



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

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

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ - ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη της αλκοολικής ζύμωσης και των ποιοτικών χαρακτηριστικών οίνων που παρήχθησαν με τη χρήση επιλεγμένων στελεχών ζυμομυκήτων



Αναστάσιος Ν. Τερζίδης

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Σταματίνα Καλλίθρακα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ
2022

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη της αλκοολικής ζύμωσης και των ποιοτικών χαρακτηριστικών οίνων
που παρήχθησαν με τη χρήση επιλεγμένων στελεχών ζυμομυκήτων

Study of alcoholic fermentation and quality characteristics of wines
produced using selected yeast strains

Αναστάσιος Ν. Τερζίδης

Εξεταστική Επιτροπή:

Σταματίνα Καλλίθρακα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ (Επιβλέπουσα)

Σεραφείμ Παπανικολάου, Καθηγητής ΓΠΑ

Μαρία Μετάφα, Ερευνήτρια ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ

Μελέτη της αλκοολικής ζύμωσης και των ποιοτικών χαρακτηριστικών οίνων που παρήχθησαν με τη χρήση επιλεγμένων στελεχών ζυμομυκήτων

ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων - Οινολογία
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Οινολογίας & Αλκοολούχων Ποτών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Κατά τη διαδικασία παραγωγής οίνου, μια από τις κύριες παραμέτρους η οποία επηρεάζει καταλυτικά την εξέλιξη της οινοποιητικής διαδικασίας και το τελικό αποτέλεσμα, είναι η επιλογή του μικροοργανισμού ο οποίος θα διεξάγει τη διαδικασία της ζύμωσης. Τα τελευταία χρόνια, στα πλαίσια της ανάδειξης του ρόλου του terroir, έννοια που περιλαμβάνει τη μικροβιακή χλωρίδα του αμπελώνα μεταξύ άλλων (κλίμα, έδαφος, ποικιλία, ανθρώπινες πρακτικές), ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη αυτόχθονων στελεχών ζυμών και η επίδραση τους στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου οίνου. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη τεσσάρων γηγενών στελεχών ζυμών *Saccharomyces cerevisiae*, τριών απομονωμένων από γλεύκος και οίνο Σαντορίνης (SC09, SC13, SC24) και ενός απομονωμένου από οίνο Νεμέας (Y54) προερχόμενων από την ιδιωτική συλλογή του εργαστηρίου Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και η διερεύνηση σχετικά με το εάν και κατά πόσο οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί μπορούν να συμμετάσχουν στη διαδικασία παραγωγής οίνων ποιότητας από Ασύρτικο Σαντορίνης, καθώς και στη διεργασία παραγωγής αλκοόλης μέσω της αλκοολικής ζύμωσης. Πραγματοποιήθηκαν βιομηχανικής κλίμακας οινοποιήσεις με τα τέσσερα στελέχη ζυμομυκήτων στις εγκαταστάσεις του οινοποιείου της Santo Wines για παραγωγή λευκών οίνων από Ασύρτικο. Όλες οι ζυμώσεις πραγματοποιήθηκαν με το ίδιο πρωτόκολλο οινοποίησης. Φυσικοχημικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν τόσο με κλασικές (αλκοολικός τίτλος κατ' όγκο, υπολειμματικά σάκχαρα, τρυγικό οξύ, ενεργός οξύτητα - pH, πτητική οξύτητα), όσο και με σύγχρονες αναλυτικές μεθόδους (υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης - HPLC). Τέλος, γευστηνωστικά πάνελ έλαβαν χώρα, προκειμένου να υπάρξει μια πλήρης και σφαιρική άποψη σε ότι αφορά στους οργανοληπτικούς χαρακτήρες αυτών των οίνων. Η συγκεκριμένη μελέτη διεξάγεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα στην ποικιλία Ασύρτικο και σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα διαφορετικά γηγενή στελέχη επηρέασαν τόσο τη σύνθεση του παραγόμενου οίνου, όσο και το οργανοληπτικό του προφίλ, αναδεικνύοντας τη δυναμική κάποιων από αυτών στην παραγωγή οίνων υψηλής ποιότητας.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις Κλειδιά: Αυτόχθονα στελέχη *S. cerevisiae*, γηγενή στελέχη *S. cerevisiae*, οινοποίηση, ζύμωση βιομηχανικής κλίμακας, παραγωγή αιθανόλης, οργανοληπτικό προφίλ, οίνοι terroir, ασύρτικο

Study of alcoholic fermentation and quality characteristics of wines produced using selected yeast strains

*MSc Contemporary Food Technology - Oenology
Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Oenology & Alcoholic Drinks*

ABSTRACT

During the wine production process, one of the main parameters that has a catalytic effect in the evolution of the winemaking process and the final result, is the selection of the microorganism that will carry out the fermentation process. In recent years, in the context of highlighting the role of terroir, a concept that includes the microbial flora of the vineyard among others (climate, soil, variety, human practices), the study of indigenous yeast strains and their effect on the quality characteristics of the produced wine is of particular interest. The purpose of this thesis is the study of four native strains of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts, three isolated from Santorini must and wine (SC09, SC13, SC24) and one isolated from Nemea wine (Y54) from the private collection of the Food Microbiology and Biotechnology Laboratory of Agricultural University of Athens and the investigation on whether and to what extent these microorganisms can participate in the process of producing quality wines from Assyrtiko Santorini, as well as in the process of producing alcohol through alcoholic fermentation. Industrial-scale vinifications were carried out with the four yeast strains at Santo Wines facilities for the production of white wines from Assyrtiko. All fermentations were carried out with the same vinification protocol. Physicochemical analyses were carried out with both classical (alcoholic volume, residual sugars, tartaric acid, pH, volatile acidity) and modern analytical methods (high pressure liquid chromatography - HPLC). Finally, tasting panels took place in order to have an overall view regarding the organoleptic characters of these wines. The specific study is being conducted for the first time in Greece on the Assyrtiko variety and according to the results, the different indigenous strains affected both the composition of the produced wine and its organoleptic profile, highlighting the potential of some of them in the production of high-quality wines.

