες ώστε να καταγραφούν τα πτητικά συστατικά που περνάνε μέσω της απόσταξης στο απόσταγμα και να πραγματοποιηθεί σύγκριση μεταξύ αποσταγμάτων φρέσκων και παλαιωμένων οίνων.

Οι περαματισμοί σε Σαντορίνη Δράμα και Νεμέα επιβεβαίωσαν την υπεροχή των οίνων προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης συγκριτικά με εκείνων της κλασσικής οινοποίησης, ενώ από την αξιολόγηση της επίδρασης της ωρίμανσης στην ποιότητα των οίνων προέκυψε ότι και από τις 3 περιοχές οι οίνοι πρώιμων σταφυλιών (πρώιμης ωρίμανσης) βαθμολογήθηκαν υψηλότερα στην οργανοληπτική αξιολόγηση σε σχέση με τους οίνους όψιμων σταφυλιών με εξαίρεση τον οίνο Σαντορίνης.

Σε ότι αφορά στη μελέτη των αποσταγμάτων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο φάνηκε ότι η Νεμέα και η Δράμα έδωσαν αποστάγματα με αρώματα εσπεριδοειδών και φρούτων, ενώ η Σαντορίνη πιο γλυκά φρουτώδη αρώματα. Από την οργανοληπτική μελέτη των οίνων προέκυψε ότι το Ασύρτικο της Σαντορίνης και της Νεμέας δίνει κατά βάση αρώματα εσπεριδοειδή, λεμόνι -κίτρο και λευκά άνθη, ενώ της Δράμας φρουτώδη τροπικά αρώματα και ενώ στο απόσταγμα η Νεμέα εξακολουθεί να κρατάει τα αρώματα εσπεριδοειδών, το απόσταγμα της Δράμας βγάζει αρώματα εσπεριδοειδών και της Σαντορίνης φρουτώδη. Συγκρίνοντας αποστάγματα οίνων ίδιας προέλευσης, παλαιωμένων και φρέσκων, φάνηκε η υπεροχή του αποστάγματος του παλαιωμένου οίνου στην πλειοψηφία των πτητικών συστατικών του αρώματος (ποιοτική και ποσοτική καταγραφή) έναντι του νεώτερου αυτού.

Ο προσδιορισμός του ενζύμου τυροσινάση σε δείγματα σταφυλιού της ποικιλίας Ασύρτικο έδειξε ότι ελαφριά υπερωρίμανση θα μπορούσε να μειώσει τυχόν οξειδώσεις των φαινολικών συστατικών του Ασύρτικου Σαντορίνης ενώ σε ότι αφορά στην επίδραση της περιοχής ή της οινοποιητικής τεχνικής φαίνεται ότι οι οίνοι της Σαντορίνης εμφανίζουν μία τάση για μεγαλύτερη οξείδωση ενώ οι οίνοι της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης και των τριών περιοχών έδειξαν τάση για περισσότερη και γρηγορότερη οξείδωση σε σχέση με τους οίνους κλασσικής οινοποίησης.

**Επιστημονικό πεδίο :** Οινολογία **Λέξεις κλειδιά :** πτητικά αρωματικά συστατικά, λευκοί οίνοι, terroir, SPE, GC/MS, Ασύρτικο

## Abstract

The variety of Asyrtiko is considered if not the most important, one of the most important Greek white varieties. Although native variety from the island of Santorini, her adaptability and her great potentials in the produced wines have spread her cultivation in many different geographic regions inside and outside of Greece. The great interest, domestic and no-domestic was an incentive to further study the variety of Asyrtiko.

The factors that influence and shape the aromatic and flavory profile of a wine begin from the vineyard including the soil and the micro-climate (terroir) and reaches the vinification process and the maturation.

This PhD dissertation examines the effect that may have on the formation of the organoleptic character of a wine or a distillate thereof, the geographic region of cultivation of grapes as well as the applied wine-making technique.

For the effect of terroir, Asyrtiko grapes were collected from three different geographical regions of Greece, the island of Santorini in the Cyclades, the region of Drama in Northern Greece and the region of Nemea in the Peloponese for 3 consecutive years.

Then, the effect of grape maturity degree was studied (harvesting the grapes on two different technological maturities) from the three different geographical regions, as well as the diversification of the winemaking technique by pre-fermentation cryoextraction and classic white vinification.

For the study of the produced wines aroma, organoleptic tests were conducted by trained panel of judges and the results were correlated with the results from the qualitative and quantitative determination of the volatile compounds of the wine aroma by means of GC/O, GC-FID and GC/MS gas chromatography.

In order to determine the volatile compounds of the aroma, a methodology for selection and comparison of different extraction methods (solid SPE and liquid-liquid) was developed, in order to recover and quantitate 23 free compounds of wine.

For the study of the evolution over time, the effect of oxidative browning on wines was measured by their oxidative capacity by the accelerated oxidation method as well as determination of the activity of tyrosinase enzyme in grape samples.

For the effect of vinification technique in combination with the clarification or not of the must, in the first part of this PhD dissertation where the variety of Asyrtiko was studied on the island of Santorini, two different vinification techniques were applied,

the pre-fermentation cryoextraction and the classic white wine vinification in clear must and in must with wine lees.

Finally, in addition to the study of the volatile compounds of the aroma in wines from the Asyrtiko variety, distillations of the produced wines were held, as well as from wines of previous years from the same vineyards, in order to record the volatile compounds that pass through the distillation process to the distillate and to compare between distillates of fresh and aged wines.

The experiments in Santorini, Drama and Nemea confirmed the superiority of the wines produced by pre-fermentation cryoextraction compared to those of classic white vinification while from the evaluation by organoleptic tasting of the effect of maturity of the grapes to the quality of the wines, wines from Drama and Nemea were graded higher for the wines produced from early grapes compared to those from mature grapes but not for those from Santorini.

The study of the distillates of wines showed that Nemea and Drama gave distillates with aromas of citrus fruits and fruits respectively while Santorini more sweet fruity aromas. From the organoleptic tasting of the Asyrtiko wines from Santorini and Nemea the aromas were citrus fruits (lemon and citrus) and white flowers while Drama wines had aromas of tropical fruits. Their distillates showed that Nemea kept the citrus aromas while Drama had more citrus and Santorini fruity. When comparing distillates of wines from the same origin but of different year (fresh and mature), the distillate of the mature wine was richer in the majority of volatile constituents of the aroma (qualitative and quantitative recording).

The determination of the tyrosinase enzyme in Asyrtiko grapes showed that a bit of maturation could reduce oxidation of the phenolic compounds of the Asyrtiko from Santorini while when studying the effect of the area or the vinification technique, the wines from Santorini showed bigger tendency for oxidation while the wines produced by pre-fermentation cryoextraction showed bigger and faster oxidation when compared to wines produced by classic white vinification.

**Scientific field** : Oenology

**Key words** : volatile aromatic compounds, white wines, terroir, SPE, GC/MS, Asyrtiko





## Ευχαριστίες

Ολοκληρώνοντας αυτή τη διδακτορική διατριβή εκπληρώνω ένα όνειρο ζωής .Ηταν μια διαδικασία η οποία διήρκησε πάρα πολλά χρόνια μέσα στα οποία παντρεύτηκα και απέκτησα τις δύο υπέροχες κόρες μου δουλεύοντας συγχρόνως ως Εργαστηριακή συνεργάτης στο πρώην ΤΕΙ Αθήνας και νυν Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής (ΠΑΔΑ).

Ξεκινώντας θα ήθελα να ευχαριστήσω μέσα από την καρδιά μου τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ.Γιώργο Κοτσερίδη για την υπομονή του καθώς και την πολύτιμη βοήθειά του όλον αυτόν τον καιρό. Με την καθοδήγησή του κατάφερα να προσπεράσω τις όποιες δυσκολίες παρουσιάζονταν κάθε φορά στην πορεία της έρευνας. Ειδικά σε ότι αφορά στη συγγραφή της διδακτορικής διατριβής αλλά και των δημοσιεύσεων που κάναμε μαζί, χάρη στις συμβουλές και κατευθύνσεις του έμαθα τον επιστημονικό τρόπο αποτύπωσης δεδομένων.

Ένα τεράστιο ευχαριστώ στον Καθηγητή Οινολογίας του ΠΑΔΑ και Πρόεδρο του Τμήματος Επιστήμης Οίνου Αμπέλου και Ποτών κ.Γιάννη Παρασκευόπουλο χωρίς την συμβολή του οποίου δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί αυτό το διδακτορικό καθώς ήταν εκείνος που μου διέθεσε τον οиноποιείο του ΓΑΙΑ ΟΙΝΟΠΟΙΗΤΙΚΗ στο νησί της Σαντορίνης μαζί με όλον τον εξοπλισμό και τις πρώτες ύλες που χρειάστηκα ενώ φρόντισε για την προμήθεια των σταφυλιών μας για όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

Ευχαριστώ θερμά την Αναπληρώτρια καθηγήτρια κ.Σταματίνα Καλλίθρακα για τη συμμετοχή της στην τριμελή επιτροπή μου και την προθυμία της για βοήθεια όποτε αυτή χρειάστηκε. Η γλυκύτητα του χαρακτήρα της και η καλή της διάθεση είναι στοιχεία που την διακρίνουν.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου για τη συμμετοχή τους στην διαδικασία κρίσης της διδακτορικής διατριβής μου, η παρουσία των οποίων είναι ιδιαίτερα τιμητική.

Για την ηθική, ψυχολογική αλλά και επιστημονική υποστήριξη στο κομμάτι του οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων μου θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή κ.Αργύρη Τσακίρη ο οποίος ήταν και εκείνος που με παρακίνησε να συνεχίσω τις σπουδές μου σε επίπεδο διδακτορικού μετά την απόκτηση του μεταπτυχιακού μου τίτλου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την Νίκη Προξενιά και την Ουρανία Καλαντζή οι οποίες με βοήθησαν στη διεξαγωγή των πειραμάτων και την διαχείριση των δυσκολιών που προέκυπταν στα εργαστήρια Οινολογίας και ενζυμολογίας του

Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η προθυμία τους καθώς και αγάπη τους για τη δουλειά τους με βοήθησαν να αντιμετωπίσω κάθε πρακτική δυσκολία που παρουσιαζόταν.

Να ευχαριστήσω τον οινολόγο κ.Νίκο Καρατζά ο οποίος μου διέθεσε τα σταφύλια από τον αμπελώνα του κτήματος Παυλίδη στην περιοχή της Δράμας για 3 οινοποιητικές περιόδους καθώς και τους συναδέλφους μου καθηγητές και εργαστηριακούς συνεργάτες στο ΠΑΔΑ κ.Παναγιώτη Ταταρίδη, κ.Αντάν Σεχάντε και κ.Αλεξάνδρα Ευαγγέλου για την πολύτιμη βοήθειά τους στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων μου καθώς και στην συγγραφή της διατριβής μου.

Ευχαριστώ μέσα απο την καρδιά μου τον πατέρα μου για την πολύτιμη βοήθειά του στο κομμάτι επεξεργασίας αποτελεσμάτων αλλά και χρήσης εφαρμογών του ηλεκτρονικού υπολογιστή καθώς και για την ενθάρρυνσή τους, μαζί με την μητέρα μου, στο να προσπεράσω τις εμφανιζόμενες δυσκολίες.

Τέλος , ένα μεγάλο ευχαριστώ στον άντρα μου για την αμέριστη κατανόηση του όλα αυτά τα χρόνια και την πίστη του σε εμένα .

*στους γονείς μου,  
στο συζυγό μου  
και στα δύο μου κορίτσια  
Δωροθέα και Ηλέκτρα*



## Περιεχόμενα

Περίληψη.....	I
Abstract.....	III
Ευχαριστίες.....	VI
Περιεχόμενα.....	IX
Θεωρητικό μέρος.....	1
Εισαγωγή.....	2
Κεφάλαιο 1.....	6
1.1 Το Ασύρτικο, οι περιοχές του και οι εφαρμοζόμενες οινοποιητικές πρακτικές.....	6
1.2 Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά και φαινολογικά στάδια.....	7
1.3 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.....	7
1.4 Παρατηρήσεις για την ποικιλία.....	8
1.5 Περιοχές καλλιέργειας του Ασύρτικου που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή.....	9
1.5.1 Σαντορίνη.....	9
1.5.2 Νεμέα.....	11
1.5.3 Δράμα.....	12
<b>Κεφάλαιο 2 Οινοποιητικές τεχνικές .....</b>	<b>13</b>
2.1 Λευκή οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση.....	13
2.2 Σύγκριση κλασικής οινοποίησης και προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης.....	16
2.3 Απολάσπωση.....	17
2.4 Terroir.....	19
<b>Κεφάλαιο 3. Πτητικά συστατικά του αρώματος.....</b>	<b>21</b>
3.1 Πτητικά συστατικά που συμμετέχουν στο άρωμα του οίνου και επίδραση της γεωγραφικής περιοχής.....	21
3.2 Πτητικά συστατικά του αρώματος που προέρχονται από το σταφύλι .....	23
3.2.1 Τερπένια.....	23
3.2.2 Κετόνες.....	26
3.2.3 Αλκοόλες.....	30
3.2.4 Γλυκοζίτες οσμωρών πτητικων ενώσεων.....	30
3.2.5 Μεθόξυ Πυραζίνες.....	31
3.3 Πτητικά συστατικά του αρώματος που δημιουργούνται κατά τη ζύμωση.....	33
3.3.1 Αιθανόλη.....	33
3.3.2. Ανώτερες αλκοόλες.....	33

3.3.3 Πτητικά οξέα.....	34
3.3.4 Πτητικές φαινολικές ενώσεις.....	34
3.3.5 Θειούχες ενώσεις .....	35
3.3.6 Εστέρες.....	35
3.3.7 Αλδεΐδες.....	40
3.3.8 Ακετάλες.....	41
3.3.9 Λακτόνες/ Φουρανόνες.....	41
3.3.10 Πτητικές φαινόλες που δημιουργούνται κατά την οινοποίηση.....	42
<b>Κεφάλαιο 4 Μέθοδοι κατεργασίας δειγμάτων για τον προσδιορισμό πτητικών συστατικών του αρώματος σε οίνο.....</b>	<b>43</b>
4.1 Γενικά.....	43
4.1.1 Υγρή- υγρή εκχύλιση.....	43
4.1.2 Εκχύλιση στερεής φάσης solid phase extraction (SPE).....	45
4.1.3 Solid phase microextraction (SPME).....	45
4.1.4 Static headspace technique.....	46
4.1.5 Dynamic headspace analysis.....	46
4.1.6 Απόσταξη.....	46
4.2 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των μεθόδων εκχύλισης.....	46
<b>Κεφάλαιο 5. Οργανοληπτικός έλεγχος.....</b>	<b>48</b>
5.1 Οι αισθήσεις που λαμβάνουν μέρος κατά τη δοκιμασία.....	49
5.2 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που προσδιορίζονται στη διαδικασία εξέτασης .....	50
5.3 Μέθοδοι οργανοληπτικού ελέγχου.....	50
<b>Κεφάλαιο 6. Ενζυματική οξείδωση του οίνου - ένζυμα οξείδωσης .....</b>	<b>52</b>
6.1 Ανίχνευση και προσδιορισμός της PPOs.....	53
<b>Κεφάλαιο 7. Παραλαβή αποσταγμάτων οίνου.....</b>	<b>55</b>
<b>Υλικά και Μέθοδοι.....</b>	<b>58</b>
<b>Κεφάλαιο 8.....</b>	<b>59</b>
8.1 Αναλύσεις στο σταφύλι.....	59
8.1.1 Εκχύλιση και προσδιορισμός του ενζύμου τυροσινάση στο σταφύλι.....	59
8.2 Αναλύσεις οίνων.....	64
8.2.1 Απομόνωση και αξιολόγηση της οσμής πτητικών συστατικών του αρώματος των οίνων με αέρια χρωματογραφία GC/O (Gas Chromatography/Olfactometry analysis GC/O).....	64
8.2.2. Κλασσικές αναλύσεις οίνων.....	65
8.2.3.Μελέτη κι επιλογή μεθόδου εκχύλισης-απομόνωσης πτητικών συστατικών.....	65
8.2.3.α. Εκχύλιση σε στερεά φάση (solid phase extraction,SPE).....	65
8.2.3.β. Υγρή-υγρή εκχυλιση (liquid-liquid extraction).....	67

8.2.4 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών συστατικών των οίνων με GC/FID- Μέθοδος εκχύλισης.....	68
8.2.5. Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών συστατικών των οίνων με GC/MS- Μέθοδος εκχύλισης.....	68
8.2.6 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων.....	70
8.2.6.1 Μέθοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης.....	70
8.2.6.2 Μέθοδος DPPH.....	71
8.2.6.3 Μέτρηση ολικών πολυφαινόλων - Μέθοδος Folin Ciocalteu.....	74
8.3. Οργανοληπτικός έλεγχος των οίνων και στατιστική επεξεργασία αυτών.....	74
8.3.1 Οργανοληπτικές αναλύσεις οίνων 2004,2005,2006.....	74
8.3.2 Δείγματα οίνων 2013.....	75
8.4. Επίδραση της γεωγραφικής προέλευσης και του επιπέδου ωρίμανσης στη χημική σύσταση οίνων ποικιλίας Ασύρτικου.....	78
8.4.1 Επιλογή σταφυλιών και συνθηκών οινοποίησης.....	78
8.4.2 Χαρακτηριστικά των προς μελέτη αμπελώνων.....	80
8.4.3 Συνθήκες ζύμωσης.....	81
8.5. Επίδραση οινοποιητικής τεχνικής στο Ασύρτικο Σαντορίνης.....	82
8.6. Μελέτη αποστάξης οίνων Ασύρτικου.....	84
<b>Αποτελέσματα και συζήτηση.....</b>	<b>89</b>
<b>Κεφάλαιο 9 Αποτελέσματα προσδιορισμού τυροσινάσης σε δείγματα σταφυλιού.....</b>	<b>90</b>
<b>Κεφάλαιο 10 Απομόνωση πτητικών συστατικών από οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο και ταυτοποίηση με GC/O.....</b>	<b>92</b>
10.1 Αποτελέσματα.....	92
10.2 .Ανάπτυξη μεθοδολογίας απομόνωσης πτητικών συστατικών του αρώματος με SPE- GC FID.....	96
10.3 Αξιολόγηση της μεθόδου.....	102
10.4 Ποσοτικοποίηση πτητικών συστατικών-πρότυπες καμπυλες.....	104
10.5. Επίδραση της προζυμωτικής επεξεργασίας στα πτητικά συστατικά των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο από το νησί της Σαντορίνης με SPE- GC FID.....	105
10.6 Ανάπτυξη μεθοδολογίας απομόνωσης πτητικών συστατικών του αρώματος με τη μέθοδο υγρής-υγρής εκχύλισης- GC FID.....	115
10.7 Επίδραση της προζυμωτικής επεξεργασίας στα πτητικά συστατικά των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο από το νησί της Σαντορίνης με τη μέθοδο υγρής υγρής εκχύλισης- GC FID.....	120
10.8 Σύγκριση ανάκτησης των δύο μεθόδων εκχύλισης (στερεής SPE και υγρής - υγρής) στα πτητικά συστατικά του αρώματος των οίνων.....	124
<b>Κεφάλαιο 11 Επίδραση οινοποιητικής τεχνικής στο Ασύρτικο Σαντορίνης.....</b>	<b>125</b>
11.1 Παρακολούθηση αλκοολικών ζυμώσεων.....	134



11.2. Αποτελέσματα χημικών αναλύσεων.....	128
11.3. Οργανοληπτική εκτίμηση των οίνων.....	131
<b>Κεφάλαιο 12 Παρακολούθηση αλκοολικών ζυμώσεων γλευκών της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενων από 3 διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, Σαντορίνη, Δράμα και Νεμέα για 2 συνεχόμενες χρονιές 2012 και 2013 - κλασικές αναλύσεις οίνων.....</b>	<b>138</b>
12.1 Περίοδος 2012.....	138
12.2 Περίοδος 2013.....	143
<b>Κεφάλαιο 13 Αποτελέσματα οργανοληπτικών δοκιμών των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο από 3 διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, Σαντορίνη, Δράμα και Νεμέα για 2 συνεχόμενες χρονιές 2012 και 2013.....</b>	<b>149</b>
13.1 Περίοδος 2012.....	149
13.2 περίοδος 2013.....	153
<b>Κεφάλαιο 14 Έλεγχος οξειδωτικής σταθερότητας στους οίνους.....</b>	<b>161</b>
14.1 Τέστ επιταχυνόμενης οξείδωσης.....	161
14.2 Αποτελέσματα για τους οίνους του 2012.....	162
14.3 Αποτελέσματα για τους οίνους του 2013.....	167
14.4 Αποτελέσματα προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων του 2012.....	173
14.5 Αποτελέσματα προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων του 2013.....	176
14.6 Αποτελέσματα πολυφαινολικού περιεχομένου των οίνων του 2012 που υποβλήθηκαν στο τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης.....	179
14.7 Αποτελέσματα πολυφαινολικού περιεχομένου των οίνων του 2013 που υποβλήθηκαν στο τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης.....	181
<b>Κεφάλαιο 15 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών του αρώματος στους οίνους του 2012 και 2013 με την μεθοδο GC MS.....</b>	<b>185</b>
15.1. Ποιοτικός προσδιορισμός στους οίνους του 2012.....	185
15.2 Ποσοτικός προσδιορισμός στους οίνους του 2012.....	189
15.3. Ποιοτικός προσδιορισμός στους οίνους του 2013.....	195
15.4. Ποσοτικός προσδιορισμός στους οίνους του 2013.....	200
<b>Κεφάλαιο 16. Μεθοδολογία GC MS για τη μελέτη αποσταγμάτων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο.....</b>	<b>206</b>
16.1 Ποιοτική καταγραφή πτητικών συστατικών του αρώματος.....	206
16.2 Ποσοτική καταγραφή πτητικών συστατικών του αρώματος.....	210
<b>Κεφάλαιο 17. Συμπεράσματα και προοπτικές.....</b>	<b>211</b>
<b>Αναφορές.....</b>	<b>217</b>

## **ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ποικιλία *Vitis Vinifera L.c.v.* Ασύρτικο θεωρείται μία από τις πιο ενδιαφέρουσες ελληνικές λευκές ποικιλίες και προέρχεται από το νησί της Σαντορίνης. Είναι άριστα προσαρμοσμένη στο ηφαιστειογενές έδαφος του νησιού και ιδιαίτερα στις κλιματολογικές συνθήκες του, ενώ λόγω του μεγάλου ενδιαφέροντος που προκαλεί, πολλοί αμπελουργοί προσπάθησαν να την προσαρμόσουν και σε άλλα είδη εδαφών με διαφορετικά χαρακτηριστικά και με διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες σε όλη την Ελλάδα, αλλά και στο εξωτερικό. Το ηφαιστειογενές έδαφος του νησιού της Σαντορίνης, η έλλειψη βροχής κατά τη διάρκεια του έτους, η ομίχλη που προέρχεται από τη θάλασσα, ο ισχυρός άνεμος κατά τη διάρκεια των καλοκαιρινών μηνών καθώς και οι χαμηλής παραγωγής αμπελώνες, ηλικίας 300 ετών, φαίνεται να είναι μερικά από τα μοναδικά χαρακτηριστικά στα οποία αναπτύσσεται η συγκεκριμένη ποικιλία. Επίσης ένα από τα μοναδικά χαρακτηριστικά του Ασύρτικου είναι ότι δεν μειώνεται η οξύτητα του ακόμα και αν τα σταφύλια του φτάσουν σε υψηλή ωρίμανση με κατά συνέπεια την υψηλή συγκέντρωση σακχάρων. Στην Ηπειρωτική Ελλάδα όπου η θερμοκρασία είναι χαμηλότερη κατά τη διάρκεια του χειμώνα, η βροχόπτωση είναι υψηλότερη ενώ το καλοκαίρι έχει ηπιότερους ανέμους η παραγωγή είναι μεγαλύτερη και ενώ μπορεί να δίνει κρασιά με λιγότερο σώμα έχει παράλληλα πιο φρουτώδη αρώματα, ενώ έχει ήδη κατακτήσει την Μακεδονία, την Στερεά Ελλάδα και την Πελοπόννησο.

Δεδομένου ότι ο οίνος είναι ένα πολύπλοκο μείγμα οργανικών και ανόργανων ενώσεων, η σύνθεσή του επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες οι οποίοι αρχίζουν από το αμπέλι μέχρι και την αλκοολική ζύμωση και έχουν σχέση με το περιβάλλον δηλαδή το έδαφος, το κλίμα, την ποικιλία και την οινολογική πρακτική. Οι περιβαντολογικοί παράγοντες (κλίμα-έδαφος-τοποθεσία) συνήθως περιγράφονται με τον γαλλικό όρο «terroir» και επηρεάζουν αρκετά την ποιότητα του σταφυλιού, καθώς και το αρωματικό προφίλ του, ενώ είναι πολύ σημαντικοί σε έναν οίνο μιάς και συμβάλλουν στην ποιότητα του τελικού προϊόντος. Αυτό σε σημαντικό βαθμό οφείλεται στην συγκέντρωση των διαφόρων πτητικών ενώσεων κυρίως στις αλκοόλες, εστέρες, τερπένια, οξέα, αλδεΐδες και άλλων συστατικών που υπάρχουν στα σταφύλια ή σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης ή κατά την διάρκεια της ωρίμανσης. Όλες αυτές οι ενώσεις είναι υπεύθυνες για την οσμή και το άρωμα του οίνου.

Σημαντικό ρόλο όμως στην διαμόρφωση του οργανοληπτικού χαρακτήρα ενός οίνου παίζει και το είδος της οινοποίησης στην οποία υπόκεινται.

Η παρούσα διατριβή αφορά σε κάποιους από τους ανωτέρω παράγοντες και στο κατα πόσο κάθε ένας από αυτούς μπορεί να επηρεάσει το χαρακτήρα του τελικού προϊόντος, ενός οίνου της ποικιλίας Ασύρτικο. Πιο συγκεκριμένα, η επίδραση της

διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης των σταφυλιών (terroir), η μέθοδος οινοποίησης : α) κλασική οινοποίηση β) προζυμωτική κρυσεκχύλιση, οι συνθήκες διεξαγωγής της αλκοολικής ζύμωσης : α) ζύμωση με τις λάσπες β) ζύμωση χωρίς την παρουσία λασπών είναι κάποιες μεταβλητές μεταξύ αυτών.

Η μελέτη συνεπώς του αρώματος οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο που έχουν παραχθεί διαφοροποιώντας τις ανωτέρω παραμέτρους αποτελεί απαραίτητη γνώση για τους οινολόγους τόσο ως εργαλείο αξιολόγησης των ποικιλιακών οίνων, όσο και ως ένα σημαντικό βοήθημα για την επιλογή των τεχνικών που θα εφαρμόσουν κατά την διαδικασία της οινοποίησης. Τέλος, μελετήθηκε η παραγωγή αποσταγμάτων οίνων από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο καθώς και το αρωματικό προφίλ αυτών.

Το άρωμα του Ασύρτικου χρίζει ενδελεχούς μελέτης μιας και δεν υπάρχουν προηγούμενες μελέτες πάνω στην συγκεκριμένη ποικιλία, μέσω αναλύσεων συνδιασμένων με την βοήθεια της οργανοληπτικής δοκιμής.

Για την μελέτη του αρώματος απαιτείται :

1. Ο προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων των οίνων οι οποίες και διαμορφώνουν το άρωμα αυτού, ενώ ως πιο διαδεδομένη τεχνική για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των συστατικών αυτών χρησιμοποιείται η αέρια χρωματογραφία σε συνδιασμό με την φασματομετρία μάζας και την ολφακτομετρία (Gas Chromatography/Mass Spectrometry, GC/MS, GCO).
2. Η επιλογή κατάλληλης αναλυτικής μεθόδου μιας και για την ανάλυση του οίνου επιβάλλεται η κατεργασία αυτού μέσω κάποιας μεθόδου εκχύλισης ικανής να προσδιορίσει τις πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις των πτητικών αρωματικών ουσιών.

Αντικείμενο του **πρώτου μέρους** της παρούσας διατριβής αποτέλεσε:

- Η σύγκριση μεταξύ δύο μεθόδων εκχύλισης (στερεής SPE και υγρής-υγρής) σε ότι αφορά στην ανάκτηση και ποσοτικοποίηση 23 ελεύθερων ουσιών από οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο από το νησί της Σαντορίνης για 3 συνεχόμενες χρονιές.
- Η διαφοροποίηση των παραγόμενων οίνων ως προς τον οργανοληπτικό τους χαρακτήρα μέσω οργανοληπτικής δοκιμής από εξειδικευμένο πάνελ κριτών και συσχέτισμό των αποτελεσμάτων αυτών με εκείνα των ανωτέρω αναλύσεων.
- Η επίδραση της οινοποιητικής πρακτικής στα πτητικά συστατικά των παραγόμενων οίνων και ο συσχετισμός των λαμβανόμενων αποτελεσμάτων με τις διαφορετικές τεχνικές οινοποίησης του εκάστωτε οίνου καθώς και η εφαρμογή τους στην παραγωγική διαδικασία.

- Πραγματοποιήθηκε επίσης προσδιορισμός της ποσότητας του ενζύμου τυροσινάση, υπεύθυνο για τις οξειδωτικές αλλοιώσεις του σταφυλιού, του γλεύκους και τελικά του οίνου.

Για να μελετηθεί το αρωματικό δυναμικό της ποικιλίας Ασύρτικο, πέρα από τα γεωγραφικά όρια της Σαντορίνης, μιάς και παρατηρείται ολοένα και εκτενέστερη καλλιέργεια της εν λόγω ποικιλίας σε διάφορα σημεία της Ελλάδας (και όχι μόνο), το **δεύτερο μέρος** της παρούσας ερευνητικής εργασίας εστίασε στην μελέτη του αρωματικού προφίλ της ποικιλίας που διαμορφώνεται υπό την επίδραση των γεωγραφικών παραμέτρων καλλιέργειας, ωρίμανσης και συγκομιδής της.

Για το σκοπό αυτό:

- Επιλέχθηκαν εκτός της Σαντορίνης δύο ακόμη αμπελώνες καλλιέργειας της ποικιλίας Ασύρτικο στη βόρεια και νότια ηπειρωτική χώρα από όπου και συλλέχθηκαν σταφύλια τα οποία οινοποιήθηκαν με τις ίδιες συνθήκες κατά την διάρκεια δύο οινοποιητικών περιόδων.
- Μελετήθηκαν ποιοτικά και ποσοτικά οι πτητικές ενώσεις του αρώματος των παραγόμενων οίνων με εφαρμογή υγρής-υγρής εκχύλισης και χρωματογραφική ανάλυση με GC/MS.
- Πραγματοποιήθηκε οργανοληπτική δοκιμή των οίνων που παρήχθησαν με σκοπό το συσχετισμό των αποτελεσμάτων αυτής με εκείνα που λήφθηκαν με την χρωματογραφική ανάλυση.
- Έγινε μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων με την μέθοδο της επιταχυνόμενης οξείδωσης.
- Πραγματοποιήθηκε απόσταξη και εκχύλιση των αποσταγμάτων οίνων διαφορετικών ετών καθώς και οίνων ποικιλίας Ασύρτικο από τους ίδιους αμπελώνες παλαιωτέρων ετών για σύγκριση των πτητικών συστατικών του αρώματος στα αποστάγματα αυτών με GC/MS.

Η πρακτική εφαρμογή της διατριβής αυτής εστιάζει στο ότι παρέχονται σημαντικές πληροφορίες για το αρωματικό προφίλ της συγκεκριμένης ποικιλίας σε συνδιασμό με τις διαφορετικές οινοποιητικές μεθόδους και το πώς αυτές επηρεάζουν τον αρωματικό χαρακτήρα του τελικού προϊόντος.

Με την πραγματοποίηση παρόμοιων μελετών, μπορεί να περιγραφεί και να αξιολογηθεί πλήρως το αρωματικό δυναμικό της ελληνικής ποικιλίας Ασύρτικο και να χρησιμοποιηθεί σαν εργαλείο για την ανάδειξή της ως μίας από τις πολυτιμότερες και σπουδαιότερες ελληνικές ποικιλίες με μία ξεχωριστή θέση στις διεθνείς αγορές μιάς και η καλλιέργειά της έχει ήδη ξεπεράσει τα σύνορα του Ελλαδικού χώρου.



## Κεφάλαιο 1

### 1.1 Το Ασύρτικο, οι περιοχές του και οι εφαρμοζόμενες οινοποιητικές πρακτικές

Πρόκειται για μία πολυδύναμη και πολλά υποσχόμενη γηγενή ποικιλία, με δυνατότητα προσαρμογής σε διάφορα οικολογικά περιβάλλοντα, η οποία μπορεί να δώσει πολλούς τύπους οίνων και με ιδιαίτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά ανάλογα με την περιοχή καλλιέργειάς της. Αποτελεί μία από τις ευγενείς λευκές ποικιλίες της χώρας και έχει αξιολογηθεί από πολλούς ξένους ειδικούς ως η σημαντικότερη λευκή μη μοσχάτη ελληνική ποικιλία. Είναι φυτεμένη σ'ολόκληρο τον Ελλαδικό χώρο με εξαιρετικά αποτελέσματα τόσο στη νησιωτική όσο και στην ηπειρωτική Ελλάδα. Το γλεύκος που λαμβάνεται από τα σταφύλια της ποικιλίας *Ασύρτικο* είναι πλούσιο σε σάκχαρα και περιέχει αρκετά οξέα και αρκετές, για λευκή ποικιλία ταννοειδείς ουσίες, γι' αυτό χρειάζεται προσοχή στην οινοποίηση προς αποφυγή οξειδώσεων. Ο συνδιασμός της με τις ποικιλίες *Αθήρι* και *Ροδίτη* δίνει το λευκό ξηρό οίνο Ονομασίας Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας "Πλαγιές Μελίτων". Η ποικιλία μόνη της ή σε συνδιασμό με μικρές ποσότητες των ποικιλιών *Αθήρι* και *Αηδάνι* δίνει τους ξηρούς και γλυκούς οίνους ΟΠΑΠ "Σαντορίνη". Από την ίδια ποικιλιακή σύνθεση παράγεται και ο γλυκός οίνος από λιαστά σταφύλια (λιαστός και *Vin de liqueur*) με την επωνυμία *Vinsanto* (ΦΕΚ 179/B/19-02-2002) αναγνωρισμένη με κανονισμό της Ε.Ε ως Ονομασία Προέλευσης συνώνυμη της ΟΠΑΠ "Σαντορίνη". Σε συνδιασμό με τις ποικιλίες *Μονεμβασιά* (τουλάχιστον στο 51%) και *Κυδωνίτσα* υπεισέρχεται στην ποικιλιακή σύνθεση του οίνου Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης "Μονεμβασιά - Malvasia". Επίσης συμμετέχει στην παραγωγή πλέον των 20 λευκών ξηρών Τοπικών οίνων όπως "Αγιορείτικος", "Αναβύσσου", "Αττικός", "Δράμας", "Δωδεκανησιακός", "Επανομή", "Παγγαίου", "Παιανίτικος", "Θηβαϊκός", "Πλαγιές Βερτίσκου", "Κορινθιακός", "Χαλκιδικής", Συριανός", "Κυκλάδων", "Κώς" κ.α. (Σταύρακας, 2010).

Το Ασύρτικο είναι μια σπάνια λευκή ποικιλία παγκόσμιας κλάσης και μία από τις σπουδαιότερες ποικιλίες που απαντώνται στη λεκάνη της Μεσογείου. Προέρχεται από τη Σαντορίνη (Ασύρτικο-Σαντορίνης), αλλά εξαπλώθηκε σε όλη την Ελλάδα και έγινε, από άποψη ποιότητας, μία από τις πιο σημαντικές γηγενείς ποικιλίες.

Θεωρείται ποικιλία γηγενής της Σαντορίνης, όπου καλύπτει περίπου το 80% του αμπελώνα της, ενώ καλλιεργείται σποραδικά και σε άλλα νησιά των Κυκλάδων. Η συνολική έκταση αμπελώνων στη χώρα μας είναι περίπου 17.000 στρέμματα. Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία η καλλιέργεια της ποικιλίας συνιστάται στα αμπελουργικά διαμερίσματα Πελοποννήσου, Στερεάς Ελλάδας, Θεσσαλίας, Μακεδονίας, Θράκης, Κυκλάδων, Δωδεκανήσου και Βορείου Αιγαίου (Σταύρακας, 2010).



## **1.2 Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά και φαινολογικά στάδια**

Αποτελεί φυτό ζωηρό, εύρωστο, παραγωγικό, με δυνατότητα προσαρμογής σε διαφορετικούς τύπους εδαφοκλιματολογικών συνθηκών διατηρώντας τα αμπελογραφικά χαρακτηριστικά και τις οινολογικές του ιδιότητες (Τσακίρης, 1995).

Είναι ανθεκτική στις περισσότερες ασθένειες και την ξηρασία. Διαμορφώνεται σε κύπελλο αλλά και σε γραμμικό, αμφίπλευρο κορδόνι. Η βλάστηση ξεκινά στα τέλη Μαρτίου με αρχές Απριλίου και ωριμάζει το δεύτερο δεκαπενθήμερο του Αυγούστου με πρώτο δεκαήμερο του Σεπτεμβρίου.

## **Ιδιότητες και καλλιεργητική συμπεριφορά**

Κατά την πλήρη ωρίμανση η περιεκτικότητα του γλεύκους της ποικιλίας Ασύρτικο σε σάκχαρα είναι 250-260 g /l, η ολική οξύτητα 7-9,5 g /l σε τρυγικό οξύ και το pH 3,10- 3,30. Υπάρχει δε υψηλή περιεκτικότητα (για λευκή ποικιλία) σε ταννίνες αλλά και σημαντική ποσότητα ευοξειδωτων ουσιών. Από την ποικιλία Ασύρτικο παράγονται οίνοι υψηλής ποιότητας, λευκοί ξηροί με υψηλό αλκοολικό τίτλο (12,8-14 % vol) ,υψηλή οξύτητα (6,4 g /l σε τρυγικό οξύ, pH 2,9-3,1, με ευχάριστο άρωμα αλλά και τάση για οξείδωση (Σταυρακάκης 2010).

## **1.3 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά**

Το Ασύρτικο δίνει οίνους υψηλόβαθμους με υψηλή οξύτητα, συνδυασμός σπάνιος για λευκή μεσογειακή ποικιλία. Οι οίνοι από Ασύρτικο χαρακτηρίζονται από τη ζωηρή και γεμάτη γεύση και την ιδιαίτερη μύτη, πιο μεταλλική και γήινη στη Σαντορίνη, έντονα φρουτώδη και ανθώδη στην ηπειρωτική και ιδιαίτερα στη Βόρεια Ελλάδα (Κουράκου-Δραγώνα, 2003).

Γενικά η γεύση του οίνου αποτελεί αποτέλεσμα της ισορροπίας μεταξύ των επιμέρους συστατικών του. Τη βάση της γευστικής αρμονίας στον οίνο αποτελεί η ισορροπία δύο ομάδων, στις οποίες η μεν πρώτη αποτελείται από συστατικά με γλυκιά γεύση και η δεύτερη ομάδα αποτελείται από συστατικά με πικρή γεύση. Αντίστοιχα η ξινή γεύση οφείλεται στα οξέα, η αλμυρή στα άλατα των οξέων και η πικρή στις ταννίνες. Η ισορροπία μεταξύ των γεύσεων δίνει οίνους ισορροπημένους. Στους οίνους στους οποίους δεν υπάρχει γευστική ισορροπία αυτό οφείλεται στο λανθασμένο προσδιορισμό της ωρίμανσης των σταφυλιών (Henderson and Rex, 2011).

Ειδικότερα η ποικιλία Ασύρτικο προσδίδει στους οίνους απαλό πρασινοκίτρινο χρώμα με πλούσια φρουτώδη γεύση, ευχάριστη οξύτητα, λιπαρότητα και εξαιρετική αρμονία και μακρά επίγευση (Κουράκου – Δραγώνα, 2003).

#### 1.4 Παρατηρήσεις για την ποικιλία

Όλα τα Ασύρτικα, τόσο τα δεξαμενής, όσο και αυτά που ωριμάζουν σε βαρέλι, παλαιώνουν με ασφάλεια για πέντε ή ακόμα και δέκα χρόνια, μερικές φορές πολύ περισσότερο. Στο εξωτερικό, εκτός από κάποιες πειραματικές προσεγγίσεις σε διάφορες χώρες, το μεγαλύτερο επίτευγμα έχει αναφερθεί στην Αυστραλία, όπου ήδη έχει φυτευτεί ο πρώτος αμπελώνας με την ποικιλία Ασύρτικο (Λέλεκας, Οινοχόος 10/2010).



**Εικόνα 1.** Απεικόνιση Ασύρτικου

Το οινοποιείο Jim Barry Wines, στην Clare Valley της Νότιας Αυστραλίας φύτεψε τα πρώτα μοσχεύματα της ποικιλίας Ασύρτικο σε Αυστραλιανό έδαφος. Ο διευθύνων σύμβουλος Peter Barry είπε ότι από μία ευκαιρία γευσιγνωσίας του Ασύρτικου, ενώ ήταν σε διακοπές στο ελληνικό νησί της Σαντορίνης, το 2007 ξεκίνησε αυτό που ήταν ένα μακρύ ταξίδι για έγκριση μετά από καραντίνα. "Το Ασύρτικο αμέσως ξεχώρισε ως μια ποικιλία κατάλληλη για το σύγχρονο αυστραλιανό ουρανίσκο», είπε ενώ πρόσθεσε ότι "το Ασύρτικο καλλιεργείται κυρίως στη Σαντορίνη σε άγονες και θερμές συνθήκες με δυνατούς ανέμους. Η Clare είναι μια δροσερή περιοχή με καλές βροχοπτώσεις, αλλά πρέπει να αντιμετωπίσουμε την κλιματική αλλαγή και τη λειψυδρία και να προσαρμόσουμε κατάλληλα τη διαχείριση μας". "Οι ποικιλίες που μπορούν να αναπτυχθούν με ελάχιστη άρδευση και εξακολουθούν να παράγουν κρασί σύγχρονου στυλ είναι αυτό που όλοι αναζητούμε. Αρχίζουμε με μισό εκτάριο Ασύρτικου με τη χρήση δύο αδρανοποιημένων μοσχευμάτων από ένα αμπέλι. Μία

αληθινή μητέρα άμπελος και κλώνος Σαντορίνης. Τόνισε τέλος ότι το κρασί από τα αμπέλια Ασύρτικου είναι ακόμη πέντε χρόνια μακριά, αλλά ο ίδιος είναι αισιόδοξος ότι θα είναι "καλά κρασιά και θα αξίζει η αναμονή". (<http://www.krasiagr.com/?p=50141>). Από το 2016 ξεκίνησε η παραγωγή και η διάθεση οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο στην Αυστραλία.

## **1.5 Περιοχές καλλιέργειας του Ασύρτικου που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή**

Υπάρχουν πολλές περιοχές της Ελλάδας στις οποίες καλλιεργείται η ποικιλία Ασύρτικο. Κυρίως καλλιεργείται στις Κυκλάδες και ειδικότερα στη Σαντορίνη. Σήμερα καλλιεργείται στην περιοχή της Δράμας, στις πλαγιές του Μελιτώνα, στην Επανομή. Στην Πελοπόννησο ξεχωρίζει η περιοχή της Νεμέας (Κουράκου-Δραγώνα, 2003).

### **1.5.1. Σαντορίνη**

Στην περιοχή της Σαντορίνης το ηφαιστειακό υπέδαφος του νησιού είναι πλούσιο σε ελαφρόπετρα, συγκρατεί μεγάλο ποσοστό υγρασίας και παρέχει στα φυτά το απαιτούμενο νερό που τους χρειάζεται. Το έδαφος της Σαντορίνης είναι ασβεστολιθικής και σχιστολιθικής προέλευσης καλυμμένο με τέφρα, λάβα και ελαφρόπετρα, τα οποία προέρχονται από διαδοχικές εκρήξεις του ηφαιστείου. Το κλίμα χαρακτηρίζεται από ξηρό και ζεστό καλοκαίρι με τη μεγαλύτερη ηλιοφάνεια στην Ελλάδα. Ο χειμώνας είναι ήπιος με λίγες και ισχυρές βροχοπτώσεις. Το έδαφος είναι πλούσιο σε ανόργανα συστατικά αλλά οδηγεί σε χαμηλές στρεμματικές αποδόσεις. Τα αμπέλια είναι φυτεμένα σε μεγαλύτερες αποστάσεις μεταξύ τους και διευθετούνται στο έδαφος, ώστε να μην παίρνουν ύψος αλλά να σχηματίζουν ένα καλάθι που προφυλάσσει από τον δυνατό αέρα τα σταφύλια.

Οι αμπελώνες με Ασύρτικο στη Σαντορίνη συγκεντρώνονται κυρίως στο νότιο και νοτιοδυτικό τμήμα του νησιού σε εδάφη ηφαιστειακής προέλευσης, αμμώδους σύστασης με μηδενική σχεδόν υδατοχωρητικότητα και οργανική ύλη. Τα εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα καλίου στο έδαφος συντελούν στην υψηλή οξύτητα των σταφυλιών του Ασύρτικου κατά την πλήρη ωρίμανσή τους. Το κλίμα είναι ξηρό αλλά η γειτνίαση με τη θάλασσα και οι μόνιμα πνέοντες υγροί άνεμοι μειώνουν τις αυξημένες θερμοκρασίες του καλοκαιριού. Τα πρέμνα διαμορφώνονται στο παραδοσιακό καλάθι για προστασία των αμπελιών από τους ανέμους αλλά και από την ισχυρή ηλιακή ακτινοβολία. Τα σταφύλια που παράγονται έχουν πλούσια αρωματικά χαρακτηριστικά (Σπινθηροπούλου, 2009).

Η έλλειψη νερού μπορεί να επηρεάσει τη σύσταση των σταφυλιών και τα χαρακτηριστικά του οίνου με περισσότερους από έναν τρόπους. Τα σταφύλια που εκτίθενται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης έχει παρατηρηθεί ότι παρουσιάζουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες και ανθοκυάνες (Matthews et al., 1988; Siriora et al., 1998; Esteban et al., 2001). Η υδατική καταπόνηση ως αποτέλεσμα της μειωμένης παροχής νερού, επιδρά στη φυσιολογία της αμπέλου (π.χ. κλείσιμο των στοματίων των φύλλων, μειωμένη φωτοσύνθεση) (Goodwin, 2002). Επίσης, μπορεί να έχει άμεσα και έμμεσα αποτελέσματα στο άρωμα του οίνου (Bruwer et al., 2004). Ως άμεσα αποτελέσματα αναφέρονται: 1) η μείωση της ανάπτυξης, η οποία συνεπάγεται την αύξηση της έκθεσης των σταφυλιών στο φως και οδηγεί σε μια μεταβολή στην αρωματική ισορροπία αρωμάτων φρούτων / φυτικών αρωμάτων και 2) η περιορισμένη παραγωγή και μεταφορά σακχάρων στα σταφύλια, γεγονός που μειώνει τη διαθεσιμότητα των μεταβολιτών και μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή οίνων και γλυκών με υψηλότερο pH (Goodwin, 2002).

Στην **Εικόνα 2** παρουσιάζεται πρέμνο στη Σαντορίνη διαμορφωμένο στο παραδοσιακό καλάθι (κουλούρα), ενώ στην **Εικόνα 3** φαίνεται η μορφή του αμπελώνα.



**Εικόνα 2.** Πρέμνο διαμορφωμένο στο παραδοσιακό καλάθι (κουλούρα).



**Εικόνα 3.** Αμπελώνας στη Σαντορίνη.

### **1.5.2 Νεμέα**

Οι αμπελώνες στην περιοχή της Νεμέας είναι περίπου στα 50 στρέμματα φυτεμένα με την ποικιλία Ασύρτικο. Τα περισσότερα από αυτά βρίσκονται στο Λεόντιο καθώς και στον κάμπο της Νεμέας, ενώ 15 περίπου στρέμματα βρίσκονται στο Κούτσι εκ των οποίων μόνο τα 6 εξ' αυτών είναι σε παραγωγή. Είναι όλα φυτεμένα γραμμικά, κλαδεμμένα σε διπλό Cordon/Royal στα 340 φυτά ανά στρέμμα.



**Εικόνα 4.** Αμπελώνας στη Νεμέα (Σπινθηροπούλου, 2009).

### 1.5.3 Δράμα

Ο αμπελώνας αυτός είναι γραμμικός στο σύνολό του και συγκαταλέγεται στους πιο σύγχρονους και άρτια οργανωμένους στην Ελλάδα ενώ στην πλειονότητά του είναι αρδευόμενος. Το ευνοϊκό κλίμα της περιοχής επέτρεψε την ευδοκίμηση της ποικιλίας Ασύρτικο. Τα μέρη όπου ευδοκίμει η ποικιλία αυτή στην περιοχή της Δράμας περιλαμβάνουν ιδιαίτερα καλής ποιότητας εδάφη. Επιπρόσθετα το μεσοκλίμα της περιοχής το οποίο χαρακτηρίζεται από τους ψυχρούς ανέμους που πνέουν από την περιοχή του Νευροκοπίου είναι ευεργετικό για την ποιοτική ωρίμανση των σταφυλιών. Ο παραγόμενος οίνος έχει πολυσύνθετο άρωμα από εξωτικά και λευκόσαρκα φρούτα με κυρίαρχο το ροδάκινο και με διακριτική αίσθηση ορυκτών η οποία προσδίδει φρεσκάδα και μεγάλης διάρκειας επίγευση. Γενικά οι οίνοι της περιοχής αυτής που προέρχονται από την ποικιλία Ασύρτικο χαρακτηρίζονται από γευστική ισορροπία και πλούσια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Κουράκου-Δραγώνα, 2003).



**Εικόνα 5.** Αμπελώνας στη Δράμα (Σπινθηροπούλου, 2009).

## Κεφάλαιο 2. Οινοποιητικές τεχνικές

### 2.1 Λευκή οινοποίηση με προζυμωτική εκχύλιση

Η προζυμωτική (κρυο)εκχύλιση (“cold maceration”) είναι μία τεχνική που περιλαμβάνει εκχύλιση στην υδατική φάση αφού οι χαμηλές θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται (κάτω από 15°C) έχουν ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της έναρξης της αλκοολικής ζύμωσης. Συνήθως γίνεται σε ατμόσφαιρα διοξειδίου του άνθρακα για την αναστολή των μεταβολικών δράσεων των ζυμών. Έτσι κατά την προζυμωτική κρυοεκχύλιση ευνοείται η εκχύλιση υδατοδιαλυτών συστατικών από τα στερεά μέρη του σταφυλιού όπως χρωστικές, πρόδρομες αρωματικές ουσίες, πολυσακχαρίτες και γλυκοζυλιομένα φαινολικά συστατικά (Cassasa, 2015). Οι βασικοί παράγοντες που επιδρούν στο αποτέλεσμα της προζυμωτικής κρυοεκχύλισης είναι η ποικιλία, η σοδειά και ο βαθμός ωριμότητας του σταφυλιού (Mihne et al., 2015). Η τεχνική αυτή μπορεί να ενισχύσει τον αρωματικό χαρακτήρα των λευκών οίνων και παράλληλα, με την εκχύλιση ορισμένων φαινολικών συστατικών, να βελτιώσει τη δυνατότητα παλαίωσής τους. Από την άλλη πλευρά, εκχυλίζονται και συστατικά με μη επιθυμητά φυτικά αρωματικά συστατικά καθώς και συστατικά που ενισχύουν την στυπτικότητα του οίνου. Για το λόγο αυτό, θα πρέπει να πραγματοποιείται μια ισορροπημένη εκχύλιση με βασικές παραμέτρους το χρόνο, τη θερμοκρασία, τη χρήση θειώδη ανυδρίτη και τη χρήση πηκτινολυτικών ενζύμων (Sokolowsky et al., 2015). Κάποιες κλασσικές ποικιλίες που ευνοούνται από τη χρήση της τεχνικής αυτής είναι το Riesling, το Gewuztraminer, το Chardonnay και το Sauvignon Blanc. Συνήθως στη λευκή οινοποίηση η κρυοεκχύλιση γίνεται στο εύρος θερμοκρασιών 4-15°C, ενώ η διάρκεια της μπορεί να είναι από λίγες ώρες μέχρι ένα 24ώρο. Ο θειώδης ανυδρίτης, εκτός από την αντιμικροβιακή του δράση κατά την προζυμωτική κρυοεκχύλιση, ευνοεί την εκχύλιση φαινολικών καθώς ενώνεται μαζί τους και καταστρέφει τα κυτταρικά τοιχώματα. Επειδή μπορεί να ενισχύσει σημαντικά την εκχύλιση των φαινολικών, σε ορισμένες περιπτώσεις δεν πραγματοποιείται θείωση και η προστασία από οξειδωτικές δράσεις γίνεται μόνο με χρησιμοποίηση ατμόσφαιρας διοξειδίου του άνθρακα (Parley, 1997).

Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες κρυοεκχύλισης παρατηρήθηκε μικρότερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, μικρότερη χρωματική ένταση αλλά και υψηλότερη συγκέντρωση εστέρων, οι οποίοι επιδρούν αρωματικά στον οίνο, σε σχέση με τις υψηλότερες θερμοκρασίες κρυοεκχύλισης (Sacchi et al., 2005). Αναφορικά με την εκχύλιση των φαινολικών, η προζυμωτική κρυοεκχύλιση αυξάνει τη συγκέντρωση των φλαβονοειδών στο γλεύκος, και πιο συγκεκριμένα της κατεχίνης και της επικατεχίνης ενώ δεν επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωση των μη φλαβονοειδών όπως το καφταρικό οξύ. Παράλληλα με τα φαινολικά εκχυλίζεται και κάλιο στο γλεύκος. Το κάλιο αντιδρά με το τρυγικό οξύ προς παραγωγή όξινου τρυγικού καλίου, το οποίο ιζηματοποιείται. Έτσι, η συγκέντρωση του τρυγικού οξέος και η

οξύτητα του γλεύκους μειώνεται ενώ το pH αυξάνεται (Sokolowsky et al., 2015). Με την εφαρμογή της προζυμωτικής εκχύλισης συνεπώς έχει αποδειχθεί ότι προκαλείται μείωση της ολικής οξύτητας του γλεύκους η οποία συνοδεύεται με αύξηση του pH (Jackson, 2008).

Η τεχνολογία που εφαρμόζεται στην προζυμωτική φάση επηρεάζει σημαντικά τη μετέπειτα ποιότητα των λευκών ξηρών οίνων. Αυτή η τεχνική χαρακτηρίζεται από μια περίοδο επαφής μεταξύ του γλεύκους και της σταφυλομάζας, μετά την έκθλιψη των ραγών αλλά πριν από την πίεση. Με γνώμονα το αξίωμα αυτό, η εφαρμογή μιας νέας τεχνικής, της *maceration pelliculaire* (επαφή γλεύκους και φλοιών) πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, θα είχε ως αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό του γλεύκους με περισσότερα συστατικά, χαρακτηριστικά της ποικιλίας των σταφυλιών (αρωματικές ουσίες, κολλοειδή, φαινολικές ενώσεις κλπ). Τα συστατικά αυτά βρίσκονται, κυρίως, στο φλοιό των ραγών και η παρουσία τους στους οίνους δύναται να βελτιώσει το άρωμα τους, τη γεύση τους, το σώμα τους κλπ, χωρίς βέβαια να αυξηθεί η στυφή και η πικρή γεύση. Η διαδικασία αυτή μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα του οίνου λόγω της εκχύλισης των πρόδρομων αρωματικών συστατικών από τους φλοιούς των ραγών. Το ποικιλιακό άρωμα είναι υπεύθυνο για τα «φρουτώδη» και τα «αρώματα λουλουδιών» των λευκών οίνων. Τα ποικιλιακά χαρακτηριστικά μπορεί να αυξηθούν με την επαφή των φλοιών με το γλεύκος. Απαραίτητη ωστόσο προϋπόθεση, για να εφαρμοστεί η παραπάνω τεχνολογία, είναι η καλή ωρίμανση και η καλή υγιεινή κατάσταση του σταφυλιού. Οι δύο αυτοί παράγοντες αποτελούν τους εσωτερικούς παράγοντες. Σημαντική είναι επίσης, η επίδραση στο αποτέλεσμα της εκχύλισης και δύο εξωτερικών παραγόντων, που είναι η διάρκεια και η θερμοκρασία της προζυμωτικής εκχύλισης. Η πίεση της σταφυλομάζας και η απολάσπωση του γλεύκους και του οίνου δεν μπορεί να θεωρηθούν χωρίς σπουδαιότητα (Σουφλερός, 2009).

Η εφαρμογή της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης κατά τη λευκή οινοποίηση απέδειξε σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε λευκούς οίνους στη Γαλλία ότι αυξάνει τα πτητικά συστατικά των οίνων (Baumes et al., 1989).

Η προζυμωτική κρυσταλλοποίηση περιορίζει την εκχύλιση των αρνητικών συστατικών από το σταφύλι ειδικά όταν συνοδεύεται από μία ήπια έκθλιψη αυτών στη συνέχεια μιας και έτσι εκχυλίζεται λιγότερη μεμβράνη επί του πολτού οπότε και λιγότερες αρνητικές ενώσεις υπό της μεμβράνης του φλοιού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του οίνου (Deteil, 2005).

Σε ότι αφορά στην ένταση και στη λεπτότητα του αρώματος οι οίνοι οι οποίοι παράγονται με προζυμωτική εκχύλιση υπερέχουν ποιοτικά. Σε ότι αφορά στη γεύση οι οίνοι αυτοί είναι πιο ισορροπημένοι και πιο μεστοί.



Η τεχνική αυτή έχει εφαρμοστεί τα τελευταία χρόνια κυρίως στα λευκά σταφύλια τα οποία είναι είτε αρωματικά είτε περιέχουν ουσίες οι οποίες συνήθως αποτελούν πρόδρομες ενώσεις αρωματικών συστατικών. Η τεχνική αυτή είναι γνωστή με τον όρο **skin contact** (επαφή με φλοιούς) και συνίσταται στο να μείνει ο χυμός σε επαφή με τα στέμφυλα για μερικές ώρες σε χαμηλή θερμοκρασία, ώστε να εμπλουτισθεί τόσο σε αρωματικά συστατικά όσο και να μην οξειδωθεί καθώς γίνεται η πρόσληψη των φαινολικών ενώσεων. Η επιτυχία της τεχνικής αυτής εξαρτάται από συγκεκριμένους παράγοντες όπως :

- Τα σταφύλια θα πρέπει να είναι υγιή και έχουν τρυγηθεί στο βέλτιστο στάδιο της ωριμότητάς τους
- Δεν υπάρχει ατμοσφαιρικός αέρας
- Δεν εκδηλώνεται ζύμωση όσο το γλεύκος είναι σε επαφή με τα στέμφυλα (Gayon et al., 2006).

Ειδικότερα για την ποικιλία του Ασύρτικου λόγω της υψηλής περιεκτικότητας των φλοιών τους σε φαινολικές ενώσεις η παραμονή προτείνεται στις δεξαμενές της σταφυλομάζας να γίνεται σε θερμοκρασία 12-15 ° C για 4-5 ώρες (Κουράκου-Δραγώνα, 2003).

Οι διάφορες αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα λευκών σταφυλιών που έχουν υποστεί προζυμωτική κρυσταλλική συγκριτικά με το μάρτυρα που προέκυψε από άμεση πίεση των σταφυλιών έδωσαν τα εξής αποτελέσματα:

- Στο γλεύκος πρόρωγος: διαπιστώνεται αύξηση της περιεκτικότητας σε κάλιο, όσο αυξάνει ο χρόνος της προζυμωτικής κρυσταλλικής. Παρατηρείται αύξηση της ολικής οξύτητας στις περιπτώσεις κακής ωριμότητας. Ο διπλός αυτός εμπλουτισμός οδηγεί στη σταθερή τιμή του pH.
- Στο γλεύκος πίεσης : η πίεση προκαλεί αύξηση της εκχύλισης του καλίου που ευνοείται από τη διάρκεια της προζυμωτικής κρυσταλλικής. Η αύξηση του pH στη μεγαλύτερη διάρκεια προζυμωτικής κρυσταλλικής συνδέεται με την καθίζηση του τρυγικού οξέος, λόγω της επιπλέον ποσότητας του καλίου που εκχυλίστηκε.
- Στο σημείο μηδέν της έναρξης της αλκοολικής ζύμωσης μετά από πίεση και απολάσπωση: η μείωση της ολικής οξύτητας, μετά από 16 ώρες προζυμωτικής κρυσταλλικής είναι εμφανής και συμπίπτει με τη μεγαλύτερη εκχύλιση του καλίου.
- Στον οίνο : η επαφή του γλεύκους με τους φλοιούς προκαλεί αύξηση του ξηρού υπολείμματος, η οποία γίνεται πιο έντονη με την αύξηση του χρόνου της προζυμωτικής κρυσταλλικής. Επίσης έχει παρατηρηθεί η αύξηση της περιεκτικότητας σε σίδηρο (Fe), η οποία ωστόσο μένει πάντα < 10 mg/l. Η μείωση της ολικής οξύτητας και η αύξηση του pH έχουν επίσης παρατηρηθεί (Σουφλερός, 1997).

Η διαδικασία αυτή παρέχει πιο ισορροπημένους και πιο ολοκληρωμένους οίνους με ισχυρό σώμα στο στόμα. Ωστόσο κατά την διάρκεια του χρόνου η τυπικότητα του οίνου αλλάζει και συνήθως εμφανίζονται βαριά αρώματα. Κατά την διάρκεια των τελευταίων ετών αρκετοί οινοπαραγωγοί έχουν πειραματιστεί στην εφαρμογή αυτής της μεθόδου με την ποικιλία Ασύρτικο ώστε να καταφέρουν να παράγουν πιο έντονα αρωματικά λευκά κρασιά (Symeou et al, 2007).

## 2.2. Σύγκριση κλασσικής οινοποίησης και προζυμωτικής εκχύλισης

Τα κυριότερα συμπεράσματα που προκύπτουν από την εφαρμογή της προζυμωτικής κρουεκχύλισης σε σύγκριση με την κλασσική λευκή οινοποίηση είναι τα εξής :

- Μείωση της ολικής οξύτητας του γλεύκους και αύξηση του pH, οι μεταβολές αυτές συμβαίνουν καθώς το κάλιο μετατρέπει το τρυγικό οξύ σε άλας
- Αύξηση των αζωτούχων ενώσεων (αμινοξέα, πρωτεΐνες) και των ουδετέρων πολυσακχαριτών.
- Οι φαινολικές ενώσεις έχουν μικρό βαθμό διάχυσης στο γλεύκος όταν η σταφυλομάζα δεν αναδεύεται μηχανικά (Σουφλερός, 2009).
- Η ένδειξη των ολικών φαινολών δεν παρουσιάζει τιμές συνηθισμένες. Η περιεκτικότητα σε ταννίνες εξαρτάται, κυρίως από τη διαδικασία πίεσης της σταφυλομάζας και από την παρουσία οινολάσπης κατά την αλκοολική ζύμωση και τη διατήρηση του οίνου
- Η διάχυση των αρωματικών ενώσεων φαίνεται βραδύτερη από εκείνη ορισμένων άλλων συστατικών των φλοιών (κάλιο, φαινολικές ενώσεις) γεγονός που εξηγεί ότι οι πιο μακροχρόνιες προζυμωτικές εκχυλίσεις δίνουν καλύτερα αποτελέσματα.
- Η επαφή φλοιών – γλεύκους ευνοεί την εκχύλιση πρόδρομων αρωματικών ενώσεων που μετατρέπονται σε άρωμα κατά την αλκοολική ζύμωση και την διατήρηση του οίνου.
- Οι οίνοι μετά από την προζυμωτική κρουεκχύλιση είναι πιο μεστοί και δίνουν μια δομή πιο πλούσια, σε σχέση με αυτούς που προκύπτουν μετά από άμεση πίεση της σταφυλομάζα
- Η μηλογαλακτική ζύμωση ευνοείται αισθητά (Navarre and Langlade, 2002). Ένα άλλο σημαντικό κομμάτι κατά τη διαδικασία της κρουεκχύλισης, είναι η επίδραση των γαλακτικών, οξικών βακτηρίων και των άγριων ζυμών. Θεωρείται ότι οι άγριες ζύμες και τα βακτήρια όπως είναι τα ετεροζυμώσιμα γαλακτικά και οξικά βακτήρια, *Acetobacter*, *Brettanomyces* και *Kloeckera/Hansienaspora* μένουν ενεργά στα γλεύκη κατά τη διάρκεια της κρουεκχύλισης. Η δράση τους είναι μάλλον θετική, διότι εκκρίνουν ένζυμα τα οποία αλληλεπιδρούν με τα συστατικά των πρόδρομων

αρωμάτων και έχουν σαν αποτέλεσμα την παραγωγή πτητικών συστατικών του αρώματος τα οποία τελικά, συνεισφέρουν στην πολυπλοκότητα του οίνου.

Συνοψίζοντας, θα μπορούσαμε να απαριθμήσουμε επιδράσεις της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης ως εξής:

Αύξηση του φρουτώδους αρώματος και ειδικά της συγκέντρωσης των τερπενίων στα λευκά γλεύκη. Αύξηση της αρωματικής έντασης και πολυπλοκότητας. Αύξηση αρώματος στόματος, πιθανόν εξ' αιτίας των αυξημένων συγκεντρώσεων φαινολών στις οποίες οφείλεται η αίσθηση στυφάδας, αλλά και εξ' αιτίας των πολυσακχαριτών. Αύξηση χρωματικής έντασης και χροιάς, (αποχρώσεις). Παραγωγή οίνων με μέτρια στυφότητα και πλουσιότερο "σώμα".

### 2.3 Απολάσπωση

Η διαδικασία της απολάσπωσης περιλαμβάνει την απομάκρυνση μεγάλου ή μικρού μέρους των στερεών σωματιδίων τα οποία καταβυθίζονται στον πυθμένα της δεξαμενής μετά από παραμονή του γλεύκους (στατική απολάσπωση) σε χαμηλές θερμοκρασίες (4-10<sup>0</sup>C) για περίπου 24 ώρες. Όταν τα στερεά απομακρύνονται από το γλεύκος, τα συμπληρώματα αζώτου απλά μειώνουν τον χρόνο της αλκοολικής ζύμωσης ενώ δεν παρατηρείται κάποια βελτίωση στην ποιότητα του οίνου σύμφωνα με τους Herschke and Jiranek., 1991. Οι μοναδικοί συσχετισμοί που αναφέρθηκαν μεταξύ της περιεκτικότητας του γλεύκους σε άζωτο και των πτητικών συστατικών του αρώματος έχοντας θετική επίδραση ήταν αυτοί στους οξικούς και αιθυλικούς εστέρες και την 1-προπανόλη ενώ αρνητική επίδραση είχαν στις υπόλοιπες ανώτερες αλκοόλες (Rapp and Versini 1991).

Είναι γνωστό ότι η διαύγαση του γλεύκους καθυστερεί την ζύμωση. (Groat and Ough, 1978; Van Wyk, 1978; Houtman et al., 1980; Houtman and du Plessis 1986). Αυτό συμβαίνει επειδή σημαντικά συστατικά για την θρέψη των ζυμομυκήτων απομακρύνονται με την διαύγαση. Η επίδραση των διαδικασιών προζυμωτικής διαύγασης στα αζωτούχα συστατικά του γλεύκους, τις βιταμίνες και άλλους αυξητικούς παράγοντες όπως οι στερόλες έχουν γίνει αντικείμενο μελέτης. Τα συμπεράσματα αυτών των μελετών ήταν ότι οι βιταμίνες όπως η θειαμίνη, το παντοθενικό οξύ και η βιοτίνη είναι απαραίτητες αν θέλουμε να αποφύγουμε την διακοπή της ζύμωσης, μιας και οι ζυμομύκητες χρειάζονται την ακορεστικότητα σε λίπη και στερόλες για να διατηρήσουν την αυξητική τους ικανότητα. (Van Wyk, 1978; Houtman et al., 1980, 1981, 1986; Tromp, 1984; Ough et al., 1989; Trioli and Paronetto, 1992; Delfini et al., 1993; Ayestarán et al., 1995)

Η διαύγαση του γλεύκους πριν από την αλκοολική ζύμωση γενικά βελτιώνει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των λευκών οίνων. Η απομάκρυνση των στερεών

του σταφυλιού από το γλεύκος ενισχύει τον σχηματισμό των εστέρων και περιορίζει την απελευθέρωση των ανώτερων αλκοολών κατά την αλκοολική ζύμωση έχοντας ως συνέπεια την συνολική αύξηση της ποιότητας του αρώματος (Singleton et al., 1975, Klingshirn et al., 1987, Bertrand et al., 1987, Liu et al., 1987, Bayonove et al., 1995). Η διαύγαση του οίνου συνεπώς, επηρεάζει την σύσταση του γλεύκους μειώνοντας την συγκέντρωση κάποιων συστατικών απαραίτητων για την ανάπτυξη των ζυμομυκήτων όπως τα λιπαρά οξέα μακρυσ αλυσίδας και οι στερόλες (Bertrand and Miele 1984, Delfini et al., 1993). Η επίδραση της εξάντλησης σε θρεπτικές ουσίες καθώς και της παραγωγής πτητικών συστατικών κατά την αλκοολική ζύμωση έχει ερευνηθεί από πολλούς συγγραφείς (Bertrand et al., 1987, Olivier et al., 1987, Liu et al., 1987 Delfini et al., 1992, Ancin et al., 1996, Guilloux-Benatier and Feuilliat 1993, Weiss and Bisson 2002) .

Οι γλυκοζιτικοί πρόδρομοι της λιναλοόλης, γερανιόλης βενζυλικής αλκοόλης, 2-φαινυλαιθανόλης και ευγενόλης μειώθηκαν σημαντικά κατά την απολάσπωση του γλεύκους σύμφωνα με τους Luigi et al., 2004 ενώ μόνο οι ελεύθερες μορφές της λιναλοόλης και της βενζυλικής αλκοόλης αυξήθηκαν σημαντικά με την ζύμωση.

Μία βασική παράμετρος η οποία επηρεάζει το άρωμα του οίνου είναι η θολερότητα του γλεύκους. Ένα φρέσκο γλεύκος περιέχει μεγάλη ποσότητα αδιάλυτων σωματιδίων που σχηματίζονται από τα φρουτώδη υπολλείμματα που προέρχονται από τα στερεά τμήματα των τσαμπιών (πολτός, μίσχος και φλοιοί). Τα στερεά σωματίδια που είναι παρόντα στο γλεύκος δημιουργούν διάφορες επιδράσεις σε ορισμένες οργανοληπτικές ιδιότητες των οίνων ( Singleton et al., 1975; Groat and Ough 1978; Williams et al.,1978; Houtman et al.,1980). Στην λευκή οινοποίηση χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι για την απολάσπωση. Ο σχηματισμός πολλών αρωματικών συστατικών επηρεάζεται από την μέθοδο διαύγασης ( Williams and others 1978; Puig-Deu et al.,1996). Οι Williams et al., (1978) λένε ότι τα μή απολασπώμενα γλεύκη οδηγούν σε πολύ αρωματικούς και πολύπλοκους οίνους, καθώς τα μικρής χρονικής διάρκειας στατικής απολάσπωσης ή φυγοκεντριμένα γλεύκη δίνουν πιο φρέσκους και φρουτώδης οίνους. Οι Amerine et al., (1972) επισημαίνουν ότι τα μή διαυγη γλεύκη μπορεί να δώσουν πιο αρωματικούς οίνους αλλά σύμφωνα με τους Singleton et al., (1975) οι οποίοι έδειξαν ότι οίνοι από μή απολασπώμενα γλεύκη βαθμολογήθηκαν ως λιγότερο ελκυστικά στο άρωμα, όχι μόνο επειδή έδειξαν να υπολείπονται σε φρουτώδη αρώματα αλλά και επειδή είχαν επιπλέον ελλατωματικές θειούχες οσμές. Σύμφωνα με τους Karagiannis and Lanaridis (2002) αυξημένες ποσότητες στερεών σωματιδίων στο γλεύκος προκάλει μία μείωση στην πτητική οξύτητα. Η ογκομετρούμενη οξύτητα αυξάνεται με μία παράλληλη μικρή μείωση του pH. Οι Liu et al., (1987) δεν βρήκαν διαφορές μεταξύ οίνων που παρήχθησαν από διαυγή και μή διαυγη γλεύκη διαφόρων ποικιλιών στη συνολική οξύτητά τους , παρότι το τρυγικό περιεχόμενο βρέθηκε υψηλότερο στους μη διαυγής οίνους και το αντίθετο ακριβώς για το μηλικό περιεχόμενο. Στην

περίπτωση των πτητικών συστατικών, η συγκέντρωση των μικρής αλυσίδας ( C6,C8, C10) λιπαρών οξέων, υπεύθυνων για την οσμή σαπουνιού (Bertrand et al., 1994) επηρεάστηκε από την παρουσία αδιάλυτων στερεών σωματιδίων κατά την ζύμωση. Αυξημένη θολερότητα του γλεύκους οδήγησε σε διακριτικές μειώσεις στην συγκέντρωση των λιπαρών οξέων σε οίνους από Μπατίκη και Σαββατιανό όπως επίσης και σε μείωση στην συγκέντρωση αιθυλικών εστέρων. Η αυξημένη θολερότητα στα γλεύκη οδήγησε και σε αύξηση στην συγκέντρωση των ανώτερων αλκοολών (Karagiannis and Lanaridis 2002). Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με αποτελέσματα προηγούμενων μελετών που έδειξαν ότι γενικά οι οίνοι προερχόμενοι από μή διαυγή γλεύκη περιήχαν μεγαλύτερες ποσότητες από ανώτερες αλκοόλες (Bertrand et al., 1978; Groat and Ough 1978; Liu et al., 1987; Edwards et al., 1990).

Παλαιότερα πίστευαν ότι το μεγαλύτερο μέρος των ανώτερων αλκοολών στους οίνους ήταν το αποτέλεσμα της αποικοδόμησης των αμινοξέων του γλεύκους (Bidan 1975). Παρολαυτά, οι Ough and Bell (1980) και Castino (1988), ανέφεραν ότι δεν υπάρχουν αρκετά αμινοξέα στο γλεύκος για να φτάσουν για όλες τις ανώτερες αλκοόλες που εμφανίζονται στον οίνο. Υπολογίστηκε ότι μόνο το 10% της ολικής συγκέντρωσης των ανώτερων αλκοολών μπορεί να σχηματιστεί κατά την ζύμωση (Castino 1988). Επόμενες έρευνες έδειξαν ότι όταν το γλεύκος έχει υψηλή συγκέντρωση όλων των αμινοξέων, λιγότερες ανώτερες αλκοόλες συντίθενται (Guitart et al., 1999). Τα αμινοξέα βρεθηκαν σε μεγαλύτερη αναλογία στο κλάσμα του ιζήματος (λάσπες ) παρά στο υγρό κλάσμα του γλεύκους (Guitart et al., 1998). Συνεπώς μπορούμε να περιμένουμε ότι αυξάνοντας την θολερότητα του γλεύκους θα συνεπάγεται τον εμπλουτισμό του γλεύκους με αμινοξέα και συνεπώς την μείωση στη συγκέντρωση των ανώτερων αλκοολών.

Θεωρείται ότι μια συγκέντρωση σε ανώτερες αλκοόλες μεγαλύτερη από 300mg/l θεωρείται γενικά ανεπιθύμητη δίνοντας μια χορτώδη γεύση στους οίνους (Navarre, 1998) ενώ η αυξημένη ποσότητα στερεών στο γλεύκος δεν επηρέασε τις συγκεντρώσεις του οξικού 2- φαινυλεθυλαιθέρα και της 2 μεθυλοθείο αιθανόλης σύμφωνα με τους Karagiannis and Lanaridis (2002).

## 2.4 Terroir

Το 'terroir' είναι μία έννοια που αναφέρεται στη συλλογική γνώση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ενός αναγνωρίσιμου αβιοτικού και βιοτικού περιβάλλοντος και των εφαρμοζόμενων αμπελοοινικών πρακτικών οι οποίες είναι το φυσικό περιβάλλον (έδαφος και κλίμα), η ποικιλία της αμπέλου και ο άνθρωπος.

Η ποιότητα του εδάφους (μέσω του βάθους, υδατικές ιδιότητες, γονιμότητα - ανόργανη θρέψη αμπέλου, συγκράτηση - απορρόφηση θερμότητας) είναι αυτή που

συνδέεται με κάποιον περιοριστικό παράγοντα που μειώνει την ζωνρότητα και την παραγωγή της αμπέλου.

Ο ρόλος του κλίματος επιδρά στην θερμοκρασία, ηλιοφάνεια, υγρασία και τον άνεμο. Η επίδραση της θερμοκρασίας στο χρόνο εμφάνισης των φαινολογικών σταδίων της αμπέλου επιδρά στην εποχή ωρίμανσης ενώ οι ήπιες κλιματικές συνθήκες θεωρούνται ευνοϊκές για την ωρίμανση των σταφυλιών. Σε ότι αφορά στην δημιουργία μικροκλίματος της κάθε περιοχής οι παράγοντες που το διαμορφώνουν είναι :

- το υψόμετρο ( με μείωση 0,6° C ανά 100m),
- η έκθεση της πλαγιάς (προσανατολισμός κλίσης) επηρεάζει το ποσό της ηλιακής ακτινοβολίας που δέχεται ο αμπελώνας (κυρίως σε κλίσεις >10%),
- η εκμετάλλευση της υψηλής ειδικής θερμότητας και θερμοχωρητικότητας της θάλασσας.

Ο ανθρώπινος παράγοντας επηρεάζει μέσω των εφαρμοζόμενων αμπελουργικών τεχνικών όπως τα χρησιμοποιούμενα υποκείμενα, το σχήμα διαμόρφωσης, η διευθέτηση φυλλώματος, η άρδευση και η λίπανση (Κουνδουράς,2016).

Το terroir είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στην αμπελοκομία μιας και συσχετίζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου με τις περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες αναπτύχθηκε το σταφύλι. Η ποιότητα και το στυλ του οίνου, μπορούν σε ένα σημαντικό βαθμό να ερμηνευτούν από το terroir. Παρολαυτά το terroir είναι δύσκολο να μελετηθεί πάνω σε μία επιστημονική βάση μιας και είναι πολύ οι παράγοντες που το επηρεάζουν (όπως αναφέρθηκε προηγουμένως) και οι οποίοι αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.

Οι επιδράσεις αυτών πολλές και με σημαντικά αποτελέσματα στο τελικό προϊόν όπως για παράδειγμα η γρήγορη ωρίμανση των σταφυλιών η οποία μειώνει την αρωματική έκφραση αυτών στον παραγόμενο οίνο, γεγονός που είχε παρατηρηθεί ήδη από τους Ribéreau-Gayon and Peynaud (1960: 122).

Οι Choné et al.(2001a) έδειξαν ότι η περιορισμένη παροχή αζώτου στο αμπέλι εξαιτίας παραμέτρων του εδάφους, βελτιώνει την ποιότητα των ερυθρών οίνων λόγω της μείωσης της δυναμικότητας-ευρωστίας του αμπελιού και αυξάνει το περιεχόμενο της ράγας και του οίνου σε φαινολικά. Αυτό δεν ισχύει για την παραγωγή λευκών οίνων, όπου η παροχή του αμπελιού σε άζωτο πρέπει να είναι τουλάχιστον μέτρια ώστε τα σταφύλια να αποκτήσουν υψηλό δυναμικό αρώματος (Peyrot des Gachons et al., 2005). Η ταχύτητα ωρίμανσης των σταφυλιών αυξάνεται όταν η υδατική κατάσταση του αμπέλιου είναι χαμηλή ( Van Leeuwen et al., 2003) ενώ το αρωματικό δυναμικό των λευκών σταφυλιών σύμφωνα με τους Peyrot des Gachons et al., 2005 μπορεί να μειωθεί κάτω από έντονη έλλειψη νερού-υδατικό στρές ( Van Leeuwen and Seguin ,2006).

## Κεφάλαιο 3. Πτητικά συστατικά του αρώματος

### 3.1. Πτητικά συστατικά που συμμετέχουν στο άρωμα του οίνου και επίδραση της γεωγραφικής περιοχής

Ανάμεσα στα συστατικά του αρώματος του οίνου, οι οσμηρές πτητικές ενώσεις που προέρχονται από το σταφύλι, χαρακτηριστικές της ποικιλίας και της έκφρασής της ανάλογα με τις εδαφοκλιματικές συνθήκες, παίζουν αποφασιστικό ρόλο στην ποιότητα και τυπικότητα των οίνων. Αυτές αποτελούν το «ποικιλιακό» άρωμα των οίνων. Το ποικιλιακό άρωμα του οίνου μπορεί να είναι διαφορετικό από το άρωμα που προσδίδουν οι ενώσεις που βρίσκονται σε ελεύθερη κατάσταση στο σταφύλι.

Οι πρόδρομες ενώσεις -οι άοσμες δηλαδή μορφές- οσμηρών πτητικών ενώσεων που υπάρχουν στο σταφύλι παίζουν στην περίπτωση αυτή σημαντικότερο ρόλο στη διαμόρφωση του ποικιλιακού αρώματος του οίνου (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Οι πτητικές οσμηρές ενώσεις σταφυλιών από ποικιλίες *Vitis vinifera* που θεωρούνται ότι διαμορφώνουν το ποικιλιακό άρωμα ανήκουν σε 4 βασικές οικογένειες: τερπένια, νορισοπρενοειδή με 13 άτομα άνθρακα, μεθοξυπυραζίνες καθώς και ορισμένες θειόλες και θειούχες ενώσεις (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Είναι γνωστό σήμερα ότι το άρωμα και το μπουκέτο των οίνων οφείλονται, κυρίως, στις ανώτερες αλκοόλες και τους εστέρες. Σημαντική θεωρείται, ωστόσο, η συμμετοχή και άλλων οσμηρών ενώσεων, όπως είναι οι αλδεΐδες, οι κετόνες, τα τερπένια, οι πυραζίνες, οι λακτόνες και φουρανόνες, τα πτητικά οξέα, οι αμίνες, οι φαινόλες και οι θειούχες ενώσεις (Clarke and Bakker, 2004).

Οι κλιματολογικές συνθήκες και διάφορες αμπελοκομικές πρακτικές έχουν μεγαλύτερη επίδραση στη συγκέντρωση παρά στον τύπο των οσμηρών πτητικών ενώσεων που υπάρχουν σε μια ποικιλία σταφυλιού (Cabrita et al., 2006). Η έκθεση των σταφυλιών στον ήλιο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης επιταχύνει την αποικοδόμηση των καρτενοειδών και συνοδεύεται από αύξηση στο περιεχόμενο των γλυκοζιλιωμένων παραγώγων των C13- νορισοπρενοειδών (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι, αν και τα ζεστά κλίματα είναι ευνοϊκά για την συσσώρευση των σακχάρων, δεν αποτελούν απαραίτητα τις καλύτερες προϋποθέσεις για την παραγωγή οίνων ποιότητας (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Επιζήμια, για την ποιότητα των σταφυλιών θεωρείται και η υψηλή εδαφική ή ατμοσφαιρική υγρασία κατά την περίοδο της ωρίμανσης (Σουφλερός, 1997).

Η άμπελος (*Vitis vinifera* L.) γενικά, είναι παραδοσιακά μια ανθεκτική στην ξηρασία μη αρδευόμενη καλλιέργεια (συνθήκες που αναφέρονται στο νησί της Σαντορίνης).

Κάτω από τις συνθήκες του μεσογειακού κλίματος ωστόσο, η διαχείριση του νερού στον αμπελώνα είναι μεγάλης σπουδαιότητας για τον έλεγχο των επιπτώσεων της ξηρασίας στην ποιότητα σταφυλιών και οίνου. Η αναπλήρωση π.χ. μέσω της άρδευσης, του νερού που χρειάζεται το αμπέλι για την ομαλή ανάπτυξη του και μέρος του οποίου χάνεται λόγω εξάτμισης και διαπνοής, αποτελεί μια πρακτική η οποία μπορεί να επηρεάσει το μεταβολισμό της αμπέλου επηρεάζοντας και τον οίνο που τελικά παράγεται (Esteban et al., 1999).

Σύμφωνα με τους Sang-Hwa et al., (2007), η έκθεση των σταφυλιών στο ηλιακό φως επιδρά σημαντικά στα επίπεδα των νορισοπρενοειδών και τερπενολών στα σταφύλια και τους οίνους, γεγονός που σαφώς επηρεάζει τους υπό μελέτη οίνους μας μιας και οι συνθήκες ωρίμανσης των σταφυλιών στο νησί της Σαντορίνης περιλαμβάνουν μεγάλη διάρκεια έκθεσης στο ηλιακό φως και έλλειψη νερού.

Η σύσταση του σταφυλιού, η οποία θα καθορίσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων, εξαρτάται από εσωτερικούς παράγοντες όπως η ποικιλία όπως και από εξωτερικούς όπως οι κλιματικές συνθήκες, το έδαφος, η περιοχή και οι καλλιεργητικές τεχνικές (Dirninger et al., 1998, Jackson and Lombard, 1993; Jones and Davis 2000; Troost, 1985). Σε αυτό το πνεύμα κάποιες έρευνες προσπάθησαν να καθιερώσουν κάποιες σχέσεις ανάμεσα στις οινοποιητικές παραμέτρους και την σύσταση του οίνου. Για παράδειγμα, προηγούμενες έρευνες έδειξαν την επίδραση της ημερομηνίας τρυγητού στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των οίνων. Οι Perez-Magarino and Gonzalez-San Jose (2006) βρήκαν ότι η ημερομηνία τρύγου η οποία είναι απευθείας συνδεδεμένη με τους βαθμούς ωριμότητας των σταφυλιών επηρεάζει τα χρωματικά χαρακτηριστικά των οίνων. Οι Du - Plessis (1984) και Hamilton and Coombe (1992) έδειξαν επίσης ότι η στιγμή για την συλλογή των σταφυλιών είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στην παρασκευή ποιοτικών οίνων. Με βάση τα χαρακτηριστικά των αμπελώνων κάποιοι ερευνητές βρήκαν ότι το έδαφος επηρεάζει την συνολική ποιότητα του σταφυλιού και συνεπώς την ποιότητα του αρώματος του παραγόμενου οίνου. Οι Sayed (1992) και Wiebe and Anderson (1997), για παράδειγμα βρήκαν διαφορετικές συστάσεις στον οίνο σύμφωνα με τον τύπο του εδάφους. Οι Sabon, de Revel, Kotseridis and Bertrand (2002) ανέφεραν επίσης την επίδραση των εδαφών της Rhone Valley (Γαλλία) στην αρωματική σύσταση των οίνων Grenache. Και ο Mahl (1998) έδειξε ότι οι οίνοι Muller-Thurgau και Riesling, που παρήχθησαν από κλήματα καλλιεργούμενα σε διαφορετικούς τύπους εδάφους μπορούσαν να διακριθούν μεταξύ τους. Αυτό δείχνει ότι παρότι το μακροκλίμα και το μικροκλίμα έχουν μεγάλη επίδραση στην ποιότητα του οίνου και την ποικιλιακή τυπικότητα, το έδαφος μπορεί να έχει μια ανεξάρτητη επίδραση.

Η έρευνα των Jose Gomez-Miguez et al., 2007, έδειξε ότι σχετικά με τα αρωματικά χαρακτηριστικά των οίνων στην περίπτωση των αργιλωδών εδαφών η ημερομηνία



του τρύγου δεν θα πρέπει να καθυστερεί λόγω της αρνητικής επίδρασης της στο άρωμα των παραγόμενων οίνων.

## **3.2 Πτητικά συστατικά του αρώματος που προέρχονται από το σταφύλι**

Ανήκουν σε διάφορες τάξεις χημικών ενώσεων, με σημαντικότερα τα τερπένια (χαρακτηριστικά των μοσχάτων ποικιλιών), τις πυραζίνες, τις φαινολικές ενώσεις αλλά και αλκοόλες όπως η μεθανόλη και η εξανόλη.

### **3.2.1 Τερπένια**

Σήμερα έχουν ανιχνευτεί περισσότερες από 70 ενώσεις κυρίως μονοτερπένια που μπορεί να είναι υδρογονάνθρακες, αλδεύδες, αλκοόλες ή ακόμη και εστέρες αλλά και κάποια σεσκιτερπένια. Γενικά πρόκειται για ενώσεις με έντονο και ευχάριστο χαρακτήρα αρώματος και έχουν σημαντική οργανοληπτική επίδραση. Στη φύση έχουν εντοπιστεί περισσότερες από 4000 τερπενικές ενώσεις και σε αυτές αποδίδεται το άρωμα των λουλουδιών. Στις μοσχάτες ποικιλίες εντοπίζονται στη ρόγα, κατά κύριο λόγο στη φλούδα, ενώ αυξάνονται κατά την ωρίμανση για να μειωθούν κατά την υπερωρίμανση. Αυτό όμως δεν ισχύει για όλες τις ποικιλίες όπως για παράδειγμα για το Μοσχάτο Αλεξανδρείας όπου τα περισσότερα τερπένια βρίσκονται στη σάρκα, κάτι που έχει μεγάλη τεχνολογική σημασία αφού υποδεικνύει ότι δεν είναι απαραίτητη η παραμονή του χυμού σε επαφή με τα στέμφυλα. Με τη χρήση της στατιστικής επεξεργασίας έγινε φανερό ότι η διαφοροποίηση των ποικιλιών σταφυλιού μπορεί να γίνει με βάση τις τερπενικές ενώσεις και όχι με τα αρώματα που προκύπτουν από τη ζύμωση (Τσακίρης, 2008).

Πολλοί ερευνητές έχουν θεμελιώσει την έννοια των πρόδρομων οσφρητικών ενώσεων που μπορεί να είναι μονοτερπενόλες, τερπενικές διόλες και πολυόλες, λιπαρά οξέα και καρτενοειδή. Πρόκειται για ενώσεις με κοινή προέλευση τα τερπένια αλλά με μεγαλύτερο μοριακό βάρος, τα οποία μπορούν να αποικοδομηθούν και να δώσουν ενδιαφέρουσες οσμηρές ενώσεις. Πολλές πρόδρομες ενώσεις είναι σε μορφή γλυκοζιτών και μπορούν να ελευθερωθούν δίνοντας οσμηρές ενώσεις. Οι ενώσεις αυτές με την πάροδο του χρόνου μειώνονται και, αν κάποιος θέλει να απελευθερώσει τα πτητικά συστατικά, πρέπει να επέμβει με την χρήση ενζύμων στο στάδιο της οινοποίησης. Η πρακτική αυτή έχει βρει βιομηχανική εφαρμογή αφού στο εμπόριο κυκλοφορούν τέτοιου είδους ένζυμα, η δε χρήση τους επιτρέπεται από τη νομοθεσία. Το άρωμα των λεγόμενων αρωματικών ποικιλιών, όπως τα μοσχάτα, οφείλεται σε τερπενικές ενώσεις όπως

τερπινεόλη, λιναλοόλη, γερανιόλη νερόλη και σε παράγωγα αυτών. Η συνολική συγκέντρωση αυτών των ενώσεων είναι 1-3 mg/l. Οι ενώσεις αυτές κατά την παλαίωση του οίνου, οξειδώνονται σε ενώσεις λιγότερο αρωματικές (Τσακίρης Α.,2008).

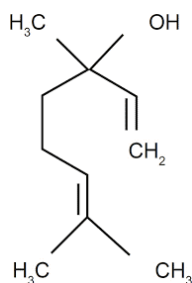
Στην ομάδα των τερπενικών ενώσεων οφείλεται η χαρακτηριστική αρωματική νότα των εσπεριδοειδών (λεμόνι, πορτοκάλι, κίτρο, γκρέιπφρουτ). Χαρακτηριστική ένωση αυτής της ομάδας είναι η κιτράλη (μίγμα δύο στερεοϊσομερών της γερανιάλης και της νεράλης) η οποία δίνει τον χαρακτήρα του ελαίου του λεμονιού και η νουτκατόνη με έντονο πικρό χαρακτήρα ως χαρακτηριστική ένωση του γκρέιπφρουτ (Ντουρτόγλου Θ.).

Τα τερπένια στο αρωματικό χαρακτήρα του κρασιού αναδεικνύουν χαρακτηριστικά αρώματα όπως λουλούδια, φρούτα, σπόρους, φύλλα, ξύλα και τις ρίζες του φυτού.

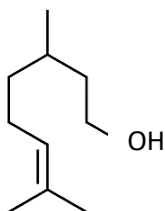
Σε αντίθεση με άλλα συστατικά στον οίνο, τα τερπένια κυρίως προέρχονται από τα σταφύλια. Στην πραγματικότητα μόνο τα τερπένια που βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή συμβάλουν στον αρωματικό χαρακτήρα του οίνου.

Από τις πιο σημαντικές τερπενικές μονοαλκοόλες, που διαμορφώνουν το χαρακτηριστικό άρωμα της ποικιλίας Μοσχάτο είναι :

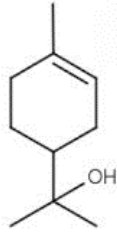
- Λιναλοόλη (οσμή τριαντάφυλλου ή κορίανδρου ή περγαμόντου)



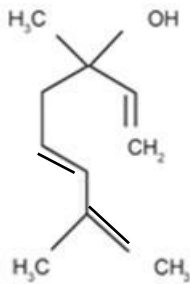
- Κιτρονελλόλης (οσμή βοτάνων- σιτρονέλλας)



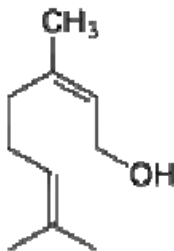
- α-τερπινεόλης (οσμή lily of the valley)



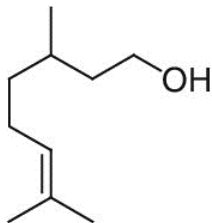
- ο-τριενόλης(οσμή φλαμουριάς).



- Νερόλη (χορτώδη οσμή ή οσμή τριαντάφυλλου) είναι ισομερές της Γερανιόλης



- Γερανιόλη (οσμή τριαντάφυλλου)



Αξιοσημείωτο είναι ακόμα το γεγονός ότι μεταξύ των τερπενίων υπάρχουν αλληλεπιδράσεις, όπως η συνέργεια, όπου μια ένωση μπορεί να αυξήσει το άρωμα μιας άλλης και το σύνολο των ενώσεων να είναι πιο αρωματικό από το άθροισμα του αρώματος από τις οποίες αποτελείται.

Τα τερπενικά συστατικά του οίνου και των σταφυλιών είναι ευαίσθητα σε όξινες συνθήκες, σε αύξηση της θερμοκρασίας και του χρόνου αποθήκευσης. Μετατρέπονται σε ενώσεις διαφορετικής αρωματικής έντασης και προσδίδουν διαφορετικό χαρακτήρα στον οίνο. Η λιναλοόλη οξειδώνεται στα οξείδια της, τα οποία έχουν κατώφλι αντίληψης περίπου δέκα φορές υψηλότερο από αυτήν ενώ η γερανιόλη και η νερόλη μετατρέπονται σε α-τερπινεόλη, η οποία είναι ένωση λιγότερο αρωματική.

Επειδή η β-D-γλυκοζιδάση των σταφυλιών και αυτή του *Saccharomyces cerevisiae* έχουν περιορισμένη δράση, πολλοί γλυκοζίτες παραμένουν στους νεαρούς οίνους. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την συγκέντρωση των τερπενίων στο σταφύλι και τους οίνους είναι πολλοί. Η συγκέντρωσή τους αυξάνεται κατά τα πρώτα στάδια της ωρίμανσης, ενώ μειώνεται προς το τέλος της και η μείωση αυτή συνεχίζεται στη φάση της υπερωρίμανσης. Το μέγιστο άρωμα τερπενικής προέλευσης αποδίδεται από σταφύλια που συγκομίζονται όταν έχουν συγκέντρωση σακχάρων ελαφρώς μικρότερη από την μέγιστη δυνατή (Marais, 1986).

Το μέγεθος του καρπού επιδρά επίσης στην ποσότητα των περιεχόμενων τερπενίων. Έρευνες έχουν δείξει ότι οι μεγαλύτερες ποσότητες μονοτερπενίων ελεύθερων ή όχι βρίσκονται στους φλοιούς των σταφυλιών που προέρχονται από την ποικιλία Muscat. Συνεπώς η επαφή του γλεύκους με τους φλοιούς μπορεί να επηρεάσει την ένταση και την ποιότητα του αρώματος των παραγόμενων οίνων, και παρά το ότι δεν περιλαμβάνεται στην κλασική λευκή οινοποίηση, η πραγματοποίησή της για μικρό χρονικό διάστημα, σαν προζυμωτική διεργασία, θα πρόσφερε βελτίωση της ποιότητας των οίνων (Riberau-Gayon, 2000, Marais, 1986, Bayonove et al., 1974).

Παρότι τα τερπένια δεν επηρεάζονται από την αλκοολική ζύμωση, η μόλυνση των σταφυλιών από *B. cinerea* μειώνει και τροποποιεί το τερπενικό περιεχόμενο. Αυτό αδιαμφησβήτητα παίζει ένα βασικό ρόλο στην απώλεια του ποικιλιακού χαρακτήρα στους περισσότερους οίνους με βοτρυτή (Bock et al., 1988).

Κάποια τερπένια γίνονται κυκλικά και σχηματίζουν λακτόνες, για παράδειγμα η 2-βινυλ-2-μέθυλο τέτρα ύδρο φουράν-5-όνη από τα οξείδια της λιναλοόλης. Άλλα τερπένια μπορεί να μετατραπούν σε κετόνες, όπως η α και β -ιονόνες, ή το βιτισπιρένιο.

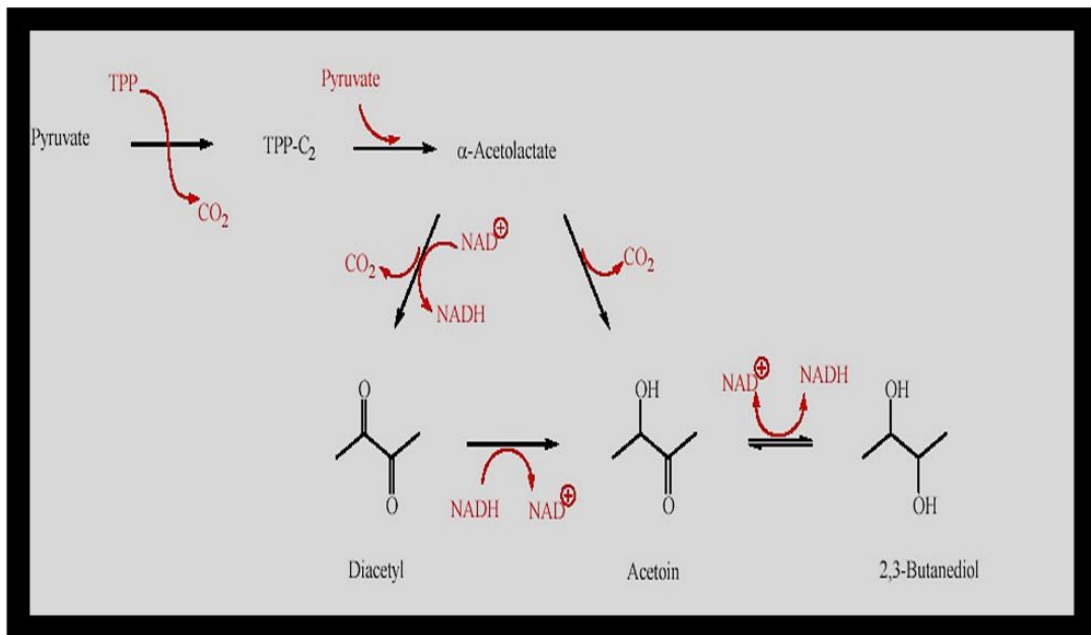
Παρότι τα περισσότερα τερπένια έχουν ευχάριστο άρωμα, μερικά δίνουν ελλατωματικές οσμές. Ένα παράδειγμα είναι σεσκιτερπένια με οσμή ψαριού που παράγονται από το *Penicillium roquefortii* στο φελλό (Heimann et al., 1983). Τα είδη του *Streptomyces* επίσης, μπορούν να συνθέσουν σεσκιτερπένια με γαιώδη οσμές στον φελλό ή το ξύλο των βαρελιών (Jackson, 2008).

### 3.2.2 Κετόνες

Λίγες κετόνες υπάρχουν στα σταφύλια και αυτά συνήθως εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, συμπεριλαμβανομένου και του διακετυλίου. Το διακετύλιο μπορεί βέβαια να παραχθεί κατά την μήλο-γαλακτική ζύμωση.

Οι ισοπρενοΐδεις κετόνες σχηματίζονται από την ενζυματική οξείδωση των καροτενίων, που είναι τερπένια με 40 άτομα άνθρακα και αποθηκεύονται ως γλυκοζίτες. Αυτή η διαδικασία συμβαίνει κατά την διάρκεια του περκασμού μέχρι και την ωρίμανση των σταφυλιών. Αυτοί οι γλυκοζίτες, όταν βρεθούν σε ελαφρά όξινο περιβάλλον, υδρολύονται και σχηματίζουν πολλές πτητικές ενώσεις, ανάμεσα στις οποίες είναι και οι αρωματικές ενώσεις δαμασκηνόνη, α- και β- ιονόνη, βιτισπιρένιο, Reasling ακετάλη και 1,1,6-τριμέθυλ-1,2-διϋδ로나φθαλενιο(TDN). Το διακετύλιο (το οποίο μαζί με την 2,3 πεντανοδιόνη αποτελούν τις συζυγείς δικετόνες) και σε μικρότερο βαθμό η 2,3 βουτανοδιόλη, μπορεί σε κάποια συγκέντρωση, να έχουν «βουτυρώδες» άρωμα, αλλά σε «χαλασμένους» οίνους μπορεί να θεωρηθεί ότι δεν συμβάλουν στον αρωματικό τους χαρακτήρα. Η ακετοΐνη παρουσιάζει μία ελαφρά μυρωδιά γάλακτος και μπορεί να γίνει αισθητή η παρουσία της στον οίνο. Οι άλλες απλές αλειφατικές κετόνες παρόλο που υπάρχουν ή σχηματίζονται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, δεν θεωρείται ότι συμμετέχουν πολύ στον αρωματικό χαρακτήρα των οίνων.

Η παραγωγή του διακετυλίου όμως μέσω της αποικοδόμησης του κιτρικού οξέος κατά την μηλογαλακτική ζύμωση στην οποία υποβάλλονται εσκεμμένα ή μή κάποιοι οίνοι μπορεί να έχει μεγάλο οινολογικό ενδιαφέρον μιας και επηρεάζει το άρωμα του οίνου. Σε χαμηλά επίπεδα (5 mg/l) το διακετύλιο θεωρείται ότι συμβάλλει στην πολυπλοκότητα του αρώματος μιας και μπορεί να επιδράσει θετικά με τα καραμελώδη και ξηρού καρπού(καρυδιού) χαρακτηριστικά του, παρότι σε υψηλότερα από 5 mg/l επίπεδα μπορεί να αποτελέσει αλλοίωση δημιουργώντας μία έντονη βουτυρώδη / καραμέλας βουτύρου γεύση, η οποία ανιχνύεται ως ελλάτωμα. Ο μικροβιακός συνεπώς σχηματισμός του διακετυλίου είναι μία δυναμική διαδικασία και συνεπώς η συγκεντρωσή του στον οίνο εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως το στέλεχος του βακτηρίου, το pH, η επαφή του οίνου με τις λάσπες και η περικτικότητα του σε SO<sub>2</sub> (Martineau and Herick-King 1995, Nielsen and Richelieu 1999). Το όριο αντίληψης του συστατικού ποικίλει ανάλογα με τα επίπεδα διαφόρων συστατικών του οίνου όπως αυτό του θειώδη ανυδρίτη. Μπορεί να παραχθεί ως ένας μεταβολίτης του κιτρικού οξέος όταν όλο το μηλικό οξύ έχει καταναλωθεί. Παρολαυτά, το διακετύλιο σπάνια μετατρέπει τον οίνο σε μη πόσιμο(Moreno and Carmen 2009).



**Εικόνα 8.** Σχηματισμός ακετοΐνης, διακετυλίου και 2,3-βουτανολίου από τις ζύμες

Αρκετές κετόνες έχουν ταυτοποιηθεί για την παρουσία τους στους οίνους, συμπεριλαμβανομένων και των προπανόνη, βουτανόνη και πεντανόνη. Οι πιο σημαντικές όμως είναι η ακετυμέθυλ -καρβινόλη και διακετύλιο. Οι άλλες απλές αλειφατικές κετόνες παρόλο που υπάρχουν ή σχηματίζονται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, δεν θεωρούνται ότι συμμετέχουν πολύ στον αρωματικό χαρακτήρα των κρασιών.

Οι σύνθετες κετόνες, β-δαμασκηνόνη και α,β-ιονόνες, βιτισπιρένιο, Riesling ακεταλη και 1,1,6-τριμέθυλ-1,2-διυδροναφθαλένιο (TDN) που ονομάζονται και ισοπρενοϊδή βρίσκονται στον τελικό οίνο, μερικώς ως αποτέλεσμα της έκθλιψης των σταφυλιών. Το TDN που έχει μια χαρακτηριστική οσμή «κηροζίνης», παίζει πολύ χαρακτηριστικό ρόλο στο άρωμα των οίνων από την ποικιλία Riesling (Simpson, 1978). Γενικά δεν το βρίσκουμε στα σταφύλια ή στους νέους οίνους, αλλά μπορεί να εμφανιστεί κατά την παλαίωση σε μπουκάλι, φτάνοντας σε συγκεντρώσεις των 200μg/l, ενώ το κατώφλι αντίληψης της είναι στα 20μg/l. Μετά από αρκετά χρόνια παλαίωσης σε μπουκάλι, η συγκέντρωση του μπορεί να φτάσει τα 40 parts per billion (ppb) (Rapp and Guntert, 1986). Πάνω από τα 20 ppb δίνει μία οσμή καπνιστού, κηροζίνης, παλαίωσης σε μπουκάλι ( Jackson, 2008).

Η β-δαμασκηνόνη βρίσκεται στους περισσότερους οίνους, και έχει μια μεθυστική μυρωδιά που θυμίζει εξωτικά λουλούδια με μία «φρουτώδη» νότα σαν «μήλο», «τριαντάφυλλο» και «μέλι» ενώ πιστεύεται ότι συμβάλλει στο άρωμα των οίνων από σταφύλια όπως το Chardonnay.

Η σημαντική αυτή ένωση (β-δαμασκηνόνη) απομονώθηκε πρώτη φορά από έλαιο τριαντάφυλλου από την Βουλγαρία από τους Demole et al., το 1973 και ταυτοποιήθηκε σε σταφύλια και οίνο από τους Schreier and Drawert. Ανήκει στην οικογένεια των συστατικών με τεράστια χρήση στην βιομηχανία αρωμάτων ως κετόνες τριαντάφυλλου (Ohloff and Demole, 1987). Από τότε έχει ανιχνευτεί σε πολλά φρούτα και φυτά. Η β-δαμασκηνόνη πιστεύεται ότι προέρχεται από την αποικοδόμηση της καροτενοΐδους νεοξανθίνης από ένα πολύπλοκο μονοπάτι (Sefton et al., 1989, Winterhalter and Skouroumounis., 1996). Έχει ένα όριο ανίχνευσης στα 0,002ppb στο νερό (Buttery and Teranishi., 1988) και έχει περιγραφεί ως ανθική και ιώδης παρότι η συγκεντρωσή της παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στον αντιληπτό χαρακτήρα της (Ohloff, 1978), ( Kotseridis et al., 1998).

Οι Winterhalter et al., 1990 , έδειξαν ότι η β-δαμασκηνόνη προήλθε από την όξινη υδρόλυση πολλαπλών πρόδρομων ουσιών, σε οίνους ποικιλίας Riesling, μετά από διαχωρισμό των πρόδρομων με DCCC (droplet counter-current chromatography). Αυτό έχουν υποστηρίξει ευρήματα σε φλοιούς σταφυλιών ποικιλίας Concord (Braell et al., 1986). Οι πρόδρομες ενώσεις φαίνεται να περιλαμβάνουν γλυκοζίτες με διαφορετικά τμήματα σύζευξης καθώς και μή γλυκοζιτικά συστατικά (πολουόλες).

Σύμφωνα με τους Kotseridis et al., 1999 οι οποίοι μελέτησαν τα επίπεδα της β-δαμασκηνόνης μεταξύ οίνων διαφορετικών ποικιλιών αλλά και μεταξύ οίνων της ίδιας ποικιλίας βρέθηκαν σημαντικές διαφορές. Πιθανόν οι διαφορές μεταξύ των αμπελοτοπιών και του κλήματος να είχαν επίδραση στα επίπεδα των προδρόμων της β-δαμασκηνόνης στα σταφύλια και κατ'επέκταση στα επίπεδα της ελεύθερης β-δαμασκηνόνης στους οίνους. Τα επίπεδα που βρέθηκαν ήταν υψηλότερα από τα αναφερόμενα επίπεδα των λευκών οίνων (Guth., 1997), γεγονός το οποίο θα μπορούσε να εξηγηθεί από τις διαφορετικές οινοποιητικές τεχνικές και συγκεκριμένα από την προζυμωτική εκχύλιση με τους φλοιούς για 15-20 ημέρες στην περίπτωση των ερυθρών οίνων που μετείχαν στην μελέτη. Αποδείχθηκε ότι υψηλά επίπεδα των πρόδρομων της β-δαμασκηνόνης βρέθηκαν σε φλοιούς σταφυλιών της ποικιλίας Cabernet Sauvignon (Naiker and Allen, 1997). Η συγκεκριμένη έρευνα των Kotseridis et al., 1999 έδειξε ότι οι μισές ποσότητες οι οποίες μετρήθηκαν στο γλεύκος αντιπροσώπευσαν τις ποσότητες της β-δαμασκηνόνης η οποία μετρήθηκε στον οίνο.

Οι α,β-ιονόνες έχουν οσμή «βιολέτας» και έχουν βρεθεί σε πολλές λευκές ποικιλίες σταφυλιών (Schreier et al, 1976) , όπως και στα σταφύλια της ποικιλίας Μοσχάτο (Etiévant et al, 1983).

Βρίσκονται επίσης συνήθως ως δευτερογενείς μεταβολίτες από την ενζυματική οξείδωση των αντίστοιχων καροτενοειδών (Wahlberg and Enzell, 1987) και έχουν επίσης σημαντικές εφαρμογές στον τομέα του αρώματος (Naves, 1947). Η α-ιονόνη έχει πολλές περιγραφές ως βιολέτα, ανθική, ξυλώδη και φρουτώδη ενώ η β-ιονόνη

έχει περιγραφεί ως ξυλώδη, ξηρών φρούτων και με άρωμα βατόμουρου (Perfumers Compendium). Οι α και β ιονόνες έχουν όριο αντίληψης στο νερό τα 0,4 (Keith and Powers, 1968) και 0,007 ppb αντίστοιχα .

Οι α και β ιονόνες όπως και η β-δαμασκηνόνη υπάρχουν στο γλεύκος των σταφυλιών και στους οίνους σε χαμηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με άλλα πτητικά συστατικά ( Kotseridis et al., 1998).

Το βιτισπιρένιο (VTS) σχηματίζεται κατά την παλαίωση των οίνων και φτάνει σε συγκεντρώσεις μεταξύ 20 και 100 ppb. Συνίσταται από δύο ισομερή που το κάθε ένα έχει διαφορετική οσμή. Το cis- ισομερές έχει οσμή «χρυσάνθεμου» ενώ το trans έχει μια πιο βαριά οσμή εξωτικών φρούτων.

Η Riesling ακετάλη έχει βρεθεί στα γλεύκη και στους οίνους της ποικιλίας Riesling και έχει μια ελαφρά φρουτένια οσμή.

### **3.2.3. Αλκοόλες**

Η εξανόλη, γνωστή και ως "leaf " αλκοόλη, έχει μία χορτώδη μυρωδιά η οποία γίνεται αισθητή όταν περιέχεται σε αρκετή ποσότητα στους οίνους, μαζί με τις cis και trans εξανόλη-1. Συνήθως τη βρίσκουμε και στο μούστο λόγω της ενζυματικής δράσης στο λινολεϊκό οξύ που είναι αποτέλεσμα της έκθλιψης των σταφυλιών.

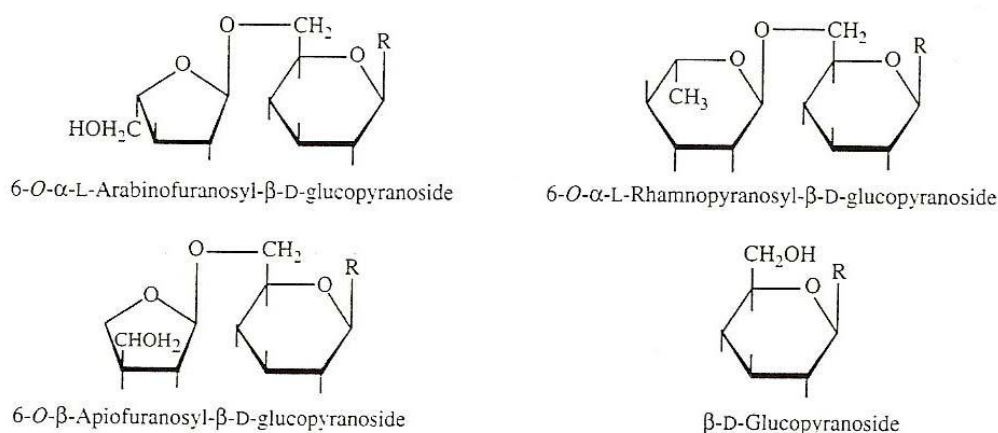
### **3.2.4. Γλυκοζίτες οσμηρών πτητικών ενώσεων**

Η έρευνα των τελευταίων δεκαετιών έχει αποκαλύψει ότι ένας μεγάλος αριθμός οσμηρών πτητικών ενώσεων των οίνων απαντά στο σταφύλι με τη μορφή μη πτητικών γλυκοζιτών (Williams et al., 1982b; Zoecklein et al., 2000; Whiton and Zoecklein, 2002; Cabrita et al., 2006).

Ο όρος «γλυκοζίτες» περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα ενώσεων που έχουν ένα κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα: αποτελούνται από ένα τουλάχιστον μόριο σακχάρου ενωμένο με ένα άλλο συστατικό το οποίο αναφέρεται ως αγλυκόνη. Οι γλυκοζίτες αποτελούν προϊόντα συμπύκνωσης και σχηματίζονται από το υδρογόνο του ημιακεταλικού υδροξυλίου και την υδροξυλομάδα από μια άλλη ένωση (Μπόσκου, 1997). Άοσμες είναι και οι συζευγμένες με σάκχαρα μορφές των μονοτερπενίων. Οι μονοτερπενικοί γλυκοζίτες απαντούν στα σταφύλια σε συγκέντρωση από 2 έως και 8 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με τα ελεύθερα πτητικά οσμηρά τερπένια αποτελώντας μία εξαιρετικά σημαντική δεξαμενή ποικιλιακού αρώματος (Günata et al., 1985).



Η κατηγορία αυτή των πτητικών ενώσεων έχει τραβήξει από πολύ νωρίς το ενδιαφέρον των ερευνητών και αποτελεί ένα διαρκές αντικείμενο μελέτης. Στα σταφύλια οι κύριες μονοτερπενόλες και οι τερπενικές πολυόλες απαντούν και με τη μορφή γλυκοζιτών (Williams et al., 1982; Voirin et al., 1990, Allen et al. 1989; Schwab et al., 1990; Sarry and Gunata 2004) στους οποίους συμμετέχουν 4 βασικά σάκχαρα: γλυκόζη, αραβινόζη, ραμνόζη και απιόζη. Τέσσερις τύποι γλυκοζιτών έχουν ταυτοποιηθεί (Εικόνα 6): τρεις διγλυκοζίτες (6-O-α-L-αραβινοφουρανοζυλο-β-D-γλυκοκυρανοζιτής, 6-O-α-L- ραμνοκυρανοζυλο-β-D-γλυκοκυρανοζιτής, 6-O-β-D-απιοφουρανοζυλο-β-D- γλυκοκυρανοζιτής) και ένας μονογλυκοζιτής (β-D-γλυκοκυρανοζιτής) (Maicas and Mateo, 2005).



**Εικόνα 6.** Συντακτικοί τύποι των τερπενικών γλυκοζιτών (ή νορισοπρενοειδών) που απαντούν στα σταφύλια. R= τερπενόλη ή C13-νορισοπρενοειδές (ή τερπενικές πολυόλες ή πτητικές φαινόλες ή φαινολικά οξέα)

Οι γλυκοζίτες βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στα κύτταρα του φλοιού της ράγας (στη στοιβάδα της επιδερμίδας) σε σχέση με τη σάρκα (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Καθώς πολλές οσμηρές πτητικές ενώσεις απαντούν στα σταφύλια σε μεγαλύτερη συγκέντρωση με τη μορφή των γλυκοζιτών παρά ως ελεύθερες ενώσεις, οι τελευταίοι αποτελούν μια πολύ σημαντική πρόσθετη πηγή αρώματος το οποίο απελευθερώνεται μέσω της ήπιας όξινης υδρόλυσης που πραγματοποιείται φυσικά κατά τη διάρκεια της οινοποίησης και της παλαίωσης των οίνων (Sefton, 1994; Zoecklein et al., 2000; Naiker, 2001; Cabrita et al., 2006; Arevalo Villena et al., 2006).

### 3.2.5. Μεθόξυ Πυραζίνες

Η εκτίμηση της σημασίας των μεθοξυπυραζινών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων είναι σχετικά πρόσφατη παρότι προσδιορίστηκαν σε οίνο για πρώτη φορά το 1975, ενώ αποτελούν την πηγή του αρώματος των φασολιών, των σπαραγγιών ,της πράσινης πιπεριάς κ.α. Είναι πολύ έντονες και η οσμή τους είναι ανιχνεύσιμη σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις όπως μέρη στο τρισεκατομμύριο

(parts per trillion ή ng /l). Αυτές οι ενώσεις είναι σημαντικές για το άρωμα του οίνου λόγω των εξαιρετικά χαμηλών ορίων αντιληψής τους. Οι πυραζίνες (3-ισοβουτύλο-2-μεθοξυπυραζίνη, η 3-sec-βουτύλο -2- μεθοξυπυραζίνη και η 3-ισοπρόπυλο- 2- μεθόξυ πυραζίνη συνδέονται με το πράσινο, φυτικό άρωμα το οποίο είναι χαρακτηριστικό των οίνων Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc και Merlot, όπως επίσης και των Sauvignon blanc και Semillon. Η 3-ισοβουτύλο-2-μεθοξυπυραζίνη παίζει σημαντικό ρόλο στην οσμή πράσινης πιπεριάς συχνά εμφανή στο Sauvignon blanc ( Allen et al.,1991).

Η περιεκτικότητα σε πυραζίνες στα πρώτα στάδια της ωρίμανσης είναι σχετικά υψηλή και μειώνεται κατά τη διάρκειά της. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του καρπού οι πυραζίνες είναι αρχικά εντοπισμένες στους βλαστούς, όσο δε προχωρά η ωρίμανση η συγκέντρωσή τους μειώνεται και εντοπίζονται κυρίως στους φλοιούς και τα γίγαρτα. Με την οινοποίηση μεταφέρονται στον οίνο. Επιπλέον έχει μελετηθεί η επίδραση των κλιματικών συνθηκών στην περιεκτικότητα των πυραζινών. Σε μία μελέτη της μεταβολής της συγκέντρωσης αυτών των ενώσεων, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης σταφυλιών Sauvignon blanc σε δύο περιοχές της Νέας Ζηλανδίας, ( Allen et al.,1991) βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα σε πυραζίνες στο στάδιο της ωρίμανσης ήταν κάτω από το όριο αντιληψής τους στη θερμότερη περιοχή (1,3 ppt) , ενώ στο ψυχρό κλίμα ήταν περίπου πέντε φορές μεγαλύτερη από το κατώφλι αντίληψης (9,5 ppt)( Ντουρτόγλου Θ.).

Οι 3-αλκύλο -2- μεθόξυπυραζίνες τείνουν να έχουν πράσινα και λαχανώδη αρώματα και βρίσκονται σε μία πληθώρα προϊόντων όπως το ποπ κορν (Walradt et al., 1970) , οι πράσινες πιπεριές( Buttery et al., 1969, Buttery et al., 1969) τα σπαράγγια, ο αρακάς και οι πατάτες (Murray and Whitfield ,.1975). Αυτές οι ίδιες μεθόξυ πυραζίνες μπορούν να συνεισφέρουν στον πράσινο και άγουρο χαρακτήρα του οίνου(Kotseridis et al.,2008).

Οι τρεις σημαντικότερες μεθόξυπυραζίνες που αναφέρθηκαν αρχικά είναι και αυτές οι οποίες θεωρούνται να αποτελούν κάποια από τα βασικά ποικιλιακά πτητικά τα οποία αναφέρθηκαν σε σταφύλια και οίνους, αρχικά ταυτοποιήθηκαν σε οίνους από Cabernet Sauvignon (Bayonove et al., 1975), αργότερα σε Sauvignon blanc (Augustyn et al., 1982) και άλλες ποικιλίες σταφυλιού της *Vitis vinifera* (Sala et al., 2007). Η ωριμότητα των σταφυλιών στον τρύγο και η έκθεση στον ήλιο είναι οι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα των μεθόξυ πυραζινών στους οίνους (Sala et al., 2005). Σύμφωνα με τους Kotseridis et al., 2008, η απολάσπωση πριν την αλκοολική ζύμωση μειώνει την συγκέντρωση της 3-ισοπρόπυλο-2-μεθόξυπυραζίνης στον παραγόμενο οίνο συγκριτικά με το μή απολασπωμένο γλεύκος. Η μείωσή της είναι τόσο μεγαλύτερη όσο περισσότερο χρόνο αφήνεται να διαυγάσει το γλεύκος. Μετά την αλκοολική ζύμωση παρατηρείται μία αύξηση στη συγκέντρωση της πιθανόν λόγω της αποικοδόμησης των στερεών των σταφυλιών τα

οποία παραμένουν στο γλεύκος μετά την απολάσπωση, όπως αναφέρθηκε και στην μικροοινοποίηση του Cabernet Sauvignon (Roujou et al.,2002). Η υψηλή θολερότητα του αρχικού μή διαυγασμένου γλεύκους (1280 NTU) δείχνει ότι περιέχει σημαντικά επίπεδα στερεών και επιβεβαιώνει την προηγούμενη υπόθεση. Μία ενδιαφέρουσα και λιγότερο πιθανή εξήγηση είναι η παραγωγή της 3-ισοπρόπυλο-2-μεθόξυπυραζίνης από τους ζυμομύκητες όπως έχει αρχικά αναφερθεί από τους Pickering et al.,2010. Συνεπώς η απολάσπωση θα ήταν μία απλή πρακτική που θα μπορούσε να ακολουθήσει ο οινοποιός για να μειώσει την δυναμική συγκέντρωση της 3-ισοπρόπυλο-2- μεθόξυπυραζίνης στον οίνο όταν διαχειρίζεται σταφύλια πρώιμης ωριμότητας.

Η απόχρωση της φιάλης και οι συνθήκες φωτός και θερμοκρασίας στις οποίες εκτίθεται ένας οίνος κατά την αποθήκευση και την εμπορική του διανομή είναι πιθανόν να αποτελούν επιπρόσθετες ευκαιρίες για μείωση των συγκεντρώσεων των μεθοξυπυραζινών ( Blake et al., 2010). Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, τα επίπεδα των μεθοξυπυραζινών στα σταφύλια , είναι σημαντικά χαμηλότερα σε ώριμα φρούτα ή σε φρούτα καλλιεργούμενα σε θερμότερα κλίματα ως αποτέλεσμα της αυξημένης έκθεσης στο φώς (Hashizume and Samuta, 1999; Ryona et al., 2008) και στην θερμοκρασία (Falcao et al., 2007).

Λαμβάνοντας υπ'όψιν την δυναμικότητά τους καθώς και το γεγονός ότι υψηλά επίπεδα των μεθόξυ πυραζινών σχετίζονται με τα άγουρα σταφύλια και/ή το οργανοληπτικό σφάλμα που προκύπτει απο την προσβολή σταφυλιών από πασχαλίτσες ( Pickering et al. 2005; Ross and Weller 2007) είναι σημαντικό να μπορούμε αξιόπιστα να ποσοτικοποιήσουμε την κατηγορία αυτών των συστατικών στον οίνο. Η μέτρηση των μεθόξυ πυραζινών στον οίνο είναι πολύπλοκη λόγω των πολύ χαμηλών συγκεντρώσεών τους και της πολυπλοκότητας του οίνου, γεγονός που το κάνει ιδιαίτερα δύσκολο να διαχωριστούν και να ποσοτικοποιηθούν. Οι Botezatu et al., 2014 ανέπτυξαν μια MD-GC-MS μέθοδο χάρη στην οποία κατάφεραν να ποσοτικοποιήσουν ταυτόχρονα και τις 4 αρωματικά ενεργές αλκυλο-μεθόξυπυραζίνες οι οποίες σχετίζονται με την ποιότητα του οίνου.

### **3.3 Πτητικά συστατικά του αρώματος που δημιουργούνται κατά τη ζύμωση**

#### **3.3.1. Αιθανόλη**

Η αιθανόλη είναι αδιαμφισβήτητα η πιο σημαντική αλκοόλη μέσα στο κρασί. Η αιθανόλη είναι οργανικό υποπροϊόν της αλκοολικής ζύμωσης. Κάτω από κανονικές συνθήκες ζύμωσης , η αιθανόλη μπορεί να συσσωρεύεται μέχρι περίπου 14-15 % .Η αιθανόλη (αιθυλική αλκοόλη) (σ.ζ.78.3<sup>0</sup>C) έχει χαρακτηριστική και αρκετά δριμύα οσμή.

### 3.3.2. Ανώτερες αλκοόλες

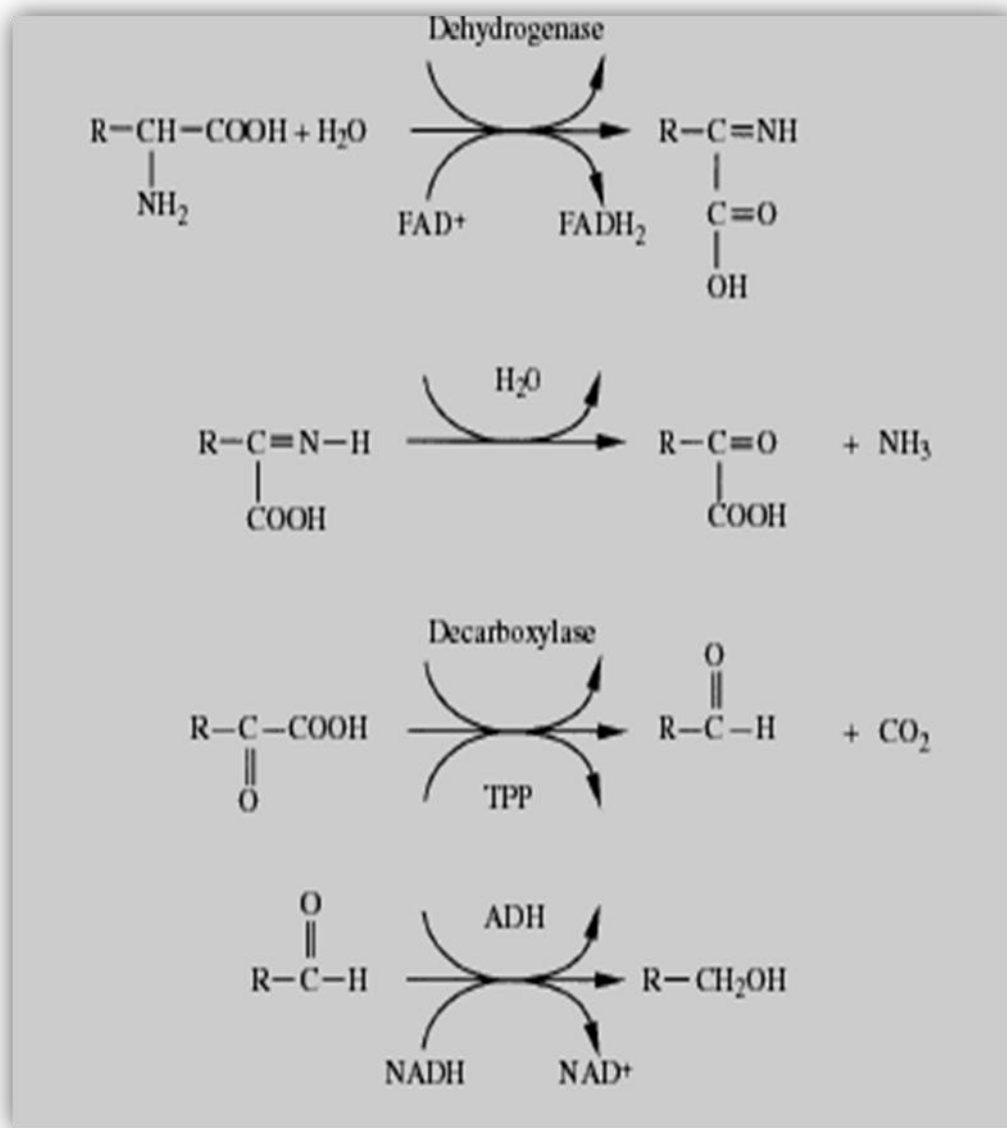
Όπως έχουμε αναφέρει είδη, οι ανώτερες αλκοόλες με ευθεία άλυσσο ή αλλιώς fusel oils (ζυμέλαια) είναι προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης και παράγονται μαζί με την αιθυλική αλκοόλη. Οι ανώτερες αλκοόλες σχηματίζονται από τις ζύμες είτε κατευθείαν από τα σάκχαρα ή από τα αμινοξέα των σταφυλιών μέσω της αντίδρασης Ehrlich (Berry, 1995). Αυτή η αντίδραση προκαλείται από την δράση της FAD + δεϋδρογονάση, η οποία οξειδώνει τα αμινοξέα σε υμινοξέα. Αυτά υδρολύονται σε α-κετονοξέα, και μετά υπόκεινται σε αποκαρβοξυλίωση από το συνένζυμο θειαμίνη πυροφωσφατάση.

Έτσι η λευκίνη μετατρέπεται σε ισοαμυλική αλκοόλη (3-αίθυλ-βουτανόλη-1), η Ι-ισολευκίνη σε αμυλαλκοόλη (2-μέθυλ-βουτανόλη-1) και η βαλίνη σε ισοβουτανόλη (2-μέθυλο-1-προπανόλη).

Κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι ο σχηματισμός των ανώτερων αλκοολών επηρεάζεται από τις οινοποιητικές πρακτικές, έτσι ώστε η σύνθεση τους να ευνοείται από την παρουσία οξυγόνου, τις υψηλές θερμοκρασίες ζύμωσης και την παρουσία αιρούμενων σωματιδίων στο γλεύκος. Ωστόσο οι Ribéreau-Gayon et al., (2000) θεωρούν ότι ισχύει το αντίθετο.

Επίσης η προσθήκη ζάχαρης και οι κλειστές δεξαμενές ζύμωσης δείχνουν να συμβάλλουν στην σύνθεση ανώτερων αλκοολών. Ακόμα οι Chen (1978) και Jackson (1994), υποστηρίζουν ότι κάποιες ανώτερες αλκοόλες μπορεί να προέρχονται από τις αλδεΐδες που βρίσκονται στο σταφύλι και από αναγωγική αφαίρεση της αζωτούχου ομάδας (reductive denitrification) του αμινοξέος ή διαμέσου σύνθεσης από τα σάκχαρα. Επιπροσθέτως οι ανώτερες αλκοόλες σχηματίζονται από τον μεταβολισμό των ζυμομυκήτων αλλοίωσης και βακτηριδίων.

Σύμφωνα με έρευνες (Ehrlich), η παραγωγή των fusel oils (ζυμελαίων) οφείλεται στην ανάγκη των ζώντων κυττάρων ζύμης να εφοδιάσουν τον εαυτό τους με πρωτεΐνη από την διάσπαση των αμινοξέων στο ζυμούμενο χυμό.



**Εικόνα 7.** Βιοσύνθεση των ανωτέρων αλκοολών σύμφωνα με την αντίδραση Ehrlich (Berry,1995)

Στον οίνο βρίσκουμε την προπανόλη-1 σε συγκεντρώσεις 10-70 mg/l που έχει οσμή παρόμοια με αυτή της αιθανόλης. Βρίσκουμε επίσης την προπανόλη-2. Η βουτανόλη-1 υπάρχει σε συγκεντρώσεις 0,5-8 mg/l και έχει οσμή παρόμοια με την αιθανόλη. Βρίσκουμε ακόμη την βουτανόλη-2 και την ισοβουτανόλη (2-μέθυλο-1-προπανόλη). Η μέθυλο-2-βουτανόλη-1 υπάρχει σε συγκεντρώσεις 15-150 mg/l και η μέθυλο-3-βουτανόλης-1 σε συγκεντρώσεις 30-500 mg/l. Και οι δύο αυτές αλκοόλες έχουν χαρακτηριστική, αρκετά δριμεία, οσμή διαλυτικού και ονομάζονται αμυλικές αλκοόλες. Βρίσκουμε επίσης εξανόλη, επτανόλη, οκτανόλη και δεκανόλη. Η φαίνυλο-2-αιθανόλη έχει οσμή τριαντάφυλλου σε υδατικά διαλύματα και συγκεντρώσεις 10-80 mg/l. Η τυροσόλη έχει οσμή μελιού.

Οι ανώτερες αλκοόλες βρίσκονται πάντα σε αυξημένη συγκέντρωση στους οίνους που κρίνονται καλά στη δοκιμασία. Όταν η ολική τους περιεκτικότητα ξεπεράσει τα 450 mg/l τα κρασιά εμφανίζουν βαριά οσμή. Η βουτανοδιόλη- 2,3 σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης ως δευτερεύων προϊόν, όπως και η ακετόϊνη. Η γλυκερόλη υπάρχει στον οίνο σε συγκεντρώσεις 5-20 g/l. Σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και ειδικότερα στην αρχή της όπου το NAD καταναλώνεται για την παραγωγή των δευτερευόντων προϊόντων.(Τσακίρης, 2008). Έρευνες έδειξαν ότι η ποσότητα των ανώτερων αλκοολών εξαρτάται από τις συνθήκες οινοποίησης (Ribéreau-Gayon, 1978) και (Σουφλερός 1978).

Αυτές οι ανώτερες αλκοόλες έχουν ένα δριμύ, καυστικό χαρακτήρα. Σε υψηλές συγκεντρώσεις είναι αρνητικοί ποιοτικοί παράγοντες αλλά σε μικρές συγκεντρώσεις προσθέτουν στα επιθυμητά αρωματικά χαρακτηριστικά του οίνου.

### **3.3.3. Πτητικά οξέα**

Πρόκειται για κορεσμένα μονοκαρβονικά οξέα (λιπαρά οξέα) με 2 έως 12 άτομα άνθρακα. Τα λιπαρά οξέα βουτυρικό και ισοβαλερικό έχουν οσμές που θυμίζουν τυρί. Τα λιπαρά οξέα με 5 έως 12 άτομα άνθρακα είναι πιο ουδέτερα οσφρητικά, αλλά δίνουν εξαιρετικά ενδιαφέροντες και ευχάριστους αρωματικά εστέρες. Τα οξέα με ακόμα μεγαλύτερο μοριακό βάρος δεν έχουν οργανοληπτική σημασία. Λινελαϊκό και λινολενικό είναι τα οξέα από τα οποία προέρχεται η εξανόλη και η εξανάλη, που είναι υπεύθυνες για τις φυτικές οσμές των οίνων που προέρχονται από άγουρα σταφύλια. Τα οξέα θεωρούνται γενικά ότι έχουν δυσάρεστο άρωμα, όμως συμβάλλουν στη γενική οσφρητική ισορροπία, συμμετέχοντας στην οσφρητική πολυπλοκότητα που αποτελεί τη βάση της ποιότητας του οίνου. Το οξικό οξύ, παρά την κακή του φήμη, είναι απαραίτητο για την πολυπλοκότητα του αρώματος του οίνου (Dubois, 1994).

### **3.3.4. Πτητικές φαινολικές ενώσεις**

Τα φαινολικά οξέα όπως το καφεϊκό οξύ, δεν είναι οσμηρές ενώσεις, αλλά μέσα από διάφορες χημικές αντιδράσεις μπορούν να μετατραπούν σε άλλες που εμφανίζουν άρωμα καπνού, ξύλου ή δέρματος. Αυτό έχει αποδειχθεί με προσθήκη τέτοιων ουσιών στο κρασί. Τις περισσότερες φορές τα αρώματα αυτά δεν γίνονται εμφανή, γιατί καλύπτονται από άλλες ενώσεις. Είναι εστεροποιημένα με τρυγικό οξύ, ενώ πολλά είναι ενωμένα με γλυκόζη. Έχουν μεγάλη διαφοροποίηση ανάλογα με την ποικιλία του σταφυλιού. Ένα μέρος τους χάνεται από οξειδώσεις, ενώ οι ζύμες μπορούν να τα αποκαρβοξυλιώσουν και να δώσουν πτητικά παραπροϊόντα. Πτητικές φαινόλες μπορούν, εκτός της ζυμωτικής οδού, να παραχθούν με ενζυμική υδρόλυση. Επίσης, με εστεροποίηση των φαινολικών οξέων παράγονται ενώσεις,

όπως ο κινναμωμικός αιθυλεστέρας που έχει εξαιρετικά χαμηλό κατώφλι οσφρητικής αντίληψης. Πρόκειται για ουσίες που συμβάλλουν στο χαρακτηρισμό των ποικιλιών (Τσακίρης, 2008). Οι ενώσεις αυτές θεωρείται ότι δεν ανήκουν στα πρωτογενή αρωματικά συστατικά αλλά σχηματίζονται μάλλον κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης ή της θερμικής κατεργασίας των τροφίμων. Τα φαινολικά οξέα και η λιγνίνη διασπώνται θερμικά (π.χ κατά την κατεργασία του καπνισμού) ή αποικοδομούνται από μικροοργανισμούς σε φαινόλες. Ο καπνός που παράγεται από την καύση του ξύλου (πυρόλυση της λιγνίνης) εμπλουτίζει τα προϊόντα με τα οποία έρχεται σε επαφή με φαινόλες και αποκτούν χαρακτηριστικό άρωμα (Ντουρτόγλου Θ.).

### 3.3.5 Θειούχες ενώσεις

Οι θειούχες ενώσεις των οίνων, εκτός από το υδρόθειο που έχει οσμή κλούβιου αυγού ανήκουν σε διάφορες ομάδες όπως οι:

- **Θειόλες( μερκαπτάνες)** είναι οργανικές ενώσεις που στο μόριο τους έχουν και μια ομάδα (-SH). Η πιο αντιπροσωπευτική ένωση αυτής της ομάδας είναι η αιθανθειόλη. Έχει μια οσμή «κρεμμυδιού», «λάστιχου» όταν βρίσκεται σε συγκεντρώσεις κοντά στο κατώφλι αντίληψης ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, έχει μια οσμή «βόθρου». Μια συναφής θειόλη, η 2-μερκαπτοαιθανόλη, συνδέεται με την παραγωγή μιας οσμής «στάβλου» (Rapp et al., 1985). Υπάρχουν όμως και θειούχες ενώσεις που περιέχουν πτητικά συστατικά, είναι συχνά πολύ οσμηρά ενώ η ομάδα που συγκροτούν συνεισφέρει σημαντικά στον φρουτώδη χαρακτήρα των οίνων με αρώματα όπως του φραγκοστάφυλλου, του γκρέιπφρουτ και του passionfruit τα οποία βρίσκονται σε πολύ υψηλές ποσότητες σε οίνους της ποικιλίας Sauvignon blanc σύμφωνα με έρευνες σε ποικιλιακούς οίνους της Ν.Ζηλανδίας. Οι συγκεντρώσεις της 3-μερκαπτο-εξαν-1-όλη, 3MH (με αρώματα γκρέιπφρουτ και passionfruit) κυμάνθηκαν στα 100-20000 ng/l, με όριο αντίληψης τα 60 ng/l ενώ του οξικού-3-μερκαπτοεξυλεστέρα, 3MHA (με γλυκά αρώματα passionfruit) κυμάνθηκαν στα 5-2500 ng/l με όριο αντίληψης τα 4 ng/l (Benkwitz and Nicolau, 2016), ενώ της μερκαπτο-4-μεθυλοπεντάν-2-όνη, 4MMP (με αρώματα βατόμουρου και passionfruit), με όριο αντίληψης τα 3 ng/l έφτασαν τα 30 ng/l. Η απελευθέρωση των ελεύθερων θειολών μέσα στον οίνο επηρεάζεται άμεσα από τη δράση των ζυμομυκήτων καθώς και από την ύπαρξη των πρόδρομων ουσιών αυτών. Στο σταφύλι απαντούν με τη μορφή πρόδρομων άοσμων ενώσεων συζευμένων με το αμινοξύ κυστεΐνη (Tomimaga et al., 1998a). Μετά από έρευνες γνωρίζουμε ότι αυτές οι θειόλες συμβάλλουν μοναδικά στο χαρακτηριστικό άρωμα του Sauvignon blanc (Darriet, 1993, Tomimaga et al., 1998a). Σύμφωνα με την Natoiya, 2013 οι πρόδρομες ουσίες της 3MH βρίσκονται στον φλοιό των σταφυλιών ενώ της 4MMP στη σάρκα τους με αποτέλεσμα η προζυμωτική κρυσταλλοποίηση και

μάλιστα για μεγαλύτερο χρόνο και σε υψηλότερη θερμοκρασία (18-20 °C) να οδηγεί σε αυξημένες ποσότητες 3MH στον οίνο. Παρότι για παράδειγμα η συγκέντρωση της 3MH στον τρύγο κυμαίνεται σύμφωνα με έρευνες στα 100 ng/l, μετά την αλκοολική ζύμωση η συγκεντρωσή της στο τελικό προϊόν μπορεί μέχρι και να τετραπλασιαστεί. Ηπιο υδατικό στρές και μέτρια παροχή αζώτου αυξάνουν την συγκέντρωση των πτητικών θειολών στον οίνο (Natoiyga, 2013 ).

- **Θειοαιθέρες** , είναι οργανικές ενώσεις με θείο και χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός μορίου θείου ενωμένο ανάμεσα σε δύο άτομα άνθρακα. Για παράδειγμα, το διμεθυλ-σουλφίδιο(DMS) έχει δομή  $\text{CH}_3 -\text{S}-\text{CH}_3$ . Πάνω από το κατώφλι αντίληψης έχει μια οσμή «γαρίδας» ενώ σε μικρότερες συγκεντρώσεις η οσμή του θυμίζει «σπαράγγια», «καλαμπόκι», «μελάσα»(Lewis and Young, 1998).
- **Σουλφίδια και ετεροκυκλικές ενώσεις** που είναι κυκλικές ενώσεις που περιέχουν θείο, όπως η 2-μέθυλοθειοάνη -3-όλη που έχει μια αμυδρή οσμή «κρεμμυδιού» ή θείο και άζωτο , όπως η 5-(2-ύδροξυαιθύλο )-4-μέθυλοθειαζόλη που έχει οσμή «φυστικού».
- **Θειοεστέρες** που σχηματίζονται μεταξύ μιας καρβονυλικής ένωσης που περιέχει θείο και μιας αλκοόλης , με πιο σημαντικό τον 3-μερκαπτοπροπιονικό αιθυλεστέρα που έχει οσμή που θυμίζει «αλεπού».

Οι ενώσεις με μικρό μοριακό βάρος, όπως το υδρόθειο και οι μερκαπτάνες, στους οίνους που δεν παρουσιάζουν οργανοληπτικό ελάττωμα, βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες, κάτω από το κατώφλι οσφρητικής αντίληψης. Ακόμη και όταν φτάσουν το κατώφλι αυτό, ο οίνος δεν αποκτά δυσάρεστο οσφρητικό χαρακτήρα. Διάφοροι παράγοντες δημιουργούν μεγαλύτερες ποσότητες, οδηγώντας σε οίνο με σαφή οργανοληπτικά ελαττώματα. Η δημιουργία του υδρόθειου σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητη για τις ζύμες, γιατί επιτρέπει την παραγωγή θειούχων ενώσεων, όπως η θειαμίνη, η κυστεΐνη, η μεθειονίνη, απαραίτητων στην ανάπτυξη των ζυμών και άρα είναι συνδεδεμένη και με τον τρόπο μεταβολισμού του αζώτου. Παράγεται με την αναγωγή ανόργανων ενώσεων του θείου που υπάρχουν στο γλεύκος, ως αποτέλεσμα της θείωσης των σταφυλιών ή του γλεύκους. Το υδρόθειο μπορεί να προέρχεται επίσης από την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών από τις ζύμες σε περιβάλλον που υπάρχει έλλειψη αφομοιώσιμου αζώτου. Παρόμοιο προϊόν είναι το διμεθυλοσουλφίδιο (DMS), προϊόν δευτερευόντος μεταβολισμού του θείου (με οσμή βρασμένου καλαμποκιού) που λαμβάνεται από την κυστεΐνη, που επίσης μπορεί να παραχθεί κατά την ωρίμανση του οίνου, συμμετέχοντας στην οσφρητική πολυπλοκότητα.

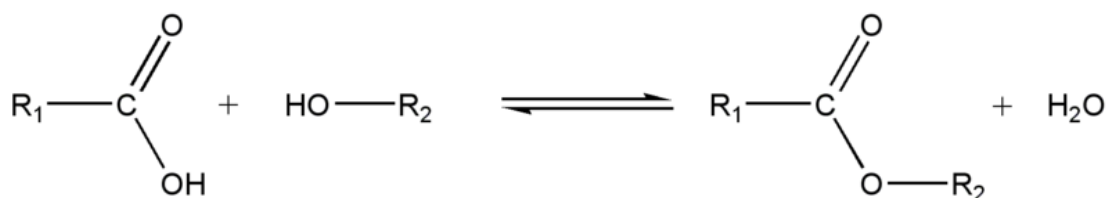
Μία άλλη κατηγορία ενώσεων είναι τα προϊόντα μεταβολισμού της κυστεΐνης, της μεθειονίνης και της ομομεθειονίνης όπως η 2-μερκαπτοαιθανόλη, από μεταβολική οδό που εικάζεται ότι είναι παρόμοια αυτής των ανώτερων αλκοολών. Συνήθως η



περιεκτικότητά τους δεν ξεπερνά το κατώφλι αντίληψης και γι' αυτό συμμετέχουν στη γενική οσφρητική αντίληψη και πολυπλοκότητα του κρασιού δίχως να δημιουργούν οργανοληπτικά ελλατώματα.

### 3.3.6 Εστέρες

Οι εστέρες σχηματίζονται από την ένωση μιας αλκοόλης και ενός οξέος με την απώλεια ενός μορίου νερού. Η αντίδραση είναι αντιστρεπτή.



**Σχήμα 1** Αντίδραση εστεροποίησης

Οι εστέρες προέρχονται:

- Από τα σταφύλια σε πολύ μικρό ποσοστό
- Από την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης (**ουδέτεροι εστέρες**)
- Κατά την ωρίμανση των οίνων, από μία πολύ αργή χημική αντίδραση εστεροποίησης (**οξικοί εστέρες**).

Οι ουδέτεροι εστέρες ονομάζονται και **πτητικοί εστέρες** ενώ οι όξινοι εστέρες, κυρίως του τρυγικού και του μηλικού οξέως, ονομάζονται **μη πτητικοί εστέρες**

Από όλες τις ομάδες ενώσεων στον οίνο, οι εστέρες είναι αυτοί που αναγνωρίζονται πιο συχνά. Περίπου 160 διαφορετικοί εστέρες έχουν ταυτοποιηθεί. Οι περισσότεροι από αυτούς έχουν βρεθεί σε ίχνη και είτε έχουν μικρή πτητικότητα, είτε έχουν ήπια οσμή, επομένως η συμβολή τους στο άρωμα είναι μικρή. Παρόλα αυτά οι πιο κοντινοί εστέρες βρίσκονται σε συγκεντρώσεις οι οποίες είναι στο όριο αντίληψης τους ή πάνω από αυτό. Οι εστέρες αυτοί έχουν κυρίως φρουτώδη οσμή και είναι σημαντικοί στη δημιουργία του αρώματος κυρίως των φρέσκων, λευκών οίνων.

**Οι Μόνο καρβοξυλικοί** είναι αυτοί που το οξύ από το οποίο προέρχονται έχει μια μόνο καρβοξυλομάδα και είναι αυτοί που παίζουν σημαντικό ρόλο στο αρωματικό προφίλ των οίνων.

Από αυτή την ομάδα οι πιο σημαντικοί είναι αυτοί που σχηματίζονται από την αιθανόλη και κορεσμένα οξέα όπως το εξανοϊκό, το οκτανοϊκό και το δεκανοϊκό οξύ και αυτοί από οξικό οξύ και ανώτερες αλκοόλες, όπως ισοβουτυλική και ισοαμυλική αλκοόλη. Οι εστέρες μικρού μοριακού βάρους αποκαλούνται και '**φρουτώδεις**' εστέρες και προσδίδουν ένα ευχάριστο φρουτώδες άρωμα στον οίνο. Όσο το μήκος

της ανθρακικής αλυσίδας μεγαλώνει, ο αρωματικός χαρακτήρας των εστέρων αυτών μετατρέπεται από φρουτώδης προς σαπωνοειδή για να καταλήξει σε λιπαρή νότα, όπως συμβαίνει με τους εστέρες των λιπαρών οξέων με C16-C18 (Killiam and Ough 1979).

Οι υψηλές θερμοκρασίες, επίσης, δρουν ως παρεμποδιστές στην συσσώρευση εστέρων, ενώ ευνοούν την υδρόλυση αυτών. Η χαμηλή συγκέντρωση σε SO<sub>2</sub> και η διαύγαση του γλεύκους ευνοούν την σύνθεση και την διατήρηση των εστέρων. Η ενδοκυτταρική ζύμωση (carbonic maceration) και η απουσία οξυγόνου κατά την ζύμωση ενισχύουν επιπλέον τον σχηματισμό εστέρων. (Killiam and Ough 1979)

Ο οξικός αιθυλεστέρας συνοδεύεται πάντα από οξικό οξύ και συμβάλλει σε μια διακριτή, υπόξινη γεύση στον οίνο σε μία τυπική συγκέντρωση των 120-160 mg/L, σε αντίθεση με το οξικό οξύ το οποίο είναι αισθητό στον οίνο, μόνο σε συγκέντρωση περίπου 700 mg/L. Η συνήθης συγκέντρωση του οξικού αιθυλεστέρα στον οίνο είναι 50-150 mg/L, το όριο αναγνώρισης βέβαια είναι στο 12-14 mg/L.

Σε χαμηλές συγκεντρώσεις μπορεί να είναι ευχάριστος και η συμβολή του θετική στο γενικό άρωμα, ενώ σε μεγαλύτερη συγκέντρωση δίνει μία ξινή και ελαττωματική οσμή. Η ανάπτυξη ανεπιθύμητου ποσοστού οξικού αιθυλεστέρα συνήθως συνδέεται με το σταφύλι, τον μούστο ή την επιμόλυνση του οίνου από οξικά βακτήρια. Ο οξικός αιθυλεστέρας μπορεί να καταστρέψει το άρωμα ενός οίνου, πολύ πριν τα επίπεδα του οξικού οξέος φθάσουν σε συγκέντρωση τέτοια ώστε να καταστρέψουν τον οίνο.

Οι Pineau et al., (2009) έδειξαν πρώτοι ότι μικρές διακυμάνσεις ανάμεσα σε 15 εστέρες του οίνου μπορούν να προκαλέσουν μεγάλες διαφοροποιήσεις στο συνολικό αρωματικό προφίλ του.

Ιδιαίτερα σημαντικοί όμως για το άρωμα του οίνου αναφέρονται και κάποιοι υδροξυλιωμένοι εστέρες, όπως ο 2-ύδροξυ-4-μεθυλοπεντανοϊκος αιθυλεστέρας, ο οποίος αποτελεί μία ένωση που χρησιμοποιείται στη βιομηχανία των αρωμάτων. Οι Luccarelli et al., περιέγραψαν το άρωμα του από βατόμουρο και λάδι βαλεριάνας και έδειξαν ότι η συγκεκριμένη ένωση είναι από μόνη της χρήσιμη σε επίπεδα από 1-100 ppm για να αναδείξει αρώματα βατόμουρου, τροπικών φρούτων, μήλου ποικιλίας cashew (*Anacardium occidentale L*), λάιμ και λαδιού βαλεριάνας. Επιπλέον έδειξαν ότι η συγκεκριμένη ένωση αναμεμιγμένη με C4-C10 αλκανοϊκά οξέα, ενίσχυσε την φυσική, ώριμη τροπική φρουτώδη γεύση στα φρούτα (Lytra et al., 2012).

### **3.3.7. Αλδεΐδες**

Οι αλδεΐδες, εκτός από την ακεταλδεΐδη βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες στον οίνο. Ενώ οι αλδεΐδες μπορεί να υπάρχουν στο σταφύλι κατά την διάρκεια της οινοποίησης οι περισσότερες θα οξειδωθούν προς τις αντίστοιχες αλκοόλες.

Η ακεταλδεΐδη είναι προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης αλλά η περιεκτικότητά της εξαρτάται από την ποσότητα του διοξειδίου του θείου που υπάρχει και με το οποίο ενώνεται. Η ακεταλδεΐδη ενώνεται επίσης με την αλκοόλη προς σχηματισμό ακετάλης.

Μόνο η ελεύθερη ακεταλδεΐδη συμβάλει στον αρωματικό χαρακτήρα του οίνου. Μεγάλες ποσότητες ακεταλδεΐδης καθιστούν τον οίνο ανούσιο και επίπεδο.

Η εξανάλη και οι δύο εξανάλεις trans και cis έχει αναφερθεί από πολλούς ερευνητές, ότι βρίσκονται στο σταφύλι και στο μούστο, μαζί με την 3-εξανόλη και trans-εξ-2-ενόλη. Η παρουσία τους οφείλεται στην έκθλιψη των σταφυλιών.

Κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης αυτές οι αλδεΐδες μετατρέπονται στις αντίστοιχες αλκοόλες, που έχουν παρόμοια «χορτώδη» αρώματα σε μικρές συγκεντρώσεις.

### **3.3.8. Ακετάλες**

Η ακετάλη σχηματίζεται από την αντίδραση της ακεταλδεΐδης με την αιθανόλη και θεωρείται ότι έχει αρωματικό χαρακτήρα. Γενικά οι ακετάλες, που σχηματίζονται από άλλες αλκοόλες και αλδεΐδες παρουσιάζουν ένα πιο «φυτικό» αρωματικό χαρακτήρα αλλά θεωρείται ότι έχουν μικρό ρόλο στο άρωμα του κρασιού. Επειδή θεωρείται ότι σχηματίζονται κατά την οξειδωτική παλαίωση και απόσταξη, προκρίπτονται σε οίνους τύπου sherry είτε σε brandy (Jackson, 2008).

### **3.3.9. Λακτόνες/ Φουρανόνες**

Περίπου 20 λακτόνες έχει ταυτοποιηθεί ότι υπάρχουν στους οίνους και αρκετές άλλες έχουν πρόσφατα ταυτοποιηθεί ότι βρίσκονται στα σταφύλια είτε ότι εκχυλίζονται από τα δρύινα βαρέλια κατά την διάρκεια της παλαίωσης.

Οι περισσότερες λακτόνες /φουρανόνες φαίνεται ότι σχηματίζονται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης.

Η πιο γνωστή είναι η γ-βουτυρολακτόνη με συγκέντρωση περίπου 1mg /l ( Ribéreau-Gayon et al., 2000) αλλά δεν θεωρείται ως σημαντικό αρωματικό συστατικό των οίνων.

Οι λακτόνες/φουρανόνες δείχνουν μια ποικιλία αρωματικών χαρακτηριστικών.

Οι Sotolon και η HDMF ή φουρανεόλη παρόλο που έχουν παρόμοια χημική δομή, παρουσιάζουν διαφορετικά αρωματικά χαρακτηριστικά (Wang et al., 2017). Η Sotolon (4,5-διμεθυλο-τετρα-ύδρο-2,3-φουρανοδιόνη) είναι χαρακτηριστική των οίνων μολυσμένων από *Botrytis* (Masuda et al., 1984), όπως επίσης και των οίνων τύπου Sherry (Martin et al., 1992). Έχει μία οσμή γλυκιά, καμμένη, καρυδιού.

Έτσι ενώ τα δεύτερα ισομερή έχουν μια φρουτώδη/γλυκιά οσμή, τα πρώτα έχουν μια πικάντικη νότα. Οι 2-όνες τείνουν να παρουσιάζουν λιπαρό και χορτώδη χαρακτήρα, ειδικά αυτές με μικρό μοριακό βάρος, ενώ αυτές με μεγάλο μοριακό βάρος έχουν και μια νότα «καρύδας».

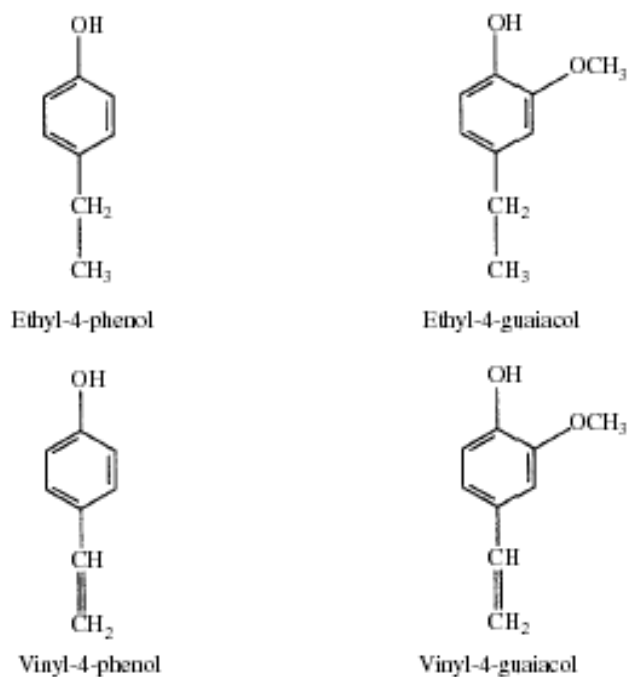
### 3.3.10. Πτητικές Φαινόλες που δημιουργούνται κατά την οινοποίηση

Τα φαινολικά παράγωγα θα μπορούσαν να καταταχθούν σε δύο κύριες κατηγορίες, οι οποίες είναι πολύ σημαντικές κατά την εφαρμογή της οινολογικής πρακτικής, είτε αναφερόμαστε σε ερυθρούς, είτε σε λευκούς οίνους. Οι κατηγορίες αυτές είναι:

**Οι πολυμοριακές φαινόλες:** έχουν βασικό τύπο C6-C3-C6, ο οποίος αντιστοιχεί στη φλαβόνη. Για το λόγο αυτό το όνομά τους είναι φλαβανοειδείς φαινόλες. Κύριοι εκπρόσωποι των φλαβανοειδών φαινολών είναι οι ανθοκυάνες και οι ταννίνες.

**Οι μονομοριακές φαινόλες:** όπως είναι το γαλλικό οξύ και το καφεϊκό οξύ, που σε αντιδιαστολή προς τις πολυφαινόλες της προηγούμενης ομάδας, ονομάζονται μη φλαβανοειδείς φαινόλες (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Η οικογένεια των φαινολικών παραγώγων είναι μια από τις σημαντικότερες οικογένειες φυτοχημικών ουσιών και απασχολούν ιδιαίτερα τη βιομηχανία των τροφίμων και όχι μόνο.



### Εικόνα 9. Πτητικές φαινόλες

Από τις ζύμες με αποκαρβοξυλίωση των αντίστοιχων φαινολικών οξέων παράγεται κατά κύριο λόγο η 4-βινυλφαινόλη και η 4-βινυλγουαϊακόλη με χαρακτηριστικό άρωμα γαρύφαλλου.

Σχηματίζονται μάλιστα σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα στους λευκούς οίνους σε σχέση με τους ερυθρούς. Ενισχύουν το άρωμα των οίνων, αν και δεν φτάνουν στο κατώφλι αντίληψης. Στον οίνο ανιχνεύονται επίσης και τα αίθυλο-παράγωγά τους, 4-αιθυλ-φαινόλη και 4-αιθυλ-γουαϊακόλη και η παρουσία τους αποδίδεται στην δράση του βρετανομύκητα, *B.Bruxellensis* (Chatonnet et al., 1995).

## Κεφάλαιο 4. Μέθοδοι κατεργασίας δειγμάτων για τον προσδιορισμό πτητικών συστατικών του αρώματος σε οίνο

### 4.1. Γενικά

Λόγω της πολυπλοκότητας του αρώματος του οίνου και της μεγάλης ποικιλίας των αρωματικών ενώσεων που το αποτελούν, είναι δύσκολο να μετρήσουμε ποσοτικά τις πτητικές ενώσεις και την αρωματική ένταση του οίνου. Ένα σημαντικό μέρος αυτών των ενώσεων στον οίνο βρίσκεται μόνο σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις ενώ για να έχουμε ακριβή αποτελέσματα τα δείγματα πρέπει να είναι αρκετά συμπυκνωμένα. Μπορεί να οξειδωθούν εύκολα όταν έλθουν σε επαφή με τον αέρα ή να μεταβληθούν από την θερμότητα ή το pH, ενώ πολλά αρωματικά συστατικά είναι ασταθή σαν ενώσεις.

Έτσι ένα από τα κύρια προβλήματα ,που προκύπτουν κατά την μελέτη των ενώσεων που είναι υπεύθυνες για το άρωμα του οίνου, είναι η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου απομόνωσης των ενώσεων αυτών που θα μας δώσει ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα παρόμοιο με αυτό του αρώματος του οίνου, τον οποίο εξετάζουμε. Οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί στην προσπάθεια να επιτευχθεί αυτός ο σκοπός, έχουν τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματά τους (Etievant ,1996).

#### 4.1.1 Υγρή-Υγρή Εκχύλιση (liquid-liquid extraction)

Είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος εκχύλισης. Πραγματοποιείται για το διαχωρισμό μιας ουσίας με τη χρήση ενός διαλύτη. Στηρίζεται στις παραλλαγές της διαλυτότητας των διαφόρων ενώσεων. Επιλέγεται ένας διαλύτης, ο οποίος δεν θα αναμειγνύεται με την ένωση οπότε θα σχηματίσει δύο ξεχωριστά στρώματα. Είναι επίσης σημαντικό ότι η ένωση που θα εκχυλιστεί πρέπει να έχει μεγαλύτερη διαλυτότητα από τον διαλύτη που έχει προστεθεί. Η επιλογή του διαλύτη που θα χρησιμοποιηθεί εξαρτάται από τις χημικές και φυσικές ιδιότητες όλων των ουσιών του μείγματος.

Σε αυτή την μέθοδο, όλα τα πτητικά συστατικά έχουν υψηλό συντελεστή διαχωρισμού (**partition coefficient**) στην οργανική φάση, παρ' όλου που χρειάζεται να εξατμιστεί ο διαλύτης, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει, σε μερικές περιπτώσεις, σε απώλεια ή μείωση μερικών συστατικών και τον σχηματισμό άλλων που δεν υπάρχουν στο αρχικό δείγμα οίνου ή και που μπορεί να μην μας είναι απαραίτητα για την ανάλυση. Η υγρή-υγρή μικροεκχύλιση, που περιγράφεται από τους Ortega et al., (2001), είναι μια εξελιγμένη μέθοδος για την απομόνωση και συμπύκνωση των πτητικών ενώσεων του οίνου, γιατί η ποσότητα του διαλύτη που χρειάζεται είναι σημαντικά πιο λίγη. Τα κύρια προτερήματα της μεθόδου είναι η ταχύτητα, η απλότητα, το χαμηλό κόστος, η καλή αναπαραγωγικότητα ενώ είναι ιδανική για αναλύσεις ρουτίνας και προσδιορίζει τα αρκετά από τα πιο σημαντικά πτητικά αρωματικά του οίνου (Ortega et al., 2001). Ως βασικό σημείο προσοχής μπορεί να θεωρηθεί η αφαίρεση της υγρασίας για το προς ανάλυση σε χρωματογράφο δείγμα.

Στην εκχύλιση η επιλογή του διαλύτη πραγματοποιείται με βάση τα παρακάτω κριτήρια:

- δεν αντιδρά με την εκχυλιζόμενη ουσία, αλλά έχει την ικανότητα να επιδιαλύει τα αφόρτιστα σωματίδια της
- ο συντελεστής κατανομής της εκχυλιζόμενης ουσίας (διαλυτότητα) πρέπει να διαφέρει σημαντικά από αυτούς των παρεμποδίσεων και να έχει τη μέγιστη δυνατή τιμή (ισχύει η βασική αρχή ότι “όμοια διαλύουν όμοια”)
- μικρή διαλυτότητα του διαλύτη στο ύδωρ (μικρότερη του 5%)

- διαφορετική πυκνότητα από αυτή του ύδατος για πληρέστερο και ταχύτερο διαχωρισμό των φάσεων
- η εκχυλισθείσα ουσία πρέπει να ανακτάται εύκολα (π.χ. με εξάτμιση του διαλύτη)

Πρακτικά η τεχνική καθορίζεται από τον αριθμό των εκχυλίσεων για να επιτευχθεί ο επιδιωκόμενος διαχωρισμός. Η πλέον απλούστερη είναι η τεχνική του λουτρού κατά την οποία διαχωρίζονται ουσίες των οποίων οι συντελεστές κατανομής διαφέρουν σημαντικά.

Παράδειγμα αυτής είναι η εκχύλιση με τη χρήση διαχωριστικής χοάνης. Εάν οι λόγοι κατανομής δεν διαφέρουν σημαντικά τότε απαιτείται ικανός αριθμός εκχυλίσεων για τον διαχωρισμό και χρησιμοποιείται η τεχνική συνεχούς εκχύλισης ή η τεχνική της εκχύλισης κατ' αντιστροφή (Μπακέα και Ευσταθίου, 2008).

Είναι προφανές, ότι καθοριστικός παράγοντας στην διαδικασία της εκχύλισης είναι ο χρησιμοποιούμενος διαλύτης. Ένας κατάλληλος διαλύτης θα πρέπει να διαλύει, αν είναι δυνατόν εκλεκτικά την οργανική ουσία που πρόκειται να εκχυλιστεί, να μην αντιδρά με αυτήν, να απομακρύνεται εύκολα και να μην είναι εύλεκτος ή τοξικός. Τα δύο τελευταία κριτήρια παρόλο που είναι επιθυμητά δεν είναι πάντα εύκολο να ικανοποιηθούν και οι εργασίες της εκχύλισης θα πρέπει να γίνονται με την μεγαλύτερη δυνατή προσοχή. Οι οργανικοί διαλύτες είναι οι κοινοί μη αναμίξιμοι με το νερό οργανικοί διαλύτες (αιθέρας, χλωροφόρμιο, διχλωρομεθάνιο κλπ), οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την παραλαβή ουδετέρων οργανικών ουσιών από υδατικά διαλύματα ή αιωρήματα. Είναι οι κατ'εξοχήν οργανικοί διαλύτες εκχύλισης.

#### **4.1.2. Εκχύλιση στερεής φάσης Solid-phase extraction (SPE)**

Είναι μια από τις πολλές τεχνικές που είναι διαθέσιμες για τον διαχωρισμό των φάσεων. Το φιλτράρισμα, η ομογενοποίηση, η καθίζηση, η εύρεση του πιθανού διαλύτη, η αφαίρεση της φάσεως που είναι προς αναζήτηση και η διαλυτοποίηση είναι μερικές δραστηριότητες που πιθανόν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα ή και σε συνδιασμό σε κάποιο δείγμα, με τα κατάλληλα όργανα ανάλυσης που απαιτούνται, για τον προσδιορισμό της μεθόδου. Σπάνια χρησιμοποιείται χωρίς τα στάδια που απαιτούνται για την προετοιμασία του δείγματος, όπως για παράδειγμα η αραιώση ή η ρύθμιση του pH (Simpson, 2000).

Η χρήση της SPE επιτρέπει την απομόνωση διαφορετικών συστατικών, την συμπύκνωση και τον καθαρισμό του δείγματος μαζί με την αλλαγή του υποστρώματος από υδατικό σε οργανικό (Bielička and Voelkel, 2009). Βασίζεται στην εκλεκτική συγκράτηση των αναλυτών σε ένα πληρωτικό υλικό και την έκλουσή τους στην συνέχεια με τον κατάλληλο διαλύτη (Huck and Bonn, 2000).

Είναι πιο αποδοτική από την υγρή-υγρή εκχύλιση, οι ποσοτικές εκχυλίσεις γίνονται πιο εύκολα, δεν παρουσιάζει προβλήματα στον διαχωρισμό των φάσεων είναι γρήγορη και μπορεί να αυτοματοποιηθεί. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό ημι-πτητικών ή και καθόλου πτητικών ενώσεων, αλλά έχει αρκετά αυξημένο κόστος (Thurman et al., 1998).

#### **4.1.3. Solid-phase microextraction (SPME)**

Είναι μια τεχνική παρασκευής του δείγματος που είναι προς ανάλυση χωρίς τη χρήση διαλυτών. Είναι γρήγορη, ευαίσθητη προς τον τρόπο πραγματοποίησης της και οικονομικά προσεγγίσιμη. Εύκολα μπορεί να χρησιμοποιηθεί με την βοήθεια αναλυτικών οργάνων (Pawliszyn, 1997).

Η αναλυτική διαδικασία για τα περισσότερα δείγματα αποτελείται από διάφορα δείγματα τα οποία τυπικά περιέχουν τη δειγματοληψία, την προετοιμασία του δείγματος, τον διαχωρισμό, την ποσοτικοποίηση, την στατιστική εκτίμηση και την λήψη αποφάσεων (Pawliszyn, 2012).

Η εφαρμογή της μεθόδου SPME για τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων στο άρωμα του οίνου είναι ανάλογη με τα χαρακτηριστικά της ποικιλίας αυτού. Υπάρχουν πάνω από χίλιες οργανικές ενώσεις κατοχυρωμένες στη βιβλιογραφία του οίνου, από τις οποίες ένας μεγάλος αριθμός αυτών έχει αναλυθεί σε αέριο χρωματογράφο. Τα τελευταία χρόνια η SPME χρησιμοποιείται σαν μέθοδος δειγματοληψίας στον αέριο χρωματογράφο για την ανάλυση των πτητικών ενώσεων στον οίνο (Pawliszyn, 2012).

Η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου δειγματοληψίας παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με την υγρή-υγρή εκχύλιση με διαλύτη των 1,1,2-τριχλωροτριφθοροαιθάνιο το οποίο είναι επίσης χρήσιμο στην αέρια χρωματογραφία. Πάντως η SPME δεν απαιτεί την χρήση διαλύτη υδρογονάνθρακα που απαιτούνται στην υγρή-υγρή εκχύλιση.

#### **4.1.4. Static headspace techniques**

Όπως και η στερεή μικροεκχύλιση (solid-phase microextraction SPME) είναι γρήγορες, απλές και δεν χρειάζεται η παρουσία διαλύτη για την ανάλυση των ενώσεων από υγρά και στερεά δείγματα (Mejias et al., 2003).

Παρ' όλα αυτά, το κύριο μειονέκτημα είναι η χαμηλή ευαισθησία της μεθόδου. Επιπλέον, είναι αρκετά περίπλοκες και δεν είναι κατάλληλες για ημι-πτητικά συστατικά (semi-volatile) (Vas et al., 1998).



#### **4.1.5. Dynamic headspace analysis**

Πραγματοποιούνται με διάφορους τρόπους όπως: με την χρήση μιας παγίδας που περιέχει προσροφητική ουσία, ή με την χρήση ενός πολύπλοκου συνδυασμού μεταξύ ενός συστήματος καθαρισμού και μιας συνεχούς υγρή-υγρής εκχύλισης με Freon 11 (Rapp and Knipsner, 1985).

Εντούτοις, η ευαισθησία αυτών των τεχνικών είναι αυστηρά απαγορευμένη από την πτητικότητα των προς ανάλυση ενώσεων και ενώσεις βαρύτερες από την β-φαινυλαιθανόλη μπορούν δύσκολα να ανιχνευθούν. (Ortega et al., 2001; Ferreira et al., 1996, 1998).

#### **4.1.6. Απόσταξη**

Η μέθοδος της απόσταξης είναι περίπλοκη και καθόλου κατάλληλη για αναλύσεις ρουτίνας. Η υπερκρίσιμη υγρή εκχύλιση και η ταυτόχρονη απόσταξη και εκχύλιση του διαλύτη παρουσιάζει διάφορα μειονεκτήματα, όπως η πολυπλοκότητα, ο χρόνος, ο πιθανός σχηματισμός αναλυτικών μη επιθυμητών συστατικών και η μείωση των αρωματικών ενώσεων (Castro et al., 2002; Bonino et al., 2003; Demytenaere et al., 2003).

### **4.2. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των μεθόδων εκχύλισης**

Ένα από τα κύρια προβλήματα που οι ερευνητές έχουν να αντιμετωπίσουν κατά τη μελέτη των ενώσεων που είναι υπεύθυνες για το άρωμα του οίνου, είναι η επιλογή της κατάλληλης διαδικασίας απομόνωσης και η λήψη ενός αντιπροσωπευτικού εκχυλίσματος παρόμοιο με το άρωμα αυτού. Αρκετές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί στη προσπάθεια να επιτύχουμε αυτό το στόχο. Όλη αυτή η διαδικασία παρουσιάζει ορισμένα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα (Etievant, 1996).

- Η Υγρή-υγρή εκχύλιση είναι μια βελτιωμένη μέθοδος για την απομόνωση και την συγκέντρωση των πτητικών συστατικών του οίνου, επειδή η ποσότητα του διαλύτη που απαιτείται είναι αξιοσημείωτα μικρότερη. Τα κύρια πλεονεκτήματά της είναι η ταχύτητα, η απλότητα, το χαμηλό κόστος, η καλή επαναληψιμότητα, η καταλληλότητα για τη συνήθη ανάλυση και η ικανότητα για την ποσοτικοποίηση των πιο σημαντικών πτητικών συστατικών του οίνου (Ortega et al., 2001).
- Η static headspace technique είναι μια μέθοδος γρήγορη, απλή και δεν απαιτείται η παρουσία διαλύτη. Τα κύρια μειονεκτήματα είναι η χαμηλή ευαισθησία της μεθόδου, η περιπλοκότητα της και ότι δεν είναι καθόλου κατάλληλη για ημι-πτητικά συστατικά (Vas et al., 1998).

- Η dynamic headspace analysis μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους τρόπους, όμως είναι αρκετά ευαίσθητη και δύσκολα ανιχνεύει ενώσεις βαρύτερες από την β-φαινυλαιθανόλη (Ortega et al., 2001; Ferreira et al., 1996, 1998).
- Η απόσταξη σαν μέθοδος είναι αρκετά πολύπλοκη, απαιτεί χρόνο, υπάρχει η πιθανότητα σχηματισμού μη επιθυμητών συστατικών, αλλά και η μείωση των αρωματικών ενώσεων (Castro et al., 2002; Bonino et al., 2003; Demytenaere et al., 2003).
- Η solid-phase microextraction (SPME) έχει αρκετές ομοιότητες με την υγρή υγρή εκχύλιση, δεν απαιτεί τη χρήση διαλύτη, αλλά έχει αρκετά υψηλό χρηματικό κόστος (Pawliszyn, 2012).
- Η solid-phase extraction (SPE) είναι πιο αποδοτική από την υγρή-υγρή εκχύλιση, είναι εύκολη και γρήγορη στην εφαρμογή της, μπορεί να αυτοματοποιηθεί, προσδιορίζει ημι-πτητικές ή και καθόλου πτητικές ενώσεις, αλλά έχει αρκετά αυξημένο κόστος (Thurman et al 1998).

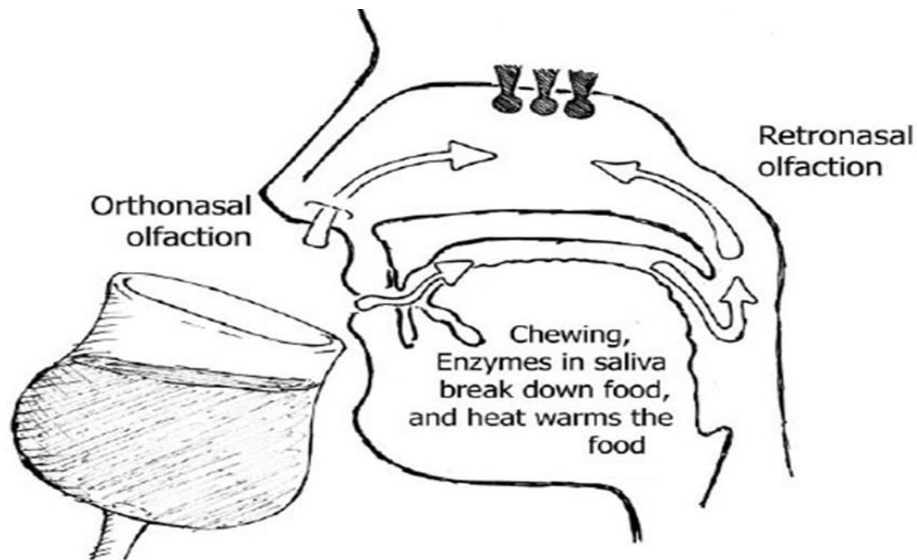
Για τον προσδιορισμό των αρωματικών ενώσεων του οίνου, χρησιμοποιείται συχνά η υγρή-υγρή εκχύλιση καθώς είναι πιο αποτελεσματική, γρήγορη, απλή, έχει καλή επαναληψιμότητα αλλά και χαμηλό κόστος.

Σταθμίζοντας όλες τις συνθήκες και προϋποθέσεις που πρέπει να πληρούνται για την εφαρμογή των κατάλληλων μεθόδων εκχύλισης των δειγμάτων της παρούσας διατριβής, χρησιμοποιήθηκαν η υγρή -υγρή και η (SPE) εκχύλιση στερεής φάσης.

## **Κεφάλαιο 5 .Οργανοληπτικός έλεγχος**

Οργανοληπτικός έλεγχος, είναι ο έλεγχος που πραγματοποιείται με τις αισθήσεις. Σκοπεύει στον προσδιορισμό και την αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών ενός οίνου, ώστε να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με την ποιότητα του.

Ο οργανοληπτικός έλεγχος σχετίζεται με την ικανότητα, τις γνώσεις και την εμπειρία του δοκιμαστή στο να ψάξει να βρει και να εξακριβώσει, μέσω των αισθητηρίων οργάνων του, το “χαρακτήρα” του οίνου. Είναι μια δοκιμασία δια μέσου των αισθήσεων που μας οδηγεί στην “ανάλυση” του οίου.



**Εικόνα 10.** Απεικόνιση διαδικασίας οργανοληπτικού έλεγχου

Ο οργανοληπτικός έλεγχος σκοπεύει στην:

- Εκτίμηση της ποιότητας του οίνου. Αν και οι αναλυτικές μέθοδοι σήμερα είναι ικανές να δώσουν πληροφορίες για πάνω από 300 ουσίες που υπάρχουν στον οίνο, εν τούτοις υπάρχουν πολλές ακόμα, σε πολύ μικρή συγκέντρωση, που είναι υπεύθυνες για το διαφορετικό χαρακτήρα των οίνων και γίνονται αντιληπτές μόνο μέσω των αισθήσεων.
- Ανάλυση των γευστικών και αρωματικών χαρακτηριστικών του οίνου, ώστε να καταλάβουμε και να εξηγήσουμε την προέλευση των προτερημάτων ή των ελαττωμάτων του, καθώς και να τον αξιολογήσουμε με τον καλύτερο δυνατό τρόπο.
- Ταξινόμηση και σύγκριση οίνων ιδίου τύπου, αλλά και στον προσδιορισμό της ποιότητας διαφορετικών τύπων με αντικειμενικά κριτήρια.
- Εκτίμηση της εμπορικής αξίας συγκριτικά με άλλους οίνους κοινής προέλευσης και τύπου.
- Εκτίμηση από τους εξειδικευμένους επαγγελματίες οινολόγους, οινολογικών τεχνικών και κατεργασιών ώστε να βγουν συμπεράσματα χρήσιμα για την οινοποίηση αλλά και την εξέλιξη του προϊόντος (Τζίτζη και Κυπαρισσίου, 2010).

## 5.1. Οι αισθήσεις που λαμβάνουν μέρος κατά τη δοκιμασία

- **Όραση**

Η όραση πληροφορεί για το χρώμα, τη διαύγεια, τη αδράνεια, τη ρευστότητα και την έκλυση του διοξειδίου του άνθρακος. Πάνω στο χρώμα μας πληροφορεί για την ένταση και τις αποχρώσεις του.

- **Όσφρηση**

Ο οσφρητικός έλεγχος δίνει πληροφορίες για τις καλές ή κακές μυρωδιές του οίνου, οι οποίες μπορεί να σχετίζονται με όλα τα στάδια και τις τεχνικές καλλιέργειας και οινοποίησης.

Μια ουσία για να έχει οσμή πρέπει να είναι διαλυτή στο μείγμα νερού-αιθανόλης σε ικανή συγκέντρωση, και πτητική ώστε τα μόρια αυτής της ουσίας να περνούν στον αέρα και από εκεί στο αισθητήριο της όσφρησης. Η ελάχιστη συγκέντρωση μιας πτητικής ουσίας σ'ένα διαλύτη αποτελεί το κατώφλι αντίληψης, που είναι η ελάχιστη ποσότητα που γίνεται αισθητή χωρίς να γίνεται αντιληπτή η φύση της. Όταν μπορούμε να ξεχωρίσουμε τη φύση, τότε μιλάμε για το κατώφλι προσδιορισμού. Κατώφλι προσδιορισμού είναι η ελάχιστη συγκέντρωση μιας πτητικής ουσίας που απαιτείται για να γίνεται αισθητή η παρουσία της και ταυτόχρονα αντιληπτή η φύση της. Ευδιάκριτο λέγεται ένα άρωμα όταν βρίσκεται σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από το κατώφλι προσδιορισμού, με αποτέλεσμα να γίνεται εύκολα αντιληπτό.

- **Γεύση**

Με τον όρο γεύση εννοούμε την αίσθηση του στόματος που αναφέρεται στις τέσσερις στοιχειώδεις γεύσεις: γλυκιά, ξινή, πικρή, αλμυρή. Κατά τη δοκιμασία αυτές οι τέσσερις γεύσεις δεν αναγνωρίζονται ταυτόχρονα, εμφανίζονται η μια μετά την άλλη (Τσακίρης, 2008).

Η διεξαγωγή του οργανοληπτικού ελέγχου γίνεται σε κατάλληλο χώρο (επαρκής φωτισμός, απαλλαγμένος από οσμές και θερμοκρασία 20-22° C) από άτομα που έχουν ανεπτυγμένη αισθητική μνήμη κι έχουν εκπαιδευτεί συστηματικά.

Τα τέσσερα βασικά αισθήματα είναι το ξινό, το γλυκό, το πικρό και το αλμυρό. Το γλουταμινικό άλας (glutamate) προκαλεί την πέμπτη γευστική αίσθηση (Ντουρτόγλου Θ.).

## **5.2. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που προσδιορίζονται στη διαδικασία εξέτασης**

Προσδιορίζονται: γεύση (γλυκό, ξινό, πικρό, αλμυρό, umami- νόστιμο), ισορροπία μεταξύ των γεύσεων, αίσθηση στόματος (ένταση, στυπτικότητα, λιπαρότητα, στρογγυλότητα, καυστικότητα, επιθετικότητα ταννινών), άρωμα στόματος (ένταση, τύπος, ισορροπία), δομή του κρασιού, σώμα, πολυπλοκότητα, διάρκεια, επίγευση (Κοτσερίδης,2012).

Τα ελαττώματα ενός οίνου μπορούν να επηρεάσουν την αποδοχή του από τον καταναλωτή. Τα πιο κοινά ελαττώματα που συναντά κανείς σε χώρους οργανοληπτικής δοκιμής είναι η οσμή φελλού και η οξείδωση. Η οσμή φελλού οφείλεται στην 2,4,6-trichloroanisole ή TCA , μια χημική ένωση η οποία προκαλεί μια οσμή μούχλας,βρεγμένου σκύλου. Η οσμή της TCA μπορεί να είναι λίγο διαφορετική ανάμεσα σε διαφορετικούς οίνους αλλά μπορεί να ανιχνευθεί από τις ανθρώπινες αισθήσεις και σε μικρές ακόμη συγκεντρώσεις ppt. Η οξείδωση από την άλλη, είναι μια άλλη ελαττωματική οσμή η οποία προκαλεί απώλεια του φρούτου στο άρωμα του οίνου. Οξείδωση προκαλείται όταν ο οίνος βρίσκεται σε επαφή με οξυγόνο ή με βακτήρια που αγαπούν το οξυγόνο. Τα προϊόντα αυτής της χημικής αντίδρασης συνεπάγονται μία αλλαγή στο χρώμα (αύξηση της μπλέ χροιάς) και παραγωγή ακεταλδεύδης που μυρίζει σαν sherry ή καφετιασμένο μήλο. Για αυτό και πρέπει να περιορίζουμε την επαφή του οίνου με τον αέρα και να μην παραμένει πολύ ώρα ανοιχτή η φιάλη μέχρι την στιγμή της οργανοληπτικής δοκιμής(Jackson,2002).

## **5.3 Μέθοδοι οργανοληπτικού ελέγχου**

Οι οργανοληπτικές δοκιμές ταξινομούνται σε 2 βασικές κατηγορίες, στην κατηγορία των αναλυτικών δοκιμών και στην κατηγορία των δοκιμών προτίμησης. Με τις αναλυτικές δοκιμές, οι οποίες και χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή, αξιολογούνται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων, ως προς τη διαφορά ή την ομοιότητα που παρουσιάζουν μεταξύ τους ενώ γίνεται από τους δοκιμαστές αναγνώριση και ποσοτική εκτίμηση κάθε χαρακτηριστικού. Οι μέθοδοι που εφαρμόστηκαν στην συγκεκριμένη διδακτορική μελέτη έγιναν σύμφωνα με τα πρωτόκολλα του OIV.

Από την κατηγορία των αναλυτικών δοκιμών εφαρμόστηκαν οι Δοκιμές διαφοράς τριγωνικής κατάταξης ,σύμφωνα με το ISO 4120 (2007) , η δοκιμή Duo-Trio με ISO 10399 (2004), καθώς και η δοκιμή περιγραφικής ανάλυσης, με ISO 11035 (1994).

## **Δοκιμή Duo-Trio**

Σε κάθε κριτή δίνονται 3 δείγματα, το δείγμα αναφοράς (μάρτυρας ) και άλλα δύο. Τα δύο τελευταία έχουν κωδικούς αριθμούς. Ένα από αυτά είναι όμοιο με το δείγμα αναφοράς, ενώ το άλλο είναι διαφορετικό. Στην δοκιμή αυτή αφού παρουσιαστεί στον κριτή πρώτα το δείγμα αναφοράς, παρουσιάζονται στη συνέχεια τα άλλα δύο και ρωτάται να υποδείξει ποιο είναι όμοιο με το πρώτο. Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιούνται πίνακες προκειμένου να μετρηθεί η δυνατότητα ανίχνευσης διαφοράς μεταξύ των δειγμάτων σε προκαθορισμένο επίπεδο σημαντικότητας ( π.χ.  $p < 0,05$ ).

## **Τριγωνική δοκιμή**

Στην δοκιμή αυτή χρησιμοποιούνται 3 δείγματα , από τα οποία τα δύο είναι όμοια. Παρουσιάζονται στον κριτή και τα τρία ως άγνωστα, με κωδικούς αριθμούς και ο κριτής ρωτάται να υποδείξει το διαφορετικό (ανόμοιο). Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιούνται πίνακες προκειμένου να μετρηθεί η δυνατότητα ανίχνευσης διαφοράς μεταξύ των δειγμάτων σε προκαθορισμένο επίπεδο σημαντικότητας ( π.χ.  $p < 0,05$ ).

## **Περιγραφική ανάλυση**

Με τις περιγραφικές μεθόδους επιδιώκεται η αναγνώριση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών ενός οίνου και ο υπολογισμός των ποσοτικών του στοιχείων. Τα δείγματα αξιολογούνται ως προς την ένταση καθορισμένων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και οι κριτές καταγράφουν τη γνώμη τους με βάση καθορισμένη βαθμολογική κλίμακα. Η κλίμακα έντασης επιλέγεται ώστε να δίνει την καλύτερη διάκριση μεταξύ των δειγμάτων καθώς και την αναπαραγωγικότητα των αποτελεσμάτων. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιείται η ανάλυση της διακύμανσης. Οι κριτές πρέπει να έχουν εκπαιδευτεί κατάλληλα, να μπορούν να χρησιμοποιούν δείγματα αναφοράς και να εξοικειωθούν σε λεξιλόγια περιγραφικών όρων αρωμάτων και γεύσεων. Πρίν από την κανονική δοκιμή προηγείται προκαταρκτική ομαδική εξέταση και συζήτηση των δειγμάτων που πρόκειται να αξιολογηθούν ώστε να επιτευχθεί κοινή αντίληψη χαρακτηριστικών και βαθμολογίας. Η οργανοληπτική περιγραφική ανάλυση εφαρμόστηκε αρχικά στη μελέτη ή την εκτίμηση χαρακτηριστικών ώστε να διαχωριστούν οίνοι οι οποίοι είχαν παραχθεί από συγκεκριμένες ποικιλίες (Guinard and Cliff, 1987), καλλιεργούμενες σε ιδιαίτερες περιοχές (Williams et al., 1982), ή παραγόμενοι με χαρακτηριστικό στυλ.

Η οργανοληπτική δοκιμή έχει επίσης χρησιμοποιηθεί στη διερεύνηση των κλιματικών χαρακτηριστικών μιας περιοχής τα οποία την καθιστούν κατάλληλη στην παραγωγή χαρακτηριστικών τύπων οίνων (Falcetti and Scienza, 1992). Μπορεί

ακόμη να μελετήσει τις επιδράσεις στις αλλαγές αμπελουργικών και οινολογικών τεχνικών. Με τον τρόπο αυτό, είναι βασικό το να διατηρούνται όλοι οι υπόλοιποι παράγοντες όσο το δυνατόν πιο ισοδύναμοι. Σε συνδιασμό με κάποιες χημικές αναλύσεις, η οργανοληπτική δοκιμη μπορεί να βοηθήσει στο να αναγνωριστούν και να ταυτοποιηθούν συστατικά υπεύθυνα για συγκεκριμένες αισθήσεις (Jackson, 2002).

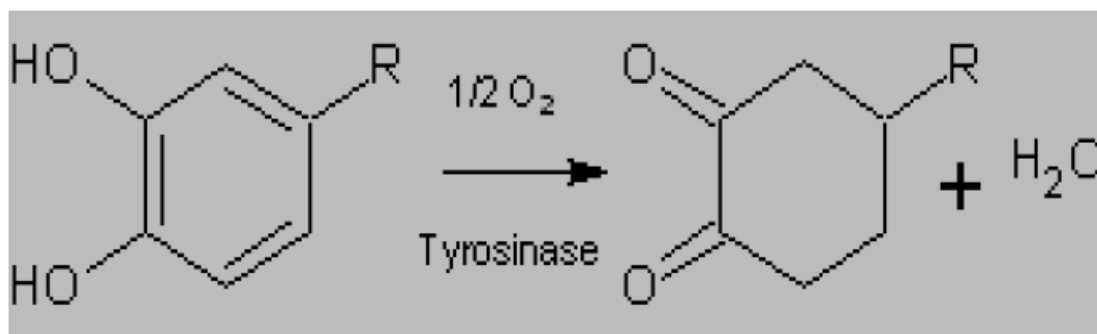
## Κεφάλαιο 6. Ενζυματική οξείδωση του οίνου-Ένζυμα οξείδωσης

Αναφέρεται στις οξειδώσεις που προκαλούν τον σχηματισμό των κινονών. Σύμφωνα με αυτήν την περίπτωση, τα ένζυμα είναι κυρίως υπεύθυνα για αυτήν την κατηγορία των οξειδώσεων, γι' αυτό ονομάζονται ενζυματικές οξειδώσεις (Ribéreau – Gayon et al., 2006). Η ενζυματική οξείδωση είναι φαινόμενο που συναντάται σχεδόν εξ' ολοκλήρου στο γλεύκος των σταφυλιών. Το περιεχόμενο του γλεύκους πρέπει να είναι πλούσιο σε μια ομάδα φαινολοπροπανοειδών αντιοξειδωτικών, τα υδροξυκιναμικά όπως είναι τα flavan-3-ols, p-κουμαρικό τρυγικό οξύ και το καφεολικό-τρυγικό οξύ ( $C_{13}H_{12}O_9$ ) (Oliveira et al., 2011). Το  $SO_2$  δρα ανασταλτικά σε ένζυμα που βρίσκονται ήδη μέσα στο μούστο των σταφυλιών (Jackson, 2008). Τα ένζυμα, που καταλύουν τις οξειδώσεις του γλεύκους και του οίνου, ονομάζονται οξειδάσες. Οι πολυφαινολοξειδάσες είναι οι κυριότερες οξειδάσες (Κουράκου, 1998). Δύο από τα σημαντικότερα ένζυμα που ευθύνονται για αυτές τις οξειδώσεις, πριν από τη ζύμωση, είναι η τυροσινάση (PPO-polyphenoloxidase) και η λακκάση. Η τυροσινάση καταλύει την υδροξυλίωση των μονοφαινολών σε διφαινόλες και την οξείδωση των ορθοφαινόλων σε κινόνες (Εικόνα 11) (Ough and Crowell, 1987). Είναι ένζυμο που παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στο διοξείδιο του θείου και χαρακτηρίζεται από τη μεγάλη αστάθειά της στις διάφορες τιμές του pH. Η λακκάση είναι ένζυμο που υπάρχει σε μούστο που έχει παραχθεί από σταφύλια μολυσμένα από το μύκητα *Botrytis cinerea*. Μελέτες έχουν δείξει ότι το διοξείδιο του θείου σταματά την ύπαρξη των κινονών στο διάλυμα με τη μετατροπή τους σε διφαινόλες ενώ εμπλέκεται με προδρόμους που προκαλούν τις οξειδωτικές αντιδράσεις είτε με τον εμπλοδισμό αντίδραση τους με το οξυγόνο ή με τη αντιστρεψιμότητα της επίδρασης του οξυγόνου (Henderson, 2009, Jackson, 2008).



Έχει αποδειχτεί ότι ο μετασχηματισμός των ενώσεων κινονών πάλι, αλλά διαφορετικών φαινολών σχετίζεται με την οξείδωση των θειωδών σε θειϊκών που γίνεται φυσικά συνάμα με την αυτοοξείδωση των φαινολών (Jackson, 2008). Οι

οξειδωτικές αντιδράσεις συμβαίνουν τόσο στα λευκά κρασιά όσο και στα ερυθρά. Αν και, οι ερυθροί οίνοι έχουν πλούσιο υπόστρωμα οξείδωσης, τις φαινόλες, έχει αποδειχτεί ότι ιδιαίτερα ευαίσθητα είναι τα λευκά.