Scientific area: Oenology

Keywords: indigenous *S. cerevisiae* strains, autochthonous *S. cerevisiae* strains, wine making, vinification, large scale fermentation, ethanol production, sensory profile, terroir wines, assyrtiko

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου κα Σταματίνα Καλλίθρακα για την εμπιστοσύνη, την καθοδήγηση και την υποστήριξη.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής της εργασίας μου, τον καθηγητή κ. Σεραφείμ Παπανικολάου και τη Δρ. Μαρία Μετάφα, για τις πολύτιμες υποδείξεις τους.

Ευχαριστώ όλο το διδακτικό προσωπικό του μεταπτυχιακού προγράμματος, προεξάρχοντων των καθηγητών κ. Γιώργου Κοτσερίδη και κ. Στέφανου Κουνδουρά, για τη γεμάτη ενθουσιασμό, άοκνη μεταλαμπάδευση των γνώσεων τους.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τη διοίκηση και το προσωπικό του οινοποιείου της Santo Wines και ιδιαίτερα τον επικεφαλής του τμήματος παραγωγής, οινολόγο κ. Νίκο Βαρβαρήγο και την οινολόγο Κωνσταντίνα Αργυρού, για την πολύτιμη βοήθεια τους στην εκπόνηση του πειραματικού μέρους.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτωρ Στεφανία Χριστοφή, για τη βοήθεια της κατά τη διαδικασία της εκπόνησης της έρευνας και της ανάλυσης των πειραματικών δεδομένων.

Ειδική μνεία στην κα Νίκη Προξενιά, την ψυχή του Εργαστηρίου Οινολογίας του ΓΠΑ.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές μου Γιάννη, Στέλιο και Στέλλα, για όλη τη συνεργασία και την αλληλεπίδραση στα διάφορα στάδια του μεταπτυχιακού.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καλούς φίλους Βασίλη, Στάθη, Γιάννη, Νατάσσα, Δήμο και Ντάνιελ, για την πολύπλευρη υποστήριξη τους.

Πάνω από όλους, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου Νίκο και Μίνα, στην απεριόριστη στήριξη των οποίων, οφείλω αυτό το επίτευγμα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	I
ABSTRACT	II
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	III
ΛΙΣΤΑ ΕΙΚΟΝΩΝ	VI
ΛΙΣΤΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	VI
ΛΙΣΤΑ ΠΙΝΑΚΩΝ	VII
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	- 1 -
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	- 1 -
1.1 Ο Οίνος στη Σαντορίνη	- 1 -
1.2 Κλίμα και έδαφος.....	- 3 -
1.3 Αμπελώνας.....	- 4 -
1.4 Ασύρτικο.....	- 5 -
1.5 Ορισμός - Προέλευση Οίνου	- 8 -
1.6 Αλκοολική Ζύμωση.....	- 9 -
1.7 Λευκή Οινοποίηση	- 11 -
1.8 Ζύμες	- 13 -
1.8.1 Εμπορικά Στελέχη	- 17 -
1.8.2 Αυτόχθονα Στελέχη.....	- 18 -
1.8.3 Επίδραση αυτόχθονων στελεχών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου.....	- 19 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	- 22 -
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	- 22 -
2.1 Στελέχη	- 22 -
2.2 Πειραματική διαδικασία - Οινοποίηση	- 22 -
2.3 Αναλύσεις οίνων	- 23 -
2.4 Προσδιορισμός σακχάρων και δευτερογενών μεταβολιτών με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).....	- 23 -
2.5 Οργανοληπτικός έλεγχος οίνων	- 24 -
2.6 Στατιστική ανάλυση	- 26 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	- 27 -
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	- 27 -
3.1 Κινητικές ζυμώσεων.....	- 27 -
3.2 Τελικές μετρήσεις οίνων.....	- 30 -
3.2.1 Αλκοολικός τίτλος	- 31 -
3.2.2 Υπολειμματικά σάκχαρα	- 32 -
3.2.3 Ολική οξύτητα	- 33 -
3.2.4 pH.....	- 34 -

3.2.5 Πτητική οξύτητα.....	- 35 -
3.3 Αποτελέσματα HPLC.....	- 35 -
3.3.1 Παραγωγή οξικού οξέος.....	- 36 -
3.3.2 Παραγωγή γλυκερόλης.....	- 37 -
3.3.3 Παραγωγή ηλεκτρικού οξέος.....	- 38 -
3.4 Οργανοληπτικός ΓΠΑ	- 38 -
3.5 Οργανοληπτικός Σαντορίνης	- 39 -
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	- 41 -
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	- 41 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	- 43 -
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.....	- 53 -
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ	- 55 -

ΛΙΣΤΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. α. Κουλούρα, β. Πόστα (προσωπικό αρχείο)

Εικόνα 2. Φυτό Ασύρτικου (πηγή: Ένωση Συν/σμων Θηραϊκών Προϊόντων)

Εικόνα 3. Φύλλο Ασύρτικου (πηγή: Σταυρακάκης, Μ. Ν. (2010). Αμπελογραφία. Εκδόσεις Τροπή)

Εικόνα 4. Σταφυλή Ασύρτικου (πηγή: Ένωση Συν/σμων Θηραϊκών Προϊόντων)

Εικόνα 5. Στάδια αλκοολικής ζύμωσης (πηγή: https://www.enologylab.gr/2012/08/blog-post_22-2.html)

Εικόνα 6. Στάδια λευκής οινοποίησης (πηγή: <https://www.winemag.com/2019/09/24/how-white-wine-is-made/>)

Εικόνα 7. Ερωτηματολόγιο γευστιγνωσίας ΓΠΑ

Εικόνα 8. Ερωτηματολόγιο γευστιγνωσίας IOV

ΛΙΣΤΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Κατανάλωση σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) και παραγωγή αιθανόλης σε γλεύκος Ασύρτικου από τον μικροοργανισμό *S. cerevisiae* SC09

Σχήμα 2. Κατανάλωση σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) και παραγωγή αιθανόλης σε γλεύκος Ασύρτικου από τον μικροοργανισμό *S. cerevisiae* SC13

Σχήμα 3. Κατανάλωση σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) και παραγωγή αιθανόλης σε γλεύκος Ασύρτικου από τον μικροοργανισμό *S. cerevisiae* SC24

Σχήμα 4. Κατανάλωση σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) και παραγωγή αιθανόλης σε γλεύκος Ασύρτικου από τον μικροοργανισμό *S. cerevisiae* Y54