**Εικόνα 11.** Οξείδωση των φαινολών από την τυροσινάση (Oliveira et al., 2011).

### 6.1. Ανίχνευση και Προσδιορισμός της PPOs

Η οξείδωση των φαινολικών συστατικών του γλεύκους από τις πολυφαινολοξειδάσες των σταφυλιών ξεκινάει από το σπάσιμο και την πίεση των σταφυλιών. Αυτό το φαινόμενο παρατηρήθηκε πολλά χρόνια πριν. Ήταν γύρω στα 1970 που οι (Dubernet and Ribereau-Gayon, 1973; 1974; Dubernet, 1974; Dubernet et al., 1977) ανακάλυψαν ότι 2 ένζυμα με διαφορετικές ιδιότητες μετέχουν σε αυτήν την οξείδωση. Ονομάστηκαν τυροσινάση και λακκάση. Η ενεργότητά της (η οποία διαφέρει ανά ποικιλία) είναι υψηλή στα πράσινα σταφύλια και μειώνεται με την ωρίμανση (Kidron, 1976). Ένα ποσοστό της ενζυμικής δραστηριότητας χάνεται κατά την παραλαβή του μούστου ενώ ένα άλλο ποσοστό παραμένει συνδεδεμένο με τα στερεά σωματίδια. Οι μηχανικές επεξεργασίες των σταφυλιών (σύθλιψη, πίεση) όπως και η διαύγαση του μούστου (απομάκρυνση της λάσπης) έχουν κατά συνέπεια την επίδραση στην δραστηριότητα της τυροσινάσης στο μούστο και συνεπώς στο οξειδωτικό δυναμικό. Η ενζυμική δραστηριότητα εξαφανίζεται σε μικρό χρονικό διάστημα στις περιπτώσεις που έχει παρατηρηθεί ότι μετά από 3 διαδοχικούς κορεσμούς με O<sub>2</sub>, η ενζυμική δραστηριότητα εξαφανίζεται εντελώς.

Το καφέτιασμα Browning στα λευκά κρασιά εξαρτάται κυρίως από την περιεκτικότητα σε φλαβονοειδείς φαινόλες (Simpson, 1982; Schneider, 1989) των οποίων τα προϊόντα οξείδωσης συμπηκνώνονται γρηγορότερα και δίνουν ένα πιο έντονο χρώμα από ότι τα προϊόντα οξείδωσης των μη-φλαβονοειδή φαινολών (Cheynier et al., 1989). Συνεπώς οι τεχνικές οινοποίησης όπως η παρατεταμένη επαφή του σταφυλοπολτού και η μεγάλη πίεση επηρεάζουν πολύ την κλίση του οίνου για καφέτιασμα.



Η απομάκρυνση των φαινολικών συστατικών με την οξυγόνωση του γλεύκους ή τα ένζυμα είναι μια υποσχόμενη μέθοδος για τον έλεγχο της οξείδωσης των λευκών οίνων ( Cantarelli and Giovanelli 1991; Guerzoni et al., 1981; Vaimakis and Roussis, 1993). Η οξυγόνωση του γλεύκους οδηγεί σε οίνους με σταθερό χρώμα. Αυτή η φυσική διαδικασία μπορεί να εφαρμοστεί με λίγη ή καθόλου προσθήκη SO<sub>2</sub>. Παρολαυτά αυτοί οι οίνοι χάνουν το τυπικό τους άρωμα και η σωστή δόση οξυγόνου είναι υπό ερώτημα ( Cantarelli and Giovanelli, 1991; Cheynier et al., 1991; Guerzoni et al., 1981; Maier et al., 1990; Mueller- Spaeth, 1991; Nagel and Graber, 1988; Vaimakis and Roussis, 1993).

Οι οίνοι που παράγονται σε θερμές περιοχές τείνουν να χάνουν την ποιότητα του χρωματός τους και να καφετιάζουν πολύ γρήγορα. Αυτό είναι ένα μεγάλο πρόβλημα για τους λευκούς και ροζέ οίνους. Υπάρχουν πολλές μελέτες πάνω στην επίδραση των περιβάλλοντικών συνθηκών στις χημικές αντιδράσεις που οδηγούν στο σχηματισμό έγχρωμων ουσιών, αλλά δεν έχουν γίνει πολλά για την πρόληψη του καφετιάσματος ( Gómez et al., 1995). Η αύξηση στην τιμή της απορρόφησης στα 420nm κατά την διάρκεια της αποθήκευσης οφείλεται στον σχηματισμό έγχρωμων (καφέ χρώματος) συστατικών. Μια μικρή μείωση στην τιμή της απορρόφησης μπορεί να παρατηρηθεί περίπου στον ένα μήνα μετά την αποθήκευση και αυτό συμβαίνει λόγω τη καταβύθισης συμπυκνωμένων πολυφαινολών με μοριακό βάρος ικανό να καθυζάνουν. ( Gómez et al., 1995).

Επίσης μία αύξηση στο pH του οίνου μπορεί να αυξήσει την ικανότητα του να παράγει καφέ συστατικά (Ribereau-Gayon, 1977). Ο λόγος είναι ότι οι φαινόλες είναι ασθενή οξέα και ο οίνος είναι πιο όξινος από το pKa των φαινολών του, αλλά υπάρχει ένα ποσοστό φαινολικών ιόντων ικανά να οξειδωθούν, και μια αύξηση στο pH αυξάνει την παρουσία των φαινολικών ιόντων (Singleton, 1987). Μια άλλη εξήγηση είναι ότι ένας οίνος με χαμηλό pH ενσωματώνει περισσότερες ανθοκυάνες σε πολυμερείς ταννίνες, και τα πολυμερή των ανθοκυανών είναι πιο ανθεκτικά στο καφέτισμα από ότι οι ελεύθερες ανθοκυάνες. (Watson, 1971)

Σημαντικά συνεπώς δεν είναι μόνο η ποσότητα αλλά και η ποιότητα των φαινολικών συστατικών καθώς επηρεάζουν το χρώμα αλλά και την γεύση των οίνων (Rossi and Singleton, 1966, Singleton et al., 1969) .

Η προσθήκη SO<sub>2</sub> στην εμφιάλωση των οίνων αποδείχθηκε η καλύτερη μέθοδος για μείωση των αντιδράσεων καφετιάσματος ενώ η προσθήκη κατά την έκθλιψη ήταν η χειρότερη. Στους περισσότερους οίνους τα δεύτερα καλύτερα αποτελέσματα απέναντι στις αντιδράσεις καφετιάσματος τα είχαν οι οίνοι χωρίς καμία επεξεργασία. Το ασκορβικό οξύ και οι συνδιασμοί του είχαν την τάση να μειώσουν το καφέτισμα των οίνων σε μεγαλύτερο βαθμό από οποιοδήποτε άλλο χημικό και οι συνδιασμοί του, εκτός από την προσθήκη SO<sub>2</sub> στην εμφιάλωση ( Panagiotakoulou and Morris, 1991).

Η οξειδωτική υποβάθμιση των λευκών οίνων οδηγεί πολύ γρήγορα στην απώλεια της οργανοληπτικής τους ποιότητας. Απο αρωματικής άποψης οδηγεί στην απομάκρυνση των χαρακτηριστικών αρωμάτων των νεαρών οίνων, που αναφέρονται στα ανθικά και φρουτώδη αρώματα, και συνεπώς οδηγεί στο σχηματισμό νέων αρωμάτων, χαρακτηριστικών των γηραιότερων οίνων ή μη τυπικών αρωμάτων συνδεδεμένων με την αλλοίωση του προϊόντος. Από χρωματική άποψη υπάρχει μία ανάπτυξη καφέ χρώματος (μη ενζυματικό καφέτσιασμα) ενώ αναφέρεται ότι η αρωματική αλλοίωση προηγείται των χρωματικών αλλαγών (Singleton and Kramling, 1976, Singleton et al., 1979, Escudero et al., 2000).

Οι οίνοι διαφέρουν μεταξύ τους σχετικά με το πόσο τρωτοί είναι στην οξειδωτική υποβάθμιση, κάποιοι αλλοιώνονται μέσα σε μερικές εβδομάδες ενώ άλλοι αντιστέκονται στην διαδικασία για πολύ μεγαλύτερο διάστημα. Η επίπτωση αυτής της αλλοίωσης δείχνει να είναι μεγαλύτερη σε οίνους που παράγονται σε θερμότερες περιοχές αλλά ακόμη και σε αυτές τις περιοχές κάποιοι είναι ανθεκτικότεροι από κάποιους άλλους (Cezar et al., 2002).

Υπάρχουν πολύ λίγες πληροφορίες από έρευνες για τα χημικά συστατικά που σχετίζονται με την οξειδωτική υποβάθμιση. Η παρουσία ελλατωματικών οσμών έχει αποδοθεί σε συστατικά όπως η ευγενόλη, sotolon , 2,3,5 trimethyl-1,3 dioxolane (Singleton and Kramling, 1976).

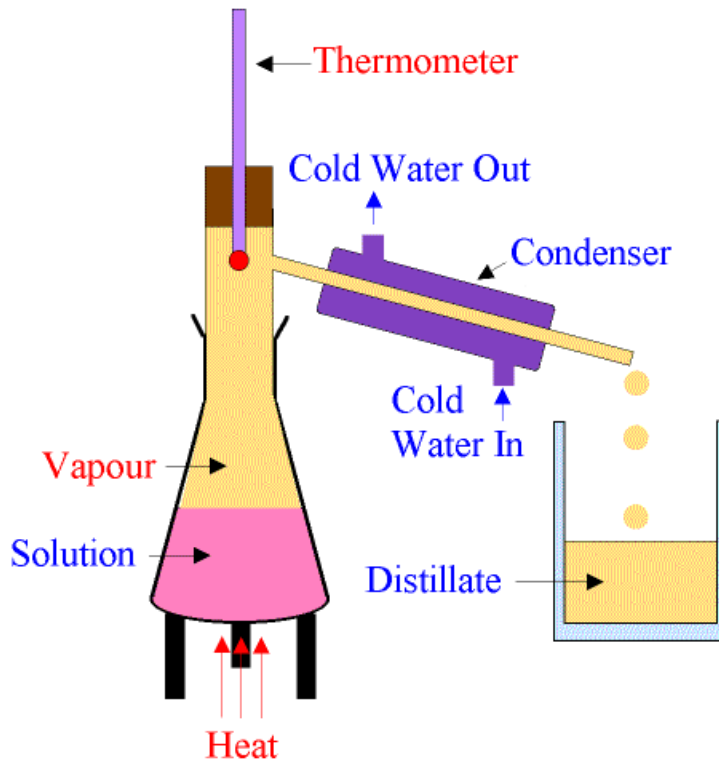
## **Κεφάλαιο 7. Παραλαβή αποσταγμάτων οίνου**

Η απόσταξη οίνου βασίζεται στις ίδιες αρχές που στηρίζεται η παρασκευή κάθε καλού αποστάγματος. Από την τέχνη της απόσταξης εξαρτάται κατά μεγάλο βαθμό η ποιότητα του αποστάγματος. Ο οίνος παραλαμβάνεται και οδηγείται σε απόσταξη. Το προϊόν που παίρνουμε από την πρώτη απόσταξη έχει αλκοολικό τίτλο 27-30 % vol. Τοποθετείται ξανά μέσα στον άμβυκα (χάλκινη συσκευή απόσταξης που θερμαίνεται με γυμνή φλόγα όπου θερμαινόμενος ο οίνος βγάζει αλκοολούχους ατμούς οι οποίοι μέσα από το κάλυμμα κατευθύνονται στην σερπαντίνα ψύξης με ενδιάμεσο τον λαιμό του κύκνου) και θερμαίνεται για δεύτερη φορά. Κατά την δεύτερη απόσταξη απομονώνονται οι κεφαλές και οι ουρές και κρατείται το κλάσμα της καρδιάς. Αυτή η "καρδιά" η οποία έχει αλκοολικό τίτλο 69-72%vol είναι το απόσταγμα οίνου.

Ο χαρακτήρας ενός αποστάγματος είναι αποτέλεσμα πολλών παραγόντων. Η ποικιλία του αμπελιού (ποικιλιακός παράγοντας), το έδαφος που είναι φυτεμένο, οι κλιματολογικές συνθήκες που επικράτησαν την χρονιά παραγωγής του σταφυλιού, η οινοποίηση, οι συνθήκες φύλαξης, η υγιεινή κατάσταση του οίνου και τέλος η διαδικασία της απόσταξης. Η ποικιλία, όπως σε κάθε γεωργικό προϊόν, παίζει

σημαντικό ρόλο. Οι χρησιμοποιούμενες ποικιλίες πρέπει να έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε ταννίνες (μικρότερες από 0,2g/l). Οι ταννίνες κατά τη διάρκεια της απόσταξης διασπώνται και δίνουν συστατικά με υπερβολική δριμύτητα.

Η διαφοροποίηση από οίνο σε οίνο επιβάλλει ο διαχωρισμός (κόψιμο μεταξύ καρδιάς και των επόμενων κλασμάτων) να γίνεται με την βοήθεια της οργανοληπτικής δοκιμής και της αεριοχρωματογραφικής ανάλυσης. Η απόσταξη πρέπει να εμποδίζει το πέρασμα συστατικών με δυσάρεστη οσμή. Πρέπει ακόμη να οδηγεί στην αποφυγή παραγωγής συστατικών με δυσάρεστη οσμή. Ο οίνος εκτός από την αλκοόλη, περιέχει διάφορα πτητικά συστατικά όπως αλδεΐδες, ανώτερες αλκοόλες, εστέρες, πτητικά οξέα. Κατά την διάρκεια της απόσταξης πραγματοποιούνται αντιδράσεις που οδηγούν στο σχηματισμό νέων συστατικών ή ακόμη στην απομάκρυνση των ανεπιθύμητων συστατικών. Οι κυριότερες αντιδράσεις είναι υδρόλυση συστατικών του οίνου, σχηματισμός μικρής ποσότητας οξικού αιθυλεστέρα, σχηματισμός ιχνών φουρφουράλης, απομάκρυνση λιπαρών οξέων με την δεσμευσή τους από τον χαλκό του άμβουκα. Κατά την διάρκεια της απόσταξης οι αλδεΐδες και οι ακετάλες αποσπάζονται στην αρχή και προσδίδουν δριμεία οσμή στις κεφαλές. Τα πτητικά οξέα αποσπάζονται σε όλη τη διάρκεια της απόσταξης. Οι ανώτερες αλκοόλες αποσπάζονται εντονότερα στην αρχή και μετά η παρουσία τους μειώνεται. Οι εστέρες περνούν ιδιαίτερα στην αρχή. Αποσπάζονται μερικώς κατά τρόπο ώστε το απόσταγμα να περιέχει λιγότερους σε σχέση με τον οίνο από τον οποίο προέρχεται. Ο οξικός αιθυλεστέρας περνά κυρίως στην αρχή ενώ ο γαλακτικός αιθυλεστέρας προς το τέλος. Το απόσταγμα (καρδιά) που προκύπτει από την δεύτερη απόσταξη περιέχει το 1/3 της μεθανόλης, το 95% των ανώτερων αλκοολών, το 10% της φαινυλο-2-αιθανόλης και το 67% των εστέρων. Είναι φανερό ότι οι ανώτερες αλκοόλες βρίσκονται σχεδόν στην ίδια αναλογία στον οίνο προς απόσταξη και στο αντίστοιχο απόσταγμα, ανεξάρτητα του τρόπου απόσταξης. Ένα μεγάλο ποσοστό αρωματικών ενώσεων περνάει στην αρχή. Απομακρύνοντας μεγάλο ποσοστό κεφαλών, μειώνουμε την αρωματική ένταση του αποστάγματος. Η ένταση της θέρμανσης επιδρά στην απόσταξη. Έντονη θέρμανση προκαλεί αύξηση σε εστέρες και πτητικά οξέα στο τέλος της απόσταξης με κίνδυνο πάντα την μη υγροποίηση κάποιων πολύ πτητικών ατμών οι οποίοι δεν πρόλαβαν να υγροποιηθούν περνώντας μέσα από τον ψυκτήρα λόγω της μεγάλης ταχύτητας της απόσταξης. Ηπιότερη θέρμανση μειώνει το πέρασμα των πτητικών συστατικών (Τσακίρης, 2000).



**Εικόνα 12.** Μηχανισμός λειτουργίας αποστάξεως

Ο στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η μελέτη της επίδρασης των διαφορετικών τεχνικών οινοποίησης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο. Γι' αυτό το σκοπό εφαρμόστηκαν διαφορετικές μέθοδοι οινοποίησης (κλασική λευκή οινοποίηση, διαδικασία προζυμωτικής εκχύλισης, απολάσπωση γλεύκους ή παραμονή του γλεύκους με τις λάσπες) ενώ για την αξιολόγηση της επίδρασης του terroir στο αρωματικό προφίλ των παραγόμενων οίνων χρησιμοποιήθηκαν σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από 3 διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, αυτές της Δράμας, Νεμέας και Σαντορίνης. Η εφαρμογή των συγκεκριμένων οινοποιητικών τεχνικών σε σταφύλια από αμπελώνες της βόρειας και νότιας ηπειρωτικής χώρας και νησιωτικής Ελλάδας στόχο έχει να σκιαγραφήσει το αρωματικό προφίλ των οίνων που παράγονται από την σημαντικότερη ίσως Ελληνική λευκή ποικιλία, το Ασύρτικο, και να αποτελέσει εργαλείο στα χέρια των οινοποιών ώστε να αξιοποιήσουν στο μέγιστο βαθμό το δυναμικό της ποικιλίας διαμορφώνοντας έτσι την ποιότητα του τελικού προϊόντος, του οίνου, και των αποσταγμάτων αυτού.

## **ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**



## Κεφάλαιο 8

### 8.1. Αναλύσεις στο σταφύλι

Οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στο σταφύλι (δείγματα σταφυλιού από τον αμπελώνα της Σαντορίνης που συλλέχθηκαν πριν την ημερομηνία τρυγητού, στην τεχνολογική ωριμότητα και μετά από αυτήν) αφορούσαν στον προσδιορισμό της ποσότητας του ενζύμου τυροσινάση, υπεύθυνο για τις οξειδωτικές αλλοιώσεις του σταφυλιού, του γλεύκους και τελικά του οίνου.

#### 8.1.1. Εκχύλιση και Προσδιορισμός του ενζύμου τυροσινάση στο σταφύλι

##### Υλικά

Τα δείγματα του σταφυλιού(τσαμπιά) φυλλάσσονται στην κατάψυξη. Χρειάζεται ένα μίξερ τύπου Blender και σουρωτήρι οικιακό. Διάλυμα NaF 0.1M και κορεσμένο διάλυμα  $\text{NH}_4\text{SO}_4$  4,1 M σε στερεή μορφή (99%) τα οποία αγοράστηκαν από την Panreac. Απαιτούνται ακόμη ογκομετρικοί κύλινδροι 10,50 ml , φυγόκεντρος και κρύα σωληνάκια φυγοκέντρου, διατηρημένα σε κατάψυξη( 30-50 ml). Χρειάζονται κιτρικό buffer 0.1M, pH 4.8, γλυκερόλη και διάλυμα L-DOPA 8mM. Απαιτείται γυάλινη ράβδος, διηθητικό χαρτί, μικρά vials με βιδωτό πώμα, Test tube, αλουμινοχαρτο, Φασματοφωτόμετρο, 475nm, λάμπα αλογόνου και κυψελίδες χαλαζία μήκους οπτικής διαδρομής 1cm.

##### Μέθοδος

Αποψύχουμε το σταφύλι (ποσότητα ίση με 1 μέτριο τσαμπί) το οποίο βρίσκεται σε συνθήκες κατάψυξης από την προηγούμενη ημέρα μεταφέροντάς το στην ψύξη. Διαχωρίζουμε τους βόστρυχες από τις ράγες και αλέθουμε τις ράγες στο blender ώστε να γίνουν πολτός. Από τον παραγόμενο πολτό ζυγίζουμε ποσότητα ίση με 35g την οποία επαναλέθουμε έχοντας προσθέσει 35 ml διαλύματος NaF 0.1M για 10 sec. Στη συνέχεια περνάμε το μίγμα από το σουρωτήρι και το τοποθετούμε σε ογκομετρικό κύλινδρο (χωρητικότητας 50 ml) για να καταγράψουμε τον όγκο του. Στο μίγμα προσθέτουμε ποσότητα ίσου όγκου από το κορεσμένο διάλυμα  $\text{NH}_4\text{SO}_4$  4.1M και ανακατεύουμε καλά μέχρι να ομογενοποιηθεί. Αυτό που θα προκύψει θα είναι ένα λευκό ίζημα καθώς οι περιεχόμενες πρωτεΐνες γίνονται αδιάλυτες. Εκεί ακριβώς βρίσκεται και η τυροσινάση. Τοποθετούμε το μίγμα στα κρύα σωληνάκια της φυγοκέντρου (τα οποία διατηρούσαμε στην κατάψυξη) και τα φυγοκεντρούμε για 10 λεπτά σε 9000 rpm στους 4°C. Μετά το πέρας της φυγοκέντρωσης απομακρύνουμε το επιπλέον υγρό και προσθέτουμε 10,5ml από το κιτρικό buffer με pH=4.8 σε κάθε σωληνάκι ενώ με την γυάλινη ράβδο σπάμε το ίζημα επαναδιαλύοντας το στο buffer φροντίζοντας πάντα το διάλυμα να διατηρείται

κρύο με την βοήθεια τριμμένου πάγου. Ξαναφυγοκεντρούμε για 10 λεπτά σε 5000 rpm στους 4°C έχοντας προηγουμένως ισορροπήσει τα βάρη στα σωληνάκια. Φυλάμε σε vials το "επιπλέον" υγρό το οποίο και είναι το ενζυμικό εκχύλισμα (enzyme extract). Σε 15ml του ενζυμικού εκχυλίσματος προσθέτουμε ποσότητα γλυκερόλης ώστε η τελική συγκέντρωση αυτής στο διάλυμα να φτάσει το 20%, δηλαδή 3ml γλυκερόλη (προσοχή με την χρήση της διότι είναι πολύ πηχτή). Αναμιγνύουμε καλά και διατηρούμε το ενζυμικό εκχύλισμα σε κλειστό vial στην κατάψυξη.

Η τυροσινάση είναι αδιάλυτη σε 50%  $\text{NH}_4\text{SO}_4$  αλλά είναι διαλυτή σε κιτρικό buffer. Η τυροσινάση είναι σταθερή για περίπου 2 ώρες κάτω από τις συνθήκες του πειράματος.

Σε 10ml διαλύματος L-DOPA 8 mM προσθέτουμε 0,5ml απο το ενζυμικό εκχύλισμα και το αφήνουμε για 15min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέσα στα test tubes τα οποία είναι καλυμένα με αλουμινόχαρτο. Στο χρόνο αυτό όλο το DOPA μετατρέπεται σε dopachrome και συνεπώς το μίγμα θα περιέχει τελικά 8 mM dopachrome.

Ανοίγουμε το φασματοφωτόμετρο ρυθμίζοντάς το στα 475nm και ανάβοντας την λάμπα αλογόνου. Μηδενίζουμε με κυψελίδες που περιέχουν σκέτο κιτρικό buffer και μετράμε αμέσως την απορρόφηση του δειγματός μας.

### **Κατασκευή πρότυπης καμπύλης Dopachrome**

Κατασκευάζουμε πρότυπη καμπύλη dopachrome ώστε τα μmoles του προϊόντος που σχηματίζεται από την εκχυλισμένη τυροσινάση να μπορεί να προσδιοριστεί.

#### **Υλικά**

Απαιτούνται το Ενζυμικό εκχύλισμα απο το προηγούμενο στάδιο καθώς και το διάλυμα DOPA 8 mM. Χρειάζοντα επίσης Test tubes, Πιπέτα των 5ml, Κιτρικό buffer, 0.1M pH 4.8, Φασματοφωτόμετρο και κυψελίδες χαλαζία μήκους οπτικής διαδρομής 1cm και αλουμινόχαρτο.

#### **Μέθοδος**

Παρασκευάζουμε ένα αρχικό μητρικό διάλυμα από το πορτοκαλί L-DOPA. Σε 10ml διαλύματος L-DOPA 8 mM προσθέτουμε 0,5ml από το ενζυμικό εκχύλισμα και το αφήνουμε για 15min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέσα σε test tubes τα οποία είναι καλυμένα με αλουμινόχαρτο. Στο χρόνο αυτό όλο το DOPA μετατρέπεται σε dopachrome και συνεπώς το μίγμα θα περιέχει τελικά 8 mM dopachrome.



Στη συνέχεια ετοιμάζουμε μία σειρά από 1:1 διαλύματα του 8 mM dorachrome φροντίζοντας να έχουμε τελικό όγκο 3ml. Για κάθε 1:1 αραιώση του 8 mM dorachrome προκρίπτονται αντίστοιχα 4 mM dorachrome, 2 mM dorachrome, 1 mM, 0.5, 0.25, 0.125 μέχρι 0 mM. Έχουμε συνεπώς τιμές dorachrome από 8 mM μέχρι 0 σε 8 διαφορετικά σωληνάκια tubes. Το τελευταίο σωληνάκι (No 8) που περιέχει 0 dorachrome χρησιμοποιείται για τον μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου καθώς δεν περιέχει καθόλου dorachrome.

Οι μονάδες της συγκέντρωσης είναι σε mM.

Ένα διάλυμα 0.1 mM περιέχει 1 mM dorachrome στο λίτρο ή 1000 μmoles στο λίτρο, δηλαδή 1 μmole στο 1ml.

Ανοίγουμε το φασματοφωτόμετρο στα 475nm (VIS). Μηδενίζουμε με το τελευταίο σωληνάκι το όργανο σε 0 Abs και 100%T. Μετράμε τις απορροφήσεις ξεκινώντας από το πιο αραιό και πηγαίνοντας στο πιο πυκνό σύμφωνα με τον πίνακα 1.

**Πίνακας 1** .Αραιώσεις και συγκεντρώσεις του dorachrome για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης .

Αριθμός tube	ml 8 mM dorachrome	ml στο tube	ml κίτρικού buffer	mM dorachrome
1	4ml	0ml	0ml	8mM
2	0ml	2ml από tube 1	2ml	4mM
3	0ml	2ml από tube 2	2ml	2mM
4	0ml	2ml από tube 3	2ml	1mM
5	0ml	2ml από tube 4	2ml	0.5mM
6	0ml	2ml από tube 5	2ml	0.25mM
7	0ml	2ml από tube 6	2ml	0.125mM
8	0ml	0ml	4ml	0mM

Υπολογίζουμε τις τιμές για την τελευταία στήλη του παρακάτω **πίνακα 2**, η οποία αντιπροσωπεύει τον απλούστερο υπολογισμό του συντελεστή εξάλειψης (διόρθωσης) για την απορρόφηση του dorachrome. Βρίσκουμε τον μέσο όρο αυτής της στήλης (για τα tubes 2-7) για να βρούμε τον μέσο συντελεστή εξάλειψης. Αυτή η τιμή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε προσδιορισμό συγκεντρώσεων του dorachrome σύμφωνα με τον νόμο των **Lambert-Beer**.

Παριστάνουμε γραφικά τις τιμές της απορρόφησης στα 475nm σε σχέση με τις τιμές συγκέντρωσης του dopachrome (mM) μιάς και θα το χρησιμοποιήσουμε στο επόμενο στάδιο προσδιορισμού της συγκέντρωσης του ενζύμου και της αρχικής ταχύτητας. Η γνωστή συγκέντρωση του dopachrome θα βρίσκεται στον άξονα των Χ ενώ η απορρόφηση θα είναι στον άξονα των Υ. Αυτή είναι η standard καμπύλη. Οπότε αν θα έχουμε ένα διάλυμα dopachrome άγνωστης συγκέντρωσης μπορούμε μέσω της απορρόφησης με την standard καμπύλη να βρούμε την συγκέντρωση του dopachrome στο διάλυμα άγνωστης συγκέντρωσης από την σχέση που φαίνεται στην τελευταία στήλη του πίνακα 2.

**Πίνακας 2** .Κατασκευή πρότυπης καμπύλης dopachrome- υπολογισμοί

Αριθμός tube	Συγκέντρωση dopachrome (Mm)	Απορρόφηση στα 475 nm	Συντελεστής εξάλειψης (e=A/cl)	Συγκέντρωση C=A/el
8	0	0.0000	0.00000	0.000
7	0.125	0.0049	0.03920	0.125
6	0.25	0.0115	0.04600	0.295
5	0.5	0.0201	0.04020	0.516
4	1	0.0386	0.03860	1
3	2	0.0731	0.03655	1.8
2	4	0.1818	0.04540	4.6
1	8	0.2151	0.02688	5.5
Μέσος όρος συντελεστή εξάλειψης = 0.0389				

A= Απορρόφηση στα 475nm

c=συγκέντρωση σε mM

e=συντελεστής εξάλειψης

l= κυψελίδα μήκους οπτικής διαδρομής 1cm

### Συγκέντρωση του ενζύμου και Προσδιορισμός Αρχικής Ταχύτητας

Η ενεργότητα της τυροσινάσης είναι η μέτρηση της ταχύτητας (ρυθμού) με την οποία το υπόστρωμα μετατρέπεται σε προϊόν. Σκοπός είναι να γίνει assay stock ενζύμου καθώς και αραιώσεων αυτού ώστε να εκτιμηθεί η συγκέντρωση του ενζύμου που συνεπάγεται η απορρόφηση απο περίπου 0.25 σε 1 λεπτό, μία αλλαγή που παρέχει μία ακριβή εκτίμηση της αρχικής ταχύτητας της αντίδρασης.

## Υλικά

Το ενζυμικό εκχύλισμα από την αρχή της διαδικασίας, το διάλυμα DOPA 8Mm και κιτρικό buffer 0.1M, pH 4.8. Απαιτούνται επίσης πιπέττα 10ml, φασματοφωτόμετρο και κυψελίδες χαλαζία μήκους οπτικής διαδρομής 1cm και τριμμένος πάγος.

## Μέθοδος

Για να μετρήσουμε την αρχική ταχύτητα του stock ενζύμου ακολουθώ τα εξής βήματα :

1. Ρυθμίζουμε το φασματοφωτόμετρο στα 475nm
2. Μηδενίζουμε το όργανο με το λευκό που περιέχει 2.5ml buffer και 0.5ml ενζύμου.
3. Προσθέτουμε 2.5ml από το 8Mm DOPA υπόστρωμα στην δεύτερη κυψελίδα
4. Προσθέτουμε 0.5ml stock ένζυμο στο DOPA υπόστρωμα, καλύπτουμε με paraflm ανακινούμε 2 φορές ώστε να ανακατευθούν τα διαλύματα και μετράμε την απορρόφηση ακριβώς μετά απο 1 λεπτό.

Εάν η απορρόφηση είναι μεγαλύτερη απο 0.25 επαναλαμβάνουμε τα βήματα 1-4 χρησιμοποιώντας μία αραιώση του stock ενζύμου, **πίνακας 3**.

## Υπολογισμοί

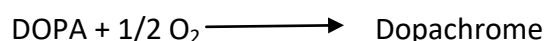
1. Μετατρέψτε την μεταβολή της απορρόφησης για την κατάλληλη αραιώση σε ταχύτητα (μmoles/min) χρησιμοποιώντας στοιχεία από την standard καμπύλη.
2. Υπολογίστε την συγκέντρωση των μονάδων τυροσινάσης ως τυροσινάση /ml που υπάρχει στο αδιάλυτο ενζυμικό παρασκεύασμα. Γνωρίζουμε ήδη πόσα μmoles dopachrome παράγονται από 0.5ml του ενζύμου μας.

Μία μονάδα τυροσινάσης ορίζεται ως η ποσότητα τυροσινάσης η οποία μετατρέπει 1μmole DOPA σε dopachrome σε 1 min.

## Πίνακας 3. Υπολογισμοί ταχύτητας της αντίδρασης

A <sub>475nm</sub> σε 1 min	Dopachrome απο 1 <sup>η</sup> καμπύλη (μmoles/ml)	Όγκος της αντίδρασης (ml)	Συντελεστής αραιώσης	Ολικό dopachrome που παρήχθη	Ταχύτητα αντίδρασης μmoles/min
0.0027	0.0620	3	-	0.1860	0.186

Σύμφωνα με την αντίδραση ισχύει:



Συμπεραίνουμε έτσι από τα παραπάνω ότι αφού από 0.5ml ενζύμου παράγεται 0.1860 μmole dopachrome αυτό συνεπάγεται ότι 1 μmole dopachrome θα παραχθεί από 2.688 ml ενζύμου. Συνεπώς αυτή είναι και η ενεργότητα του ενζύμου τυροσινάσης, Units τυροσινάσης = 2.688/ml.

**1 Unit = ml τυροσινάσης που μετατρέπουν 1μmole DOPA σε dopachrome σε 1 min**

Σύμφωνα με τους υπολογισμούς μας η τυροσινάση έδωσε 2.688 Units σε 35 gr σταφύλι, συνεπώς σε 1mgr η ενεργότητα θα είναι 0.0000768 Units. Στο σταφύλι μας συνεπώς είχε 0.0000768 Units / mg σταφυλιού ποικιλίας Ασύρτικο Σαντορίνης.

## 8.2. Αναλύσεις οίνων

### 8.2.1. Απομόνωση κι αξιολόγηση των πτητικών συστατικών του αρώματος των οίνων με αέρια χρωματογραφία GCO [Gas Chromatography/Olfactometry analysis (GC/O)]

#### Μέθοδος

Ποσότητα οίνου ίση με 200 ml τοποθετήθηκε σε φιάλη 0.5L Erlenmeyer και ψύχθηκε στους 1 °C σε δοχείο με πάγο με χρήση αζώτου. Προστέθηκε διχλωρομεθάνιο (40 mL) και το μίγμα αναδεύτηκε για 15 min στους 700 rpm (Pineau et al,2007). Το μίγμα διαλύτη-οίνου συμπληρώθηκε με 40 mL διχλωρομεθάνιο και η ανάδευση συνεχίστηκε για 15 min. Η οργανική φάση διαχωρίστηκε σε διαχωριστική χοάνη, φυγοκεντρήθηκε για 5 min στους 10000 g (4 °C),αφυδατώθηκε με θειϊκό νάτριο και στη συνέχεια συμπυκνώθηκε μέσω απόσταξης σε Rotavapor μέχρι τα 0.4 mL και στη συνέχεια κάτω από ρεύμα αζώτου (N<sub>2</sub> 5.0 ποιότητας). Ο τελικός βαθμός συμπύκνωσης ήταν 500.

Η ανάλυση στο GC/O έγινε χρησιμοποιώντας έναν αέριο χρωματογράφο Fison Instruments GC8060 με κολώνα 60m fused-silica (0.32 mm i. d. και 0.25 μm πάχος φίλμ), επικαλυμμένη είτε με DB WAX (J&W Scientific), είτε με DB 5 (J&W Scientific Folsom, CA). Η ένεση του εκχυλίσματος ήταν 2μL με splitless/split (split ratio 1/20) στη θύρα έγχυσης η οποία θερμαινόταν στους 230 °C. Το φέρον αέριο ήταν ήλιο He (5.0 ποιότητας) με μία ροή 2 mL/min. Η θερμοκρασία του φούρνου ήταν 40 °C (για 3 min),στη συνέχεια ανέβαινε 4 °C/min μέχρι τους 85 °C όπου παρέμενε για 3 min. Στη συνέχεια ανέβαινε με ρυθμό 3 °C/min μέχρι τους 230 °C (ή τους 250 °C στην περίπτωση της DB-5) και παρέμενε σ' αυτή την θερμοκρασία για άλλα 20 min. Τα απόβλητα (εκχύματα) του αέριου χρωματογράφου σε ένα κανάλι όσφρησης και έναν ανιχνευτή φλόγας σε αναλογία (3/1). Οι παράγοντες διάλυσης (FD) των

ταυτοποιημένων πτητικών συστατικών των οίνων υπολογίστηκαν όπως αναφέρεται στον Guth.(Guth, 1997). Τα εκχυλίσματα των οίνων διαλύθηκαν τμηματικά με διχλωρομεθάνιο σε αναλογίες 1 : 5, 1 : 25, 1 : 625, και στη συνέχεια 2 μL απο κάθε διάλυμα εγχύθηκε στο σύστημα του GC/O και τα sniffing tests πραγματοποιήθηκαν από δύο εκπαιδευμένους χειριστές.

Κάποια δείγματα οίνων επεξεργάστηκαν και με αέριο χρωματογράφο olfactometry GCO. Το μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε είναι το Sniffer 9000 system της Brechbuhler με FID focus gc της Thermo Elector Corporation και η στήλη OB-S J&W Scientific Agilent Technologies.

Το πρόγραμμα θερμοκρασίας που ακολουθήθηκε ήταν: 40<sup>0</sup>C για 5 λεπτά και μετά ανέβηκε στους 230<sup>0</sup>C που παραμένει 20 λεπτά με συχνότητα 3<sup>0</sup>C/min. Το φέρον αέριο ήταν ήλιο στα 1ml/min. Η ένεση ήταν 1μl. Η split flow ήταν 70.6ml/min. Ο ανιχνευτής ήταν ιονισμού φλόγας (FID).

### **8.2.2. Κλασσικές αναλύσεις οίνων**

Σύμφωνα με τις επίσημες μεθόδους του OIV, (OIV, 1990) πραγματοποιήθηκαν οι κλασσικές αναλύσεις: ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα, ενεργός οξύτητα-pH, προσδιορισμός θειώδους ανυδρίτη ελεύθερου και ολικού , αλκοολικός τίτλος, πτητική οξύτητα, προσδιορισμός χρωματικών χαρακτηριστικών A<sub>420</sub> nm , ένταση χρώματος (E), προσδιορισμός φαινολικών χαρακτηριστικών, Δείκτης φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ), A<sub>280</sub>nm, ενώ η μέτρηση της θολερότητας (NTU) έγινε χρησιμοποιώντας το φορητό θολερόμετρο Hach 2100P (Beavercreek, OH).

### **8.2.3 Μελέτη και επιλογή μεθόδου εκχύλισης-απομόνωσης πτητικών συστατικών**

Τις κλασσικές αναλύσεις ακολούθησαν αναλύσεις που αφορούσαν στον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των αρωματικών ενώσεων των παραγόμενων οίνων. Εφαρμόστηκαν δύο μέθοδοι εκχύλισης για παραλαβή των αρωματικών ενώσεων των οίνων και αυτές ήταν στερεή εκχύλιση SPE με C18 στηλάκια (cartridges) και η υγρή-υγρή εκχύλιση.

Σκοπός ήταν η σύγκριση των δύο μεθόδων εκχύλισης, της στερεής εκχύλισης (solid-phase extraction, SPE) και της υγρής-υγρής εκχύλισης (liquid-liquid extraction) σε ότι αφορά στην επαναληψιμότητα καθώς και στον αριθμό των πτητικών ενώσεων που ανιχνεύουν. Για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων αυτών χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας, GC-FID.

### 8.2.3.α. Εκχύλιση σε στερεή φάση (Solid-Phase extraction, SPE)

#### Υλικά

Το η-πεντάνιο (99.8%) αγοράστηκε από την Merck, ο diethyl ether και το τρυγικό οξύ (99.5%) ήταν από την Riedel-de Haen, η μεθανόλη (99,5%) από το Laboratory Scan. Το νερό απιονίστηκε μέσα σε στήλη ανταλλαγής κατιόντων από την Ionel, το στερεό άνυδρο θειϊκό νάτριο (99%) ήταν από την Panreac, το καυστικό νάτριο από την J.TBaker, και τα στυλάκια C18 reversed-phase (20ml, 5gr στερεής φάσης) από την Resprep. Η 3-οκτανόλη (1g/l σε καθαρή αλκοόλη) χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο. Ο ακριβής όγκος (1g/l) των πρότυπων αρωματικών ενώσεων διαλύθηκε σε καθαρή αλκοόλη για να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπα διαλύματα για τους αναλύτες. Τα πτητικά συστατικά αγοράστηκαν από Fluka, Riedel-de Haen, Acros Organics και Aldrich και η καθαρότητα αυτών ήταν πάνω από 98%.

#### Μέθοδος

Τα στυλάκια C18 reversed-phase τοποθετούνται σε ειδική συσκευή που ενώνεται με αντλία κενού, εικόνα 13. Σε κάθε στυλάκι C18 reversed-phase (μέγεθος στυλό, 20ml, 5gr στερεής φάσης) έγινε conditioning με 20ml μεθανόλης και μετά με 20ml απιονισμένο νερό. Στην συνέχεια, 50ml οίνου με 10μl εσωτερικού προτύπου, octanol-3 (τελικής συγκέντρωσης στο δείγμα 5mg/lit) εισήχθησαν στο στυλάκι C18 RP με ροή (flow rate of ca 3ml/min) και έπειτα το στυλό ξεπλύθηκε με 75ml απιονισμένου νερού. Αφού απομακρύνθηκαν όλα τα παραπάνω, για την παραλαβή των ελεύθερων πτητικών ενώσεων που έχουν προσροφηθεί στην στερεή φάση που βρίσκεται στο στυλάκι, περνάμε 20ml διαλύτη πεντάνιο-διαιθυλαιθέρα(1:1 v/v) που θα συμπαρασύρει τις ενώσεις αυτές και τις οποίες θα συλλέξουμε σε vial των 40ml. Κάθε υπόλειμμα νερού που μπορεί να έχει παραμείνει στην οργανική φάση του διαλύτη απομακρύνεται με την προσθήκη ικανής ποσότητας  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Το εκχύλισμα συμπυκνώνεται στο 1ml με την βοήθεια αδρανούς αερίου αζώτου  $\text{N}_2$  και μεταφέρεται σε vial των 2ml. Τέλος, 1μl από το εκχύλισμα εισάγεται στον αέριο χρωματογράφο με την βοήθεια μικροσύριγγας. Τα εμβαδά των κορυφών για κάθε πτητικό συστατικό του οίνου ξεχωριστά σε σύγκριση με το εσωτερικό πρότυπο υπολογίστηκαν και συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις για να εκφράσουμε τις συγκεντρώσεις των πτητικών συστατικών σε mg/l. Όλες οι αναλύσεις έγιναν εις τριπλούν, σχήμα 3. (Kechagia et al., 2008)



**Εικόνα 13.** Σύστημα αντλίας κενού και στηλάκια C18 Reversed-phase

### **8.2.3.β. Υγρή-υγρή εκχύλιση(liquid-liquid extraction)**

#### **Υλικά**

Το δίχλωρομεθάνιο (99.8%) αγοράστηκε από το Laboratory Scan της Merck, το τρυγικό οξύ (99.5%) ήταν από την Riedel-de Haen, και το θειικό αμμώνιο (99,8%) από το Laboratory Scan. Το νερό απιονίστηκε μέσα σε στήλη ανταλλαγής κατιόντων από την Ionel, το στερεό άνυδρο θειικό νάτριο (99%) ήταν από την Panreac και το καυστικό νάτριο από την J.TBaker. Η 3-οκτανόλη (1g/l σε καθαρή αλκοόλη) χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο. Ο ακριβής όγκος (1g/l) πρότυπων αρωματικών ενώσεων διαλύθηκε σε καθαρή αλκοόλη για να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπα διαλύματα για τους αναλυτές. Τα πτητικά συστατικά αγοράστηκαν από Fluka, Riedel-de Haen, Acros Organics και Aldrich και η καθαρότητα αυτών ήταν πάνω από 98%.

#### **Μέθοδος**

Σε ογκομετρική φιάλη των 10ml βάζουμε 3ml οίνου και 10ml εσωτερικού προτύπου, 3-οκτανόλης (από μητρικό διάλυμα 1g/l, ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 1mg/l) και ο όγκος συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή με απιονισμένο νερό. Στην συνέχεια σε vial των 40ml τοποθετούμε 4,5gr θειικό αμμώνιο, το περιεχόμενο της ογκομετρικής και ένα μικρό μαγνήτη. Στο vial προσθέτουμε και 1 ml δίχλωρο

μεθάνιο και τοποθετείται σε αναδευτήρα, όπου αναδύεται για 5 λεπτά στις 300rpm. Μετά το πέρας αυτού του χρόνου η ανάδευση σταματάει και περιμένουμε για 5 λεπτά για να ηρεμήσει το διάλυμα, στην συνέχεια ακολουθεί ανάδευση για άλλα 5 λεπτά στις 150rpm. Στην συνέχεια περιμένουμε άλλα 5 λεπτά χωρίς ανάδευση και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η οργανική φάση με το δίχλωρομεθάνιο μεταφέρεται σε vial των 4 ml με την βοήθεια μικροπιπέτας . Στην υδατική φάση που παραμένει στο vial των 40ml προσθέτουμε 1 ml δίχλωρομεθάνιο και η διαδικασία επαναλαμβάνεται. Στο vial των 4 ml, προστίθεται επαρκής ποσότητα θειικού νατρίου  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  για να απορροφήσει κάθε υπόλειμμα νερού. Η οργανική φάση μεταφέρεται σε άλλο vial των 4 ml και συμπυκνώνεται στα 100μl με την βοήθεια αδρανούς αερίου αζώτου  $\text{N}_2$ , έτσι ώστε οι αρωματικές ενώσεις να συμπυκνωθούν 300 φορές. Τέλος, 1μl από το εκχύλισμα εισάγεται στον αέριο χρωματογράφο με την χρήση μικροσύριγγας.

Τα εμβαδά των κορυφών για κάθε πτητικό συστατικό του οίνου ξεχωριστά σε σύγκριση με το εσωτερικό πρότυπο υπολογίστηκαν και συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις πρότυπων διαλυμάτων για να εκφράσουμε τις συγκεντρώσεις των πτητικών συστατικών σε mg/l. Όλες οι αναλύσεις έγιναν εις τριπλούν (Symeou et al., 2007).

#### **Γραφικές παραστάσεις για ποσοτικοποίηση των πτητικών αρωματικών ενώσεων**

Συνθετικοί οίνοι που περιείχαν γνωστές ποσότητες πτητικών ενώσεων παρασκευάστηκαν με σύνθεση: 120ml/l(v/v) αιθανόλη, 5g/l τρυγικό οξύ και pH 3.2 ρυθμισμένο με 1M καυστικό νάτριο  $\text{NaOH}$ , εκχυλίστηκαν και αναλύθηκαν βάση των παραπάνω μεθόδων. Το εύρος των συγκεντρώσεων των αρωματικών ενώσεων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν από 0.05 μέχρι 25mg/l ανάλογα με την χημική φύση του αναλυτή (π.χ. για τους αιθυλικούς εστέρες το εύρος ήταν από 0.05 μέχρι 3.75mg/l, ενώ για τις ανώτερες αλκοόλες ήταν από 2.5 μέχρι 25mg/l). Για κάθε συστατικό, πέντε συγκεντρώσεις υπολογίστηκαν βάση των χρωματογραφημάτων που έδωσαν σε σχέση με το εσωτερικό πρότυπο. Κάθε συγκέντρωση αναλύθηκε εις τριπλούν.

Στον πίνακα 4 που ακολουθεί φαίνονται οι πρότυπες ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των πρότυπων καμπυλών και ο βαθμός καθαρότητας αυτών.



**Πίνακας 4.** Πρότυπες ουσίες , προμηθευτής και βαθμός καθαρότητας

<b>Αναλύτης</b>	<b>Προμηθευτής</b>	<b>Καθαρότητα (%)</b>
Βουτανικός αιθυλεστέρας	Fluca	98.0+
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	Acros Organics	99.0
Οξικός ισοαμυλεστέρας	Acros Organics	99.0+
Οξικός εθυλεστέρας	Fluca	99.0
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	Fluca	99.0+
2-μεθυλο-1-προπανόλη	Riedel-de Haen	99.0
3-μεθυλο-1-βουτανόλη	Fluca	98.0+
εξάν-1-όλη	Aldrich	98.0
όκταν-3-όλη	Acros Organics	99.0+
3-μεθυλοθειο1προπανόλη Aldrich		98.0+
2-φαινυλ-αιθανόλη	Aldrich	99.0
Ισοβουτυρικό οξύ	Fluca	99.0
Βουτυρικό οξύ	Aldrich	99.0+
Ισοβαλερικό οξύ	Fluca	98.0+
Εξανοϊκό οξύ	Aldrich	99.0
Οκτανοϊκό οξύ	Acros Organics	99.0

#### **8.2.4. Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών συστατικών των οίνων με GC FID**

##### **Αέριος χρωματογράφος GC-FID**

Ο αέριος χρωματογράφος που χρησιμοποιήθηκε ήταν ένας Hewlett-Packard 5890 Series II. Η στήλη ( 30m x 0.32mm και 0.25mm πάχος φιλμ) ήταν DB Wax από J&W Scientific. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που ακολουθήθηκε ήταν: 40 °C για 5 λεπτά και μετά αύξηση στους 230°C με συχνότητα 3°C/min όπου παραμένει για 20 λεπτά. Το φέρον αέριο ήταν ήλιο στα 1ml/min. Η ποσότητα της ένεσης ήταν 1μl. Το split flow ήταν 70.6ml/min. Ο ανιχνευτής ήταν ιονισμού φλόγας (FID).

#### **8.2.5. Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών συστατικών των οίνων με GC MS**

##### **Υγρή-υγρή εκχύλιση (liquid-liquid extraction)**

## Υλικά

Το ανθρακικό νάτριο  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , ήταν από την Panreac το δίχλωρομεθάνιο  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (99.8%) αγοράστηκε από το Laboratory Scan της Merck, το χλωριούχο νάτριο  $\text{NaCl}$  και το θειικό νάτριο (99%) στερεό και άνυδρο  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ήταν από την Panreac. Η 3-Οκτανόλη (1g/l σε καθαρή αλκοόλη) χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο και το απιονισμένο νερό προήλθε από στήλη ανταλλαγής κατιόντων Ionel.

## Μέθοδος

Σε γυάλινο σωλήνακι με καπάκι τοποθετείται 50ml δείγματος και γίνεται ρύθμιση έως  $\text{pH}=9$  με  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  για εξουδετέρωση οργανικών οξέων. Προστίθεται 50ml διαλύτη διχλωρομεθανίου  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  και 35ml  $\text{NaCl}$  (κορεσμένο δ/μα) για εξαλάτωση. Ακολουθεί ανάδευση σε μαγνητική πλάκα για  $t=10\text{min}$  και μετά το πέρας του χρόνου γίνεται ολική μεταφορά δείγματος από το γυάλινο σωληνάκι σε πλαστικά σωληνάκια των 50ml για φυγοκέντρηση στις 5000rpm για 5min. Ακολουθεί παραλαβή της οργανικής φάσης με σιφώνι των 25ml και επανεκχύλιση σε μαγνητική πλάκα για  $t=10\text{min}$ . Επαναλαμβάνουμε την προηγούμενη διαδικασία και συλλέγουμε τις οργανικές φάσεις. Μεταφέρουμε ποσοτικά την οργανική φάση σε διαχωριστική χοάνη, και κάνουμε έκπλυση με 20ml απιονισμένο νερό. Παραλαμβάνουμε την οργανική φάση και ακολουθεί ξήρανση με  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Πραγματοποιούμε ζύγιση του απόβαρου του απιοειδούς υποδοχέα του συμπυκνωτήρα (rotavapor) και προχωράμε σε διήθηση της οργανική φάσης σε απιοειδή υποδοχέα έως μισού όγκου προκειμένου να μην υπάρξουν προβλήματα κατά την συμπύκνωση στο Rotavapor. Ακολουθεί συμπύκνωση έως οργανικού υπολείμματος στο Rotavapor σε θερμοκρασία υδατόλουτρου ρυθμισμένη στους  $40^\circ\text{C}$  και προστίθεται 25μL εσωτερικού προτύπου 3-οκτανόλης.

Για κάθε δείγμα έγινε επανάληψη της εκχύλισης τρεις φορές. Τα αποτελέσματα έχουν λειφθεί από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων.

Τέλος, 1μl από το εκχύλισμα εισάγεται στον αέριο χρωματογράφο GC-MS με την χρήση μικροσύριγγας.

Τα εμβαδά των κορυφών για κάθε πτητικό συστατικό του οίνου ξεχωριστά σε σύγκριση με το εσωτερικό πρότυπο υπολογίστηκαν και συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις πρότυπων διαλυμάτων για να εκφράσουμε τις συγκεντρώσεις των πτητικών συστατικών σε mg/l.

## Γραφικές παραστάσεις για ποσοτικό προσδιορισμό των πτητικών αρωματικών συστατικών

Συνθετικοί οίνοι που περιείχαν γνωστές ποσότητες πτητικών ενώσεων και παρασκευάστηκαν με σύνθεση: 120ml/l(v/v) αιθανόλη, 5g/l τρυγικό οξύ και  $\text{pH}$  3.2

ρυθμισμένο με 1M καυστικό νάτριο NaOH, εκχυλίστηκαν και αναλύθηκαν βάση της παραπάνω μεθόδου. Το εύρος των συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν από 0.05 μέχρι 25mg/l ανάλογα με την χημική φύση του αναλυτή(π.χ. για τους αιθυλικούς εστέρες το εύρος ήταν από 0.05 μέχρι 3.75mg/l, ενώ για τις ανώτερες αλκοόλες ήταν από 2.5 μέχρι 25mg/l). Για κάθε συστατικό, πέντε συγκεντρώσεις υπολογίστηκαν βάση των χρωματογραφημάτων που έδωσαν σε σχέση με το εσωτερικό πρότυπο. Κάθε συγκέντρωση αναλύθηκε εις τριπλούν.

### **Αέρια χρωματογραφία-φασματοσκοπία μάζας (GC/MS) για την ανάλυση των δειγμάτων υγρής-υγρής εκχύλισης**

Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε με αέριο χρωματογράφο Hewlett-Packard 6890 plus σε συνδυασμό με φασματογράφο μάζας Agilent Technologies 5975C VL MSD με Triple-Axis Detector, (Gas Chromatography- Mass Spectrometry. 1 μL δείγματος εγχύθηκε στον χρωματογράφο, σε λόγο σχάσης 1:45. Το φέρον αέριο είναι N<sub>2</sub> με ροή 2.5 mL/min. Η κολώνα είναι η HP-1 της Hewlett-Packard με χαρακτηριστικά 30m x 0.32mm x 0.25μm silica capillary column, cross-linked, 100% methyl siloxane. Η θερμοκρασία του υποδοχέα της ένεσης (inject) είναι 220° C και του ανιχνευτή (FID) 280° C. Ο φούρνος προγραμματίστηκε από τους 40° C ισόθερμα για 3 λεπτά, μετά η θερμοκρασία άρχισε να αυξάνεται μέχρι τους 230° C με ρυθμό 3° C/min, στους οποίους έμεινε για 20 λεπτά. Τα χρωματογραφήματα λαμβάνονταν και επεξεργάζονται χρησιμοποιώντας το HP Chemstation rev.A.06.03 [509] data system (Hewlett-Packard).

## **8.2.6. Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων**

### **8.2.6.α. Μέθοδος επιταχυνόμενης Οξείδωσης**

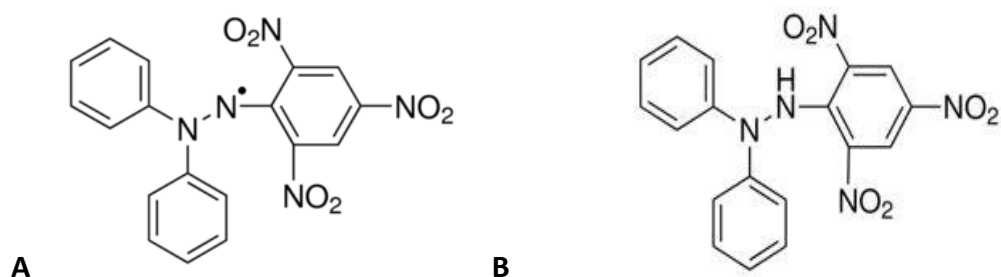
Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της ανάπτυξης της αμαύρωσης των οίνων (Sioumi et al., 2006) είναι μια παραλλαγή αυτής που περιγράφηκε από τους Singleton and Kramling (1976).

Σε έκαστο μπουκάλι πειράματος αντιστοιχούν 3 φιαλίδια βιδωτά με καπάκι (vial 7,5 cm μήκος με 2,1 cm εσωτερική διάμετρο και χωρητικότητας 30 ml) πάνω στα οποία επισημαίνεται ο αντίστοιχος κωδικός του οίνου. Στα φιαλίδια αυτά τοποθετούνται 20 ml απο τον κάθε οίνο με την βοήθεια ογκομετρικού κυλίνδρου και στην συνέχεια υποβάλλονται για διάστημα 12 ημερών σε θέρμανση υπό σταθερή θερμοκρασία 55 °C ± 0,2°C (τακτική παρατήρηση με βοήθεια θερμόμετρου) μέσα σε ειδικό υδατόλουτρο (συνθήκες σκότους). Τα μπουκαλάκια αποσύρονται από το υδατόλουτρο κάθε 24 ώρες και αφού αφεθούν για διάστημα περίπου 20 λεπτών, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος, με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου καταγράφεται η απορρόφηση των δειγμάτων στα 420 nm

(A<sub>420</sub>). Για τον μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου χρησιμοποιείται διάλυμα αιθανόλης 12 % ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε στενωτικές κυψελίδες και με χρήση λάμπας αλογόνου. Το περιεχόμενο των κυψελίδων επιστρέφει στα φιαλίδια από τα οποία αντλήθηκε ( έτσι ώστε να διατηρηθεί ο αρχικός όγκος ) και τοποθετούνται ξανά στο υδατόλουτρο. Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για 12 ημέρες. Τέλος, τα φιαλίδια είναι 3 για κάθε εμφιαλωμένο οίνο με σκοπό την μεγαλύτερη ακρίβεια, τον έλεγχο της επαναληψιμότητας, τη στατιστική ανάλυση και συνεπώς τα πιο ακριβή αποτελέσματα.

#### 8.2.6.β. Μέθοδος DPPH: (Brand-Williams et al.,1994)

Με την μέθοδο DPPH πραγματοποιείται η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Η μέθοδος, που αποτελεί μία παραλλαγή της μεθόδου που περιγράφηκε από τον Brand-Williams και τους συνεργάτες του (1994), στηρίζεται στην απορρόφηση της ρίζας 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH) (Εικόνα 14A). Όταν στο διάλυμα προστεθεί μία ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα DPPH ανάγεται με πρόσληψη ενός ατόμου υδρογόνου (ή ενός e<sup>-</sup>) και μετατρέπεται σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη (Εικόνα 14B), η οποία έχει κίτρινο χρώμα, με αποτέλεσμα να ελαττώνεται η οπτική απορρόφηση. Η μέτρηση της απορρόφησης πραγματοποιείται στα 515nm.



**Εικόνα 14.** Α. Χημική δομή της ρίζας 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο  
Β. Χημική δομή της 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνης

#### Υλικά

Απαιτούνται πιπέτες, tips, κυψελίδες, ποτήρια ζέσεως, ζυγός, ογκομετρικός κύλινδρος, ογκομετρικές φιάλες των 250, 25, 5 ml, φασματοφωτόμετρο με λάμπα αλογόνου, Vortex και Eppendorf. Η Μεθανόλη και η Αιθανόλη 12% αγοράστηκαν από Fluka και Aldrich και η καθαρότητα αυτών ήταν πάνω από 98%. Το DPPH (υπό

μορφή κόκκων σε μικρό vial καλυπτόμενο με αλουμινόχαρτο για προστασία από το φώς και συντήρηση εντός ψυγείου).

#### **Διαλύματα\*:**

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

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

#### **Μέθοδος**

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

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

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

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

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

#### **Καμπύλη αναφοράς σε trolox**

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

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

**Πίνακας 5** : Ποσοτική προσθήκη διαλύματος Α για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς σε trolox

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

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

Μετά την ανάδευση σε vortex για 30 δευτερόλεπτα μετράται η απορρόφηση σε μήκος κύματος 515nm (t=0) σε κυψελίδες με στένωση και λάμπα αλογόνου. Μετά από 30 λεπτά μετράται η απορρόφηση ξανά (t=30). Το φωτόμετρο μηδενίζεται με απιονισμένο H<sub>2</sub>O.

Από τις δύο απορροφήσεις υπολογίζεται η % διαφορά στην απορρόφηση

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

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

#### **Διαλύματα\*:**

Μητρικό διάλυμα DPPH : 5,9mg DPPH σε 250ml μεθανόλης. Το διάλυμα πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως, διατηρείται στο ψυγείο μόνο μία μέρα.

Διάλυμα Α (2mM trolox) : 12,5mg trolox διαλύονται σε 25ml 12% αιθανόλης.

### **8.2.7. Μέτρηση ολικών πολυφαινολών - Μέθοδος Folin-Ciocalteu**

Η μέτρηση των ολικών πολυφαινολών έγινε σύμφωνα με την επίσημη μέθοδο του OIV. O. Folin and V. Ciocalteu, J. Biol. Chem., 1927, **73**, 627 .

Η μέθοδος χρησιμοποιείται σε αναλύσεις ρουτίνας για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολών. Βασίζεται στη μέθοδο των Slinkard and Singleton, Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 1977, **28**: 49-55.

## **8.3. Οργανοληπτικός έλεγχος των οίνων και στατιστική επεξεργασία αυτών**

### **8.3.1 Οργανοληπτικές αναλύσεις οίνων 2004,2005,2006**

Οι οίνοι αξιολογήθηκαν από ένα πάνελ που αποτελείται από 6 έως 10 κριτές με οργανοληπτική εμπειρία. Για κάθε ζεύγος δειγμάτων, πραγματοποιήθηκαν συνολικά τρεις συνεδρίες. Σε κάθε συνεδρία, τρία ζεύγη οίνων, παρουσιάζονταν με διαφορετική σειρά σε κάθε κριτή σε κωδικοποιημένα σκούρα ποτήρια σε μία θερμοκρασία σερβιρίσματος στους 16°C. Ο κριτής έπρεπε να βρει το διαφορετικό στα τριγωνικά τεστ και να εκφράσει την προτίμησή του μεταξύ δύο οίνων σε κάθε ζευγάρι. Ένα σύνολο από 15 με 25 δοκιμές πραγματοποιήθηκαν για κάθε ζευγάρι οίνων. Για κάθε τρύγο τέσσερα ζεύγη δειγμάτων παρουσιάστηκαν στους κριτές. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τον ελάχιστο αριθμό των συμφωνούντων κρίσεων απαραίτητο για να σημειωθεί σημαντική προτίμηση σε διάφορα επίπεδα πιθανοτήτων. Τα οργανοληπτικά τεστ που εφαρμόστηκαν ήταν τα παρακάτω.

1) Triangle tests: Οι οργανοληπτικές αναλύσεις με triangle tests πραγματοποιήθηκαν στο Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών του ΠΑΔΑ Αθήνας με σκοπό να διαπιστωθούν οι διαφορές μεταξύ των οίνων. Ένα δεκαμελές εκπαιδευμένο πάνελ κριτών δοκίμασε τους οίνους, αξιολογώντας το άρωμα και την γεύση.

Προκειμένου να αποφευχθούν οποιεσδήποτε επιδράσεις αναγνώρισης, η σειρά της παρουσίασης ήταν τυχαία για κάθε δείγμα στις τρεις επαναλήψεις. Όλα τα μέλη του πάνελ ρωτήθηκαν να βαθμολογήσουν την ένταση των χαρακτηριστικών σε μία κλίμακα 0-10, με το 10 να αντιπροσωπεύει τη μεγαλύτερη βαθμολογία. Τα χαρακτηριστικά που είχαν να βαθμολογήσουν ήταν το άρωμα, η γεύση και η γενική αποδοχή. (Larmond, 1969 ; Jackson, 2002)

2) Περιγραφική ανάλυση : Η επαναληψιμότητα των κριτών εκτιμήθηκε δίνοντας το ίδιο δείγμα οίνου 3 φορές και υπολογίζοντας την τυπική απόκλιση των

αποτελεσμάτων. Από τους κριτές ζητήθηκε να αξιολογήσουν το άρωμα και τη γεύση των προς εξέταση οίνων (στις γενικές κατηγορίες εσπεριδοειδή, πυρηνόκαρπα και τροπικά φρούτα και ανθικά αρώματα) και να βαθμολογήσουν την ένταση των χαρακτηριστικών σε μία κλίμακα 0-10, με το 10 να αντιπροσωπεύει τη μεγαλύτερη βαθμολογία. Τα δείγματα οίνου αναλύθηκαν με ποσοτική περιγραφική ανάλυση (quantitative descriptive analysis).

Η γραφική παρουσίαση των αρωματικών προφίλ συμπεριλαμβανομένων των χαρακτηριστικών της οσμής και της γεύσης έγινε με ιστογράμματα με τις μέσες τιμές των οργανοληπτικών περιγραφών.

Το αρωματικό προφίλ των οίνων περιελάμβανε τις εξής καταγορίες :

Εσπεριδοειδή φρούτα (γκρειπφρουτ, λεμόνι, λαίμ, μανταρίνι)

Φρούτα δέντρων (αχλάδι, μήλο, πράσινο μήλο, ροδάκινο)

Τροπικά φρούτα (πεπόνι, γκουάβα, ανανάς, passion fruit, lychee)

Ανθικά (αγιόκλημα, λευκάγαθα, πορτοκαλανθοί, φλαμουριά-linden, γιασεμί, ακακία, βιολέτα, λεβάντα, τριαντάφυλλο).

### **8.3.2 Δείγματα οίνων 2013**

Σύμφωνα με τα παραπάνω πρωτόκολλα παρήχθησαν 12 οίνοι της ποικιλίας Ασύρτικο και κατά τις δύο οινοποιητικές περιόδους 2012-2013, οι οποίοι εμφιαλώθηκαν και δοκιμάστηκαν περίπου 5 μήνες μετά την εμφιαλωσή τους.

Οι οίνοι που παρήχθησαν το 2013 δοκιμάστηκαν σύμφωνα με την παρακάτω διαδικασία οργανοληπτικής δοκιμής.

#### **Σύσταση πάνελ**

Για τους σκοπούς της διδακτορικής διατριβής συστάθηκε ένα ειδικευμένο πάνελ κριτών από τελειόφοιτους φοιτητές του τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών του ΠΑΔΑ Αθήνας, το οποίο και εκπαιδεύτηκε για 16 εβδομάδες, πάνω στην οργανοληπτική δοκιμή οίνων στο εργαστήριο "Οργανοληπτικός Έλεγχος Οίνων και ποτών" ύπο την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Αργύρη Τσακίρη. Η εκπαίδευση περιελάμβανε διαλέξεις, εξοικίωση αρωμάτων και αναγνώριση ελλαττωματικών οσμών με την βοήθεια αρωματικών κίτ. Επίσης πραγματοποιήθηκαν οργανοληπτικές δοκιμές εμπορικών οίνων της συγκεκριμένης ποικιλίας (Ασύρτικο) για αναγνώριση των ποικιλιακών αρωμάτων και εξοικίωση του πάνελ με αυτά. Την εκπαίδευση του πάνελ ακολούθησαν συναντήσεις στις οποίες δοκιμάστηκαν όλοι οι οίνοι που χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα προκειμένου να καταγραφούν όλα τα εντοπιζόμενα αρώματα (με χρήση της UC-Davis "Aroma Wheel"). Έτσι καταγράφηκαν από το πάνελ όλα τα αρώματα που αναγνωρίστηκαν στους εξεταζόμενους οίνους και επιλέχθηκαν τελικά ως επικρατέστερα αυτά που εμφανίστηκαν με την μεγαλύτερη συχνότητα από την πλειοψηφία των κριτών, ώστε να χρησιμοποιηθούν στο δελτίο οργανοληπτικής δοκιμής. Βάση των



επιλεγόμενων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών συντάχθηκε ένα ειδικό δελτίο οργανοληπτικής δοκιμής για την περιγραφή του χρώματος, της οξύτητας, της ισορροπίας, του γευστικού πλούτου, της αρωματικής έντασης και του αρώματος.

Το πάνελ κριτών που εκπαιδεύτηκε για τις ανωτέρω οργανοληπτικές δοκιμές αποτελείται από 18 κριτές, (7 άντρες και 11 γυναίκες ηλικίας από 25 έως 40 ετών) εκ των οποίων όλοι είχαν εμπειρία σε περιγραφικές δοκιμές οίνων.

### Οργανοληπτική δοκιμή

Οι οργανοληπτικές δοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε ειδικά δωμάτια οργανοληπτικής δοκιμής με βάση πρωτόκολλο όπως ορίζεται από τον International Organization for Standardisation ISO 3591. Χρησιμοποιήθηκαν standard ποτήρια οργανοληπτικής δοκιμής, αυτά που ορίζει ως Wine Tasting Glass ο International Standard Organization (ISO) και ποσότητα δείγματος 30ml, σε θερμοκρασία σερβιρίσματος για τους λευκούς οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο που εξετάσαμε στους 8-12°C. Στα δελτία οργανοληπτικής δοκιμής που δώθηκαν χρησιμοποιήθηκαν 25 περιγραφικοί όροι εκ των οποίων 4 για χρώμα, 14 για άρωμα και 7 για γεύση, ενώ για κάθε οίνο ζητήθηκε να δοθεί βαθμολογία για την γενική εντύπωση σε μία κλίμακα 59-100 (95-100 Μεγάλο κρασί, 90-95 εξαιρετικό, 85-89 πολύ καλό, 80-84 καλό, 75-79 ικανοποιητικό, 70-74 μέτριο και 59-69 απορριπτό). Η οργανοληπτική δοκιμή για κάθε ποικιλία επαναλήφθηκε τρεις φορές με διαφορετικούς κωδικούς άνα δείγμα ώστε να αξιολογηθεί η επαναληψιμότητα του πάνελ.

Το δελτίο οργανοληπτικής δοκιμής που χρησιμοποιήθηκε είναι το παρακάτω.

### ΔΕΛΤΙΟ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ ΓΙΑ ΑΣΥΡΤΙΚΟ:

#### ΧΡΩΜΑ:

Κιτρινοπράσινο   
Κίτρινο   
Κίτρινο σκούρο

#### ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ:

Φρούτα εσπεριδοειδή (λεμόνι, κίτρο, πορτοκάλι)   
Λευκόσαρκα φρούτα (ροδάκινο, μήλο, αχλάδι)   
Εξωτικά φρούτα (μάνγκο, ανανά, μπανάνα)   
Λουλούδια (λευκά λουλούδια, λεμονανθοί)

#### ΑΡΩΜΑΤΙΚΗ ΕΝΤΑΣΗ

Μικρή  Μεσαία  Μεγάλη

Οξείδωση

### ΓΕΥΣΗ:

Οξύτητα

Μικρή  Μεσαία  Μεγάλη

Ισορροπία

Ελαφρά ξυνή  Καλή  Ελαφρά Γλυκιά

Αρωμα στόματος

Ελαφρύ  Μεσαίο  Έντονο

Αρωματική Διάρκεια

Μικρή  Μεσαία  Μεγάλη

### Βαθμός (59-100)

#### Στατιστική Ανάλυση

Στατιστική ανάλυση Principal Component Analysis (PCA) εφαρμόστηκε στους μέσους όρους της βαθμολογίας που δώθηκε σε κάθε περιγραφικό όρο, από τις 3 επαναλήψεις που πραγματοποιήθηκαν, δείχνοντας τις σημαντικές ομοιότητες και διαφορές μεταξύ των οίνων (στήλες) είτε για κάθε οίνο ξεχωριστά (γραμμές). Η PCA υπολογίστηκε πάνω στο correlation matrix.

#### Διαδικασία εξέτασης

Ο οίνος τοποθετείται σε ποτήρι με σχήμα τουλίπας, περίπου μέχρι το 1/3.

Αρχικά, γέροντας το ποτήρι γίνεται εκτίμηση του οίνου οπτικά.



Προσδιορίζονται: το είδος του οίνου (λευκό, ερυθρό, ροζέ, αφρώδες), η ένταση & το χρώμα του (χρυσασφί, πρασινωπό, κίτρινο, κιτρινοπράσινο, κεχριμπαρένιο, καστανό, κρεμμυδόφλουδα, κοκκινέλι, ροζέ, πορφυρό, βιολετί, ρουμπινί, κεραμιδί, σοκολατί, με ανταύγειες κ.α.), η ύπαρξη CO<sub>2</sub>, η περιεκτικότητα σε αλκοόλη (δάκρυα), η διαύγεια (πρωτεϊνικό θόλωμα, τρυγικά άλατα κ.α.)

Μετά από περιστροφή του ποτηριού για την ανακίνηση του οίνου εκτιμάται οσφρητικά.



Προσδιορίζονται: η ένταση του αρώματος, η ύπαρξη ποικιλιακών αρωμάτων, η πολυπλοκότητα του, η ισορροπία των αρωμάτων, ο τύπος του αρώματος (αρώματα φρούτων, λουλουδιών, ζωικά, ξηρών φρούτων & καρπών, μπαχαρικών, καπνιστά, βαλσάμικα, χορτώδη, διάφορων τροφών κ.α.), οι ελαττωματικές οσμές (αναγωγικά, οξειδώσεις, μούχλας κ.α.)

Τέλος, τοποθετείται μια γουλιά στο στόμα και στροβιλίζεται ώστε να εκτιμηθεί γευστικά.



Προσδιορίζονται: γεύση (γλυκό, ξινό, πικρό, αλμυρό, umami), ισορροπία μεταξύ των γεύσεων, αίσθηση στόματος (ένταση, στυπτικότητα, λιπαρότητα, στρογγυλότητα, καυστικότητα, επιθετικότητα ταννινών), άρωμα στόματος (ένταση, τύπος, ισορροπία), δομή του οίνου, σώμα, πολυπλοκότητα, διάρκεια, επίγευση.

(Κοτσερίδης, Οινολογία II)

## **8.4. Επίδραση της γεωγραφικής προέλευσης και του επιπέδου ωρίμανσης στη χημική σύσταση οίνων ποικιλίας Ασύρτικου**

### **8.4.1 Επιλογή σταφυλιών και συνθηκών οινοποίησης**

Σκοπός του πειράματος είναι να προσδιοριστούν οι διαφορές στην πορεία των αλκοολικών ζυμώσεων, στα αποτελέσματα των κλασικών αναλύσεων και στα πτητικά συστατικά του αρώματος των παραγόμενων οίνων από την ίδια ποικιλία σταφυλιού, τις ίδιες συνθήκες οινοποίησης αλλά από τρεις γεωγραφικά διαφορετικές περιοχές, το νησί της Σαντορίνης στις Κυκλάδες, την περιοχή της Νεμέας στην Πελοπόννησο και την περιοχή της Δράμας στην Βόρεια Ελλάδα. Για την μελέτη των παραμέτρων που πραγματεύεται η παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν σταφύλια που προήλθαν από τους ίδιους αμπελώνες και για τις δυο οινοποιητικές περιόδους (2012-2013) και από τις εξής περιοχές:

- θέση Έξω γωνιά Σαντορίνης, ιδιοκτησίας της ΓΑΙΑ ΟΙΝΟΠΟΙΗΤΙΚΗ
- περιοχή Κούτσι Νεμέας Πελοποννήσου, ιδιοκτησίας της ΓΑΙΑ ΟΙΝΟΠΟΙΗΤΙΚΗ
- περιοχή Κοκκινόγεια Δράμας ιδιοκτησίας του κτήματος του Παυλίδη

Για την Σαντορίνη, η συγκομιδή έγινε χειρωνακτικά με τυχαία επιλογή τσαμπιών διασχίζοντας σε σχηματισμό Χ τον αμπελώνα, μίας και η ιδιομορφία του εδάφους

και του κλαδέματος στην Σαντορίνη (σχήμα κουλούρα) δεν επιτρέπουν τον σχηματισμό γραμμών.

Στις περιοχές της Νεμέας και Δράμας η συγκομιδή έγινε επίσης χειρωνακτικά με τυχαία επιλογή τσαμπιών ανάμεσα στις γραμμές μίας και το σύστημα κλαδέματος και στις δυο αυτές περιοχές είναι γραμμικό.

Η συγκομιδή των σταφυλιών έγινε σε δύο διαφορετικές φάσεις ωριμανσής:

- σε **11,8** Baumé και
- σε **12,6** Baumé

με μικρές αποκλίσεις και για τις τρεις περιοχές.

Αμέσως μετά την συγκομιδή τους τα σταφύλια καταψύχθηκαν στους  $-18^{\circ}\text{C}$ . Με την βοήθεια φορητών ψυγείων και χρήση ξηρού πάγου, στάλθηκαν στο εργαστήριο Οινολογίας στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Αμέσως μετά την παραλαβή και εφόσον παρέμειναν εκτός ψύξης για 24h ώστε να έρθουν σε συνθήκες περιβάλλοντος, ζυγίστηκαν και διαχωρίστηκαν σε ισόποσα μέρη με βάση τα βάρη τους.

Τα σταφύλια κάθε περιοχής ( Σαντορίνη, Νεμέα και Δράμα) διαχωρίστηκαν αρχικά με βάση τον διαφορετικό βαθμό Baumé (11,8 και 12,6) με κωδικοποίηση πρώιμα και όψιμα(Π/Ο). Στην συνέχεια κάθε δείγμα διαχωρίστηκε σε 2 ισόποσα μέρη ώστε τελικά να υπάρχουν ίσες ποσότητες σταφυλιών διαφορετικής τεχνολογικής ωριμότητας για την διεξαγωγή δυο διαφορετικών ειδών ζύμωσης: ζύμωση με την μέθοδο της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης και ζύμωση με την μέθοδο της κλασσικής λευκής οινοποίησης με κωδικοποίηση κλασσική και προζυμωτική (Κ/Προ). Οι τελικοί οίνοι είναι 12 (3 περιοχές × 2 διαφορετικούς βαθμούς Baume × 2 είδη οινοποιήσεων), πίνακας 6.

Οι οινοποιήσεις πραγματοποιήθηκαν σε γυάλινα δοχεία χωρητικότητας 15 λίτρων συνδεδεμένα με ένα σύστημα ελέγχου θέρμανσης/ψύξης που ονομάζεται VinPilot από την WFT Winetechnology. Το σύστημα χρησιμοποιείται για μικροοινοποιήσεις και επιτρέπει τον έλεγχο και την καταγραφή όλων των ρυθμίσεων της θερμοκρασίας και των αναλύσεων μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή και υπάρχει στο εργαστήριο Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

**Πίνακας 6.**Κωδικοποίηση δειγμάτων οίνων κατά τις οινοποιητικές περιόδους 2012,2013.

ΕΤΗ	2012	2013
-----	------	------

Αριθμηση δειγμάτων	1	2	3	4	5	6	7	8
ΚΛΠΡΟΖ πρώιμα/οψίμα	Κ Π	Κ Ο	Προ Π	Προ Ο	Κ Π	Κ Ο	Προ Π	Προ Ο

## 8.4.2. Χαρακτηριστικά των προς μελέτη αμπελώνων

### ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ

- Ποικιλία: Ασύρτικο
- Υψόμετρο: 150m
- Έδαφος (Θηραϊκή γη) : ηφαιστειακό και αμμώδες
- Κλάδεμα: Μακρύ σε διαμόρφωση κουλούρα
- Ηλικία φυτού: 40-60 ετών για υπέργειο τμήμα και 2-3 αιώνες ριζικό σύστημα. Δεν είναι εμβολιασμένο.
- Κλίμα: Μεσογειακό
- Βροχόπτωση: 300-400 χιλιοστά/έτος. Το 90% της κατανομής των βροχοπτώσεων πραγματοποιούνται από το Νοέμβριο έως το Μάρτιο

### ΝΕΜΕΑ

- Ποικιλία: Ασύρτικο
- Υψόμετρο: 550m
- Έδαφος ( Κούτσι Νεμέας): πηλοαργιλωδές, πλούσιο σε ενεργό ασβέστιο <15%
- Κλάδεμα: κοντό,διπλό κορδόνι Rouyat
- Ηλικία φυτού: 8 ετών εμβολιασμένα σε υποκείμενο 41B
- Βροχόπτωση: 500-600 χιλιοστά/έτος. Το 60-65% της κατανομής των βροχοπτώσεων πραγματοποιούνται από τον Νοέμβριο έως τον Μάρτιο.
- Κλίμα : Ήπιο Μεσογειακό,υπόξηρο

### ΔΡΑΜΑ

- Ποικιλία Ασύρτικο
- Υψόμετρο: 230 m
- Έδαφος: Άμμο αργιλοπηλώδες με οργανική ουσία στο 3% και ολικό CaCO<sub>3</sub> στο 12-13 %
- Κλάδεμα: Διπλή Αμμολυτή
- Ηλικία φυτού: 10 ετών εμβολιασμένο με 110 3 Porsen
- Κλίμα: ημιορεινό με ελάχιστη θερμοκρασία τους 5<sup>0</sup>C και μέγιστη τους 35<sup>0</sup>C

- Βροχόπτωση: 350 χιλιοστά/έτος. Το 60% της κατανομής των βροχοπτώσεων πραγματοποιούνται από τα μέσα Ιανουαρίου έως το Μάρτιο.
- Παραγωγή : 1100 κιλά /στρέμμα

### 8.4.3. Συνθήκες Ζύμωσης

Τα δείγματα σταφυλιών στην κάθε φάση της τεχνολογικής ωριμότητας, διαχωρίστηκαν με βάση το βάρος τους ώστε να προκύψουν δύο ισόποσες παρτίδες γλεύκους. Το ένα γλεύκος προέκυψε από απευθείας πάτημα σταφυλιών προκειμένου για την διεξαγωγή κλασσικής ζύμωσης (Κλασσική ζύμωση, Κ) ενώ το δεύτερο γλεύκος προέκυψε μετά από αποβοστρύχωση και ελαφρά πίεση των σταφυλιών, παραμονή του σταφυλοπολτού στους 10-12<sup>0</sup>C για 12 ώρες και εν συνεχεία πίεση αυτού για την παραλαβή του γλεύκους (Προζυμωτική εκχύλιση, Πρ).

Μεταμπισουλφίτ προστέθηκε πριν την έκθλιψη των σταφυλιών για την προσαρμογή του ολικού θειώδους SO<sub>2</sub> στα 70 mg/l καθώς και ασκορβικό οξύ, το οποίο ρυθμίστηκε στα 250 mg/hl. Η διαύγαση στα γλεύκη έγινε με στατική απολάσπωση στους 10<sup>0</sup>C για 12 ώρες. Ο βαθμός διαύγασης ήταν τέτοιος ώστε όλα τα διαυγασμένα γλεύκη να έχουν τιμή θολερότητας περίπου 100 NTU.

Μετά την απομάκρυνση των οινολασπών, τα γλεύκη εμβολιάστηκαν με στελέχη εμπορικής ζύμης *Saccharomyces cerevisiae*, με την εμπορική ονομασία 58W5 (Lallemand, Γαλλία) σε συγκέντρωση 0.25g ανά λίτρο γλεύκους, ενώ προστέθηκε ακόμη θρεπτικό υλικό Fermaid E (Lallemand, Γαλλία) σε συγκέντρωση 0.25g L<sup>-1</sup>, πριν τον εμβολιασμό. Τα εμβόλια παρασκευάστηκαν με την προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας ξηρής ζύμης και ίδιας ποσότητας ζάχαρης διαλυμένα σε 10x ποσότητα νερού θερμοκρασίας 38-40<sup>0</sup>C και παραμονή για 30min για ενεργοποίηση των ζυμομυκήτων. Στη συνέχεια ακολούθησε προσθήκη 10x ποσότητας από το προς εμβολιασμό γλεύκος και παραμονή για 20min και τέλος ενσωμάτωση στον συνολικό όγκο.

Οι αλκοολικές ζυμώσεις των ανωτέρω γλευκών πραγματοποιήθηκαν σε πλαστικά δεξαμενάκια χωρητικότητας 15 λίτρων προσαρμοσμένα στο σύστημα μικροινοποίησης Vin Pilot το οποίο βρίσκεται στο οινοποιείο του εργαστηρίου Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, εικόνα 15.

Η εξέλιξη των αλκοολικών ζυμώσεων παρακολουθήθηκε με καθημερινή (επαναλαμβανόμενη την ίδια ώρα της ημέρας) μέτρηση της πυκνότητας ενώ εξασφαλίστηκε μέσω συστήματος ψύξης η διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας

στους 17°C. Το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης επιβεβαιώθηκε όταν τα ανάγοντα σάκχαρα μετρήθηκαν να είναι κάτω από 2 g/l σε όλα τα δείγματα.

Η μέτρηση της πυκνότητας έγινε με χρήση πυκνομέτρου.

Μετά το πέρας των ζυμώσεων, οι νέοι οίνοι μεταγγίσθηκαν, θειώθηκαν (60mg θειώδους ανυδρίτη L<sup>-1</sup>) και εμφιαλώθηκαν σε γυάλινες φιάλες των 0.75 L, όπου και διατηρήθηκαν για περαιτέρω αναλύσεις.

Η θολερότητα των γλευκών μετρήθηκε με την χρήση φορητής συσκευής θολερομετρίας Hach 2100P(Beavercreek, OH).



**Εικόνα 15** .Φωτογραφία μικροοινοποίησης με τη χρήση συστήματος Vin Pilot στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.Τα δύο αριστερά δοχεία περιέχουν σταφυλοπολτό για προζυμωτική εκχύλιση ενώ τα δύο δεξιά γλεύκος απο κλασσική λευκή οινοποίηση.

## 8.5. Επίδραση οινοποιητικής τεχνικής στο Ασύρτικο Σαντορίνης

Για την μελέτη των παραμέτρων που πραγματεύεται η παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν μονοποικιλιακοί λευκοί οίνοι από την ελληνική ποικιλία αμπέλου Ασύρτικο *Vitis vinifera*. Οι οινοποιήσεις και τις τρεις χρονιές (2004-2005-2006) πραγματοποιήθηκαν στο οινοποιείο της ΓΑΙΑ ΟΙΝΟΠΟΙΗΤΙΚΗ στη Σαντορίνη, κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες.

Τα σταφύλια προήλθαν από τον ίδιο αμπελώνα και για τις τρεις οινοποιητικές περιόδους στη θέση Έξω γωνιά Σαντορίνης, ιδιοκτησίας της ΓΑΙΑ ΟΙΝΟΠΟΙΗΤΙΚΗ. Οι δειγματοληψίες έγιναν με τυχαία επιλογή τσαμπιών διασχίζοντας σε σχηματισμό Χ τον αμπελώνα, μίας και η ιδιομορφία του εδάφους και του κλαδέματος στην Σαντορίνη (σχήμα κουλούρα) δεν επιτρέπουν την διαμόρφωση σε γραμμές.

Παράλληλα πραγματοποιήθηκαν 4 δειγματοληψίες ανά τσαμπί σε σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο κατά τις ημερομηνίες 1, 9, 18 και 24 Αυγούστου και ακολούθησε διατήρηση των σταφυλιών αυτών σε σακουλάκια διατήρησης τροφίμων σε συνθήκες κατάψυξης (-18°C). Στη συνέχεια τα σταφύλια στάλθηκαν με χρήση φορητών ψυγείων και ξηρού πάγου στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΓΠΑ) για αναλύσεις.

Τα σταφύλια προς οινοποίηση τρυγήθηκαν στην ωριμότητα τους, μεταξύ 12 και 15 Αυγούστου, έτσι ώστε οι οίνοι που θα προέκυπταν να είχαν περίπου 12%vol εν δυνάμει αλκοολικό τίτλο (ΔΑΤ). Η συνολική ποσότητα σταφυλιών χωρίστηκε σε δύο μέρη και ακολούθησε η συνθλιψη αυτών χειρωνακτικά. Παρήχθησαν δύο είδη γλευκών, αυτά που προήλθαν με άμεση πίεση των σταφυλιών (Κ) και αυτά στα οποία έγινε προζυμωτική κρυσταλλοποίηση σε θερμοκρασία 10 - 12 °C για 12 ώρες (Προ.). Στα σταφύλια που παρέμειναν σε επαφή με το γλεύκος για την προζυμωτική κρυσταλλοποίηση έγινε προσθήκη ενζύμου Lallzyme HC (0.5 g /hl). Τα γλεύκη θειώθηκαν με προσθήκη Μεταμπισουλφίτ στα σταφύλια πριν από την πίεση και το ολικό θειώδες SO<sub>2</sub> ρυθμίστηκε στα 70mg θειώδους ανυδρίτη ανά λίτρο γλεύκους. Αυτά τα δύο κλάσματα γλευκών υποβλήθηκαν επιπλέον σε δύο διαφορετικές συνθήκες ζύμωσης: Η μία ζύμωση [μετά από άμεση πίεση (κλασσική οινοποίηση) ή προζυμωτική κρυσταλλοποίηση] πραγματοποιήθηκε χωρίς την παρουσία λασπών (καθαρά γλεύκη, κ), ενώ η άλλη ζύμωση [μετά από άμεση πίεση (κλασσική οινοποίηση) ή προζυμωτική κρυσταλλοποίηση] πραγματοποιήθηκε παρουσία των λασπών (σύλλασπα γλεύκη, σ). Μοναδική εξαίρεση αποτελούν οι οίνοι του 2006, στους οποίους η ζύμωση έγινε χωρίς την παρουσία λασπών, Πίνακας 7.



**Πίνακας 7.**Κωδικοποίηση δειγμάτων οίνων κατά τις οινοποιητικές περιόδους 2004-2005-2006

ΕΤΗ	2004				2005				2006	
Αριθμηση δειγμάτων	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ΚΛ/ΠΡΟΖ Καθ/συλλ	Κκ	Κσ	Προ κ	Προ σ	Κ σ	Κκ	Προ σ	Προ. κ	Κ κ	Προ. κ

Τα "καθαρά"γλεύκη προέκυψαν μετά από διαύγαση με στατική απολάσπωση στους 10 - 12<sup>0</sup>C για 12 ώρες. Η διαύγεια των οίνων μετρήθηκε με την χρήση θολερόμετρου σε μονάδες NTU. Τα «καθαρά» γλεύκη (κ) είχαν περίπου 50 μονάδες NTU, ενώ τα «σύλλασπα» γλεύκη (σ) είχαν περίπου 1000 μονάδες NTU.

Μετά την απομάκρυνση των οινολασπών είτε καθ'ολοκληρία (καθαρά γλεύκη) είτε μερικώς (σύλλασπα γλεύκη) αυτά εμβολιάστηκαν με στελέχη εμπορικής ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* , με την εμπορική ονομασία R-HST της εταιρείας (LALVIN , Γαλλία ) σε συγκέντρωση 0.25 g ανά λίτρο γλεύκους, ενώ προστέθηκαν ακόμη θρεπτικό υλικό Fermaid E (Lallemand, Γαλλία) σε συγκέντρωση 0.35 g L<sup>-1</sup> , πρίν τον εμβολιασμό. Τα εμβόλια παρασκευάστηκαν με την προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας ξηρής ζύμης και ίδιας ποσότητας ζάχαρης διαλυμένα σε όγκο νερού ίσου με το βάρος της ζύμης πολλαπλασιαμένο επί 10, θερμοκρασίας 38-40<sup>0</sup>C και παραμονή για 30min για ενεργοποίηση των ζυμομυκήτων. Ακολούθησε προσθήκη ποσότητας από το προς εμβολιασμό γλεύκος ίδιου όγκου με το προστιθέμενο νερό, παραμονή για 20min και στο τέλος ενσωμάτωση στον συνολικό όγκο.Οι ζυμώσεις έγιναν σε ανοξείδωτες δεξαμενές των 30 lit και οι θερμοκρασία διατηρήθηκε σταθερή μεταξύ 16 και 18<sup>0</sup>C σε όλη την διάρκεια των ζυμώσεων με την βοήθεια βυθιζόμενων ψύκτρων. Την τρίτη ημέρα διεξαγωγής των αλκοολικών ζυμώσεων πραγματοποιήθηκε οξυγόνωση των εν ζυμώση γλευκών με παροχή οξυγόνου 1 λίτρο/ λεπτό για 0.5 λεπτό η οποία για 30 sec σε 30 lit γλεύκους αντιστοιχεί σε προσθήκη 12,0 mg O<sub>2</sub>/lit ζυμούμενου γλεύκους. Μετά το πέρας των ζυμώσεων, οι φρέσκοι οίνοι διαυγάστηκαν (απολασπώθηκαν) , θειώθηκαν (60 mg /L<sup>-1</sup>θειώδους ανυδρίτη) και εμφιαλώθηκαν σε γυάλινες φιάλες των 0.75 L οι οποίες και στάλθηκαν στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών για περαιτέρω αναλύσεις.

Η παρακολούθηση της εξέλιξης της αλκοολικής ζύμωσης έγινε με μέτρηση της πυκνότητας. Το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης επιβεβαιώθηκε με μέτρηση των αναγόντων σακχάρων οπότε και θεωρήθηκε ότι ολοκληρώθηκε όταν η τιμή των αναγόντων σακχάρων μετρήθηκε να είναι λιγότερο από 2g L<sup>-1</sup>. Η θολερότητα των γλευκών μετρήθηκε με την χρήση φορητής συσκευής θολερομετρίας Hach 2100P(Beavercreek, OH).

## **8.9 Μελέτη απόσταξης οίνων Ασύρτικου**

### **Δείγματα οίνων**

Τα φρέσκα δείγματα οίνων που χρησιμοποιήθηκαν για να υποβληθούν σε απόσταξη ήταν οι οίνοι που παρήχθησαν κατά την οινοποίηση του 2012 και 2013, και συγκεκριμένα από την Σαντορίνη και την Νεμέα οι οίνοι της πρώτης φάσης ωρίμανσης (άγουρα σταφύλια) παραγόμενοι με προζυμωτική εκχύλιση και από την Δράμα ο οίνος που παρήχθη με κλασσική οινοποίηση. Σε ότι αφορά στα παλαιωμένα δείγματα οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο που χρησιμοποιήθηκαν για να υποβληθούν σε απόσταξη ήταν από την Σαντορίνη οι οίνοι Θαλασσίτης του 2003 και Θαλασσίτης του 2004 της ΓΑΙΑ Οινοποιητική και από την Δράμα ο οίνος Pavlidis Assyrtiko του οινοποιείου Παυλίδη του 2008. Οι παλαιωμένοι οίνοι επιλέχθηκαν έτσι ώστε να έχουν προέλθει από τους ίδιους αμπελώνες με αυτούς από τους οποίους παρήχθησαν τα δείγματα οίνων του 2012-2013 και για τις δυο γεωγραφικές περιοχές (Σαντορίνη και Δράμα), αντί για τρεις (Σαντορίνη, Δράμα και Νεμέα) μιας και δυστυχώς δεν υπήρχε τόσο παλιό δείγμα οίνου Ασύρτικου από την συγκεκριμένη αμπελουργική περιοχή της Νεμέας.

### **Υλικά**

Απαιτούνται ογκομετρικές φιάλες των 1500 ml και ογκομετρικοί κύλινδροι των 20,200 ml καθώς και ποτήρια ζέσεως. Χρησιμοποιήθηκε ένα ανοξείδωτο δεξαμενάκι απόσταξης χωρητικότητας 7 λίτρων και σφαιρική γυάλινη φιάλη απόσταξης χωρητικότητας 500 ml που εφαρμόζει σε Εργαστηριακή Συσκευή απόσταξης πολλαπλών θέσεων. Στο προς απόσταξη δείγμα προστίθεται αντιαφριστική πορσελάνη βρασμού ενώ απαιτούνται και γυάλινα vials χωρητικότητας 5 και 150 ml με βιδωτό πώμα για φύλαξη των κλασμάτων απόσταξης.

### **Μέθοδος**

Οι αποστάξεις πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Αποσταγμάτων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών του ΠΑΔΑ Αθήνας και η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής :

#### **1η Απόσταξη**

Η πρώτη απόσταξη πραγματοποιήθηκε σε ανοξείδωτη συσκευή απόσταξης, εικόνα 16. Στον βραστήρα της συσκευής τοποθετείται η ποσότητα του προς απόσταξη οίνου, (1500 ml) και αφού συνδέσουμε τον ψυκτήρα με τον βραστήρα της

συσκευής και ανοίξουμε την παροχή του νερού και γκαζιού, τοποθετούμε στην απόληξη του ψυκτήρα την κωνική φιάλη συλλογής του αποστάγματος. Η διαδικασία της απόσταξης πραγματοποιείται με πολύ χαμηλές ταχύτητες συλλογής του αποστάγματος διατηρώντας μία ροή 1 σταγόνας / δευτερόλεπτο ώστε να αποφεύγεται η απώλεια αρωματικών ουσιών στο περιβάλλον,(Palmer,1997). Η απόσταξη του οίνου συνεχίζεται μέχρις ότου παραληφθεί το κλάσμα της "Σούμας", όγκου 450 ml που αντιστοιχεί σε 30% του προς απόσταξη όγκου.



**Εικόνα 16.** Ανοξειδωτή συσκευή απόσταξης στο Εργαστήριο Αποσταγμάτων του τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών του ΠΑΔΑ Αθήνας.

## 2η Απόσταξη

Η δεύτερη απόσταξη των οίνων πραγματοποιήθηκε σε γυάλινη συσκευή απόσταξης λόγω του όγκου του προς απόσταξη κλάσματος καθώς η ανοξειδωτή συσκευή

απόσταξης λειτουργεί με ελάχιστο όγκο το 1 λίτρο υγρού προς απόσταξη. Η ποσότητα του αποστάγματος που παρελήφθη με την πρώτη απόσταξη (λεγόμενη σούμα) μεταφέρεται ποσοτικά στον βραστήρα της αποστακτικής συσκευής ξεπλένοντας 2-3 φορές την φιάλη φύλαξης της σούμας με απιονισμένο νερό ώστε να παραληφθεί όλη η ποσότητα τυχόν υπολλειμάτων. Προσθέτουμε αντιαφριστική πορσελάνη ώστε αποφευχθεί ο έντονος βρασμός και αφού συνδέσουμε τον ψυκτήρα και ανοίξουμε τις παροχές νερού και γκαζιού, τοποθετούμε στην απόληξη του ψυκτήρα τον ογκομετρικό κύλινδρο παραλαβής του αποστάγματος, εικόνα 17. Η απόσταξη της σούμας ξεκινάει και απο συνολικά 450 ml Σούμας που αποστάζονται, το απόσταγμα "κόβεται" σε 3 κλάσματα.

Κεφαλές 4,5 ml (1% του προς απόσταξη όγκου)

Καρδιά 225 ml (50% του προς απόσταξη όγκου)

Ουρές 4,5 ml (1% του προς απόσταξη όγκου)

Η διαδικασία της απόσταξης πραγματοποιείται με πολύ χαμηλές ταχύτητες συλλογής του αποστάγματος διατηρώντας μία ροή 1 σταγόνας / δευτερόλεπτο ώστε να αποφεύγεται η απώλεια αρωματικών ουσιών στο περιβάλλον (Palmer,1997).

Κάθε κλάσμα που παρελήφθη απο την δεύτερη απόσταξη των οίνων διατηρείται σε γυάλινα φιαλίδια με βιδωτό πώμα και φυλλάσσονται σε σκιερό μέρος για περαιτέρω αναλύσεις. Σε όλα τα κλάσματα των αποστάξεων μετρήθηκε ο αλκοολικός τους τίτλος με την χρήση αλκοολόμετρου, θερμόμετρου και πίνακα για διόρθωση της τιμής αυτού στους 20<sup>0</sup>C, όπως αναφέρθηκε στο κεφ 8.1. Από όλους τους οίνους που αποστάχθηκαν, τα κλάσματα της καρδιάς απο την δεύτερη απόσταξη καθε οίνου υποβλήθηκαν σε υγρή-υγρή εκχύλιση με την μέθοδο που ακολουθήθηκε και για τους οίνους όπως αναφέρθηκε στο κεφ.8.3 και ακολούθησε ανάλυση του αρώματος με χρήση αερίου χρωματογράφου GC/MS με τις ίδιες συνθήκες που εφαρμόστηκαν και ανωτέρω.



**Εικόνα 17.** Γυάλινη Συσκευή Απόσταξης στο Εργαστήριο Αποσταγμάτων του τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών του ΠΑΔΑ Αθήνας.

#### Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με την ανάλυση της διακύμανσης (analysis of variance-ANOVA) του προγράμματος Minitab. Το Tukey's HSD (honest significant difference test) εφαρμόστηκε για την σύγκριση των δειγμάτων όταν μετά την εφαρμογή της με  $p < 0.05$  παρουσιάζονταν σημαντικές διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων. Έτσι στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων αναγράφεται η τυπική απόκλιση των τριών επαναλήψεων του μέσου όρου (με το συμβολισμό  $\pm$ ). Με a,b,c,d απεικονίζεται η στατιστική διαφορά των δειγμάτων (σε επίπεδο 0.05%) ενώ τα δείγματα με το ίδιο γράμμα δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.



## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ**





## Κεφάλαιο 9. Αποτελέσματα προσδιορισμού τυροσινάσης σε δείγματα σταφυλιού

Σύμφωνα με το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε όπως αναφέρεται στο κεφ.8.1 πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε δείγματα σταφυλιού τα οποία συλλέχθηκαν πριν αλλά και μετά την ημερομηνία τρυγητού (4 δειγματοληψίες κατά τις ημερομηνίες 1,9,18 και 24 Αυγούστου, με ημερομηνία τρυγητου μεταξύ 12 και 15 Αυγούστου) και διατηρήθηκαν σε συνθήκες κατάψυξης μέχρι την ημέρα της ανάλυσης. Οι υπολογισμοί έγιναν σύμφωνα με τα παρακάτω:

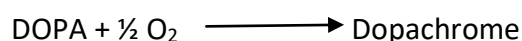
Μία μονάδα τυροσινάσης ορίζεται ως η ποσότητα τυροσινάσης η οποία μετατρέπει 1μmole DOPA σε dopachrome σε 1 min.

Παράδειγμα υπολογισμού τυροσινάσης σε δείγμα σταφυλιού Ασύρτικου Σαντορίνης

**Πίνακας 8.**Υπολογισμοί ταχύτητας της αντίδρασης

A <sub>475nm</sub> σε 1 min	Dopachrome απο 1 <sup>η</sup> καμπύλη (μmoles/ml)	Ογκος της αντίδρασης (ml)	Συντελεστής αραίωσης	Ολικό dopachrome που παρήχθη	Ταχύτητα αντίδρασης μmoles/min
0.0027	0.0620	3	-	0.1860	0.186

Σύμφωνα με την αντίδραση ισχύει:



Συμπεραίνουμε έτσι από τα παραπάνω ότι αφού απο 0.5ml ενζύμου παράγεται 0.1860 μmole dopachrome αυτό συνεπάγεται ότι 1 μmole dopachrome θα παραχθεί απο 2.688 ml ενζύμου. Συνεπώς αυτή είναι και η ενεργότητα του ενζύμου τυροσινάση , Units τυροσινάσης = 2.688/ml.

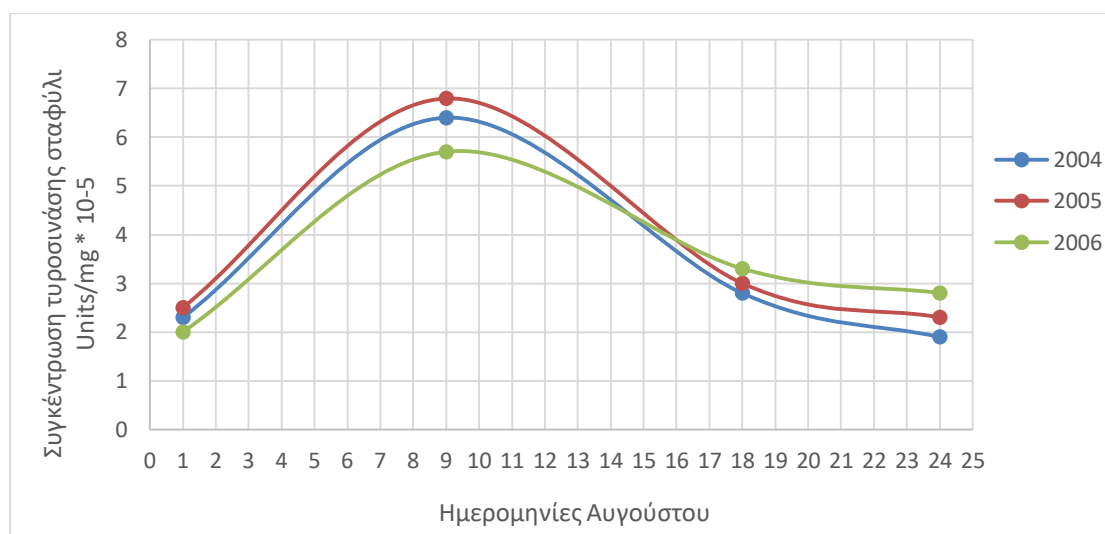
**1 Unit = ml τυροσινάσης που μετατρέπουν 1μmole DOPA σε dopachrome σε 1 min**

Συμφωνα με τους υπολογισμούς μας η τυροσινάση μας έδωσε 2.688 Units σε 35 gr σταφύλι, συνεπώς σε 1mgr η ενεργότητα θα είναι 0.0000768 Units. Το σταφύλι μας συνεπώς είχε 0.0000768 Units / mg σταφύλι.

Με βάση τα δείγματα σταφυλιού στα οποία έγινε προσδιορισμός τυροσινάσης προέκυψε ο παρακάτω πίνακας.

**Πίνακας 9.** Τιμές τυροσινάσης σε δείγματα σταφυλιού ποικιλίας Ασύρτικο από το νησί της Σαντορίνης

		Μονάδες τυροσινάσης- Units/mg σταφύλι
Έτη	Ημ/νιες	
<b>2004</b>	1-Αυγ	$(2,3 \pm 0,32) * 10^{-5}$
	9-Αυγ	$(6,4 \pm 0,91) * 10^{-5}$
	18-Αυγ	$(3,1 \pm 0,25) * 10^{-5}$
	24-Αυγ	$(1,8 \pm 0,06) * 10^{-5}$
<b>2005</b>	1-Αυγ	$(2,5 \pm 0,22) * 10^{-5}$
	9-Αυγ	$(6,8 \pm 0,41) * 10^{-5}$
	18-Αυγ	$(4,0 \pm 0,36) * 10^{-5}$
	24-Αυγ	$(2,3 \pm 0,19) * 10^{-5}$
<b>2006</b>	1-Αυγ	$(2,0 \pm 0,18) * 10^{-5}$
	9-Αυγ	$(5,7 \pm 0,59) * 10^{-5}$
	18-Αυγ	$(4,2 \pm 0,37) * 10^{-5}$
	24-Αυγ	$(2,8 \pm 0,09) * 10^{-5}$



**Σχήμα 2.** Συγκέντρωση τυροσινάσης σε δείγματα σταφυλιού της ποικιλίας Ασύρτικο πριν και μετά την ημερομηνία τρυγητού κατά την διάρκεια τριών ετών.

Οι τιμές του σχήματος 2 δίνουν τις μονάδες του ενζύμου τυροσινάση ανά mg σταφυλιού όπως αυτές προσδιορίστηκαν στα δείγματα σταφυλιού που συλλέχθηκαν πριν αλλά και μετά την ημερομηνία τρυγητού και για τις τρεις οινοποιητικές χρονιές στον ίδιο αμπελώνα στο νησί της Σαντορίνης. Όπως επιβεβαιώνεται και από τους Carmen et al., 2009 και Garrido et al., 2016, η τυροσινάση στο σταφύλι πριν, κατά τη διάρκεια αλλά και μετά τον τρυγητό δίνει να ακολουθεί μια αυξητική πορεία αρχικά μέχρι την ημερομηνία του τρύγου (για το Ασύρτικο Σαντορίνης είναι μεταξύ 12 και 16 Αυγούστου) ενώ στην συνέχεια πέφτει

σε τιμές όχι όμως χαμηλότερες από αυτές από τις οποίες ξεκίνησε. Εξαίρεση στα δείγματά μας αποτελεί το σταφύλι της οινοποιητικής περιόδου 2006 όπου ακολουθείται μεν η αναφερθείσα πορεία αλλά η τελική τιμή στο δείγμα σταφυλιού περίπου μίας εβδομάδας μετά την ημερομηνία τρύγου είναι μόν χαμηλή αλλά είναι κατά λίγο (0,8) υψηλότερη σε σχέση με την αρχική τιμή τυροσινάσης 2 εβδομάδες πριν από την ημερομηνία τρύγου.

Σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση των ανωτέρω αποτελεσμάτων (σύγκριση συγκέντρωσης ενζύμου στο σταφύλι της ποικιλίας Ασύρτικο Σαντορίνης ίδιας ημερομηνίας δειγματοληψίας αλλά διαφορετικής χρονιάς) και την εφαρμογή του Tukey's test σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05% διαπιστώθηκε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (η τιμή P είναι πολύ μεγαλύτερη του 0,05).

**Πίνακας 10.** Ανάλυση διακύμανσης ANOVA στις συγκεντρώσεις του ενζύμου τυροσινάση σε δείγματα σταφυλιού της ποικιλίας Ασύρτικο (κατά την ωρίμανση, τον τρυγητό και την μεθωρίμανση) από το νησί της Σαντορίνης για τρία έτη.

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	0,1867	0,09333	0,02	<b>0,976</b>
Error	9	33,9100	3,76778		
Total	11	34,0967			

## **Κεφάλαιο 10. Απομόνωση πτητικών συστατικών από οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο και ταυτοποίηση με GC/O.**

Η μεθοδολογία σύμφωνα με την οποία επεξεργάστηκαν οι οίνοι προκειμένου να απομονωθούν τα πτητικά συστατικά τους και να καταγραφούν με την χρήση GC/O αναφέρεται στο κεφ.8.2.1, όπως επίσης και οι συνθήκες επεξεργασίας των δειγμάτων για την ανάλυσή τους με το GC/MS (πρόγραμμα και συνθήκες λειτουργίας αυτού).

### **10.1 Αποτελέσματα**

Στον πίνακα 11 φαίνονται τα ισχυρά οσμηρά συστατικά τα οποία ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο με GC/O και GC/MS με δύο διαφορετικές στήλες DB WAX και DB 5. Τα περισσότερα από τα ταυτοποιημένα συστατικά θεωρούνται ως δευτερογενείς μεταβολίτες της αλκοολικής ζύμωσης. Οι αιθυλεστέρες ευθύγραμμης αλυσίδας λιπαρών οξέων, οι διακλαδισμένοι εστέρες,

οι οξικοί εστέρες των ανώτερων αλκοολών, οι ανώτερες αλκοόλες, τα πτητικά οξέα, οι λακτόνες, οι αλδεύδες, οι κετόνες και οι θειούχες ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν σχηματίζονται όλες από τον μεταβολισμό των ζυμών (Etievant, 1991). Εξάλλου οι τερπενόλες και τα C<sub>13</sub> πορ-ισοπρενοειδή τα οποία ταυτοποιήθηκαν, είναι συστατικά που θεωρούνται ότι έχουν την προελευσή τους στο σταφύλι (Etievant, 1991). Παρότι η προσοχή ουσιαστικά επικεντρώνεται στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων του GCO και στον συσχετισμό τους με το άρωμα του οίνου, συνολικά αυτά τα αποτελέσματα μπορούν να αποτελέσουν έναν οδηγό για τον χαρακτηρισμό του αρώματος των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο.

Από την κατηγορία των τερπενολών, η λιναλοόλη και η γερανιόλη αναγνωρίστηκαν και περιγράφηκαν από τους πανελίστες ως Μοσχάτο/ ανθικό. Σύμφωνα με πολλούς συγγραφείς, τα τερπένια (Etievant, 1991; Rapp, 1998) θεωρούνται πως παίζουν έναν πολύ σημαντικό ρόλο στην σύνθεση του αρώματος των οίνων που προέρχονται από Μοσχάτα σταφύλια, ωστόσο στην περίπτωση των οίνων προερχόμενων από την ποικιλία Ασύρτικο μπορεί πιθανόν να συμβάλλουν παρολαυτά όχι σε μεγάλο βαθμό μιας και ο παράγοντας αραίωσης (FD-factor) που βρέθηκε είναι πολύ χαμηλός (Πίνακας 11). Σε κάθε περίπτωση οι περιγραφικοί όροι του Μοσχάτου δεν σχετίζονται με το άρωμα του Ασύρτικού (Chara et al., 2001). Η β-δαμασκηνόνη βρίσκεται ευρέως στα σταφύλια και και σε πολλά άλλα φρούτα συμβάλλοντας στο αρωμά τους με την φρουτώδη, μαρμελάδας μελιού/ βρασμένου μήλου νότα της (Etievant, 1991, Rapp, 1998, Kotseridis and Baumes, 2000, Pineau et al., 2007). Αυτό το συστατικό ανήκει στα C<sub>13</sub> πορ-ισοπρενοειδή. Η β-δαμασκηνόνη θεωρείται ότι προέρχεται από την διάσπαση της καρτενοειδούς νεοξανθίνης μέσω ενός πολύπλοκου μονοπατιού (Etievant, 1991).

Στο εκχυλίσμα οίνου Ασύρτικο φαίνεται να εμφανίζει υψηλές τιμές παραγόντων αραίωσης (FD-factors) παρολαυτά αυτό δεν σημαίνει απαραίτητα ότι συμμετέχει σημαντικά στο άρωμα αυτών των οίνων. Το πολύ χαμηλό όριο ανίχνευσης στο olfactometry για το συγκεκριμένο συστατικό εξηγεί γιατί αυτό βρίσκεται στον υψηλότερο συντελεστή αραίωσης στις αναλυτικές μεθόδους αραιωμένων αρωματικών εκχυλισμάτων (Pineau et al., 2007). Η β-δαμασκηνόνη χαρακτηρίζεται από πολύ χαμηλό όριο αντίληψης σε διάλυμα συνθετικού οίνου σε αντίθεση με τον οίνο όπου το όριο αντίληψης βρέθηκε να είναι πάνω από 1000 φορές υψηλότερο (Pineau et al., 2007).

Οι αιθυλεστέρες του ισοβουτυρικού, του βουτυρικού, του 2-μέθυλο βουτυρικού, του εξανοϊκού και τα οκτανοϊκά οξέα βρέθηκαν να είναι τα συστατικά, τα οποία είναι κυρίαρχα υπεύθυνα για το φρουτώδες άρωμα του οίνου Ασύρτικού μιας και τα περισσότερα από αυτά τα συστατικά είχαν σχετικά υψηλούς συντελεστές αραίωσης FD-factors (FD = 25, Πίνακας 11). Το άρωμα αυτών των αιθυλεστέρων περιγράφηκε ως μήλο, ανανάς και αχλάδι.

Τρεις ανώτερες αλκοόλες, η 2-μέθυλο-1-προπανόλη, η 3 μέθυλο-1-βουτανόλη και η 2-φαινυλ-αιθανόλη (Πίνακας 11) έδειξαν υψηλές τιμές παραγόντων αραίωσης, FD factors, και είναι γνωστές ως πτητικά συστατικά του αρώματος του οίνου (Etievant, 1991) παρότι η συμβολή τους στο άρωμα του οίνου δεν είναι φανερή. Η 2-μέθυλο-1-προπανόλη και η 2/3-μέθυλο-1-βουτανόλη εμφάνισαν άρωμα που περιγράφηκε σαν βερνίκι νυχιών, ενώ η 2-φαινυλ-αιθανόλη περιγράφηκε ως τριαντάφυλλο. Η 2/3-μέθυλο-1-βουτανόλη και η 2-φαινυλ-αιθανόλη βρεθηκαν να είναι μέσα στα 3 συστατικά που εμφάνισαν τον υψηλότερο FD-factor, αυτόν του 625. Και τα δύο αυτά συστατικά γενικά παρουσιάζουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις μεταξύ των πτητικών συστατικών των οίνων πολλών ποικιλιών (Etievant, 1991; Rapp, 1998). Επιπλέον οι οξικοί εστέρες τους, του ισοβουτυρικού, του ισοαμυλικού και του φαινυλαιθυλεστέρα ταυτοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο και ιδιαίτερα οι οξικός ισοαμυλεστέρας και φαινυλαιθυλεστέρας οι οποίοι παρουσίασαν σχετικά υψηλούς FD-factor. Δύο από τους τρεις (ο ισοβουτυρικός και ισοαμυλικός) χαρακτηρίστηκαν ως φρουτώδεις. Ο οξικός ισοαμυλεστέρας παρουσίασε χαρακτηριστικό άρωμα μπανάνας, ενώ ο 2-οξικός φαινυλαιθυλεστέρας άρωμα τριαντάφυλλου παρόμοιο με αυτό της αντίστοιχης ανώτερης αλκοόλης.

Το οξικό οξύ, το 2-μέθυλο-προπανικό, το βουτυρικό, το 2- και 3-μέθυλο-βουτυρικό και τα εξανοϊκά οξέα έδειξαν υψηλές τιμές FD factors και μπορούν να συμβάλλουν στο άρωμα του οίνου μιας και τα επιπεδά τους στον οίνο είναι γενικά υψηλά Etievant, 1991. Το οξικό οξύ, χαρακτηριστικό συστατικό του ξυδιού, είχε έναν FD-factor 25, παρότι είναι δύσκολο να συμμετέχει σημαντικά στο άρωμα των οίνων από Ασύρτικο, μιας και το όριο ανιχνεύσεως του είναι πολύ υψηλό (Guth, 1997). Όλα τα άλλα οξέα, με εξαίρεση το εξανοϊκό οξύ, εμφάνισαν δυνατά αρώματα τυριού και ειδικά το μίγμα των 2- και 3-μέθυλο-βουτυρικά οξέα ήταν το τρίτο συστατικό που παρουσίασε το υψηλότερο FD-factor = 625, μεταξύ των ισχυρών πτητικών συστατικών που ταυτοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα του Ασύρτικου. Το εξανοϊκό οξύ περιγράφηκε ως πράσινο/φρουτώδες, παρότι οι φρουτώδεις νύξεις πιθανόν να προέρχονται από τα συστατικά που εκλούονταν πριν, από την β-δαμασκηνόνη στην περίπτωση της πολικής τριχαιδούς στήλης και του εξανοϊκού αιθυλεστέρα στην περίπτωση της μη πολικής αντίστοιχα. Παρά τα υψηλά επίπεδα στα οποία βρέθηκαν αυτά τα πτητικά συστατικά στους οίνους και τις υψηλές τιμές αυτών σε συντελεστές αραίωσης (FD-factors) είναι μάλλον αμφίβολο το κατά πόσο συμβάλλουν στο άρωμα του οίνου (Guth, 1997). Φαίνεται πως η συμβολή τους είναι μάλλον αδύναμη λόγω της υψηλής τιμής ανίχνευσης που έχει βρεθεί για αυτά τα οξέα σε υδραλκοολικό διάλυμα (Guth, 1997). Παρολαυτά η τιμή pH των οίνων θα μπορούσε να επηρεάσει το όριο ανιχνεύσεως τους μιας και είναι αδύναμα οξέα και το μη-ιονισμένο κλάσμα τους εξαρτάται από την τιμή του pH (Kotseridis and Baumes, 2000).

Μεταξύ των ταυτοποιημένων ισχυρών οσμηρών συστατικών , άλλες κορυφές ήταν η εξανόλη και η cis-3-έξεν-1-όλη δίνοντας νότες από πράσινο γρασίδι,παρότι έδωσαν χαμηλές τιμές FD- factors. Η αιθανάλη και το διακετύλιο, ενώ είναι και τα δύο πολύ πτητικά συστατικά, αναγνωρίστηκαν στα εκχυλίσματα δίνοντας επίσης χαμηλές τιμές FD- factors. Η φαινυλαιθανάλη η οποία περιγράφηκε ως οσμή μελιού, παρουσίασε υψηλή τιμή FD-factor και θα μπορούσε πιθανόν να μετέχει στη διαμόρφωση του αρώματος οίνων της ποικιλίας Ασύρτικου. Δύο θειούχα συστατικά ταυτοποιήθηκαν επίσης τα οποία και περιγράφηκαν ως ψητή και ωμή πατάτα, η μεθειονάλη και η μεθειονόλη αντίστοιχα. Και τα δύο αυτά συστατικά παρουσιάζουν χαμηλό όριο ανίχνευσης και πιθανόν να συμμετέχουν στο άρωμα του οίνου. Η μεθειονόλη αναφέρεται να έχει πολύ χαμηλό όριο ανίχνευσης (0.2 ng/L) σε υδατικό διάλυμα, και συνεπώς οι δοκιμαστές μπορούσαν να αναγνωρίσουν την οσμή πατάτας σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση (Valim et al.,2003). Η φουρανεόλη αναγνωρίστηκε επίσης, παρουσιάζοντας οσμή καραμέλας. Αυτό το συστατικό βρέθηκε να διαφοροποιεί τους οίνους Merlot από τους οίνους Cabernet Sauvignon (Kotseridis et al., 2000).

**Πίνακας 11.** Οσμές που επιδρούν σε οίνους ποικιλίας Ασύρτικου

ΠΤΗΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	RI		FD-factor	
	DB WAX	DB 5	Εκχύλισμα Ασύρτικου	Περιγραφή
1 αιθανάλη	750	<600	1	μήλο/φρουτώδες
2 Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	929	757	25	Φρουτώδες/ανανάς
3 διακετύλιο	987	600	1	βουτυρο/γιαούρτι
4 Οξικός ισοβουτυλεστέρας	1005	860	1	Φρουτώδες/πράσινο
5 Βουτανικός αιθυλεστέρας	1023	804	25	φράουλα
6 2-μέθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	1077	849	25	Φρουτώδες/μήλο
7 2-μέθυλο-1-προπανόλη	1105	647	5	Βερνίκι νυχιών
8 Οξικός ισοαμυλεστέρας	1143	880	25	μπανάνα
9 3-μέθυλο-1-βουτανόλη	1192	736	625	Βερνίκι νυχιών
10 εξανικός αιθυλεστέρας	1227	1000	25	μήλο
11 έξαν-1-όλη	1360	872	1	γρασίδι
12 cis-3-έξεν-1-όλη	1400	858	1	γρασίδι
13 Οκτανικός αιθυλεστέρας	1436	1200	25	αχλάδι
14 οξικό οξύ	1449	628	25	ξύδι
15 3-(μεθυλοσουλφανική) προπανάλη	1474	905	25	Ψητή πατάτα
16 λιναλοόλη	1555	1103	1	μοσχάτο
17 2-μεθυλοπροπανικό οξύ	1565	775	5	τυρί
18 βουτανικό οξύ	1615	829	25	τυρί
19 φαινυλαιθανάλη	1625	1047	25	μέλι

20 2-/3-μέθυλο-βουτανοϊκά οξέα	1661	868	625	Τυρί παρμεζάνα
21 3-(μέθυλοσουλφανική) προπανόλη	1715	982	25	Ωμή πατάτα
22 Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	1808	1260	25	τριαντάφυλλο
23 Ρ-δαμασκηνόνη	1820	1395	25	κονσερβοποιημένο μήλο
24 Εξανοϊκό οξύ	1841	1017	5	γρασίδι/φρουτώδες
25 γερανιόλη	1852	1120	1	ανθικό
26 2-φαινυλ-αιθανόλη	1902	1116	625	τριαντάφυλλο
27 φουρανεόλη	2043	1062	25	καραμέλα

Συνοψίζοντας θα λέγαμε πως ένας μεγάλος αριθμός πτητικών συστατικών είναι υπεύθυνα για το συνολικό άρωμα των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης με το GCO δίνουν μία γενική εικόνα των πτητικών συστατικών στους οίνους της συγκεκριμένης ποικιλίας, αναγνωρίζοντας συνολικά 27 πτητικά συστατικά. Τα οσμηρά συστατικά που βρέθηκαν σε αυτή την έρευνα είναι βασικά πτητικά συστατικά του αρώματος του Ασύρτικου, τα οποία έχουν ταυτοποιηθεί και σε άλλες ποικιλίες επίσης. Πέρα από αυτά τα βασικά συστατικά, ο οίνος Ασύρτικου χαρακτηρίστηκε από επιπλέον φρουτώδεις, ανθικές και γλυκές νότες του οξικού ισοαμυλεστέρα και των αιθυλεστέρων όπως ο βουτυρικός αιθυλεστέρας, 2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας και ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας. Παρότι δεν είναι πολύ ελκυστικά, αναγνωρίστηκαν επίσης τα αρώματα του τυριού και της ωμής πατάτας.

Η ποσοτικοποίηση των βασικών αρωματικών συστατικών περιγράφεται στις επόμενες παραγράφους όπως επίσης εξετάζεται και η επίδραση των προζυμωτικών επεξεργασιών στα επίπεδα αυτών των βασικών συστατικών.

## 10.2 Ανάπτυξη Μεθοδολογίας απομόνωσης πτητικών συστατικών του αρώματος με SPE - GC FID

Διάφορες δοκιμές έγιναν αρχικά προκειμένου να προσδιοριστούν οι καλύτερες συνθήκες εκχύλισης που θα έδιναν την μέγιστη συγκέντρωση. Σε αυτά τα πειράματα τα στηλάκια στερεής φάσης εκχύλισης C<sub>18</sub> τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ποίκιλαν από 6ml όγκο και 500mg βάρος προσρόφησης και 20ml όγκο με 5g βάρος προσρόφησης. Για αυτά τα στηλάκια ο όγκος του οίνου που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση στερεής φάσης (5 ή 10ml οίνος για τα μικρά και 25 ή 50ml για τα

μεγαλύτερα) όπως επίσης δοκιμές έγιναν και για το είδος αλλά και τον όγκο του διαλύτη. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την εκχύλιση των ελεύθερων πτητικών αρωματικών συστατικών του οίνου ήταν το διχλωρομεθάνιο και το πεντάνιο-διαιθυλαιθέρας 1:1 v/v. Τα εκχυλίσματα του διαλύτη συμπυκνώνονταν κάτω από ρεύμα αζώτου για 1:3, 1:4 ή 1:20 φορές. Κατόπιν, το εκχύλισμα του διαλύτη εκχυόταν στο GC-FID. Ακριβώς πριν από αυτό το σημείο, ένα πείραμα έγινε ώστε να περάσει πρώτα ένα δείγμα οίνου από το στηλάκι C<sub>18</sub> και στη συνέχεια να εκχυλιστεί με την μέθοδο υγρής-υγρής εκχύλισης (Ortega et al., 2001).

Μιά δοκιμή επίσης έγινε προκειμένου να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης αραιώνοντας το δείγμα του οίνου 1:4 με νερό με σκοπό να μειωθεί το ποσοστό την αλκοόλης μήπως ήταν η περιεκτικότητα της αλκοόλης που εμπόδιζε την εκχύλιση των αρωματικών συστατικών στη φάση του διαλύτη.

Μεταξύ των προαναφερθέντων συνθηκών εκχύλισης, αυτή με το μεγαλύτερο μέγεθος στο στηλάκι C<sub>18</sub> (20ml όγκο και 5g βάρος προσρόφησης), όγκο δείγματος οίνου (50ml), συντελεστή συμπύκνωσης 1:20 και διαλύτη πεντάνιο - διαιθυλαιθέρα 1:1 v/v είναι αυτή που τελικά επιλέχθηκε δίνοντας τα καλύτερα αποτελέσματα.

Το C<sub>18</sub> RP στηλάκι των 500 mg έδειξε έλλειψη απορροφητικότητας των συστατικών που είναι σε υψηλά επίπεδα όπως οι ανώτερες αλκοόλες και καθώς αυτά τα συστατικά είναι σημαντικά για το άρωμα του οίνου δημιουργήθηκε η ανάγκη να χρησιμοποιηθούν τα C<sub>18</sub> RP στηλάκια των 5g.

Μία μελέτη σύγκρισης της ικανότητας διαφορετικών διαλυτών στο να απομονώσουν πτητικά συστατικά από αλκοολικά διαλύματα έδειξε ότι το πεντάνιο διαιθυλαιθέρας 1:1 v/v ήταν ο πιο επαρκής καλύπτοντας το μεγαλύτερο εύρος συστατικών με διαφορετικές πολικότητες και για αυτόν τον λόγο επιλέχθηκε για αυτήν την έρευνα.

Το διάλυμα του εσωτερικού προτύπου φτιάχτηκε με διάλυση της 3-οκτανόλης σε 1mg/ml απόλυτη αιθανόλη. Ακριβής μάζα ( 1 g) των πρότυπων χημικών συστατικών διαλύθηκε σε 200 ml απόλυτης αλκοόλης.

### **Διάλυμα συνθετικού οίνου**

Σε υδραλκοολικό διάλυμα 12% (v/v), διαλύθηκε ποσότητα τρυγικού οξέος ώστε η οξύτητα να ρυθμιστεί στα 5 g/L τρυγικό οξύ και το pH ρυθμίστηκε στο 3.2 με 1M NaOH.

### **Ποσοστό ανάκτησης κατά την εκχύλιση (%)**

50ml οίνου εμβολιάστηκαν με γνωστές ποσότητες πτητικών συστατικών και με εσωτερικό πρότυπο 3-οκτανόλη. Αυτοί οι οίνοι εκχυλίστηκαν όπως αναφέρεται



στην προτεινόμενη μέθοδο κεφ 8.2.3.α και αναλύθηκαν με GC-FID στις αναφερόμενες συνθήκες. Το υδραλκοολικό διάλυμα των δειγμάτων των οίνων (έκλουση με 75ml νερού από το στηλάκι C<sub>18</sub> RP ακριβώς μετά το δείγμα του οίνου) εμβολιάστηκε με 10μl από το διάλυμα του εσωτερικού προτύπου και επανεκχυλίστηκε με 4ml διχλωρομεθάνιο (υγρή-υγρή εκχύλιση, 2 φορές διαχωρισμό οργανικής φάσης με 2ml διαλύτη κάθε φορά). Το τελευταίο εκχύλισμα αναλύθηκε με GC-FID κάτω από τις συνθήκες που αναφέρθηκαν στο κεφ 8.2.4. Τα σχετικά εμβαδά των αναλυτών συγκρίθηκαν με εκείνα που παραλήφθηκαν από την ανάλυση των καμπυλών αναφοράς του οίνου. Η ανάκτηση υπολογίστηκε ως εξής:

$$\text{Ανάκτηση\%} = \left[ \frac{\text{relative area reference} - \text{relative area}}{\text{relative area reference}} \right] * 100\%$$

Αυτή η έρευνα πραγματοποιήθηκε εις διπλούν.

Η γραμμικότητα της μεθόδου μελετήθηκε όπως περιγράφηκε προηγουμένως ενώ σε ότι αφορά στην επαναληψιμότητα ο οίνος που επιλέχθηκε για την μελέτη και ένας συνθετικός οίνος που περιείχε γνωστές ποσότητες πτητικών συστατικών του οίνου εκχυλίστηκαν τρεις φορές μέσα στην ίδια ημέρα. Οι τρεις τυπικές αποκλίσεις για τον οίνο και για τον συνθετικό οίνο συνδυάστηκαν (το επι της % ποσοστό της τυπικής απόκλισης των τριών μεταβλητών διαιρέθηκε με την μέση τιμή αυτών) για να ληφθεί η επαναληψιμότητα της μεθόδου για κάθε δείγμα.

$$\text{Επαναληψιμότητα: } \left[ \frac{\text{STDV relative area (1-3)}}{\text{Average relative area (1-3)}} \right] * 100$$

#### Υπαρξη του υλικού προς εκχύλιση

Ο οίνος εμβολιάστηκε με γνωστές ποσότητες πτητικών συστατικών και, τα δυο δείγματα, ο αρχικός οίνος και ο εμβολιασμένος οίνος εκχυλίστηκαν ακολουθώντας την διαδικασία εις τριπλούν. Οι μέσες αυξήσεις των σχετικών εμβαδών παρεμβλήθηκαν στις γραφικές παραστάσεις των συνθετικών διαλυμάτων.

**Πίνακας 12.** Στοιχεία γραμμικότητας της μεθόδου

Συστατικό	r <sup>2</sup>	Εύρος (mg/l)
Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	0,9996	0.5-3.5
Βουτανικός μεθυλεστέρας	0,9997	0.75-3.7
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	0,9993	0.5-3.5
Βουτανικός αιθυλεστέρας	0,9997	0.5-3.5
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	0,9977	0.5-3.5
Οξικός βουτυλεστέρας	0,9948	0.5-3.5
εξανάλη	0,9944	0.5-3.5
2-μεθυλο-1-προπανόλη	0,9924	0.75-3.7
Ισοαμυλικός αιθυλεστέρας	0,9993	0.75-3.7
3-μέθυλ-1-βουτανόλη	0,9922	0.75-3.7

Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0,9973	0.75-3.7
αμυλαλκοόλη	0,9973	0.75-3.7
Οξικός εξυλεστέρας	0,9986	0.75-3.7
εξανόλη	0,9962	0.75-3.7
cis-3-έξεν-1-όλη	0,9985	0.75-3.7
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0,9968	0.75-3.7
Οξικό οξύ	0	0
Προπανικό οξύ	0,9787	0.75-3.7
λιναλόλη	0,9976	0.75-3.7
Ισοβουτυρικό οξύ	0,9652	20-70
Βουτυρικό οξύ	0,9600	20-70
Ισοβαλερικό οξύ	0,9771	0.8-1.8
α-τερπινεόλη	0,9983	0.8-1.8
3-μεθυλοθειο1προπανόλη	0,9989	0.75-3.7
κιτρονελλόλη	0,9956	0.75-3.7
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,9967	0.75-3.7
γερανιόλη	0,9968	0.75-3.7
Εξανοϊκό οξύ	0,9730	1.5-3.5
γουαϊακόλη	0	0
Trans-ουίσκι λακτόνη	0,9918	0.75-3.7
2-φαινυλ-αιθανόλη	0,9957	0.75-3.7
cis ουίσκι λακτόνη	0,9912	0.75-3.7
4-αιθυλογουαϊκόλη	0,9950	0.75-3.7
Οκτανοϊκό οξύ	0,9762	2.5-22
Κιναμωμικός αιθυλεστέρας	0,9957	0.75-3.7
ευγενόλη	0,9875	0.75-3.7
4-αιθυλο φαινόλη	0,9960	0.75-3.7
2-μεθοξυ-4-βινυλοφαινόλη	0,9980	0.75-3.7
Trans ισοευγενόλη	0,9928	0.75-3.7
Cis ισοευγενόλη	0,9789	0.75-3.7
4-βινυλοφαινόλη	0,9982	0.75-3.7
βανιλίνη	0,9917	0.75-3.7
Φαινυλοξικό οξύ	0,9766	0.75-3.7

**Πίνακας 13.** Ανακτήσεις των διαφόρων συστατικών στον οίνο

Συστατικά	Σχετική επιφάνεια		Ανάκτηση %		
	Υδατικό δ/μα	οίνος+πρ.	Νερό + οίνος	Νερό+ οίνος %	νερό %
Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	0	0,583	0,583	100	0
Βουτανικός μεθυλεστέρας	0	0,450	0,450	100	0
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	0	0,598	0,598	100	0
Βουτανικός αιθυλεστέρας	0	7,799	7,799	100	0
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	0	0,688	0,688	100	0

Οξικός βουτυλεστέρας	0	0,672	0,672	100	0
εξανόλη	0	0,531	0,531	100	0
2-μεθυλο-1-προπανόλη	1,066	5,311	6,377	83	17
Οξικός ισοαμυλεστέρας	0	1,138	1,138	100	0
3-μεθυλο-1-βουτανόλη	3,125	159,732	162,857	98	2
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0	0,954	0,954	100	0
1-πεντανόλη	0	0,832	0,832	100	0
Οξικός εξυλεστέρας	0	0,786	0,786	100	0
εξανόλη	0	1,758	1,758	100	0
cis-3-έξεν-1-όλη	0	3,700	3,700	100	0
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0	1,098	1,098	100	0
Οξικό οξύ	0	0,085	0,085	100	0
Προπανικό οξύ	0	0,039	0,039	100	0
λιναλοόλη	0	1,076	1,076	100	0
Ισοβουτυρικό οξύ	0,461	0,673	1,134	59	41
Βουτυρικό οξύ	0,360	0,264	0,624	42	58
Ισοβαλερικό οξύ	0,090	0,451	0,541	83	17
α - τερπινεόλη	0	1,133	1,133	100	0
3- μεθυλοθειο1προπανόλη	0	0,192	0,192	100	0
κιτρονελλόλη	0	1,068	1,068	100	0
Οξικός 2- φαινυλαιθυλεστέρας	0	2,506	2,506	100	0
γερανιόλη	0,061	1,786	1,848	97	3
Εξανοϊκό οξύ	0	2,116	2,116	100	0
Trans-ουίσκι λακτόνη	0	0,634	0,634	100	0
2-φαινυλ-αιθανόλη	1,156	42,201	43,357	97	3
cis-ουίσκι λακτόνη	0	0,447	0,447	100	0
4-αιθυλογουαϊκόλη	0	0,916	0,916	100	0
Οκτανοϊκό οξύ	0	4,624	4,624	100	0
Κινναμωμικός αιθυλεστέρας	0	0,971	0,971	100	0
ευγενόλη	0	1,079	1,079	100	0
4-αιθυλοφαινόλη	0	1,095	1,095	100	0
2-μεθοξυ-4- βινυλοφαινόλη	0	0,487	0,487	100	0
Trans ισοευγενόλη	0	0,081	0,081	100	0
Cis ισοευγενόλη	0	0,677	0,677	100	0
4-βινυλοφαινόλη	0	0,200	0,200	100	0
βανιλίνη	0	0,383	0,383	100	0
Φαινυλοξικό οξύ	0,030	0,241	0,272	89	11

**Πίνακας 14.** Στοιχεία επαναληψιμότητας, σχετική τυπική απόκλιση, Relative Standard Deviation-RSD%. Η τιμή του RSD είναι μία εκτίμηση της επαναληψιμότητας της μεθόδου.

Συστατικά	RSD%	
	standard	οίνος

Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	8,89	14,20
Βουτανικός μεθυλεστέρας	9,23	8,98
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	10,68	0,00
Βουτανικός αιθυλεστέρας	8,00	8,40
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	11,87	0,00
Οξικός βουτυλεστέρας	17,44	0,00
εξανόλη	15,34	0,00
2-μεθυλο-1-προπανόλη	15,28	14,32
Ισοαμυλικός αιθυλεστέρας	7,43	14,42
3-μέθυλ-1-βουτανόλη	7,91	10,88
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	8,31	11,75
αμυλαλκοόλη	8,73	19,58
Οξικός εξυλεστέρας	8,57	0,00
εξανόλη	7,98	11,01
cis-3-έξεν-1-όλη	9,47	13,22
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	6,04	8,70
Οξικό οξύ	0,00	17,15
Προπανικό οξύ	14,40	0,00
λιναλόλη	7,33	7,07
Ισοβουτυρικό οξύ	41,22	0,00
Βουτυρικό οξύ	9,03	0,00
Ισοβαλερικό οξύ	57,74	5,61
a-τερπινεόλη	5,90	0,00
3-μεθυλοθειο1προπανόλη	10,31	11,02
κιτρονελλόλη	5,66	0,00
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	5,46	13,66
γερανιόλη	4,86	0,00
Εξανοϊκό οξύ	98,50	7,66
Trans-ουίσκι λακτόνη	9,72	0,00
2-φαινυλ-αιθανόλη	7,49	13,51
cis ουίσκι λακτόνη	12,21	12,77
4-αιθυλογουαϊκόλη	5,97	10,50
Οκτανοϊκό οξύ	63,79	50,39
Κιναμωμικός αιθυλεστέρας	17,42	17,60
ευγενόλη	9,13	18,35
4-αιθυλο φαινόλη	5,96	0,00
2-μεθόξυ-4-βινυλοφαινόλη	4,73	11,89
Trans ισοευγενόλη	15,28	20,24
Cis ισοευγενόλη	18,51	0,00
4-βινυλοφαινόλη	13,99	18,28
βανιλίνη	19,51	0,00
Φαινυλοξικό οξύ	31,33	0,00

**Πίνακας 15.** Βαθμός συμφωνίας μεταξύ της πραγματικής μάζας του αναλύτη που προστέθηκε στον οίνο και της προστιθέμενης μάζας που προσδιορίστηκε από την ανάλυση του ενισχυμένου και μη ενισχυμένου οίνου

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	οίνος	προσθήκη	αναμενόμενο	οίνος +προσθ.	%
Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	0,12	1,50	1,62	1,66	103
Βουτανικός μεθυλεστέρας	0,10	1,50	1,60	1,56	98
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	0,00	1,50	1,50	1,58	105
Βουτανικός αιθυλεστέρας	1,48	1,50	2,98	1,56	52
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	0,00	1,50	1,50	1,53	102
Οξικός βουτυλεστέρας	0,00	1,50	1,50	1,70	114
εξανόλη	0,00	1,50	1,50	1,08	72
2-μεθυλο-1-προπανόλη	27,37	1,50	28,87	28,21	98
Ισοαμυλικός αιθυλεστέρας	1,11	1,50	2,61	2,60	100
3-μέθυλ-1-βουτανόλη	379,29	1,50	380,79	366,92	96
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0,00	1,50	1,50	0,00	0
αμυλαλκοόλη	0,16	1,50	1,66	1,54	93
Οξικός εθυλεστέρας	0,00	1,50	1,50	1,66	111
εξανόλη	1,39	1,50	2,89	2,88	100
cis-3-έξεν-1-όλη	0,00	1,50	1,50	6,94	462
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0,59	1,50	2,09	2,18	104
Οξικό οξύ		1,50	1,50		0
Προπανικό οξύ	0,00	1,50	1,50	2,20	146
λιναλοόλη	0,01	1,50	1,51	1,69	112
Ισοβουτυρικό οξύ	0,00	21,50	21,50	63,07	293
Βουτυρικό οξύ	0,00	21,50	21,50	14,44	67
Ισοβαλερικό οξύ	1,90	1,50	3,40	1,62	48
α-τερπινεόλη	0,00	1,50	1,50	1,51	100
3-μεθυλοθειο1προπανόλη	2,25	1,50	3,75	3,40	90
κιτρονελλόλη	0,00	1,50	1,50	1,61	107
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,41	1,50	1,91	2,07	109
γερανιόλη	0,00	1,50	1,50	1,55	103
Εξανοϊκό οξύ	19,76	1,50	21,26	34,20	161
Trans-ουίσκι λακτόνη	0,00	1,50	1,50	1,23	82
2-φαινυλ-αιθανόλη	49,55	1,50	51,05	50,26	98
cis ουίσκι λακτόνη	0,05	1,50	1,55	1,70	110
4-αιθυλογουαϊκόλη	0,00	1,50	1,50	1,85	123
Οκτανοϊκό οξύ	3,67	6,00	9,67	18,36	190
Κινναμωμικός αιθυλεστέρας	0,00	1,50	1,50	1,41	94
ευγενόλη	0,22	1,50	1,72	1,54	89
4-αιθυλο φαινόλη	0,00	1,50	1,50	1,59	106
2-μεθόξυ-4-βινυλοφαινόλη	0,13	1,50	1,63	1,71	105
Trans ισοευγενόλη	0,78	1,50	2,28	1,42	62
Cis ισοευγενόλη	0,00	1,50	1,50	1,32	88
4-βινυλοφαινόλη	2,05	1,50	3,55	3,39	95

βανιλίνη	0,00	1,50	1,50	1,24	82
Φαινυλοξικό οξύ	0,00	1,50	1,50	4,59	306

### 10.3. Αξιολόγηση της μεθόδου

Ο πίνακας 12 συγκεντρώνει τα στοιχεία της γραμμικότητας της μεθόδου, όπως αυτά βρέθηκαν στα διαλύματα του συνθετικού οίνου. Κατασκευάστηκαν καμπύλες αναφοράς με 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις για κάθε συστατικό. Τα δεδομένα του πίνακα δείχνουν ξεκάθαρα ότι η γραμμικότητα είναι ικανοποιητική σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, με τον συντελεστή συσχέτισης coefficient of correlation ( $r^2$ ) να κυμαίνεται από 0.9600 (βουτυρικό οξύ) έως το 0.9997 (βουτυρικό αιθυλεστέρα). Η γραμμικότητα διατηρείται για τουλάχιστον μία τάξη μεγέθους και στις περισσότερες περιπτώσεις ισχύει για τουλάχιστον δύο, πράγμα που εξασφαλίζει ότι η πραγματική κλίμακα συγκεντρώσεων σχεδόν όλων των ενώσεων που υπάρχουν στον πίνακα 16 περιλαμβάνεται στο γραμμικό εύρος της μεθόδου. Η κλίση των ευθειών γραμμών αναφοράς είναι ένα μέτρο της ευαισθησίας της μεθόδου και εξαρτάται τόσο από την αποδοτικότητα της εκχύλισης όσο από την απόκριση του ανιχνευτή για κάθε συστατικό. Παρολαυτά προβλήματα παρατηρήθηκαν σε ότι αφορά στα πτητικά οξέα όπου ο συντελεστής συσχέτισης ήταν ανάμεσα στο 0.9600 και το 0.9787 οπότε η ποσοτικοποίηση αυτών των συστατικών θα έπρεπε να θεωρηθεί ως προσεγγιστική.

Τα στοιχεία της επαναληψιμότητας δίνονται στον πίνακα 14. Η επαναληψιμότητα είναι η μέση τυπική απόκλιση του μέσου όρου που λήφθηκε από πολλαπλά δείγματα που αναλύθηκαν από την ίδια παρτίδα. Ο πίνακας 14 δείχνει ότι για τα συνθετικά αλκοολούχα διαλύματα και για τον οίνο οι τιμές RSD κυμαίνονται από 5 έως 10 % (με εξαιρέσεις), με μία μέση τιμή γύρω στο 7 %, η οποία μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητική για τον σκοπό της ανάλυσης. Παρολαυτά η τιμή RSD για τα πτητικά οξέα όπως επίσης και για τα πτητικά φαινολικά συστατικά που παρουσιάζουν όξινες ιδιότητες τα αποτελέσματα ήταν απογοητευτικά. Η αιτία είναι ότι τα 75 ml του νερού που χρησιμοποιούνται για να ξεπλυθεί το στηλάκι παρέσυρε αυτά τα όξινα συστατικά με αποτέλεσμα η επαναληψιμότητα να είναι πολύ μικρή. Συμπερασματικά θα λέγαμε ότι η χρήση αυτής της μεθόδου δεν μπορεί να γίνει για ποσοτικοποίηση των πτητικών οξέων όπως και των φαινολικών συστατικών που προκύπτουν από την παλαίωση σε δρύινα βαρέλια.

Παρότι τα στοιχεία ανάκτησης στον πίνακα 13 έδειξαν μία καλή συμφωνία ανάμεσα στις ανακτήσεις του κάθε συστατικού που παρατηρήθηκαν στους διάφορους οίνους, ένα επιπλέον πείραμα πραγματοποιήθηκε για να επιβεβαιώσει την επίδραση του υλικού προς εκχύλιση. Σε αυτήν την περίπτωση, όγκοι οίνου στους οποίους είχαν προστεθεί γνώστες ποσότητες αναλυτών, αναλύθηκαν

ακολουθώντας την διαδικασία. Οι μετρούμενες αυξήσεις στην σχετική επιφάνεια παρεμβλήθηκαν στις καμπύλες αναφοράς όπως φαίνεται στον πίνακα 15. Τα αποτελέσματα του πειράματος φαίνονται στον ίδιο πίνακα. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο βαθμός συμφωνίας ανάμεσα στην πραγματική ποσότητα που προστέθηκε και αυτήν που προσδιορίστηκε με παρεμβολή είναι ικανοποιητικός, και μόνο για τα πτητικά οξέα παρατηρήθηκαν διαφορές από τις αναμενόμενες τιμές. Συμπερασματικά, η προτεινόμενη μέθοδος επιτρέπει τον γρήγορο και καθαρά ποσοτικό προσδιορισμό για παραπάνω από 30 πτητικά στον οίνο. Ανάμεσα σε αυτά τα πτητικά είναι κάποιοι σημαντικοί αναλύτες, δείκτες της μικροβιολογικής κατάστασης του οίνου, για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, ή είναι δείκτες της προέλευσης του οίνου (γεωγραφικής και ποικιλιακής) όπως επίσης και της προέλευσης δρύινου βαρελιού. Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά –γραμμικότητα και ακρίβεια της μεθόδου είναι ικανοποιητικά.

Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά κάνουν την μέθοδο χρήσιμη για τον έλεγχο της ποιότητας του οίνου και την ταξινόμηση του, καθώς και στο να δίνει πληροφορίες οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στον έλεγχο της διαδικασίας οινοποίησης.

#### **10.4. Ποσοτικοποίηση πτητικών συστατικών -Πρότυπες καμπύλες**

Συνθετικοί οίνοι οι οποίοι περιείχαν γνωστές ποσότητες των πτητικών συστατικών, 12% (v/v) αιθανόλη, 5 g/L τρυγικό οξύ και pH ρυθμισμένο στο 3.2 με 1 M NaOH, εκχυλίστηκαν και αναλύθηκαν ακολουθώντας την προαναφερόμενη μέθοδο. Το εύρος των συγκεντρώσεων των εξεταζόμενων συστατικών φαίνεται στον πίνακα 10 (5 συγκεντρώσεις για κάθε συστατικό).

#### **Προτεινόμενη Αναλυτική μέθοδος**

Η ποσοτικοποίηση στον αέριο χρωματογράφο έγινε ακολουθώντας τις συνθήκες που αναφέρονται στο κεφάλαιο υλικά και μέθοδοι κεφ.8.2.3 όπως επίσης και η μεθοδολογία για την στερεή εκχύλιση με στηλάκια C<sub>18</sub> SPE. Η σχετική επιφάνεια κάθε πτητικού συστατικού ως προς το εσωτερικό πρότυπο υπολογίστηκε και συσχετίστηκε με τις πρότυπες καμπύλες αναφοράς οι οποίες κατασκευάστηκαν όπως αναφέρεται παρακάτω .

**Πίνακας 16 .** Γραμμικότητα της μεθόδου (Linearity data )και καμπύλες αναφοράς

Συστατικό	Τομή-int	Κλίση	r2	Εύρος (mg/L)
Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	0.0117	0.3444	0.9994	0.15-1.1
Βουτανικός αιθυλεστέρας	43.857	21.882	0.9914	0.15-1.1
2-μέθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	-0.062	0.4903	0.99	0.15-1.1
Εξανικός αιθυλεστέρας	0.02	0.5120	0.99	0.5-3.5
Οκτανικός αιθυλεστέρας	0.0185	0.4951	0.9962	0.75-3.5
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	0.0135	0.3706	0.9989	0.15-1.1
Οξικός ισοαμυλεστέρας	0.0003	0.4382	0.9954	0.75-3.5
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	0.0819	11.695	0.9919	0.15-1.1
1-πεντανόλη	-0.0619	0.5816	0.9973	0.75-3.5
2-μέθυλο-1 -προπανόλη	0.0982	0.1848	0.9924	0.75-3.5
3-μέθυλο-1 -βουτανόλη	0.5996	0.4337	0.9922	0.75-3.5
εξανόλη	-0.0062	0.6133	0.9962	0.75-3.5
cis-3-έξεν-1-όλη	0.0407	0.527	0.9998	0.75-3.5
3-μεθυλοθειό-1 προπανόλη	0.0184	0.051	0.9989	0.75-3.5
γερανιόλη	0.1252	10.735	0.997	0.15-1.1
2-φαινυλ-αιθανόλη	12.244	0.8153	0.9957	0.75-3.5

### Σχετική ανάκτηση - Relative recovery (%)

Ποσότητα ίση με 50-mL από οίνο της ποικιλίας Ασύρτικο σοδειάς 2004, εκχυλίστηκε με στερεή εκχύλιση σε στηλάκια C<sub>18</sub> και αναλύθηκε όπως αναφέρθηκε στην προτεινόμενη μέθοδο. Στον ίδιο οίνο προστέθηκαν γνωστές ποσότητες των πτητικών συστατικών του κρασιού καθώς και εσωτερικό πρότυπο και αναλύθηκε παρομοίως. Οι μέσες αυξήσεις των σχετικών επιφανειών υπολογίστηκαν από τις καμπύλες αναφοράς που κατασκευάστηκαν από τα συνθετικά διαλύματα. Η σχετική ανάκτηση για κάθε αναλύτη (προσδιοριζόμενο συστατικό) υπολογίστηκε όπως φαίνεται στην παρακάτω εξίσωση:

**Relative Recovery (%) = ([EO) – [AO) / [ΠΠ))x 100**, όπου το [EO) είναι η συγκέντρωση του αναλύτη στον ενισχυμένο οίνο, [AO) είναι η συγκέντρωση του αναλύτη στον αρχικό οίνο [ΠΠ) είναι η συγκέντρωση των γνωστών ποσοτήτων των αναλυτών που προστέθηκαν στον αρχικό οίνο.

Τα δείγματα μετρήθηκαν εις τριπλούν και τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 17.



**Πίνακας 17.** Επί της % σχετικές ανακτήσεις των πτητικών συστατικών όπως υπολογίστηκαν σε έναν οίνο Ασύρτικο, τρύγου 2004. (ΑΟ) είναι η συγκέντρωση του αναλυτή στον αρχικό οίνο και (ΠΠ) είναι η συγκέντρωση της γνωστής ποσότητας του αναλυτή που προστέθηκε στον αρχικό οίνο. (ΕΟ) είναι η συγκέντρωση του αναλυτή στον ενισχυμένο οίνο.

Πτητικά συστατικά	ΑΟ (mg/L)	ΠΠ (mg/L)	ΕΟ (mg/L)	% Relative recovery
Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	0.12	1.5	1.66	103
Βουτανικός αιθυλεστέρας	1.48	1.5	3.20	105
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	0.1	1.5	1.53	93
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0.6	1.5	2.00	97
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0.59	1.5	2.18	104
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	0.2	1.5	1.58	90
Οξικός ισοαμυλεστέρας	1.11	1.5	2.6	100
Οξικός-2-φαινυλαιθυλεστέρας	0.41	1.5	2.07	109
1-πεντανόλη	0.16	1.5	1.54	93
2-μέθυλο-1-προπανόλη	27.37	5	30.21	92
3-μέθυλο-1-βουτανόλη	379.29	15	386.92	96
εξανόλη	1.39	1.5	2.88	100
cis-3-έξεν-1-όλη	0.15	1.5	2	115
3-μεθυλοθειό-1 - προπανόλη	2.25	1.5	3.4	90
γερανιόλη	0.23	1.5	1.75	100
2-φαινυλ-αιθανόλη	49.55	1.5	50.26	98

### Επαναληψιμότητα

Ένας από τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο, εσοδείας 2004 ενισχύθηκε με γνωστές ποσότητες πτητικών συστατικών του οίνου, με 10 μl από διάλυμα εσωτερικού προτύπου και εκχυλίστηκε όπως αναφέρθηκε στην προτεινόμενη μέθοδο πέντε φορές μέσα στην ίδια ημέρα. Υπολογίστηκαν οι σχετικές επιφάνειες των προσδιοριζομένων συστατικών με το εσωτερικό πρότυπο. Η επαναληψιμότητα υπολογίστηκε ως εξής:

$$R.S.D.= [STDEV (relative\ area_{1-5})/AVERAGE (relative\ area_{1-5})]*100$$

Τα αποτελέσματα της επαναληψιμότητας φαίνονται στον πίνακα 18.

**Πίνακας 18.** Σχετική τυπική απόκλιση, (RSD %) σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ)

Πτητικό συστατικό	RSD % <sup>a</sup>	LOD (mg/L) <sup>b</sup>	LOQ (mg/L) <sup>c</sup>
Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	10.2	0.005	0.01
Βουτανικός αιθυλεστέρας	8.4	0.02	0.05
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	8.0	0.01	0.03
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	8.0	0.01	0.03
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	8.7	0.01	0.03
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	10.0	0.08	0.15
Οξικός ισοαμυλεστέρας	10.4	0.08	0.15
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	10.6	0.1	0.3
1-πεντανόλη	10.6	0.1	0.3
2-μέθυλο-1 -προπανόλη	10.0	0.1	0.2
3-μέθυλο-1 -βουτανόλη	10.9	0.1	0.2
Εξανόλη	11.0	0.3	0.5
cis-3-έξεν-1-όλη	10.2	0.01	0.03
3-μεθυλοθειό-1 -προπανόλη	11.1	0.3	0.5
Γερανιόλη	12.2	0.2	0.35
2-φαινυλ-αιθανόλη	5.1	0.3	0.5

<sup>a</sup> RSD %: Σχετική τυπική απόκλιση

<sup>b</sup> LOD (mg l<sup>-1</sup>): όριο ανίχνευσης, 3 x signal/noise

<sup>c</sup> LOQ (mg l<sup>-1</sup>): όριο ποσοτικοποίησης, 5 x signal/noise

## Επικύρωση της Μεθόδου

Η επικύρωση μιας μεθοδολογίας αποτελεί σημαντική προαπαίτηση για την εφαρμογή της στη χημική ανάλυση. Σύμφωνα με τον ορισμό του οδηγού της EUROCHEM επικύρωση μιας αναλυτικής μεθόδου είναι η επιβεβαίωση μέσω εξέτασης και παροχής αντικειμενικών αποδείξεων, ότι ικανοποιούνται οι ιδιαίτερες απαιτήσεις για την συγκεκριμένη χρήση. Σκοπός συνεπώς της επικύρωσης μιας αναλυτικής διαδικασίας είναι να τεκμηριωθεί ότι μετράει αυτό για το οποίο σχεδιάστηκε και επομένως είναι κατάλληλη για τον συγκεκριμένο σκοπό (The fitness for purpose of Analytical Methods, 1998, International Conference on Harmonization, 1995).

Η επικύρωση μιας μεθόδου στηρίζεται στην πραγματοποίηση υπολογισμών για την εξαγωγή κριτηρίων βάση των οποίων θα επιβεβαιώνεται η επίδοση της μεθόδου. Χαρακτηριστικά ποιότητας που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση μιας αναλυτικής μεθόδου είναι η εκλεκτικότητα, η ακρίβεια, η γραμμικότητα, το όριο ανίχνευσης, το όριο ποσοτικοποίησης κ.α. (Falgelj and Ambus, 2000, Taverniers et al., 2004).

Στην παρούσα μελέτη αρκετά από τα χαρακτηριστικά ποιότητας αξιολογήθηκαν προκειμένου να αποδειχθεί η καταλληλότητα της μεθόδου για την συνιστώμενη χρήση αυτής.

### **Επικύρωση της Μεθόδου μέσω της ποσοτικής ανάλυσης**

Από τα 27 ισχυρά πτητικά συστατικά μόνο μερικά από αυτά ήταν δυνατόν να ποσοτικοποιηθούν. Η αιθανάλη και το διακετύλιο δεν ήταν δυνατόν να ποσοτικοποιηθούν λόγω της υψηλής πτητικότητάς τους, και της συν-έκλουσης τους με τους διαλύτες. Επίσης άλλες αλδεύδες, οι οποίες βρέθηκαν γενικά σε ίχνη στους οίνους όπως η φαινυλαιθανάλη και η 3- (μεθυλοσουλφανυλ)προπανάλη, προφανώς και δεν μπόρεσαν να ποσοτικοποιηθούν. Συστατικά όπως η λιναλοόλη και η β-δαμασκηνόνη δεν ποσοτικοποιήθηκαν καθώς τα επιπεδά τους σε μή Μοσχάτες ποικιλίες είναι πολύ χαμηλά (Etievant, 1991). Ακόμη, η φουρανεόλη, χρειάζεται σταθερού ισότοπου ανάλυση αραίωσης και συνεπώς GC/MS για να ποσοτικοποιηθεί με ακρίβεια (Schneider et al., 2003). Η ποσοτικοποίηση στα πτητικά οξέα των εκχυλισμάτων πραγματοποιήθηκε αλλά οι συντελεστές συσχέτισης ( $r^2$ ) κυμαίνονταν από 0.96 μέχρι 0.97 και τα RSDs τους βρέθηκαν χαμηλά. Ο λόγος είναι ότι τα 75 ml νερού που χρησιμοποιούνταν για έκλουση στα στηλάκια παρέσερναν (έκλουαν) αυτά τα οξέα με συνέπεια η επαναληψιμότητα τους να είναι πολύ μικρή. Συμπερασματικά θα λέγαμε ότι η συγκεκριμένη μέθοδος δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ποσοτικοποίηση πτητικών οξέων όπως επίσης και για συστατικά με όξινες ιδιότητες. Παρά τα μειονεκτήματα της μεθόδου, πιστεύουμε ότι αυτά τα συστατικά δεν συμβάλλουν σημαντικά στη διαμόρφωση του αρώματος του οίνου (Guth, 1997). Αντιστρόφως, ένα συστατικό, που δεν αποκαλύφτηκε με το sniffing, η αμυλαλκοόλη, ποσοτικοποιήθηκε μιας και ήταν παρούσα σε όλα τα εκχυλίσματα και καθώς η γνώση των επιπέδων στα οποία βρίσκεται μας είναι πολύ χρήσιμη σε ότι αφορά στη συνολική ποσότητα των ανώτερων αλκοολών .

Ο πίνακας 16 συγκεντρώνει τις γραμμικότητες της μεθόδου για τα υπόλοιπα συστατικά, όπως αυτά βρέθηκαν σε διαλύματα συνθετικού οίνου. Πέντε συγκεντρώσεις ανά συστατικό χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των πρότυπων καμπυλών. Τα στοιχεία στον πίνακα δείχνουν καθαρά ότι η γραμμικότητα είναι πολύ ικανοποιητική σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, με το συντελεστή συσχέτισμού coefficient of correlation ( $r^2$ ) να κυμαίνεται από 0.99 (εξανοϊκού αιθυλεστέρα) στο 0.9998 (cis-3-εξέν-1-όλη). Η γραμμικότητα διατηρείται για τουλάχιστον μία τάξη μεγέθους και στις περισσότερες περιπτώσεις ισχύει για τουλάχιστον δύο, πράγμα που εξασφαλίζει ότι η κανονική κλίμακα συγκεντρώσεων σχεδόν όλων των ενώσεων που υπάρχουν στον πίνακα 13 περιλαμβάνεται στο γραμμικό εύρος της μεθόδου. Η κλίση των ευθειών γραμμών βαθμονόμησης είναι ένα μέτρο της ευαισθησίας της

μεθόδου και εξαρτάται τόσο από την απόδοση εκχύλισης όσο και από την απόκριση του ανιχνευτή για κάθε ένωση.

Τα στοιχεία της επαναληψιμότητας δίνονται στον πίνακα 18. Η επαναληψιμότητα είναι η μέση τυπική απόκλιση του μέσου όρου που λήφθηκε μετά από την ανάλυση τριών δειγμάτων της ίδιας παρτίδας. Ο πίνακας 16 δείχνει ακριβώς αυτό για συνθετικά διαλύματα οίνου, το RSD κυμαίνεται από 5.1% (για την 2-φαινυλαιθανόλη) μέχρι 12.2 % (για την γερανιόλη) στα συνθετικά διαλύματα, με μία μέση τιμή στα 9.5 % για τους συνθετικούς οίνους, το οποίο μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητικό για τον σκοπό της έρευνας.

Ένα πείραμα για να επιβεβαιώσουμε την επίδραση της φύσης του δείγματος πραγματοποιήθηκε επίσης. Σε αυτή την περίπτωση, ποσότητα οίνου στην οποία προστέθηκαν γνωστές ποσότητες αναλυτών αναλύθηκε ακολουθώντας την συγκεκριμένη διαδικασία. Οι μετρημένες σχετικές αυξήσεις της περιοχής παρεμβλήθηκαν στις καμπύλες αναφοράς που φαίνονται στον πίνακα 17. Τα αποτελέσματα αυτού του πειράματος φαίνονται στον ίδιο πίνακα. Στις περισσότερες περιπτώσεις ο βαθμός συμφωνίας ανάμεσα στην πραγματική ποσότητα που προστέθηκε και αυτήν η οποία προσδιορίστηκε με την μέθοδο της παρεμβολής είναι ικανοποιητικός, με την εξαίρεση της *cis*-3-έξεν-1-όλη (115%) η οποία βρέθηκε σε χαμηλά ποσοστά στον πρωτότυπο οίνο και έδωσε υψηλές τιμές στον "πειραγμένο" οίνο. Για τα περισσότερα συστατικά οι σχετικές τιμές ανάκτησης ποίκιλαν από 90% για την 3-μεθυλο-θείο-1-προπανόλη μέχρι 109% για τον 2-οξεικό φαινυλεστέρα το οποίο είναι ικανοποιητικό για την μέθοδο.

Συμπερασματικά, η προτεινόμενη μέθοδος επιτρέπει τον γρήγορο και ποσοτικό προσδιορισμό για περισσότερα από 15 πτητικά συστατικά του οίνου. Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά –γραμμικότητα, και ακρίβεια της μεθόδου είναι ικανοποιητικά. Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά κάνουν την μέθοδο χρήσιμη για τον έλεγχο της ποιότητας του οίνου και την ταξινόμηση αυτού, καθώς και για την παροχή πληροφοριών οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη διαχείριση της διαδικασίας οινοποίησης.

#### **10.5. Επίδραση της προζυμωτικής επεξεργασίας στα πτητικά συστατικά των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο με τη μεθοδολογία SPE - GC FID**

Η προτεινόμενη αναλυτική μέθοδος εφαρμόστηκε σε οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο οι οποίοι παράχθηκαν με διαφορετικές οινοποιητικές διαδικασίες. Πραγματοποιήθηκε μια σύγκριση μεταξύ των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο οι

οποίοι παρήχθησαν με κλασσική λευκή οινοποίηση και οίνων που παρήχθησαν με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση, όπως επίσης μεταξύ απολασπωμένων (διαυγών) ή όχι, με σκοπό να μελετηθεί η επίδραση της οινοποιητικής τεχνικής στην παραγωγή οίνων Ασύρτικου. Τα χημικά γκρουπ των συστατικών που αναλύθηκαν ήταν εκείνα των αιθυλικών εστέρων, ανώτερων αλκοολών, των οξικών εστέρων αυτών, των πτητικών οξέων, η μεθυλοθειό-προπανόλη, οι C<sub>6</sub> αλκοόλες και η γερανιόλη.

Στον τρύγο του 2004, πίνακας 19 που ακολουθεί, οι αιθυλικοί εστέρες ήταν σημαντικά υψηλότεροι στην περίπτωση των οίνων της κλασσικής οινοποίησης. Μόνο στην περίπτωση του ισοβουτυρικού αιθυλεστέρα, οι οίνοι της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης παρουσίασαν υψηλότερες τιμές. Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τα όσα αναφέρθηκαν πριν με βάση την βιβλιογραφία (Selli et al 2006, Cabaroglu, Canbas, 2002). Αντιθέτως τα επίπεδα των οξικών εστέρων ήταν σημαντικά υψηλότερα στην περίπτωση των οίνων της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης, ιδιαίτερα για τα επίπεδα των ολικών οξικών εστέρων, γεγονός το οποίο είναι προφανώς λογικό μιας και οι 'πρόδρομοί τους', οι ανώτερες αλκοόλες βρέθηκαν να είναι επίσης σε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα. Οι C<sub>6</sub> αλκοόλες βρέθηκαν να είναι σημαντικά υψηλότερες στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης, παρότι η διαφορά μεταξύ της κλασσικής οινοποίησης των μη διαυγών οίνων και των δύο οίνων της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης δεν ήταν σημαντική. Ίδιες τάσεις παρατηρήθηκαν και σε προηγούμενες μελέτες (Selli et al., 2006, Cabaroglu, Canbas, 2002, Symeou et al., 2007). Τα επίπεδα της μεθυλοθειό-προπανόλης ήταν σημαντικά υψηλότερα στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης, ενώ τα επίπεδα της γερανιόλης βρέθηκαν σχεδόν ίδια μεταξύ των οίνων της κλασσικής οινοποίησης και της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Τα επίπεδα της φαινυλαιθανόλης ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης ακολουθώντας την τάση που είχαν και οι υπόλοιπες ανώτερες αλκοόλες. Κατά την σύγκριση των διαυγών και μη διαυγών οίνων σημαντικές διαφορές βρέθηκαν, ειδικά για τους οίνους της κλασσικής οινοποίησης, ενώ μεταξύ των διαυγών και μη διαυγών οίνων που προέκυψαν μετά από προζυμωτική κρυσταλλοποίηση των σταφυλιών οι διαφορές δεν ήταν σημαντικές. Συγκεκριμένα, οι αιθυλικοί εστέρες ήταν σε υψηλότερο επίπεδο στους διαυγασμένους οίνους κλασσικής οινοποίησης. Το ίδιο ακριβώς ίσχυσε και για τους οξικούς εστέρες. Κατά συνέπεια φαίνεται πως η διαύγαση του οίνου οδήγησε σε πιο φρουτώδεις οίνους όπως είχε ήδη αναφερθεί από προηγούμενες εργασίες πάνω σε σταφύλια άλλων ποικιλιών από τους (Liu, J-W. et al., 1987, Houtman, and Plessis 1981, Houtman et al., 1980). Στις ίδιες έρευνες αποδείχθηκε ότι μεγάλες ποσότητες ιζήματος στο γλεύκος όχι μόνο δημιουργούσε ελλατωματικές οσμές αλλά καθυστερούσε επίσης την παραγωγή εστέρων από τις ζύμες. Συμπεράναν λοιπόν ότι η περιεκτικότητα σε εστέρες είναι πιθανόν χαμηλή σε οίνους από σύλλαπα γλεύκη (μή διαυγασμένα) με υψηλά επίπεδα σε αδιάλυτα στερεά.

Παρολαυτά στην περίπτωση οίνων με προζυμωτική κρυοεκχύλιση δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές για τους αιθυλικούς εστέρες με εξαίρεση τα επίπεδα του βουτανικού αιθυλεστέρα. Επίσης τα επίπεδα του ισοαμυλικού αιθυλεστέρα βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα στα διαυγασμένα δείγματα. Παρά το γεγονός ότι αυτά τα δύο συστατικά συμβάλουν σημαντικά στο φρουτώδες άρωμα των οίνων, τα αποτελέσματα που βρέθηκαν δείχνουν ότι οι μή διαυγασμένοι οίνοι δεν παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα αιθυλικών εστέρων σε σχέση με τα διαυγασμένα δείγματα. Οι ανώτερες αλκοόλες, οι C<sub>6</sub> αλκοόλες, η μεθειονόλη και η φαινυλαιθανόλη δεν ήταν σημαντικά υψηλότερες στην περίπτωση των μή διαυγασμένων δειγμάτων. Μόνο τα επίπεδα της γερανιόλης βρέθηκαν να είναι αρκετά υψηλότερα στην περίπτωση των διαυγασμένων οίνων.

**Πίνακας 19.** Επίδραση της προζυμωτικής εκχύλισης και της απολάσπωσης στα βασικά πτητικά συστατικά οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L.cv. Ασύρτικο, εσοδείας 2004<sup>a</sup>  
2004

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΚΔ	ΚΣ	ΠΔ	ΠΣ
Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	0.09b ±0.01	0.04c ± 0.01	0.13 a± 0.01	0.13 a± 0.02
Βουτανικός αιθυλεστέρας	1.16a± 0.12	0.56c ±0.08	0.98b ± 0.09	0.48c ± 0.04
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	0.20a ±0.01	0.13b ±0.02	0.15b ± 0.01	0.14b ±0.01
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0.78a ±0.08	0.46b ± 0.04	0.59b ± 0.06	0.45b ± 0.06
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0.67a ± 0.08	0.44b ± 0.05	0.54b ± 0.06	0.40b ± 0.07
<b>Σύνολο αιθυλικών εστέρων</b>	<b>2.90a ±0.08</b>	<b>1.64c ±0.07</b>	<b>2.48b ±0.07</b>	<b>1.57c ±0.05</b>
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	0.05b ±0.01	0.02c ± 0.00	0.21a± 0.02	0.17a ±0.03
Οξικός ισοαμυλεστέρας	0.51c ±0.04	0.24d± 0.04	1.01a ±0.07'	0.62b± 0.03
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	0.22b ± 0.02	0.14c ±0.02	0.19b ±0.01	0.05d ± 0.01
<b>Σύνολο οξικών εστέρων</b>	<b>0.82b ±0.04</b>	<b>0.41c ±0.06</b>	<b>1.41 a ±0.04</b>	<b>0.84b ± 0.04</b>
1-πεντανόλη	0.13b ± 0.01	0.17a± 0.01	0.12b ±0.01	0.14b ±0.01
2-μέθυλο-προπανόλη	18.34a± 0.81	21.20a ±0.83	20.74a ± 1.80	20.10a ± 1.56
3-μέθυλο-βουτανόλη	245.31c ±4.61	280.99b ± 6.63	337.22a ± 13.4	307.93a ± 11.08
<b>Σύνολο ανώτερων αλκοολών</b>	<b>263.78c ±5.43</b>	<b>301.99b ±7.46</b>	<b>358.08a ± 15.23</b>	<b>328.17a ± 12.60</b>
cis-3-έξεν-1-όλη	0.06b ±0.01	0.1a ±0.01	0.1a± 0.01	0.13a ±0.03
έξεν-1-όλη	0.75b ±0.05	1.18a ± 0.1	1.33 a± 0.1	1.15a± 0.05
<b>Σύνολο C<sub>6</sub> αλκοολών</b>	<b>0.81b ±0.05</b>	<b>1.28a± 0.11</b>	<b>1.44 a± 0.1</b>	<b>1.29a ±0.07</b>
3-μεθυλοθειο1 προπανόλη	1.12b ±0.06	1.73a ±0.06	1.69a ±0.01	1.72a ±0.12
γερανιόλη	1.23a ±0.06	0.91b ±0.06	1.12a± 0.06	0.56c ±0.04
2-φαινυλ-αιθανόλη	34.02b ± 0.82	26.36c ±0.83	42.81a± 1.30	40.92a ±0.74

<sup>a</sup>Τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε mg/L. Οι τυπικές αποκλίσεις (standard deviations) υπολογίστηκαν παίρνοντας υπόψιν τον μέσο όρο των τριών αναλύσεων των τριών διαφορετικών οίνων που αντιστοιχούσαν σε κάθε ζύμωση. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε πτητικό συστατικό διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test p< 0.05)

ΚΔ =ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΑΥΓΕΣ ΓΛΕΥΚΟΣ  
ΚΣ=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΛΛΑΣΠΟ ΓΛΕΥΚΟΣ  
ΠΡΟ.Δ =ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΔΙΑΥΓΕΣ ΓΛΕΥΚΟΣ  
ΠΡΟ.Σ =ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΥΛΛΑΣΠΟ ΓΛΕΥΚΟΣ

Στον τρύγο του 2005 τα επίπεδα των αιθυλικών εστέρων μεταξύ των οίνων κλασσικής οινοποίησης και προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης δεν ήταν σημαντικά υψηλότερα, πίνακας 20. Η ίδια τάση βρέθηκε και για τα επίπεδα των οξικών εστέρων παρά το γεγονός ότι το επίπεδο των ανώτερων αλκοολών ήταν σημαντικά υψηλότερο στα δείγματα της κλασσικής οινοποίησης. Οι C<sub>6</sub> αλκοόλες βρέθηκαν να είναι σημαντικά υψηλότερες στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Οι ίδιες τάσεις παρατηρήθηκαν και σε προηγούμενες έρευνες επίσης (Selli et al., 2006, Cabaroglu, Canbas, 2002, Symeou et al., 2007). Αυτό φαίνεται λογικό μιας και αυτά τα συστατικά μπορούν να θεωρηθούν ως ποικιλιακά προέρχομενα από την επιδερμίδα των φλοιών των σταφυλιών οπότε και εκχυλίζονται στο γλεύκος κατά την διαδικασία της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Η διαδικασία επαφής των φλοιών διευκολύνει την εξαγωγή - εκχύλιση αυτών των συστατικών καθώς το γλεύκος είναι σε επαφή με τους φλοιούς για 12 ώρες. Η Cis-3-έξεν-1-όλη η οποία έχει μία χορτώδη, οσμή φύλλου (η κοινή της ονομασία είναι αλκοόλη των φύλλων), και βρέθηκε να αυξάνεται με την εκχύλιση κατά την επαφή με τους φλοιούς (προζυμωτική κρυσταλλοποίηση) των σταφυλιών της ποικιλίας Chardonnay σε ψυχρές θερμοκρασίες (περίπου 10 °C, πολύ κοντά στις θερμοκρασίες του πειραματός μας). Η εξανόλη η οποία έχει μία ελαφρά χορτώδη οσμή παρουσίασε την ίδια συμπεριφορά (Ramey et al., 1986). Αυτά τα συστατικά των 6 ατόμων άνθρακα συνδέθηκαν με την χορτώδη οσμή - άρωμα που αναπτύσσεται κατά την προζυμωτική κρυσταλλοποίηση. Τα επίπεδα της 3-μεθυλο-θείο-1-προπανόλης ήταν σημαντικά υψηλότερα στους οίνους της κλασσικής οινοποίησης, ακριβώς το αντίθετο από αυτό που βρέθηκε στους οίνους του 2004, ενώ τα επίπεδα της γερανιόλης βρέθηκαν να είναι σχεδόν ίδια μεταξύ των οίνων της κλασσικής οινοποίησης και της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης ακολουθώντας την ίδια τάση με τους οίνους του 2004. Τα επίπεδα της φαινυλαιθανόλης ήταν σημαντικά υψηλότερα για τους διαυγής οίνους κλασσικής οινοποίησης, ενώ δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των μή διαυγασμένων κλασσικής οινοποίησης οίνων και των διαυγασμένων οίνων προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Οι διαυγασμένοι οίνοι κλασσικής οινοποίησης παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα αιθυλικών εστέρων σε σύγκριση με τους μή διαυγασμένους οίνους. Μόνο τα επίπεδα του ισοβουτυρικού αιθυλεστέρα δεν βρέθηκαν να είναι διαφορετικά όπως επίσης και τα επίπεδα του εξανοϊκού όπου βρέθηκε μία μικρή υπεροχή στα διαυγασμένα δείγματα, παρότι δεν ήταν σημαντική. Στην περίπτωση των οίνων της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης τα επίπεδα των αιθυλικών εστέρων των διαυγασμένων και μή διαυγασμένων οίνων δεν διέφεραν σημαντικά, με εξαίρεση τα επίπεδα του βουτυρικού αιθυλεστέρα, που ήταν υψηλότερα στα μή διαυγασμένα δείγματα, ακολουθώντας την τάση που βρέθηκε στον τρύγο του 2004. Τα επίπεδα του ισοαμυλικού αιθυλεστέρα ήταν σημαντικά υψηλότερα στα διαυγασμένα δείγματα και για τους οίνους της κλασσικής οινοποίησης αλλά και για εκείνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Τα επίπεδα των ανώτερων αλκοολών ήταν σημαντικά



υψηλότερα για τα μή διαυγασμένα δείγματα της κλασσικής οινοποίησης, αλλά όχι για τους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Οι ανώτερες αλκοόλες επηρεάζουν θετικά το άρωμα του οίνου σε ποσότητες μικρότερες των 400 mg/L, αλλά έχουν αρνητική επίδραση σε υψηλότερες ποσότητες από την αναφερόμενη τιμή (Ribereau-Gayon, et al., 2000). Η περιεκτικότητα των οίνων σε ανώτερες αλκοόλες επηρεάζεται από την διαύγαση του γλεύκους. Προηγούμενες μελέτες (Crowell and Guymon, 1963; Groat and Ough, 1978, Ribereau-Gayon, 1975) έχουν δείξει ότι τα αιωρούμενα σωματίδια αύξησαν τον σχηματισμό των ανώτερων αλκοολών στους οίνους όπως επίσης έδειξαν ότι τα γλεύκη που περιείχαν περισσότερα στερεά σωματίδια του σταφυλιού είχαν την τάση να δίνουν οίνους με μεγαλύτερες ποσότητες σε ισοβουτυρικό, ενεργού αμυλικού, και ισοαμυλική αλκοόλη από ότι οι διαυγασμένοι οίνοι και τα επεξεργασμένα με ένζυμα γλεύκη. Οι C<sub>6</sub> αλκοόλες βρέθηκαν να είναι σημαντικά υψηλότερες στους μή διαυγασμένους οίνους κλασσικής οινοποίησης, ενώ στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης δεν βρέθηκε καμία διαφορά μεταξύ των διαυγασμένων και μή διαυγασμένων οίνων. Τα επίπεδα της φαινυλαιθανόλης ήταν σημαντικά υψηλότερα για τους διαυγής οίνους κλασσικής οινοποίησης και προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης σε σύγκριση με τους μή διαυγασμένους οίνους.

Συμπερασματικά θα λέγαμε, ότι η ποσοτικοποίηση αυτών των συστατικών, των προερχόμενων γενικά από την αλκοολική ζύμωση, στους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο που παράγονται με κλασσική οινοποίηση ή με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση, δεν έδειξε σημαντική διαφορά για την μία ή την άλλη μέθοδο οινοποίησης. Μόνο τα επίπεδα των C<sub>6</sub> αλκοολών ήταν σημαντικά υψηλότερα στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης, και στους δύο τρύγους. Αντιθέτως βρέθηκε ότι η απολάσπωση- διαύγαση, ειδικά στους οίνους της κλασσικής οινοποίησης, μπορεί να οδηγήσει σε πιο φρουτώδης οίνους μιας και τα επίπεδα των αιθυλικών εστέρων ήταν σημαντικά υψηλότερα και από την άλλη πλευρά, τα επίπεδα των ανώτερων αλκοολών, τα οποία γενικά συνεισφέρουν αρνητικά στο άρωμα του οίνου, βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαυγασμένων και μή διαυγασμένων οίνων, με εξαίρεση τον βουτανικό αιθυλεστέρα, και τον οξικό ισοαμυλεστέρα (σημαντικά υψηλότερος στους διαυγασμένους οίνους). Αυτό θα μπορούσε να σημαίνει ότι μετά την προζυμωτική κρυσταλλοποίηση των σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο, μία σημαντική και χρονοβόρα απολάσπωση- διαύγαση δεν είναι πιθανόν απαραίτητη οπότε θα μπορούσαν να ακολουθήσουν τα επόμενα βήματα της λευκής οινοποίησης, εξοικονομώντας χρόνο και προστασία απέναντι στην έκθεση στο O<sub>2</sub>.

**Πίνακας 20.** Επίδραση της προζυμωτικής εκχύλισης και της διαύγασης στα βασικά αρωματικά συστατικά οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L.cv. Ασύρτικο, τρύγου 2005<sup>a</sup>

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΚΔ	ΚΣ	ΠΡ.Δ	ΠΡ.Σ
Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	0.05a ±0.01	0.05a ±0.00	0.04a ±0.01	0.06a ±0.01
Βουτανικός αιθυλεστέρας	0.90a ±0.06	0.48b ± 0.08	1.04a± 0.12	0.72b ± 0.07
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	0.19a ±0.02	0.13b ±0.02	0.15b ±0.01	0.16b ±0.01
Εξανοικός αιθυλεστέρας	0.68a ±0.12	0.53a ±0.05	0.72a ±0.13	0.61a ±0.03
Οκτανικός αιθυλεστέρας	0.67a ± 0.08	0.40b ±0.03	0.42b ±0.03	0.49b ±0.06
<b>Σύνολο αιθυλικών εστέρων</b>	<b>2.69a ±0.06</b>	<b>1.77c ±0.03</b>	<b>2.54b ±0.09</b>	<b>2.23b ±0.11</b>
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	0.28a ±0.02	0.18b± 0.02	0.13b ±0.02"	0.15b ±0.03
Οξικός ισοαμυλεστέρας	1.18a± 0.08	0.85b± 0.04	1.13a± 0.10	0.79b± 0.05
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	0.43a ± 0.04	0.28b± 0.02	0.20b ± 0.03	0.21b ±0.03
<b>Σύνολο οξικών εστέρων</b>	<b>1.90a ±0.08</b>	<b>1.3 lb ±0.09</b>	<b>1.45b ±0.12</b>	<b>1.20b ±0.07</b>
1-πεντανόλη	0.16a± 0.02	0.17a± 0.02	0.15a± 0.01	0.17a ±0.01
2-μεθυλο-προπανόλη	11.49b ±0.82	20.93a ± 1.25	14.17b ±0.85	12.66b ± 1.20
3-μεθυλο-βουτανόλη	290.75b ± 5.53	390.66a± 5.63	252.63c ±8.6	249.60c ± 9.23
<b>Σύνολο ανώτερων αλκοολών</b>	<b>302.4b ±5.78</b>	<b>411.56a± 6.46</b>	<b>266.96c± 14.37</b>	<b>262.43c± 11.34</b>
cis-3-έξεν-1-όλη	0.06b ±0.01	0.14a ±0.03	0.06b± 0.01	0.07b± 0.03
Εξαν-1-όλη	0.93c ± 0.05	1.29b ±0.15	1.92 a± 0.20	1.69a ±0.12
<b>Σύνολο C<sub>6</sub> αλκοολών</b>	<b>0.99c± 0.05</b>	<b>1.42b ±0.10</b>	<b>1.98a± 0.1</b>	<b>1.76a± 0.12</b>
3-μεθυλοθειό 1προπανόλη	3.73a ±0.45	3.93a± 0.76	1.99b ±0.87	1.68b± 0.62
Γερανιόλη	0.69a ±0.06	0.52b ± 0.08	0.74a ±0.09	0.65a± 0.06
2-φαινυλ-αιθανόλη	63.16a±4.1	47.75b± 2.83	43.61b± 1.23	33.38c± 2.02

<sup>a</sup>Τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε mg/L.Οι τυπικές αποκλίσεις (standard deviations) υπολογίστηκαν παίρνοντας υπόψιν τον μέσο όρο των τριών αναλύσεων των τριών διαφορετικών οίνων που αντιστοιχούσαν σε κάθε ζύμωση. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε πητικό συστατικό διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test p< 0.05)

ΚΔ =ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΑΥΓΕΣ ΓΛΕΥΚΟΣ  
ΚΣ=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΛΛΑΣΠΟ ΓΛΕΥΚΟΣ  
ΠΡΟ.Δ =ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΔΙΑΥΓΕΣ ΓΛΕΥΚΟΣ  
ΠΡΟ.Σ =ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΥΛΛΑΣΠΟ ΓΛΕΥΚΟΣ

## 10.6. Ανάπτυξη Μεθοδολογίας απομόνωσης πτητικών συστατικών του αρώματος με την μέθοδο της υγρής - υγρής εκχύλισης - GC FID

### Προτεινόμενη μέθοδος

Η μέθοδος υγρής - υγρής εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε ήταν μία εφαρμογή της μεθόδου των Ortega et al. (2001) ,όπως αναφέρεται στο κεφάλαιο 8.3.2.β.

### Πρότυπες καμπύλες

Οι πρότυπες καμπύλες που χρησιμοποιήθηκαν για την ποσοτικοποίηση των πτητικών συστατικών, πίνακας 20, κατασκευάστηκαν σύμφωνα με την μεθοδολογία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 8.2.4. Για κάθε συστατικό, πέντε αυξανόμενες συγκεντρώσεις τοποθετήθηκαν μέσα στο εύρος που αναφέρεται στον πίνακα 21 και χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των πρότυπων καμπυλών και την εκτίμηση της γραμμικότητας της μεθόδου

**Πίνακας 21.** Πρότυπες καμπύλες, εύρος συγκεντρώσεων των πτητικών συστατικών και γραμμικότητα της μεθόδου

Συστατικό	Intercept	Κλίση	r <sup>2</sup>	Έυρος (mg l <sup>-1</sup> )
Βουτανικός μεθυλεστέρας	-0,0254	0,107	0,9961	0,25-3,75
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	-0,0138	0,1274	0,9978	0,25-3,75
Οξικός ισοαμυλεστέρας	-0,0117	0,1222	0,9955	0,25-3,75
Οξικός εθυλεστέρας	-0,0082	0,1308	0,9986	0,25-3,75
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	-0,0246	0,3287	0,9991	0,25-3,75
2-μεθυλο-1-προπανόλη	0,069	0,2879	0,9952	2,5-7,5
3-μεθυλο-1-βουτανόλη	-0,1121	0,1726	0,9964	2,5-7,5
Εξάν-1-όλη	0,0317	0,1814	0,9989	2,5-7,5
3-μεθυλοθειο1προπανόλη	0,0157	0,1037	0,9984	2,5-7,5
2-φαινυλ-αιθανόλη	0,0219	0,2065	0,9996	2,5-7,5
Ισοβουτυρικό οξύ	0,0021	0,9954	0,9938	2,5-7,5
Βουτυρικό οξύ	0,073	0,326	0,992	2,5-7,5
Ισοβαλερικό οξύ	0,0034	1,583	0,9925	2,5-7,5
Εξανοϊκό οξύ	0,003	0,6069	0,9935	2,5-7,5
Οκτανοϊκό οξύ	-0,061	0,0436	0,9938	3,75-15

### Ανάπτυξη και επικύρωση της μεθόδου

Αρχικές δοκιμές έγιναν ώστε να προσδιοριστούν οι καλύτερες συνθήκες εκχύλισης για μία καθαρή φάση διαχωρισμού και για μέγιστη συγκέντρωση. Σε αυτά τα

πειράματα 50ml οίνου εκχυλίστηκαν με 5 ml πεντάνιο- διαιθυλαιθέρα (1:1) και 3 ml οίνου αραιώθηκαν με 7 ml νερού και εκχυλίστηκαν διαδοχικά με 1 ml και 1 ml διχλωρομεθάνιο. Από αυτές τις συνθήκες εκχύλισης επιλέχθηκε η δεύτερη και είναι αυτή που περιγράφεται ως προτεινόμενη μέθοδος.

### **Σχετική ανάκτηση (Relative recovery)**

3 ml οίνου Ασύρτικου, σοδειάς 2004 εκχυλίστηκε και αναλύθηκε όπως αναφέρεται στην προτεινόμενη μέθοδο. Στον ίδιο οίνο προστέθηκαν γνωστές ποσότητες πτητικών συστατικών του οίνου και εσωτερικό πρότυπο και μετά αναλύθηκε παρομοίως. Ο μέσος όρος των σχετικών επιφανειών παραστάθηκε στις πρότυπες καμπύλες που κατασκευάστηκαν από τα συνθετικά διαλύματα. Η σχετική ανάκτηση για κάθε αναλύτη εκτιμήθηκε σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση

$$\text{Σχετική ανάκτηση} = ([\text{EO}] - [\text{AO}]) / [\text{ΠΠ}]$$

Όπου ΕΟ είναι η συγκέντρωση του αναλύτη στον οίνο όπου προστέθηκε, ΑΟ είναι η συγκέντρωση του αναλύτη στον οίνο μάρτυρα και ΠΠ είναι η συγκέντρωση των γνωστών ποσοτήτων των αναλυτών που προστέθηκαν στον οίνο μάρτυρα. Οι ανακτήσεις διεξήχθησαν εις τριπλούν. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 22.

### **Επαναληψιμότητα**

Σε έναν οίνο Ασύρτικου σοδειάς 2004 προστέθηκαν γνωστές ποσότητες πτητικών συστατικών του οίνου, με 10ml διάλυμα εσωτερικού προτύπου και εκχυλίστηκε όπως αναφέρθηκε στην προτεινόμενη μέθοδο πέντε φορές μεσά στην ίδια ημέρα. Οι σχετικές επιφάνειες των αναλυτών προς το εσωτερικό πρότυπο υπολογίστηκαν και η επαναληψιμότητα εκτιμήθηκε σύμφωνα με τον τύπο

$$\text{RSD} = \text{SD} (\text{relative area}_{1-5}) / \text{AVERAGE}(\text{relative area}_{1-5}),$$

Όπου RSD είναι η σχετική τυπική απόκλιση για κάθε αναλύτη και SD είναι η τυπική απόκλιση των σχετικών επιφανειών των πέντε επαναλαμβανόμενων εκχυλίσεων (relative area<sub>1-5</sub>) Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 22.

**Πίνακας 22.** Τιμές RSD (σχετική τυπική απόκλιση) των μελετούμενων πτητικών συστατικών

<b>Πτητικό συστατικό</b>	<b>RSD %</b>
Βουτανικός αιθυλεστέρας	8,8
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	4,3
Οξικός ισοαμυλεστέρας	3,6
Οξικός εθυλεστέρας	8,3

Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	7,8
2-μεθυλο-1-προπανόλη	3,8
3-μεθυλο-1-βουτανόλη	4,0
έξαν-1-όλη	4,0
3-μεθυλοθειο1προπανόλη	9,1
2-φαινυλ-αιθανόλη	3,6
Ισοβουτυρικό οξύ	7,4
Βουτυρικό οξύ	9,3
Ισοβαλερικό οξύ	8,7
Εξανοϊκό οξύ	9,2
Οκτανοϊκό οξύ	8,6

**Πίνακας 23.** Επί της % σχετικές ανακτήσεις των πτητικών συστατικών όπως υπολογίστηκαν σε έναν οίνο Ασύρτικου, τρύγου 2004. (ΑΟ) είναι η συγκέντρωση του αναλυτή στον αρχικό οίνο και (ΠΠ) είναι η συγκέντρωση της γνωστής ποσότητας του αναλυτή που προστέθηκε στον αρχικό οίνο. (ΕΟ) είναι η συγκέντρωση του αναλυτή στον ενισχυμένο οίνο.

<u>Πτητικό Συστατικό</u>	<u>ΑΟ (mg/l)</u>	<u>ΠΠ (mg/l)</u>	<u>ΕΟ (mg/l)</u>	<u>% Σχετική ανάκτηση</u>
Βουτανικός αιθυλεστέρας	1,07	3,75	4,70	96,39
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0,14	2,75	2,33	79,71
Οξικός ισοαμυλεστέρας	0,10	3,75	3,46	89,66
Οξικός εθυλεστέρας	0,10	3,75	3,21	83,13
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,70	3,75	3,87	84,48
2-μεθυλο-1-προπανόλη	3,18	3,75	6,61	91,52
3-μεθυλο-1-βουτανόλη	49,72	3,75	52,98	86,82
εξάν-1-όλη	0,48	3,75	4,01	94,27
3-μεθυλοθειο1προπανόλη	0,33	3,75	3,94	96,31
2-φαινυλ-αιθανόλη	6,20	3,75	9,64	91,49
Ισοβουτυρικό οξύ	2,40	2,75	4,64	81,33
Βουτυρικό οξύ	0,77	2,75	3,02	82,12
Ισοβαλερικό οξύ	1,14	3,75	5,13	106,39
Εξανοϊκό οξύ	2,72	3,75	6,79	108,44
Οκτανοϊκό οξύ	7,23	2,25	9,41	96,69

## Στατιστικές μέθοδοι

Οι γραμμικές συσχετίσεις φτιάχτηκαν στο (Microsoft Excel) με σκοπό την δημιουργία των πρότυπων καμπυλών στις οποίες η συγκέντρωση του αναλύτη δώθηκε σε γραφική παράσταση ως προς την σχετική χρωματογραφική απόκριση του αναλύτη στο εσωτερικό πρότυπο. Οι σχετικές αποκλίσεις για την εκτίμηση της επαναληψιμότητας της μεθόδου υπολογίστηκαν επίσης. Αναλύσεις διασποράς έγιναν για σύγκριση των αποτελεσμάτων και την επίδραση των μεθόδων παραγωγής στο επίπεδο των αναλυτών.

## Επικύρωση της μεθόδου υγρής-υγρής εκχύλισης

Η γραμμικότητα της μεθόδου προσδιορίστηκε από τις καμπύλες αναφοράς που κατασκευάστηκαν παραθέτοντας τις συγκεντρώσεις των αναλυτών με τις σχετικές χρωματογραφικές αποκρίσεις του αναλύτη με το εσωτερικό πρότυπο. Πέντε συγκεντρώσεις χρησιμοποιήθηκαν για να κατασκευαστούν οι πρότυπες καμπύλες για κάθε συστατικό. Η γραμμικότητα είναι ικανοποιητική σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις. (Πίνακας 21) με τον συντελεστή συσχέτισης ( $r^2$ ) να κυμαίνεται από 0.992 (βουτυρικό οξύ) μέχρι 0.9996 (2- φαινυλαιθανόλη). Η γραμμικότητα διατηρείται για τουλάχιστον μία τάξη μεγέθους και στις περισσότερες περιπτώσεις ισχύει για τουλάχιστον δύο, γεγονός που εξασφαλίζει ότι η κανονική κλίμακα συγκεντρώσεων σχεδόν όλων των ενώσεων που υπάρχουν στον πίνακα 21 περιλαμβάνεται στο γραμμικό εύρος της μεθόδου. Η κλίση της ευθείας γραμμής βαθμονόμησης είναι ένα μέτρο της ευαισθησίας της μεθόδου και εξαρτάται από την επάρκεια της εκχύλισης όσο και από την απόκριση του ανιχνευτή για κάθε συστατικό.