Σχήμα 5. Αλκοολικός τίτλος των παραγόμενων οίνων

Σχήμα 6. Συγκέντρωση υπολειμματικών σακχάρων των παραγόμενων οίνων

Σχήμα 7. Συγκέντρωση οξέων των παραγόμενων οίνων

Σχήμα 8. pH των παραγόμενων οίνων

Σχήμα 9. Πτητική οξύτητα των παραγόμενων οίνων

Σχήμα 10. Συγκέντρωση οξικού οξέος των παραγόμενων οίνων

Σχήμα 11. Συγκέντρωση γλυκερόλης των παραγόμενων οίνων

Σχήμα 12. Συγκέντρωση ηλεκτρικού οξέος των παραγόμενων οίνων

Σχήμα 13. Αραχνόγραμμα αποτελεσμάτων οργανοληπτικού ελέγχου ΓΠΑ

Σχήμα 14. Αραχνόγραμμα αποτελεσμάτων οργανοληπτικού ελέγχου Σαντορίνης

ΛΙΣΤΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Τελικές μέσες τιμές των βασικών αναλύσεων των οίνων, με την τυπική τους απόκλιση

Πίνακας 2. Μέσες τιμές βαθμολογίας των οίνων, με την τυπική τους απόκλιση

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ο Οίνος στη Σαντορίνη

Η Σαντορίνη είναι ηφαιστειακό νησί του Αιγαίου πελάγους και ανήκει στο νησιωτικό σύμπλεγμα των Κυκλάδων. Αποτελεί έναν τόπο με μοναδικές μορφολογικές ιδιαιτερότητες και χαρακτηριστικά, καθώς έλαβε τη σημερινή του μορφή έπειτα από διαδοχικές ηφαιστειακές εκρήξεις, η μεγαλύτερη εκ των οποίων συντελέστηκε περί το 1600 π.Χ. Αυτό το γεγονός, το οποίο έχει καταγραφεί ως μια από τις ισχυρότερες ηφαιστειακές εκρήξεις στην ιστορία της ανθρωπότητας, αποτέλεσε σταθμό, μεταξύ άλλων, για την εξέλιξη της αμπελοκαλλιέργειας και της παραγωγής κρασιού στο νησί (Frankel, 2019).

Η οινοποιητική ιστορία της Σαντορίνης εκτείνεται ως την εποχή του Χαλκού και τον προϊστορικό Μινωικό οικισμό της περιοχής του Ακρωτηρίου. Ευρήματα όπως γίγαρτα αμπέλου, κάρβουνα από ξύλο αμπέλου, πήλινα δοχεία (αμφορείς) αποθήκευσης κρασιού, καθώς και διακοσμητικές απεικονίσεις σταφυλών σε αγγεία, μαρτυρούν την καλλιέργεια της αμπέλου και την παραγωγή κρασιού (Doumas, 1995). Με μια παράδοση πέραν των 35 αιώνων, η Σαντορίνη έχει καταγραφεί ως κέντρο ενός από τους αρχαιότερους οινικούς πολιτισμούς της ανθρωπότητας (Freese, 2005) και μάλιστα ως η πρώτη ηφαιστειακή οινοπαραγωγός περιοχή (Frankel, 2019). Το κρασί δεν αποτέλεσε μόνο πυλώνα της πολιτιστικής εξέλιξης του Μινωικού οικισμού του Ακρωτηρίου, αλλά διαδραμάτισε καίριο ρόλο στην εμπορική δραστηριότητα και στην οικονομική τους ευρωστία, αποτελώντας το βασικό εξαγωγίμο προϊόν τους (Doumas, 1995).

Με την έκρηξη του ηφαιστείου, η Σαντορίνη παρέμεινε ακατοίκητη για μια περίοδο αιώνων, όπου σύμφωνα με αναφορές του Ηρόδοτου κατοικήθηκε εκ νέου από Φοίνικες και Μυκηναίους (13^ο - 9^ο αιώνα π.Χ.), ανακτώντας τη θέση της ως ένα προπύργιο στρατηγικής σημασίας στο Αιγαίο πέλαγος και την ευρύτερη περιοχή της Ανατολικής Μεσογείου (Frankel, 2019). Η καλλιέργεια των γηγενών ποικιλιών αμπέλου αναβίωσε και η οινοπαραγωγή εισήλθε σε μια νέα φάση, με κορυφαία την περίοδο μεταξύ 12^ο και 16^ο αιώνα, κατά την οποία, οι Ενετοί αφού κατέλαβαν τη Σαντορίνη στα πλαίσια της Τέταρτης Σταυροφορίας, ήλθαν σε επαφή με την πολύτιμη οινική κληρονομιά της και τη διέδωσαν σε όλη την Ευρώπη, με κύριο εξαγωγίμο προϊόν τον φυσικώς γλυκύ οίνο από λιαστά σταφύλια, γνωστό ως Vinsanto (Kourakou-Dragona, 1995b).