Τα δεδομένα των σχετικών ανακτήσεων (Πίνακας 23) είναι ικανοποιητικά για όλα τα πτητικά συστατικά, και κυμαίνονται από 0.80 για τον εξανοϊκό αιθυλεστέρα, μέχρι 1.08 για το εξανοϊκό οξύ, ένα εύρημα σε συμφωνία με άλλες έρευνες και διάφορες μεθόδους ( Edwards and Beelman 1990 ; Ortega et al., 2001; Bohlscheid et al., 2006).

Η επαναληψιμότητα είναι ο μέσος όρος της τυπικής απόκλισης του μέσου που λήφθηκε από διάφορα παρόμοια δείγματα που αναλύθηκαν στην ίδια παρτίδα. Ο πίνακας 22 δείχνει το εύρος του RSD το οποίο κυμαίνεται από 0.036 για τον οξικό ισοαμυλεστέρα μέχρι 0.093 για το βουτυρικό οξύ με μία μέση τιμή κάτω από το 0.065 πράγμα το οποίο μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητικό για το σκοπό της συγκεκριμένης ανάλυσης. Γενικά, οι υψηλότερες RSD τιμές βρέθηκαν για τα όξινα συστατικά, το οποίο είναι φυσιολογικό μιας και αυτά τα συστατικά είναι πολύ διαλυτά στο νερό και συνεπώς έχουν μικρή εκχυλισματικότητα (Ortega et al., 2001). Επίσης έχουν μία συγγένεια με την πολική κολώνα που χρησιμοποιήθηκε με

αποτέλεσμα να υπάρχουν κάποια προβλήματα σε ότι αφορά στην ολοκλήρωση και στον υπολογισμό των συγκεντρώσεών τους.

Συμπερασματικά, η προτεινόμενη μέθοδος επιτρέπει τον γρήγορο και φθινό ποσοτικό προσδιορισμό περισσότερων από 15 βασικών πτητικών συστατικών του οίνου. Μεταξύ αυτών των πτητικών είναι κάποιοι σημαντικοί δείκτες της μικροβιολογικής κατάστασης του οίνου, των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του ή της προελευσής του (γεωγραφική και ποικιλιακή). Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου όπως η γραμμικότητα και η ακρίβεια είναι ικανοποιητικά. Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά κάνουν την μέθοδο χρήσιμη για τον ποιοτικό έλεγχο του οίνου και την καταταξή του και μας δίνουν πληροφορίες οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στον έλεγχο της διαδικασίας οινοποίησης.

### **10.7.Επίδραση της προζυμωτικής επεξεργασίας στα πτητικά συστατικά των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο με τη μεθοδολογία υγρής-υγρής εκχύλισης - GC FID**

Οι κατηγορίες των χημικών συστατικών που μελετήθηκαν ήταν αυτές των αιθυλικών εστέρων, των οξικών, των ανώτερων αλκοολών, των πτητικών οξέων, της μεθειονόλης, της εξαν-1-όλης και της 2-φαινυλαιθανόλης.

Στον τρύγο του 2004, οι αιθυλικοί εστέρες (ο βουτυρικός αιθυλεστέρας και ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας) ήταν υψηλότεροι στους οίνους της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης παρότι οι διαφορές δεν ήταν σημαντικές, αλλά στον τρύγο του 2005 τα επίπεδα των αιθυλικών εστέρων ήταν υψηλότερα για τους οίνους που παρήχθησαν με την κλασική οινοποίηση (πίνακας 24). Για τους οξικούς εστέρες, ο τρύγος του 2004 έδωσε δείγματα με υψηλότερα επίπεδα για τους οίνους που παρήχθησαν με την κλασική οινοποίηση (σημαντικό για τον οξικό φαινυλαιθυλεστέρα μόνο), αλλά δεν παρατηρήθηκαν στατιστικές διαφορές για τον τρύγο του 2005 (Πίνακας 24).

Το 2004, οι ανώτερες αλκοόλες ήταν υψηλότερες στα δείγματα της κλασικής οινοποίησης από ότι στις προζυμωτικής κρυσεκχύλισης, αλλά το 2005 τα αποτελέσματα ήταν τα αντίθετα. Η 3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη, ένα οσμηρό συστατικό που δίνει την αίσθηση της ωμής πατάτας στους οίνους, ήταν σημαντικά υψηλότερο στα δείγματα της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης για το 2005 αλλά χωρίς σημαντικές διαφορές για τον τρύγο του 2004. Η ίδια τάση παρατηρήθηκε και από τον Selli et al. (2006a) για τα επίπεδα της συγκεκριμένης ένωσης.

Τα πτητικά οξέα, συστατικά που δίνουν αυτό το λιπαρό άρωμα τυριού στους οίνους, είχαν υψηλότερα επίπεδα στα δείγματα κλασικής οινοποίησης και για τα δύο έτη συγκρινόμενα με το σύνολο των πτητικών οξέων που αναλύθηκαν.

Εξετάζοντας τα αποτελέσματα μεμονωμένα, μόνο το εξανοϊκό οξύ παρουσίασε επίπεδα τα οποία ήταν στατιστικά διαφορετικά στους δύο τρύγους και υψηλότερα στην περίπτωση των οίνων "μάρτυρες", αυτών της κλασσικής οινοποίησης. Το ισοβουτυρικό και το ισοβαλερικό οξύ, δύο συστατικά που δίνουν δυνατό άρωμα τυριού στους οίνους (Kotseridis and Baumes, 2000), παρουσίασαν επίσης σημαντικά υψηλότερα επίπεδα στους οίνους "μάρτυρες".

**Πίνακας 24.** Επίδραση της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης στην συγκέντρωση (mg/l) των βασικών αρωματικών συστατικών των *V.vinifera L.cv.* Ασύρτικων οίνων, με την μέθοδο υγρης-υγρης εκχύλισης

Συστατικό	2004			2005		
	ΚΛ	ΠΡΟ		ΚΛ	ΠΡΟ	
Βουτανικός αιθυλεστέρας	1,28 ±0,01	1,45 ±0,01	NS	1,3 ± 0,02	1,45 ±0,01	NS
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0,33 ±0,01	0,45 ± 0,02	NS	0,64 ± 0,01	0,12 ±0,01	0,05
<b>Σύνολο αιθυλεστέρων</b>	<b>1,61 ±0,01</b>	<b>1,90 ± 0,03</b>		<b>1,94 ±0,02</b>	<b>1,57 ± 0,02</b>	<0,05
			NS			
Οξικός ισοαμυλεστέρας	0,05 ±0,01	0,06 ± 0,01	NS	0,04 ± 0,01	0,09 ± 0,01	NS
Οξικός εξυλεστέρας	0,09 ± 0,01	0,08 ±0,01	NS	0,08 ±0,01	0,05 ± 0,01	NS
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,64 ±0,02	0,29 ± 0,02		0,21 ±0,01	0,15 ±0,01	NS
<b>Σύνολο οξικών εστέρων</b>	<b>0,79 ±0,03</b>	<b>0,42 ± 0,03</b>		<b>0,32 ±0,01</b>	<b>0,28 ±0,01</b>	NS
2-μεθυλο-1-προπανόλη	6,88 ±0,12	6,71 ± 0,03	NS	6,21 ±0,09	7,64 ± 0,04	<0,05
3-μεθυλο-1-βουτανόλη	90,31 ±0,72	70,95 ± 0,50	<0,01	68,95 ± 0,08	81,80 ±0,50	<0,05
<b>Σύνολο ανώτερων αλκοολών</b>	<b>97,2 ±0,6</b>	<b>77,67 ± 0,53</b>	<b>&lt;0,01</b>	<b>75,16 ±0,01</b>	<b>89,44 ± 0,54</b>	<0,05
εξαν-1-όλη	0,50 ± 0,02	0,82 ±0,01	<0,05	0,42 ±0,01	0,55 ±0,01	NS
3-μεθυλοθειο1προπανόλη	1,14 ±0,04	1,07 ±0,02	NS	0,36 ±0,01	0,71 ±0,01	<0,05
2-φαινυλ-αιθανόλη	27,31 ±0,33	13,81 ±0,14	<0,05	13,47 ±0,18	17,14 ±0,36	<0,05
Ισοβουτυρικό οξύ	1,70 ±0,02	0,58 ± 0,07	<0,05	1,73 ±0,03	1,78 ± 0,02	NS
Βουτυρικό οξύ	0,77 ± 0,05	0,77 ± 0,03	NS	1,11 ±0,03	1,01 ± 0,02	NS
Ισοβαλερικό οξύ	1,10 ±0,08	0,69 ± 0,03	<0,05	0,59 ± 0,03	0,54 ± 0,02	NS
Εξανοϊκό οξύ	0,8 ±0,02	0,54 ± 0,03	<0,05	1,44 ±0,02	0,99 ± 0,05	<0,05



Οκτανοϊκό οξύ	5,69 ±0,12	5,48 ±0,12	NS	6,16 ±0,01	5,78 ±0,1	<0,05
<b>Σύνολο πτητικών οξέων</b>	<b>9,97 ±0,02</b>	<b>8,05 ± 0,22</b>	<b>&lt;0,05</b>	<b>11,02 ±0,01</b>	<b>10,10 ±0,01</b>	<b>&lt;0,05</b>

ΚΛ, ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

ΠΡΟ, ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ

NS, μή σημαντικό σε επίπεδο σημαντικότητας P< 0,05

## Σχολιασμός

Η σύγκριση των διαφορετικών μεθόδων οινοποίησης, με ή χωρίς προζυμωτική κρυοεκχύλιση, κάνοντας ποσοτικοποίηση των συστατικών αυτών που κατα βάση προκύπτουν από την αλκοολική ζύμωση πραγματοποιήθηκε επίσης σε αυτήν την μελέτη.

Η επίδραση των διαφορετικών μεθόδων οινοποίησης στα βασικά πτητικά συστατικά που αναλύθηκαν στην παρούσα εργασία δεν έδειξαν κάποιες σημαντικές διαφορές, ειδικά στην εξέταση δύο συνεχόμενων τρύγων στη σειρά. Κάποιες από τις τάσεις που βρέθηκαν στον τρύγο του 2004 δεν επαναλήφθηκαν στα δείγματα του τρύγου του 2005.

Στον τρύγο του 2004, οι αιθυλικοί εστέρες είχαν την τάση να είναι υψηλότεροι στην περίπτωση των οίνων της προζυμωτικής κρυοεκχύλισης, παρότι όχι τόσο στατιστικά σημαντικά, αλλά στον τρύγο του 2005 τα επίπεδα των αιθυλικών εστέρων ήταν υψηλότερα για τους οίνους που παρήχθησαν με την κλασσική οινοποίηση. Στους οίνους του 2005 η διαφορά δεν ήταν σημαντική για τον βουτανικό αιθυλεστέρα αλλά ήταν σημαντική για τον εξανοϊκό αιθελεστέρα. Το γεγονός ότι τα επίπεδα των αιθυλικών εστέρων ήταν υψηλότερα στην περίπτωση των οίνων που παρήχθησαν με προζυμωτική κρυοεκχύλιση τον έναν χρόνο ενώ τον άλλον χρόνο η κλασσική οινοποίηση έδωσε υψηλότερες ποσότητες, δεν αποτελεί έκπληξη μιας και οι αιθυλικοί εστέρες, όπως και οι οξικοί, προέρχονται κυρίως από την αλκοολική ζύμωση και όχι από το σταφύλι (Nykanen, 1986; Etievant, 1991) και συνεπώς η προζυμωτική κρυοεκχύλιση δεν θα μπορούσε να επηρεάσει την παραγωγή τους. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και στους Reinaldo et al., (2004) και τους Palomo et al., (2006) μετά από μελέτη διαφορετικών ποικιλιών και διαφορετικών οινοποιητικών συνθηκών αντίστοιχα. Σύμφωνα με τους Sellì et al. (2006a) οι οποίοι μελέτησαν τα αποτελέσματα της προζυμωτικής κρυοεκχύλισης εφαρμόζοντας διαφορετική διάρκεια επαφής, τα επίπεδα των αιθυλικών εστέρων ήταν σημαντικά υψηλότερα στην περίπτωση της προζυμωτικής κρυοεκχύλισης. Για τους αιθυλεστέρες, τα δείγματα "μαρτυρες" του τρυγου του 2004 παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα (στατιστικά διαφορετικά μόνο στην περίπτωση του οξικού φαινυλαιθυλεστέρα) αλλά για τον τρύγο του 2005 καμία στατιστική διαφορά δεν

παρατηρήθηκε. Η ίδια τάση παρατηρήθηκε και από τους Selli et al. (2006b). Ο ισοαμυλικός αιθυλεστέρας, ένα σημαντικό οσμηρό συστατικό που δίνει το άρωμα της ώριμης μπανάνας στους οίνους δεν έδειξε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης για τους δύο τρύγους. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και από τους Reinado et al., (2004). Σύμφωνα με τους Selli et al., (2006a), τα επίπεδα του ισοαμυλικού αιθυλεστέρα ήταν σημαντικά υψηλότερα στην περίπτωση της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης.

Όλες οι ανώτερες αλκοόλες προέρχονται από την αλκοολική ζύμωση, εκτός από την εξαν-1-όλη η οποία μπορεί επίσης να προέλθει από το σταφύλι δίνοντας στον οίνο μία φυτική αίσθηση (Etievant, 1991). Οι Selli et al., (2006a), Palomo et al., (2006) και Alvarez et al., (2006), οι οποίοι μελέτησαν τις διαφορετικές συνθήκες διάλυσης - εκχύλισης, συμπέραναν ότι κάθε ανώτερη αλκοόλη, με εξαίρεση την εξαν-1-όλη μπορεί να βρεθεί σε είτε υψηλές είτε χαμηλές συγκεντρώσεις σε δείγματα προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης σε σύγκριση με δείγματα κλασσικής οινοποίησης. Οι ανώτερες αλκοόλες επιδρούν θετικά στο άρωμα του οίνου σε ποσότητες μικρότερες των 400mg/l (Rapp and Mandery, 1986). Σε όλους τους οίνους που αναλύθηκαν κατά την παρούσα εργασία τα επίπεδα ήταν χαμηλότερα των 400mg/l. Παρολαυτά είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι τα επίπεδα της εξαν-1-όλης ήταν υψηλότερα στα δείγματα της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης και στους δύο τρύγους (τα αποτελέσματα είναι στατιστικά διαφορετικά για τον τρύγο του 2004 αλλά όχι για τον τρύγο του 2005) γεγονός που φαίνεται λογικό μιας και το συστατικό αυτό θα μπορούσε να θεωρηθεί ποικιλιακό μιας και προέρχεται από την κηρώδη επιδερμίδα των φλοιών (Etievant, 1991). Η διαδικασία της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης διευκολύνει την εκχύλιση αυτών των συστατικών μιας και το γλεύκος βρίσκεται σε επαφή με τους φλοιούς για 12 ώρες. Παρόμοια ευρήματα αναφέρονται και από τους Reinado et al., (2004), Palomo et al., (2006) και Selli et al., (2006a) οι οποίοι είχαν μελετήσει την επίδραση της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης στο άρωμα του οίνου. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Palomo et al., (2006), η συγκέντρωση της εξαν-1-όλης ήταν 3 φορές υψηλότερη στην περίπτωση των οίνων που παρήχθησαν με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση σε σχέση με την κλασσική οινοποίηση. Τα επίπεδα της 2- φαινυλαιθανόλης, ενός αρωματικού συστατικού που μετέχει στο άρωμα των οίνων δίνοντας νότες τριαντάφυλλου και προερχόμενη από την ζύμωση και τους πρόδρομους γλυκοζίτες, ήταν υψηλότερα στα δείγματα της κλασσικής οινοποίησης για το 2004 ( $P \leq 0.05$ ), αλλά υψηλότερα στα δείγματα της προζυμωτικής εκχύλισης για το 2005 ( $P \leq 0.05$ ). Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες Reinado et al. (2004), Palomo et al. (2006) και Selli et al. (2006a), τα επίπεδα της φαινυλαιθανόλης ήταν υψηλότερα στους οίνους που παρήχθησαν με την προζυμωτική κρυσταλλοποίηση. Οι Selli et al., (2006a) βρήκαν παρόμοια αποτελέσματα με την παρούσα έρευνα για τα επίπεδα της 3-μεθυλοθείο-1-προπανόλης.

Τα πτητικά οξέα, συστατικά τα οποία δίνουν τα λιπαρά, αρώματα τυριού στον οίνο , παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα στα δείγματα της κλασσικής οινοποίησης και για τους δύο τρύγους συγκρινόμενα με το σύνολο των πτητικών οξέων που αναλύθηκαν. Εξετάζοντας τα αποτελέσματα μεμονωμένα, μόνο τα επίπεδα του εξανοϊκού οξέος ήταν στατιστικά διαφορετικά και στους δύο τρύγους και υψηλότερα στην περίπτωση των οίνων "μάρτυρες" , όπως παρατηρήθηκε και από τους Selli et al., (2006a) ανάμεσα σε μάρτυρα και δείγμα βωρής εκχύλισης. Επιπλέον, το ισοβουτυρικό και το ισοβαλερικό οξύ, δύο συστατικά που δίνουν έντονο άρωμα τυριού στους οίνους (Kotseridis and Baumes, 2000), παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα στους οίνους μάρτυρες του 2004. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες των Peinado et al., 2004, Palomo et al., 2006 και Selli et al., 2006a,b), οι εκχυλισμένοι οίνοι γενικά παρουσίαζαν υψηλά επίπεδα πτητικών οξέων, παρολαυτά οι διαφορές δεν ήταν πάντα σημαντικές. Αυτά τα διαφορετικά ευρήματα μπορούν να αποδωθούν στις διαφορετικές τεχνολογίες που υιοθετήθηκαν, στις διαφορετικές θερμοκρασίες που χρησιμοποιήθηκαν, στον διαφορετικό χρόνο εκχύλισης καθώς και στις διαφορετικές ποικιλίες.

Τα αναλυτικά ευρήματα ήταν επίσης σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής εκτίμησης όπου οι κριτές βρήκαν διαφορές μεταξύ των δειγμάτων αλλά δεν υπήρχε ξεκάθαρα προτιμώμενο δείγμα. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η εκτέλεση μίας διαδικασίας θα έπρεπε να εξεταστεί και να αξιολογηθεί για πολλά χρόνια προτού να φτάσουμε σε ένα ασφαλές συμπέρασμα μιας και η επίδραση του τρύγου δείχνει να παίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα δείχνουν ότι πιθανόν η προζυμωτική κρυσταλλοποίηση να μην είναι κατάλληλη για τα σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από την Σαντορίνη, μίας και αυτή η μέθοδος υποβίβασε την γενική ποιότητα των οίνων λόγω της δυναμικής ανόδου των ολικών φαινολών και του δείκτη οξειδωσης (browning) καθώς και των υψηλών επιπέδων της εξαν-1 όλης ( χορτώδη, φυτική οσμή). Το Ασύρτικο γενικά περιέχει υψηλά επίπεδα φαινολικών, κάτι που επιβεβαιώθηκε και από την παρούσα εργασία.

### **10.8 Σύγκριση ανάκτησης των δύο μεθόδων εκχύλισης (στερεής φάσης SPE και υγρής - υγρής) στα πτητικά συστατικά του αρώματος των οίνων**

Κατά την ποιοτική σύγκριση των δύο μεθόδων, για τους οίνους του 2004 ,υπάρχουν 23 αρωματικά τα οποία δεν ανιχνεύτηκαν από καμία από τις 2 μεθόδους ενώ για τους οίνους του 2005 ο αντίστοιχος αριθμός φτάνει τα 21 αρωματικά. Η μέθοδος στερεής εκχύλισης SPE δείχνει να είναι πιο ευαίσθητη στους περισσότερους εστέρες,στις φαινόλες και τις τερπενόλες ενώ η μέθοδος υγρής- υγρής εκχύλισης

είναι πιο ευαίσθητη στην ανίχνευση των οξέων. Παρα την γενικότερη διαπίστωση και εφόσον το ενδιαφέρον αναφέρεται σε συγκεκριμένες ουσίες η στερεή εκχύλιση ανιχνεύει καλύτερα το ισοβαλερικό οξύ και εξανοϊκό από τα οξέα (παρά την αδυναμία ανίχνευσης των περισσότερων οξέων) ενώ από τερπένια την γερανιόλη, λιναλοόλη, ευγενόλη και α-τερπινεόλη. Για την υγρή-υγρή εκχύλιση ανιχνεύτηκαν καλύτερα η ένωση της λιναλοόλης καθώς επίσης και η 4 αίθυλο-γουαϊακόλη και το οξικό οξύ.

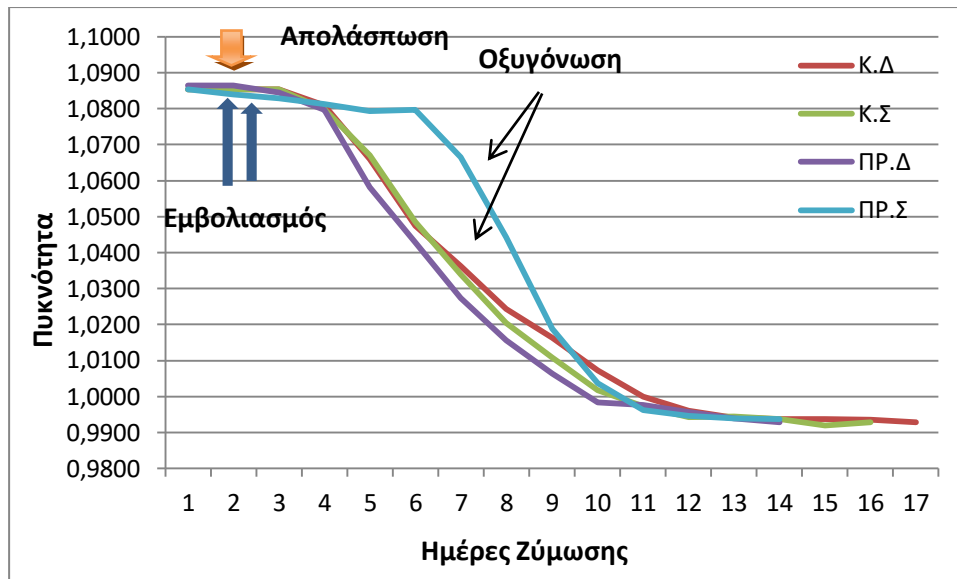
Σε ότι αφορά στην σύγκριση των αποτελεσμάτων ποσοτικοποίησης των ίδιων οίνων ένα ασφαλές συμπέρασμα είναι ότι η μέθοδος υγρής - υγρής εκχύλισης ανίχνευσε μεγαλύτερες ποσότητες στους οίνους από τις εξής ενώσεις: οξικός ισοβουτυλεστέρας, προπανικό οξύ, οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας και 1-πεντανόλη, ενώ η μέθοδος στερεής εκχύλισης ανίχνευσε μεγαλύτερες ποσότητες από την 1-εξανόλη, τον οξικό ισοαμυλεστέρα, την 3-μέθυλο-1-βουτανόλη και τον βουτανικό μεθυλεστέρα.

## **Κεφάλαιο 11. Επίδραση οινοποιητικής τεχνικής στο Ασύρτικο Σαντορίνης**

### **11.1 Παρακολούθηση αλκοολικών ζυμώσεων γλευκών της ποικιλίας Ασύρτικο Σαντορίνης**

Οι οινοποιήσεις των σταφυλιών που συλλέχθηκαν από τον ίδιο αμπελώνα της Σαντορίνης και για τις τρεις οινοποιητικές περιόδους 2004,2005,2006 πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις τεχνικές και τις συνθήκες που αναφέρονται στην παράγραφο 8.5. Η παρακολούθηση της πορείας των αλκοολικών ζυμώσεων πραγματοποιήθηκε μέσω της μέτρησης των βαθμών Baumé και της πυκνότητας. Τα συγκριτικά διαγράμματα φαίνονται στα σχήματα που ακολουθούν.

Για την οινοποιητική περίοδο 2006 πραγματοποιήθηκαν οινοποιήσεις δίχως τον διαχωρισμό σε διαυγή και σύλλασπα γλεύκη καθώς δεν υπήρχε δυνατότητα εφαρμογής των συγκεκριμένων συνθηκών. Συνεπώς για την οινοποιητική περίοδο του 2006 υπάρχουν δύο οίνοι, ένας της κλασσικής και ένας της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης οι οποίοι παρήχθησαν χωρίς την παρουσία λασπών κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης οπότε συγκαταλέγονται στην κατηγορία των διαυγών οίνων.



**Σχήμα 3** Εξέλιξη αλκοολικών ζυμώσεων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο Σαντορίνης κατά την οινοποιητική περίοδο **2004**.

Κ.Δ κλασσική οινοποίηση με διαυγές γλεύκος

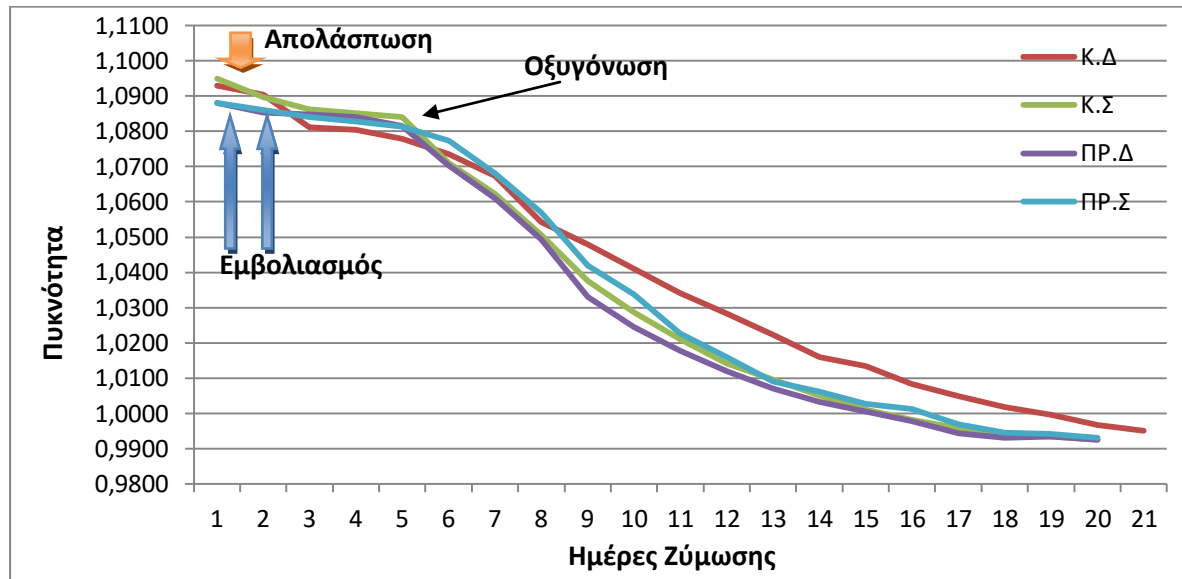
Κ.Σ κλασσική οινοποίηση με σύλλασπο γλεύκος

ΠΡ.Δ. οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση και διαυγές γλεύκος

ΠΡ.Σ. οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση και σύλλασπο γλεύκος

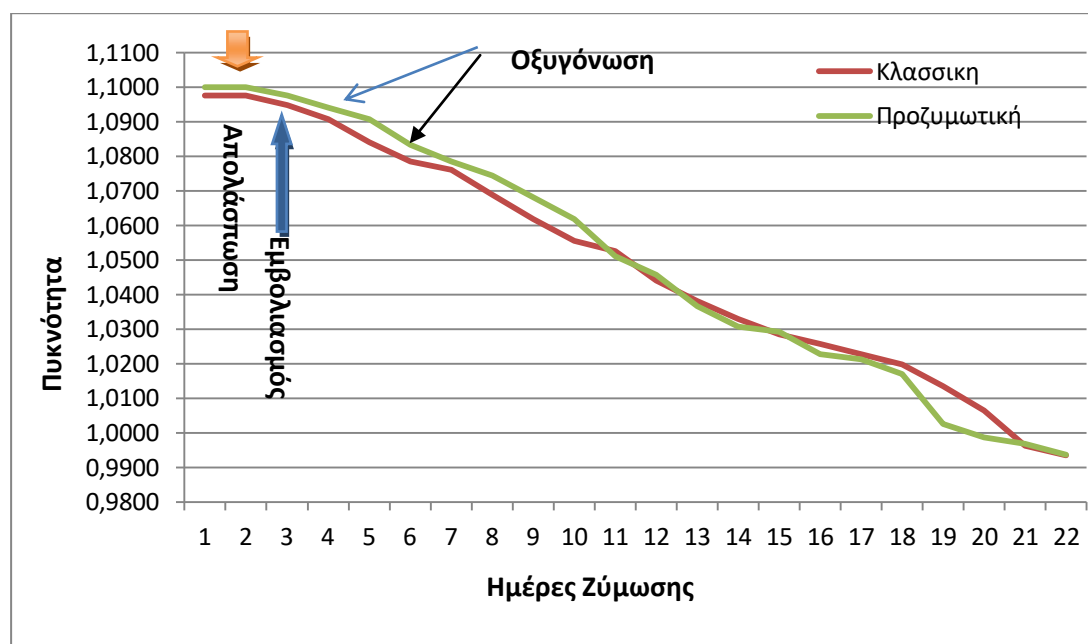
Όπως φαίνεται και από το σχήμα 3 η εξέλιξη των αλκοολικών ζυμώσεων ήταν ομαλή και για τις 4 συνθήκες με εξαίρεση αυτήν της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης με σύλλασπο γλεύκος όπου υπήρχε μία καθυστέρηση σε ότι αφορά στην έναρξη της ζύμωσης καθώς και μία απότομη πτώση της πυκνότητας μέχρι σχεδόν την δέκατη ημέρα οπότε και ομαλοποιήθηκε η εξέλιξη της βαίνοντας προς την διαδικασία αποζύμωσης. Για τις κλασσικές οινοποιήσεις (διαυγή και σύλλασπο γλεύκη) η συνολική διάρκεια ήταν μεγαλύτερη κατά περίπου τρεις ημέρες σε σχέση με τις ζυμώσεις των γλευκών προερχόμενων από προζυμωτική κρυσταλλοποίηση, γεγονός που πιθανόν να οφείλεται στην μεγαλύτερη εκχύλιση θρεπτικών για τις ζύμες συστατικών κατά την διαδικασία επαφής των φλοιών με το γλεύκος με την διαδικασία της κρυσταλλοποίησης. Την πέμπτη με έκτη ημέρα ζύμωσης πραγματοποιήθηκε οξυγόνωση των γλευκών για 30 sec στην ταχύτητα 1 της φιάλης οξυγόνωσης η οποία αντιστοιχεί σε 0,5 λίτρα  $O_2$ /min, γεγονός που σημαίνει ότι για τον όγκο των 20 περίπου λίτρων που ήταν τα ζυμούμενα γλεύκη η οξυγόνωση ήταν στα 15,6mg  $O_2$ /lit ζυμούμενου γλεύκου. Για την κλασσική οινοποίηση ο εμβολιασμός πραγματοποιήθηκε την δεύτερη ημέρα οπότε και είχε ολοκληρωθεί η διαδικασία της απολάσπωσης ενώ για την προζυμωτική κρυσταλλοποίηση ο εμβολιασμός γινόταν την τρίτη ημέρα μετά την διαδικασία της κρυσταλλοποίησης και της απολάσπωσης. Στα γλεύκη τα οποία η αλκοολική ζύμωση πραγματοποιήθηκε παρουσία των οινολασπών έγινε προσθήκη λάσπης μετά την διαδικασία

απολάσπωσης ώστε η μετρούμενη θολερότητα να κυμαίνεται στα 1000 NTU σε αντίθεση με τα διαυγή γλεύκη όπου ρυθμίστηκε στα 50-100 NTU .



**Σχήμα 4** Εξέλιξη αλκοολικών ζυμώσεων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο Σαντορίνης κατά την οινοποιητική περίοδο **2005**.

Για τον τρύγο του 2005, (σχήμα 4) φαίνεται από το διάγραμμα εξέλιξης των αλκοολικών ζυμώσεων ότι η διάρκεια τους ήταν κατά τρεις ημέρες μεγαλύτερη από αυτήν του 2004. Η εξέλιξη και για τις τρεις συνθήκες ήταν εξαιρετικά ομαλή ενώ φαίνεται να ολοκληρώθηκε τελευταία η ζυμωση της κλασσικής οινοποίησης με το διαυγές γλεύκος η οποία παρουσίασε και την ομαλότερη πορεία. Οι διαδικασίες καθώς και οι επεμβάσεις που πραγματοποιήθηκαν στα γλεύκη ήταν οι ίδιες με αυτές της προηγούμενης χρονιάς



**Σχήμα 5** Εξέλιξη αλκοολικών ζυμώσεων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο Σαντορίνης κατά την οινοποιητική περίοδο **2006**.

Όπως φαίνεται από το σχήμα 5 και την εξέλιξη των αλκοολικών ζυμώσεων για τις δύο οινοποιήσεις (κλασσική και προζυμωτική για διαυγή γλεύκη) για τον τρύγο του 2006, τα γλεύκη παρουσίασαν μία ομαλή πορεία με τελική διάρκεια ζύμωσης τις 22 ημέρες και για τις δύο συνθήκες, που είναι και η μεγαλύτερη χρονικά σε σύγκριση με τις δύο προηγούμενες χρονιές. Τα δύο γλεύκη (κλασσικής λευκής οινοποίησης και κρυσταλλικής) ζύμωσαν χωρίς την παρουσία λασπών. Οι διαδικασίες καθώς και οι επεμβάσεις που πραγματοποιήθηκαν στα γλεύκη ήταν οι ίδιες με αυτές των δύο προηγούμενων ετών.

## **11.2 Αποτελέσματα Χημικών αναλύσεων**

Οι αναλύσεις της αιθανόλης (%vol), των υπολειμματικών σακχάρων, της απορρόφησης στα 420nm, η πτητική οξύτητα, pH, ολική οξύτητα και ολικές φαινόλες (απορρόφηση στα 280nm) προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τις μεθόδους του ΟΙV, (ΟΙV,1990). Η μέτρηση της θολερότητας (NTU) έγινε χρησιμοποιώντας το Hach 2100P φορητό νεφελόμετρο (Beavercreek, OH).

### **Βασική χημική σύσταση των οίνων**

Η βασική χημική σύσταση των οίνων που παρελήφθησαν μετά από τις διαφορετικές προζυμωτικές επεξεργασίες κατά τους τρυγητούς του 2004 και 2005 δίνονται στους πίνακες 25 και 26 αντίστοιχα. Στους οίνους του 2004 που παρήχθησαν με προζυμωτική κρυσταλλική διαυγών και σύλλασπων γλευκών (ΠΡ.Δ και ΠΡ.Σ) παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές ολικών φαινολών και δείκτη καφετιάσματος (απορρόφηση στα 420 nm) το οποίο συνδέεται με την διάλυση-εκχύλιση των φαινολικών συστατικών που πραγματοποιήθηκε κατά την εκχύλιση, σύμφωνα με παλαιότερες έρευνες (Selli et al., 2006, Cabaroglu and Canbas, 2002). Η περιεκτικότητα σε αλκοόλη και η πτητική οξύτητα, παρουσίασαν τιμές πολύ κοντά μεταξύ των υποβλημένων και των μή υποβλημένων σε προζυμωτική κρυσταλλική οίνων. Οι τιμές της ολικής οξύτητας δεν ήταν χαμηλότερες στην περίπτωση των δειγμάτων από προζυμωτική κρυσταλλική για τον τρύγο του 2004, όπως ήταν αναμενόμενο, και οι τιμές του pH ήταν χαμηλότερες. Η εφαρμογή της προζυμωτικής κρυσταλλικής οδηγεί σε χαμηλότερη ολική οξύτητα και υψηλότερα pH λόγω της απελευθέρωσης καλίου από τους φλοιούς και συνεπώς μερική αλατοποίηση του τρυγικού οξέος ( Cabaroglu and Canbas, 2002, Ribereau- Gayon et al. 2000).

Για τους οίνους του 2005 η ολική οξύτητα ήταν χαμηλότερη στην περίπτωση των οίνων της προζυμωτικής κρυσταλλικής αλλά και οι τιμές του pH επίσης (παρότι όχι σημαντικά). Επιπλέον οι οίνοι που παρήχθησαν με προζυμωτική κρυσταλλική (για τον τρύγο του 2004) είχαν σημαντικά υψηλότερους δείκτες οξειδωσης browning (

Απορρόφηση στα 420nm) που συνεπάγεται διάλυση φαινολικών συστατικών κατά την προζυμωτική κρυσταλλοποίηση όπως αναφέρουν και οι Cabaroğlu and Canbas (2002) και Selli et al., (2006b), ενώ για τον τρύγο του 2005 οι τιμές ήταν υψηλότερες μόνο στην περίπτωση του διαγού γλεύκους, με μικρές διαφορές.

**Πίνακας 25.** Γενική χημική σύσταση οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L. cv. Ασύρτικο τρύγος 2004

Γενικές Χημικές Αναλύσεις				
	ΚΔ	ΚΣ	ΠΡ.Δ	ΠΡ.Σ
Αλκοόλη % (v/v)	11.1b ± 0.1	10.9b ± 0.2	11.6a ± 0.2	11.2b ± 0.1
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό οξύ)	7.2 b ± 0.2	7.7 a ± 0.2	7.2 b ± 0.2	8.1a ± 0.3
pH	2.90a ± 0.2	2.95a ± 0.2	2.77b ± 0.4	2.70b ± 0.3
Πτητική οξύτητα (g/L οξικό οξύ)	0.4 a ± 0.1	0.15b ± 0.1	0.5 a ± 0.1	0.6 a ± 0.1
Ολικές φαινόλες	11.2c ± 1.00	11.5c ± 0.7	12.8b ± 0.6	13.9a ± 0.5
Απορρόφηση στα 420 nm	0.119d ± 0.03	0.126c ± 0.02	0.136b ± 0.03	0.175a ± 0.08

**Πίνακας 26.** Γενική χημική σύσταση οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L. cv. Ασύρτικο , τρύγος 2005

Γενικές χημικές αναλύσεις				
	ΚΔ	ΚΣ	ΠΡ.Δ	ΠΡ.Σ
Αλκοόλη % (v/v)	12.2b ± 0.1	12.9a ± 0.3	12.5b ± 0.3	12.3b ± 0.3
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό οξύ)	8.1b ± 0.2	8.5a ± 0.1	7.8b ± 0.3	8.00b ± 0.2
pH	3.05a ± 0.2	3.2a ± 0.2	2.90a ± 0.2	2.85a ± 0.2
Πτητική οξύτητα (g/L οξικό οξύ)	0.28 a ± 0.08	0.27 a ± 0.06	0.32 a ± 0.05	0.27 a ± 0.1
Ολικές φαινόλες	15.5b ± 0.7	18.6a ± 0.7	14.9b ± 0.5	15.1b ± 0.7
Απορρόφηση στα 420 nm	0.077c ± 0.03	0.095a ± 0.03	0.083b ± 0.05	0.085b ± 0.05

<sup>a</sup>Οι τυπικές αποκλίσεις (standard deviations) υπολογίστηκαν παίρνοντας υπόψιν τον μέσο όρο των τριών αναλύσεων των τριών διαφορετικών οίνων που αντιστοιχούσαν σε κάθε ζύμωση. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε ανάλυση διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

ΚΔ = ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΑΥΓΕΣ ΓΛΕΥΚΟΣ

ΚΣ = ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΛΛΑΣΠΟ ΓΛΕΥΚΟΣ

ΠΡ.Δ = ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΔΙΑΥΓΕΣ ΓΛΕΥΚΟΣ

ΠΡ.Σ = ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΥΛΛΑΣΠΟ ΓΛΕΥΚΟΣ

Όμως διαφορές παρατηρήθηκαν και μεταξύ των οίνων που παρήχθησαν παρουσία λασπών (Σ) ή χωρίς παρουσία λασπών-διαυγή γλεύκη (Δ). Και στις δύο περιπτώσεις, Κ(κλασσική οινοποίηση) και ΠΡ(προζυμωτική κρυσταλλοποίηση) η ολική οξύτητα ήταν



υψηλότερη για τα μή διαυγασμένα γλεύκη. Αυτό πιθανόν εξηγείται από το γεγονός ότι η διαύγαση οδηγεί σε μείωση της ολικής οξύτητας καθώς το τρυγικό οξύ καθιζάνει κατά την διάρκεια αυτής της διαδικασίας (Ribereau-Gayon, et al., 2000). Παρολαυτά δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές αλλαγές στις τιμές του pH μεταξύ των δειγμάτων όπως επίσης και για την περιεκτικότητα σε αλκοόλη και για την πτητική οξύτητα. Μόνο το δείγμα ΚΣ παρουσίασε ανέλπιστα χαμηλή τιμή πτητικής οξύτητας. Συνήθως οι οίνοι της ποικιλίας Ασύρτικο, μετά την αλκοολική ζύμωση, ειδικά εάν η αλκοολική ζύμωση έχει πραγματοποιηθεί σε μικρά πειραματικά δεξαμενάκια, παρουσιάζουν σχετικά υψηλές τιμές πτητικής οξύτητας, 0.4-0.6 g/L σε οξικό οξύ (μή δημοσιευμένα δεδομένα, πρακτική γνώση των οινολόγων του νησιού). Αυτό μπορεί να ερμηνευτεί από το γεγονός ότι το γλεύκος του Ασύρτικου το παρουσιάζει πάντοτε, οπότε είναι πιθανόν να οδηγείται σε παραγωγή μεγαλύτερης ποσότητας οξικού οξέος από τους ζυμομύκητες. Τέλος, υψηλότερο περιεχόμενο σε ολικές φαινόλες (παροτι όχι ιδιαίτερα σημαντικό για τα δείγματα κλασσικής οινοποίησης) και οι υψηλότεροι δείκτες καφετιάσματος βρέθηκαν για τα μή διαυγασμένα γλεύκη το οποίο είναι μάλλον λογικό μιας και ένα από τα πλεονεκτήματα της διαύγασης-απολάσπωσης πριν απο την αλκοολική ζύμωση είναι ότι οδηγεί σε λευκούς οίνους με πιο ελκυστικό χρώμα (Ribereau-Gayon et al., 2000).

Διαφορετικές τάσεις έδειξαν οι οίνοι του 2005, τουλάχιστον σε ότι αφορά στη σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων της κλασσικής οινοποίησης και αυτών της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Τα δείγματα οίνων της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης (ΠΡ.Δ και ΠΡ.Σ) δεν παρουσίασαν υψηλότερες ολικές φαινόλες. Το ίδιο παρατηρήθηκε και για τον δείκτη οξειδωσης browning (απορρόφηση στα 420 nm). Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε στην περιεκτικότητα στην αλκοόλη καθώς και στην πτητική οξύτητα, μιας και οι δύο παρουσίασαν πολύ κοντινές τιμές μεταξύ των οίνων της κλασσικής οινοποίησης και αυτών της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Η ολική οξύτητα και οι τιμές του pH δεν ήταν χαμηλότερες και υψηλότερες αντίστοιχα στην περίπτωση των οίνων της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όπως ήταν αναμενόμενο. Παρολαυτά στη σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων που παρήχθησαν με (Σ) ή χωρίς λάσπες (Δ) παρατηρήθηκαν κάποιες διαφορές. Στην κλασσική οινοποίηση (Κ) η ολική οξύτητα ήταν υψηλότερη στους μή διαυγασμένους οίνους, παρόμοια με αυτή που βρέθηκε στους οίνους του 2004. Στην περίπτωση των οίνων της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές. Υψηλότερες τιμές των ολικών φαινολών βρέθηκαν για τα δείγματα της κλασσικής οινοποίησης, όπως το ίδιο ίσχυσε και για τους δείκτες οξειδωσης browning. Οι διαφορές δεν ήταν σημαντικές για τα δείγματα της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης.

Συμπερασματικά, σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν απ' αυτήν την έρευνα η προζυμωτική κρυσταλλοποίηση δεν επηρέασε σημαντικά τους οίνους σχετικά

με τις ολικές φαινόλες και τους δείκτες οξείδωσης. Για τον τρύγο του 2004 η σύσταση του οίνου έδειξε να επηρεάστηκε από την προζυμωτική κρυσταλλοποίηση αλλά η τάση αυτή δεν ακολουθήθηκε και στους οίνους που προέκυψαν από τον τρύγο του 2005. Σε ότι αφορά στους διαυγείς και μή διαυγείς οίνους μία τάση για υψηλότερες ολικές οξύτητες έδειξε να υπάρχει στους σύλλασπους οίνους, παρότι δεν ήταν τόσο σημαντική σε όλες τις περιπτώσεις. Το ίδιο ίσχυσε και για τις ολικές φαινόλες. Τα μή διαυγή δείγματα έδειξαν επίσης κάτι τέτοιο. (Ramey et al., 1986, Singleton et al., 1975, van Wyk, 1978, Williams et al., 1978).

**Πίνακας 27.** Γενική χημική σύσταση οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L. cv. Ασύρτικο, τρύγος 2006

Γενικές χημικές αναλύσεις		
	ΚΑ	ΠΡ.Α
Αλκοόλη % (v/v)	13,5b ±0.1	13,9a ±0.2
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό οξύ)	7,5b ±0.2	6,7a ± 0.1
pH	3,02a ±0.2	3,09a ±0.2
Πτητική οξύτητα (g/L οξικό οξύ)	0,24 a ±0.07	0,26 b ±0,06
Ολικές φαινόλες	11,3c ±0.8	12,5a ± 0.7
Απορρόφηση στα 420 nm	0,095c ± 0.03	0,128a ± 0.03

Σε ότι αφορά στον τρύγο του 2006 όπου εφαρμόστηκαν οι συνθήκες της κλασικής οινοποίησης και της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης σε διαυγασμένα γλεύκη, χωρίς τον διαχωρισμό διαυγών και σύλλασπων γλευκών, τα αποτελέσματα των κλασικών αναλύσεων φαίνονται στον πίνακα 27. Όπως φαίνεται λοιπόν, οι τιμές της ολικής οξύτητας είναι υψηλότερες στην κλασική οινοποίηση σε σχέση με αυτή της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης και αντίστοιχα οι τιμές του pH ήταν κατά λίγο υψηλότερες στην περίπτωση της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Σχετικά με την πτητική οξύτητα ο οίνος ο οποίος υποβλήθηκε σε κρυσταλλοποίηση παρουσίασε υψηλότερη τιμή από αυτόν της κλασικής οινοποίησης προφανώς λόγω του αυξημένου συγκριτικά φαινολικού υποστρώματος που προκύπτει από την κρυσταλλοποίηση. Οι ολικές φαινόλες επίσης παρουσίασαν υψηλότερες τιμές στον οίνο της κρυσταλλοποίησης μιας και η παρουσία τους ενισχύθηκε από την προζυμωτική διαδικασία ενώ το ίδιο ισχύει και για τον δείκτη καφετιάσματος ο οποίος έχει εμφανώς υψηλότερη τιμή στον οίνο της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης από αυτόν της κλασικής οινοποίησης.

### 11.3 . Οργανοληπτική εκτίμηση των οίνων

Η οργανοληπτική εκτίμηση των παραγόμενων οίνων έγινε σύμφωνα με την διαδικασία και τα οργανοληπτικά τεστ που αναφέρονται στο κεφ.8.3.1

Οι οίνοι της κλασσικής οινοποίησης και της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης, όπως επίσης οι διαυγασμένοι και οι μή διαυγασμένοι οίνοι και των δύο τρύγων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας τριγωνικά τεστς και τεστς προτίμησης (Larmond, 1969, Jackson, 2002, Amerine, and Roessler., 1983).

Το δείγμα που παρήχθη με κλασσική οινοποίηση και απολάσωση, ΚΔ, συγκρίθηκε με το δείγμα της κλασσικής οινοποίησης και μή διαυγασμένο, ΚΣ, και με το διαυγές δείγμα της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης, ΠΡ.Δ. Το δείγμα που παρήχθη με προζυμωτική κρυσεκχύλιση και διαύγαση, ΠΡ.Δ, συγκρίθηκε με το μή διαυγασμένο αντίστοιχα, ΠΡ.Σ, και το δείγμα το μή διαυγασμένο της κλασσικής οινοποίησης, Κ.Σ με το μή διαυγασμένο της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης, ΠΡ.Σ. Τα δείγματα βρέθηκαν διαφορετικά απο τους κριτές και για τους δύο τρύγους ( $p < 0.05$ ), αλλά για τα τεστς προτίμησης σημαντικά αποτελέσματα βρέθηκαν μόνο μεταξύ των διαυγασμένων και μή διαυγασμένων δειγμάτων της κλασσικής οινοποίησης (και για τους δύο τρύγους) και μεταξύ των μη διαυγασμένων κλασσικής οινοποίησης και μή διαυγασμένων προζυμωτικής κρυσεκχύλισης για τον τρύγο του 2004 (πίνακας 28). Δεν βρέθηκαν σημαντικά αποτελέσματα κατά την σύγκριση των οίνων κλασσικής οινοποίησης και προζυμωτικής κρυσεκχύλισης, ούτε μεταξύ των δύο συνθηκών της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι οι οίνοι που παρήχθησαν με διαφορετικές προζυμωτικές διαδικασίες - τεχνολογίες διαφοροποιήθηκαν απο τους κριτές,, αλλά οι δοκιμαστές μπορούσαν να δείξουν σημαντική προτίμηση μόνο στην περίπτωση των διαυγασμένων οίνων κλασσικής οινοποίησης. Συνεπώς ένα γλεύκος που προέρχεται από διαδικασία προζυμωτικής κρυσεκχύλισης θα μπορούσε να αποφύγει την υποχρεωτική υποβολή σε αυστηρή διαδικασία απολάσωσης.

Οι οίνοι από το διαυγές γλεύκος χαρακτηρίστηκαν από τους κριτές ως πιο φρουτώδεις αλλά με λιγότερο ποικιλιακό άρωμα ενώ οι οίνοι από το μή διαυγές γλεύκος χαρακτηρίστηκαν από λιγότερο φρουτώδες άρωμα. Αυτά τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με τα αποτελέσματα των βασικών πτητικών συστατικών, όπου βρέθηκε οτι τα διαυγή γλεύκη έδωσαν οίνους με υψηλότερα επίπεδα σε αιθυλικούς εστέρες και χαμηλότερα επίπεδα σε ανώτερες αλκοόλες.

**Πίνακας 28.** Συγκριτικό τεστ ανά ζεύγη οίνων κλασσικής οινοποίησης διαυγών, κλασσικής οινοποίησης σύλλασπων,προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης διαυγών και προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης σύλλασπων γλευκών, τρύγου 2004 και 2005.

Δείγματα ανα ζεύγη		Προτίμηση
Ασύρτικο2004	ΚΔ προς ΚΣ	15 - 4 *
	ΠΡ.Δ προς ΠΡ.Σ	13 - 8
	ΚΔ προς ΠΡ.Δ	12 - 9
	ΚΣ προς ΠΡ.Σ	14 - 3 *
Ασύρτικο2005	ΚΔ προς ΚΣ	12 - 5 *
	ΠΡ.Δ προς ΠΡ.Σ	12 - 8
	ΚΔ προς ΠΡ.Δ	13 - 8
	ΚΣ προς ΠΡ.Σ	13 - 7

\*Επίπεδο σημαντικότητας 5%

Κ Δ = ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΑΥΓΕΣ ΓΛΕΥΚΟΣ

Κ Σ= ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΛΛΑΣΠΟ ΓΛΕΥΚΟΣ

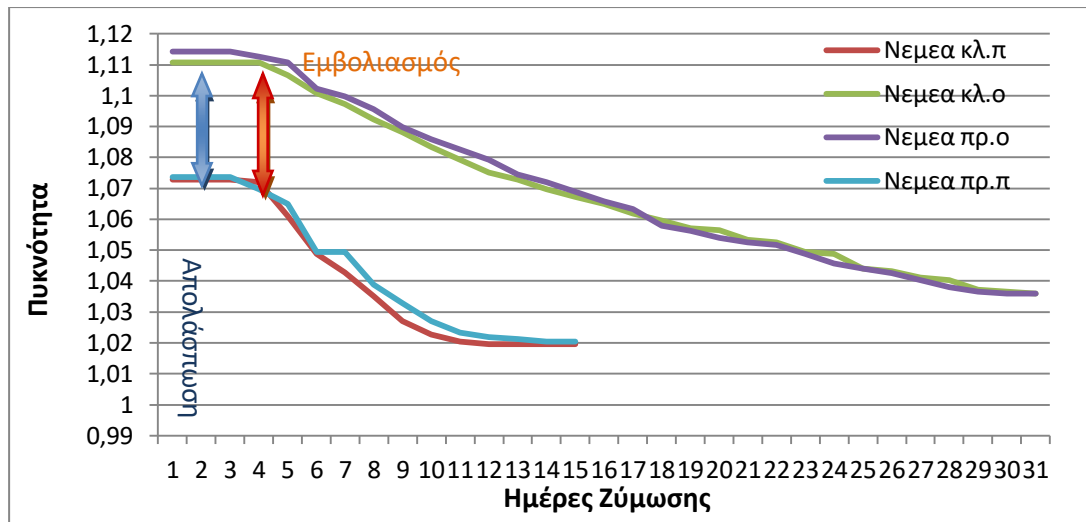
ΠΡ.Δ=ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΔΙΑΥΓΕΣ ΓΛΕΥΚΟΣ

ΠΡ.Σ=ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΥΛΛΑΣΠΟ ΓΛΕΥΚΟΣ

## **Κεφάλαιο 12. Παρακολούθηση αλκοολικών ζυμώσεων γλευκών της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενων από 3 διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, Σαντορίνη, Δράμα και Νεμέα για 2 συνεχόμενες χρονιές 2012 και 2013-κλασσικές αναλύσεις**

### **12.1 Περίοδος 2012**

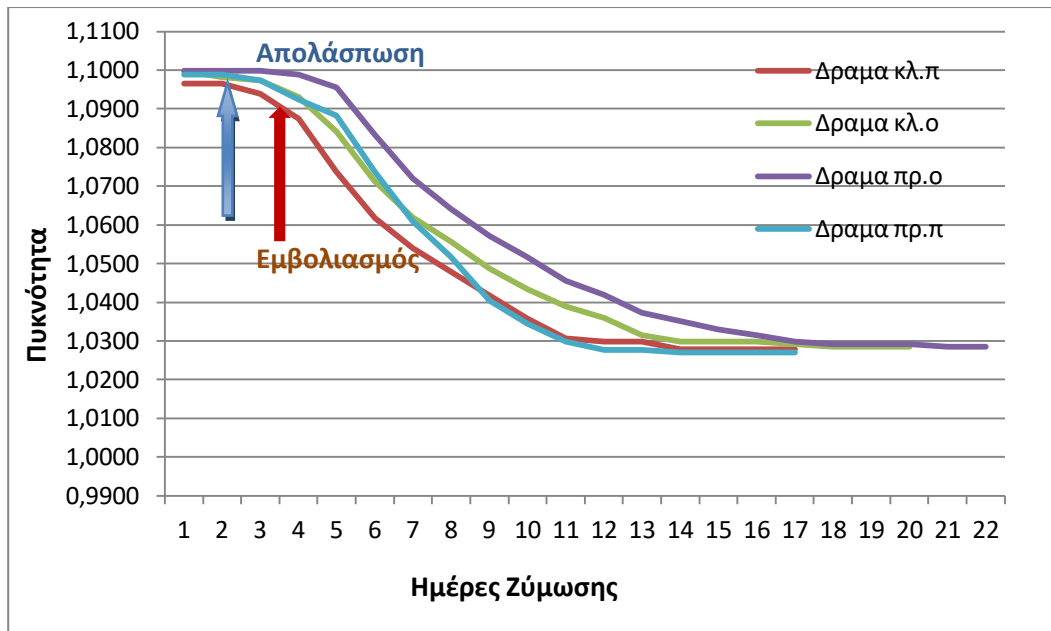
Μετα την συγκομιδή και μεταφορά των σταφυλιών απο τις 3 αυτές περιοχές σε συνθήκες κατάψυξης στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών ακολούθησε η οινοποίηση τους στο οινοποιείο του Πανεπιστημίου. Από κάθε περιοχή παρελήφθησαν σταφύλια σε 2 διαφορετικές ωριμότητες και οινοποιήθηκαν με 2 διαφορετικές τεχνικές , αυτή της κλασσικής οινοποίησης και αυτή της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης. Η πορεία των αλκοολικών ζυμώσεων φαίνεται στα παρακάτω σχήματα.



**Σχημα 8.** Εξέλιξη αλκοολικών ζυμώσεων μέσω της μέτρησης της πυκνότητας για την οινοποίηση σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας κατά την οινοποιητική περίοδο **2012** .

- Νεμέα σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας
- κλ. κλασσική οινοποίηση
- πρ.οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλική
- π. σταφύλια που τρυγηθηκαν πρώιμα
- ο. σταφύλια που τρυγηθηκαν όψιμα

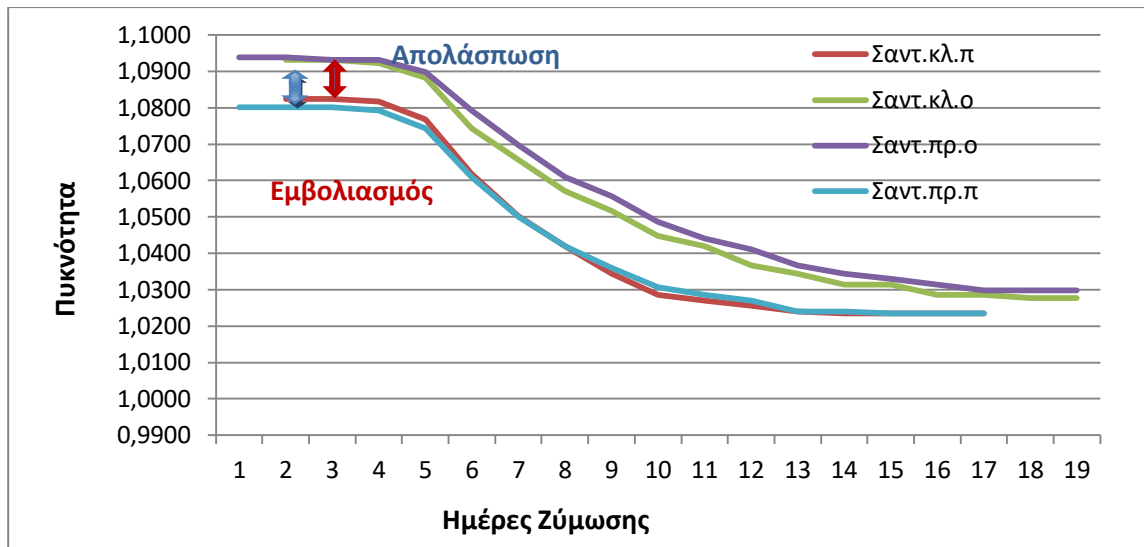
Όπως φαίνεται από το σχήμα 8 η εξέλιξη των αλκοολικών ζυμώσεων και για τις τέσσερις συνθήκες οινοποίησης των σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενων από την περιοχή της Νεμέας είναι ομαλή . Η διάρκεια ζύμωσης για τα πρώιμα ωρίμανσης σταφύλια (αυτά δηλαδή που τρυγήθηκαν γύρω στο 11,8 Baumé) ήταν γύρω στις 15 ημέρες ενώ για τα όψιμα σταφύλια (αυτά δηλαδή που τρυγήθηκαν γύρω στο 12,4 Baumé) ήταν σχεδόν το διπλάσιο, δηλαδή γύρω στις 31 ημέρες. Τόσο η κλασσική οινοποίηση όσο και η προζυμωτική κρυσταλλική των όψιμων σταφυλιών είχαν μια πολύ σταδιακή πτώση μέχρι την αποζύμωση ενώ οι αντίστοιχες συνθήκες για τα πρώιμα σταφύλια είχαν μια πιο απότομη κατανάλωση φτάνοντας πολύ γρηγορότερα στην αποζύμωση. Η απολάπωση για την κλασσική οινοποίηση και για τους 2 διαφορετικούς βαθμούς Baumé πραγματοποιήθηκε μετά από 24 ώρες παραμονής στους 10<sup>0</sup>C ενώ για την προζυμωτική κρυσταλλική σχεδόν την τρίτη ημέρα μετά από την κρυσταλλική (12 ώρες) και 24 ώρες για την απολάπωση.



**Σχημα 9.** Εξέλιξη αλκοολικών ζυμώσεων μέσω της μέτρησης της πυκνότητας για την οινοποίηση σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας κατά την οινοποιητική περίοδο **2012** .

- Δράμα σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας
- κλ. κλασσική οινοποίηση
  - πρ.οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλική
  - π. σταφύλια που τρυγηθηκαν πρώιμα
  - ο. σταφύλια που τρυγηθηκαν όψιμα

Όπως φαίνεται από το σχήμα 9, η οινοποίηση των σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενων από την περιοχή της Δράμας για τα πρώιμα σταφύλια είχε μια διάρκεια της τάξης των 17 ημερών ενώ για τα όψιμα τις 22 ημέρες ( για την οινοποίηση των όψιμων σταφυλιών με την διαδικασία της προζυμωτικής κρυσταλλικής) και τις 20 ημέρες για την κλασσική οινοποίηση των όψιμων σταφυλιών .



**Σχημα 10** Εξέλιξη αλκοολικών ζυμώσεων μέσω της μέτρησης της πυκνότητας για την οινοποίηση σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης κατά την οινοποιητική περίοδο **2012** .

- Σαντ. σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από το νησί της Σαντορίνης
- κλ. κλασσική οινοποίηση
- πρ.οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλική
- π. σταφύλια που τρυγηθηκαν πρώιμα
- ο. σταφύλια που τρυγηθηκαν όψιμα

Όπως φαίνεται από το σχήμα 10, η οινοποίηση των σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενων από την περιοχή της Σαντορίνης για τα πρώιμα σταφύλια είχε μια διάρκεια της τάξης των 17 ημερών ( 14 για το γλεύκος της κλασσικής οινοποίησης) ενώ για τα όψιμα τις 19 ημέρες για την οινοποίηση των όψιμων σταφυλιών με την διαδικασία της προζυμωτικής κρυσταλλικής και για την κλασσική οινοποίηση . Πιθανόν να διαπιστώνεται μία μικρή καθυστέρηση σε ότι αφορά στην έναρξη των αλκοολικών ζυμώσεων αλλά στη συνέχεια η πορεία καταπόνησης των σακχάρων ήταν πολύ ομαλή για όλες τις συνθήκες.

Στους πίνακες που ακολουθούν δίνονται τα αποτελέσματα των κλασσικών αναλύσεων για τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο που προεκυψαν από την οινοποίηση σταφυλιών προερχόμενων από τις 3 περιοχές , Νεμέα, Δράμα και Σαντορίνη.

**Πίνακας 29.** Γενική χημική σύσταση οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L. cv. Ασύρτικο

Γενικές Χημικές Αναλύσεις	ΝΕΜΕΑ Τρύγος 2012			
	Κ.Ο	Κ.Π	ΠΡ.Ο	ΠΡ.Π
Αλκοόλη % (v/v)	16,2b ± 0.1	9,4b ± 0.2	16,2a ± 0.2	10,0 b ± 0.1
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό οξύ)	8,4 b ± 0.2	9,9 a ± 0.2	7,9 b ± 0.2	9,3 a ± 0.3
pH	2,90a ± 0.2	2,6a ± 0.2	2,9 b ± 0.4	2,62 b ± 0.3
Πτητική οξύτητα (g/L οξικό οξύ)	0,24 a ± 0.1	0,14b ± 0.1	0,29 a ± 0.1	0,12 a ± 0.1
Ολικές φαινόλες	13,2c ± 1.00	14,5c ± 0.7	16,0b ± 0.6	15,8a ± 0.5
Απορρόφηση στα 420 nm	0,119d ± 0.03	0,161c ± 0.02	0,412b ± 0.03	0,431 a ± 0.08

**Πίνακας 30.** Γενική χημική σύσταση οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L. cv. Ασύρτικο

Γενικές Χημικές Αναλύσεις	ΔΡΑΜΑ Τρύγος 2012			
	Κ.Ο	Κ.Π	ΠΡ.Ο	ΠΡ.Π
Αλκοόλη % (v/v)	13,8b ± 0.1	13,5 b ± 0.2	14,4 a ± 0.2	13,1 b ± 0.1
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό οξύ)	5,2 b ± 0.2	5,5 a ± 0.2	5,0 b ± 0.2	4,6 a ± 0.3
pH	3,1 a ± 0.2	3,2 a ± 0.2	3,3 b ± 0.4	3,3 b ± 0.3
Πτητική οξύτητα (g/L οξικό οξύ)	0,09 a ± 0.1	0,13 b ± 0.1	0,10 a ± 0.1	0,09 a ± 0.1
Ολικές φαινόλες	12,1c ± 1.00	11,4c ± 0.7	13,0b ± 0.6	14,3a ± 0.5
Απορρόφηση στα 420 nm	0,173 d ± 0.03	0,189 c ± 0.02	0,491 b ± 0.03	0,362 a ± 0.08

**Πίνακας 31.** Γενική χημική σύσταση οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L. cv. Ασύρτικο

Γενικές Χημικές Αναλύσεις	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ Τρύγος 2012			
	Κ.Ο	Κ.Π	ΠΡ.Ο	ΠΡ.Π
Αλκοόλη % (v/v)	13,6b ± 0.1	11,9 b ± 0.2	13,8 a ± 0.2	11,3 b ± 0.1
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό οξύ)	5,5 b ± 0.2	6,0 a ± 0.2	5,7 b ± 0.2	6,5 a ± 0.3
pH	3,3 a ± 0.2	3,0 a ± 0.2	3,2 b ± 0.4	3,0 b ± 0.3
Πτητική οξύτητα (g/L οξικό οξύ)	0,06 a ± 0.1	0,06 b ± 0.1	0,09 a ± 0.1	0,08 a ± 0.1
Ολικές φαινόλες	15,7c ± 1.00	14,3c ± 0.7	17,8b ± 0.6	15,0a ± 0.5
Απορρόφηση στα 420 nm	0,330 d ± 0.03	0,266 c ± 0.02	0,356 b ± 0.03	0,374 a ± 0.08

κλ. κλασσική οινοποίηση

πρ.οινοποίηση με προζυμωτική κρυσεκχύλιση

π. σταφύλια που τρυγηθηκαν πρώιμα

ο. σταφύλια που τρυγηθηκαν όψιμα

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε ανάλυση διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )



## Αποτελέσματα κλασικών αναλύσεων

Όπως φαίνεται και στον πίνακα 29 οι οίνοι Νεμέας είχαν την υψηλότερη ολική οξύτητα και  $A_{420}$  και το χαμηλότερο pH δείχνοντας την εξάρτησή τους από το terroir και όχι από τις επεξεργασίες της ζύμωσης ή την περιεκτικότητα των σακχάρων (Bé). Η προζυμωτική κρυσταλλική αύξηση τις ολικές φαινόλες των οίνων αναξαρτήτως της γεωγραφικής προέλευσης και του βαθμού ωριμότητας των σταφυλιών επηρεάζοντας το καφέτιασμα αυτών (μεταβολή του χρώματος- καφέτιασμα) μιας και οι τιμές της απορρόφησης στα 420nm είναι διακριτά μεγαλύτερες με εκείνες της κλασικής οινοποίησης.

Οι οίνοι της Νεμέας είχαν επίσης τις υψηλότερες τιμές στις κλασικές αναλύσεις (αλκοόλη, ολική οξύτητα, πτητική οξύτητα, ολικές φαινόλες και  $A_{420}$ ).

Το γεγονός ότι οι οίνοι της Νεμέας που παρήχθησαν από όψιμα σταφύλια (οπότε και είχαν αυξημένη σακχαροπεριεκτικότητα) και με τις δύο τεχνικές οινοποίησης έδωσαν τις μεγαλύτερες τιμές πτητικής οξύτητας επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι αναερόβωση, τιμές pH κάτω από 3,0 και πάνω από 4,0, όπως και υπερβολική απολάσπωση του γλεύκους είναι μερικοί από τους παράγοντες που μπορούν να ευνοήσουν την παραγωγή οξικού οξέως (και κατά συνέπεια την αυξημένη τιμή πτητικής οξύτητας) στον οίνο σύμφωνα με τους Ribereau-Gayon et al., 2006b σε συνδιασμό με το γεγονός ότι οι ζυμομύκητες οδηγούνται στην παραγωγή οξικού οξέως προκειμένου να ισοσταθμίσουν την οξειδοαναγωγική ισορροπία σε απάντηση στο υπεροσμωτικό στρες που προκαλείται από την υψηλή συγκέντρωση σακχάρων, η οποία μπορεί να είναι πολύ σοβαρή σε τιμές Brix > 35% ( Erasmus et al., 2004).

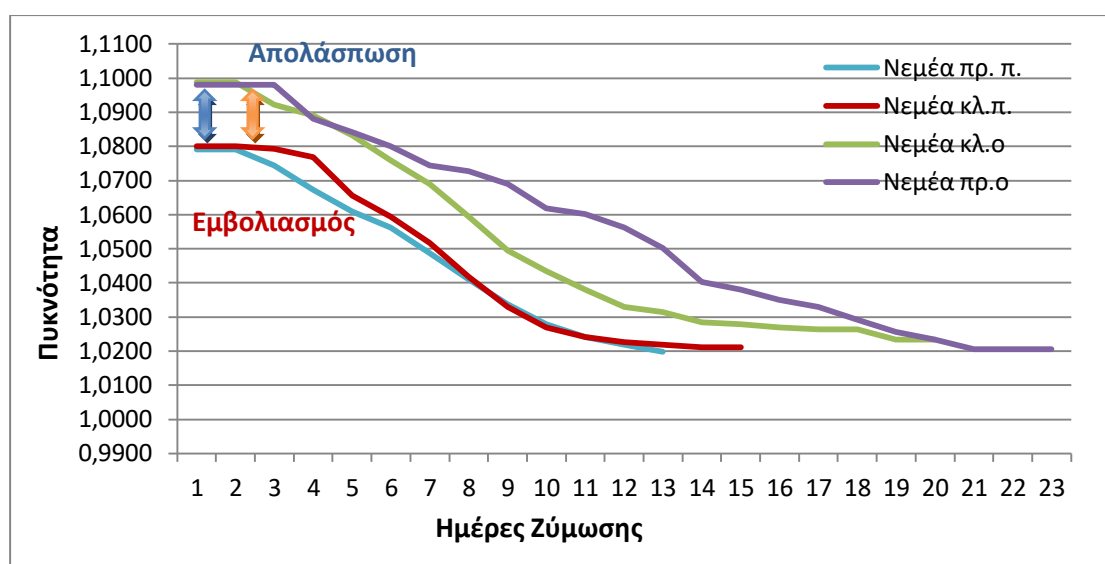
Σύμφωνα με την (Kechagia et al., 2008) οι οίνοι Ασύρτικου εσοδείας 2004 από το νησί της Σαντορίνης, που παρήχθησαν με προζυμωτική κρυσταλλική, παρουσίασαν υψηλότερες ολικές φαινόλες και δείκτες καφετιάζματος (απορρόφηση στα 420nm), το οποίο σημαίνει ότι η διάλυση των φαινολικών συστατικών πραγματοποιήθηκε κατά την προζυμωτική κρυσταλλική, γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα μας και από προηγούμενες δουλειές επίσης (Selli et al., 2006, Cabaroglou and Canbas 2002).

Οι τιμές της ολικής οξύτητας δεν ήταν χαμηλότερες στην περίπτωση της προζυμωτικής κρυσταλλικής όπως αναμενόταν, και οι τιμές του pH ήταν χαμηλότερες, με εξαίρεση τους οίνους της Δράμας οι οποίες είχαν υψηλότερες τιμές pH. Η εφαρμογή της προζυμωτικής κρυσταλλικής συνήθως οδηγεί σε χαμηλότερη ολική οξύτητα και υψηλότερο pH λόγω της απελευθέρωσης Καλίου από τους φλοιούς και συνεπώς μερικής αλατοποίησης του τρυγικού οξέος (Cabaroglou and Canbas 2002). Τα υπολειματικά σάκχαρα βρέθηκαν να είναι κάτω από 2 g/L σε όλα τα δείγματα.

Συμπερασματικά , σύμφωνα με τα αποτελέσματα των κλασικών αναλύσεων που βρέθηκαν σε αυτήν την μελέτη, η οινοποιητική τεχνική της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης επέδρασε σημαντικά στους οίνους προσδίδοντάς τους υψηλές τιμές στις ολικές φαινόλες και στους δείκτες καφετιάσματος (browning indexes) μέσω της απορρόφησης στα 420nm και για τις 3 γεωγραφικές περιοχές και ανεξάρτητα από τον βαθμό ωρίμανσης των σταφυλιών κατά την συγκομιδή τους.

## 12.2 Περίοδος 2013

Η παραγωγική διαδικασία ακολουθήθηκε εφαρμόζοντας τις ίδιες συνθήκες με αυτές της προηγούμενης χρονιάς. Η πορεία των αλκοολικών ζυμώσεων φαίνεται στα παρακάτω σχήματα.

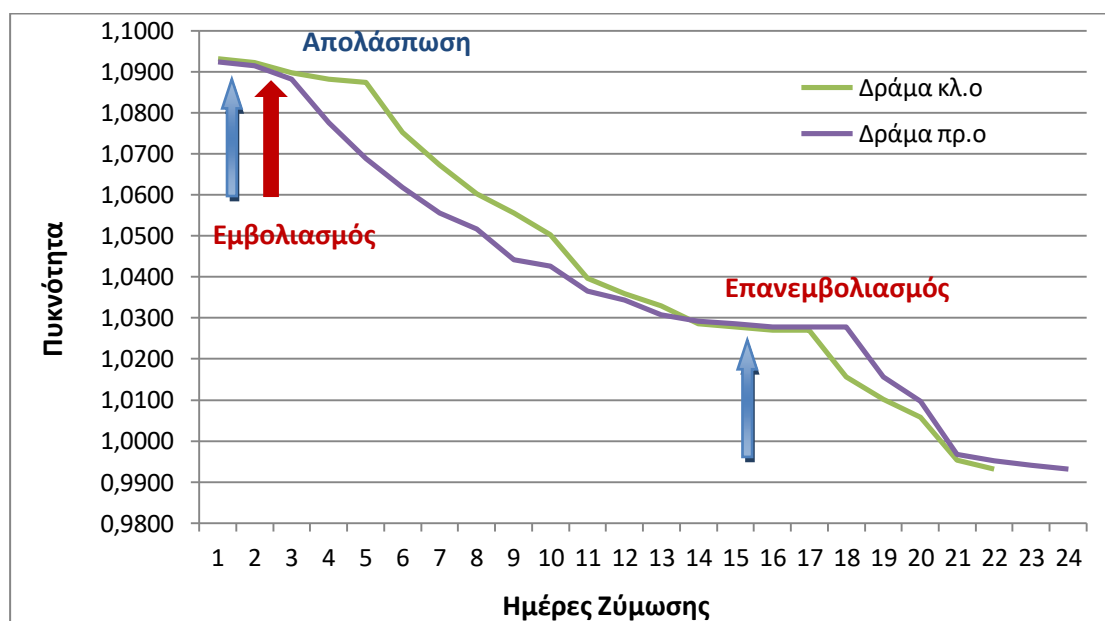


**Σχημα 11.** Εξέλιξη αλκοολικών ζυμώσεων μέσω της μέτρησης της πυκνότητας για την οινοποίηση σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας κατά την οινοποιητική περίοδο **2013** .

Νεμέα σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας  
 κλ. κλασική οινοποίηση  
 πρ.οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση  
 π. σταφύλια που τρυγηθηκαν πρώιμα  
 ο. σταφύλια που τρυγηθηκαν όψιμα

Όπως φαίνεται και από το σχήμα 11 όπου δίνεται η εξέλιξη των αλκοολικών ζυμώσεων των σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενων από την περιοχή της Νεμέας για τις κλασικές οινοποιήσεις η διάρκεια έφτασε περίπου στις 15 ημέρες για τα πρώιμα σταφύλια και 13 ημέρες για τα όψιμα ενώ για τις οινοποιήσεις στις οποίες είχε προηγηθεί η προζυμωτική κρυσταλλοποίηση η συνολική διάρκεια έφτασε τις 23 ημέρες για τα όψιμα σταφύλια και τις 20 για τα πρώιμα. Η

οινοποίηση των όψιμων σταφυλιών με την διαδικασία της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης εμφάνισε την πιο "αργή" κατανάλωση σακχάρων οπότε και την καθυστέρησε ως προς την αποζύμωση. Σχετικά με την κλασική οινοποίηση των πρώιμων σταφυλιών τα οποία θα ήταν αναμενόμενο να αποζυμώσουν νωρίτερα από τα αντίστοιχα ώριμα είχε μία καθυστέρηση σε ότι αφορά στην έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης με αποτέλεσμα και την μεγαλύτερη τελικά διάρκεια.

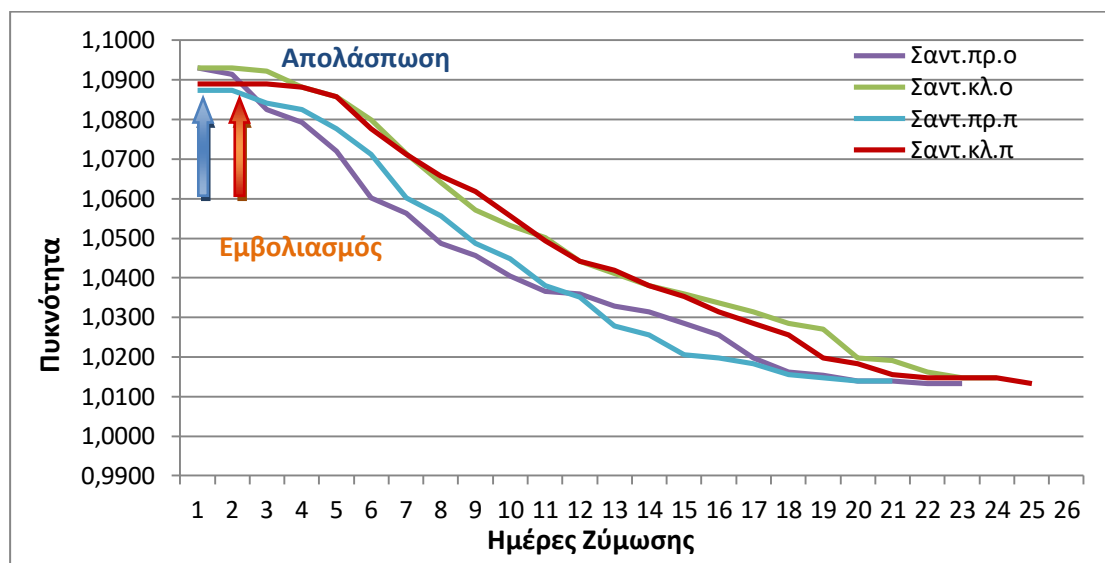


**Σχημα 12.** Εξέλιξη αλκοολικών ζυμώσεων μέσω της μέτρησης της πυκνότητας για την οινοποίηση σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας κατά την οινοποιητική περίοδο **2013**.

Δράμα σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας  
 κλ. κλασική οινοποίηση  
 πρ.οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση  
 π. σταφύλια που τρυγηθηκαν πρώιμα  
 ο. σταφύλια που τρυγηθηκαν όψιμα

Σύμφωνα με το σχήμα 12 και την παρακολούθηση των αλκοολικών ζυμώσεων των σταφυλιών προερχόμενων από την περιοχή της Δράμας, χωρίς τον διαχωρισμό σε πρώιμα και όψιμα μιας και δεν υπήρχε η δυνατότητα συγκομιδής των σταφυλιών σε διαφορετικές ωριμότητες από τον παραγωγό, με αρχικές τιμές πυκνότητας που πλησιάζουν περισσότερο στα όψιμα σταφύλια των αντίστοιχων άλλων περιοχών (Νεμέα και Σαντορίνη) φαίνεται μία όχι και τόσο ομαλή διεξαγωγή των ζυμώσεων. Το γλεύκος της κλασικής οινοποίησης καθυστέρησε αρχικά να ξεκινήσει την ζύμωση ακολουθώντας μία πιο αργή εξέλιξη ενώ και το γλεύκος που προήλθε από την διαδικασία της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης ενώ ξεκίνησε γρηγορότερα, γύρω στην 13η ημέρα έδειξαν μία στασημότητα στην κατανάλωση των σακχάρων και

συνεπώς την "μή πτώση" της πυκνότητας οπότε και χρειάστηκε επανεμβολιασμός των εν ζυμώσει γλευκών.



**Σχημα 13** .Εξέλιξη αλκοολικών ζυμώσεων μέσω της μέτρησης της πυκνότητας για την οινοποίηση σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης κατά την οινοποιητική περίοδο **2013** .

Σαντ. σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από το νησί της Σαντορίνης  
 κλ. κλασσική οινοποίηση  
 πρ.οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλική  
 π. σταφύλια που τρυγηθηκαν πρώιμα  
 ο. σταφύλια που τρυγηθηκαν όψιμα

Όπως φαίνεται από το σχήμα 13 και την εξέλιξη των αλκοολικών ζυμώσεων των σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης και οι 4 συνθήκες ακολούθησαν μία αρκετά ομαλή πορεία. Μεγαλύτερη διάρκεια ζύμωσης είχε η κλασσική οινοποίηση των πρώιμων σταφυλιών ( μή αναμενόμενο λόγω της μικρότερης συγκέντρωσης σε σάκχαρα) με 2 ημέρες περισσότερες από τις υπόλοιπες συνθήκες δίχοντας όμως μία καθυστέρηση αρχικά σε ότι αφορά στην έναρξη κατανάλωσης των σακχάρων.

Στους πίνακες που ακολουθούν δίνονται τα αποτελέσματα των κλασσικών αναλύσεων για τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο που προέκυψαν από την οινοποίηση σταφυλιών προερχόμενων από τις 3 περιοχές , Νεμέα, Δράμα και Σαντορίνη.

**Πίνακας 32.** Γενική χημική σύσταση οίνων της ποικιλίας V. vinifera L. cv.Ασύρτικο

Γενικές Χημικές Αναλύσεις	NEMEA Τρύγος 2013			
	Κ.Ο	Κ.Π	ΠΡ.Ο	ΠΡ.Π
Αλκοόλη % (v/v)	13,4 b ± 0.1	10,8b ± 0.2	12,3 a ± 0.2	10,4 b ± 0.1

Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό οξύ)	4,8 b ±0.2	6,5 a ±0.2	5,2 b ± 0.2	6,2 a ± 0.3
pH	3,0a ±0.2	3,0a ±0.2	2,9 b ± 0.4	3,0 b ± 0.3
Πτητική οξύτητα (g/L οξικό οξύ)	0,26 a ± 0.1	0,12b ± 0.1	0,35 a ± 0.1	0,12 a ±0.1
Ολικές φαινόλες	13,2c ± 1.00	14,5c ± 0.7	16,0b ± 0.6	15,8a ±0.5
Απορρόφηση στα 420 nm	0,205d ±0.03	0,158c ±0.02	0,634b ±0.03	0,521a ±0.08

**Πίνακας 33.** Γενική χημική σύσταση οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L. cv. Ασύρτικο

Γενικές Χημικές Αναλύσεις	ΔΡΑΜΑ	Τρύγος 2013
	Κ.Ο	ΠΡ.Ο
Αλκοόλη % (v/v)	13,2b ± 0.1	12,8 a ±0.2
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό οξύ)	6,4 b ±0.2	4,8 b ± 0.2
pH	3,2 a ±0.2	3,1 b ± 0.4
Πτητική οξύτητα (g/L οξικό οξύ)	0,19 a ± 0.1	0,10 a ± 0.1
Ολικές φαινόλες	11.2c ± 1.00	12.9b ± 0.6
Απορρόφηση στα 420 nm	0,116 d ±0.03	0,283 b ±0.03

**Πίνακας 34.** Γενική χημική σύσταση οίνων της ποικιλίας *V. vinifera* L. cv. Ασύρτικο

Γενικές Χημικές Αναλύσεις	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ	Τρύγος 2013		
	Κ.Ο	Κ.Π	ΠΡ.Ο	ΠΡ.Π
Αλκοόλη % (v/v)	12,3b ± 0.1	11,1 b ± 0.2	12,2 a ±0.2	10,9 b ±0.1
Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό οξύ)	6,3 b ±0.2	6,6 a ±0.2	7,0 b ± 0.2	7,2 a ± 0.3
pH	3,0 a ±0.2	2,9 a ±0.2	2,8 b ± 0.4	2,9 b ± 0.3
Πτητική οξύτητα (g/L οξικό οξύ)	0,09 a ± 0.1	0,18 b ± 0.1	0,21 a ± 0.1	0,19 a ±0.1
Ολικές φαινόλες	11.2c ± 1.00	11.5c ± 0.7	12.8b ± 0.6	13.9a ±0.5
Απορρόφηση στα 420 nm	0,121d ±0.03	0,203 c ±0.02	0,138 b ±0.03	0,215a ±0.08

κλ. κλασσική οινοποίηση

πρ.οινοποίηση με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση

π. σταφύλια που τρυγηθηκαν πρώιμα

ο. σταφύλια που τρυγηθηκαν όψιμα

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε ανάλυση διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

### Αποτελέσματα κλασσικών αναλύσεων

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 32 με τις χημικές αναλύσεις των οίνων από την περιοχή της Νεμέας, τα πρώιμα σταφύλια διατηρούν υψηλότερες οξύτητες συγκριτικά με εκείνα της όψιμης συγκομιδής όπως καριβώς συμβαίνει και για τα σταφύλια από το νησί της Σαντορίνης (πίνακας 34). Για την περιοχή της Δράμας δεν υπήρχε δυνατότητα συγκομιδής των σταφυλιών σε διαφορετικές ωριμότητες για

αυτον τον λόγο και δεν υπάρχουν συγκρίσιμα στοιχεία. Συνεπώς η διατήρηση της οξύτητας σε υψηλότερες τιμές σε οίνους που προέρχονται απο σταφύλια που έχουν συλλεχθεί πρώιμα δεν επηρεάζεται από την γεωγραφική περιοχή -terroir ως προς τον διαχωρισμό αλλά επηρεάζεται σίγουρα από το μικροκλίμα κάθε αμπελότοπου το οποίο και διαμορφώνει τις τελικές τιμές ανάλογα. Έτσι οι μέγιστες τιμές οξύτητας στο νησί της Σαντορίνης με την έντονη ηλιοφάνεια και την πολύμηνη διατήρηση των υψηλών θερμοκρασιών φτάνουν τα 7,2 g/L τρυγικό οξύ ενώ στην περιοχή της Νεμέας με διατήρηση χαμηλότερων θερμοκρασιών αλλά και την εμφάνιση βροχοπτώσεων μεγαλύτερης συχνότητας, τα 6,5 g/L τρυγικό οξύ. Οι τιμές pH είναι πολύ κοντά και για τις 3 περιοχές με μικρή υπεροχή για την περιοχή της Δράμας της οποίας οι οίνοι φτάνουν τα 3,2 και 3,1 ( πίνακας 33) για την κλασσική οινοποίηση και την προζυμωτική εκχύλιση αντίστοιχα συγκριτικά με τις άλλες 2 περιοχές οι οποίες κυμαίνονται στο 2,8 έως 3,0.

Σε ότι αφορά στις ολικές φαινόλες υπάρχει διακριτή υπεροχή στις τιμές αυτών για τους οίνους της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης συγκριτικά με εκείνους της κλασσικής οινοποίησης ανεξάρτητα της γεωγραφικής προέλευσης των σταφυλιών. Συνεπώς πρόκειται για μία διαφοροποίηση η οποία οφείλεται στην οινοποιητική τεχνική και επιβεβαιώνεται με όσα ήδη αναφέρθηκαν. Οι τιμές των ολικών φαινολών για τις περιοχές της Δράμας και Σαντορίνης είναι κοντά (από 11 για τις κλασσικές οινοποιήσεις μέχρι 13 για την προζυμωτική κρυσεκχύλιση) ενώ για τις ολικές φαινόλες των οίνων από την περιοχή της Νεμέας οι τιμές κυμαίνονται υψηλότερα μιας και για τους οίνους κλασσικής οινοποίησης είναι στο 13 ενώ για τους οίνους προζυμωτικής κρυσεκχύλισης φτάνουν το 16 ( πίνακας 32).

Τις ίδιες διακυμάνσεις ακολουθούν και οι τιμές της Απορρόφησης στα 420nm . Για όλους τους οίνους παρατηρείται μία υπεροχή των απορροφήσεων για τους οίνους προζυμωτικής κρυσεκχύλισης συγκριτικά με εκείνους της κλασσικής οινοποίησης όμως στην περίπτωση των οίνων από την περιοχή της Νεμέας οι απορροφήσεις για τους οίνους προζυμωτικής κρυσεκχύλισης (πίνακας 32) φτάνουν τα 0,6 ενώ οι αντίστοιχες τιμές των οίνων προζυμωτικής κρυσεκχύλισης για τις άλλες 2 περιοχές φτάνουν τις τιμές κλασσικής οινοποίησης των οίνων Νεμέας , δηλαδή γύρω στο 0,1 με 0,2. Ανεξάρτητα συνεπώς από την οινοποιητική τεχνική , η περιοχή της Νεμέας και συνεπώς το terroir και το μικροκλίμα της δίνει οίνους με υψηλότερες τιμες σε ολικές φαινόλες και  $A_{420\text{ nm}}$  συγκριτικά με την περιοχή της Δράμας και το νησί της Σαντορίνης.

Σχετικά με τις τιμές της πτητικής οξύτητας, για τους οίνους από την περιοχή της Δράμας και το νησί της Σαντορίνης κυμαίνονται σε χαμηλά επίπεδα ( από 0,1 έως 0,2 g/L οξικό οξύ ) ανεξάρτητα της οινοποιητικής τεχνικής και της σακχαροπεριεκτικότητας κατά τον τρυγητό. Για τους οίνους από την περιοχή της

Νεμέας (πίνακας 26) οι τιμές κυμαίνονται σε υψηλότερα επίπεδα φτάνοντας τα 0,3 g/L οξικό οξύ για τους οίνους από όψιμα σταφύλια.

Συμπερασματικά φαίνεται μία υπεροχή στις τιμές των ολικών φαινολών, πτητικής οξύτητας και  $A_{420nm}$  για τους οίνους από την περιοχή της Νεμέας συγκριτικά με εκείνους της Δράμας και Σαντορίνης ανεξάρτητα από την οινοποιητική τεχνική και τον βαθμό ωρίμανσης των σταφυλιών.

### **Κεφάλαιο 13. Αποτελέσματα οργανοληπτικών δοκιμών των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο από τις 3 διαφορετικές περιοχές (Νεμέα, Δράμα και Σαντορίνη) για 2 συνεχόμενες χρονιές 2012 και 2013**

#### **13.1 Περίοδος 2012**

Το αρωματικό προφίλ των οίνων του 2012 έτσι όπως αποδόθηκε μέσα από τα ιστογράμματα αρωματικού και γευστικού προφίλ (σχημα 14 και 15) φαίνεται ότι οι οίνοι της Δράμας χαρακτηρίζονται από έντονο άρωμα και γεύση τροπικών φρούτων ενώ αυτοί της Νεμέας από πιο εσπεριδοειδείς νότες και της Σαντορίνης από πιο εσπεριδοειδή και ανθικά αρώματα. Στα ιστογράμματα η απόσταση από το κέντρο κάθε σημείου αντιστοιχεί στη μέση τιμή που δώθηκε από τους κριτές για το εκάστοτε χαρακτηριστικό. Η τυπική απόκλιση STDV του μέσου όρου της βαθμολογίας (σχημα 16) που οι 10 κριτές έδωσαν για κάθε οίνο έδειξε ότι ο οίνος της Νεμέας προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης από πρώιμα σταφύλια (NEMEA ΠΡ.Π) δίχασε τους κριτές (λόγο της υψηλότερης σε σχέση με τους υπόλοιπους οίνους τιμή της τυπικής απόκλισης (1,90) από τον μέσο όρο βαθμολογίας των κριτών), ενώ οι οίνοι της Δράμας πήραν τις υψηλότερες βαθμολογίες ακολουθούμενοι από τους οίνους της Σαντορίνης.

Τα παραπάνω αποτελέσματα δεν μπορούν να επιβεβαιώσουν το γεγονός ότι το Ασύρτικο από το νησί της Σαντορίνης θα πρέπει όπως έχει ήδη επισημανθεί σε συσχέτιση με τις επιδράσεις του εδάφους του αμπελώνα και του καιρού, να θεωρηθεί ότι η μέτρια έλλειψη νερού μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα του οίνου, βελτιώνοντας το χρώμα, την γεύση και το άρωμα (Deluc et al., 2009; Ou et al., 2010).

Η τεχνική της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα ενός λευκού οίνου χάρη στην αύξηση της εκχύλισης των πρόδρομων αρωματικών συστατικών από τους φλοιούς (Darias-Martin et al., 2000; Falqué and Fernández, 1996; Ough, 1969). Με αυτή την έννοια, τα σταφύλια πρέπει να είναι αρκετά ώριμα επειδή οι φλοιοί των άγουρων σταφυλιών μπορούν να αυξήσουν το χορτώδη

χαρακτήρα των οίνων κατά βάση λόγω της αύξησης των συγκεντρώσεων των C-6 συστατικών (Baumes et al., 1989; Ferreira et al., 1995).

Αφετέρου, η διαδικασία της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης προκαλεί επίσης μία μεγαλύτερη εκχύλιση φαινολικών συστατικών (Ho et al., 1999) όπως επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα του πίνακα 2 για όλους τους οίνους που παρήχθησαν με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση (τιμές Ολικών φαινολών).

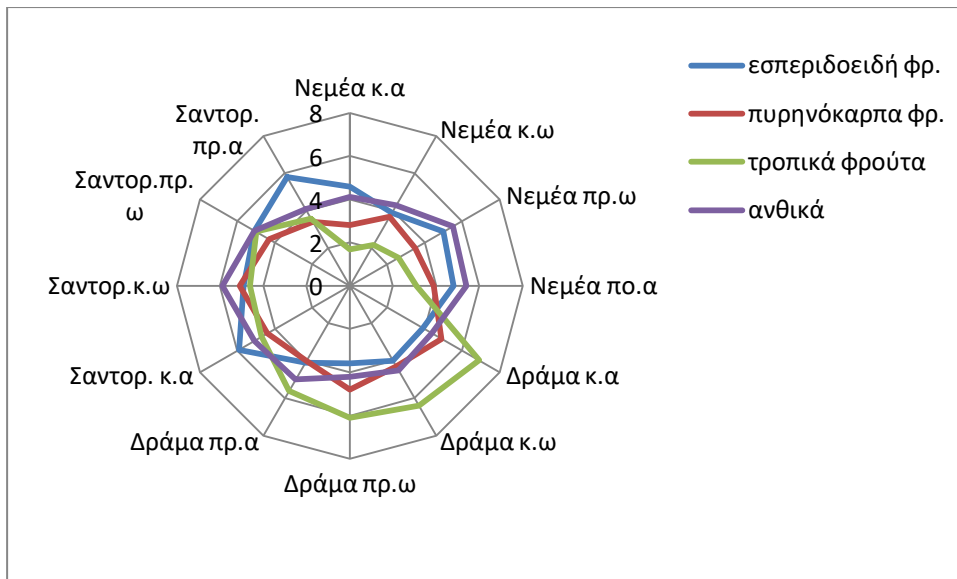
Αναφερόμενοι στα φαινολικά συστατικά, είναι γνωστό ότι αυτά είναι υπεύθυνα για κάποιες βασικές οργανοληπτικές ιδιότητες του οίνου, ιδιαίτερως του χρώματος και της στυφάδας. Αυτά τα συστατικά συνεισφέρουν στη σταθερότητα του χρώματος επειδή μπορούν να δρουν σαν οξειδωτικά υποστρώματα στους λευκούς οίνους (Karagiannis, et al., 2000; Soleas et al., 1997; Teissedre, et al., 1996). Οι τιμές της απορρόφησης στα 420nm από τον πίνακα 2 έρχονται σε συμφωνία με το παραπάνω. Συνεπώς, το χρώμα των λευκών οίνων αλλάζει χάρη στο καφέτσιασμα, ακριβώς όπως η απώλεια του φωτεινού απαλού κίτρινου χρώματος μπορεί να συμβεί όταν το περιεχόμενο σε ολικές φαινόλες είναι πολύ υψηλό (Benítez et al., 2002; Boulton et al., 1996).