Ένα κρασί το οποίο λόγω των χαρακτηριστικών του (αλκοολικός βαθμός, υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα) μπορούσε να διατηρηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα ταξιδεύοντας ανά την οικουμένη και αποτελώντας το επίσημο κρασί της Θείας Ευχαριστίας της Ορθόδοξης και Καθολικής εκκλησίας (Frankel, 2019). Η σημασία της οινοποιητικής δραστηριότητας στη Σαντορίνη ήταν τέτοια, που ακόμα και κατά τη διάρκεια της Οθωμανικής περιόδου, η παραγωγή κρασιού επιτράπηκε κατ' εξαίρεση, παρά τη γενικευμένη απαγόρευση του αλκοόλ, με το Vinsanto να ταξιδεύει στα λιμάνια πόλεων όπως η Οδησός, η Κωνσταντινούπολη και η Αλεξάνδρεια, μεταξύ άλλων (Frankel, 2019). Η οινική ανάπτυξη της Σαντορίνης ήταν τέτοια, που έως το δεύτερο μισό του 18^{ου} αιώνα, ο αμπελώνας είχε επεκταθεί όσο ποτέ άλλοτε καλύπτοντας την επιφάνεια των καλλιεργούμενων εκτάσεων του νησιού, εκμεταλλεζόμενη την κυριαρχία της Ρωσίας στη Μαύρη Θάλασσα και το Αιγαίο έναντι των Οθωμανών, που επέτρεπε στους Χριστιανικούς πληθυσμούς να εμπορεύονται ελεύθερα τα προϊόντα τους. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου δημιουργήθηκαν και οι πρώτες αναβαθμίδες, με σκοπό την αξιοποίηση κάθε πιθανής καλλιεργήσιμης επιφάνειας, με αποτέλεσμα περί τα τέλη του 18^{ου} αιώνα η Σαντορίνη να εξάγει πάνω από 1300 τόνους κρασιού ετησίως (Kourakou-Dragona, 1995b). Το παραγωγικό απόγειο συντελέστηκε περί τα τέλη του 19^{ου} αιώνα, όπου η συνολική επιφάνεια του αμπελώνα του νησιού έφτασε τα 48000 στρέμματα (Danezis, 2001). Νωρίτερα, γύρω στα μέσα του 19^{ου} αιώνα, είχε αρχίσει η πτώση των εξαγωγών η οποία ουσιαστικά τερματίστηκε στις αρχές του 20^{ου}, λόγω ευρύτερων ανακατατάξεων στη διεθνή αγορά του κρασιού, αλλαγής των προτιμήσεων των καταναλωτών και εξέλιξης των οινοποιητικών τεχνικών που άνοιξε το δρόμο για την εμπορική διακίνηση ευπαθέστερων από το Vinsanto, ειδών κρασιού. Η αναδιοργάνωση της τοπικής οινοπαραγωγής σε νέες βάσεις, συντελέστηκε τις τελευταίες δεκαετίες, ως μέρος της γενικότερης αναδιοργάνωσης του κλάδου του ελληνικού κρασιού (Kourakou-Dragona, 1995b).

Στη σύγχρονη εποχή, η Σαντορίνη ανακτά την αίγλη της, αποτελώντας σημαντικό οινοπαραγωγικό κέντρο με παγκόσμια εμβέλεια. Η πολύ υψηλή επισκεψιμότητα και η αλματώδη ανάπτυξη του μαζικού τουρισμού και ως μέρους αυτού, επίσης του οινοτουρισμού στο νησί (Avgeli, 2019), έχουν οδηγήσει τη Σαντορίνη στο να συγκαταλέγεται στους 15 κορυφαίους οινικούς προορισμούς παγκοσμίως (Marathronas, 2017) και αυτό βεβαίως διασφαλίζει τη μακρά παράδοση εξωστρέφειας των κρασιών της Σαντορίνης. Το Ασύρτικο Σαντορίνης, συγκαταλέγεται ανάμεσα στις τοποποικιλίες πρεσβευτές και αναγνωρίζεται ως η νούμερο ένα ελληνική ποικιλία πρεσβευτής και ως ο βασικός πυλώνας της διείσδυσης του ελληνικού κρασιού στις αγορές του εξωτερικού (ΚΕΟΣΟΕ, 2022). Λόγω της εξαιρετικά υψηλής επισκεψιμότητας στο νησί, με τα εκατομμύρια των επισκεπτών να συρρέουν ετησίως

για να θαυμάσουν το τοπίο και τη μοναδική μορφολογία της καλντέρας και υπό την πίεση της τουριστικής - οικιστικής ανάπτυξης, ο αμπελώνας της Σαντορίνης (Θήρας και Θηρασίας) έχει περιοριστεί στα περίπου 12000 στρέμματα (Karakasis, 2021). Έχοντας συνειδητοποιήσει την αναγκαιότητα διαφύλαξης και διατήρησης της μοναδικής αμπελοοινικής κληρονομιάς, συντονισμένες ενέργειες του κλάδου των οινοπαραγωγών του νησιού απέφεραν το 2018 την ένταξη της Σαντορίνης στο Εθνικό Ευρετήριο της Άυλης Πολιτιστικής Κληρονομιάς όσον αφορά τις αμπελοοινικές παραδόσεις και τον ιδιαίτερο τρόπο καλλιέργειας των αμπελώνων. Η Σαντορίνη είναι η πρώτη ζώνη παραγωγής οίνων Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) που εντάσσεται στο συγκεκριμένο ευρετήριο, με την εξέλιξη αυτή να αποτελεί το πρώτο βήμα για την ένταξη στον κατάλογο της UNESCO, στα βήματα άλλων αμπελοοινικών ζωνών της Ευρώπης που το έχουν καταφέρει, αναδεικνύοντας με αυτόν τον τρόπο τη μοναδικότητά τους και διασφαλίζοντας τη βιωσιμότητά τους (ΕΕΑΠΚΤΕ, 2018).

1.2 Κλίμα και έδαφος

Το κλίμα της Σαντορίνης είναι τυπικό Μεσογειακό, με ζεστά και ξηρά καλοκαίρια και ήπιους χειμώνες. Χαρακτηριστικά είναι το μικρό ύψος βροχοπτώσεων (χαμηλότερο από 400mm κατά μέσο όρο ετησίως) και οι ισχυροί κατά περιόδους άνεμοι (Κουράκου, 2015). Ένα πολύ ιδιαίτερο φαινόμενο το οποίο αποδίδεται στη μορφολογία της καλντέρας και την υψομετρική της διαφορά από την επιφάνεια της θάλασσας είναι οι θαλάσσιες ομίχλες, οι οποίες παρατηρούνται τους καλοκαιρινούς κυρίως μήνες, καλύπτουν το νησί και το Σαντορινιό αμπελώνα προσφέροντας σημαντικές ποσότητες υγρασίας, μέρος της οποίας απορροφάται από το πορώδες έδαφος, ενυδατώνοντας τα φυτά (Κουράκου, 2015). Ο έντονος ήλιος και ο αιγαιοπελαγίτικος αέρας με τη σειρά τους, στεγνώνουν τα σταφύλια, προστατεύοντας τα από την υπερβολική υγρασία και τον κίνδυνο ανάπτυξης ασθενειών. Στην περίπτωση που οι άνεμοι είναι πολύ υψηλής έντασης (άνω των 8 μποφόρ) καθίστανται επιβλαβείς για τα αμπέλια, προκαλώντας ανθόρροια, σπάσιμο τρυφερών βλαστών ή/και απορραγισμό (Xyrafis *et al.*, 2021). Επίσης, κατά την άνοιξη, εξαιτίας των σφοδρών ανέμων, παρατηρείται το φαινόμενο της αμμοβολής που αποφέρει νέκρωση των οφθαλμών του φυτού (Ρούσσου, 2006).