### **Συμπεράσματα**

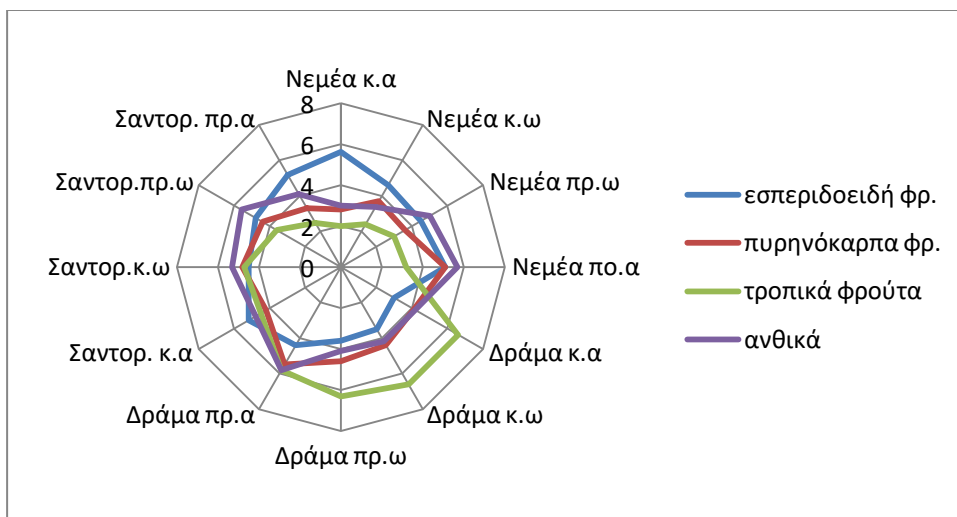
Αξιολογώντας τις κλασσικές χημικές αναλύσεις και την οργανοληπτική ανάλυση των οίνων που παρήχθησαν από τα σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο κατά την οινοποιητική χρονιά του 2012, που καλλιεργήθηκαν σε τρεις διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές της Ελλάδας, το νησί της Σαντορίνης, την Δράμα στην Βόρεια Ελλάδα και την Νεμέα στην Πελοπόννησο φαίνεται ότι η αμπελουργική περιοχή δεν έχει τόσο σημαντική επίδραση στην ποιότητα του οίνου όσο οι οινοποιητικές συνθήκες (κλασσική οινοποίηση και προζυμωτική κρυσταλλοποίηση).

Η συσχέτιση του terroir με το αρωματικό προφίλ των εξεταζόμενων οίνων επιβάλλει την ανάγκη για περαιτέρω ανάλυση της ποιότητας και της ποσότητας του αρώματος του οίνου μέσω της αέριας χρωματογραφίας μάζας Gas Chromatography - MS. Τα αποτελέσματα αυτών των αναλύσεων δίνονται παρακάτω.

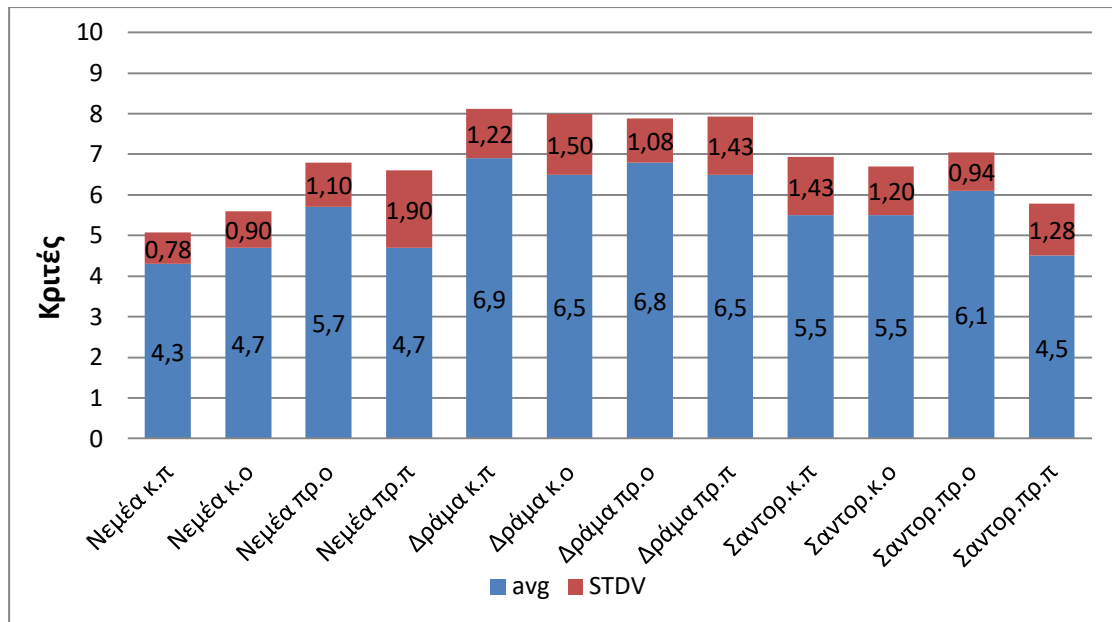




**Σχήμα 14** . Ιστόγραμμα αρωματικού προφίλ για τους 12 οίνους



**Σχήμα 15** . Ιστόγραμμα γευστικού προφίλ για τους 12 οίνους

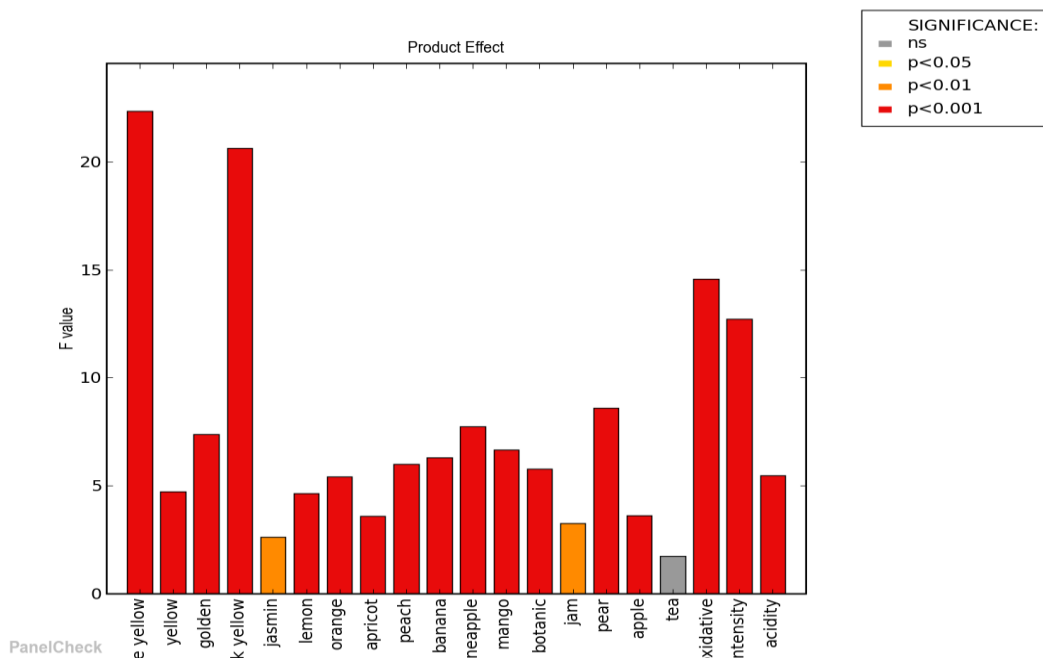


**Σχήμα 16** . Μέσος όρος βαθμολόγησης του πάνελ κριτών για τους 12 οίνους και το STDEV

## 13.2 Περίοδος 2013

Οι οίνοι του 2013 εξετάστηκαν οργανοληπτικά από ένα πάνελ 18 έμπειρων κριτών (μεταξύ των οποίων καθηγητές του τμήματος Οινολογίας και Τεχνολογίας Ποτών του πρώην ΤΕΙ Αθήνας και νυν Πανεπιστήμιου Δυτικής Αττικής (ΠΑΔΑ) καθώς και φοιτητές επι πτυχίο του τμήματος οι οποίοι είχαν ολοκληρώσει τα μαθήματα οργανοληπτικού ελέγχου οίνων και ποτών των σπουδών τους) σε τρεις επαναληπτικές οργανοληπτικές δοκιμές. Οι συνθήκες και η διαδικασία περιγράφονται στο κεφάλαιο 3.2.4. Τα αποτελέσματα των τριών οργανοληπτικών δοκιμών συλλέχθηκαν, καταγράφηκαν σε υπολογιστικά φύλλα excel και επεξεργάστηκαν με το λογισμικό Panel check.

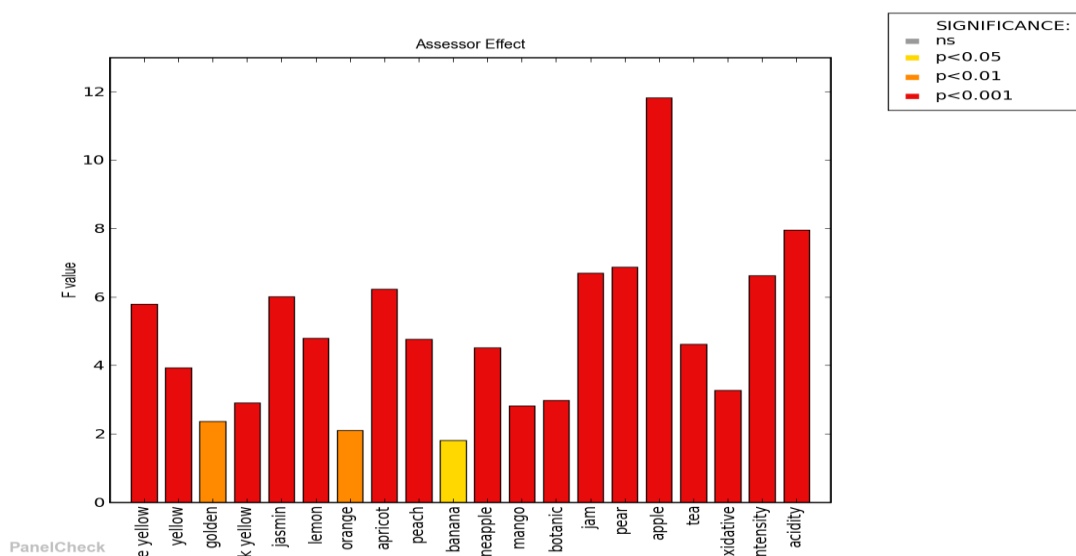
Αρχικά πραγματοποιήθηκε two-way ANOVA ( Mixed model ANOVA for assessing the importance of attributes) προκειμένου να διαπιστωθεί η σημαντικότητα των χαρακτηριστικών που μελετήθηκαν. Στο σχήμα 17 που ακολουθεί φαίνονται τα αποτελέσματα.



**Σχήμα 17** Επίδραση των χαρακτηριστικών στο μοντέλο two-way ANOVA βασισμένο στους 18 κριτές.

Από το σχήμα 17 φαίνεται ότι όλα τα χαρακτηριστικά είναι σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας  $P < 0,001$  ( με εξαίρεση το άρωμα τσαγιού που δεν είναι σημαντικό, το γιασεμί και τη μαρμελάδα βερούκοκο που είναι σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας  $P < 0,01$  ) οπότε και θα συμπεριληφθούν στις περαιτέρω αναλύσεις καθώς σύμφωνα με τους (Tomíc et al., 2010) μη σημαντικά χαρακτηριστικά τα οποία όμως είναι κοντά στο επίπεδο σημαντικότητας μπορούν να συμπεριληφθούν μιας και μόνο πολύ λίγοι κριτές αρκούν για να κάνουν ένα χαρακτηριστικό να αλλάξει από σημαντικό σε μη σημαντικό. Έτσι, προκειμένου να ερευνηθεί η

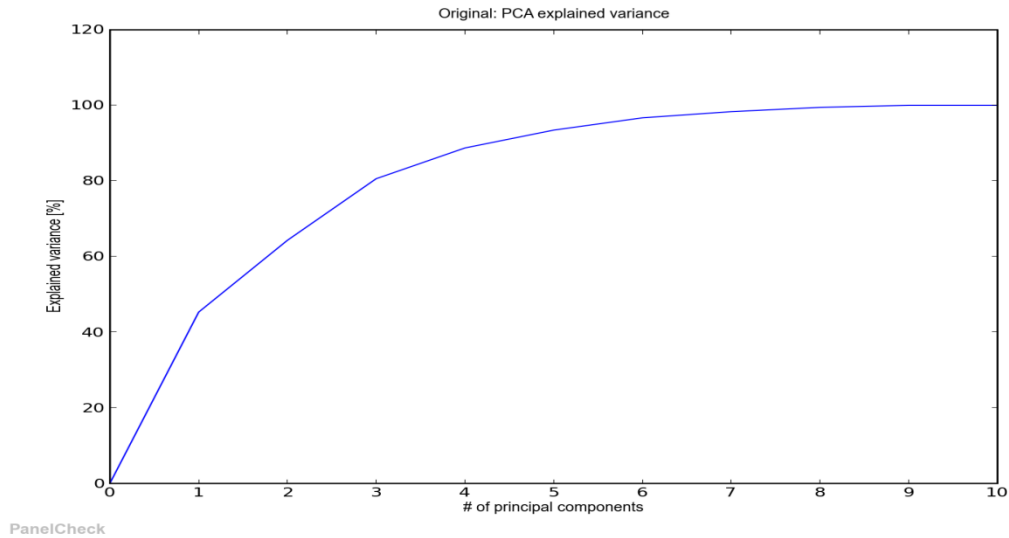
παραπάνω παραδοχή μελετήθηκε η επίδραση των κριτών στα μελετηθέντα χαρακτηριστικά οπότε και προέκυψε το σχήμα 18.



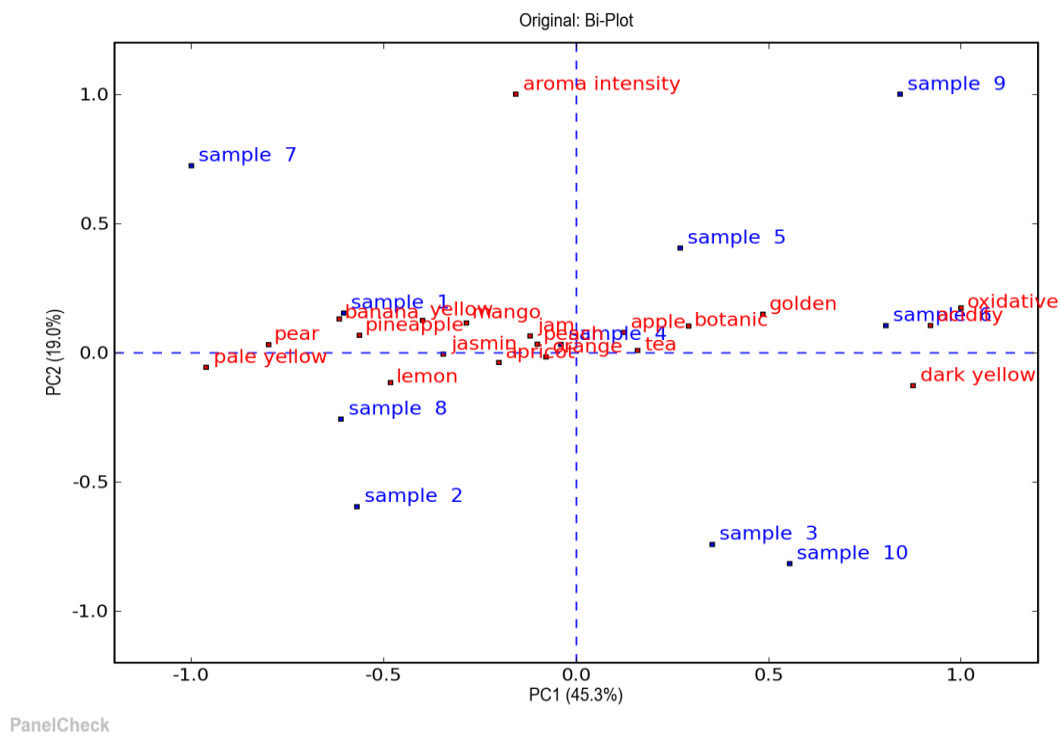
**Σχημα 18** Επίδραση των κριτών στο μοντέλο two-way ANOVA .

Όπως φαίνεται από το σχήμα 18 τα χαρακτηριστικά που η επίδρασή τους στα προϊόντα όπως φάνηκε στο σχημα 18 έδειξε οτι δεν ήταν σημαντικά, το άρωμα τσάγιού που δεν είναι σημαντικό και το γιασεμί και μαρμελάδα βερούκοκο που είναι σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας  $P<0,01$  στην επίδραση των κριτών συμπεριλαμβάνονται και τα 3 στο ίδιο επίπεδο σημαντικότητας  $P<0,001$ . Με βάση τα παραπάνω αποφασίστηκε η διατήρηση των 3 αυτών χαρακτηριστικών στην περαιτέρω στατιστική μελέτη των αποτελεσμάτων.

Προκειμένου να βρεθεί το πως δομούνται τα δεδομένα καθώς επίσης και το πως μπορεί να ταυτοποιηθεί ένα πάνελ κριτών το οποίο μπορεί να διαφέρει πολύ στο πως αντιλαμβάνονται ο καθένας τις διαφορές μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων πραγματοποιήθηκε PCA στα συγχωνευμένα δεδομένα και τα αποτελέσματα φαίνονται στα σχήματα που ακολουθούν.



**Σχήμα 19** . Η επεξηγηματική μεταβλητή όπου φαίνεται ότι υπάρχει μία καθαρή συνοχή για όλα τα βασικά συστατικά (Principal components)



**Σχήμα 20**. Διάγραμμα PCA που οπτικοποιεί το πώς οι 18 κριτές ταξινόμησαν με βάση τα χαρακτηριστικά που μελέτηθηκαν ,τα 10 δείγματα οίνων που δοκίμασαν.

**ΟΙΝΟΙ 2013**

SAMPLE 1	ΔΡΑΜΑ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΟΨΙΜΑ
SAMPLE 2	ΔΡΑΜΑ ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΨΙΜΑ
SAMPLE 3	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΟΨΙΜΑ
SAMPLE 4	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΠΡΩΙΜΑ
SAMPLE 5	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΨΙΜΑ
SAMPLE 6	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΠΡΩΙΜΑ

SAMPLE 7	ΝΕΜΕΑ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΠΡΩΙΜΑ
SAMPLE 8	ΝΕΜΕΑ ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΠΡΩΙΜΑ
SAMPLE 9	ΝΕΜΕΑ ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΨΙΜΑ
SAMPLE 10	ΝΕΜΕΑ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΟΨΙΜΑ

Όπως φαίνεται από το σχήμα 20 οι οίνοι της Δράμας (δείγματα 1 και 2) είναι αρκετά κοντά σε ότι αφορά στις ομοιοτητές τους, με τον οίνο της προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών (δείγμα 1) να έχει χαρακτηριστεί ως πλουσιότερος σε αρώματα μιας και βρίσκεται πιο κοντά στα χαρακτηριστικά αρώματα εξωτικών φρούτων (μπανάνα, μάνγκο, ανανά), πυρηνόκαρπων (βερύκοκο και ροδάκινο) αλλά και σε ανθικά όπως το γιασεμί, ενώ χρωματικά χαρακτηρίστηκε ως κίτρινο. Ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών της Δράμας ( δείγμα 2) είναι πιο απομακρυσμένος από το μεγαλύτερο πλήθος των αρωμάτων τα οποία και είναι συγκεντρωμένα κοντά στον οίνο της προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών της Δράμας (δείγμα 1) τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών της Σαντορίνης (δείγμα 4) και τον οίνο κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών της Νεμέας (δείγμα 8) και συνεπώς λιγότερο αρωματικός από αυτούς. Βρίσκεται κοντά όμως σε αρώματα όπως το λεμόνι , το γιασεμί και το βερύκοκο ενώ χρωματικά ανήκει στους οίνους ανοιχτού κίτρινου.

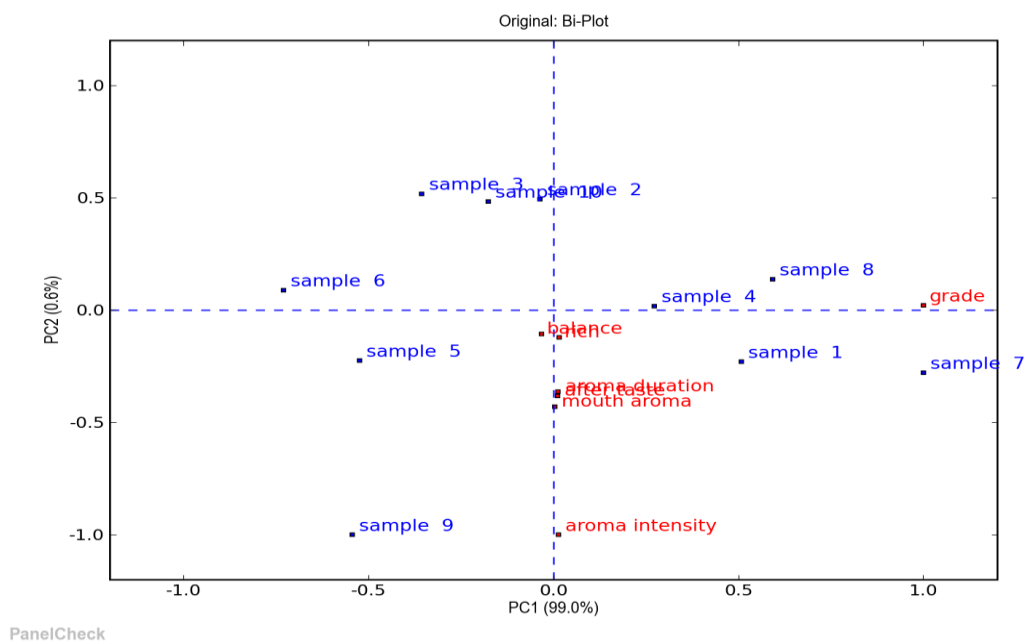
Σε ότι αφορά στους οίνους της Σαντορίνης, δείχνει να διαφοροποιείται αισθητά (πολύ μακριά τοποθετημένος σε σχέση με τους υπόλοιπους 3 της ίδιας περιοχής) ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών (δείγμα 3) ο οποίος μάλιστα προσομοιάζει πολύ με τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών της Νεμέας (δείγμα 10). Ο οίνος της Σαντορίνης προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών (δείγμα 4) χαρακτηρίστηκε από αρώματα μήλου, τσαγιού, βοτανικά αλλά και μαρμελάδας βερύκοκου, ροδάκινου, βερύκοκου και πορτοκαλιού. Για τους οίνους κλασσικής οινοποίησης της Σαντορίνης, αυτός των πρώιμων σταφυλιών (δείγμα 6) χαρακτηρίστηκε με οξειδωτικά αρώματα ενώ των όψιμων σταφυλιών (δείγμα 5) με χρώμα χρυσό, αρώματα βοτανικά και άρωμα μήλου.

Σχετικά με τους οίνους της Νεμέας (δείγματα 7,8,9,10) φαίνεται από την τοποθέτησή τους με βάση την ανάλυση ότι ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών (δείγμα 8) να είναι ο πλησιέστερος στα περισσότερα αρώματα και συγκεκριμένα αρκετά κοντά στα δείγματα 1 και 4 (οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών Δράμας και οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών Σαντορίνης) με κοντινότερα χαρακτηριστικά του εκείνα του ανοιχτού κίτρινου στο χρώμα και αρώματα όπως του λεμονιού, γιασεμιού και βερύκοκου.

Ο οίνος Νεμέας προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης πρώιμων σταφυλιών (δείγμα 7) είναι ο αμέσως πλησιέστερος στα περισσότερα αρωματικά μετά τον οίνο Νεμέας κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών (δείγμα 8) και συγκεκριμένα στα αρώματα αχλαδιού, ανανά, μπανάνας και μάνγκο. Οι οίνοι Νεμέας όψιμων σταφυλιών είτε κλασσικής οινοποίησης είτε προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης (δείγματα 9 και 10) δείχνουν αρκετά απομακρυσμένοι από τα περισσότερα αρώματα και ιδιαίτερα ο οίνος της κλασσικής οινοποίησης (δείγμα 9) που συγκαταλέγεται στους οίνους που βρίσκονται σχετικά κοντά σε χαρακτηριστικά όπως οξείδωση, αρώματα βοτανικά και μήλου. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πιθανόν τα σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας να χάνουν μέρος των αρωματικών συστατικών τους με την πάροδο της ωρίμανσης με συνέπεια η μεθοδολογία οινοποίησης αυτών να μην μπορεί να επηρεάσει (αναδεικνύοντας ή όχι) τον πρωτογενή αρωματικό χαρακτήρα των σταφυλιών. Ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης των όψιμων σταφυλιών Νεμέας (δείγμα 10) δείχνει να έχει πολλές ομοιότητες με τον "συζυγή" οίνο από το νησί της Σαντορίνης (δείγμα 3). Οι δύο αυτοί οίνοι παραμένουν μακριά από τα περισσότερα χαρακτηριστικά.

Προκειμένου να διαπιστωθεί η προτίμηση των κριτών στους οίνους με βάση την βαθμολογία τους για την συνολική εντύπωση των δειγμάτων δίνεται το σχήμα 21 όπου συνδιάζονται χαρακτηριστικά όπως η αρωματική ένταση, η αρωματική διάρκεια, η ισορροπία, ο πλούτος, η επίγευση και ο τελικός βαθμός.

Από την τοποθέτηση των οίνων φαίνεται λοιπόν ότι τις μεγαλύτερες βαθμολογίες συγκέντρωσαν οι οίνοι sample 7,8,1,4 και 2. Δηλαδή κατά σειρά οι οίνοι Νεμέας προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης πρώιμων σταφυλιών, Νεμέας κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών, Δράμας προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όψιμων σταφυλιών, Σαντορίνης προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης πρώιμων σταφυλιών και τέλος Δράμας κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών.



**Σχήμα 21.** Διάγραμμα PCA που οπτικοποιεί το πώς οι 18 κριτές ταξινόμησαν με βάση τα χαρακτηριστικά (ισορροπία, πλούτος, αρωματική διάρκεια, αρωματική ένταση, άρωμα στόματος, επίγευση, τελικός βαθμός), τα 10 δείγματα οίνων που δοκίμαστηκαν.

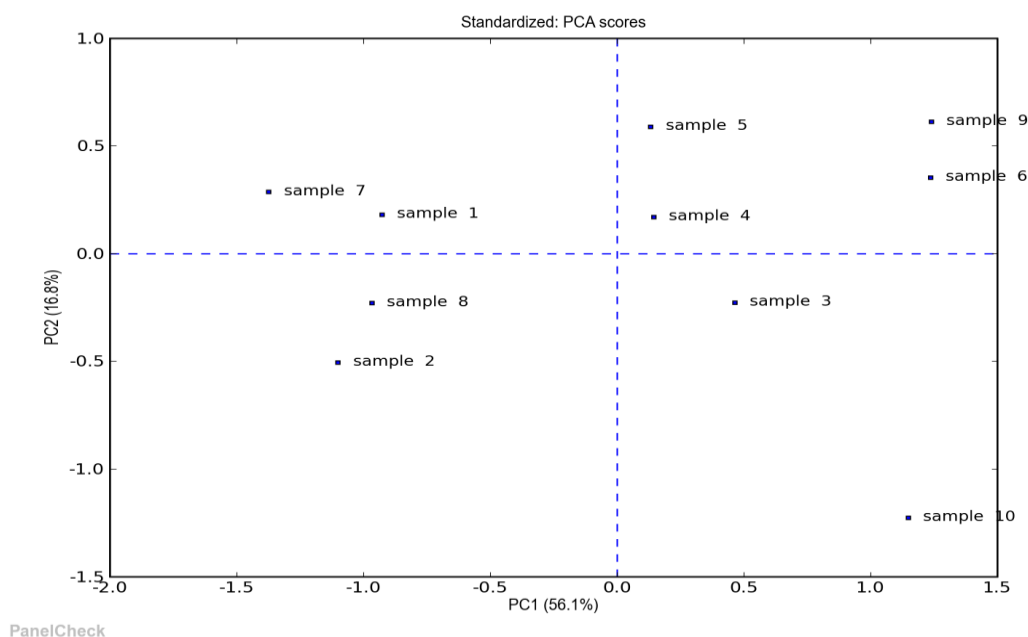
Όπως είναι λοιπόν αναμενόμενο, οι οίνοι οι οποίοι συγκέντρωσαν την μεγαλύτερη βαθμολογία (sample 7,8,1,4 και 2) για την γενική εντύπωση που άφησαν στους κριτές είναι και εκείνοι που βρίσκονται "πιο κοντά" σε χαρακτηριστικά όπως η ισορροπία, ο πλούτος, η αρωματική διάρκεια, η αρωματική ένταση, το άρωμα στόματος και η επίγευση. Τα χαρακτηριστικά αυτά βαθμολογήθηκαν με κλίμακα έντασης από τους κριτές και για αυτόν ακριβώς τον λόγο διαχωρήστηκαν στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων από τα υπόλοιπα για τα οποία ίσχυσε ο εντοπισμός τους ή μή.

Από την PCA στο σχήμα 21 φαίνεται ότι από τα 4 δείγματα οίνων που βρίσκονται στις πρώτες θέσεις βαθμολόγησης ενώ βαθμολογικά διατηρούν την σειρά που αναφέρθηκε παραπάνω, σε ότι αφορά στα χαρακτηριστικά του σχήματος 21 ο οίνος της Δράμας προζυμωτικής εκχυλίσσης όψιμων σταφυλιών (δείγμα 1) είναι εκείνος που χαρακτηρίστηκε με μεγαλύτερη αρωματική ένταση, πλούτο, ισορροπία, αρωματική διάρκεια και επίγευση.

Σε ότι αφορά στον διαχωρισμό των οίνων με βάση την επίδραση στην βαθμολογική κατάταξη του επιπέδου ωρίμανσης των σταφυλιών προκύπτει ότι και από τις 3 περιοχές οι οίνοι πρώιμων σταφυλιών (πρώιμης ωρίμανσης) βαθμολογήθηκαν υψηλότερα σε σχέση με τους οίνους όψιμων σταφυλιών με εξαίρεση τον οίνο Σαντορίνης κλασσικής οινοποίησης. Σε ότι αφορά στον διαχωρισμό των οίνων με



βάση την επίδραση στη βαθμολογική κατάταξη της τεχνικής οινοποίησης (κλασσική ή με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση) υψηλότερες βαθμολογίες δώθηκαν στους οίνους που είχαν υποβληθεί σε κρυσταλλοποίηση (sample 1,4,7,8) παρότι για τους οίνους από την περιοχή της Νεμέας υψηλή βαθμολογία έχει λάβει και ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων πάντα σταφυλιών. Ο διαχωρισμός των οίνων με βάση την επίδραση που έχει στην βαθμολογική κατάταξη τους η γεωγραφική περιοχή προέλευσης των σταφυλιών δεν είναι διακριτός μιας και στις υψηλότερες βαθμολογίες υπάρχουν οίνους και από τις 3 περιοχές (sample 7,8,1,4) όπως φαίνεται στο σχήμα 21. Πρόκειται όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως για τους οίνους Νεμέας προζυμωτικής εκχύλισης πρώιμων σταφυλιών, Νεμέας κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών, Δράμας προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όψιμων σταφυλιών και Σαντορίνης προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης πρώιμων σταφυλιών.

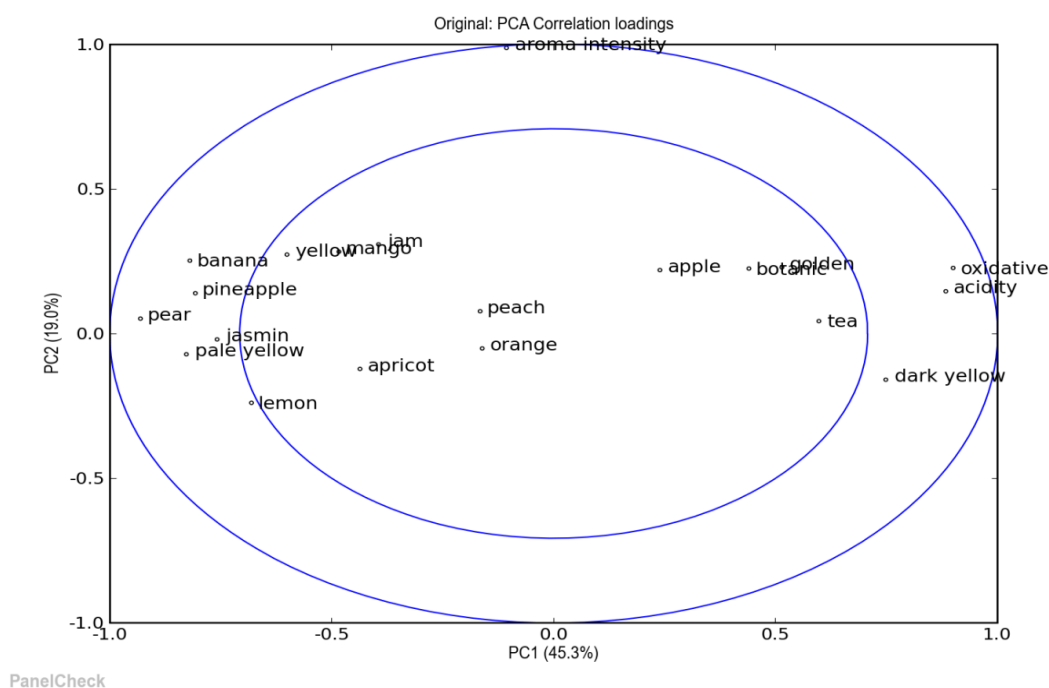


**Σχήμα 22.** Διάγραμμα PCA που οπτικοποιεί το πώς οι 18 κριτές ταξινόμησαν ως προς την συνολική εκτίμηση, τα 10 δείγματα οίνων που δοκίμαστηκαν

Όπως φαίνεται από το σχήμα 22 οι οίνους έχουν ομαδοποιηθεί με βάση τις ομοιότητες τους όπως αυτές καταγράφηκαν από τους κριτές. Ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης της Δράμας βρίσκεται πολύ κοντά με τον οίνος προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης της Νεμέας (δείγμα 1 και δείγμα 7) γεγονός που επιβεβαιώθηκε και από το σχήμα 22 όπου φάνηκε ο οίνος Νεμέας (δείγμα 7) να κατέχει την υψηλότερη βαθμολογία με πολύ κοντά του και τον οίνος της Δράμας (δείγμα 1) ο οποίος συγκέντρωσε τα περισσότερα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Ο οίνος κλασσικής οινοποίησης της Δράμας προσομοιάζει με τον οίνος κλασσικής οινοποίησης της

Νεμέας (δείγμα 2 και δείγμα 8). Ο οίνος Σαντορίνης προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών με τον "συζυγή" οίνο Νεμέας φέρουν επίσης κοινά χαρακτηριστικά ενώ τέλος οι οίνοι Σαντορίνης προζυμωτικής πρώιμων σταφυλιών, κλασσικής όψιμων και πρώιμων και ο οίνος Νεμέας κλασσικής οινοποίησης όψιμων δείχνουν να έχουν μεταξύ τους κοινά στοιχεία.

Συμπερασματικά η αξιολόγηση των οίνων από τους κριτές δείχνει μία προτίμηση στους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλικής από Δράμα, Σαντορίνη και Νεμέα. Η περιοχή της Δράμας είχε υψηλή βαθμολογία και για τις 2 συνθήκες οινοποίησης των σταφυλιών της ενώ μεγάλη προτίμηση και προσομοίωση με την Δράμα είχε και η περιοχή της Νεμέας.



**Σχήμα 23.** Διάγραμμα PCA που οπτικοποιεί το πώς οι 18 κριτές ταξινόμησαν τα χαρακτηριστικά των οίνων που δοκίμαστηκαν.

Το correlation loadings διάγραμμα στο σχήμα 23 χρησιμοποιείται για να ταυτοποιηθούν τα χαρακτηριστικά που έχουν πιθανά ζητήματα αναγνώρισης από τους κριτές. Από την ανάλυση θα μπορούσαν να εξαιρεθούν χαρακτηριστικά όπως το γιασεμί, λεμόνι, πορτοκάλι, βερύκοκο, αχλάδι, ανανάς, μάνγκο, βοτανικό, μαρμελάδα βερύκοκο, μήλο και άρωμα τσαγιού, γιατί για έναν ή και

περισσότερους κριτές η τυπική απόκλιση από την μέση τιμή ήταν 0 (μηδέν) , γεγονός που δείχνει την συμφωνία τους ως προς αυτά τα χαρακτηριστικά.

Σε ότι αφορά στα υπόλοιπα χαρακτηριστικά φαίνεται η όλη απόδοση μεταξύ των κριτών να είναι αρκετά ικανοποιητική για τα χαρακτηριστικά μιας και είναι όλα συγκεντρωμένα στον εξωτερικό δακτύλιο με μόνες εξαιρέσεις τα χρώματα κίτρινο και χρυσό που βρίσκονται στον εσωτερικό δακτύλιο.

Η οργανοληπτική δοκιμή των οίνων των τριών διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών έδειξε ότι οι οίνοι της Δράμας είχαν κοινά στοιχεία με εκείνους της Νεμέας, οι οποίοι όμως οίνοι της Νεμέας είχαν κοινά χαρακτηριστικά με τους οίνους της Σαντορίνης γεγονός που συνεπάγεται την καταγραφή κοινών χαρακτηριστικών και στις τρεις γεωγραφικές περιοχές. Οι διαφοροποιήσεις ήταν μικρές μεταξύ των δειγμάτων μιας και η κοινή ποικιλία και οι πανομοιότυπες συνθήκες ζύμωσης περιόρισαν τις διαφοροποιήσεις στην επίδραση των κλιματολογικών, εδαφικών και καλλιεργητικών συνθηκών.

## **Κεφάλαιο 14. Έλεγχος οξειδωτικής σταθερότητας στους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο από Σαντορίνη, Δράμα και Νεμέα για τις οινοποιητικές περιόδους 2012-2013**

### **14.1 Τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης**

Εφασμόστηκε το τεστ ταχείας αμάυρωσης όπως περιγράφηκε στο κεφάλαιο 8.2.6.1 το οποίο και είναι ένα τέστ για την αξιολόγηση της εμφάνισης του καφέ χρώματος στους οίνους. Τα δείγματα ελέχθηκαν για την επίδραση στο χρώμα τους κατά την διάρκεια της επιταχυνόμενης οξείδωσης στην οποία υποβλήθηκαν για 12 συνεχόμενες ημέρες. Για κάθε δείγμα προκύπτει μια καμπύλη μεταβολής της απορρόφησης του μήκους κύματος στα 420 nm.

Για την εκτίμηση της οξειδωσιμότητας κάθε δείγματος για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, οι ημέρες επώασης (άξονας x) αντιστοιχίζονται με τις απορροφήσεις (μέσος όρος των 3 απορροφήσεων) (άξονας y) σε ένα σύστημα αξόνων και προκύπτει μια καμπύλη μεταβολής της απορρόφησης στα 420 nm. Η γραμμή τάσης που προκύπτει περιγράφεται από μία εξίσωση της μορφής  $y = ax + \beta$  ή από την εξίσωση  $A_{420} = A_{420}^0 + kt$ , όπου θεωρούμε ως :

$A_{420}$  τη μεταβολή του χρώματος που προκύπτει στον οίνο (y) ,

$A_{420}^0$  την αρχική μέτρηση του χρώματος ( $\beta$ ) ,

συντελεστή k τον ρυθμό μεταβολής του χρώματος ( $\alpha$ ) και

t το χρονικό διάστημα (x).

Ο συντελεστής k χαρακτηρίζει την ταχύτητα μεταβολής του χρώματος στα 420 nm, για κάθε δείγμα είναι διαφορετικός και υπολογίζεται από τις παραπάνω καμπύλες. Όσο μικρότερη τιμή έχει ο συντελεστής k που αντιστοιχεί στην μεταβολή της απορρόφησης του μήκους κύματος 420nm τόσο πιο αργά θα εμφανιστούν οι καφέ αποχρώσεις και θα οξειδωθεί ο οίνος.

Παράλληλα, υπολογίστηκε η επί τις εκατό μεταβολή του χρώματος ως εξής :

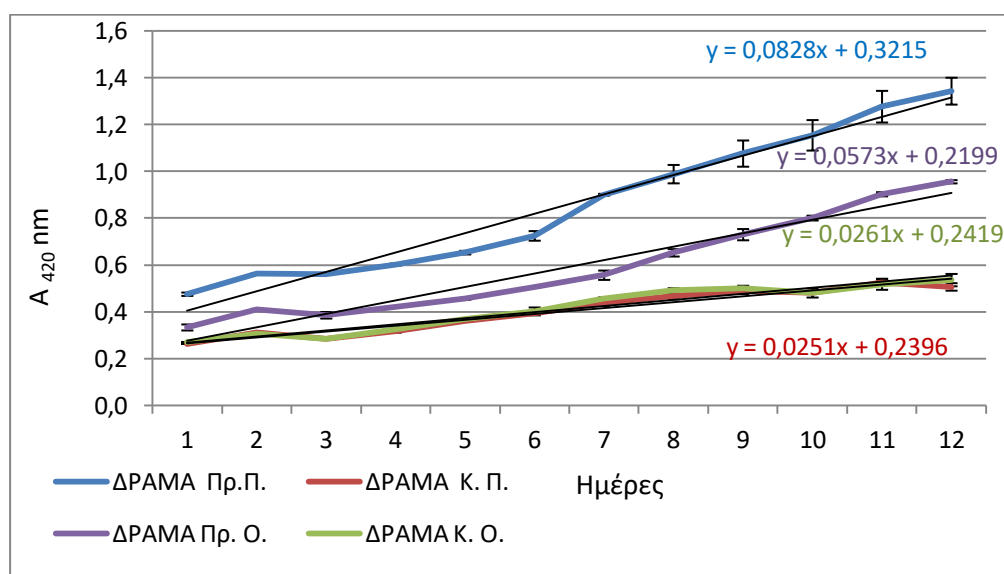
$$\% \Delta A_{420} = 100 \times [(A_{420d12} - A_{420d0}) / A_{420d12}]$$

Μεταβολές > 70% δείχνουν πιθανότητα browning.

Τα αποτελέσματα για κάθε δείγμα οίνου και για τις δύο χρονιές (2012,2013) αναγράφονται στους Πίνακες 34 και 35 .

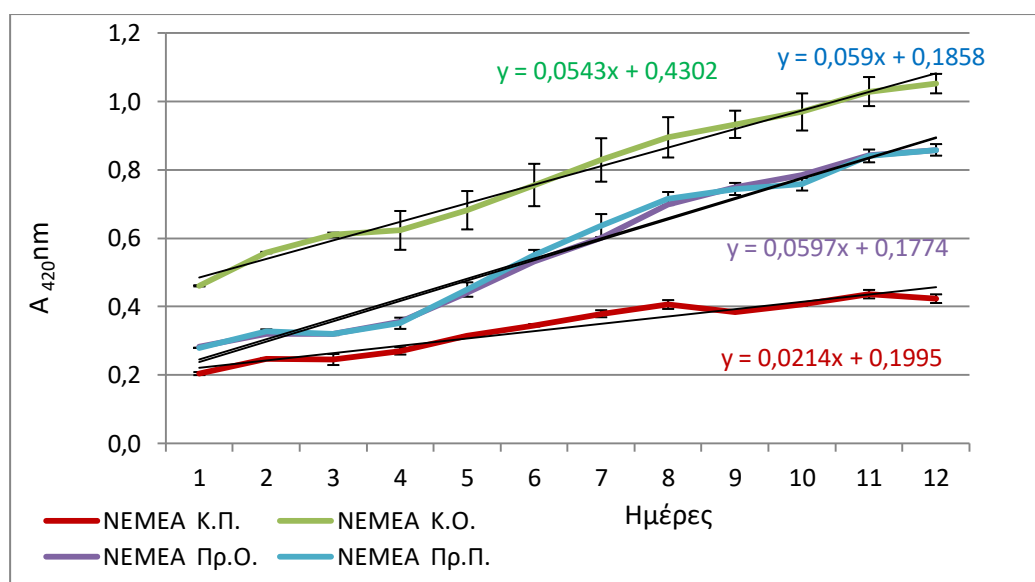
## 14.2 Αποτελέσματα για τους οίνους του 2012

Στα σχήματα που ακολουθούν (24,25,26) φαίνονται ο καμπύλες μεταβολής της απορρόφησης στα 420nm στους οίνους του 2012 οι οποίοι υποβλήθηκαν στο τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης.



**Σχήμα 24.** Καμπύλες μεταβολής απορρόφησης στα 420nm για τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας για την οινοποιητική χρονιά 2012

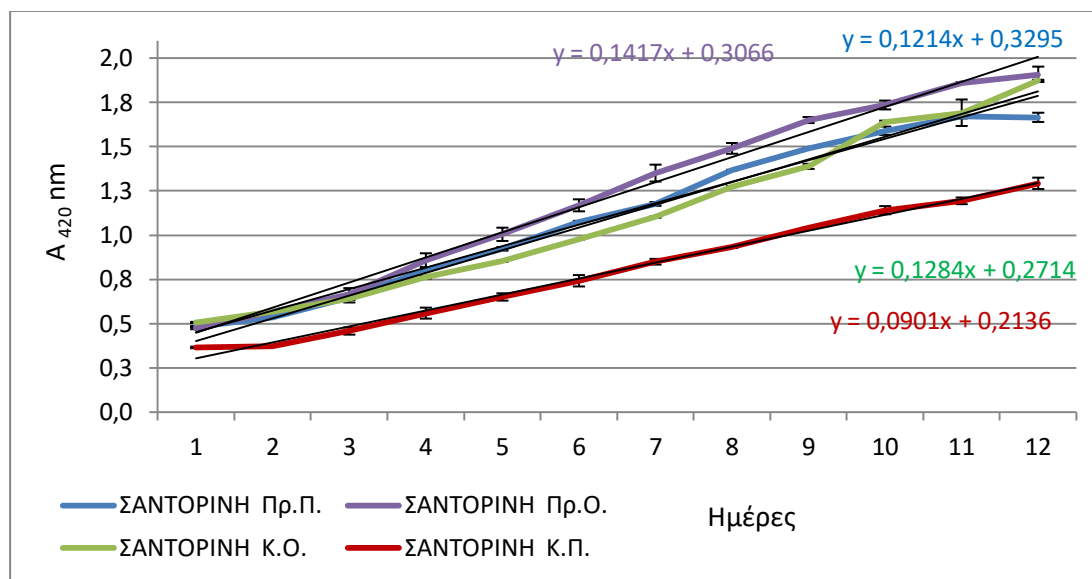
Όπως φαίνεται στο σχήμα 24 όπου δίνεται η εξέλιξη μεταβολής του χρώματος των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας διακρίνεται η διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων των παραγόμενων με την κλασσική οινοποίηση και αυτών της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης τα οποία και ξεκινάνε απο υψηλότερες τιμές απορρόφησης και ακολουθώντας μια ανοδική πορεία με μεγαλύτερες κλίσεις (0,0828 για την προζυμωτική κρυσεκχύλιση των πρώιμων σταφυλιών και 0,0573 για την προζυμωτική κρυσεκχύλιση των όψιμων σταφυλιών) καταλήγουν και σε υψηλότερες  $A_{420}$ .



**Σχήμα 25.** Καμπύλες μεταβολής απορρόφησης στα 420nm για τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας για την οινοποιητική χρονιά 2012

Στο σχήμα 25 φαίνονται οι καμπύλες εξέλιξης του χρώματος (μέσω της Απορρόφησης στα 420 nm) για τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας. Υψηλότερες τιμές απορρόφησης δείχνουν να έχουν οι οίνοι της κλασσικής οινοποίησης των όψιμων σταφυλιών. Τόσο οι αρχικές τιμές ήταν υψηλότερες από όλες τις υπόλοιπες συνθήκες όσο και οι τιμές κατά την πορεία εξέλιξης της επιταχυνόμενης οξείδωσης. Όσον αφορά στην κλίση της ευθείας που ορίζεται από αυτήν την πορεία, δείχνει να είναι σχεδόν ίδια με αυτή των ευθειών για τις συνθήκες της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης τόσο των όψιμων όσο και των πρώιμων σταφυλιών. Οι δύο αυτοί οίνοι, της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης των

όψιμων και πρώιμων σταφυλιών ακολούθησαν μία πανομοιότυπη πορεία εξέλιξης της οξειδωτικής αμαύρωσης. Τέλος, τις χαμηλότερες τιμές και την μικρότερη κλίση ευθείας είχε ο οίνος της κλασσικής οινοποίησης προερχόμενος από πρώιμα σταφύλια με περιεχόμενο προφανώς χαμηλότερο σε φαινολικά συστατικά συγκρινόμενος με τις υπόλοιπες συνθήκες. Συγκριτικά με τους οίνους της Δράμας, οι οίνοι της Νεμέας έφτασαν την 12η ημέρα του τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης σε χαμηλότερες τιμές απορρόφησης.



**Σχήμα 26.** Καμπύλες μεταβολής απορρόφησης στα 420nm για τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης για την οινοποιητική χρονιά 2012.

Όπως φαίνεται από το σχήμα 26 και τις καμπύλες εξέλιξης της οξειδωτικής αμαύρωσης των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο από το νησί της Σαντορίνης, και οι τέσσερις συνθήκες ακολούθησαν μία παρόμοια πορεία μιας και οι κλίσεις των ευθειών που πρέκυψαν έχουν πολύ παρόμοιες τιμές. Υψηλότερες τιμές αρχικές και τελικές έχουν οι οίνοι της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης οι οποίοι όπως και είναι αναμενόμενο έχουν μεγαλύτερο φαινολικό υπόστρωμα λόγω της παραμονής των φλοιών σε επαφή με το γλεύκος πριν την έναρξη της ζύμωσης. Ακολουθούν οι οίνοι της κλασσικής οινοποίησης με εκείνον της κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών να έχει τις χαμηλότερες τιμές απορρόφησης καθόλη την διάρκεια της επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι οίνοι της Σαντορίνης συνολικά, συγκρινόμενοι με τους οίνους των άλλων δυο περιοχών (Δράμα και Νεμέα) καταλήγουν σε υψηλότερες τιμές απορρόφησης και συνεπώς σε σκουρότερο χρώμα δείχνοντας την τάση των οίνων Σαντορίνης για μεγαλύτερη οξείδωση.

**Πίνακας 35.** % ρυθμός μεταβολής του χρώματος, γραμμή τάσης και συντελεστής k

ΟΙΝΟΙ 2012	% $\Delta A_{420}$	ΤΟΜΗ	$\gamma$ ( $A_{420}$ ) 12	$\beta$ ( $A_{420}$ ) 0	$\alpha$ (k)	x (t)	$\Upsilon$ μεταβολή χρώματος
ΔΡΑΜΑ Πρ. Π.	64,6	0,3215	1,3428	0,4752	0,0828	12	1,46875
ΔΡΑΜΑ Κ. Π.	48,1	0,2396	0,5064	0,2629	0,0251	12	0,56410
ΔΡΑΜΑ Πρ. Ο.	65,1	0,2199	0,9558	0,3332	0,0573	12	1,02080
ΔΡΑΜΑ Κ. Ο.	49,4	0,2419	0,5354	0,2707	0,0261	12	0,58385
ΝΕΜΕΑ Κ.Π.	51,8	0,1995	0,4233	0,2042	0,0214	12	0,46100
ΝΕΜΕΑ Κ.Ο.	56,2	0,4302	1,0520	0,4608	0,0543	12	1,11240
ΝΕΜΕΑ Πρ.Ο.	67,0	0,1774	0,8579	0,2835	0,0597	12	0,99990
ΝΕΜΕΑ Πρ.Π.	67,4	0,1859	0,8583	0,2795	0,0590	12	0,98750
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ Πρ.Π.	71,1	0,3295	1,6658	0,4818	0,1214	12	1,93855
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ Πρ.Ο.	75,2	0,3066	1,9090	0,4733	0,1417	12	2,17365
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ Κ.Ο.	73,0	0,2714	1,8746	0,5055	0,1284	12	2,04630
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ Κ.Π.	71,8	0,2136	1,2925	0,3643	0,0901	12	1,44545

Στόν πίνακα 35 φαίνονται οι τιμές της επι της % μεταβολής του χρώματος όπως επίσης και η τιμή του συντελεστή k . Οι τιμές της επί της %  $\Delta A$  για τους οίνους της Σαντορίνης είναι σαφώς υψηλότερες από τις υπόλοιπες συνθήκες και μεγαλύτερες του 70, γεγονός που φανερώνει ότι οι συγκεκριμένοι οίνοι έχουν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης browning. Μεταξύ αυτών μεγαλύτερη τιμή 75,2% εμφανίζει ο οίνος της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης των όψιμων σταφυλιών. Αξίζει να σημειωθούν οι μεγάλες διαφορές που εμφανίζουν οι τιμές των οίνων της Δράμας και της Νεμέας μεταξύ των συνθηκών κλασσικής οινοποίησης και προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης με πολύ χαμηλότερες τιμές για εκείνους της κλασσικής οινοποίησης. Οι οίνοι της Νεμέας παραγόμενοι με προζυμωτική κρυσταλλοποίηση εμφάνισαν τις υψηλότερες τιμές συγκρινόμενοι με εκείνους της Δράμας. Τα παραπάνω αποτελέσματα επιβεβαιώνουν και οι τιμές του συντελεστή k οι οποίες για τους οίνους της Σαντορίνης συγκριτικά με της Δράμας και Νεμέας είναι αισθητά μεγαλύτερες και συγκεκριμένα διπλάσιες, με εξαίρεση τον οίνο της Δράμας προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης πρώιμων σταφυλιών ο οποίος έχει τιμή k (0,0828) που πλησιάζει τις τιμές της Σαντορίνης οι οποίες κυμαίνονται γύρω στο 0,1000. Οι χαμηλές τιμές του συντελεστή k φανερώνουν την αργή εμφάνιση των καφέ αποχρώσεων και συνεπώς την καθυστέρηση στην οξείδωση του οίνου γεγονός που δείχνει να συμβαίνει για τους οίνους της Δράμας και Νεμέας σε αντίθεση με τους οίνους της Σαντορίνης.

## Στατιστική επεξεργασία (ANOVA)

Μετά από στατιστική επεξεργασία στις τιμές k που αναφέρονται στον πίνακα 29 για τους οίνους του 2012 οι οποίοι υποβλήθηκαν σε επιταχυνόμενη οξείδωση και προκειμένου να εξετάσουμε αρχικά την επίδραση της γεωγραφικής περιοχής (terroir) στην τάση για οξείδωση (browning), προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα.

**Πίνακας 36.** Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης One-way ANOVA: για τις περιοχές Δράμα, Νεμεα, Σαντορίνη Δ, Ν, Σ .

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	0,013897	0,006949	13,19	0,002
Error	9	0,004742	0,000527		
Total	11	0,018639			

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0229538	74.56%	68.91%	54.77%

επίπεδο σημαντικότητας 0.05%

Η υπόθεση της ανάλυσης έγινε με ίσες διακυμάνσεις

Όπως φαίνεται από τις ανωτέρω τιμες F και P και εφόσον η τιμή P είναι πολύ μικρότερη του 0,05 (επίπεδο σημαντικότητας με βάση το οποίο έγινε η ανάλυση) διαπιστώνεται ότι ως προς τις διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές είναι πολύ σημαντικές οι διαφορές μεταξύ τους με αισθητή την "υπεροχή" της Σαντορίνης, ακολουθούμενη από την περιοχή της Νεμέας και τέλος της Δράμας. Η τιμή του R<sup>2</sup> είναι σχετικά ικανοποιητική για τα πλαίσια της συγκεκριμένης έρευνας.

Σε ότι αφορά στην σύγκριση των διαφορετικών συνθηκών οινοποίησης μεταξύ τους, ανεξάρτητα της περιοχής προέλευσης των σταφυλιών προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα στον πίνακα 37.

**Πίνακας 37.** Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης One-way ANOVA: για τις διαφορετικές τεχνικές οινοποίησης A1, A2, A3, A4

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	0,003468	0,001156	<b>0,61</b>	<b>0,627</b>
Error	8	0,015171	0,001896		
Total	11	0,018639			



S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0435474	18.61%	0.00%	0.00%

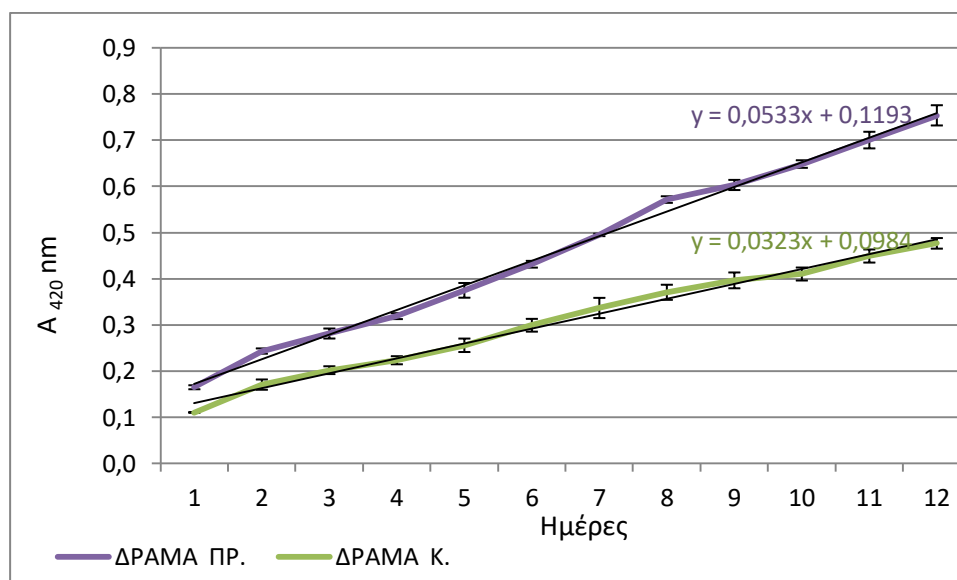
επίπεδο σημαντικότητας 0.05%

Η υπόθεση της ανάλυσης έγινε με ίσες διακυμάνσεις

Όπως φαίνεται από τις ανωτέρω τιμες F και P (πίνακας 37) και εφόσον η τιμή P είναι πολύ μεγαλύτερη από το 0,05 (επίπεδο σημαντικότητας με βάση το οποίο έγινε η ανάλυση), διαπιστώνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές k μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών οινοποίησης. Συνεπώς η τάση για οξείδωση των οίνων που μελετήθηκαν δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05%) συγκρινόμενοι μεταξύ τους ως προς τις διαφορετικές τεχνικές οινοποίησης οι οποίες εφαρμόστηκαν.

### 14.3 Αποτελέσματα για τους οίνους του 2013

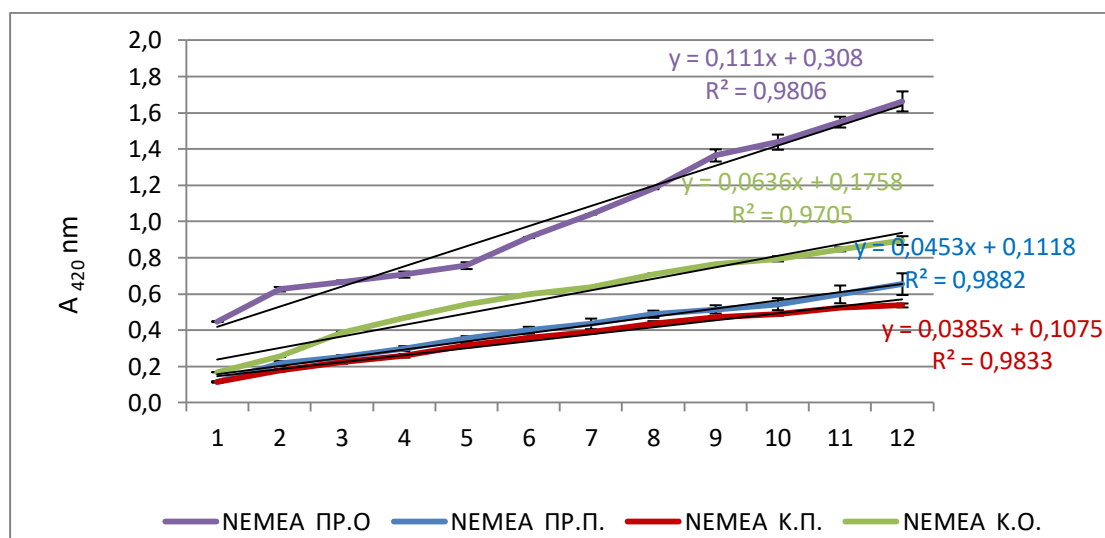
Στα σχήματα που ακολουθούν (21,22,23) φαίνονται οι καμπύλες μεταβολής της απορρόφησης στα 420nm στους οίνους του 2013 οι οποίοι υποβλήθηκαν στο τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης. Στους οίνους από την περιοχή της Δράμας υπάρχουν δύο συνθήκες και όχι τέσσερις με διάκριση την κλασσική και προζυμωτική κρουοεκύλιση μιας και δεν ήταν δυνατή η συγκομιδή των σταφυλιών σε διαφορετικές ωριμότητες.



**Σχήμα 27.** Καμπύλες μεταβολής απορρόφησης στα 420nm για τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας για την οινοποιητική χρονιά 2013.

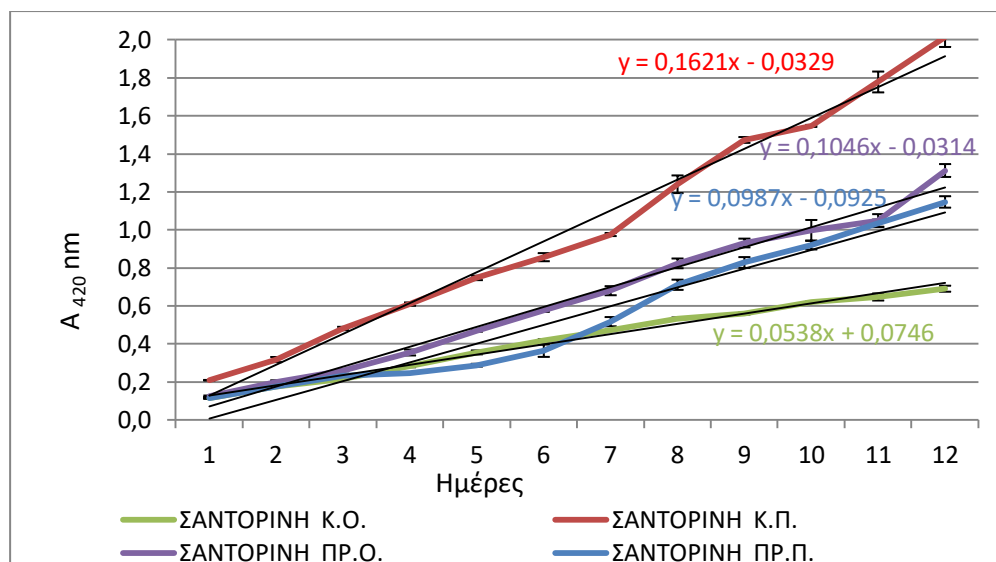
Όπως φαίνεται στο σχήμα 27 όπου δίνεται η εξέλιξη μεταβολής του χρώματος των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας φαίνεται η διαφορά μεταξύ των δειγμάτων του παραγόμενου με την κλασική οινοποίηση και εκείνου της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης το οποίο και ξεκινάει από υψηλότερες τιμές απορρόφησης και ακολουθώντας μια ανοδική πορεία με μεγαλύτερη κλίση (0,0533 για την προζυμωτική κρυσεκχύλιση και 0,0323 για την κλασική οινοποίηση) καταλήγει σε υψηλότερες τιμές απορρόφησης  $A_{420}$ .

Το εύρος των τιμών για τους οίνους του 2013 είναι πολύ κοντά σε αυτές της προηγούμενης χρονιάς όπως φαίνεται το σχήμα 24.



**Σχήμα 28.** Καμπύλες μεταβολής απορρόφησης στα 420nm για τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας για την οινοποιητική χρονιά 2013.

Στο σχήμα 28 φαίνεται η εξέλιξη της πορείας της επιταχυνόμενης οξειδωσης μέσω των μετρήσεων της απορρόφησης στα 420 nm για τους οίνους τους παραγόμενους με σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας. Φαίνεται χαρακτηριστικά η διαφορά του οίνου της Νεμέας της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης όψιμων σταφυλιών ο οποίος ξεκινάει από διπλάσια τιμή σε σχέση με τους υπόλοιπους και ακολουθώντας μία πορεία με επίσης την διπλάσια κλίση καταλήγει στις υψηλότερες τιμές (διπλάσιες) στο τέλος του τεστ. Ακολουθεί ο οίνος της κλασικής οινοποίησης των όψιμων σταφυλιών ενώ παρόμοιες είναι οι πορείες για τους οίνους των πρώιμων σταφυλιών της κλασικής οινοποίησης και της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης. Τα ανωτέρω δείγματα συγκρινόμενα με τους αντίστοιχους οίνους του 2012 κυμάνθησαν σε πολύ υψηλότερες τιμές χωρίς να επιβεβαιώσουν την ίδια σειρά.



**Σχήμα 29.** Καμπύλες μεταβολής απορρόφησης στα 420nm για τους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης για την οινοποιητική χρονιά 2013.

Στο σχήμα 29 φαίνονται οι καμπύλες μεταβολής της απορρόφησης στα 420 nm για τους οίνους της Σαντορίνης. Σημαντικά υψηλότερες τιμές απορρόφησης καθώς και την μεγαλύτερη κλίση στην διαγραφόμενη ευθεία έχει ο οίνος της κλασσικής οινοποίησης με τα πρώιμα σταφύλια. Μικρότερες τιμές αλλά με παρόμοιες πορείες έχουν οι οίνοι της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης ενώ στις χαμηλότερες τιμές και με την μικρότερη εξέλιξη βρίσκεται ο οίνος της κλασσικής οινοποίησης με τα όψιμα σταφύλια. Συγκρίνοντας τις τρεις περιοχές μεταξύ τους για την οινοποιητική χρονιά 2013 οι οίνοι της Σαντορίνης έδωσαν τις μεγαλύτερες απορροφήσεις και συνεπώς τα σκουρότερα χρώματα ακολουθούμενοι από αυτούς της Νεμέας και με μεγάλη διαφορά οι οίνοι της Δράμας.

**Πίνακας 38.** % ρυθμός μεταβολής του χρώματος, γραμμή τάσης και συντελεστής k

ΟΙΝΟΙ 2013	% $\Delta A_{420}$	ΤΟΜΗ	$\gamma$ ( $A_{420}$ )	$\beta$ ( $A_{420}$ 0)	$\alpha$ (k)	x (t)	$\gamma$ μεταβολή χρώματος
ΔΡΑΜΑ ΠΡ.	78,1	0,1193	0,7538	0,1649	0,0533	12	0,8045
ΔΡΑΜΑ Κ.	76,9	0,0984	0,4766	0,1103	0,0323	12	0,4979
ΝΕΜΕΑ ΠΡ.Ο.	73,1	0,3080	1,6627	0,4480	0,1110	12	1,7800
ΝΕΜΕΑ ΠΡ.Π.	82,6	0,1118	0,6546	0,1138	0,0453	12	0,6574
ΝΕΜΕΑ Κ.Π.	78,3	0,1075	0,5369	0,1164	0,0385	12	0,5784
ΝΕΜΕΑ Κ.Ο.	81,1	0,1758	0,8951	0,1690	0,0636	12	0,9322
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ Κ.Ο.	83,5	0,0746	0,6907	0,1140	0,0538	12	0,7596
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ Κ.Π.	89,6	0,0329	2,0136	0,2092	0,1621	12	2,1544
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ ΠΡ.Ο.	90,5	0,0314	1,3125	0,1250	0,1046	12	1,3802
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ ΠΡ.Π.	90,0	0,0925	1,1471	0,1148	0,0987	12	1,2992

Στον πίνακα 38 δίνονται οι τιμές της επί της % ΔΑ μεταβολής του χρώματος όπως επίσης και οι τιμές του συντελεστή  $k$  ο οποίος αφορά στο ρυθμό μεταβολής του χρώματος. Όλοι οι οίνοι έχουν τιμές % ΔΑ μεγαλύτερες του 70 γεγονός που δίνει την πιθανότητα για browning. Τις υψηλότερες τιμές έχουν οι οίνοι της προζυμωτικής εκχύλισης της Σαντορίνης (90 % ) ενώ ακολουθούν οι οίνοι της Σαντορίνης κλασσικής οινοποίησης και στη σειρά οι οίνοι της Νεμέας και τέλος της Δράμας. Η μεγάλη πιθανότητα για καφέτιασμα του οίνου η οποία και αφορά στους οίνους της Σαντορίνης εκτός από τις τιμές της μεταβολής του χρώματος επιβεβαιώνεται και από το χρώμα τους όπως φαίνεται στο σχήμα 24 που ακολουθεί όπου διακρίνονται οι οίνοι της Σαντορίνης στο δεξί άκρο.



**Εικόνα 18.** Φωτογραφία με τα vials που περιέχουν τους οίνους οι οποίοι υποβάλλονται σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης

Σε ότι αφορά στον συντελεστή  $k$  του ρυθμού μεταβολής του χρώματος , την υψηλότερη τιμή έχει ο οίνος Σαντορίνης κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών (0,1621) ενώ ακολουθούν με τιμές γύρω στο 0,1000 οι οίνοι προζυμωτικής κρυσεκχύλισης της Σαντορίνης καθώς και ο οίνος προζυμωτικής κρυσεκχύλισης όψιμων σταφυλιών της Νεμέας. Τις χαμηλότερες τιμές του συντελεστή έχουν οι οίνοι της Δράμας και τον χαμηλότερο εκείνος της κλασσικής

οινοποίησης (0,0323 και 0,0523). Μικρές τιμές του συντελεστή δείχνουν αργή εμφάνιση καφέ αποχρώσεων και κατά συνέπεια οξείδωση του οίνου.

Το χρώμα των λευκών οίνων οφείλεται κυρίως στην έντονη απορρόφηση στην υ.ν περιοχή η οποία επεκτείνεται ελαφρά στο ορατό τμήμα του φάσματος. Είναι πολύ σημαντικό για τον οινοποιό να είναι ικανός να προσδιορίσει ποι οινοί είναι πιο επιρρεπείς στο οξειδωτικό καφέτιασμα, οπότε αυτοί οι οινοί να προστατευθούν περισσότερο από το οξυγόνο. Για αυτόν τον λόγο είναι πολύ χρήσιμα τα γρήγορα τεστ που δείχνουν το συνολικό δυναμικό αμαύρωσης του οίνου μέσω της θέρμανσης παρουσία οξυγόνου (Du Plessis and Uys 1968, Singleton and Kramling 1976).

### Στατιστική επεξεργασία (ANOVA)

Μετά από στατιστική επεξεργασία στις τιμές k που αναφέρονται στον πίνακα 38 για τους οίνους του 2013 οι οποίοι υποβλήθηκαν σε επιταχυνόμενη οξείδωση και προκειμένου να εξετάσουμε αρχικά την επίδραση της γεωγραφικής περιοχής (terroir) στην τάση για οξείδωση (browning), προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα.

**Πίνακας 39.** Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης One-way ANOVA: για τις διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές **Δ1, Ν1, Σ1**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	0,006041	0,003021	<b>2,26</b>	<b>0,175</b>
Error	7	0,009350	0,001336		
Total	9	0,015391			

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0365468	39,25%	21,89%	0,00%

επίπεδο σημαντικότητας 0.05%

Η υπόθεση της ανάλυσης έγινε με ίσες διακυμάνσεις

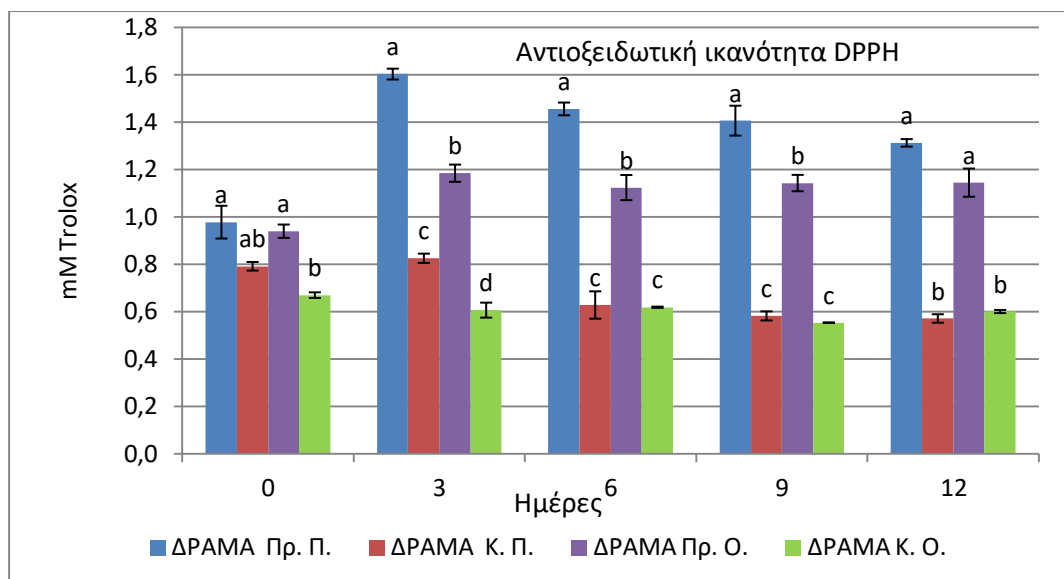
Όπως φαίνεται από τις ανωτέρω τιμες F και P (πίνακας 39) και εφόσον η τιμή P είναι πολύ μεγαλύτερη από το 0,05 (επίπεδο σημαντικότητας με βάση το οποίο έγινε η ανάλυση), διαπιστώνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές k των μελετώμενων οίνων με βάση τις διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, γεγονός που επιβεβαιώνεται εν μέρη από το γεγονός ότι φαίνεται και από τον πίνακα η ύπαρξη μικρότερων αλλά και μεγαλύτερων τιμών k και στις 3 περιοχές

χωρίς ευκρινή διαχωρισμό μεταξύ τους. Συνεπώς δεχόμαστε την μηδενική υπόθεση στην οποία βασίζεται η ανάλυση, ότι δηλαδή δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των περιοχών.

Σε ότι αφορά στην σύγκριση των τιμών  $k$  των οίνων 2013 και την στατιστική επεξεργασία αυτών με βάση τις διαφορετικές συνθήκες οινοποίησης, η εφαρμοζόμενη μέθοδος δεν έδωσε αποτελέσματα μιας και οι συνθήκες για την περιοχή της Δράμας ήταν 2 και όχι 4 όπως των δύο άλλων περιοχών. Κατά την σύγκριση μόνο ως προς τις 2 αυτές συνθήκες για τους οίνους και των τριών περιοχών προέκυψαν τιμές για  $F$ -value=0,07 και  $P$ -value=0,807, οι οποίες δείχνουν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05%, μεταξύ των διαφορετικών τεχνικών οινοποίησης που εφαρμόστηκαν στους οίνους του 2013 που παρηχθησαν από τις 3 διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές.

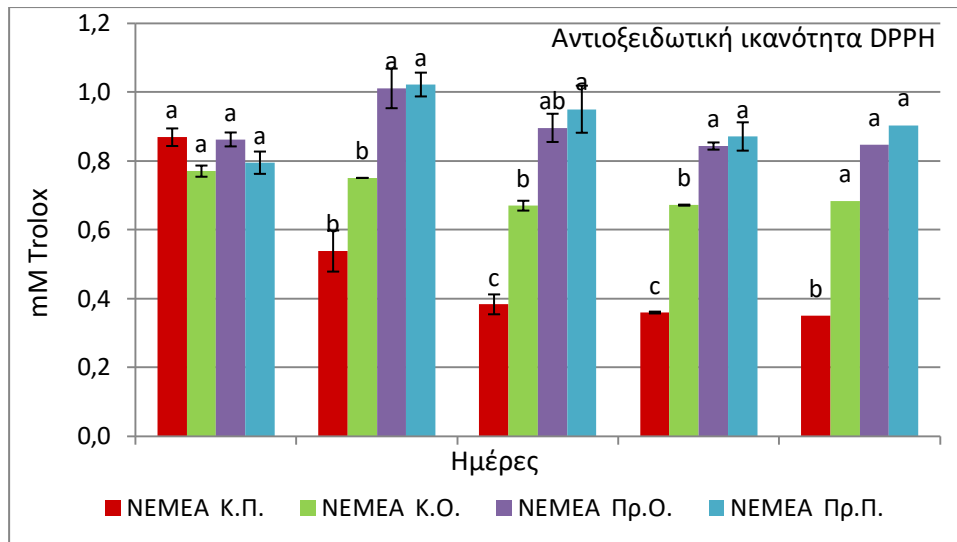
#### **14.4 Αποτελέσματα προσδιορισμού της Αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων του 2012**

Η αντιοξειδωτική ικανότητα-δράση προσδιορίστηκε με τη χρήση της ελεύθερης ρίζας DPPH\* (1,1-διφαινυλο-2-πικρύλο-υδράζυλο ελεύθερης ρίζας). Η δέσμευση της ελεύθερης ρίζας οδηγεί σε μείωση της απορρόφησης λόγω του αποχρωματισμού του διαλύματος που παρατηρείται (από ιώδες χρώμα σε κίτρινο ανοιχτό). Υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα μεταφράζεται σε αυξημένη δέσμευση της ελεύθερης ρίζας DPPH\*, παραγωγή ανοιχτόχρωμου προϊόντος και κατά συνέπεια μειωμένη τιμή απορρόφησης. Η μέτρηση της απορρόφησης γίνεται στα 515nm. Τα αποτελέσματα φαίνονται στα σχήματα που ακολουθούν και εκφράστηκαν με τη βοήθεια της πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox (ανάλογο βιταμίνης E)- DPPH\* σε ισοδύναμο Trolox. Συνεπώς η ποσότητα οίνου που απαιτήθηκε για τη δέσμευση της ελεύθερης ρίζας ανάχθηκε σε ισοδύναμο Trolox που είχαν την ίδια ικανότητα δέσμευσης. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του οίνου είναι τόσο καλύτερη όσο μεγαλύτερο είναι το ισοδύναμο Trolox στο οποίο αντιστοιχεί. Οι μετρήσεις της αντιοξειδωτικής ικανότητας έγιναν παράλληλα με τις μετρήσεις απορρόφησης στα 420nm με την διαφορά ότι πραγματοποιήθηκαν την 0η, 3η, 6η, 9η και 12η ημέρα υποβολής των οίνων σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων, εκφρασμένα σε mM Trolox, εμφανίζονται στα σχήματα 30,31,32 όπου δίνονται οι μέσοι όροι των τριών μετρήσεων με την τυπική απόκλιση STDEV .



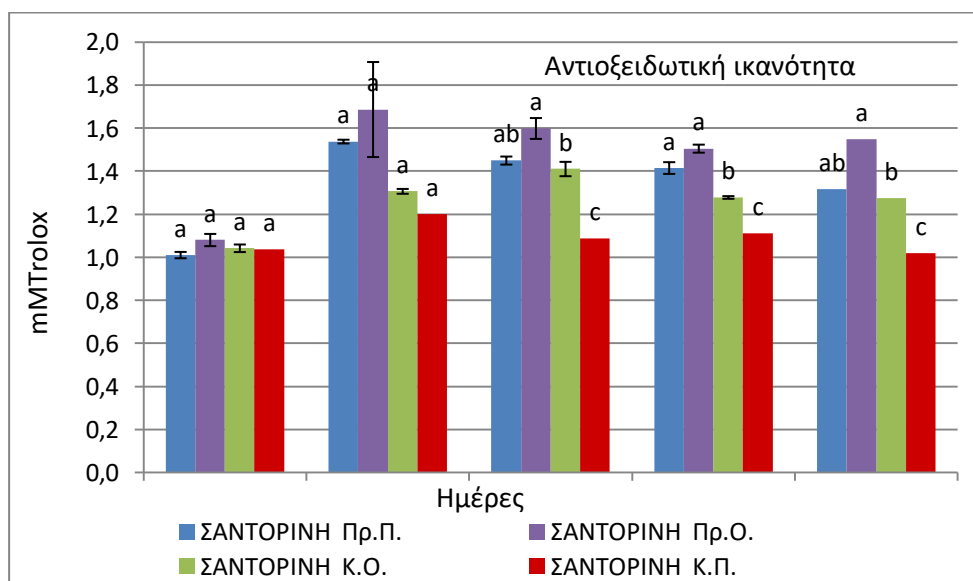
**Σχήμα 30.** Μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας του τρύγου 2012 ,ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης .Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Όπως φαίνεται από το σχήμα 30 για τους οίνους της Δράμας τις μεγαλύτερες διακυμάνσεις στις τιμές έδειξαν οι οίνοι της προζυμωτικής κρουεγχύλισης, περισσότερο των πρώιμων σταφυλιών και κατά δεύτερον των όψιμων. Ήδη από την πρώτη μέτρηση (ημέρα 0 για το πείραμα της επιταχυνόμενης οξείδωσης) οι τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας για τους οίνους της προζυμωτικής κρουεγχύλισης ήταν υψηλότερες από εκείνες των οίνων κλασσικής οινοποίησης. Με την εξέλιξη του πειράματος αρχικά οι τιμές όλων (περισσότερο των οίνων προζυμωτικής κρουεγχύλισης) αυξήθηκαν πολύ ενώ με την πάροδο του χρόνου άρχισαν να μειώνονται σταδιακά. Για τον οίνο της προζυμωτικής κρουεγχύλισης των όψιμων σταφυλιών μετά την πρώτη αύξηση που παρουσίασε την 3η ημέρα οι τιμές στη συνέχεια διατηρήθηκαν σχεδόν στα ίδια επίπεδα που σημαίνει ότι διατήρησε την ίδια αντιοξειδωτική ικανότητα μή αλλοιώνοντας τα χαρακτηριστικά του. Την μεγαλύτερη διακύμανση εμφάνισε ο οίνος προζυμωτικής κρουεγχύλισης των πρώιμων σταφυλιών. Η αισθητή διαφορά μεταξύ των οίνων κλασσικής οινοποίησης και προζυμωτικής κρουεγχύλισης οφείλεται κατά βάση στην υπεροχή των δεύτερων σε φαινολικά συστατικά ως αποτέλεσμα της κρουεγχύλισης. Πολύ μικρές ήταν οι διακυμάνσεις για τους οίνους της κλασσικής οινοποίησης.



**Σχήμα 31** Μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας του τρύγου 2012, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Όπως φαίνεται στο σχήμα 31 οι οίνοι της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης έδωσαν τις υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας παρότι στην πρώτη μέτρηση (ημέρα 0 του πειράματος της επιταχυνόμενης οξείδωσης) οι τιμές και στους 4 οίνους ήταν πολύ κοντά μεταξύ τους. Ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών ήταν αυτός που ξεκίνησε με πολύ υψηλή τιμή, παρόμοια εκείνων της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης) αλλά με την εξέλιξη της οξείδωσης έδειξε ραγδαία πτώση. Συγκριτικά με τους οίνους της περιοχής της Δράμας στο σύνολό τους κυμάνθηκαν σε χαμηλότερες τιμές.



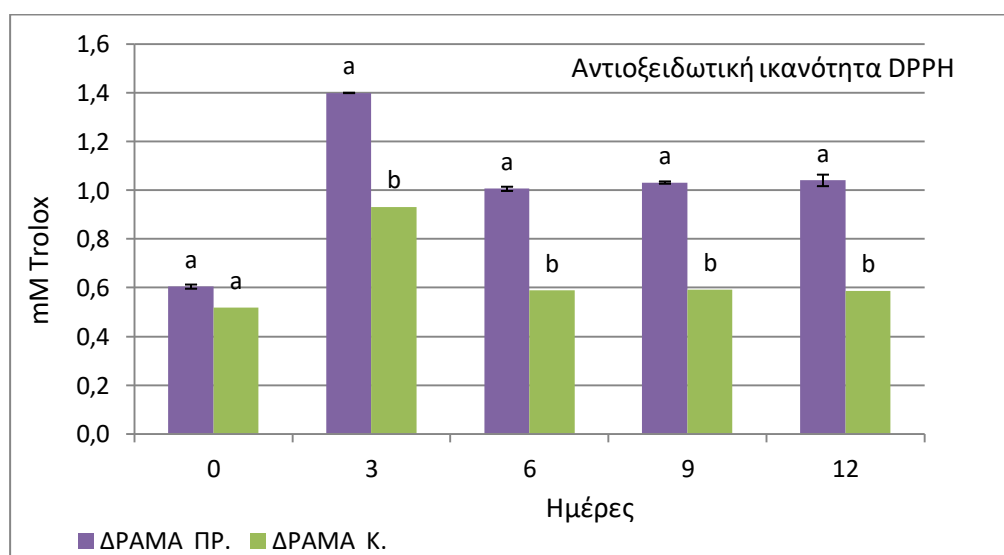


**Σχήμα 32.** Μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης του τρύγου 2012, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Από το σχήμα 32 φαίνονται οι διαβαθμίσεις της αντιοξειδωτικής ικανότητας για τους οίνους της Σαντορίνης. Παρότι στην πρώτη μέτρηση οι τιμές είναι σχεδόν πανομοιότυπες και για τις 4 συνθήκες όσο εξελίσσεται η διαδικασία της επιταχυνόμενης οξείδωσης οι τιμές για τους οίνους της προζυμωτικής κρουοεκχύλισης αυξάνονται στην δεύτερη μέτρηση ακολουθώντας στη συνέχεια μια πτωτική τάση. Την υψηλότερη τιμή από όλους τους οίνους παρουσιάζει ο οίνος προζυμωτικής κρουοεκχύλισης των όψιμων σταφυλιών ενώ την χαμηλότερη ο οίνος κλασσικής οινοποίησης των πρώιμων σταφυλιών. Συγκριτικά με τους οίνους των άλλων δύο περιοχών οι τιμές για τους οίνους της Σαντορίνης φτάνουν σε υψηλότερα επίπεδα.

#### 14.5 Αποτελέσματα προσδιορισμού της Αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων του 2013

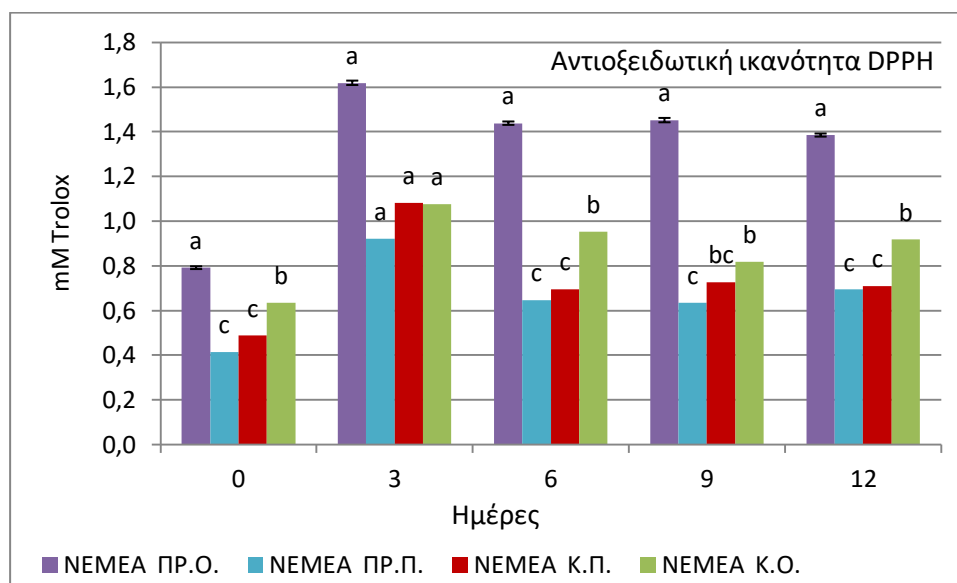
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων, εκφρασμένα σε mM Trolox, εμφανίζονται στα σχήματα 33,34,35 όπου δίνονται οι μέσοι όροι των τριών μετρήσεων με την τυπική απόκλιση STDEV.



**Σχήμα 33.** Μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας του τρύγου 2013, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα

ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

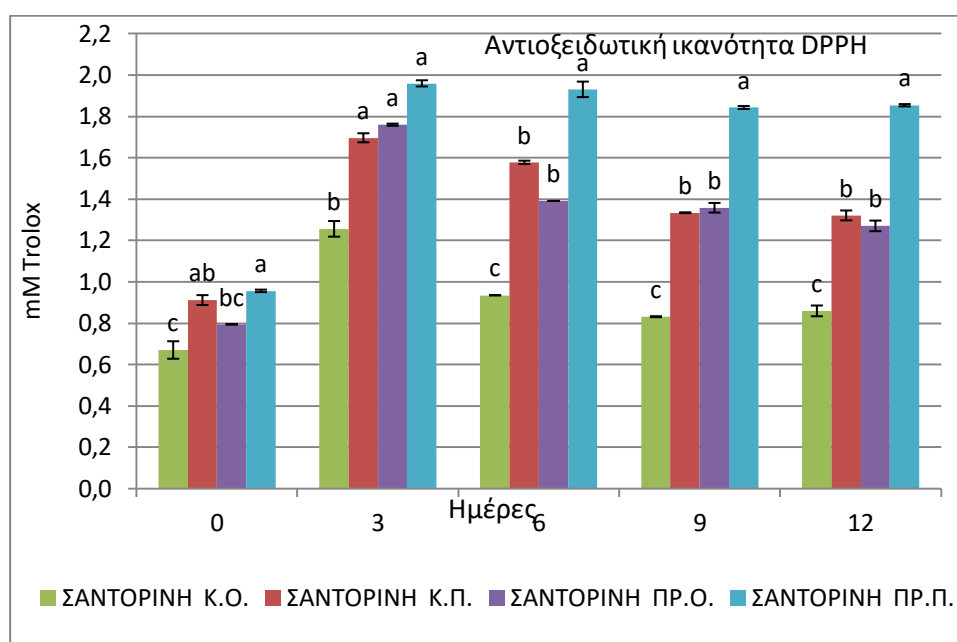
Για τον τρύγο του 2013 οι οίνοι από την περιοχή της Δράμας ήταν 2 και όχι 4 αντιστοιχώντας στις συνθήκες κλασσικής οινοποίησης και προζυμωτικής κρουοεχύλισης όψιμων σταφυλιών. Συνολικά, οι τιμές του οίνου προζυμωτικής κρουοεχύλισης κυμαίνονται σε υψηλότερες τιμές παρότι την ημέρα 0 οι τιμές είναι πολύ κοντά και για τις 2 συνθήκες. Την 3η ημέρα οι τιμές εκτοξεύονται σε πολύ υψηλά επίπεδα, και πολύ περισσότερο εκείνη του οίνου προζυμωτικής κρουοεχύλισης ακολουθώντας στη συνέχεια μια πτωτική πορεία.



**Σχήμα 34.** Μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας του τρύγου 2013, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Στο σχήμα 34 φαίνεται η εξέλιξη των τιμών της αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων από την περιοχή της Νεμέας του τρύγου 2013 όπου διαφαίνεται η αρκετά χαμηλή τιμή των τριών συνθηκών, ενώ ο οίνος της προζυμωτικής κρουοεχύλισης των όψιμων σταφυλιών εμφανίζει σχεδόν διπλάσια τιμή από τον οίνο προζυμωτικής κρουοεχύλισης πρώιμων σταφυλιών. Από την δεύτερη μέτρηση (3η ημέρα μετρήσεων από την έναρξη παραμονής των οίνων σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης) οι τιμές των οίνων σε mM Trolox διπλασιάστηκαν για τον οίνο της προζυμωτικής κρουοεχύλισης των όψιμων σταφυλιών ακολουθώντας οι δύο οίνοι της κλασσικής οινοποίησης ενώ στις χαμηλότερες τιμές διατηρήθηκε ο οίνος της προζυμωτικής κρουοεχύλισης των πρώιμων σταφυλιών. Την μεγαλύτερη τιμή

αντιοξειδωτικής ικανότητας την εμφανίζουν την 3η ημέρα όλοι οι οίνοι ενώ στην εξέλιξη του πειράματος ακολουθείται μια πτωτική πορεία για όλους με μικρές μεν διακυμάνσεις. Συγκριτικά με τους οίνους του 2012 οι υψηλότερες τιμές των οίνων του 2013 έφτασαν σε μεγαλύτερα επίπεδα (με μεγάλη διαφορά για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης και σε πιο χαμηλές τιμές για τους υπολοίπους).



**Σχήμα 35.** Μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης του τρύγου 2013, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

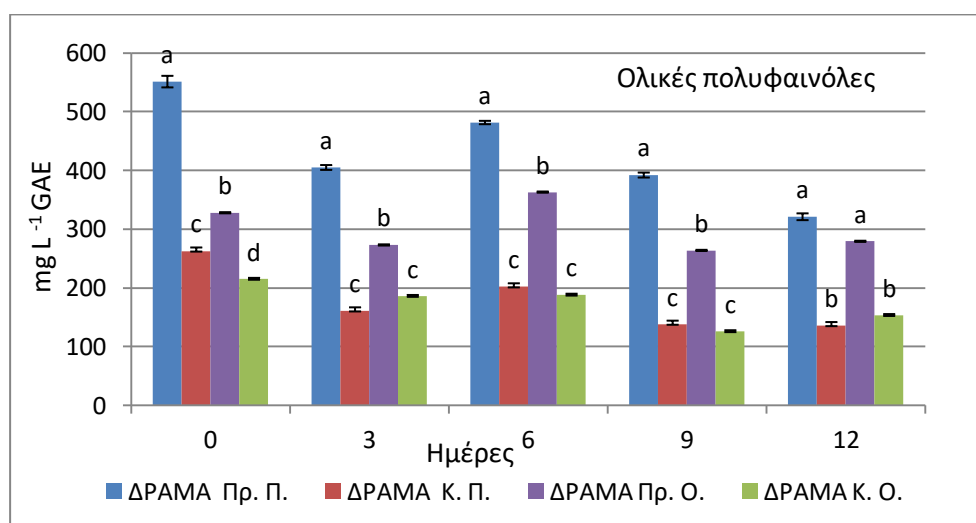
Όπως βλέπουμε στο σχήμα 35 όπου φαίνονται οι μετρήσεις των οίνων της Σαντορίνης φαίνεται ο οίνος της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης των πρώιμων σταφυλιών να διπλασιάζει την τιμή του κατά την δεύτερη μέτρηση και σχεδόν να την διατηρεί με την πάροδο του χρόνου. Ακολουθούν οι οίνοι προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης των όψιμων σταφυλιών μαζί με τον οίνο κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών ενώ τις χαμηλότερες τιμές δείχνει να έχει ο οίνος της κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών. Συγκριτικά με τους οίνους του 2012 οι τιμές για τους οίνους του 2013 κυμαίνονται σε ελαφρά υψηλότερα επίπεδα επιβεβαιώνοντας την υπεροχή των οίνων προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης.

Συμπερασματικά θα λέγαμε ότι οι οίνοι της Σαντορίνης έδωσαν υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας σε σχέση με τους οίνους της Δράμας και Νεμέας και επίσης ότι κατά βάση και για τις 3 περιοχές και για τις 2 χρονιές οι οίνοι της

προζυμωτικής κρουεγχύλισης ξεχωρίζουν μιας και λόγω του μεγαλύτερου φαινολικού φορτίου που διαθέτουν δίνουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

#### 14.6 Αποτελέσματα πολυφαινολικού περιεχομένου των οίνων του 2012 που υποβλήθηκαν στο τεστ της επιταχυνόμενης οξείδωσης

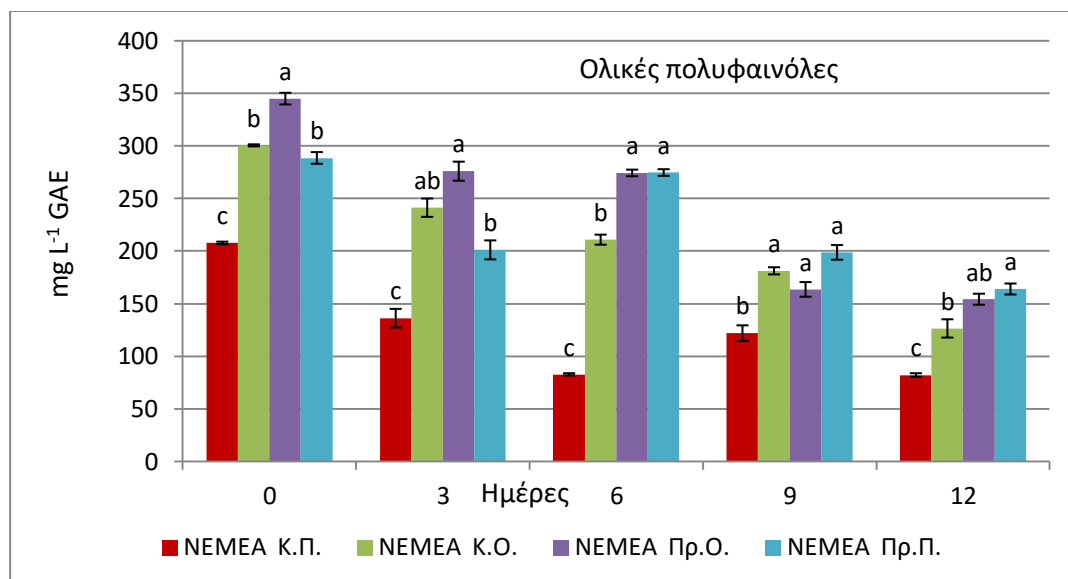
Ο προσδιορισμός του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε με την χρωματομετρική οξειδοαναγωγική αντίδραση Folin Ciocalteu. Πρόκειται για ένα μίγμα μολυβδαινικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ ), βολφραμικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{WO}_4$ ) και φωσφορικού οξέος ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) και προκαλεί οξείδωση των φαινολικών ιόντων με ταυτόχρονη αναγωγή των ετερόπολυμερών οξέων. Το προϊόν της αντίδρασής του με τα φαινολικά συστατικά είναι ένα σύμπλεγμα μολυβδαινίου-βολφραμίου χαρακτηριστικής μπλέ χρώσης που απορροφάει στο ορατό στα 725 nm. Στα σχήματα που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα εκφρασμένα σε  $\text{mg L}^{-1}$  ισοδύναμα γαλλικού οξέος (gallic acid equivalents, GAE), και τα οποία έχουν προκύψει από την πρότυπη καμπύλη αναφοράς του γαλλικού οξέος η οποία αναφέρθηκε στο κεφ. 8.2.6.3.