Το έδαφος της Σαντορίνης είναι ασβεστολιθικής και σχιστολιθικής προέλευσης, το οποίο λόγω των διαδοχικών ηφαιστειακών εκρήξεων έχει καλυφθεί από παχιές εναποθέσεις ηφαιστειακής στάχτης, λάβας, ηφαιστειακών πετρωμάτων και ελαφρόπετρας. Είναι ένα έδαφος αμμώδες, σχετικά πλούσιο σε ανόργανα συστατικά, αλλά με χαμηλά ποσοστά οργανικής ουσίας (Σπινθηροπούλου, 2009). Συνέπεια όλων των ανωτέρω, είναι οι πολύ

χαμηλές στρεμματικές αποδόσεις, της τάξης των 300 kg/στρ κατά μέσο όρο (Ρούσσου 2006, Κουράκου 2015).

1.3 Αμπελώνας

Ο αμπελώνας της Σαντορίνης συγκαταλέγεται ανάμεσα στους λίγους προ-φυλλοξηρικούς αμπελώνες της Ευρώπης, λόγω της ηφαιστειογενούς προέλευσης του εδάφους (Κουράκου, 2015) που με την αμμώδη σύσταση του εμποδίζει την επιβίωση της ριζόβιας μορφής του εντόμου της φυλλοξήρας (Etcheverria, 2014). Αποτέλεσμα αυτού είναι ότι τα φυτά αμπέλου που καλλιεργούνται επί χιλιάδες έτη στο νησί είναι αυτόριζα (Xyrafis *et al.*, 2021), πολλά εκ των οποίων ηλικίας άνω των 100 ετών (Πιουρούλος *et al.*, 2012).

Όπως προαναφέρθηκε, η τωρινή έκταση του αμπελώνα είναι περίπου 12000 στρέμματα, συμπεριλαμβανομένων των καλλιεργούμενων εκτάσεων στο γειτονικό νησί της Θηρασίας. Δεδομένου του άνυδρου χαρακτήρα της καλλιέργειας, η μέση απόδοση κυμαίνεται στα χαμηλά επίπεδα των 250 - 300 kg/στρέμμα και με μεγάλες ετήσιες διακυμάνσεις (Karakasis, 2021).

Οι ιδιαίτερες κλιματικές συνθήκες της Σαντορίνης, με την ανομβρία, την υψηλή σε διάρκεια και ένταση ηλιοφάνεια και οι ισχυροί βοριάδες, οδήγησαν τους αμπελουργούς στο να υιοθετήσουν δυο ιδιαίτερα συστήματα διαμόρφωσης του πρέμνου ώστε να μπορέσουν να προφυλάξουν τα σταφύλια. Το πρώτο με την ονομασία «κυπελλοειδές γυριστό ή στεφανωτό», κατά το οποίο αφού προηγηθούν 3 - 4 χρόνια κλαδέματος σε χαμηλό κύπελλο, αφαιρούνται όλες οι κληματίδες διατηρώντας μια αμολυτή σε κάθε βραχίονα, η οποία πλέκεται οριζόντια με τις αντίστοιχες υπόλοιπες κληματίδες, σχηματίζοντας ένα στεφάνι, το οποίο στην πορεία των ετών παίρνει τη μορφή πλεγμένου καλαθιού, γνωστό ως «κουλούρα» (Εικ. 1α). Κατά το δεύτερο σύστημα, το οποίο ονομάζεται «κυπελλοειδές με κουλούρια ή πόστες» διατηρείται μεγαλύτερο ύψος κορμού και το πλέξιμο της κάθε αμολυτής σχηματίζει ένα κουλούρι κάθετο στην επιφάνεια του εδάφους (Εικ. 1β). Το συγκεκριμένο σύστημα δύναται να εφαρμοστεί σε ποικιλίες με μεγάλη ελαστικότητα όπως το Ασύρτικο και σε αμπελώνες που δεν δέχονται την επίδραση σφοδρών ανέμων (Κουράκου, 2015).



Εικόνα 1. α. Κουλούρα, β. Πόστα (προσωπικό αρχείο)

Κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου οι κουλούρες είναι καλυμμένες από τους εύρωστους ετήσιους βλαστούς, οι οποίοι με το φύλλωμα τους δημιουργούν ένα προστατευτικό τοίχος από τον αέρα και την αμμοβολή. Το χαρακτηριστικό αυτό σύστημα κλαδέματος - διαμόρφωσης της αμπέλου συναντάται έκτος από το νησί της Σαντορίνης και στην Παντελερία της Ιταλίας, ένα επίσης μικρό ηφαιστειακό νησί, το οποίο όπως και η Σαντορίνη αποικήθηκε από Φοίνικες και μετέπειτα Καρχηδόνιους. Οι Φοίνικες εξάλλου είναι κατά τεκμήριο αυτοί που διέδωσαν την παραγωγή οίνου στην Ελλάδα και την υπόλοιπη Ευρώπη (Kourakou-Dragona, 1995a).

1.4 Ασύρτικο

Το νησί της Σαντορίνης συγκαταλέγεται ανάμεσα στις σημαντικότερες οινοπαραγωγούς περιοχές της Ελλάδας, αποτελώντας μεταξύ άλλων τόπος καταγωγής πολλών οινοποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου που παράγουν οίνους με ξεχωριστό χαρακτήρα, κυρίως όπως αναφέρθηκε παραπάνω, λόγω του ηφαιστειακού εδάφους και των ιδιαίτερων κλιματολογικών συνθηκών που επικρατούν στο νησί (Πιορούλος *et al.*, 2012). Υπολογίζεται ότι ο συνολικός αριθμός των οινοποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου που απαντώνται στη Σαντορίνη ξεπερνάει τις 60 (Βενετσάνος, 2016).