**Σχήμα 36**. Μετρήσεις ολικών ολυφαινολών με την μέθοδο Folin Ciocalteu και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας του τρύγου 2012, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

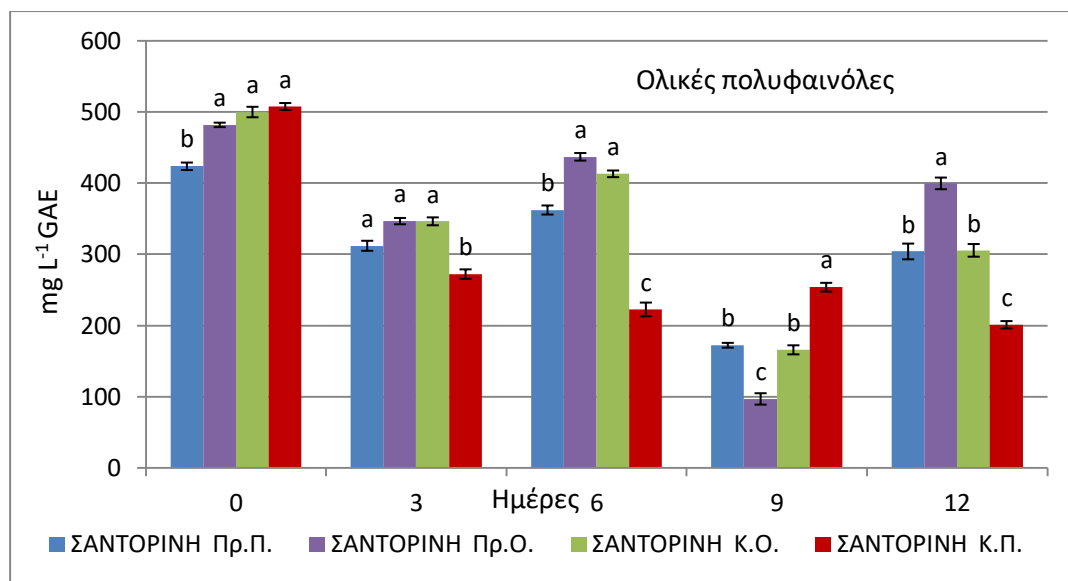
Από το σχήμα 36 φαίνεται καθαρά η υπεροχή του οίνου προζυμωτικής κρουεγχύλισης πρώιμων σταφυλιών σε σχέση με τους υπόλοιπους. Η ένδειξη την ημέρα 0 δείχνει το πολυφαινολικό περιεχόμενο των οίνων. Η επόμενη μέτρηση που

γίνεται την 3η ημέρα οπότε και έχει ξεκινήσει η διαδικασία επιταχυνόμενης οξείδωσης δείχνει μια μείωση των τιμών αυτών οι οποίες όμως στη συνέχεια αυξάνονται ελαφρά για να συνεχίσουν να πέφτουν με πιο αργό ρυθμό μέχρι την 12η ημέρα. Οι οίνοι της κλασσικής οινοποίησης επιβεβαιώνουν και μέσω των συγκεκριμένων μετρήσεων την μειωμένη περιεκτικότητά τους σε πολυφαινολικά συστατικά σε σύγκριση με τους αντιστοιχούς οίνους που έχουν παραχθεί με προζυμωτική κρουεγχύλιση.



**Σχήμα 37.** Μετρήσεις ολικών ολυφαινολών με την μέθοδο Folin Ciocalteu και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας του τρύγου 2012, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Από το σχήμα 37 φαίνεται η εξέλιξη του πολυφαινολικού περιεχομένου των οίνων από την περιοχή της Νεμέας κατά την υποβολή τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Η εξέλιξη των μετρήσεων δείχνει μία αρμονική μείωση των αρχικών τιμών οι οποίες ξεκίνησαν από μέτριες τιμές με εξαίρεση τον οίνο της προζυμωτικής κρουεγχύλισης όψιμων σταφυλιών ο οποίος εμφάνισε την υψηλότερη τιμή ακολουθούμενος από τους οίνους της κλασσικής οινοποίησης και την χαμηλότερη τιμή εμφάνισε ο οίνος προζυμωτικής κρουεγχύλισης πρώιμων σταφυλιών. Μεταξύ 3ης και 6ης ημέρας του πειράματος για τους οίνους κλασσικής οινοποίησης των όψιμων και προζυμωτικής κρουεγχύλισης των πρώιμων παρατηρείται μια αύξηση ενώ για τους υπόλοιπους μία σχετική μείωση ή στασιμότητα. Την τελευταία πάντως ημέρα μετρήσεων οι τιμές των οίνων έχουν πέσει κάτω από το ήμισυ των αρχικών τιμών γεγονός που φανερώνει την μη ύπαρξη με την πάροδο της οξείδωσης φαινολικών συστατικών μη οξειδωμένων.

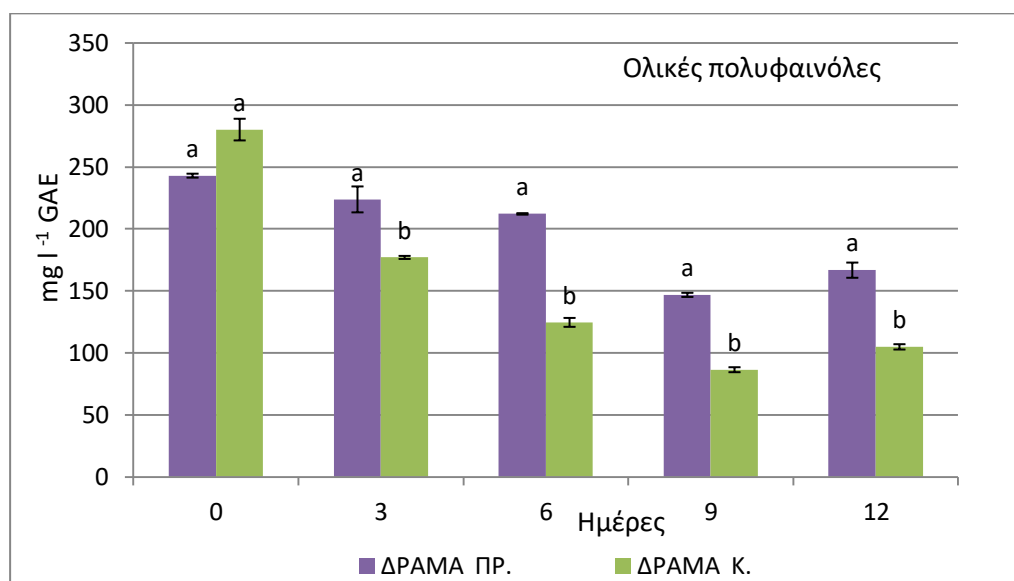


**Σχήμα 38.** Μετρήσεις ολικών ολυφαινολών με την μέθοδο Folin Ciocalteu και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης του τρύγου 2012, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Όπως φαίνεται από το σχήμα 38 οι αρχικές τιμές των ολικών πολυφαινολών κυμαίνονται σε υψηλότερα επίπεδα συγκρινόμενες με τις αρχικές τιμές των οίνων της Δράμας και της Νεμέας, με εξαίρεση τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών της Δράμας ο οποίος εμφάνισε ιδιαίτερα υψηλή τιμή. Ξεκινώντας η διαδικασία της επιταχυνόμενης οξείδωσης ξεκινάει μια πτωτική πορεία των τιμών που όμως την 6η ημέρα εμφανίζει μια αύξηση για όλους τους οίνους με εξαίρεση την κλασική οινοποίηση πρώιμων σταφυλιών ο οποίος δείχνει αύξηση την 9η ημέρα. Το γεγονός ότι στην τελευταία μέτρηση το πολυφαινολικό φορτίο δείχνει να αυξάνεται για τους οίνους της Σαντορίνης (περισσότερο για τους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλικής) τους διαφοροποιεί σε σχέση με τους οίνους των άλλων 2 περιοχών οι οποίοι καταλήγουν προοδευτικά σε χαμηλότερες τιμές.

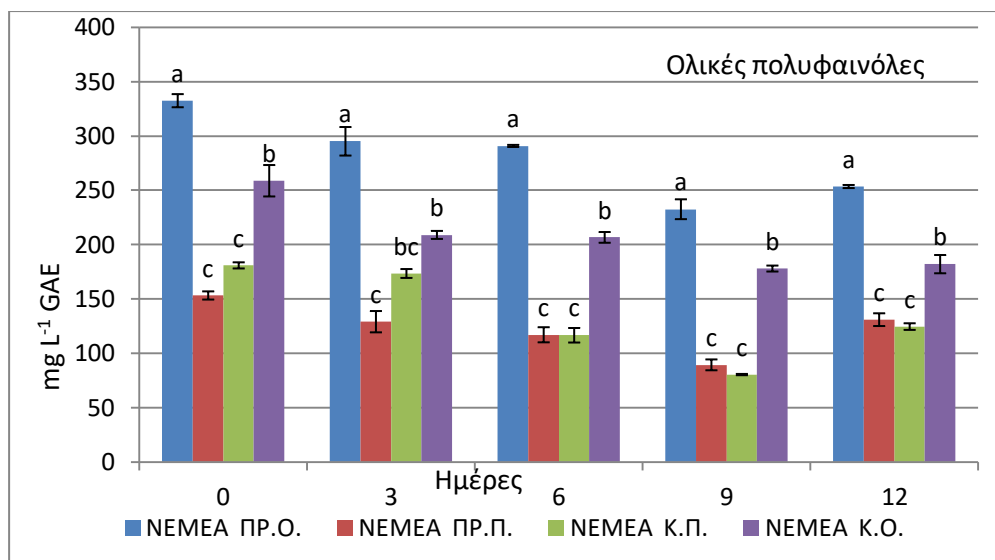
#### 14.7. Αποτελέσματα πολυφαινολικού περιεχομένου των οίνων του 2013 που υποβλήθηκαν στο τεστ της επιταχυνόμενης οξείδωσης

Για τους οίνους του 2013 ακολουθήθηκαν οι ίδιες διαδικασίες και μέσα από την υποβολή τους στο ίδιο πείραμα επιταχυνόμενης οξείδωσης προέκυψαν τα παρακάτω διαγράμματα για τους οίνους των τριών περιοχών.



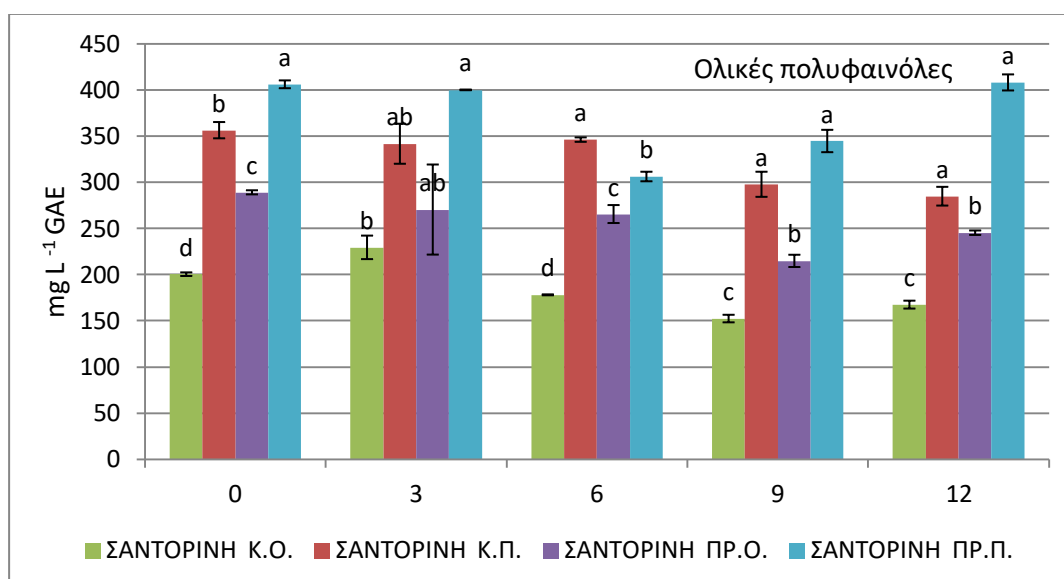
**Σχήμα 39.** Μετρήσεις ολικών ολυφαινολών με την μέθοδο Folin Ciocalteu και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας του τρύγου 2013, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Στο σχήμα 39 φαίνονται οι μετρήσεις των ολικών πολυφαινολών των οίνων από την περιοχή της Δράμας για τον τρύγο του 2013 χωρίς τον διαχωρισμό σε πρώιμα και όψιμα σταφύλια. Οι αρκετά υψηλές αρχικές τιμές και των δυο οίνων ( και μάλιστα κατά λίγο υψηλότερη η τιμή του οίνου κλασσικής οινοποίησης) ακολουθούν μια πτωτική πορεία με την εξέλιξη της οξείδωσης με μεγαλύτερες διακυμάνσεις για τον οίνο κλασσικής οινοποίησης από ότι για εκείνον της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης ο οποίος εμφανίζει μικρότερες μειώσεις. Συγκριτικά με τους οίνους της ίδιας περιοχής για τον προηγούμενο τρύγο το πολυφαινολικό περιεχόμενο κυμάνθηκε σε παρόμοια επίπεδα με εξαίρεση τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης πρώιμων σταφυλιών του 2012 που εμφάνισε πολύ υψηλές τιμές.



**Σχήμα 40.** Μετρήσεις ολικών ολυφαινολών με την μέθοδο Folin Ciocalteu και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Νεμέας του τρύγου 2013, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Όπως φαίνεται απο το σχήμα 40 ενώ οι οίνοι πρώιμων σταφυλιών κλασσικής οινοποίησης και προζυμωτικής κρυσεκχύλισης κυμαίνονται σε ιδιαίτερα χαμηλές τιμές, ο οίνος προζυμωτικής κρυσεκχύλισης έχει σχεδόν διπλάσια τιμή αρχικά και εμφανίζει μικρές σταδιακές μειώσεις. Αυξημένη αναλογικά τιμή εμφανίζει και ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών με σταδιακή μείωση κατά την εξέλιξη της οξείδωσης. Συγκριτικά με τους ίδιους οίνους του 2012 οι τιμές των ολικών πολυφαινολών είναι σε χαμηλότερα επίπεδα.





**Σχήμα 41.** Μετρήσεις ολικών ολυφαινολών με την μέθοδο Folin Ciocalteu και STDEV των οίνων της ποικιλίας ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης του τρύγου 2013, ανά 3 ημέρες κατά την διάρκεια υποβολής τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε δειγματοληψία διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Οι οίνοι της Σαντορίνης του 2013, όπως φαίνεται στο σχήμα 41, δείχνουν να έχουν ολικές πολυφαινόλες σε χαμηλότερα επίπεδα από ότι οι αντίστοιχοι του 2012. Ενώ στο 2012 την χαμηλότερη τιμή εμφάνισε ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης πρώιμων σταφυλιών, το 2013 ισχύει ακριβώς το αντίθετο. Για το 2013 την χαμηλότερη τιμή εμφανίζει ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών. Συνολικά οι τιμές των οίνων της Σαντορίνης δείχνουν μία υπεροχή συγκριτικά με τις υπόλοιπες περιοχές ως προς το πολυφαινολικό περιεχόμενο.

## Κεφάλαιο 15. Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών του αρώματος στους οίνους του 2012 και 2013 με την μεθοδο GC MS

### 15.1 Ποιοτικός προσδιορισμος στους οίνους του 2012

Οι οίνοι που παρήχθησαν από τα σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο τα οποία στάλθηκαν στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών από τις περιοχές της Δράμας, Νεμέας και Σαντορίνης αναλύθηκαν με την βοήθεια αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας GC MS αφού προηγουμένως εκχυλίστηκαν σύμφωνα με το πρωτόκολλο που αναφέρεται στο κεφάλαιο 8.2.5. Στον πίνακα 40 που ακολουθεί φαίνονται οι πτητικές αρωματικές ενώσεις οι οποίες καταγράφηκαν στους οίνους του 2012 που αναλύθηκαν.

**Πίνακας 40.** Ποιοτική καταγραφή πτητικών αρωματικών συστατικών που ανιχνευθηκαν στους οίνους του 2012 μέσω της ανάλυσης με GC MS.

ΟΥΣΙΕΣ	ΟΙΝΟΙ 2012										ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ
	ΔΡ.Κ Ο	ΔΡ.Π Ρ.Ο	Ν.Κ. Π	Ν.Κ. Ο	Ν.Π Ρ.Ο	Ν.Π Ρ.Π	Σ.Κ. Π	Σ.Κ. Ο	Σ.Π Ρ.Π	Σ.Π Ρ.Ο	
Ανώτερες αλκοόλες											
1-πεντανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	λιπαρή αλκοόλη, γλυκιά αίσθηση
ισοαμυλική αλκοόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	δριμύς, γλυκό βάλαμο
3-μεθυλοθειο-1-προπανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	βραστά λαχανικά με πικάντικη νότα
1-εξανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	πράσινο-χορτώδες
3-έξεν-1-όλη	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	πράσινο-φυλλώδες, βότανα
1-οκταδεκανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ελαφρύ αοσμή σαπουνιού
βενζυλική αλκοόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ανθικό, τριαντάφυλλο
φαινυλαιθανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ανθικό, τριαντάφυλλο, ροδόνηρο
τυροσόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ελαφρά γλυκό, ανθικό, φρουτώδες
2,3 βουτανοδιόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	άοσμη, ελαφρά πικρόπικρη γεύση
3-αίθοξυ-1-προπανόλη	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	μαύρο φραγκοστάφυλο
τροπτοφόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	προκαλεί υπνηλία, συστατικό ρητίνης πεύκου
<b>Εστέρες</b>											
γαλακτικός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	185	+	+	+	βουτυρώδη-καραμέλας, γλυκιά κρεμώδη, βατόμουρο
εξανοϊκός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φρουτώδες, φράουλα, πράσινο μήλο, άνισο

οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φρουτώδη ,πεπόνι,ανανάς
λινολεϊκός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ήπια,λιπαρή,φρουτώδη
παλμιτικός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φρουτώδη,κρεμώδη,γαλακτώδη με βαλσαμική χροιά
ηλεκτρικός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ήπια,φρουτώδη,μαγειρεμένο μήλο
β-ύδροξυ βουτυρικός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φρουτώδη,πράσινο,φλούδα μήλου
αιθυλεστέρας της ακετυλογλυκίνης	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φρουτώδη
δι-μηλικός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	μαύρη ζάχαρη,γλυκός οίνος, φρουτώδη και βοτανική
οξικός φαινυλαιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	γλυκό,μέλι,γύρη,ανθικό-ρόδινο
οξικός ισοαμυλεστέρας	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	φρέσκια μπανάνα
ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	φράουλά ,φρουτώδη,ανθικό,ρούμι
πυρομικός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	αιθερική,φρουτώδη,γλυκιά με νότες από ρούμι
β-οξικός φαινυλαιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	γλυκό,μέλι με κακάο,ανθικό,βαλσαμική χροιά
<b>Οξέα</b>											
εξανοϊκό οξύ	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	ξινή,λιπαρή,ιδρωμένο τυρί
οκτανοϊκό οξύ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	λιπαρή,κηρώδης,φυτική,τυρί
δεκανοϊκό οξύ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	λιπαρή,ξινή,δυσάρεστη
n-νονανοϊκό οξύ	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	λιπαρή,κηρώδης με αρώματα επεξεργασμένου τυριού
οξικό οξύ	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	απότομη,πικάντικη,ξινή,ξύδι
μυριστικό οξύ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	κηρώδη,λιπαρή,κρεμώδης,σαπουνι καρύδας?
εξαδεκανοϊκό οξύ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	βαρυσά κηρώδη,χροιά κεριού,λαρδί και ζωικό λίπος
4-ύδροξυ βουτανικό οξύ	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	ήπια φρουτώδη,μαγειρεμένο μήλο
δωδεκανοϊκό οξύ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ξηρή,μεταλλική,γεύση από λάδι δάφνης
<b>Φαινόλες</b>											
2,4 δι-βούτυλο-φαινόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φαινολική
ευγενόλη	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	γαρύφαλλο

4 βινύλγουαιακόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	πικάντικη μπαχαρένια,καπνιστή (μπέικον)ξυλώδη
θυμόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	θυμάρι,ρίγανη
2-μεθόξυ-4 βινυλοφαινόλη	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	γαρύφαλλο,καπνιστό μπέικον,πικάντικη, φαινολική
4-((1E)-3-ύδροξυ-1- προπένυλο)-2- μεθόξυ φαινόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	κακάο,κονιάκ,ουίσκι με φρουτώδη νότα πράσινου μήλου
<b>Λακτόνες</b>											
γ-βουτυρολακτόνη	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	κρεμώδη,λιπαρή,ροδάκινο
<b>Φουράνια</b>											
Κουμαραν	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	κηρώδη,λιπαρή κρεμώδη τυριού,πράσινου τσαγιού

Δ.=ΟΙΝΟΙ ΑΠΟ ΣΤΑΦΥΛΙ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΣΥΡΤΙΚΟ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΔΡΑΜΑΣ  
Ν.= ΟΙΝΟΙ ΑΠΟ ΣΤΑΦΥΛΙ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΣΥΡΤΙΚΟ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΝΕΜΕΑΣ  
Σ.= ΟΙΝΟΙ ΑΠΟ ΣΤΑΦΥΛΙ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΣΥΡΤΙΚΟ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ  
Κ.=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ  
ΠΡ.=ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ  
Π.=ΠΡΩΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ  
Ο.=ΟΨΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Στον πίνακα 40 φαίνονται όλες οι αρωματικές ενώσεις που ανιχνεύτηκαν στους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο που παρήχθησαν από σταφύλια προερχόμενα από τις περιοχές της Δράμας, Νεμέας και Σαντορίνης και τα οποία οινοποιήθηκαν με τις ίδιες οινοποιητικές τεχνικές διατηρώντας τις ίδιες συνθήκες. Η πλειοψηφία των αρωματικών ουσιών που καταγράφηκαν, βρέθηκαν σε όλους σχεδόν τους οίνους, γεγονός που τις κατατάσει στην σκιαγράφιση του αρωματικού προφίλ της ποικιλίας καθώς φαίνεται να αποτελούν τον κοινό παρονομαστή του αρώματος της ποικιλίας Ασύρτικο ανεξαρτήτα από την γεωγραφική περιοχή καλλιέργειας αυτής.

Πρόκειται για τις ενώσεις, από την κατηγορία των αλκοολών της ισοαμυλικής αλκοόλης και της 1-πεντανόλης (άρωμα καυστικό-δριμύ, με γλυκειά αίσθηση), της 3-μεθυλοθειό-1-προπανόλης και της 1-εξανόλης (με αρώματα πράσινα - χορτώδη,βραστών λαχανικών), της βενζυλικής αλκοόλης και της φαινυλαιθανόλης (με αρώματα ανθικά, τριαντάφυλλου και ροδόκερου) και τέλος της τυροσόλης με την 2,3 βουτανοδιόλη (αρώματα ανθικά και φρουτώδη με ελαφρά γλυκόπικτη γεύση).

Από τους εστέρες, οι ενώσεις που βρέθηκαν κοινές σε όλους τους οίνους είναι ο γαλακτικός αιθυλεστέρας (άρωμα βουτυρώδη, γλυκιάς καραμέλας και βατόμουρου), ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας (αρώματα φρουτώδη, φράουλας και

πράσινου μήλου), ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας (αρώματα φρουτώδη, πεπόνι και ανανά), ο λινολεϊκός και παλμιτικός αιθυλεστέρας (με αρώματα λιπαρά, φρουτώδη,γαλακτώδη με βαλσαμική χροιά), ο ηλεκτρικός αιθυλεστέρας και ο β-ύδροξυ-βουτυρικός αιθυλεστέρας (με αρώματα φρουτώδη μαγειρεμένου μήλου και φλούδας πράσινου μήλου), ο αιθυλεστέρας της ακετυλογλυκίνης και ο δι-μηλικός αιθυλεστέρας (με αρώματα φρουτώδη, μαύρης ζάχαρης ,γλυκού οίνου και βαλσαμικά), ο πυρομικός αιθυλεστέρας και ο β-οξικός φαινυλαιθυλεστέρας (με αρώματα από ρούμι, γλυκά, μελιού , κακάου και ανθικά).

Τα κοινά οξέα που ανιχνεύτηκαν σε όλους τους οίνους είναι το οκτανοϊκό και δεκανοϊκό οξύ (με αρώματα λιπαρά, τυριού, ξινά), το μυριστικό οξύ και το εξαδεκανοϊκό οξύ (με κηρώδες , λιπαρό άρωμα από σαπούνη καρύδας, χροιά κεριού και ζωικού λίπους) και το δωδεκανοϊκό οξύ (με αρώματα από λάδι δάφνης και μεταλλική γεύση).

Τέλος, στην κατηγορία των φαινολών η 2,4 δι-βούτυλο φαινόλη (με φαινολικά αρώματα) , η 4-βινυλ γουαϊακόλη (με αρώματα πικάντικα, μπαχαρένια καπνιστού μπείκον και ξυλώδη), η θυμόλη (με αρώματα θυμαριού και ρίγανης ) και η 4-((1E)-3-ύδροξυ-1-προπένυλο)-2-μεθόξυ φαινόλη (με αρώματα κακάου, κονιάκ και ούισκυ με νότες πράσινου μήλου).

Οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των οίνων βασίζονται στην γεωγραφική περιοχή προέλευσης των σταφυλιών και μόνο και όχι στη μέθοδο οινοποίησης καθώς πρόκειται για αρωματικές ουσίες που ταυτοποιήθηκαν σε όλους τους οίνους της ίδιας γεωγραφικής προέλευσης ανεξαρτήτου οινοποιητικής τεχνικής.

Έτσι, μόνο στους οίνους από την περιοχή της Δράμας ανιχνεύτηκε η 3-έξεν-1-όλη (με αρώματα πράσινα,φυλλώδη, βοτάνων) και η 2-μεθόξυ-4-βινυλοφαινόλη (με αρώματα πικάντικα,φαινολικά, γαρύφαλλου και καπνιστού μπείκον). Στους οίνους από την περιοχή της Νεμέας ανιχνεύτηκαν το οξικό οξύ (με αρώματα ξινά, ξυδιού), η ευγενόλη (με άρωμα γαρύφαλλου), η 3-αιθόξυ-1 προπανόλη (με αρώματα μαύρου φραγκοστάφυλλου) και ο ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας (με αρώματα φρουτώδη, φράουλας, ανθικά και αίσθηση από ρούμι). Μόνο στους οίνους τους παραγώμενους από σταφύλια προερχόμενα από το νησί της Σαντορίνης ταυτοποιήθηκε το 4-ύδροξυ βουτανικό οξύ (με αρώματα φρουτώδη από μαγειρεμένο μήλο).

Οι κοινές αρωματικές ενώσεις οι οποίες βρέθηκαν σε οίνους διαφορετικών περιοχών είναι ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας (με αρώματα γλυκά, ανθικά, μελιού-γύρης και ρόδινα) ο οποίος βρέθηκε στους οίνους Δράμας και Νεμέας.

Στους οίνους από την περιοχή της Δράμας και σε εκείνους από την περιοχή της Σαντορίνης βρέθηκαν ως κοινές αρωματικές ενώσεις, το εξανοϊκό οξύ (με αρώματα

λιπαρά, ξινά ιδρωμένου τυριού) και το κούμαραν (με αρώματα τυριού, πράσινου τσαγιού, λιπαρά και κρεμώδη). Τέλος, οι κοινές αρωματικές ενώσεις για τους οίνους από σταφύλια από την περιοχή της Νεμέας και από την περιοχή της Σαντορίνης είναι ο οξικός ισοαμυλεστέρας (με αρώματα φρέσκιας μπανάνας) και το νονανοϊκό οξύ (με αρώματα λιπαρά, κηρώδη, επεξεργασμένου τυριού).

## 15.2 Ποσοτικός προσδιορισμός στους οίνους του 2012

Παρότι συμπερασματικά φαίνεται η ποιοτική καταγραφή των αρωματικών ενώσεων (με χρήση GC/MS) που ανιχνεύθηκαν στους μελετώμενους οίνους να τους διαχώρισε με βάση την περιοχή προέλευσης των σταφυλιών, ο ποσοτικός προσδιορισμός των βασικών αρωματικών ουσιών που φαίνεται στους πίνακες 41,42,43 που ακολουθούν δίνει μία εικόνα του αρώματος κάθε οίνου με βάση τις ποσότητες των πτητικών συστατικών του αρώματος των διαφόρων κατηγοριών.

**Πίνακας 41.** Ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων οίνων παραγόμενων από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενα από την περιοχή της Δράμας παραγωγής 2012 με GC/MS σε mg L<sup>-1</sup>

ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ	ΔΡΑΜΑ ΚΛ. Ο.	ΔΡΑΜΑ ΠΡ.Ο.
φαινυλαιθανόλη	11,22a±0,55	12,37a±0,5
1-πεντανόλη	10,08b±0,21	24,51a±0,5
1-εξανόλη	13,95b±0,40	16,15a±0,26
3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη	0,40b±0,03	0,63a±0,03
<b>άθροισμα αλκοολών</b>	<b>35,66b±0,3</b>	<b>53,65a±0,32</b>
εξανοϊκό οξύ	0,76b±0,05	1,15a±0,05
ισοβαλερικό οξύ	0,09b±0,00	0,18a±0,02
βουτυρικό οξύ	0,26b±0,04	0,62a±0,03
ισοβουτυρικό οξύ	0,35a±0,05	0,36a±0,05
<b>άθροισμα οξέων</b>	<b>1,46a±0,03</b>	<b>2,32a±0,04</b>
ισοαμυλικός αιθυλεστέρας	0,23b±0,03	0,60a±0,02
εξανοϊκός αιθυλεστέρας	1,77b±0,04	0,07a±0,00
2-μέθυλο βουτανικός αιθυλεστέρας	nd	nd
3-ύδροξυ βουτανικός αιθυλεστέρας	0,33b±0,02	0,66a±0,03
βουτανικός αιθυλεστέρας	0,93b±0,04	7,21a±0,16
οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0,63b±0,03	0,92a±0,03
οξικός-2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,05b±0,00	0,08a±0,01
<b>άθροισμα εστέρων</b>	<b>3,94b±0,03</b>	<b>9,53a±0,04</b>

Κ.=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

ΠΡ.=ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ

Ο.=ΟΨΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε πτητικό συστατικό διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Από τον πίνακα 41 φαίνεται η σημαντική ( σχεδόν διπλάσια) υπεροχή σε όλες τις κατηγορίες αρωματικών ουσιών του οίνου από την περιοχή της Δράμας που παρήχθη με προζυμωτική κρυσταλλική συγκριτικά με εκείνον που παρήχθη με κλασική οινοποίηση. Σε ότι αφορά στις αλκοόλες, το άθροισμα αυτών είναι πολύ μεγαλύτερο ( $53,65 \text{ mgL}^{-1}$ ) ως προς τον οίνο της κλασικής οινοποίησης ( $35,66 \text{ mgL}^{-1}$ ), ενώ παρατηρείται ότι η αλκοόλη η οποία έχει την μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι η 1- πεντανόλη ( $24,5 \text{ mgL}^{-1}$ ) συγκριτικά με το  $10,0 \text{ mgL}^{-1}$ , του οίνου κλασικής οινοποίησης. Μια μικρή υπεροχή εμφανίζει και η 1-εξανόλη, της τάξης των 3 μονάδων.

Στην κατηγορία των οξέων οι μεγαλύτερες διαφορές παρατηρούνται στο ισοβαλερικό και το βουτυρικό οξύ, όπου το πρώτο δίνει διπλάσια τιμή στον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής ενώ το δεύτερο λίγο παραπάνω από διπλάσια ( $0,62$  και  $0,26 \text{ mgL}^{-1}$  αντίστοιχα) δίνοντας και τα δύο μία οσμή τυριού και ταγγισμένου βουτύρου.

Στους εστέρες, τη μεγαλύτερη υπεροχή για τον οίνο της προζυμωτικής κρυσταλλικής έχει ο βουτανικός αιθυλεστέρας ( $7,21$  και  $0,93 \text{ mgL}^{-1}$  για τον οίνο κλασικής οινοποίησης αντίστοιχα) , ο ισοαμυλικός αιθυλεστέρας με τιμές  $0,60$  και  $0,23 \text{ mgL}^{-1}$ , και ο 3-ύδροξυ βουτανικός αιθυλεστέρας με ακριβώς διπλάσια τιμή ανάμεσα στους δύο οίνους ενώ και ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας εμφανίζει σημαντική υπεροχή με τιμές  $0,92$  και  $0,23 \text{ mgL}^{-1}$  αντίστοιχα. Οι εστέρες αυτοί δίνουν τα αρώματα του ανανά, του πεπονιού, της φλούδας του μήλου και της μπανάνας. Εντύπωση προκαλεί η υπεροχή του οίνου κλασικής οινοποίησης και σε σημαντική επιπλέον ποσότητα του εξανοϊκού αιθυλεστέρα σε ποσότητα  $1,77$  και  $0,07 \text{ mgL}^{-1}$  σε σχέση με τον οίνο προζυμωτικής εκχύλισης, εστέρας ο οποίος δίνει το άρωμα του πράσινου μήλου, φρουτώδες.

**Πίνακας 42.** Ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων οίνων παραγόμενων από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενα από την περιοχή της Νεμέας παραγωγής 2012 με GCMS σε  $\text{mg L}^{-1}$

ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ	NEMEA Κ.Π.	NEMEA Κ.Ο.	NEMEA ΠΡ.Ο	NEMEA ΠΡ.Π.
φαινυλαιθανόλη	10,50b±0,54	8,69c±0,66	19,68a±0,28	8,82c±0,12
1-πεντανόλη	49,34a±1,28	7,79d±0,51	25,71b±0,03	20,56c±1,03
1-εξανόλη	17,32a±1,15	14,54b±0,42	15,71ab±0,68	14,45b±0,10
3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη	0,48b±0,07	0,25c±0,12	1,17a±0,06	0,23c±0,01
<b>άθροισμα αλκοολών</b>	<b>77,64b±0,76</b>	<b>31,27c±0,42</b>	<b>62,52a±0,27</b>	<b>44,06c±0,32</b>

εξανοϊκό οξύ	0,58b±0,05	0,10c±0,03	0,87a±0,10	0,24c±0,03
ισοβαλερικό οξύ	0,10b±0,01	0,10b±0,00	0,32a±0,01	0,12b±0,01
βουτυρικό οξύ	0,47ab±0,14	0,23b±0,02	1,53a±0,47	0,39ab±0,02
ισοβουτυρικό οξύ	0,59a±0,13	0,32a±0,03	0,72a±0,03	0,41a±0,01
<b>άθροισμα οξέων</b>	<b>1,74ab±0,08</b>	<b>0,75a±0,02</b>	<b>3,43c±0,15</b>	<b>1,16ab±0,02</b>
ισοαμυλικός αιθυλεστέρας	0,63a±0,05	0,31a±0,09	0,22a±0,01	0,38a±0,08
εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0,26ab±0,05	0,07b±0	0,57a±0,09	0,21ab±0,06
2-μέθυλο βουτανικός αιθυλεστέρας	nd	nd	nd	nd
3-ύδροξυ βουτανικός αιθυλεστέρας	0,64a±0,05	0,10b±0,07	0,46ab±0,07	0,18ab±0,01
βουτανικός αιθυλεστέρας	74,00a±9,34	0,06b±0,03	0,93b±0,86	0,88b±0,64
οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0,64a±0,05	0,16a±0,04	0,91a±0,02	0,94a±0,30
οξικός-2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,04a±0,01	0,03a±0,00	0,08a±0,00	0,04a±0,00
<b>άθροισμα εστέρων</b>	<b>76,21a±1,37</b>	<b>0,72b±0,03</b>	<b>3,17c±0,15</b>	<b>2,62c±0,16</b>

Κ.=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

ΠΡ.=ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ

Π.=ΠΡΩΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Ο.=ΟΨΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε πτητικό συστατικό διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Στον πίνακα 42 φαίνεται η ποσοτικοποίηση των αρωματικών ουσιών που ανιχνεύθηκαν στους οίνους από την περιοχή της Νεμέας. Για τις κατηγορίες των αλκοολών και των οξέων φαίνεται η υπεροχή στις ποσότητες αυτών για τους οίνους της προζυμωτικής κρυοεκχύλισης σε σχέση με εκείνους της κλασσικής οινοποίησης μόνο για τα πρώιμα σταφύλια, ενώ τα όψιμα εμφανίζουν αρκετά κοντινές τιμές και σε αρκετές ενώσεις αντίστροφα υψηλότερες. Στις αλκοόλες την μεγαλύτερη ποσότητα της φαινυλαιθανόλης (άρωμα τριαντάφυλλου και ροδόκερου) σε σχέση με όλους τους υπόλοιπους οίνους που κυμαίνονται γύρω στα  $10 \text{ mgL}^{-1}$  έχει ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης όψιμων σταφυλιών με συγκέντρωση  $19,68 \text{ mgL}^{-1}$  ενώ διπλάσια τιμή από τους επόμενους σε συγκέντρωση οίνους στην 1-πεντανόλη (λιπαρή αλκοόλη, γλυκιά αίσθηση) έχει ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών. Έτσι με μεγαλύτερη συγκέντρωση σε αλκοόλες κατατάσσεται πρώτος ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών (με ποσότητα  $77,64 \text{ mgL}^{-1}$ ) και ακολουθούν ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης όψιμων σταφυλιών (με  $62,52 \text{ mgL}^{-1}$ ), ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης πρώιμων σταφυλιών (με ποσότητα  $44,06 \text{ mgL}^{-1}$ ) και τελευταίος ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών (με ποσότητα  $31,27 \text{ mgL}^{-1}$ ).

Στην κατηγορία των οξέων με διπλάσια τιμή από τον δεύτερο βρίσκεται ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης όψιμων σταφυλιών ( $3,43 \text{ mgL}^{-1}$ ), ενώ ακολουθούν ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών ( $1,74 \text{ mgL}^{-1}$ ), ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης πρώιμων σταφυλιών ( $1,16 \text{ mgL}^{-1}$ ) και τελευταίος ο



οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών ( $0,75 \text{ mgL}^{-1}$ ). Τα μεμονομένα οξέα στα οποία εμφανίζει αυξημένες ποσότητες ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής άγουρων σταφυλιών είναι το εξανοϊκό, βουτυρικό και ισοβουτυρικό οξύ. Πρόκειται συνεπώς για την υπεροχή του οίνου αυτού σε αρώματα γαλακτοκομικών προϊόντων όπως το βούτυρο και το τυρί.

Σε ότι αφορά στους εστέρες, ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών της Νεμέας εμφανίζει εντυπωσιακά υψηλή τιμή ( $76,21 \text{ mgL}^{-1}$ ) στο σύνολο των εστέρων, την στιγμή που οι τιμές για τους υπόλοιπους οίνους κυμαίνονται στα  $3,17 \text{ mgL}^{-1}$  για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής άγουρων σταφυλιών, στα  $2,62 \text{ mgL}^{-1}$  για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών και στα  $0,72 \text{ mgL}^{-1}$  για τον οίνο κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών. Ο εστέρας που δίνει τόσο υψηλή συγκέντρωση και χάρη στον οποίον οφείλεται αυτή η εντυπωσιακή διαφορά τιμών είναι ο βουτανικός αιθυλεστέρας ( $74,0 \text{ mgL}^{-1}$ ). Η χαρακτηριστική οσμή του βουτανικού αιθυλεστέρα και σε τόσο υψηλή συγκέντρωση (με όριο ανίχνευσης τα  $0,015 \text{ ppm}$ ) προσδίδει στον συγκεκριμένο οίνο ένα κυρίαρχο άρωμα ανανά. Ο εστέρας που ακολουθεί σε συγκέντρωση με πολύ χαμηλότερες τιμές είναι αυτός του ισοαμυλικού αιθυλεστέρα (με την χαρακτηριστική οσμή της φρέσκιας μπανάνας) με τιμή  $0,63 \text{ mgL}^{-1}$ , η οποία όμως είναι σχεδόν διπλάσια από την αμέσως μικρότερη συγκέντρωση που είναι στον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών  $0,38 \text{ mgL}^{-1}$  και  $0,31 \text{ mgL}^{-1}$  στον οίνο κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών αντίστοιχα. Ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας (με χαρακτηριστική οσμή από πεπόνι και ανανά) εμφανίζει υψηλές τιμές στους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων και όψιμων σταφυλιών ( $0,94$  και  $0,91 \text{ mgL}^{-1}$  αντίστοιχα) ενώ στον οίνο κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών φτάνει τα  $0,64 \text{ mgL}^{-1}$ , με μεγάλη διαφορά από τον οίνο κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών που περιορίζεται στα  $0,16 \text{ mgL}^{-1}$ . Τέλος, ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας εμφανίζει την υψηλότερη τιμή στον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών, τα  $0,57 \text{ mgL}^{-1}$  ενώ ο αμέσως επόμενος οίνος με την μικρότερη συγκέντρωση είναι αυτός της κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών με  $0,26 \text{ mgL}^{-1}$  και της προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών με  $0,21 \text{ mgL}^{-1}$ . Ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας έχει την χαρακτηριστική οσμή του φρουτώδους-πράσινου μήλου, φράουλας.

**Πίνακας 43.** Ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων οίνων παραγόμενων από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενα από την περιοχή της Σαντορίνης παραγωγής 2012 με GCMS σε  $\text{mg L}^{-1}$

ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ	ΣΑΝΤΟΡ. Κ.Π.	ΣΑΝΤΟΡ. Κ.Ο.	ΣΑΝΤΟΡ.ΠΡ.Π.	ΣΑΝΤΟΡ.ΠΡ.Ο.
φαιθυλαιθανόλη	$8,88b \pm 0,21$	$7,50b \pm 2,01$	$8,26b \pm 1,93$	$23,36a \pm 3,27$
1-πεντανόλη	$10,27b \pm 1,98$	$24,86b \pm 5,55$	$9,40b \pm 0,85$	$280,13a \pm 33,27$
1-εξανόλη	$14,19b \pm 0,10$	$14,36b \pm 0,34$	$14,29b \pm 1,06$	$26,11a \pm 1,27$

3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη	0,25b±0,04	0,45b±0,03	0,24b±0,04	1,76a±0,36
<b>άθροισμα αλκοολών</b>	<b>33,59a±0,58</b>	<b>47,17b±2,48</b>	<b>32,19a±0,97</b>	<b>331,37c±9,54</b>
εξανοϊκό οξύ	0,12b±0,02	0,20b±0,02	0,18b±0,07	1,69a±0,35
ισοβαλερικό οξύ	0,11a±0,01	0,13a±0,01	0,12a±0,01	0,10a±0,03
βουτυρικό οξύ	0,27b±0,03	0,26b±0,04	0,28b±0,02	1,19a±0,23
ισοβουτυρικό οξύ	0,32b±0,01	0,36b±0,03	0,34b±0,04	1,36a±0,11
<b>άθροισμα οξέων</b>	<b>0,83b±0,03</b>	<b>0,95b±0,03</b>	<b>0,92b±0,04</b>	<b>4,34a±0,18</b>
ισοαμυλικός αιθυλεστέρας	0,23b±0,01	0,23b±0,02	0,22b±0,03	1,08a±0,12
εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0,43b±0,11	0,05c±0,03	0,06c±0,01	0,81a±0,10
2-μέθυλο βουτανικός αιθυλεστέρας	nd	Nd	Nd	Nd
3-ύδροξυ βουτανικός αιθυλεστέρας	0,07b±0,02	0,12b±0,02	0,32b±0,44	1,24a±0,07
βουτανικός αιθυλεστέρας	0,29b±0,06	0,72b±0,09	0,69b±0,09	41,28a±1,09
οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0,20b±0,00	0,11b±0,10	0,19b±0,03	2,47a±0,33
οξικός-2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,03a±0,00	0,14a±0,19	0,12a±0,16	0,30a±0,36
<b>άθροισμα εστέρων</b>	<b>1,24b±0,03</b>	<b>1,37b±0,18</b>	<b>1,60b±0,11</b>	<b>47,17a±0,30</b>

K.=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

ΠΡ.=ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ

Π.=ΠΡΩΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Ο.=ΟΨΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε πτητικό συστατικό διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Στον πίνακα 43 φαίνεται η ποσοτικοποίηση των αρωματικών ουσιών των οίνων από την περιοχή της Σαντορίνης. Στο συνολικό άθροισμα των αλκοολών ο οίνος που εμφανίζει εντυπωσιακή διαφορά από τους επόμενους είναι της προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών με  $331,37 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ ακολουθούν ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών με  $47,17 \text{ mg L}^{-1}$ , κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών με  $33,59 \text{ mg L}^{-1}$  και τέλος ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών με  $32,19 \text{ mg L}^{-1}$ . Η κυρίαρχη αλκοόλη που δημιουργεί αυτή την διαφορά είναι η 1-πεντανόλη (μία λιπαρή αλκοόλη που δημιουργεί γλυκιά αίσθηση) με συγκέντρωση  $280,13 \text{ mg L}^{-1}$  για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών και ακολουθούν ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών με συγκέντρωση  $24,86 \text{ mg L}^{-1}$ , ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών με τιμή  $10,27 \text{ mg L}^{-1}$  και τέλος ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών με τιμή  $9,40 \text{ mg L}^{-1}$ . Η υπεροχή του οίνου προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών επισημαίνεται και στην φαινυλαιθανόλη (με χαρακτηριστική οσμή ανθική-τριαντάφυλλου, ροδόκερου) που η συγκέντρωσή της φτάνει τα  $23,36 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ οι συγκεντρώσεις των υπόλοιπων τριών οίνων είναι με μικρές διαφορές γύρω στα  $8 \text{ mg L}^{-1}$ , ενώ το ίδιο συμβαίνει και με την 1-εξανόλη (με οσμή πράσινη-χορτώδη) που η τιμή της κυμαίνεται στα  $26,11 \text{ mg L}^{-1}$  για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών ενώ οι υπόλοιποι κυμαίνονται γύρω στα  $14 \text{ mg L}^{-1}$ .

Στην κατηγορία των οξέων έχει και πάλι την μεγαλύτερη συγκέντρωση ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών (με τιμή για το άθροισμα των οξέων στα 4,34 mg L<sup>-1</sup>) ενώ και οι τρεις υπόλοιποι είναι γύρω στο 0,90 mg L<sup>-1</sup>. Αισθητή είναι η υπεροχή του στα οξέα, στο εξανοϊκό (με τιμή 1,69 mg L<sup>-1</sup> σε σχέση με τους υπόλοιπους οίνους που είναι όλοι γύρω στο 0,20 mg L<sup>-1</sup>), το βουτυρικό ( με τιμή 1,19 mg L<sup>-1</sup> σε σχέση με τους υπόλοιπους οίνους που είναι όλοι γύρω στο 0,26 mg L<sup>-1</sup>) και στο ισοβουτυρικό ( με τιμή 1,36 mg L<sup>-1</sup> σε σχέση με τους υπόλοιπους οίνους που είναι όλοι γύρω στο 0,34 mg L<sup>-1</sup>). Συνεπώς με βάση τα οξέα φαίνεται ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών να χαρακτηρίζεται από αρώματα γαλακτοκομικών όπως τυριού και βουτύρου.

Στην κατηγορία των εστέρων, και πάλι την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο σύνολο την έχει ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών με τιμή 47,17 mg L<sup>-1</sup> ενώ όλοι οι υπόλοιποι οίνοι κυμαίνονται γύρω στο 1,4 mg L<sup>-1</sup>. Μεγάλες διαφορές στις συγκεντρώσεις εμφανίζει στον ισοαμυλικό αιθυλεστέρα με άρωμα φρέσκιας μπανάνας (με τιμή στα 1,08 mg L<sup>-1</sup> σε σχέση με τους υπόλοιπους οίνους που είναι όλοι γύρω στο 0,23 mg L<sup>-1</sup>), στον εξανοϊκό αιθυλεστέρα με άρωμα φρουτώδης πράσινου μήλου (με τιμή στα 0,81 mg L<sup>-1</sup> σε σχέση με τους υπόλοιπους οίνους που είναι όλοι γύρω στο 0,05 mg L<sup>-1</sup> με εξαίρεση όμως τον οίνο κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών που έχει τιμή στα 0,43 mg L<sup>-1</sup>). Ο 3-ύδροξυ βουτανικός αιθυλεστέρας με άρωμα φρουτώδης- πράσινο ,φλούδας μήλου ,έχει συγκέντρωση 1,24 mg L<sup>-1</sup> με αμέσως μικρότερη τη 0,32 mg L<sup>-1</sup> για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών και ακολουθούν οι οίνοι κλασσικής οινοποίησης με πολύ χαμηλές τιμές γύρω στο 0,10 mg L<sup>-1</sup>. Στον βουτανικό αιθυλεστέρα - άρωμα φρουτώδης φράουλας, η τιμή του οίνου προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών είναι στα 41,28 mg L<sup>-1</sup> ενώ οι τρεις υπόλοιποι κυμαίνονται πολύ κάτω από το 1,0 mg L<sup>-1</sup> και τέλος η συγκέντρωση του οίνου προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών για τον οκτανοϊκό αιθυλεστέρα (με άρωμα πεπονιού και ανανά), κυμαίνεται στα 2,47 mg L<sup>-1</sup> ενώ για τους 3 υπόλοιπους οίνους γύρω στα 0,20 mg L<sup>-1</sup>.

Συγκεντρωτικά και με βάση την ποσοτικοποίηση των βασικών αρωματικών συστατικών των οίνων προκύπτει ότι ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Σαντορίνης χαρακτηρίζεται από αρώματα ανθικά, τριαντάφυλλου, ροδόκερου, πράσινου χόρτου, γαλακτοκομικά αρώματα βούτυρου και τυριού, αρώματα φρέσκιας μπανάνας, πράσινου μήλου, φράουλας, πεπονιού και ανανά μέσα σε μία δρυμιά οσμή γλυκιάς αίσθησης. Οι υπόλοιποι οίνοι από την περιοχή της Σαντορίνης χαρακτηρίζονται από τα παραπάνω αρώματα αλλά σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις και με μικρές αποκλίσεις μεταξύ τους.

### 15.3 Ποιοτικός προσδιορισμός στους οίνους του 2013

Το 2013 επαναλήφθηκε η παραλαβή σταφυλιών της ποικιλίας Ασύρτικο από τις ίδιες γεωγραφικές περιοχές (Νεμέα, Δράμα και Σαντορίνη) και η παραγωγή οίνων με επανάληψη των ίδιων συνθηκών οινοποίησης οπότε και παρελήφθησαν τα ίδια τελικά προϊόντα. Η διαδικασία εκχύλισης των δειγμάτων και επεξεργασία τους με την χρήση του GC/MS ήταν ακριβώς η ίδια και τα αποτελέσματα της ποιοτικής καταγραφής των αρωματικών ενώσεων που εντοπίστηκαν στους οίνους φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

**Πίνακας 44.** Ποιοτική καταγραφή πτητικών αρωματικών συστατικών που ανιχνεύθηκαν στους οίνους του 2013 μέσω της ανάλυσης με GC/ MS.

ΟΥΣΙΕΣ	ΟΙΝΟΙ 2013										ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ	
	ΔΡ. Κ.Ο	ΔΡ. ΠΡ.Ο	Ν. Κ.Π	Ν. Κ.Ο	Ν. ΠΡ.Ο	Ν. ΠΡ.Π	Σ. Κ.Π	Σ. Κ.Ο	Σ. ΠΡ.Π	Σ. ΠΡ.Ο		
Ανώτερες αλκοόλες												
1-βουτανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	μεθυστική αλκοόλη
1-πεντανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	λιπαρή αλκοόλη, γλυκιά αίσθηση
ισοαμυλική αλκοόλη	+	+							+	+		δριμύς, φρουτώδη, μπανάνα
1-εξανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	πράσινο-χορτώδες
3-μεθυλοθείο-1-προπανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	βραστά λαχανικά με πικάντικη νότα
1-οκταδεκανόλη	+			+	+		+	+				ελαφρύ αοσμή σαπουνιού
βενζυλική αλκοόλη	+	+		+	+	+	+		+	+		ανθικό, τριαντάφυλλο
φαινυλαιθανόλη		+		+	+				+	+		ανθικό, τριαντάφυλλο, ροδόνη
δικετονική αλκοόλη	+				+	+		+		+		ήπια οσμή, ευχάριστη
3-αιθόξυ 1-προπανόλη		+										μαύρο φραγκοστάφυλο
2-επτανόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	εσπεριδοειδή οσμή, φρουτώδη
2-αιθυλ-1-εξανόλη	+											εσπεριδοειδή, ανθικά
1,2 βουτανοδιόλη			+									κρεμώδη οσμή βουτύρου
<b>Εστέρες</b>												
γαλακτικός αιθυλεστέρας	+	+										βουτυρώδη-καραμέλας, γλυκιά κρεμώδη, βατόμουρο
εξανοϊκός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φρουτώδες, φράουλα, πράσινο μήλο, άνισο
οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φρουτώδη, πεπόνι, ανανάς
λιναλοολικός αιθυλεστέρας			+		+							ανθικό, φρεσκοκομμένου χόρτου, λεβάντας, περγαμόντο

παλμιτικός αιθυλεστέρας									+		φρουτώδη,κρεμώδη, γαλακτώδη με βαλσαμική χρο	
ηλεκτρικός αιθυλεστέρας	+	+			+	+				+	+	ήπια,φρουτώδη,μαγειρεμένο μ
β-ύδροξυ βουτυρικός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φρουτώδη,πράσινο,φλούδα μ
οκταδεκανοικός αιθυλεστέρας	+				+							κόριανδρο
οξικός -2- φαινυλαιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	γλυκό,μέλι,γύρη,ανθικό- ρόδι
οξικός ισοαμυλεστέρας	+	+		+	+	+			+	+	+	φρέσκια μπανάνα
ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας		+	+		+	+	+			+		φράουλά ,φρουτώδη,ανθικό,ρ
βουτυρικός αιθυλεστέρας	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	φρουτώδες, ανανά,φράουλα
μυριστικός αιθυλεστέρας	+											γλυκό,κηρώδες,βιολέτα
πυρομικός αιθυλεστέρας											+	αιθερική,φρουτώδη, γλυκιά με νότες από ρούμι
<b>Οξέα</b>												
Βουτυρικό οξύ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ξινή οσμή,βουτυρώδη
Ισοβουτυρικό οξύ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	γαλακτοκομικά,βούτυρο
βανιλικό οξύ		+		+	+	+				+	+	γαλακτώδη, γλυκά,φυτό βανίλ
γαλακτικό οξύ			+									γαλακτοκομικά
Εξανοικό οξύ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ξηνή,λιπαρή,ιδρωμένο τυρί
δεκανοικό οξύ	+		+	+				+	+			λιπαρή,ξηνή,δυσάρεστη
n-νονανοικό οξύ					+							λιπαρή,κηρώδης με αρώματα επεξεργασμένου τυρ
οξικό οξύ			+	+								απότομη,πικάντικη,ξηνή,ξύδι
ελαικό οξύ		+	+		+	+	+	+			+	λιπαρή,φυτικό έλαιο, λαρδί και ζωικό λίπος
3-φουροικό οξύ								+				οσμή μελιού
Ισοβαλερικό οξύ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Γαλακτοκομικά,τυρί
δωδεκανοικό οξύ							+	+	+	+	+	ξηρή,μεταλλική, γεύση από λάδι δάφνης
<b>Φαινόλες</b>												
2,4 δι-βούτυλο- φαινόλη		+	+		+							φαινολική
4 βινύλγουαιακόλη	+		+	+				+		+	+	πικάντικη μπαχαρένια, καπνιστή (μπέικον)ξυλώδη
4-((1E)-3-ύδροξυ-1- προπένυλο)-2- μεθόξυ φαινόλη	+		+		+			+		+		κακάο,κονιάκ, ουίσκι με φρουτώδη νότα πράσινου μήλου

Λακτόνες												
γ-βουτυρολακτόνη	+		+				+	+	+		+	κρεμώδη,λιπαρή,ροδάκινο
γ-δεκαλακτόνη								+	+			φρουτώδες, ροδάκινο
παντολακτόνη		+										βαμβάκι,ζαχαρωτό,μαλλί της γ
<b>Άλδεύδες</b>												
νοναλδεύδη	+											φρουτώδη,πορτοκάλι
φουρφουράλη			+	+								οσμή αμυγδάλου
φαινυλαιθανάλη		+								+	+	πράσινη-ανθική, φρουτώδη, γλυκιά καρύδι
<b>Άλλες ενώσεις</b>												
Ισοβαλερικό γερανύλιο		+		+						+		φρουτώδες,πράσινο μήλο, ανανάς,βατόμουρο

Δ.=ΟΙΝΟΙ ΑΠΟ ΣΤΑΦΥΛΙ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΣΥΡΤΙΚΟ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΔΡΑΜΑΣ  
Ν.= ΟΙΝΟΙ ΑΠΟ ΣΤΑΦΥΛΙ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΣΥΡΤΙΚΟ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΝΕΜΕΑΣ  
Σ.= ΟΙΝΟΙ ΑΠΟ ΣΤΑΦΥΛΙ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΣΥΡΤΙΚΟ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ  
Κ.=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ  
ΠΡ.=ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ  
Π.=ΠΡΩΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ  
Ο.=ΟΨΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 44 η πλειοψηφία των ενώσεων που βρέθηκαν στους οίνους του 2013 που παρήχθησαν από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο από τις τρεις γεωγραφικές περιοχές της Δράμας, Νεμέας και Σαντορίνης είναι κοινές σε όλους οπότε και φαίνεται να αποτελούν χαρακτηριστικές αρωματικές ενώσεις της ποικιλίας ανεξαρτήτου της προέλευσης των σταφυλιών.

Από την κατηγορία των αλκοολών κοινές για όλους τους οίνους ενώσεις είναι η 1-βουτανόλη (μεθυστική αλκοόλη), η 1-πεντανόλη (λιπαρή , γλυκιά αίσθηση), η 1-οκταδεκανόλη (ελαφρύ αοσμή σαπουνιού), η βενζυλική αλκοόλη (ανθικό άρωμα τριαντάφυλλου), η φαινυλαιθανόλη (ανθικό τριαντάφυλλο και ροδόκερο), η δικετονική αλκοόλη (με ήπια ευχάριστη οσμή), η 2-επτανόλη (με φρουτώδη οσμή απο εσπεριδοειδή) και η 3-μεθυλοθειό 1 προπανόλη (με οσμή από βραστά λαχανικά και πικάντικη νότα).

Στην κατηγορία των εστέρων, οι κοινές για τους οίνους ενώσεις είναι ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας (φρουτώδες, άρωμα φράουλας ,πράσινου μήλου και άνισου), ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας (με άρωμα φρουτώδες από ανανά και πεπόνι), ο ηλεκτρικός αιθυλεστέρας (με άρωμα ήπια,φρουτώδη μαγειρεμένου μήλου), ο β-ύδροξυ βουτυρικός αιθυλεστέρας (με αρώματα γλυκά, μελιού ανθικά-γύρης ), ο οξικός ισοαμυλεστέρας (με άρωμα φρέσκιας μπανάνας) και ο βουτυρικός αιθυλεστέρας (με φρουτώδη αρώματα ανανάς και φράουλας).

Σε ότι αφορά στην κατηγορία των οξέων τα κοινά οξέα για τους αναλυόμενους οίνους είναι το βουτυρικό οξύ (οσμή βουτυρώδη), το ισοβουτυρικό

οξύ(γαλακτοκομικά, βουτυρο), το βανιλικό οξύ (γαλακτώδη αρώματα,φυτό βανίλιας), εξανοϊκό οξύ (λιπαρή οσμή, ξινή, ιδρωμένο τυρί), ισοβαλερικό οξύ (λιπαρό τυρί, ώριμο φρούτο) και τέλος το ελαϊκό οξύ ( φυτικό έλαιο, λαρδί και ζωικό λίπος).

Από τις υπόλοιπες κατηγορίες ενώσεων αυτές που ανιχνεύτηκαν σε όλους τους οίνους είναι η 4-βινυλ -γουαϊακόλη(άρωμα πικάντικο, μπαχαρένιο ,καπνιστό - μπείκον,ξύλου), η 4-((1E)-3-ύδροξυ-1-προπένυλο)-2-μεθόξυ φαινόλη (κακάο,κονιάκ, ούισκι με φρουτώδη νότα πράσινου μήλου), η γ-βουτυρολακτόνη (κρεμώδη,λιπαρή με άρωμα ροδάκινου) και το ισοβαλερικό γερανύλιο(φρουτώδες,πράσινου μήλου,ανανά και βατόμουρο).

Εκτός των κοινών όμως ενώσεων οι οποίες καταγράφηκαν στους αναλυόμενους οίνους παρατηρούνται και κάποιες οι οποίες βρέθηκαν σε συγκεκριμένα δείγματα οίνων.

Στους οίνους κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών προερχόμενων από την περιοχή της Δράμας εντοπίστηκαν ενώσεις όπως η ισοαμυλική αλκοόλη (με άρωμα δριμύ, φρουτώδες, μπανάνας), ο οκταδεκανοϊκός αιθυλεστέρας (με άρωμα κόριανδρου), ο μυριστικός αιθυλεστέρας (με άρωμα βιολέτας), η 3-αίθυλο-1-εξανόλη (εσπεριδοειδή, ανθικά αρώματα), ο γαλακτικός αιθυλεστέρας (με αρώματα γαλακτοκομικών, καραμέλας, βουτύρου και βατόμουρου) και η νοναλδεύδη με άρωμα πορτοκαλιού.

Στους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλίωσης όψιμων σταφυλιών προερχόμενων από την περιοχή της Δράμας καταγράφηκαν ενώσεις όπως η ισοαμυλική αλκοόλη (με άρωμα δριμύ, φρουτώδες, μπανάνας) η 3-αιθόξυ-1-προπανόλη (με άρωμα μαύρο φραγκοστάφυλο), η 2,4 βουτυλοφαινόλη(άρωμα φαινολικό), η παντολακτόνη (με άρωμα μαλλί της γριάς), η φαινυλαιθανάλη (με άρωμα πράσινο, φρουτώδες, γλυκό καρύδι) και ο γαλακτικός αιθυλεστέρας (με άρωμα γαλακτοκομικών, καραμέλας βουτύρου και βατόμουρου) .

Στους οίνους κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών προερχόμενων από την περιοχή της Νεμέας καταγράφηκαν ενώσεις όπως η 1,2 βουτανοδιόλη (κρεμώδες άρωμα, οσμή βουτύρου), ο λιναλοολικός αιθυλεστέρας (άρωμα ανθικό, φρεσκοκομμένου χόρτου, λεβάντας, περγαμόντου), γαλακτικό οξύ (με αρώματα γαλακτοκομικών), η 2,4 βούτυλο φαινόλη (με αρώματα φαινολικά) και τέλος η φουρφουράλη με άρωμα αμυγδάλου.

Στους οίνους κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών προερχόμενων από την περιοχή της Νεμέας βρέθηκε η φουρφουράλη ( με άρωμα αμυγδάλου) .

Στους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλίωσης όψιμων σταφυλιών από την περιοχή της Νεμέας εντοπίστηκαν ενώσεις όπως ο λιναλοολικός αιθυλεστέρας (με αρώματα ανθικά, φρεσκοκομμένου χόρτου, λεβάντας και περγαμόντου), ο οκταδεκανοϊκός

αιθυλεστέρας ( με άρωμα κορίανδρου) το n-νονανοϊκό οξύ (με αρώματα λιπαρά, κηρώδη, επεξεργασμένου τυριού) και η 2,4 βούτυλο φαινόλη (με αρώματα φαινολικά) ενώ στους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών προερχόμενων από την περιοχή της Νεμέας δεν βρέθηκαν κάποιες ενώσεις κατά αποκλειστικότητα .

Στους οίνους κλασσικής οινοποίησης άγουρων σταφυλιών προερχόμενων από το νησί της Σαντορίνης καταγράφηκαν ενώσεις όπως το 3- φουροϊκό οξύ (με άρωμα μελιού), και η γ-δεκαλακτόνη( με άρωμα φρουτώδες, ροδάκινου).

Στους οίνους κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών από το νησί της Σαντορίνης βρέθηκαν οι ενώσεις του παλμιτικού αιθυλεστέρα (με αρώματα φρουτώδη, κρεμώδη, γαλακτικά με βαλσαμική χροιά) και της γ-δεκαλακτόνης ( με άρωμα φρούτων, ροδάκινου).

Στους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών προερχόμενων από το νησί της Σαντορίνης βρέθηκε η φαινυλαιθανάλη (με αρώματα πράσινα, ανθικά,φρουτώδη γλυκού καρυδιού), ενώ στους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών προερχόμενων από το νησί της Σαντορίνης βρέθηκε ο πυρομικός αιθυλεστέρας (με αρώματα φρουτώδη, γλυκά, με νότες από ρούμι).



## 15.4 Ποσοτικός προσδιορισμός στους οίνους του 2013

Την ποιοτική καταγραφή των πτητικών αρωματικών ενώσεων των οίνων συμπληρώνει η ποσοτική καταμέτρηση κάποιων βασικών αρωματικών συστατικών αυτών η οποία και φαίνεται στους πίνακες 45,46,47 που ακολουθούν.

**Πίνακας 45.** Ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων οίνων παραγόμενων από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενα από την περιοχή της Δράμας παραγωγής 2013 με GCMS σε mg L<sup>-1</sup>

ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ	ΔΡΑΜΑ Κ.Ο.	ΔΡΑΜΑ ΠΡ.Ο.
φαινυλαιθανόλη	10,25b±1,57	11,95a±0,95
1-πεντανόλη	29,56a±4,53	9,63b±0,74
1-εξανόλη	12,86b±0,86	15,65a±0,69
3-μεθυλοθειο-1-προπανόλη	0,56a±0,15	0,85a±0,08
<b>άθροισμα αλκοολών</b>	<b>53,23b±1,78</b>	<b>38,08a±0,61</b>
εξανοϊκό οξύ	0,65b±0,08	1,23a±0,09
ισοβαλερικό οξύ	0,15a±0,03	0,21a±0,02
βουτυρικό οξύ	0,34a±0,05	0,75a±0,08
ισοβουτυρικό οξύ	0,45a±0,07	0,53±0,01
<b>άθροισμα οξέων</b>	<b>1,59a±0,05</b>	<b>2,72a±0,05</b>
ισοαμυλικός αιθυλεστέρας	0,35b±0,09	0,87a±0,06
εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0,89a±0,06	0,99a±0,07
2-μέθυλο βουτανικός αιθυλεστέρας	nd	nd
3-ύδροξυ βουτανικός αιθυλεστέρας	0,54a±0,03	0,87a±0,06
βουτανικός αιθυλεστέρας	1,42b±0,07	6,85a±1,25
οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0,76a±0,05	1,12a±0,07
οξικός-2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,09a±0,01	0,13a±0,02
<b>άθροισμα εστέρων</b>	<b>4,05b±0,05</b>	<b>10,83a±0,25</b>

Κ.=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

ΠΡ.=ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ

Ο.=ΟΨΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε πτητικό συστατικό διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test p< 0.05)

Από τον πίνακα 45 φαίνεται η υπεροχή του οίνου προζυμωτικής κρυοεκχύλισης όψιμων σταφυλιών από την περιοχή της Δράμας σε σχέση με τον οίνο κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών της ίδιας περιοχής στις κατηγορίες των οξέων και εστέρων ενώ στην κατηγορία των αλκοολών μεγαλύτερη συνολικά τιμή στο άθροισμα των αλκοολών εμφανίζει ο οίνος κλασσικής οινοποίησης.

Στην κατηγορία των αλκοολών ενώ στις 3 από τις 4 μεγαλύτερες τιμές ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής έχει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, στην 1-πεντανόλη ο οίνος κλασσικής οινοποίησης εμφανίζει πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση (29,56 mg L<sup>-1</sup>) συγκριτικά με τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής (9,63 mg L<sup>-1</sup>).

Στην κατηγορία των εστέρων ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής υπερέρχει κατά μικρές ποσότητες στους περισσότερους εστέρες αλλά στον βουτανικό αιθυλεστέρα η διαφορά συγκέντρωσης σε σχέση με τον οίνο κλασσικής οινοποίησης είναι σχεδόν πενταπλάσια (6,85 και 1,42 mg L<sup>-1</sup>), γεγονός που δηλώνει την επικράτηση αρωμάτων φρούτων όπως του ανανά και της φράουλας. Παραπάνω από διπλάσια τιμή (0,87 και 0,35 mg L<sup>-1</sup> αντίστοιχα) έχει και στον ισοαμυλικό αιθυλεστέρα ο οποίος εκφράζει το άρωμα της φρέσκιας μπανάνας αλλά και του αχλαδιού.

Σε ότι αφορά στα οξέα, στο σύνολο αλλά και στα επι μέρους οξέα, ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής εμφανίζει μία υπεροχή συγκριτικά με τον οίνο κλασσικής οινοποίησης. Σημαντική διαφορά παρατηρείται στο εξανοϊκό οξύ (με συγκεντρώσεις 1,23 και 0,65 mg L<sup>-1</sup> αντίστοιχα), με άρωμα ξινό λιπαρό, ιδρωμένου τυριού, και στο βουτυρικό οξύ (με συγκεντρώσεις 0,34 και 0,75 mg L<sup>-1</sup> αντίστοιχα), με αρώματα γαλακτοκομικών και βουτύρου.

Συνεπώς για τον οίνο κλασσικής οινοποίησης επικρατούν αρώματα λιπαρής και γλυκιάς αίσθησης από την αλκοόλη ενώ στον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής επικρατούν φρουτώδη αρώματα όπως του αχλαδιού, της μπανάνας, της φράουλας και του ανανά αλλά και τα αρώματα ξινού, γαλακτοκομικών και ιδρωμένου τυριού.

**Πίνακας 46.** Ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων οίνων παραγόμενων από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενα από την περιοχή της Νεμέας παραγωγής 2013 με GCMS σε mg L<sup>-1</sup>

ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ	NEMEA Κ.Π	NEMEA Κ.Ο	NEMEA ΠΡ.Ο	NEMEA ΠΡ.Π.
φαινυλαιθανόλη	9,36a±0,15	8,02bc±0,11	8,34b±0,15	7,62c±0,25
1-πεντανόλη	18,92c±1,23	15,63d±0,85	21,62b±0,31	22,39a±1,53
1-εξανόλη	25,61c±1,96	40,62b±3,51	45,62a±2,54	18,92d±1,06
3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη	0,64b±0,05	0,49b±0,22	2,34a±0,09	0,37b±0,08
<b>άθροισμα αλκοολών</b>	<b>54,53a±0,85</b>	<b>64,76b±1,17</b>	<b>77,92c±0,77</b>	<b>49,30a±0,73</b>
εξανοϊκό οξύ	0,38b±0,14	0,26c±0,09	0,97a±1,02	0,19c±0,04
ισοβαλερικό οξύ	0,29a±0,11	0,30a±1,25	0,33a±0,05	0,15a±0,06
βουτυρικό οξύ	0,52b±0,09	0,61b±1,96	1,29a±0,03	0,33b±0,08
ισοβουτυρικό οξύ	0,68ab±0,08	0,55ab±1,32	0,86a±0,04	0,39b±1,02
<b>άθροισμα οξέων</b>	<b>1,87a±0,10</b>	<b>1,72a±1,15</b>	<b>3,45b±0,28</b>	<b>1,06a±0,30</b>
ισοαμυλικός αιθυλεστέρας	0,36ab±0,09	0,52a±0,21	0,29ab±0,08	0,20b±0,07
εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0,24b±0,10	1,36a±0,07	0,23b±0,05	0,19b±0,03

2-μέθυλο βουτανικός αιθυλεστέρας	nd	nd	nd	nd
3-ύδροξυ βουτανικός αιθυλεστέρας	0,25bc±0,08	0,84a±0,05	0,39b±0,07	0,15c±0,05
βουτανικός αιθυλεστέρας	1,53b±0,02	2,18a±0,06	1,33b±0,06	0,72c±0,04
οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0,62c±0,05	0,94b±0,03	1,28a±0,05	0,56c±0,03
οξικός-2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,05a±0,01	0,04a±0,02	0,06a±0,02	0,03a±0,02
<b>άθροισμα εστέρων</b>	<b>3,05b±0,06</b>	<b>5,88c±0,07</b>	<b>3,58b±0,05</b>	<b>1,85a±0,04</b>

Κ.=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

ΠΡ.=ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ

Π.=ΠΡΩΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Ο.=ΟΨΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε πτητικό συστατικό διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Από τον πίνακα 46 φαίνεται η ποσοτική καταγραφή κάποιων βασικών αρωματικών ουσιών στους οίνους που παρήχθησαν με διαφορετικές τεχνικές οινοποίησης από σταφύλια προερχόμενα από την περιοχή της Νεμέας με διαφορετικές ωριμότητες.

Στην κατηγορία των αλκοολών, για το συνολικό άθροισμα αυτών, μεγαλύτερη τιμή έδωσε ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης όψιμων σταφυλιών  $77,92 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ ακολουθούν ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών με τιμή  $64,76 \text{ mg L}^{-1}$ , ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών με τιμή  $54,53 \text{ mg L}^{-1}$  και τέλος ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης πρώιμων σταφυλιών με συγκέντρωση  $49,30 \text{ mg L}^{-1}$ . Για την 1-πεντανόλη οι συγκεντρώσεις και των τεσσάρων οίνων είναι αρκετά κοντά με ένα εύρος από  $22,39 \text{ mg L}^{-1}$  για τον οίνο προζυμωτικής κρυοεκχύλισης πρώιμων σταφυλιών,  $21,62 \text{ mg L}^{-1}$  για τον οίνο προζυμωτικής κρυοεκχύλισης όψιμων σταφυλιών και  $18,92$  και  $15,63 \text{ mg L}^{-1}$  για τους οίνους κλασσικής οινοποίησης πρώιμων και όψιμων σταφυλιών αντίστοιχα.

Μεγάλη διαφοροποίηση υπάρχει στην 1-εξανόλη, η οποία και δίνει μία χορτώδη, πράσινων χορταρικών αίσθηση και η οποία εμφανίζει τιμή  $45,62 \text{ mg L}^{-1}$  στον οίνο προζυμωτικής κρυοεκχύλισης όψιμων σταφυλιών και  $40,62 \text{ mg L}^{-1}$  στον οίνο κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών ενώ ακολουθούν ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών και ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης πρώιμων σταφυλιών επίσης με τιμές  $25,61$  και  $18,92 \text{ mg L}^{-1}$  αντίστοιχα.

Για την 3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη με άρωμα βραστών λαχανικών και πικάντικη νότα, μεγαλύτερη τιμή δίνει ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης όψιμων σταφυλιών με  $2,34 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ ακολουθεί ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών με  $0,64 \text{ mg L}^{-1}$  και οι υπόλοιποι δύο με τιμές γύρω στο  $0,40 \text{ mg L}^{-1}$ .

Στην κατηγορία των οξέων αθροιστικά την μεγαλύτερη τιμή έχει ο οίνος προζυμωτικής κρυοεκχύλισης όψιμων σταφυλιών ( $3,45 \text{ mg L}^{-1}$ ) ενώ οι υπόλοιποι

τρεις κυμαίνονται γύρω στο  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ . Το εξανοϊκό οξύ (με οσμή λιπαρή, ιδρωμένου τυριού) εμφανίζει την υψηλότερη συγκέντρωση στον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών με τιμή  $0,97, \text{ mg L}^{-1}$  την μικρότερη για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών  $0,19 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ οι υπόλοιποι οίνοι κυμαίνονται γύρω στο  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ . Όσον αφορά στο ισοβαλερικό οξύ (με άρωμα γαλακτοκομικών και τυριού) όλοι οι οίνοι κυμαίνονται γύρω στο  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$  εκτός του οίνου προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών που κυμαίνεται στο  $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ . Το βουτυρικό οξύ (με άρωμα βούτυρου) για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών κυμαίνεται στα  $1,29 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών είναι στο  $0,33 \text{ mg L}^{-1}$  και οι υπόλοιποι οίνοι κυμαίνονται στο  $0,55 \text{ mg L}^{-1}$ . Το ισοβουτυρικό οξύ (με γαλακτοκομικό άρωμα βουτύρου) εμφάνισε μεγαλύτερη τιμή στον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών  $0,86 \text{ mg L}^{-1}$  και την μικρότερη στον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών  $0,39 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ οι υπόλοιποι κυμαίνονται γύρω στο  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$ .

Τέλος στην κατηγορία των εστέρων αθροιστικά την μεγαλύτερη τιμή εμφανίζει ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών (με τιμή  $5,88 \text{ mg L}^{-1}$ ) ακολουθούμενος από τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών με τιμή  $3,58 \text{ mg L}^{-1}$ , τον οίνο κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών με τιμή  $3,05 \text{ mg L}^{-1}$  και τελευταίο τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών με τιμή  $1,85 \text{ mg L}^{-1}$ . Αναλυτικότερα, στον ισοαμυλικό αιθυλεστέρα (ο οποίος δίνει άρωμα φρέσκιας μπανάνας) μεγαλύτερη τιμή εμφανίζει ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών με συγκέντρωση  $0,52 \text{ mg L}^{-1}$ , εκείνος των πρώιμων σταφυλιών με συγκέντρωση  $0,36 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ οι υπόλοιποι κυμαίνονται γύρω στο  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ . Για τον εξανοϊκό αιθυλεστέρα (με άρωμα φρουτώδες, πράσινου μήλου) μεγαλύτερη τιμή έχει ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών  $1,36 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ οι άλλοι τρεις οίνοι κυμαίνονται γύρω στο  $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ . Ο 3-ύδροξυ-βουτανικός αιθυλεστέρας (με φρουτώδες άρωμα ανανά και φράουλας) εμφανίζει μεγαλύτερη τιμή στον οίνο κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών ( $0,84 \text{ mg L}^{-1}$ ) ενώ στον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών σχεδόν την μισή τιμή  $0,39 \text{ mg L}^{-1}$  και ακολουθούν οι οίνοι κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών και προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών επίσης με τιμές  $0,25$  και  $0,15 \text{ mg L}^{-1}$  αντίστοιχα. Ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας (με αρώματα φρουτώδη, πεπόνι και ανανά) έδωσε τις μεγαλύτερες τιμές στον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών ( $1,28 \text{ mg L}^{-1}$ ) και στον οίνο κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών  $0,94 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ για τους οίνους κλασσικής και προζυμωτικής πρώιμων σταφυλιών οι τιμές κυμαίνονται γύρω στο  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$ .

Συνεπώς θα λέγαμε ότι τα αρώματα τα οποία συγκεντρωτικά χαρακτηρίζουν τους οίνους από την περιοχή της Νεμέας είναι χορτώδη, πράσινα, βραστών λαχανικών και πικάντικα μαζί με γαλακτοκομικά βούτυρου και φρουτώδη από πεπόνι και

ανανά για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών ενώ για τον οίνο κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών τα αρώματα είναι φρουτώδη ανανά, μπανάνας, πράσινου μήλου φράουλας χορτώδη και γαλακτοκομικά. Για τον οίνο κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών τα αρώματα που επικράτησαν ήταν αυτά των γαλακτοκομικών -βουτύρου όπως και σε μικρές ποσότητες αρώματα φρουτώδη από ανανά και φράουλα αλλά και ανθικά αρώματα τριαντάφυλλου.

**Πίνακας 47.** Ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων οίνων παραγόμενων από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενα από την περιοχή της Σαντορίνης παραγωγής 2013 με GCMS σε mg L<sup>-1</sup>

ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ	ΣΑΝΤΟΡ. Κ.Π.	ΣΑΝΤΟΡ. Κ.Ο.	ΣΑΝΤΟΡ. ΠΡ.Π.	ΣΑΝΤΟΡ. ΠΡ.Ο.
φαινυλαιθανόλη	9,25c±1,32	10,32b±1,25	10,54b±1,52	19,85a±2,36
1-πεντανόλη	12,56d±1,86	18,56b±1,63	13,56c±1,96	90,81a±5,62
1-εξανόλη	15,84c±2,51	16,97b±1,33	16,89b±1,55	30,15a±3,25
3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη	0,32b±0,09	0,41b±0,09	0,41b±0,08	1,69a±1,26
<b>άθροισμα αλκοολών</b>	<b>37,97c±1,44</b>	<b>46,26b±1,07</b>	<b>41,40c±1,28</b>	<b>142,50a±3,12</b>
εξανοϊκό οξύ	0,13b±0,03	0,20b±0,08	0,21b±0,02	1,69a±0,08
ισοβαλερικό οξύ	0,11a±0,02	0,15a±0,03	0,16a±0,01	0,18a±0,01
βουτυρικό οξύ	0,23a±0,06	0,26a±0,05	0,28a±0,03	0,29a±0,03
ισοβουτυρικό οξύ	0,30b±0,05	0,38b±0,04	0,34b±0,01	0,99a±0,03
<b>άθροισμα οξέων</b>	<b>0,77c±0,04</b>	<b>0,99b±0,05</b>	<b>1,00b±0,02</b>	<b>3,15a±0,04</b>
ισοαμυλικός αιθυλεστέρας	0,20b±0,08	0,23b±0,06	0,25b±0,01	0,87a±0,13
εξανοϊκός αιθυλεστέρας	0,45a±0,07	0,09c±0,01	0,15c±0,03	0,31b±0,02
2-μέθυλο βουτανικός αιθυλεστέρας	0,00	0,00	0,00	0,00
3-ύδροξυ βουτανικός αιθυλεστέρας	0,06c±0,02	0,11c±0,02	0,25b±0,04	0,55a±0,18
βουτανικός αιθυλεστέρας	0,30b±0,03	0,59b±0,05	0,74b±0,05	29,36a±0,36
οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0,54b±0,02	2,99a±1,03	0,45b±0,03	0,98b±0,21
οξικός-2-φαινυλαιθυλεστέρας	0,33a±0,04	0,12a±0,07	0,14a±0,06	0,21a±0,03
<b>άθροισμα εστέρων</b>	<b>1,88c±0,04</b>	<b>4,13b±0,21</b>	<b>1,98c±0,04</b>	<b>32,28a±0,15</b>

Κ.=ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

ΠΡ.=ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΗ ΚΡΥΟΕΚΧΥΛΙΣΗ

Π.=ΠΡΩΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Ο.=ΟΨΙΜΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε πτητικό συστατικό διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 47 ο οίνος που παρουσιάζει και στις τρεις κατηγορίες ενώσεων (αλκοόλες, οξέα και εστέρες) αισθητά μεγαλύτερες τιμές από τους υπόλοιπους οίνους είναι ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών από το νησί της Σαντορίνης.

Στο σύνολο των αλκοολών (το άθροισμα των τεσσάρων αλκοολών που μελετήθηκαν) ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όψιμων σταφυλιών είναι λίγο παραπάνω από τριπλάσιος ( $142,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) από τους υπόλοιπους τρεις οίνους οι οποίοι κυμαίνονται σε παρόμοια επίπεδα μεταξύ τους, με τον οίνο κλασσικής οινοποίησης των πρώιμων σταφυλιών να δίνει την χαμηλότερη τιμή ( $37,97 \text{ mg L}^{-1}$ ). Η ένωση η οποία υπερέχει κατά πολύ των υπολοίπων είναι η 1-πεντανόλη η οποία για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όψιμων σταφυλιών κυμαίνεται στα  $90,81 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ η συγκέντρωσή της στους τρεις υπόλοιπους οίνους είναι γύρω στα  $15 \text{ mg L}^{-1}$ . Η συγκεκριμένη ένωση προσδίδει μια γλυκιά αίσθηση καψίματος της αλκοόλης. Μια άλλη αλκοόλη στην οποία ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όψιμων σταφυλιών δίνει συγκέντρωση σχεδόν διπλάσια από τους υπόλοιπους είναι η φαινυλαιθανόλη ( $19,85 \text{ mg L}^{-1}$  συγκριτικά με τιμές γύρω στα  $10 \text{ mg L}^{-1}$  για τους υπόλοιπους) δίνοντας στον οίνο ένα άρωμα ανθικό από τριαντάφυλλο και ροδόνηρο. Η 1-εξανόλη είναι μία ακόμη αλκοόλη που δίνει διπλάσια τιμή συγκέντρωσης για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όψιμων σταφυλιών σε σχέση με τους υπόλοιπους ( $30,15 \text{ mg L}^{-1}$  και  $15 \text{ mg L}^{-1}$  αντίστοιχα), με πράσινη χορτώδη οσμή, ενώ μία ακόμη αλκοόλη με αισθητή διαφορά συγκέντρωσης για τον ίδιο οίνο είναι η 3-μεθυλοθειο-1-προπανόλη η οποία παρουσιάζει τετραπλάσια τιμή συγκριτικά με τους υπόλοιπους 3 οίνους ( $1,69 \text{ mg L}^{-1}$  σε αντιδιαστολή με τιμές γύρω στο  $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ ) η οποία δίνει μία αίσθηση βραστών λαχανικών με πικάντικη νότα.

Στην κατηγορία των οξέων, ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όψιμων σταφυλιών εμφανίζει μία υπεροχή στη συγκέντρωση σε σχέση με τους υπόλοιπους στο εξανοϊκό οξύ (με τιμή  $1,69 \text{ mg L}^{-1}$  σε σχέση με τους υπόλοιπους που είναι γύρω στο  $0,20$ ) και στο ισοβουτυρικό οξύ (με συγκέντρωση  $0,99 \text{ mg L}^{-1}$  σε σχέση με τους υπόλοιπους που είναι γύρω στο  $0,30 \text{ mg L}^{-1}$ ). Τα δύο αυτά οξέα προσδίδουν αρώματα λιπαρά-ξινά-ιδρωμένου τυριού καθώς και γαλακτοκομικών και βουτύρου.

Σε ότι αφορά στους εστέρες, ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όψιμων σταφυλιών υπερέχει στον ισοαμυλικό αιθυλεστέρα με τιμή  $0,87 \text{ mg L}^{-1}$  σε σχέση με τους υπόλοιπους οίνους που έχουν συγκεντρώσεις γύρω στο  $0,20 \text{ mg L}^{-1}$  και ο οποίος δίνει το άρωμα της φρέσκιας μπανάνας, όπως επίσης και στον 3-ύδροξυ βουτανικό αιθυλεστέρα με τιμή  $0,55 \text{ mg L}^{-1}$  συγκριτικά με το  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης πρώιμων σταφυλιών και τιμές γύρω στο  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$  για τους οίνους κλασσικής οινοποίησης (με άρωμα φρουτώδες, φλούδας πράσινου μήλου) και τέλος στον βουτανικό αιθυλεστέρα με τιμή  $29,36 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ για τους υπόλοιπους οίνους κυμαίνεται κάτω από  $1 \text{ mg L}^{-1}$ , με αρώματα φρουτώδη ανανά και φράουλας. Ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας έδωσε την μεγαλύτερη συγκέντρωση στον οίνο κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών ( $0,45 \text{ mg L}^{-1}$ ) ενώ ακολούθησε ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης όψιμων σταφυλιών με τιμή  $0,31 \text{ mg L}^{-1}$  και τέλος οι υπόλοιποι δύο οίνοι με τιμές γύρω στο  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$  με αρώματα φρουτώδη, πράσινου μήλου και άνισου. Ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας παρουσίασε την

μεγαλύτερη συγκέντρωση στον οίνο κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών με τιμή  $2,99 \text{ mg L}^{-1}$  ακολουθούμενος από τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών με τιμή  $0,98 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ ακολουθούν οι δύο υπόλοιποι οίνοι με τιμές γύρω στο  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  προσδίδοντας ένα άρωμα φρουτώδες, πεπονιού και ανανά. Τέλος, ο οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας έδωσε συγκέντρωση  $0,33 \text{ mg L}^{-1}$  για τον οίνο κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών,  $0,21 \text{ mg L}^{-1}$  για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών ενώ οι υπόλοιποι ακολουθούν με τιμές γύρω στο  $0,13 \text{ mg L}^{-1}$  με χαρακτηριστικό άρωμα γλυκό από μέλι, γύρη και ανθικό.

Συνεπώς για τον οίνο προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών ο οποίος παρουσίασε στα περισσότερα αρωματικά τα οποία αναλύθηκαν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις, δείχνουν να επικρατούν αρώματα όπως γλυκιάς αίσθησης καψίματος της αλκοόλης, ανθικά αρώματα τριαντάφυλλου και ροδόκερου, πράσινα χορτώδη, βραστών λαχανικών με πικάντικη νότα, αρώματα λιπαρά, ξινά γαλακτοκομικών και βουτύρου όπως επίσης και αρώματα φρέσκιας μπανάνας, φρουτώδη, πράσινου μήλου ανανά και φράουλας. Ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής πρώιμων σταφυλιών χαρακτηρίστηκε με βάση την μεγαλύτερη συγκέντρωση του στα φρουτώδη αρώματα, φλούδας πράσινου μήλου. Ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών έδειξε μία υπεροχή σε αρώματα φρούτων, πράσινου μήλου, άνισου ανθικά, μελιού και γύρης ενώ τέλος ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών έδειξε να χαρακτηρίζεται από αρώματα φρουτώδη από πεπόνι και ανανά.

## **Κεφάλαιο 16. Μεθοδολογία GC MS για την μελέτη αποσταγμάτων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο**

### **16.1. Ποιοτική καταγραφή πτητικών συστατικών του αρώματος**

Το ενδιαφέρον, εγχώριο και μή, για την ποικιλία Ασύρτικο αποτέλεσε το κίνητρο για να συμπεριληφθεί στην παρούσα διατριβή και η μελέτη των αποσταγμάτων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο. Αρχικά οι διαθέσιμοι οίνοι υποβλήθηκαν σε ασυνεχή διπλή απόσταξη στις αποστακτικές συσκευές του Εργαστηρίου Αλκοολούχων Ποτών του Τμήματος Επιστήμης Οίνων Αμπέλου και Ποτών του ΠΑΔΑ Αθήνας και στη συνέχεια τα αποστάγματα αυτών επεξεργάστηκαν μέσω της υγρής εκχύλισης όπως περιγράφεται στο κεφ 8.2.5. και αναλύθηκαν με GC/MS. Συγκρίθηκαν αποστάγματα οίνων της ίδιας χρονιάς των τριών διαφορετικών γεωγραφικά περιοχών καθώς και αποστάγματα οίνων παλαιότερων ετών όπου ήταν δυνατόν να βρεθούν.

Στον πίνακα 49 φαίνονται οι διαφορετικές πτητικές ενώσεις των αποσταγμάτων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο από την περιοχή της Δράμας, της Νεμέας και από το

νησί της Σαντορίνης. Σε ότι αφορά στους οίνους από το νησί της Σαντορίνης, οι οίνοι που αποστάχθηκαν ήταν του 2004 και του 2013 οπότε μπορεί να γίνει η σύγκριση και να μελετηθεί η εξέλιξη του οίνου στο χρόνο, μέσω των πτητικών ενώσεων αυτού που περνάνε στα παραγώμενα αποστάγματα.

Στη Σαντορίνη του 2004 βρίσκονται περισσότερες πτητικές ενώσεις εσπεριδοειδών και φρούτων, αρώματα όξινα και γλυκά. Αρώματα όπως ανανάς, φράουλα, μπανάνα, μήλο, λεμόνι και πορτοκάλι. Αντίθετα στη Σαντορίνη του 2013 φαίνονται έντονα αρώματα ξύλου, εσπεριδοειδών, φρούτων, κυρίως μπανάνας, ανανά και λουλουδιών με ιδιαίτερη έμφαση στο τριαντάφυλλο. Και οι δύο χρονιές έχουν ευχάριστα, γλυκά αρώματα. Στη Σαντορίνη του 2013 είναι λογικό τα αρώματα να είναι πιο φρέσκα καθώς αναφερόμαστε σε ένα φρέσκο οίνο, ενώ του 2004, πιθανόν να εμφανίζει κάποιες διαφοροποιήσεις ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τα οποία να περνάνε και στο απόσταγμα. Αρώματα όπως αυτά του πυροσταφυλικού αιθυλίου (φρουτώδες, γλυκό, ρούμι και καραμέλα), η οσμή αμυγδαλού της φουρφουράλης το μέλι και το τσάι του 2-υδρόξυ-3-μεθυλοβουτυρικού αιθυλεστέρα δίνουν έναν πολύπλοκο χαρακτήρα ενός πλούσιου αρωματικού αποστάγματος στο οποίο όμως δεν λείπουν και τα πιο φρέσκα αρώματα όπως το πεπόνι τα αρώματα λουλουδιών, πράσινων σταφυλιών και μήλου καθώς και αρώματα εσπεριδοειδών από φλούδες λεμονιού και πορτοκαλιών. Το απόσταγμα της Σαντορίνης 2013 δίνει "φτωχότερο" σε ότι αφορά στο πλήθος των αρωματικών ενώσεων, γεγονός που μένει να αναλυθεί με την ποσοτικοποίηση των αρωματικών στον πίνακα 50.

Συγκρίνοντας τα αποστάγματα οίνων από την Δράμα (των οίνων του 2012 και 2013) βλέπουμε στον πίνακα 49 ότι από το πλήθος των αρωματικών ενώσεων είναι σχεδόν το ίδιο και για τα δύο αποστάγματα. Ενώσεις όπως η νονανάλη (με άρωμα από εσπεριδοειδή και φλούδα λεμονιού), το μηλικό αιθύλιο (με άρωμα από βότανα, καστανή ζάχαρη και γλυκό κρασί) και η φαινυλαιθανόλη (με άρωμα από ροδόνηρο και αποξηραμένο τριαντάφυλλο) είναι κοινές και στα δύο αποστάγματα ενώ η 3,4 διμέθυλο 1 πεντανόλη (με άρωμα κονιάκ, κακάο και πράσινα φρουτώδη) και το 2-βουτενοϊκό ισοπροπύλιο (με άρωμα φρουτώδες και ελαφρά μεταλλικό) είναι ενώσεις που βρέθηκαν μόνο στο απόσταγμα του 2013.

Στον ίδιο πίνακα, συγκρίνοντας τις 3 περιοχές αποσταγμάτων των οίνων του 2013 βλέπουμε ότι στη Νεμέα 2013 εμφανίζονται ενώσεις με φρουτώδη αρώματα, όπως μπανάνα και αχλάδι, αλλά και αρώματα με ξινή και δυσάρεστη γεύση και οσμή. Εμφανίζει αρώματα από υπερώριμα φρούτα, ξύδι, ψητό κρέας, μπέικον και βότανα ενώ υπάρχει και το άρωμα της καραμέλας και του ρούμι (πυροσταφυλικό αιθύλιο). Η 2,3 διμέθυλο 1 βουτανόλη με οσμές από ψητό, κρασί και κρεμμύδι δίνει πιο βαρύτες νότες στο άρωμα ενώ βρέθηκαν και αρώματα καρύδας, καριδιού και



γαλακτοκομικών (γαλακτικό ισοβουτύλιο και ισοβουτυρικό οξύ) μαζί με οσμές από τζίντζερ και μάραθο.

Στη Σαντορίνη του 2013 εμφανίζονται ευχάριστα και γλυκά αρώματα (9-δεκανοϊκος αιθυλεστέρας). Αρώματα από εσπεριδοειδή, ξυλώδη-πεύκου(ατερπινεόλη), τριαντάφυλλο, γλυκό, μέλι και φρουτώδη (από τον β-οξικό-φαινυλαιθυλαιθέρα), φρεσκάδα και εσπεριδοειδή (από την νερολιδόλη) , αρώματα μπανάνας κα ανανά (εξανοϊκός αιθυλεστέρας), αρώματα γλυκά, κονιάκ μπανάνας και φρουτώδη από τον δεκανοϊκό ισοαμυλεστέρα και οσμή γλυκάνισου από την trans ανεθόλη.

Η Δράμα του 2013 αντίστοιχα έχει αρώματα από εσπεριδοειδή και φλούδας λεμονιού (νονανάλη) βοτάνων, καστανής ζάχαρης και γλυκού κρασιού (μηλικό αιθύλιο), ροδόνηρου και αποξηραμένου τριαντάφυλλου (φαινυλαιθανόλη), άρωμα κονιάκ, κακάου και πράσινου φρούτωσης (3,4 διμέθυλο 1 πεντανόλη) καθώς και ελαφρώς μεταλλικό άρωμα από το 2-βοτενοϊκό ισοπροπύλιο.

Συμπερασματικά θα λέγαμε ότι η Νεμέα και η Δράμα έδωσαν αποστάγματα με αρώματα εσπεριδοειδών και φρούτων, ενώ η Σαντορίνη πιο γλυκά φρουτώδη αρώματα. Με βάση τα αποτελέσματα από την οργανοληπτική μελέτη των οίνων στα κεφ.17, όπου καταγράφηκε ότι το Ασύρτικο της Σαντορίνης και της Νεμέας δίνουν κατά βάση αρώματα εσπεριδοειδή, λεμόνι -κίτρο και λευκά άνθη, ενώ της Δράμας δίνει φρουτώδη τροπικά αρώματα, στο απόσταγμα η Νεμέα εξακολουθεί να κρατάει τα αρώματα εσπεριδοειδών. Αντίστοιχα, το Ασύρτικο της Δράμας στο απόσταγμα της βγάζει αρώματα εσπεριδοειδών και της Σαντορίνης φρουτώδη αρώματα.

Οι διαφορές αυτές οφείλονται στις διαφορετικές περιβαλλοντικές-κλιματολογικές συνθήκες των τριών αυτών περιοχών, την σύσταση του εδάφους, το υψόμετρο, το κλάδεμα και όλους εκείνους τους παράγοντες που διαμορφώνουν τον αρωματικό χαρακτήρα ενός οίνου ίδιας ποικιλίας, τεχνικής οινοποίησης αλλά διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης και κατά συνέπεια και το προφίλ των παραγόμενων αποσταγμάτων αυτού.

**Πίνακας 48.** Αλκοολικοί τίτλοι κλασμάτων απόσταξης σε % vol.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ	1 <sup>η</sup> ΑΠΟΣΤΑΞΗ	2 <sup>η</sup> ΑΠΟΣΤΑΞΗ
ΔΡΑΜΑ 2012	44,3	80,8
ΝΕΜΕΑ 2013	33,2	75,8
ΔΡΑΜΑ 2013	40,2	77,2
ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ 2013	36,3	60,3

ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ 2004	42,6	57,0
----------------	------	------

**Πίνακας 49.** Αρωματικές πτητικές ενώσεις που καταγράφηκαν μέσω της ανάλυσης με GC MS, των αποσταγμάτων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο παραγόμενων από σταφύλια προερχόμενα από τις περιοχές της Δράμας, Νεμέας και Σαντορίνης διαφορετικών ετών.

ΟΥΣΙΕΣ	ΔΡΑΜΑ 2012	ΔΡΑΜΑ 2013	ΝΕΜΕΑ 2013	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ 2004	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ 2013	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΑΡΩΜΑΤΟΣ
<b>Αλκοόλες</b>						
2,3-διμέθυλο-1-βουτανόλη			*			οσμές από ψητό, κρασί, κρεμμύδι
3,4-διμέθυλο-1-πεντανόλη		*				κονιάκ, κακάο και πράσινα φρουτώδη αρώματα
3-έξεν-1-όλη				*		φρέσκα λαχανικά, πεπόνι, κομμένο γρασίδι
2-επτανόλη			*	*		αρώματα εσπεριδοειδών
φαινυλαιθανόλη	*	*	*			τριαντάφυλλο και ροδόνηρο
1-δωδεκανόλη				*		αρώματα λουλουδιών
<b>Οξέα</b>						
επτανοϊκό οξύ			*			άρωμα ανανά
καπρυλικό οξύ			*			οσμή κηρώδης, λιπαρή, φυτική
βαλεριανικό οξύ			*	*		φρουτώδη αρώματα
ισοβουτυρικό οξύ			*	*		γαλακτοκομικά ,βούτυρο
οξικό οξύ			*			υπερώριμα φρούτα, ξύδι
3-μέθυλο-2-προπένυλο-βενζοϊκό οξύ				*		οσμή βαλσάμικου
<b>Εστέρες</b>						
οξικός ισοαμυλεστέρας			*	*		φρουτώδες άρωμα, μπανάνα
εξανοϊκός αιθυλεστέρας			*	*	*	φρουτώδη αρώματα, μπανάνα και ανανά
β-ύδροξυ βουτυρικός αιθυλεστέρας			*			φρουτώδες άρωμα πράσινων σταφυλιών και μήλου
2-ύδροξυ-3-μέθυλο βουτυρικός αιθυλεστέρας				*		φρουτώδη αρώματα από ανανά, φράουλα, μέλι και τσάι
παλμιτικός μεθυλεστέρας	*	*				κηρώδης οσμή, λιπαρή
παλμιτικός αιθυλεστέρας	*	*				ήπια οσμή, κρεμώδες, γαλακτώδες, φρουτώδες
9-δεκανοϊκός αιθυλεστέρας					*	φρουτώδη και καρποειδή αρώματα, ευχάριστα γλυκά

δεκανοϊκός ισοαμυλεστέρας					*	φρουτώδες μπανάνα, γλυκό και κονιάκ
α-οξικός μέθυλο- φαίνυλο βενζοϊκός εστέρας					*	φρουτώδη και γλυκά αρώματα όπως μέλι,αμύγδαλο και μπαχαρικά
β-οξικός φαινυλαιθυλαιθέρας					*	άρωμα φρουτώδες , τριαντάφυλλο, γλυκό,μέλι
κετονικός διφαινυλαιθέρας					*	οσμή τριαντάφυλλου
<b>Αλδεύδες</b>						
φουρφουράλη				*		οσμή αμυγδάλου
νονανάλη	*	*		*		εσπεριδοειδή, φλουδα λεμονιού, κηρώδη
επτανάλη			*			οσμές βοτάνων
δεκανάλη	*			*		φλούδες εσπεριδοειδών, πορτοκάλι
<b>Τερπένια</b>						
α-τερπινεόλη					*	άρωμα εσπεριδοειδών, ξυλώδη, πεύκο
νερολιδόλη					*	φρέσκια ξυλώδη οσμή με εσπεριδοειδή και φρέζια
trans ανεθόλη					*	οσμή γλυκάνισου
χοτριενόλη			*			τζίντζερ και μάραθος
<b>Άλλες ενώσεις</b>						
μηλικό διαιθύλιο	*	*				καστανή ζάχαρη, γλυκό κρασί, βότανα
2-βουτενοϊκό ισοπροπύλιο		*				οσμή φρουτώδης,ελαφρά μεταλλική
γαλακτικό ισοβουτύλιο			*			γαλακτοκομικά,καρύδα και καρύδι
πυροσταφυλικό αιθύλιο			*	*		άρωμα φρουτώδες, γλυκό, ρούμι και καραμέλα
2,4-διμέθυλο φουράνιο			*			ψητό κρέας κα μπέικον
ισοβαλερικό γερανύλιο			*			φρουτώδες,πράσινο μήλο, ανανά, βατόμουρο

## 16.2. Ποσοτική καταγραφή πτητικών συστατικών του αρώματος

Για τα πέντε συνολικά αποστάγματα των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο που μελετήθηκαν, οι ποσότητες των βασικών αρωματικών συστατικών που ταυτοποιήθηκαν φαίνονται στον πίνακα 50 που ακολουθεί.

Σε ότι αφορά στις ανώτερες αλκοόλες που προσδιορίστηκαν (στο άθροισμά τους), η Σαντορίνη του 2004 εμφανίζει πολλή μεγάλη ποσότητα, 1001 mg L<sup>-1</sup> (με κυρίαρχη την 1-πεντανόλη, 851 mg L<sup>-1</sup>) ακόμη και από το δεύτερο σε ποσότητα αλκοολών

απόσταγμα που είναι η Νεμέα του 2013 ( $267 \text{ mg L}^{-1}$ ). Τον μικρότερο αριθμό αλκοολών έχει το απόσταγμα της Δράμας ( $7,9 \text{ mg L}^{-1}$ ) ενώ στην Σαντορίνη του 2013 η ποσότητα των αλκοολών κυμαίνεται σε χαμηλές σχετικά τιμές με εντυπωσιακά πολλαπλάσια διαφορά στην τιμή του 2004. Η τόσο μεγάλη απόκλιση της τιμής των αλκοολών για το απόσταγμα Σαντορίνης του 2004 μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι κατά την παλαίωση του οίνου με την πάροδο του χρόνου επικράτησε μία αρκετά μεγάλη ποσότητα 1-πεντανόλης η οποία και στη συνέχεια πέρασε μέσω της διαδικασίας της απόσταξης στο τελικό προϊόν, το απόσταγμα, μιας και το αντίστοιχο απόσταγμα του ίδιου οίνου νεώτερης σοδειάς παρουσιάζει υποπολλαπλάσια τιμή. Η μεγάλη ποσότητα ανώτερων αλκοολών για το απόσταγμα οίνου της Σαντορίνης 2004 επιβεβαιώνει την υπεροχή του αποστάγματος στο πλήθος αρωματικών συστατικών έναντι του νεώτερου αυτού του 2013 όπως φάνηκε από την ποιοτική καταγραφή των αρωματικών ουσιών.

Οι ανώτερες αλκοόλες αποτελούν την ομάδα με την υψηλότερη συγκέντρωση στα αποστάγματα, που τους δίνει γευστικό άρωμα και ουσιώδη χαρακτήρα. (Ferreira et al., 1999; Silva & Malcata, 1999). Για αυτόν ακριβώς τον λόγο η Ευρωπαϊκή νομοθεσία έχει κάποιες ελάχιστες απαιτήσεις για αυτές τις αρωματικές ουσίες, το να είναι υψηλότερες από  $140 \text{ g/hl AA}$ . Παρολαυτά, κάποιες αλκοόλες (π.χ η αμυλική ή αλλιώς 1-πεντανόλη) σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις είναι υπεύθυνη για ορισμένη τοξικότητα. Τα επίπεδα αυτών των συστατικών επηρεάζονται από την ποικιλία του σταφυλιού, τις συνθήκες ζύμωσης και απόσταξης και συγκεντρώνονται κυρίως στο πρώτο κλάσμα που ονομάζεται "κεφαλές", του αποστάγματος (Silva & Malcata, 1998). Οι αμυλικές αλκοόλες, η 2-μέθυλο-1-βουτανόλη και η 3-μέθυλο-1-βουτανόλη, αποτελούν ποσοτικά το μεγαλύτερο μέρος των ανώτερων αλκοολών που θεωρούνται προφήτες του αρωματικού χαρακτήρα του προϊόντος απόσταξης (Silva et al., 1996). Οι Soufleros and Bertrand 1987, εκτίμησαν τις τιμές αυτών των αλκοολών σε ένα εύρος από 11-56 και 35-201  $\text{gr/hl}$  αντίστοιχα σε μελέτες τους πάνω στο τσίπουρο.

Σε ότι αφορά στις τιμές της 2-φαινυλαιθανόλης από τον πίνακα 50 φαίνεται η μικρή υπεροχή του αποστάγματος της Δράμας 2013 σε σχέση με τα υπόλοιπα με μικρές όμως διαφορές. Ένα άλλο όμως συμπέρασμα που μπορεί να βγει είναι η σταδιακή μείωση της ποσότητας της 2-φαινυλαιθανόλης με την παλαίωση του οίνου μιας και για τα αποστάγματα που προέκυψαν από οίνους φρέσκους και παλαιώτερους (Δράμα 2012 και Δράμα 2013, Σαντορίνη 2004 και Σαντορίνη 2013) διακρίνεται μια πτώση στην τιμή της 2-φαινυλαιθανόλης.

Η 2-φαινυλαιθανόλη δίνει ένα ευχάριστο άρωμα στα αποστάγματα, που μοιάζει με τριαντάφυλλο (Stark, et al., 1998) και προέρχεται από την L-φαινυλαμίνη μέσα από την μεταβολική δράση του *Saccharomyces cerevisiae* κατά την ανθρακική αναερόβωση (Silva and Malcata, 1998, 1999; Stark et al., 1998).

Υψηλές συγκεντρώσεις της 2- φαινυλαιθανόλης έδειξαν οι Soufleros and Bertrand (1987) για το ελληνικό απόσταγμα τσίπουρο και ποικίλαν από 2,8- 23,4 g/hl AA. Αυτές οι υψηλές τιμες οφείλονται πιθανόν στην τεχνική απόσταξης καθώς και στον τύπο του χρησιμοποιούμενου άμβυκα όπως διαπιστώθηκε και απο την έρευνα των Soufleros et al. 2004. Η τεχνική απόσταξης της συγκεκριμένης έρευνας δεν χρησιμοποίησε χαλκίνο άμβυκα όπως συμβαίνει συχνά στην τεχνολογία παραγωγής του τσίπουρου αλλά ανοξείδωτο και γυάλινο.

**Πίνακας 50.** Ποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων(σε mgL<sup>-1</sup>) στα αποστάγματα οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο διαφορετικών ετών με την μέθοδο λογία GC/MS.

ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ	ΔΡΑΜΑ 2012	ΔΡΑΜΑ 2013	NEMEA 2013	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ 2004	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ 2013
2-φαινυλαιθανόλη	7,92d±0,3	11,80a±0,20	8,38cd±0,30	9,04bc±0,20	9,80b±0,60
1- πεντανόλη	nd	9,55c±0,49	233,08b±5,00	851,94a±50,53	29,58c±0,50
1-εξανόλη	nd	15,07c±0,45	25,77b±0,70	140,47a±5,04	21,82bc±0,95
3- μεθυλοθείο1προπανόλη	nd	nd	0,17a±0,02	0,28a±0,07	nd
<b>άθροισμα αλκοολών</b>	<b>7,92d±0,3</b>	<b>36,42c±0,16</b>	<b>267,39b±2,35</b>	<b>1001,73a±24,49</b>	<b>61,20c±0,24</b>
Εξανοϊκό οξύ	nd	3,14a±0,11	0,30c±0,02	0,17c±0,05	0,75b±0,03
ισοβαλερικό οξύ	nd	nd	0,40a±0,49	0,14a±0,04	nd
βουτυρικό οξύ	nd	0,76b±0,06	0,72b±0,01	1,84a±0,20	nd
ισοβουτυρικό οξύ	nd	nd	0,69b±0,04	1,84a±0,42	nd
<b>άθροισμα οξέων</b>	<b>nd</b>	<b>3,89a±0,05</b>	<b>2,11b±0,24</b>	<b>3,99a±0,18</b>	<b>0,75c±0,03</b>
οξικός ισοαμυλεστέρας	nd	1,41a±0,41	0,40b±0,04	1,15a±0,11	nd
εξανοϊκος αιθυλεστέρας	nd	nd	0,39a±0,08	0,41a±0,03	nd
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	nd	nd	nd	nd	nd
3-υδροξυ- βουτανικός αιθυλεστέρας	nd	nd	0,05b	0,21a±0,01	nd
βουτανικός αιθυλεστέρας	nd	9,83b±0,60	1,89c±0,30	18,51a±2,75	nd
οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	0,27d±0,02	15,80a±0,80	2,65c±0,60	1,28d±0,23	6,19b±0,10
οξικός 2- φαινυλαιθυλεστέρας	0,02b±0,01	0,68a±0,04	0,35ab±0,40	0,04b±0,02	0,14b±0,03
<b>άθροισμα εστέρων</b>	<b>0,30c±0,11</b>	<b>27,72a±0,35</b>	<b>5,73b±0,23</b>	<b>21,60a±1,02</b>	<b>6,33b±0,49</b>

ΔΡΑΜΑ , οίνος από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενα από την περιοχή της Δράμας

NEMEA, , οίνος από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενα από την περιοχή της Νεμέας

ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ, , οίνος από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο προερχόμενα από την περιοχή της Σαντορίνης

nd μή ανιχνεύσιμη ουσία

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συνθήκες για κάθε πτητικό συστατικό

διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test  $p < 0.05$ )

Για την ποσότητα των οξέων που προσδιορίστηκε στα αποστάγματα την μικρότερη ποσότητα είχε το απόσταγμα της Σαντορίνης 2013 ( $0,75 \text{ mg L}^{-1}$ ) και την μεγαλύτερη εκείνο της Σαντορίνης του 2004 ( $3,99 \text{ mg L}^{-1}$ ). Το απόσταγμα της Δράμας του 2012 ( $3,89 \text{ mg L}^{-1}$ ) ήταν πολύ κοντά με εκείνο της Σαντορίνης του 2004 ενώ το απόσταγμα της Νεμέας του 2013 ήταν σε μία ενδιαμεση τιμή ( $2,11 \text{ mg L}^{-1}$ ). Το απόσταγμα της Δράμας του 2012 δεν είχε οξέα σε ανιχνεύσιμη μορφή, που σημαίνει ότι οι ποσοτητές τους ήταν πολύ χαμηλές.

Τα μικρής αλυσίδας λιπαρά οξέα (βουτυρικό, ισοβουτυρικό και ισοβαλερικό) βρίσκονται συνήθως σε μικρές συγκεντρώσεις αλλά με μια οσμή παρόμοια σε ένταση με αυτήν του οξικού οξέος (Silva and Malcata, 1999, Souffleros et al., 2001) και συνεπώς με μια σημαντική συμβολή στον αρωματικό χαρακτήρα των αποσταγμάτων (Ferreira et al., 1999; Silva and Malcata, 1999). Οι Karagiannis and Lanaridis (2002) έδειξαν ότι πιθανόν να απελευθερώνονται ως ενδιάμεσα προϊόντα της μακρυσ αλυσίδας των λιπαρών οξέων μέσω του μεταβολισμού των ζυμομυκήτων των υδρογονανθράκων και μπορούν να επηρεάσουν από την παρουσία αδιάλυτων στερεών σωματιδίων κατά την ζύμωση δίνοντας μια οσμή σαπουνιού.

Τα μακρυσ αλυσίδας λιπαρά οξέα, το εξανοϊκό, οκτανοϊκό, δεκανοϊκό και δωδεκανοϊκό έχουν μικρότερη αρωματική επίδραση στα αποστάγματα (Silva and Macata, 1999; Souffleros et al., 2001) για αυτό και η μεγάλη ποσότητα του εξανοϊκού οξέως στο απόσταγμα της Δράμας του 2013, συγκριτικά με τα υπόλοιπα δεν έδειξε να μετέχει στο αρωματικό προφίλ του.

Σε ότι αφορά στους εστέρες των αποσταγμάτων, την μεγαλύτερη ποσότητα εμφάνισε το απόσταγμα της Δράμας 2013 ( $27,7 \text{ mg L}^{-1}$ ) ενώ πολύ κοντά του βρέθηκε και το απόσταγμα της Σαντορίνης του 2004 ( $21,6 \text{ mg L}^{-1}$ ). Τα αποστάγματα της Νεμέας 2013 και Σαντορίνης 2013 ήταν πολύ κοντά στην ποσότητα των εστέρων ( $5,7 \text{ mg L}^{-1}$  και  $6,3 \text{ mg L}^{-1}$  αντίστοιχα) ενώ πολύ μικρή ποσότητα εστέρων έδειξε το απόσταγμα της Δράμας του 2012 ( $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ ). Στο απόσταγμα της Δράμας του 2012 ανιχνεύτηκε μόνο ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας ενώ ο 2-μέθυλο βουτανικός αιθυλεστέρας δεν ανιχνεύτηκε σε κανένα απόσταγμα. Ο οξικός ισοαμυλεστέρας ανιχνεύτηκε σε παρόμοιες συγκεντρώσεις στο απόσταγμα της Δράμας 2013 και Σαντορίνης 2004 ( $1,4 \text{ mg L}^{-1}$  και  $1,1 \text{ mg L}^{-1}$  αντίστοιχα) ενώ ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας βρέθηκε σε παρόμοιες συγκεντρώσεις στα αποστάγματα Νεμέας 2013 και Σαντορίνης 2004 ( $0,39 \text{ mg L}^{-1}$  και  $0,41 \text{ mg L}^{-1}$  αντίστοιχα). Πολύ υψηλές συγκεντρώσεις στα αποστάγματα είχε ο βουτανικός αιθυλεστέρας με τιμές από  $18,5 \text{ mg L}^{-1}$  για το απόσταγμα της Σαντορίνης του 2004 και  $9,8 \text{ mg L}^{-1}$  για το απόσταγμα της Δράμας του 2013. Σε ότι αφορά στην συγκέντρωση του οκτανοϊκού αιθυλεστέρα αισθητά μεγάλη υπεροχή είχε το απόσταγμα της Δράμας του 2013 με  $15,8 \text{ mg L}^{-1}$  ενώ

ακολουθεί με πολυ μικρότερη ποσότητα η Σαντορίνη του 2013 , 6,1 mg L<sup>-1</sup>. Ο οξικός 2- φαινυλαιθυλεστέρας με μεγαλύτερη ποσότητα,αυτή στο απόσταγμα της Δράμας του 2013 στα 0,68 mg L<sup>-1</sup> και ακολούθως στη Νεμέα του 2013 με σχεδόν την μισή ποσότητα , 0,35 mg L<sup>-1</sup>.

Ο οξικός αιθυλεστέρας είναι ο εστέρας με την υψηλότερη συγκέντρωση, ο οποίος πάνω από το όριο ανίχνευσης των 180 g/hl AA δίνει στο απόσταγμα έναν όξινο χαρακτήρα (Ferreira et al., 1999). Ο ισοαμυλικός αιθυλεστέρας, ο οξικός εθυλεστέρας και ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας συνθέτουν την ομάδα των εστέρων του οξικού οξέος το οποίο είναι το πιο υπεύθυνο για τον φρουτώδη και ανθικό άρωμα των αποσταγμάτων ( Ferreira et al., 1999; Silva and Malcata, 1999) με τον ισοαμυλικό να βρίσκεται στην μεγαλύτερη συγκέντρωση.

Οι εστέρες των λιπαρών οξέων συμβάλλουν στο άρωμα του αποστάγματος δίνοντας μία φρουτώδη και ανθική οσμή (Karagiannis and Lanaridis , 2002) ενδεικτική της ποιότητας του αποστάγματος ( Silva and Malcata, 1999; Soufleros et al., 2001). Εκτός αυτού, ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας είναι ο πιο επικρατής από όλους τους εστέρες. (Bastley and Schwede, 1989). Οι αιθυλικοί εστέρες του εξανοϊκού του οκτανοϊκού και του δεκανοϊκού, οι οποίοι παράγονται κατά την ζύμωση των πρώτων υλών (Silva and Macata , 1998) περνάνε στα αποστάγματα και αυξάνουν με την παλαίωση (Silva and Macata, 1999; Soufleros et al., 2001) γεγονός που θα μπορούσε να μελετηθεί υποβάλλοντας τα αποστάγματά μας σε διαδικασία παλαίωσης και επανεξετάζοντας το αρωμά τους με την πάροδο του χρόνου.

Κατά την διαδικασία απόσταξης στην καρδιά απελευθερώνεται μια σημαντική ποσότητα αυτών των εστέρων από τα κύτταρα των ζυμομυκήτων στα οποία παραμένουν δεμένα μετά την ζύμωση (Caumeil, 1983). Αυτά τα 3 συστατικά έχουν μια μεγάλη συμμετοχή σε σχέση με τα άλλα πτητικά συστατικά (π.χ. ανώτερες αλκοόλες) και προσδιορίζουν ένα ευρέως προφίλ αρωματικό χαρακτήρα για τα αποστάγματα (Ferreira et al., 1999).

## Κεφάλαιο 17. Συμπεράσματα και προοπτικές

Στη διάρκεια της πολύχρονης αυτής μελέτης έγινε μια προσπάθεια να διερευνηθεί το δυναμικό της ποικιλίας Ασύρτικο και να αποκτήσουμε περαιτέρω γνώση μιας και θεωρείται η πιο επιτυχημένη και γνωστή ελληνική ποικιλία, πρεσβευτής του ελληνικού οίνου στον εισερχόμενο τουρισμό και στις εξαγωγές.

Είναι μια ποικιλία που θεωρείται ότι έχει σημαντικό δυναμικό παλαίωσης λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας σε φαινολικά γεγονός το οποίο την οδηγεί ταυτόχρονα και σε οξειδώσεις. Υπεύθυνο ένζυμο για την οξείδωση θεωρείται η τυροσινάση. Ο προσδιορισμός του ενζύμου τυροσινάση σε δείγματα σταφυλιού της ποικιλίας Ασύρτικο έδειξε να ακολουθεί μία αυξητική πορεία κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης λίγο πριν την ημερομηνία τρυγητού ενώ στη συνέχεια μειώνεται σε χαμηλότερες και από τις αρχικές τιμές της, γεγονός που υποδεικνύει ότι ελαφριά υπερωρίμανση θα μπορούσε να μειώσει τυχόν οξειδώσεις των φαινολικών συστατικών του Ασύρτικου Σαντορίνης.

Όσον αφορά στην επίδραση της περιοχής ή της οινοποιητικής τεχνικής φαίνεται ότι οι οίνοι της Σαντορίνης συνολικά, συγκρινόμενοι με τους οίνους των άλλων δύο περιοχών (Δράμα και Νεμέα) καταλήγουν σε υψηλότερες τιμές απορρόφησης και συνεπώς σε σκουρότερο χρώμα δείχνοντας την τάση των οίνων Σαντορίνης για μεγαλύτερη οξείδωση. Οι χαμηλές τιμές του συστελεστή  $k$  φανερώουν την αργή εμφάνιση των καφέ αποχρώσεων και συνεπώς την καθυστέρηση στην οξείδωση των οίνων, γεγονός που δείχνει να ισχύει για τους οίνους της Δράμας και Νεμέας αλλά όχι για τους οίνους της Σαντορίνης. Επίσης οι οίνοι της προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης έδειξαν τάση για περισσότερη και γρηγορότερη οξείδωση σε σχέση με τους οίνους που παράγονται με κλασική μέθοδο γλευκοποίησης.

Οι οίνοι που δείχνουν τάση για μεγαλύτερη οξείδωση (οίνοι Σαντορίνης, οίνοι προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης) εμφανίζουν από την άλλη υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας και για τις 2 χρονιές. Οι οίνοι προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης άρα από την μία, λόγω του μεγαλύτερου φαινολικού φορτίου που διαθέτουν παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα μεν, το χρώμα τους όμως σκουραίνει γρηγορότερα.

Οι υποθέσεις αυτές επιβεβαιώνονται από τις αναλύσεις προσδιορισμού του πολυφαινολικού περιεχομένου των μελετούμενων οίνων, καθώς τα αποτελέσματα ήταν χαρακτηριστικά, διαχωρίζοντας τους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλοποίησης ως πιο πλούσιους σε φαινολικά συστατικά σε σχέση με τους οίνους κλασικής οινοποίησης ανεξαρτήτου της περιοχής προέλευσης των σταφυλιών και για τα δύο έτη. Συνολικά οι τιμές των οίνων της Σαντορίνης δείχνουν μία υπεροχή συγκριτικά με τις άλλες περιοχές ως προς την περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά.



Η επιδραση του terroir αλλά και των οινολογικών τεχνικών στο άρωμα των οίνων από Ασύρτικο είναι πιο πολύπλοκη σε σχέση με το φαινολικό δυναμικό. Έτσι έπρεπε κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης αρχικά να προσδιοριστούν και να ταυτοποιηθούν τα πτητικά συστατικά που διαμορφώνουν το άρωμα των οίνων από Ασύρτικο και στη συνέχεια να αναπτυχθούν μέθοδοι.

Ένας μεγάλος αριθμός πτητικών συστατικών είναι υπεύθυνα για το συνολικό άρωμα των οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο όπως φαίνεται κατά την εφαρμογή αερίου χρωματογραφίας/φασματομετρίας μάζας/ ολφακτομετρίας. Συνολικά 27 πτητικά συστατικά φαίνεται να διαμορφώνουν το άρωμα των οίνων αυτών. Πέρα από τα βασικά πτητικά συστατικά τα οποία έχουν ταυτοποιηθεί και σε άλλες ποικιλίες, ο οίνος Ασύρτικου χαρακτηρίστηκε από επιπλέον φρουτώδεις, ανθικές και γλυκές νότες του οξεικού ισοαμλεστέρα και των αιθυλεστέρων όπως ο βουτυρικός αιθυλεστέρας, ο 2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας και ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας.

Για την ποσοτική ανάλυση των πτητικών συστατικών αναπτύχθηκαν δυο διαφορετικές μέθοδοι ποσοτικής ανάλυσης ώστε να συγκριθούν μεταξύ τους και να επιλεγεί η καλύτερη. Οι εφαρμοζόμενες μέθοδοι **στερεής εκχύλισης SPE** και η μέθοδος **υγρής εκχύλισης** επιτρέπουν τον γρήγορο, ποσοτικό προσδιορισμό για τα περισσότερα από τα πτητικά συστατικά του οίνου. Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά – γραμμικότητα, επαναληψιμότητα και ακρίβεια των μεθόδων είναι πολύ ικανοποιητικά. Η μέθοδος στερεής εκχύλισης SPE δείχνει να είναι πιο ευαίσθητη στους εστέρες, στις φαινόλες και τις τερπενόλες ενώ η μέθοδος υγρής-υγρής εκχύλισης είναι πιο ευαίσθητη στην ανίχνευση των οξέων. Με βάση την γενικότερη διαπίστωση και εφόσον το ενδιαφέρον αναφέρεται σε συγκεκριμένες ουσίες η στερεή εκχύλιση ανιχνεύει καλύτερα το ισοβαλικό οξύ και εξανοϊκό από τα οξέα (παρά την αδυναμία ανίχνευσης των περισσότερων οξέων) ενώ από τερπένια την γερανιόλη, λιναλοόλη, ευγενόλη και α-τερπινεόλη. Για την υγρή-υγρή εκχύλιση ανιχνεύτηκαν καλύτερα η ένωση της λιναλοόλης καθώς επίσης και η 4 αίθυλο-γουαϊακόλη και το οξικό οξύ.

Σε ότι αφορά στην σύγκριση των αποτελεσμάτων ποσοτικοποίησης των ίδιων οίνων ένα ασφαλές συμπέρασμα είναι ότι η μέθοδος υγρής - υγρής εκχύλισης ανίχνευσε μεγαλύτερες ποσότητες στους οίνους από τις ενώσεις: οξικός ισοβουτυλεστέρας, προπανικό οξύ, οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας και 1-πεντανόλη, ενώ η μέθοδος στερεής εκχύλισης ανίχνευσε μεγαλύτερες ποσότητες από την 1-εξανόλη, τον οξικό ισοαμλεστέρα, την 3-μέθυλο-1-βουτανόλη και τον βουτανικό μεθυλεστέρα.

Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν τις εν λόγω μεθόδους χρήσιμες για τον έλεγχο της ποιότητας του οίνου και την ταξινόμηση αυτού, καθώς και για την παροχή πληροφοριών οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη διαχείριση της διαδικασίας οινοποίησης και δύναται ο αναλυτής να εφαρμόζει την μία ή την άλλη ανάλογα με τα συστατικά στόχο που επιθυμεί να ποσοτικοποιήσει.

Η επίδραση της προζυμωτικής εκχύλισης και της απολάσπωσης στα βασικά πτητικά συστατικά του αρώματος των οίνων έδειξε ότι για το 2004 το σύνολο των αιθυλικών εστέρων ήταν υψηλότερο για τους διαυγείς οίνους κλασσικής και προζυμωτικής κρυσταλλικής κρυσταλλικής, το σύνολο των οξικών εστέρων μεγαλύτερο για τους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλικής (σύλλασπους κα διαυγείς) όπως και το σύνολο των ανώτερων αλκοολών και των C<sub>6</sub> αλκοολών. Η ποσοτικοποίηση αυτών των συστατικών, των προερχόμενων γενικά από την αλκοολική ζύμωση, στους οίνους της ποικιλίας Ασύρτικο που παράγονται με κλασσική οινοποίηση ή με προζυμωτική κρυσταλλική, δεν έδειξε σημαντική διαφορά για την μία ή την άλλη μέθοδο οινοποίησης. Μόνο τα επίπεδα των C<sub>6</sub> αλκοολών ήταν σημαντικά υψηλότερα στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλικής, και στους δύο τρύγους. Αντιθέτως βρέθηκε ότι η απολάσπωση- διαύγαση, ειδικά στους οίνους της κλασσικής οινοποίησης, μπορεί να οδηγήσει σε πιο φρουτώδης οίνους μιας και τα επίπεδα των αιθυλικών εστέρων ήταν σημαντικά υψηλότερα και από την άλλη πλευρά, τα επίπεδα των ανώτερων αλκοολών, τα οποία γενικά συνεισφέρουν αρνητικά στο άρωμα του οίνου, βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλικής δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαυγασμένων και μη διαυγασμένων οίνων, με εξαίρεση τον βουτανικό αιθυλεστέρα, και τον οξικό ισοαμυλεστέρα (σημαντικά υψηλότερος στους διαυγασμένους οίνους).

Σε παρόμοιο πείραμα που επαναλήφθηκε τις χρονιές 2012 και 2013 (επίδραση της τεχνικής οινοποίησης, κλασσική ή προζυμωτική κρυσταλλική και terroir) υψηλότερες βαθμολογίες δώθηκαν στους οίνους που είχαν υποβληθεί σε προζυμωτική κρυσταλλική. Η οργανοληπτική εξέταση των οίνων αυτών δείχνει μία προτίμηση των κριτών στους οίνους προζυμωτικής κρυσταλλικής. Μετά την οργανοληπτική αξιολόγηση έγινε **ποσοτική** ανάλυση των βασικών πτητικών συστατικών και φάνηκε σημαντική(σχεδόν διπλάσια) υπεροχή σε όλες τις κατηγορίες πτητικών ουσιών για τους οίνους από την περιοχή της Δράμας για αυτούς που παρήχθησαν με προζυμωτική κρυσταλλική συγκριτικά με εκείνους που παρήχθησαν με κλασσική οινοποίηση ενώ στους οίνους από την περιοχή της Νεμέας για τις κατηγορίες των αλκοολών και των οξέων φαίνεται η υπεροχή στις ποσότητες αυτών για τους οίνους της προζυμωτικής κρυσταλλικής σε σχέση με εκείνους της κλασσικής οινοποίησης μόνο για τα πρώιμα σταφύλια, ενώ τα όψιμα εμφανίζουν αρκετά κοντινές τιμές και σε αρκετές ενώσεις αντίστροφα υψηλότερες.

Σε ότι αφορά στους εστέρες, ο οίνος κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών της Νεμέας εμφανίζει εντυπωσιακά υψηλή τιμή (25 φορές πολλαπλάσια) στο σύνολο των εστέρων. Ο εστέρας που δίνει τόσο υψηλή συγκέντρωση και χάρη στον οποίον οφείλεται αυτή η εντυπωσιακή διαφορά τιμών είναι ο βουτανικός αιθυλεστέρας. Η χαρακτηριστική οσμή του βουτανικού αιθυλεστέρα και σε τόσο υψηλή συγκέντρωση προσδίδει στον συγκεκριμένο οίνο ένα κυρίαρχο άρωμα

ανανά. Για τους οίνους από το νησί της Σαντορίνης στο συνολικό άθροισμα των αλκοολών ο οίνος που εμφανίζει εντυπωσιακή διαφορά από τους υπόλοιπους είναι της προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών. Στην κατηγορία των οξέων έχει και πάλι την μεγαλύτερη συγκέντρωση ο ίδιος οίνος (με τιμή σχεδόν πενταπλάσια) . Η ίδια υπεροχή εμφανίζεται και στην κατηγορία των εστέρων με τιμή 40 φορές μεγαλύτερη. Συσχετίζοντας τα αποτελέσματα της GC/MS με εκείνα της οργανοληπτικής δοκιμής των οίνων του 2012 ενώ από την εκτίμηση των κριτών οι οίνοι της Δράμας χαρακτηρίστηκαν με αρώματα τροπικών φρούτων, και μεγαλύτερες βαθμολογίες σε σχέση με τους υπόλοιπους οι οποίοι χαρακτηρίστηκαν με αρώματα εσπεριδοειδή και ανθικά, από την ποσοτική καταγραφή η Νεμέα είχε εντονότερα αρώματα ανανά.

Στην επανάληψη του πειράματος το (2013) σε ότι αφορά στην **ποσοτικοποίηση** των βασικών πτητικών συστατικών του αρώματος τα αποτελέσματα έδειξαν την υπεροχή του οίνου προζυμωτικής κρυσταλλικής από την περιοχή της Δράμας σε σχέση με τον οίνο κλασσικής οινοποίησης στις κατηγορίες των οξέων και εστέρων ενώ στην κατηγορία των αλκοολών μεγαλύτερη συνολικά τιμή στο άθροισμα των αλκοολών εμφανίζει ο οίνος κλασσικής οινοποίησης (όψιμων σταφυλιών).

Οι οίνοι από την περιοχή της Νεμέας εμφανίζουν περισσότερες αλκοόλες και οξέα στη συνθήκη προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών ενώ στην κατηγορία των εστέρων μεγαλύτερη συγκέντρωση και με σχεδόν διπλάσια διαφορά από τις επόμενες τιμές εμφανίζει ο οίνος κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών.

Στους οίνους από το νησί της Σαντορίνης εκείνος που παρουσιάζει και στις τρεις κατηγορίες ενώσεων (αλκοόλες, οξέα και εστέρες) αισθητά μεγαλύτερες τιμές από τους υπόλοιπους οίνους είναι ο οίνος προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών.

Συσχετίζοντας τα αποτελέσματα της GCMS με εκείνα της οργανοληπτικής δοκιμής των οίνων του 2013 ενώ από την εκτίμηση των κριτών σε βαθμολογικά υψηλές θέσεις βρέθηκαν οι οίνοι της Νεμέας (πρώιμων σταφυλιών κλασσικής και προζυμωτικής κρυσταλλικής) αλλά και ο οίνος της Δράμας προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών (με μεγάλη αρωματική ένταση, πλούτο ισορροπία, διάρκεια και επίγευση) η υπεροχή του οίνου της Δράμας σε εστέρες, οξέα και σε τροπικά αρώματα επιβεβαιώνει την οργανοληπτική εκτίμηση των κριτών. Το ίδιο ισχύει και για τους οίνους Νεμέας και Σαντορίνης προζυμωτικής κρυσταλλικής όψιμων σταφυλιών ο οποίος μεν πρώτος περιέχει μεγάλες ποσότητες πτητικών συστατικών με τροπικό άρωμα ενώ ο οίνος Σαντορίνης έδωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις από τις υπόλοιπες 3 συνθήκες.

Συμπερασματικά οι περαματισμοί των ετών 2004-2006 σε Σαντορίνη αλλά και των ετών 2012 και 2013 σε Δράμα, Νεμέα , Σαντορινη επιβεβαίωσαν την υπεροχή των οίνων προζυμωτικής κρυσεκχύλισης συγκριτικά με της κλασσικής οινοποίησης .

Η επίδραση του terroir στο αρωματικό προφίλ των οίνων εξετάστηκε στο δεύτερο τμήμα της παρούσας μελέτης μέσω οργανοληπτικής εξέτασης αλλά και αναλύσεων των πτητικών συστατικών. Φαίνεται ότι οι οίνοι της Δράμας χαρακτηρίζονται από έντονο άρωμα και γεύση τροπικών φρούτων ενώ αυτοί της Νεμέας από νότες εσπεριδοειδών και της Σαντορίνης από εσπεριδοειδή και ανθικά αρώματα. Οι οίνοι της Δράμας πήραν τις υψηλότερες βαθμολογίες ακολουθούμενοι από τους οίνους της Σαντορίνης. Τα αποτελέσματα αυτά βρέθηκαν για τους οίνους του 2012 ενώ για τους οίνους του 2013 διαπιστώθηκε ότι τις μεγαλύτερες βαθμολογίες συγκέντρωσαν κατά σειρά οι οίνοι Νεμέας προζυμωτικής κρυσεκχύλισης πρώιμων σταφυλιών, Νεμέας κλασσικής οινοποίησης πρώιμων σταφυλιών, Δράμας προζυμωτικής κρυσεκχύλισης όψιμων σταφυλιών, Σαντορίνης προζυμωτικής κρυσεκχύλισης πρώιμων σταφυλιών και τέλος Δράμας κλασσικής οινοποίησης όψιμων σταφυλιών. Από την PCA φάνηκε ότι από τα 4 δείγματα οίνων που βρίσκονται στις πρώτες θέσεις βαθμολόγησης ενώ βαθμολογικά διατηρούν την σειρά που αναφέρθηκε παραπάνω, ο οίνος της Δράμας προζυμωτικής κρυσεκχυλισης όψιμων σταφυλιών είναι εκείνος που χαρακτηρίστηκε με μεγαλύτερη αρωματική ένταση, πλούτο, ισορροπία, αρωματική διάρκεια και επίγευση. Παρόλα αυτά ο διαχωρισμός των οίνων με βάση την επίδραση που έχει στην βαθμολογική κατάταξη τους η γεωγραφική περιοχή προέλευσης των σταφυλιών (terroir) δεν είναι εύκολος μιας και στις υψηλότερες βαθμολογίες υπάρχουν οίνοι και από τις 3 περιοχές. Η περιοχή της Δράμας είχε υψηλή βαθμολογία, ενώ μεγάλη προτίμηση και προσομοίωση με την Δράμα είχε και η περιοχή της Νεμέας.

Στον ίδιο πειραματισμό εντάχθηκε και η αξιολόγηση της επίδρασης της ωρίμανσης στην ποιότητα των οίνων. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι και από τις 3 περιοχές οι οίνοι πρώιμων σταφυλιών (πρώιμης ωρίμανσης) βαθμολογήθηκαν υψηλότερα σε σχέση με τους οίνους όψιμων σταφυλιών με εξαίρεση τον οίνο Σαντορίνης.

Σε ότι αφορά στη μελέτη των **αποσταγμάτων** οίνων της ποικιλίας Ασύρτικο και συνοψίζοντας την ποιοτική καταγραφή των πτητικών συστατικών του αρώματος με χρήση GC/MS φάνηκε ότι η Νεμέα και η Δράμα έδωσαν αποστάγματα με αρώματα εσπεριδοειδών και φρούτων, ενώ η Σαντορίνη πιο γλυκά φρουτώδη αρώματα. Με βάση τα αποτελέσματα από την οργανοληπτική μελέτη των οίνων, καταγράφηκε ότι το Ασύρτικο της Σαντορίνης και της Νεμέας δίνουν κατά βάση αρώματα εσπεριδοειδή, λεμόνι -κίτρο και λευκά άνθη, ενώ της Δράμας δίνει φρουτώδη τροπικά αρώματα. Στο απόσταγμα η Νεμέα εξακολουθεί να κρατάει τα αρώματα

εσπεριδοειδών ενώ αντίστοιχα, το Ασύρτικο της Δράμας στο απόσταγμα βγάζει αρώματα εσπεριδοειδών και της Σαντορίνης φρουτώδη.

Η ποσοτική μελέτη των βασικών πτητικών συστατικών του αρώματος στα 5 αποστάγματα που μελετήθηκαν έδειξε ότι στις ανώτερες αλκοόλες που προσδιορίστηκαν (στο άθροισμά τους), η Σαντορίνη του 2004 εμφανίζει πολλή μεγάλη ποσότητα, (πενταπλάσια) ( με κυρίαρχη την 1-πεντανόλη) ακόμη και από το δεύτερο σε ποσότητα αλκοολών απόσταγμα που είναι η Νεμέα του 2013. Τον μικρότερο αριθμό αλκοολών έχει το απόσταγμα της Δράμας ενώ στην Σαντορίνη του 2013 η ποσότητα των αλκοολών κυμαίνεται σε χαμηλές σχετικά τιμές με εντυπωσιακά πολλαπλάσια διαφορά στην τιμή του αποστάγματος του 2004. Η μεγάλη ποσότητα ανώτερων αλκοολών για το απόσταγμα οίνου της Σαντορίνης 2004 επιβεβαιώνει την υπεροχή του αποστάγματος στην πλειοψηφία των πτητικών συστατικών του αρώματος έναντι του νεώτερου αυτού του 2013 όπως φάνηκε και από την ποιοτική καταγραφή.

Σε ότι αφορά στις τιμές της 2-φαινυλαιθανόλης φάνηκε η μικρή υπεροχή του αποστάγματος της Δράμας 2013 σε σχέση με τα υπόλοιπα με μικρές όμως διαφορές. Συμπερασματικά προκύπτει σταδιακή μείωση της ποσότητας της 2-φαινυλαιθανόλης με την παλαιώση του οίνου μιας και συγκρίνοντας αποστάγματα που προέκυψαν από οίνους φρέσκους και παλαιώτερους (Δράμα 2012 και Δράμα 2013, Σαντορίνη 2004 και Σαντορίνη 2013) διακρίνεται μια πτώση στην τιμή της 2-φαινυλαιθανόλης.

Για την ποσότητα των οξέων που προσδιορίστηκε στα αποστάγματα την μικρότερη ποσότητα είχε το απόσταγμα της Σαντορίνης 2013 και την μεγαλύτερη εκείνο της Σαντορίνης του 2004 (πενταπλάσια). Το απόσταγμα της Δράμας του 2012 ήταν πολύ κοντά με εκείνο της Σαντορίνης του 2004 ενώ το απόσταγμα της Νεμέας του 2013 ήταν σε μία ενδιάμεση τιμή. Το απόσταγμα της Δράμας του 2012 δεν είχε οξέα σε ανιχνεύσιμη μορφή.

Σε ότι αφορά στους εστέρες των αποσταγμάτων, την μεγαλύτερη ποσότητα εμφάνισε το απόσταγμα της Δράμας 2013 ενώ πολύ κοντά του βρέθηκε και το απόσταγμα της Σαντορίνης του 2004. Τα αποστάγματα της Νεμέας 2013 και Σαντορίνης 2013 ήταν πολύ κοντά στην ποσότητα των εστέρων (υπο πενταπλάσια) ενώ πολύ μικρή ποσότητα εστέρων έδειξε το απόσταγμα της Δράμας του 2012.

Έχει ενδιαφέρον η περαιτέρω απόκτηση γνώσης πάνω στην ποικιλία Ασύρτικο μιας και η παρούσα διατριβή δεν μπορεί να καλύψει όλο το φάσμα των παραγόντων που διαμορφώνουν το άρωμα της ποικιλίας. Χρήσιμες πληροφορίες μπορούν να δωθούν και από την μελέτη των πρόδρομων αρωματικών συστατικών της ποικιλίας, τη διαμόρφωση της ποιότητας των οίνων μέσω της διαδικασίας παλαιώσης όπως και από στοιχεία σε μεγαλύτερο γεωγραφικό εύρος καλλιέργειας του Ασύρτικου

(εντός και εκτός Ελλαδικού χώρου) καθώς υπάρχει πολύ μεγάλη ποικιλομορφία στο μικροκλίμα με επιπλέον διαφοροποιήσεις βάση της κλιματικής αλλαγής που έχει ξεκινήσει τα τελευταία χρόνια και η οποία επιφυλλάσσει μεγάλες αλλαγές στον παγκόσμιο αμπελοοινικό χάρτη του μέλλοντος.

## Αναφορές

### Ξένη Βιβλιογραφία

Allen, M.S. Lacey, M.J., Brown, W.V., and Harris, R.L.N., (1991), Contribution of methoxy-pyrazines to Sauvignon Blanc wine aroma. *Am.J. Enol.Vit.* 42, 109.

Allen, M.S., (1989). Sauvignon blanc varietal aroma. *Aust Grapegrower Winemaker*, 292, 51–56

Alvarez, I., Aleixandre, J.L., Garcya, M.J., Lizama, V., (2006). Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. *Anal. Chim. Acta* 563, 109–115.

Amerine, M. A., and E. B. Roessler, (1983). *Wines - Their Sensory Evaluation*. W. H. Freeman and Co., New York.

Arevalo Villena M., Diez Perez J., Ubeda J. F., Navascues E., and Briones A. I. (2006). A rapid method for quantifying aroma precursors: Application to grape extract, musts and wines made from several varieties. *Food Chem.*, 99,183-190

Augustyn, O.P.H. , Rapp, A. , Van Wyk, C.J. , (1982). Some volatile aroma components of *Vitis vinifera* L. Cv. Sauvignon blanc, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*3,53–59.

Bakker, J. and Clarke, J. (2011). *Wine Flavour Chemistry*. Oxford. Wiley and Blackwell Publishers.

Bartley, J. P., & Schwede, A. M. (1989). Production of volatile compounds in ripening kiwi fruit (*Actinidio chinensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37,1023-1025.

Baumes, R. L. , Bayonove, C.L., Barillere, J.M. and Samson. A. (1989). La maceration pelliculaire dans la vinification en blanc. Incidence sur la vomposante volatile des vins. *Vitis*. 28, 31-48.

Baumes, R. L., Bayonove, C. L., Barillere, J. M., Samson, A., & Cordonnier, R. E. (1989). La macération pelliculaire dans la vinification en blanc. Incidence sur la composante volatile des vins. *Vitis*, 28, 31–48.

Bayanove ,C Cordonnier R and Dubois P. (1974) .Mise en évidence dans la baie de raisin, variété Muscat d'Alexandrie, de monoterpènes liés révélables par une ou plusieurs enzymes du fruit. *C.r. Acad. Sci. Paris. Série D*278, 3387–3390

Bayonove, C., Cordonnier, R., Dubois, P. , (1975) Etude d'une fraction caractéristique de l'arôme du raisin de la variété Cabernet-Sauvignon; mise en évidence de la 2-methoxy-3 isobutylpyrazine. C. R. Acad. Sci. Paris, Ser. D 281 75-78.

Benítez, P., Castro, R., Sánchez, J. A. P., & Barroso, C. G. (2002). Influence of metallic content of fino sherry wine on its susceptibility to browning. *Food Research International*, 35, 785–791.

Benkowitz Frank and Nicolau Laura, (2016) Thiols and Beyond,"The Science of Sauvignon Blanc", Presentation at Blenheim , New Zealand.

Berger R.G. (2007), *Flavors and fragrance chemistry bioprocessing and sustainability*.Springer, Germany.

Berry DR. (1995).Alcoholic beverage fermentations. In: Lea AGH,Piggott JR, editors. *Fermented beverage production*. London:Blackie, 32/6

Bielicka-Daszkiwicz, K., Voelkel, A., (2009), Theoretical and experimental methods of determination of the breakthrough volume of SPE sorbents, *Talanta*, vol. 80, pp. 614-621.

Bisson, L.F.(1991). *Yeast – Metabolism of sugars*. Wine microbiology and biotechnology, G.H. Fleet, Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland.

Blomberg, A. and Alder, L. (1992). Physiology of Osmotolerance in Fungi.*Adv. Microbiol. Physiol.*, vol. 3, 145-212.

Bock, G., Benda, I., and Schreier, P. (1988). Microbial transformation of geraniol and nerol by *Botrytis cinerea*. *Appl. Microbial. Biotechnol.* 27, 351–357.

Bohlscheid J.C., Wang X.D., Scott Mattinson D., Edwards C.G., (2006). Comparison of headspace solid phase microextraction and XAD-2 methods to extract volatile compounds produced by *Saccharomyces* during wine fermentations. *J. Food Q.* 29, 1-15.

Bonino, M., Schellino, R., Rizzi, C., Aigotti, R., Delfini, C & Baiocchi,C.(2003). Aroma compounds of an Italian wine (Ruché) by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS. *Food Chemistry*.vol.80,125-133.

Botezatu Andreea , Pickering Gary J., Kotseridis Yorgos., (2014) Development of a rapid method for the quantitative analysis of four methoxypyrazines in white and red wine using multi-dimensional Gas Chromatography – Mass Spectrometry, *Food Chemistry* 160, 141–147.



Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, L. F., & Kunkee, R. E (1996). Principles and practices of winemaking (1st ed.). New York: Chapman and Hall. (pp. 427–428)

Braell P.A. , Acree T.E., Butts R.M., Zhou P.G., (1986), in: T.H.Parliment, R. Croteau (Eds.), Biogenesis of Aromas, ACS Symposium Series, American Chemical Society, Wasington,DC, pp. 75–84.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset E. (1994) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensmittel-Wissenschaft Technology*, 28, 25–30 .

Bruwer, R.J., Carey, V.A. and Archer, E. (2004) The effect of plant water status on Sauvignon blanc. *Wynboer*; 183, 107-111

Buttery R.G., Teranishi R., Ling L.C., Quantitative studies on origins of fresh tomato aroma volatiles. *J. Agric. Food Chem . Ind.* 7 (1988), 238.1247-1250

Buttery, R.G. , Seifert, R.M. , Lundin, R.E. , Guadagni, O.G. Ling, , L.C. ,*Chem. Ind.* 4 (1969) Characterisation of Some Volatile Constituents of Bell Peppers. *J.Agri.Food.Chem.*17.1322.

Cabaroglou, T., Canbas, A., (2002). Effects of skin contact on aromatic composition of the white wine of *V. vinifera* L. cv. Muscat of Alexandria grown in Southern Anatolia. *Acta Alimentaria*, 31, 45-55.

Cabrita, M.J., Costa Freitas, A.M., Laureano, O. and Di Stefano, R. (2006). Glycosidic aroma compounds of some Portuguese grape cultivates. *J. Sci. Food Agric.*, 86, 922-931.

Casassa, L. F., Bolcato, E. A., & Sari, S. E. (2015). Chemical, chromatic, and sensory attributes of 6 red wines produced with prefermentative cold soak.*Food chemistry*,174, 110-118.

Castro Mejias, R., Marin, R.N., Moreno, V.G. & Barroso, C.G. (2002).Optimization of headspace solid-phase microextraction for analysis of aromatic compounds in vinegar.*Journal of Chromatography*.

Caumeil, M. (1983). Le Cognac. *Revue Pour la Science*, Edition Frangaise de "scientific Americain", France, pp. 48-57.

Cézar Silva Ferreira Antonio, Guedes de Pinho Paula, Rodrigues Paula and Hogg Timothy. (2002).Kinetics of Oxidative Degradation of White Wines and How they are affected by Selected Technological Parameters. *J.Agri.Food. Chem.*, 50,5919-5924.

Chapa R.; Fallis C.; Farrel P.(2001). *The global encyclopedia of wine*, Editor Forrestal P., San Francisco.

Chen, EC-H(1978). The relative importance of Ehrlich and biosynthetic pathways to the fermentation of fusel alcohols, quoted by Jackson, R.S (1994), loc.cit.p.185

Cheyrier V., Besire N. and Rigaud J. (1989a) *J. Agric. Food Chem.*, 37, 1069

Cheyrier, V., Basire, N. and Rigaud, J. (1989) Mechanism of trans-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 37, 1069-1071.

Choné, X., Vanleeuwen, C., Chéry, P. and Ribéreau-Gayon, P. (2001a) Terroir influence on water status and nitrogen status of non irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitisvinifera*): vegetative development, must and wine composition, *South African Journal of Enology and Viticulture*, 22, 8–15.

Clarke, R.J. and Bakker, J. (2004) *Wine flavour chemistry*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

Compendium of international methods of wine and must analysis. International organization of vine and wine. Volume I. Edition 2006. Paris

Cornelis Van Leeuwen & Gerard Seguin (2006) The concept of terroir in viticulture, *Journal of Wine Research*, 17:1, 1-10,

Crowell, E. A. ; J. F. Guymon.(1963). Influence of aeration and suspended materials on higher alcohols, acetoin, and diacetyl during fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.*, 14, 214-222

Darias-Martin, J. J., Rodriguez, O., Diaz, E., & Lamuela-Raventós, R. M. (2000). Effect of skin contact on the antioxidant phenolics in white wine. *Food Chemistry*, 71, 483–487

Darriet P. (1993). Recherche sur l'arome et les precuseurs d'arome du Sauvignon. Doctoral dissertation. University Victor Segalen Bordeaux II.

Deluc, L.G., Quilici, D.R., Decendit, A., Grimplet, J., Wheatley, M.D., Schlauch, K.A.,Mérillon, J.-M., Cushman, J.C., and Cramer, G.R. (2009). Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet ,Sauvignon and Chardonnay. *BMC Genomics*, 10: 212.

Demole E., P. Enggist, U. Sauberli, M. Stoll, E. Kovats,.*Helv. Chim. Acta* 53 (1970) 541

Demyttenare, J.C.R., Dagher, C, Sandra, P., Kallithraka, S., Verhe,R. & De Kimpe, N.(2003) . Flavour analysis of Greek white wine by solid-phase microextraction capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*

Deteil, D. (2005). Vins blancs : les bonnes pratiques de vinification des raisins alteres. *Revue Francaise d' Oenologie*. 213 (11), 1-4.

Du Plessis, C.S and Uys, A, L., (1968): Browning in white wines. II The effect of cultivar, fermentation, husk, seed and stem contact upon browning. *S. Afr. J. Agricult. Sci*, 11, 637-648

Dubernet, M. (1974). Recherches sur la tyrosinase de *Vitis Vinifera* et la lacasse de *Botrytis cinerea* These 3ème cycle, Université Bordeaux II, Bordeaux, France.

Dubernet, M. and Ribereau-Gayon, P. (1974). *Phytochem.*, 13, I-85. I-087.

Dubernet, M. and Ribereau-Gayon, P. (1973). Les polyphenoloxydases du raisin sain et du raisin parasité par *Botrytis cinerea*. *R. Acad. Sci.277D*, 245-470.

Dubernet, M., Ribereau-Gayon, P., Lerner, H.R., Harel, R. & Mayer, A.M. (1977). Purification and properties of laccase from *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry* 16, 191-3.

Edwards, C.G., Beelman, R.B., (1990). Extraction and analysis of volatile compounds in white wines using Amberlite XAD-2 resin and capillary gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 38, 216-220

Erasmus DJ, Cliff M, van Vuuren HJJ (2004) Impact of yeast strain on the production of acetic acid, glycerol, and the sensory attributes of Icewine. *Am.J.Enol.Viticult* 55 : 371-378.

Escudero, A.; Hermenez-Orte, P.; Cacho, J.E., Ferreira, V. (2000).Clues about the role of methional as a character impact odorant of some oxidised wines. *J.Agri.Food Chem.*, 48, 4268-4272.

Esteban, M.A., Villanueva, M.J., and Lissarrague, J.R. (1999). Effect of irrigation on changes in berry composition of Tempranillo during maturation. Sugars, organic acids, and mineral elements. *Am. J. Enol. Viticult.*, 50, 418-434

Esteban, M.A., Villanueva, M.J., Lissarrague, J.R. (2001) Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 81, 409-420

Etiévant P.-X., Issanchou S.N and Bayonove C-L(1983) The flavor of Muscat wine, the sensory contribution of some volatile compounds *J.Sci.Food Agric.*,34,497-504.

Etiévant, P.X (1996). Artifacts and contaminants in the analysis of food and beverages *CRC, Food. Sci. Nutr.*, 36. 733-745.

Etievant, P.X., (1991). Wine. In: Maarse, H., (Ed.), Volatile compounds in foods and beverages, Marcel Dekker, Inc., New York, p.p. 483-533.

European Commission (E.C.), (2000), Fungal metalloenzymes oxidizing aromatic compounds of industrial interest, image laccase, [online] available from: <<http://lignin.cib.csic.es/pelas/pelas.html>> [accessed 21 October 2012]

Falcao, L. D., De Revel, G., Perello, M. C., Moutsiou, A., Zanus, M. C., & Bordignon-Luiz, M. T. (2007). A survey of seasonal temperature and vineyard altitude influences on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine, C-13-norisoprenoids, and their sensory profile of Brazilian Cabernet Sauvignon wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3605–3612.

Falcetti, M., and Scienza, A. (1992). Utilisation de l'analyse sensorielle comme instrument d'évaluation des choix viticoles. Application pour déterminer les sites aptes à la culture du cepage Chardonnay pour la production de vins mousseux en Trentin. *J. Intl. Sci. Vigne Vin* 26, 13–24, 49–50.

Falgelj, A. Ambrus, A.,(2000). *Principles and Practices of Method Validation*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Falqué, E., & Fernández, E. (1996). Effects of different skin contact times on Treixadura wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47, 309–311

Ferreira J.T., Chevallier J., Napias C., Brethes D.,(1998) Role of the proline residue 376 in the catalytic activity of purine-cytosine permease of *Saccharomyces cerevisiae*. *Folia Microbiol (Praha)* 43(2):193.

Ferreira J.T., Silva J.T., Panek A.D., (1996). A regulatory role for TSL1 on trehalose synthase activity. *Biochem Mol Biol Int* 38(2):259-65, 1996.

Ferreira, B., Hary, C., Bard, M. H., Taisant, C., Olsson, A., & Lefur, Y. (1995). Effects of skin contact and settling on the level of the C18:2, C18:3 fatty acids and C6 compounds in Burgundy Chardonnay musts and wines. *Food Quality and Preference*, 6, 35–41.

Ferreira, V., Hernandez-Orte, P., Escudero, A., Lopez, R., & Cacho, J. (1999). Semipreparative reversed-phase liquid chromatographic fractionation of aroma extracts from wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A*, 864, 77-88.

Fox, P.F. ,(1991). *Food Enzymology, Volume 1*, Elsevier Applied Science, pp 376.

Gayon, P., Dubordieu, D., Doneche, B., Lonvaud, A. (2006). *The handbook of enology*. West Sussex. John Wiley and Sons L.t.d.

- Girard, G. (2012). Bases scientifiques et technologiques de l'oenologie. Paris. Lavoisier Edition.
- Gómez E., Martínez A., Laencina J.,(1995), Prevention of oxidative browning during wine storage, *Food Research International*, 28, 213-217
- Goode, J. (2005). The Science of Wine. London. Octopus Publishing Group.
- Goodwin, I., (2002). Managing water stress in grape vines in Greater Victoria. Agriculture notes.
- Grainger, K. and Tattersall, H. (2008). Wine Production. Oxford. Blackwell Publishers
- Groat, M. ; C. S. Ough. (1978).Effects of insoluble solids added to clarified musts on fermentation rate, wine composition, and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.*, 29, 112-119
- Guinard, J., and Cliff, M. (1987). Descriptive analysis of Pinot noir wines from Carneros, Napa, and Sonoma. *Am. J. Enol. Vitic.* 38, 211–215.
- Gunata, Z., Bayonove, C., Cordonnier, R., Arnaud, A., & Galzy, P., (1990c). Hydrolysis of grape monoterpenyl glucosides by *Candida molischiana* and *Candida wickerhamii*  $\beta$ -glucosidases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 50, 499-506.
- Gunata, Z., Bayonove, C., Tapiero, C., & Cordonnier, R., (1990b). Hydrolysis of grape monoterpenyl  $\beta$ - D-glucosides by various  $\beta$ -glucosidases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1232-1236.
- Gunata, Z., Bitteur, S., Brillouet, J. M., Bayonove, C., & Cordonnier, R., (1988). Sequential enzymic hydrolysis of potentially aromatic glucosides from grapes. *Carbohydrate Research*, 184, 139-149
- Gunata, Z., Brillouet, J. M., Voirin, S., Bumes, B., & Cordonnier, R., (1990a). Purification and some properties of an  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase from *Aspergillus niger*. Action on grape monoterpenyl - arabinofuranosyl glucosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 772-776
- Guth H., J. Agric. Food Chem. 45 (1997) 3027–3033.
- Guth, H. (1997).Identification of character impact odorants of different white wine varieties. *J Agric Food Chem.*, 45, 3022–3026.
- Guth, H. (1997).Quantification and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 3027-3032.

Hashizume, K., and Samuta, T. (1999). Grape maturity and light exposure affect berry methoxypyrazine concentration. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(2), 194–198.

Heimann, W., Rapp, A., Volter, J., and Knipser, W. (1983). Beitrag zur Entstehung des Korktons in Wein. *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.* 79, 103–107.

Henderson P., 2009, Sulfur Dioxide, Science behind this anti-microbial, anti-oxidant, wine additive, *Practical Winery & Vineyard Journal*, Winter Edition, 1-6.

Henderson, J.P. and Rex, D. (2011). *About wine*. New York. Delmar Publishers.

Henschke P.A and Jiranek, V. (1991) Hydrogen sulfide formation during fermentation: Effect of nitrogen composition in model grape must. In *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wines* (Seattle, WA, June 1991), edited by J.Rantz, pp. 172-184. Davis, CA: American Society for Enology and Viticulture.

Houtman, A.C., J. Marais ; Du Plessis, C. S. (1980). Factors affecting the reproducibility of fermentation of grape juice and of the aroma composition of wines. I. Grape maturity, sugar, inoculum concentration, aeration, juice turbidity and ergosterol. *Vitis*, 19, 37- 54.

Houtman, A.C., Du Plessis C.S. (1981) The effect of juice clarity and several conditions promoting yeast growth on fermentation rate, the production of aroma components and wine quality. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 2, 71-82.

<http://www.krasiagr.com/?p=50141>

<http://www.worthington-biochem.com/TY/default.html>)

<https://el.wikipedia.org/wiki/Φασματοφωτόμετρο>

Huck, C.W., Bonn, G.K (2000). Recent developments in polymer-based sorbents for solid-phase extraction, *Journal of Chromatography A*, vol. 885, pp 51-72.

Ilанд P., Bruer N., Edwards G., Weeks S. and Wilkes E. (2004). *Chemical analysis of grapes and wine: techniques and concepts*. Publ: PATRICK ILAND WINE PROMOTIONS PTY LTD. Australia.

Ilанд, P.G., Cynkar, W., Francis, I.L.; Williams, P.J.; Coombe, B. G. (1996). Optimisation of methods for the determination of total and red-free glycosylglucose in black grape berries of *Vitis vinifera*. *Aust. J. Grape Wine Research*. 2: 171-178

International Conference on Harmonization, (1995) *Guideline on Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology Availability*, Federal Register, vol. 60, no. 40, pp.11260-11262

ISO 10399:2004 Sensory analysis --Methodology --Duo-trio test

ISO 4120:2007 -Sensory Analysis -Methodology -Triangle test

ISO 8587: 2007 -Sensory Analysis -Methodology –Ranking

ISO NORM 11035. (1994). Sensory Analysis: Identification and Selection of Descriptors for Establishing a Sensory Profile by a Multidimensional Approach, *International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland*

IUP (-Indiana University), (2012). About Biochemistry, Tyrosinase (image), [online] available from: <<http://www.iup.edu/biochemistry/about/default.aspx> > [accessed 22 November 2012]

Jackson R.S., (2008), Wine Science: Principles and Applications, 3rd edition, Academic Press, San Diego, Elsevier Publishers. 270-331, 312-315, 449-464, 491.

Jackson S. Ronald., (2002). Wine Tasting, A Professional Handbook, Food Science and Technology International series, Elsevier Academic Press, Amsterdam.

Jackson, R.S.(1994&2000) Wine Science, Principles, Practice, Perception, 2nd edition. Academic Press, San Diego.

José Gomez-Miguez, Lourdes González Miret , Dolores Hernanz and Angeles Fernández, (2007). Effects of pre-fermentative skin contact conditions on color and phenolic content of white wines. *Journal of Food Engineering*, 78 (1), 238-245.

Karagiannis, S., & Lanaridis, P. (2002). Insoluble grape material present in must affects the overall fermentation aroma of dry white wines made from three grape cultivars cultivated in Greece. *Journal of Food Science*, 67, 369-374.

Karagiannis, S., Economou, A., & Lanaridis, P. (2000). Phenolic and volatile composition of wines made from *Vitis vinifera* Cv. Muscat Lefko grapes from the Island of Samos. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5369–5375

Kechagia, D., Paraskevopoulos, Y., Symeou, E., Galiotou-Panayotou M., and Kotseridis, Y. (2008), Influence of Prefermentative Treatments to the Major Volatile Compounds of Assyrtiko Wines. *J. Agric. Food Chem.* 56(12): 4555-4563.

Keith E.S., J.J. Powers, (1968). Determination of Flavor Threshold Levels and Sub-Threshold, Additive, and Concentration Effects., *J. Food Science* 33, 207- 213.

Kidron, M. (1976). PhD Thesis, Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israel.

Killiam, E and Ough C.S (1979), Fermentation esters- formation and retention as affected by fermentation temperature. *Am .J. Enol. Vitic* 30, 301-305.

Klabunde T., Eicken C., Sacchetini J.C, Krebs B., (1998), Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center, *Nature Structural Biology*, 5 (12): 1084-1090.

Kotseridis Y., Baumes Raymond., Skouroumounis Georges K., .(1998) "Synthesis of labelled [ $^2\text{H}_4$ ] b-damascenone, [ $^2\text{H}_2$ ] 2-methoxy-3- isobutylpyrazine, [ $^2\text{H}_3$ ] a-ionone, and [ $^2\text{H}_3$ ] b-ionone, for quantification in grapes, juices and wines", *Journal of Chromatography A*, 824, 71-78.

Kotseridis Y.S , Spink M., Brindle , I.D., Blake A.J., Sears M., Chen , X.Soleasf , G., Inglis D., Pickering G.J. (2008) Quantitative analysis of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in juice and wine using stable isotope labelled internal standard assay, *Journal of Chromatography A*, 1190. 294–301.

Kotseridis Y., Baumes Raymond L., Skouroumounis G. K., (1999) Quantitative determination of free and hydrolytically liberated b-damascenone in red grapes and wines using a stable isotope dilution assay, *Journal of Chromatography A*, 849. 245–254

Kotseridis, Y. ; Razungles, A. ; Bertrand, A. ; Baumes, R. (2000) Differentiation of the Aromas of Merlot and Cabernet Sauvignon Wines Using Sensory and Instrumental Analysis. *J Agric. Food Chem.*, 48, 5383-5388.

Kotseridis, Y.; Baumes, R. (2000) Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation and in the produced wine. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 400-406.

Larmond, E. (1969) Méthodes d' appréciation sensorielle des aliments. Ottawa, Canada: Ministère de l'Agriculture du Canada,. Publication 1969, Ottawa, Canada

Lee S. J., Noble A. C., (2003) Characterization of odor-active compounds in Californian Chardonnay wines using GC-olfactometry and GC-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 8036–8044.

Lewis J. Michael and Young W.Tom (1998).,"BREWING", Chapman & Hall,pp238

Liu, J-W. ; Gallander, J.F.; Wilker, K.L. (1987) Effect of Juice Clarification on the Composition and Quality of Eastern US Table Wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 38 (2), 147-150.

Lopez R. , Ortin, N. ,Perez-Trujillo J.P. ,Cacho J. , Ferreira V. (2003) Impact odorants of different young white wines from the Canary Islands. *J. Agric Food Chem*, 51, 3419–3425



Luccarelli, D. Jr., Mookherjee, B. D., Wilson, R. A., Zampino, M.J., Bowen, D. R.(1984) Mixtures of one or more C4–C10-n-alkanoic acids with the ethyl ester of 2-hydroxy-4-methyl pentanoic acid. International Flavors and Fragrances, New York, U.S. Patent 4526798.

Lytra G., Tempere S., Gilles de Revel and Jean-Christophe Barbe, (2012) Distribution and Organoleptic Impact of Ethyl 2-Hydroxy-4-methylpentanoate Enantiomers in Wine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp 1503-1509.

Maicas, S. and Mateo J.J. (2005). Hydrolysis of terpenyl glycosides in grape juice and other fruit juices: a review, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 67, 322-335

Maier, G., Dietrich, H, & Wucherpfennig, K. (1990). Winemaking without SO<sub>2</sub> with the aid of enzymes? *Wienwirtsch. Tech.*, 126, 18-22.

Marais, J.(1986) Effect of storage time and temperature of the volatile composition and quality of South African *Vitis Vinifera* L. cv. Colombar wines. In “ The Shelf Life of Foods and Beverages” (G. Charalambous, ed.)

Martin, B., Etievant, P. X., LeQuere, J. L. and Schlich, P. (1992). More clues about sensory impact of Sotolon in some florsherry wines. *J.Agric.FoodChem.* 40, 475–478.

Martineau B. and Herick-King T., (1995) Performance and diacetyl production of commercial strains of malolactic bacteria in wine. *J.Appl.Bacteriol.*, 78, 526-536

Masuda, J., Okawa, E., Nishimura, K., and Yunome, H. (1984). Identification of 4,5-dimethyl-3-hydroxy-2(5H)-furanone (Sotolon) and ethyl 9-hydroxynonanoate in botrytised wine and evaluation of the roles of compounds characteristic of it. *Agric. Biol. Chem.* 48, 2707–2710.

Matthews, M.A., and Anderson, M.M. (1988). Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: Responses to seasonal water deficits. *Am. J. Enol. Vitic.*, 39, 313-320

Mejias, R. C. Ramon Natera Marin, Valme Garcia Moreno, Carmelo Garcia Barroso . (2003) Optimisation of headspace solid-phase microextraction for the analysis of volatile phenols in wine., *Journal of Chromatography A*, Volume 995, Issues 1-2, pp.11-20

Mihnetal, M., González-SanJosé, M. L., Ortega-Heras, M., & Pérez-Magariño, S. (2015). A comparative study of the volatile content of Mencía wines obtained using different pre-fermentative maceration techniques. *Food Science and Technology*, 64, 32-41

Minussi R.C., Pastore G.M., Durán N., (2002) Potential applications of laccase in food industry- *Trends in Food, Science & Technology* 13 (6-7): 205-216.

Moreno Victoria. M. and Carmen M. Arribes Polo, (2009) *Wine Chemistry and Biochemistry*, Springer, 2009.

- Mueller-Spaeth, H. (1991). Correct oxygen dose. *Weinwirtsch Tech.*,127, pp.18-19
- Murray, K.E. , Whitfield, F.B. , (1975) The occurrence of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in raw vegetables, *J. Sci. Food Agric.* 26., 973.
- Naiker M., Allen , M.S.(1997) in: *Vino Analytica Scientia 1997.*, Bordeaux, 12–14 June, pp. 46–49.
- Naiker, M. (2001).  $\beta$ -Damascenone-yielding precursor(s) from Cabernet- Sauvignon grapes.*S.Pac.J.Nat.Sci.*,19,p.11-17.  
[www.publish.csiro.au/?act=view\\_file&file\\_id=SP01003.pdf](http://www.publish.csiro.au/?act=view_file&file_id=SP01003.pdf)
- Natoiya, L. (2013). Varietal thiols and green characters. Australian Wine Research Institute. Available <https://www.awri.com.au/wp-content/uploads/2013/08/lloyd-W07-AWITC15.pdf> [2018, June 15].
- Navare, C. and Langlade, F. (2002). *L'Oenologie*. Paris. Lavoisier Edition
- Naves Y.R. ,(1947) Presence of ionones in the concrete of *Boronia megastigma* Nees. *Helv. Chim. Acta*, 30, 956.
- Nielsen J.C and Richelieu M., (1999), Control of flavor development in wine during and after MLF. *Appl. Environ.Microbiol.*,65, 740-745.
- Nykanen, L., (1986). Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *Am. J. Enol. Vitic.* 37, 84-96.
- O.I.V. International Oenological Codex(2006) *Recueil des methodes inter-nationales d'analyse des vins et desmoûts*.Edition.Paris:Office Interna-tional de la Vigne et du Vin
- Ohloff G., Demole E., (1987) Importance of the oderiferous principle of Bulgarian rose oil in flavor and fragrance chemistry. *J. Chromatogr.* 406 , 181-183.
- Ohloff G.,(1978) Importance of minor components in flavors and fragrances. *Perfumer Flavourist* 3, no 1, 11–22.
- Oliveira L.M., Ferreira A.C.S., De Freitas V., Silva A.M.S., (2011), Oxidation mechanisms occurring in wines, *Food Research International*, 44 (5): 1115-1126.
- Ong,B.Y., and Nagel, C.W.(1978). High-pressure liquid chromatographic analysis of hydroxycinnamic acid tartaric esters and their glucose esters in *Vitis Vinifera* J. *Chromatogr.*, 157, 345,
- Ortega, C., Lopez, R., Cacho, J., Ferreira, V., (2001) Fast analysis of important wine volatile compounds, development and validation of a new method based on gas

chromatographic-flame ionization detection analysis of dichloromethane microextracts, *Journal of Chromatography A*, 923. 205-214.

Ou, C., Du, X., Shellie, K., Ross, C., and Qian, M.C. (2010). Volatile compounds and sensory attributes of wine from cv. Merlot (*Vitis vinifera* L.) grown under differential levels of water deficit with or without a kaolin-based, foliar reflectant particle film. *J. Agric. Food Chem.* 58: 12890-12898.

Ough C.S., Crowell E.A., (1987) Use of sulfur dioxide in winemaking, *Journal of Food Science.* 52 (2): 386-388, 393.

Ough, C. S. (1969). Substances extracted during skin contact with white musts. I. General wine composition and quality changes with contact time. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20, 93–100.

Palmer, (1997), Godfrey Henry Oliver, *Scientific Review of Scotch Malt Whisky*, Ferment, Vol. 10, p. 366-379.

Palomo, E.S., Perez-Coello, M.S., Dúaz-Maroto, M.C., Gonzalez Vinas, M.A. and Cabezudo, M.D.,(2006) Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of muscat “a petit grains” wines and effect of skin contact. *Food Chem.* 95, 279–289.

Panagiotopoulou V., and Morris J. R., (1991) Chemical additives to reduce Browning in white Wines. *Am.J. Enol.Vitic.*, 42, No 3.

Panda, H. (2011). *The complete book on wine production*. New Delhi. NPCS Publications.

Pawliszyn J. (1997), *Solid-phase microextraction, Theory and Practice*

Pawliszyn J.; (2012), *Theory of solid-phase microextraction*. In: *Handbook of Solid Phase Microextraction*; Pawliszyn J.; Ed.; Elsevier: Amsterdam, pp. 13-59.

Peinado, R.A., Moreno, J., Bueno, J.E., Moreno, J.A. and Mauricio, J.C., (2004) Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chem.* 84, 585–590.

Pérez-Magarino Silvia and Gonzalez San -Rose M, (2006) "Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade" *Food Chemistry* 96(2):197-208.

*Perfumers Compendium, Aroma Chemicals Natural And Speciality Products Replacements* 4th Edition, International Flavor and Fragrances (IFF), pp 41.(1990)

Peyrot des Gachons, C., Van Leeuwen, C., Tomanaga, T., Soyer, J., Gaulillère J-P., and Doubourdieu, D. (2005) The influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potential of *Vitis vinifera* L. cv Sauvignon blanc in field conditions, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 73–85.

Pickering, G. J., Yong, L., Reynolds, A., Soleas, G., Riesen, R., & Brindle, I. (2005). The influence of *Harmonya axyridis* on wine composition and aging. *Journal of Food Science*, 70(2), 128.

Pickering, G.J. , Spink, M., Kotseridis, Y., Inglis, D., Brindle, I.D. , Sears, M., Beh, A.-L., Aust. J. (1970) Grape Wine R., submitted for publication Walradt, J.P., Lindsay, R.C. , Libbey, L. , *J. Agric. Food Chem.* 18., 926.

Pineau, B., Barbe, J.-C. , Van Leeuwen, C. , 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. pp. 3702-3708

Pineau, B.; Barbe, J.C.; Van Leeuen, C.; Dubourdieu, D. (2007) Which Impact for  $\beta$ -Damascenone on Red Wines Aroma? *J. Agric. Food Chem.* 55, 4103-4108

Ramey, D.; Bertrand, A.; Ough C.S. ; Singleton V.L.; Sanders E. (1986) Effects of skin contact temperature on chardonnay must and wine composition. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37(2), 99-106.

Rapp A., Güntert M., and Almy J. (1985). Identification and significance of several sulfur-containing compounds in wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 36 (1985) 219–221

Rapp, A. & Mandery, H. (1986). Wine aroma. *Experientia* 42, 873-884.

Rapp, A. and Versini, G. (1991) Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wine. In *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wines* (Seattle, WA, June 1991), edited by J.Rantz, pp. 156-164. Davis, CA: American Society for Enology and Viticulture.

Rapp, A. (1998), Volatile flavour of wine: correlation between instrumental analysis and sensory perception. *Nahrung*, 42, 351–363.

Rapp, A., and Guntert, M. (1986). Changes in aroma substances during the storage of white wines in bottles. In “The Shelf Life of Foods and Beverages” (G. Charalambous, ed.), pp. 141–167. Elsevier, Amsterdam.

Rapp, A., Güntert, M., and Almy, J. (1985). Identification and significance of several sulfur-containing compounds in wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 36, 219-221

Ray, J. and Williams, A. (2001). White Wine. London. Ryland Peters and Small Publishers.

Ribereau-Gayon, J. and Peynaud, E. (1960). *Traité d'œnologie*. Tome premier. Paris: Librairie Polytechnique Ch. Beranger, Paris et Liege.

Ribéreau – Gayon P., Dubourdiou D., Donèche B., Lonvaud A., (2006) *Handbook of Enology* (volume 1), *The Microbiology of Wine and Vinifications* (Second edition), John Wiley & Sons Inc., France, 193-210, 420-427.

Ribéreau – Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdiou D., (2006) *Handbook of Enology* (Volume 2), *The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments* (Second edition), John Wiley & Sons, Ltd, France, 5- 9, 231.

Ribéreau- Gayon, P.,(1978) Wine flavor. In: *Flavour of Foods and Beverages*( eds G.Charalambous& G.E. Inglett), pp 355-380. Academic Press, New York

Ribéreau- Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubordieu, D. (2000) *Handbook of Enology*, Vol. 2 *The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments*. John Wiley & Sons, Chiches

Ribereau-Gayon P, Dubourdiou D, Doneche B, Lonvaud A, (2006b) John Wiley & Sons Ltd (eds) *The Microbiology of Wine and Vinifications*, 2nd edn : *Handbook of Enology*, vol 1, Chichester, England.

Ribereau-Gayon, P. (1977). *Problemas y soluciones en la evaluacion del color de los vinos tintos*. *Jornadas Internacionales del Vino*, Jerez, Spain

Ribereau-Gayon, P., Dubourdiou, D., Doneche, B., Lonvaud, A., (2000) *The microbiology of wine and vinifications* In : *Handbook of Enology*. J. Wiley & Sons (Ed.), Chisester, Vol 1, pp. 378-379.

Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubordieu, D. (2006) *Handbook of Enology*, Vol.1 *The Microbiology of Wine and Vinifications*.

Ribereau-Gayon, P.; Lafon-Lafourcade, S. ; Bertrand, A. (1975) *Le débouillage de moûts de vendange blanche*. *Connaiss. Vigne Vin* , 9, 117-139 .

Romano P. and Suzzi, G., (1993) Sulphur dioxide and wine micro organisms. In: *Wine Microbiology and Biotechnology*. Edited by Fleet, G., Harwood Academic Publishers GmbH, Chur, Switzerland, 373-393.

Ross, C. F., & Weller, K. (2007). Sensory evaluation of suspected *Harmonia axyridis* tainted red wine using untrained panelists. *Journal of Wine Research*, 18, 187–193.

Rossi J.A and V.L. Singleton. (1966) Contributions of grape phenols to oxygen absorption and browning of wines. *Am.J.Enol.Vitic.*17: 231-9.

Roujou de Boubée, D., Cumsille, A., Pons, M., Dubourdiou, D., (2002) Location of 2-methoxy-3 isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon grape bunches and its extractability during vinification. *Am. J. Enol. Vitic.* 53., 1-5.

Ryona, I., Pan, B., Intrigliolo, D., Lakso, A., & Sacks, G. (2008). Effect of cluster light exposure on 3-isobutyl-2-methoxypyrazine accumulation and degradation patterns in red wine grapes (*Vitis vinifera* L. Cv. Cabernet Franc). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10838–10846.

Sacchi, K. L., Bisson, L. F., & Adams, D. O. (2005). A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(3), 197-206.

Sala, C. , Busto, O., Guasch, J. , Zamora, F. (2007) Contents of 3-Alkyl-2-Methoxypyrazines in Musts and Wines from *Vitis vinifera* Variety Cabernet Sauvignon: Influence of Irrigation and Plantation Density, Departament de Química Analítica i Química Orgànica, Unitat d'Enologia, CeRTA, Facultat d'Enologia de Tarragona, [http://www.tdx.cbuc.es/TESIS\\_URV/AVAILABLE/TDX-0626106-110827//15-PaperC2.pdf](http://www.tdx.cbuc.es/TESIS_URV/AVAILABLE/TDX-0626106-110827//15-PaperC2.pdf) (accessed April 2007).

Sala, C., Busto, O., Guasch, J. , Zamora, F., (2005) Contents of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in musts and wines from *Vitis vinifera* variety Cabernet Sauvignon: influence of irrigation and plantation density *J. Sci. Food Agric.* 85, 1131.

Santos M., Nunes C., Saraiva J., Coimbra M., (2012) Chemical and physical methodologies for the replacement/reduction of sulfur dioxide use during winemaking: review of their potentialities and limitations, *European Food Research & Technology*, Springer Verlag, 234 (1): 1-12.

Sarry, J.E., and Gunata, Z. (2004). Plant and microbial glycoside hydrolases: Volatile release from glycosidic aroma precursors. *Food Chem*, 87, 509–521.

Schneider R., Kotseridis Y., Belancic Majcenovic A, Augier C. and Razungles A. (2003) Quantification of furaneol and homofuraneol in *Vitis vinifera* wines by stable isotope dilution assay using GC-MS/MS. - In: "Flavour research at the dawn of the twenty-first century". Ed. Le Quéré J.L., Etiévant P.X., Tec. et Doc. Lavoisier, Cachan, France, pp 710-714.

Schneider, V. (1989) Stabilisierung von Weisswein durch Mostoxidation. *Weinwirtschaft Technik*, 125, 15-20.

Schreier P., F. Drawert, Z. Lebensm. Unters-Forsch. (1974) . Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Weines., Volume 154,5., pp 273–278

- Schwab, W., Scheller, G., and Schreier, P. (1990) Glycosidically bound aroma components from sour cherry. *Phytochemistry*, 29, 607–612
- Sefton M.A., Skouroumounis G.K., Massy-Westropp R.A. , Williams P.J., (1989) Norisoprenoids in *Vitis vinifera* White Wine Grapes and the Identification of a Precursor of Damascenone in These Fruits. *Australian Journal of Chemistry* **42**, 2071-2084.
- Sefton, M.A., Francis, I.L., and Williams, P.J. (1994). Free and bound volatile secondary metabolites of *Vitis vinifera* grape cv. Sauvignon blanc. *J Food Sci*, 59, 142–147
- Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T., Erten, H. and Gunata, Z., (2006), Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment. *Food Chem.*, 94, 319–326
- Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T., Erten, H., Lepoutre J.P. and Gunata, Z., (2006b). Effect of skin contact on the free and bound aroma compounds of the white wine of *Vitis vinifera* L. cv Narince. *Food Control* 17, 75–82.
- Silva, M. L, & Malcata, F. X. (1998). Relationships between storage Conditions of Spirits obtained hereform. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(1), 56-64.
- Silva, M. L, & Malcata, F. X. (1999). Effects of time of grape pomace fermentation and distillation cuts on the chemical composition of grape mares. *Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung and Fors-chung A*, 208, 134-143
- Silva, M. L, Malcata, F. X., Revel (de), G. (1996). Volatile Contents of Grappe Marcs in Portugal. *Journal of Food and Comparative Analysis*, 9, 72-80.
- Simpson Nigel J.K. (2000), *Solid-phase extraction Principles, Techniques and Applications*. CRC Press Published.
- Simpson, R.F. (1982) Factors affecting oxidative browning of white wine. *Vitis*, 21, 233-239.
- Simpson, R.F. (1978) Aroma and compositional changes in wine with oxidation, storage and aging. *Vitis*, , 17, 274-287.
- Singleton V.L and Kramling T.E. (1976) : Browning of white wines and an accelerated test for browning capacity. *Amer. J. Enol. Viticult.* 27, 157-160
- Singleton, V. (1987). Oxygen with phenols and related reactons in musts, wines and model systems: observations and practical implications. *Am.j.Enol.Vitic.*, 38, 69-77.

Singleton, V. L. & Kramling, T. E. (1976). Browning of white wines and an accelerated test for browning capacity, *American Journal of Enology and Viticulture*, 27, 157–160.

Singleton, V. L., and Esau. (1969) *Phenolic Substances in Grapes and Wine, and Their Significance*, 188 pp. Academic Press, New York

Singleton, V. L.; Seiberhagen, H. A. ; de Wet, P. ; van Wyk, C. J. (1975) Composition and sensory qualities of wines prepared from white grapes by fermentation with and without grape solids. *Am. J. Enol. Vitic.*, 26, 62-69.

Singleton, V.L.; Trousdale, E.; Zaya, J. (1979) Oxidation of wines I. Young white wines periodically exposed to air. *Am.J.Enol.Vitic.*, 30, 49-54.

Sioumis, N.; Kallithraka, S.; Makris, D. & Kefalas, P. (2006) Kinetics of browning onset in white wines: influence of principal redox-active polyphenols and impact on the reducing capacity. *Food Chemistry*, 94, 98-104.

Sipiora, M.J., Granda, M.J.G. (1998) Effects of pre-veraison irrigation cutoff and skin contact time on the composition, color, and phenolic content of young Cabernet-Sauvignon wines in Spain. *Am J Enol Vitic.*, 49, 152-162.

Sokolowsky, M., Rosenberger, A., & Fischer, U. (2015). Sensory impact of skin contact on white wines characterized by descriptive analysis, time–intensity analysis and temporal dominance of sensations analysis. *Food Quality and Preference*, 39, 285-297.

Soleas, G. J., Diamandis, E. P., & Goldberg, D. M. (1997). Wines as a biological fluid: History, production and role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 11, 287–317.

Soufleros , E.H., Mygdalia, Ageliki., Netskoulis Pantelis (2004). Characterization and safety evaluation of the traditional Greek fruit distillate "Mouro" by flavor compounds and mineral analysis. *Food Chemistry*, 86, 625-636.

Soufleros, E., & Bertrand, A. (1987). Etude sur le "Tsipouro", eau-de-( vie de mare traditionnelle de Grace, precurseur de l'ouzo. *Conn Vigne Vin*, 21(2), 93-111.

Soufleros, H. E., Pissa, I., Petridis, D., Lygerakis, M., & Mermelas, K. (2001). Instrumental analysis at volatile and other compounds of Greek kiwi wine; sensory evaluation and optimization at its composition. *Food Chemistry*, 75,487-800.

Spruce,J., Mayer, A.M. &Osborne, D. J. (1987). *Phytochem.*, 26, 2901-3.



Stark, D., Munch, T., Sonnleitner, B., Marison, I. W., von Stocker, U. (1998). Inhibition kinetics of 2-phenylethanol on the growth of *Saccharomyces cerevisiae*. Symposium international ESBES-2, Porto, Lausanne

Symeou, E., Galiotou-Panayotou, M., Kechagia, D., and Kotseridis, Y., (2007) Analysis of major aroma compounds of Asyrtiko wines subjected to pre-fermentative skin maceration. *Journal of Agricultural Science* 145, 577-585.

Taverniers, I.,M. De Loose, E, Van Bockstaele, (2004) Trends in quality in the analytical laboratory. II Analytical method validation and quality assurance, *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 23, no. 8, , pp. 535-552.

Teissedre, P. L., Frankel, E. N., Waterhouse, A. L., Peleg, H., & German, J. B. (1996). Inhibition of In Vitro Human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70, 55–61

The fitness for purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, Eurachem Working group, (1998) ,URL: <http://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/valid.pdf>

Thurman, E.M., Millis M.S. (1998), Solid-phase extraction, Principles and Practice Publisher: Wiley-Interscience

Tomic Oliver, Lucano Giorgio, Nilsen Asgeir, Hyldig Grethe, Lorensen Kirsten and Naes Tormod.(2010) Analysing sensory performance in a proficiency test using PanelCheck software.*Eur. Food Res. Technol*,Springer.

Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, Rosen TA, Gilbert H, Skinner K, Raumann BE, Basbaum AI, Julius D. (1998). The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli *Sep*;21(3):531-43.

Vaimakis, N. & Roussis, I.G. (1993). Must oxygenation and polyphenoloxidase inhibition and the oxidation of white wine. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 26, 133-137

Valim, M.F.; Rouseff, R.L.; Lin. J. (2003) Gas chromatographic olfactometry characterization of aroma compounds in two types of Cashew Apple Nectar. *J Agric Food Chem*, , 51, 1010–1015

Van Leeuwen ,C., Tregoeat, O., Choné, X., Jaeck, M.,-E., Rabusseau, S., and Gaudillère, J-P., (2003) Le suivi du regime hydrique de la vigne et son incidence sur la maturation du raisin,Bulletin de l'O.I.V, 76, 367–379.

Van Leewen and Seguin Gerard. (2006) The concept of terroir in viticulture. *Journal of Wine Research* 17(1):1-10.

Van Wyk, C. J. (1978) The influence of juice clarification on composition and quality of wines. *In: Proceedings of the International Enology Symposium, Auckland, New Zealand.*, pp 33-45.

Voirin, S.G., Baumes, R.L., Bitteur, S.M., Gunata Z.Y., and Bayonove, C.L. (1990). Novel monoterpene disaccharide glycosides of *Vitis vinifera* grapes. *J Agric Food Chem.*, 38, 1373-1378.

Wahlberg I., C.R. Enzell, (1987) *Natural Products Report* 4 237–276.

Watson, B. (1971). Anthocyanin tannin interaction during red table wine aging. Master's thesis. University of California, Davis, USA.

Whiton, R. and Zoecklein, B. (2002). Evaluation of Glycosyl-Glucose Analytical Methods for Various Glycosides. *Am. J. Enol. Vitic.* 53 (4): 315-317.

Williams, A. A., Bains, C. R., and Arnold, G. M. (1982). Towards the objective assessment of sensory quality in less expensive red wines. *In "Grape and Wine Centennial Symposium Proceedings"* (A. D.Webb, ed.). pp. 322–329. University of California, Davis.

Williams, J.T. ; Ough, C.S. ; Berg H.W. (1978) White wine composition and quality as influenced by method of must clarification. *Am. J. Enol. Vitic.*, 29, 92-96.

Williams, P. J.;Cynkar, W.; Francis, I.; Gray, J. D.; Iland, P.; Coombe, B. G. (1995) Quantification of glucosides in grapes, juices and wines through a determination of the glycosyl-glucose (G-G). *J.Agric.Food Chem.* 43: 121-128

Williams, P.J., Strauss, C.R., Wilson, B. and Massy-Westropp R.A., (1982). Studies on the hydrolysis of *Vitis vinifera* monoterpene precursor Compounds and Model Monoterpene  $\beta$ -D-Glycosides Rationalizing the Monoterpene Composition of Grapes. *J. Agric. Food Chem.*, 30, 1219- 1223.

Winterhalter P., Sefton M.A., Williams P.J., (1990) Volatile C<sub>13</sub>-Norisoprenoid Compounds in Riesling Wine Are Generated From Multiple Precursors *Am. J. Enol.Vitic.* 41 277–283.

Winterhalter P., Skouroumounis G.K.,(1996) Glycoconjugated aroma compounds: occurrence, role and biotechnological transformation. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 55:73–105 .

[www.infowine.gr](http://www.infowine.gr)

[www.kathimerini.gr](http://www.kathimerini.gr)

[www.newwinesofgreece.com](http://www.newwinesofgreece.com)

Zbigniew 'Bernie' Wilk, Ph.D. Russell Confer, M.S. Office of Quality Assurance New Jersey Department of Environmental Protection

Zoecklein, B, Douglas, L., and Jasinski, Y. (2000) Evaluation of Phenol-Free Glycosyl-Glucose Determination. Am. J. Enol. Vitic., 51 (4): 420-423.

## **Ελληνική Βιβλιογραφία**

Κόρκας Ηλίας Σημειώσεις Αμπελογραφία, ΤΕΙ Αθήνας

Κοτσερίδης Γ. Επίκ.Καθ., Καλλίθρακα Σ., Επίκ.Καθ., Προξενιά Ν., ΕΕΔΙΠ, ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ ΙΙ Εργαστηριακές ασκήσεις, ΑΘΗΝΑ 2012

Κοτσερίδης Γ., Επίκ.Καθ., Προξενιά Ν., ΕΕΔΙΠ, ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ Ι, Εργαστηριακές ασκήσεις 2012.

Κοτσερίδης, Γ. (2013). Κόστος Εγκατάστασης ενός Μικρομεσαίου Οινοποιείου. Συνέδριο. Σύγχρονες δυνατότητες στον Επιχειρηματικό Τομέα.Αθήνα Γ.Π.Α.

Κοτσερίδης, Γ., (2005/β). «Σημειώσεις Οινολογία ΙΙ» Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων, Αθήνα.

Κούνδουρας Στέφανος, "Το φυσικό περιβάλλον της αμπέλου και η σημασία του για τον αμπελώνα της Δράμας", Εργαστήριο Αμπελουργίας

Κουράκου-Δραγώνα Σ., 1998, Θέματα Οινολογίας, Εκδόσεις Τροχαλία, 104, 182-186, 207-264 σελ.

Κουράκου-Δραγώνα, Σ. (2003). Σεμινάριο Γευσιγνωσίας γηγενών ποικιλιών Βορείου Ελλάδος. Θεσσαλονίκη. Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ

Λέλεκας Θεόδωρος , Οίνοχοος ,19-10-2010

Μπακέα Ευάγγελου, Ευσταθίου, Κων/νου. Εισαγωγή στους Αναλυτικούς Διαχωρισμούς, "Ενόργανη Ανάλυση Ι", Αθήνα 2008

Μπακέας, Ε., Αεριοχρωματογραφία,2013

Μποβιάτση Ευθυμία, Προπτυχιακή διατριβή, «Αντιοξειδωτική Προστασία Οίνων Ποικιλίας Μοσχοφίλερο : Επίδραση προσθήκης διοξειδίου του άνθρακα και ασκορβικού οξέος», Επιβλέπων καθηγήτρια: Σταματίνα Καλλίθρακα, Επίκουρος Καθηγήτρια Γ.Π.Α. , Τμήμα Ε.Τ.Δ.Α Αθήνα 2014.

Μπόσκου Δ. Χημεία Τροφίμων. Εκδόσεις Γαρταγάνη, (1997).

Μπρατάκος Μ.Σ. , Ενόργανη χημική ανάλυση σε τρόφιμα και ποτά ,(2003).

Ντουρτόγλου Θάλεια, Αρωματικές ενώσεις οίνου, Σημειώσεις, ΤΕΙ Αθήνας, Τμήμα Οινολογίας και Τεχνολογίας Ποτών

Σουφλερός Ε. Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία, τόμος Ι, Τυπογραφία Παπαγεωργίου, (1997).

Σουφλερός Ευάγγελος ΗΡ. , Οινολογία, Επιστήμη και τεχνολογία 1ος τόμος, Θεσσαλονίκη.

Σουφλερός Ευάγγελος ΗΡ., Οινολογία Επιστήμη και τεχνογνωσία, τομος 2ος Θεσσαλονίκη (2009).

Σουφλερός, Ε. (1997). Οινολογία. Επιστήμη και Τεχνογνωσία. Τόμος ΙΙ. Θεσσαλονίκη. Παπαγεωργίου Τυπογραφία.

Σπινθηροπούλου, Χ. (2009). Οινοποιήσιμες Ποικιλίες του Ελληνικού Αμπελώνα. Αθήνα. Εκδόσεις Σταμούλης

Σταυρακάκης Μανώλης Ν. Αμπελογραφία , Εκδόσεις Τροπή,2010.

Σταύρακας Δημήτριος Ε.Αμπελογραφία, Εκδόσεις Ζήτη, 2011

Τζίτζη Μαρία, Πάρις Κυπαρισσίου, Στοιχεία οινολογίας η τέχνη του οινοχόου, β' έκδοση (2010).

Τμήμα Γεωπονίας Σχολή Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, συνέδριο Δραμοινογνωσία, 2016.

Τσακίρης Αργύρης, Οινολογία από το σταφύλι στο κρασί (2008), Εκδόσεις Ψύχαλος.

Τσακίρης Αργύρης, 2000, Ποτογραφία , Εκδόσεις Ψύχαλου, σελ. 129-142.

Τσακίρης, Α. (1995). Οινογνωσία. Αθήνα. Εκδόσεις. Ηνίοχος.

Τσέτουρας, Π. Λ 2003, Οινοτεχνία :η επιστήμη του κρασιού στην πράξη, Σταμούλης, Αθήνα