Ανάμεσα στις ποικιλίες που απαντώνται στη Σαντορίνη, αδιαμφισβήτητος πρωταγωνιστής είναι το Ασύρτικο, μια λευκή ποικιλία παγκόσμιας κλάσης με καταγωγή από τη Σαντορίνη,

που πλέον έχει εξαπλωθεί σε όλη την Ελλάδα, ξεπερνώντας μάλιστα τα σύνορα της χώρας (Wrann, 2022), όντας μια από τις σπάνιες λευκές ποικιλίες αμπέλου που μπορούν να καλλιεργηθούν σε συνθήκες ζεστού και ξηρού κλίματος, διατηρώντας μια άριστη ισορροπία μεταξύ των σακχάρων και της οξύτητας (ΕΔΟΑΟ, 2022). Το Ασύρτικο αποτελεί την αιχμή του δόρατος στο στρατηγικό σχέδιο προβολής του ελληνικού κρασιού στο εξωτερικό, ως μια από τις τέσσερις τόπο-ποικιλίες πρεσβευτές (ΚΕΟΣΟΕ, 2022).

Το Ασύρτικο είναι μακράν η πιο πολυφυτεμένη ποικιλία στη Σαντορίνη, αντιστοιχώντας περίπου στο 75% του συνόλου της καλλιεργούμενης έκτασης (ΥΠΑΑΤ, 2007). Είναι μια πολυδύναμη ποικιλία που δίνει εξαιρετικούς ξηρούς, γλυκούς και αφρώδεις οίνους, αποτελώντας τη βασική ποικιλία για τους οίνους Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) Σαντορίνη, Νυχτέρι και Vinsanto (Κουράκου, 2015). Ως ποικιλία είναι εξαιρετικά προσαρμοσμένη στο ξηροθερμικό κλίμα της Σαντορίνης και με πολύ καλή ανθεκτικότητα απέναντι στις κύριες ασθένειες της αμπέλου όπως το ωίδιο και ο περονόσπορος (Kourakou-Dragona, 1995γ).



Εικόνα 2. Φυτό Ασύρτικου (πηγή: Ένωση Συν/σμων Θηραϊκών Προϊόντων)

Είναι φυτό ζωηρό, εύρωστο, παραγωγικό. Έχει τη δυνατότητα να προσαρμόζεται σε διαφορετικούς τύπους εδαφών και κλιματικές συνθήκες, διατηρώντας τα χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες του (Τσακίρης, 1995). Ο βλαστικός κύκλος της ποικιλίας ξεκινά περί τα τέλη Μαρτίου και ωριμάζει το διάστημα από μέσα Αυγούστου με αρχές Σεπτεμβρίου.

Το φύλλο του Ασύρτικου είναι σφηνοειδές, τρίλοβο ή πεντάλοβο, με μέτριο έως μεγάλο μέγεθος. Το έλασμα του είναι παχύ, με τους λοβούς να καμπυλώνουν προς τα πάνω. Η πάνω

επιφάνεια του φύλλου είναι λεία με βαθυπράσινο χρώμα ενώ η κάτω επιφάνεια έχει πυκνό χνούδι και φαιοπράσινο χρώμα. Η ράγα της σταφυλής του Ασύρτικου έχει σχήμα σφαιρικό, μέτριο μέγεθος και περιέχει 2 - 3 γίγαρτα. Ο φλοιός έχει χρώμα κίτρινο, είναι μετρίου πάχους και πλούσιος σε τανίνες. Τέλος, η σάρκα είναι χυμώδης, μαλακή, με χαρακτηριστική υπόξινη γεύση (Σταυρακάκης, 2010).



Εικόνα 3. Φύλλο Ασύρτικου

(πηγή: Σταυρακάκης, Μ. Ν. (2010). Αμπελογραφία. Εκδόσεις Τροπή)

Κατά την πλήρη ωρίμανση του γλεύκους, το Ασύρτικο έχει τα παρακάτω χαρακτηριστικά (Σταυρακάκης, 2010):

- η περιεκτικότητα σε σάκχαρα είναι 250-260 g /l
- η ολική οξύτητα 7-9.5 g /l σε τρυγικό οξύ
- υψηλή περιεκτικότητα (για λευκή ποικιλία) σε τανίνες και πολυφαινόλες
- υψηλό αλκοολικό τίτλο (12.8-14.0 % vol)
- pH 3.10- 3.30.

Η υψηλή οξύτητα που διατηρεί το Ασύρτικο Σαντορίνης ακόμα και κατά την πλήρη ωρίμανση του, το κάνει να ξεχωρίζει από τις υπόλοιπες λευκές ποικιλίες της Μεσογείου. Αυτό πέρα από χαρακτηριστικό της ποικιλίας, αποδίδεται επίσης αφενός στη μειωμένη συγκέντρωση καλίου στο έδαφος της Σαντορίνης και αφετέρου στα χαμηλά ποσοστά βροχόπτωσης στο νησί. Επιπρόσθετα, οι δυνατοί άνεμοι μπορούν να προκαλέσουν αναστολή της φωτοσύνθεσης, που επιβραδύνει την ωρίμανση, διατηρώντας τα επίπεδα της οξύτητας ψηλά (Σταυρακάκης, 2010).



Εικόνα 4. Σταφυλή Ασύρτικου (πηγή: Ένωση Συν/σμων Θηραϊκών Προϊόντων)

Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά: Οι οίνοι από Ασύρτικο έχουν ζωνρό κίτρινο χρώμα με πράσινες ανταύγειες. Χαρακτηρίζονται από πλούσια γεύση, με υψηλή οξύτητα που τους προσδίδει δομή, διάρκεια και δροσερή, μακρά επίγευση. Κυριαρχούν οι νότες εσπεριδοειδών, κίτρινων φρούτων, σε συνδιασμό με τη χαρακτηριστική μεταλλικότητα (ΥΠΑΑΤ, 2007). Οι οίνοι από Ασύρτικο επιδεικνύουν αξιοσημείωτη δυνατότητα παλαίωσης, που οφείλεται στα υψηλά επίπεδα οξύτητας, αλκοολικού βαθμού και φαινολικών ουσιών, με τα καλύτερα παραδείγματα να επιτυγχάνουν διάρκεια ζωής που αγγίζει τη δεκαετία (Karakasis, 2021). Όλα τα ανωτέρω χαρακτηριστικά του Ασύρτικου, σε συνδιασμό με την προσαρμοστικότητα του σε ξηροθερμικά κλίματα, έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον σε παραγωγούς και οργανώσεις του εξωτερικού, που το εξετάζουν ως μια ποικιλία που μπορεί να δώσει λύσεις απέναντι στο φαινόμενο της κλιματικής αλλαγής (Wrann, 2022).

1.5 Ορισμός - Προέλευση Οίνου

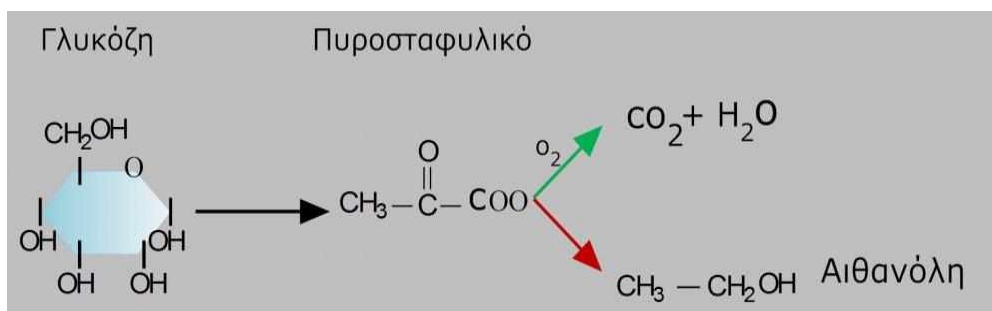
Ως οίνος χαρακτηρίζεται το προϊόν που παράγεται αποκλειστικά με αλκοολική ζύμωση, πλήρη ή μερική, νωπών σταφυλιών, που έχουν σπασθεί ή όχι, ή γλεύκους σταφυλής. Σύμφωνα με τον Καν. 1308/2013 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου, στον αντίστοιχο γενικό ορισμό προβλέπεται ότι, ανεξάρτητα από τις επεξεργασίες εμπλουτισμού, ο οίνος έχει τουλάχιστον 9% vol αποκτημένο αλκοολικό τίτλο για τη ζώνη Γ στην οποία ανήκει η

Ελλάδα, ολικό αλκοολικό τίτλο το πολύ 15% vol, ολική οξύτητα τουλάχιστον 3,5g/l σε τρυγικό οξύ ή 46,6 χιλιοϊσοδύναμα/λίτρο (ΥΠΑΑΤ, 2020).

Ο οίνος σχετίζεται με αρχαιολογικές καταγραφές οι οποίες ξεπερνούν τα 7500 έτη, με την προέλευση του να τοποθετείται χρονικά στην 5^η χιλιετία π.Χ., σύμφωνα με τα συνδυαστικά ευρήματα υπολειμμάτων κρυστάλλων τρυγικού ασβεστίου και ρητίνης, στην περιοχή Hajji Firuz Tere του Ιράν (McGovern *et al.*, 1996). Το τρυγικό οξύ είναι μια ένωση που απαντάται κατά κύριο λόγο στα σταφύλια, ενώ η ταυτόχρονη ύπαρξη ρητίνης, η οποία χρησιμοποιούνταν στο κρασί για τις συντηρητικές και αρωματικές της ιδιότητες, ισχυροποιεί τις ενδείξεις περί ηθελημένης οινοποίησης (Jackson, 2008). Είναι πιθανό η οινοποίηση ως πρακτική να χρονολογείται ακόμα πιο πίσω από την περίοδο του συγκεκριμένου αρχαιολογικού ευρήματος, κατά την Παλαιολιθική περίοδο, με την προέλευση της να συνδέεται στενά με τη θεωρία πως το αλκοόλ ήταν το απόλυτο φάρμακο της εποχής (Borrell, 2009).

1.6 Αλκοολική Ζύμωση

Η διαδικασία μέσα από την οποία μεταξύ άλλων προϊόντων παράγεται και ο οίνος, ονομάζεται αλκοολική ζύμωση. Είναι μια πολύπλοκη βιοχημική διαδικασία που περιλαμβάνει πλήθος αλληλεπιδράσεων μεταξύ ζυμομυκήτων, βακτηρίων και άλλων μικροβιακών ειδών. Ανάμεσα σε όλους αυτούς τους μικροοργανισμούς, οι ζύμες έχουν τον πρωταρχικό ρόλο (Beltran *et al.*, 2002). Ζύμωση γενικά καλείται η διάσπαση μιας οργανικής ύλης σε απλούστερες μορφές, με τη συνδρομή ενζύμων που περιέχονται στα κύτταρα διαφόρων ζυμομυκήτων. Οι ζυμομύκητες προβαίνουν σε αυτή τη διαδικασία με σκοπό να εξασφαλίσουν την απαραίτητη ενέργεια για την επιβίωση τους. Αλκοολική ζύμωση, καλείται η βιοχημική διαδικασία διάσπασης σακχάρων του γενικού τύπου $C_6H_{12}O_6$ (εξόζες), προς αιθανόλη (αιθυλική αλκοόλη) και διοξείδιο του άνθρακα (Εικ.5) (Σουφλερός, 2012). Κατά τη διαδικασία αυτή, η γλυκόζη αρχικά αποικοδομείται σε πυροσταφυλικό οξύ, σε μια διαδικασία που ονομάζεται γλυκόλυση. Το πυροσταφυλικό οξύ αποτελεί τον κύριο μεταβολίτη από τον οποίο, με τη βοήθεια ενζύμων διαφορετικών μικροοργανισμών, σχηματίζεται έπειτα ένας μεγάλος αριθμός προϊόντων. Στην περίπτωση των σακχαρομυκήτων, το πυροσταφυλικό αποκαρβοξυλιώνεται προς ακεταλδεΰδη, της οποίας η αναγωγή δίνει αιθανόλη, ενώ το άλλο τελικό προϊόν που παράγεται είναι το διοξείδιο του άνθρακα, με ταυτόχρονη έκλυση ενέργειας (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).



Εικόνα 5. Στάδια αλκοολικής ζύμωσης

(πηγή: https://www.enologylab.gr/2012/08/blog-post_22-2.html)

Κατά την αλκοολική ζύμωση παράγεται επίσης μια σειρά δευτερευόντων προϊόντων, όπως γλυκερόλη, ακεταλδεΐδη, ανώτερες αλκοόλες, οξικό οξύ, γαλακτικό οξύ κ.α. (Σουφλερός, 2012). Η γλυκερόλη, το μεγαλύτερο ποσοστό της οποίας παράγεται κατά το στάδιο της γλυκόλυσης, θεωρείται το σημαντικότερο δευτερεύον προϊόν της διαδικασίας, όντας η ένωση με την τρίτη μεγαλύτερη συγκέντρωση στον οίνο (7-10 gr/L) μετά από το νερό και την αιθανόλη και με σημαντική επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτού. Προσδίδει όγκο στον οίνο και ενισχύει την αίσθηση του γλυκού στα ξηρά κρασιά, αλλά επίσης μπορεί να λειτουργήσει ως θρεπτικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη επιβλαβών μικροοργανισμών (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

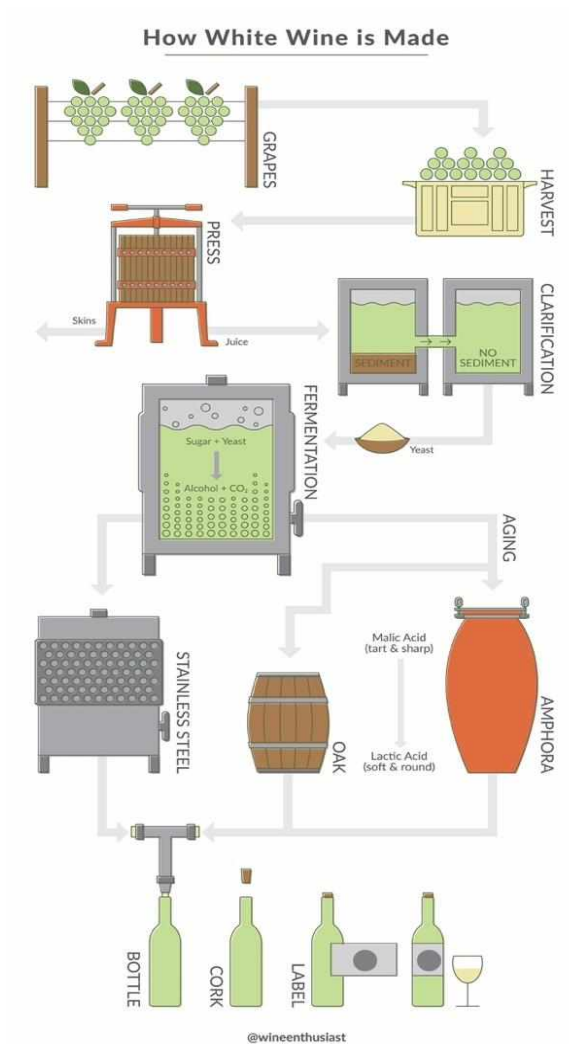
Τα φαινόμενα που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης είναι η αύξηση της θερμοκρασίας του γλεύκους, η έκλυση διοξειδίου του άνθρακα, η μεταβολή της γεύσης του γλεύκους και η μείωση του ειδικού βάρους. Η διαδικασία της ζύμωσης διαρκεί περίπου 21 μέρες, ανάλογα με τον τύπο οίνου που επιθυμεί ο παραγωγός. Το προτεινόμενο θερμοκρασιακό εύρος πραγματοποίησης της ζύμωσης στη λευκή οινοποίηση είναι 15-20°C, ενώ στην ερυθρή οινοποίηση είναι 25-30°C (Betrand, 1987).

Για τη διατήρηση της θερμοκρασίας στα επιθυμητά για την εκάστοτε οινοποίηση επίπεδα, στις μέρες μας χρησιμοποιούνται ευρέως ψυχόμενοι οινοποιητές, μεταλλικά δοχεία με διπλά τοιχώματα εντός των οποίων κυκλοφορεί ψυκτικό υγρό. Καθώς εξελίσσεται η ζύμωση και αυξάνεται ο αλκοολικός βαθμός πέραν των 10% vol, ελαττώνεται ο ρυθμός μεταβολισμού των υπολειπόμενων σακχάρων από τις ζύμες και η παραγωγή θερμότητας, έως το όριο των 15% vol αλκοόλ, όπου οι ζύμες παύουν να λειτουργούν λόγω τοξικότητας του αλκοόλ στα κύτταρα τους. Η λήξη της αλκοολικής ζύμωσης προσδιορίζεται μετρώντας τα ανόργανα σάκχαρα σε επίπεδα < 2gr/L και το ειδικό βάρος < 0.998 (Τσέτουρας, 2003).

1.7 Λευκή Οινοποίηση

Κατά τη διαδικασία παραγωγής οίνου, ο παραγωγός καλείται να συνυπολογίσει διάφορες παραμέτρους και να αντιμετωπίσει προκλήσεις οι οποίες ξεκινούν από τη διαχείριση των σταφυλιών, συνεχίζουν στη διαδικασία οινοποίησης και φτάνουν έως την εμφιάλωση και αποθήκευση του οίνου. Παρότι η παραγωγή λευκών οίνων με την παρουσία φλοιών σταφυλιών αποτελεί μια παραδοσιακή τεχνική (Allan, 2019), βασικό χαρακτηριστικό των σύγχρονων πρωτοκόλλων λευκής οινοποίησης είναι η απουσία στερεών μερών της ράγας (φλοιός) κατά το στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης. Κατ' αυτόν τον τρόπο και από τη στιγμή που η διαδικασία δεν σχετίζεται με το χρώμα του σταφυλιού, ένας λευκός οίνος μπορεί να παραχθεί και από ερυθρό σταφύλι, με το είδος του παραγόμενου οίνου να ονομάζεται blanc de noir (Ellis & Kok, 1987).

Αρχικά, τα λευκά σταφύλια παραλαμβάνονται μετά τον τρύγο και οδηγούνται στο εκραγιστήριο όπου λαμβάνει χώρα η αποβοστρίχωση δηλαδή ο διαχωρισμός των ραγών από τα κοτσάνια. Έπειτα συντελείται σπάσιμο των ραγών στο θλιπτήριο, όπου απελευθερώνεται ο χυμός ελεύθερης ροής (πρόρωγος). Η σταφυλομάζα οδηγείται στο πιεστήριο όπου μέσα από τα επιθυμητά κλάσματα πίεσης λαμβάνεται το υπόλοιπο γλεύκος, το οποίο έπειτα οδηγείται σε μια δεξαμενή όπου ψύχεται για ένα διάστημα 12 - 14 ωρών ώστε να καθιζάνουν τα στερεά υπολείμματα του μούστου (απολάσπωση). Το καθαρό γλεύκος, μεταγγίζεται στη δεξαμενή οινοποίησης όπου σε ένα θερμοκρασιακό εύρος 15-20°C λαμβάνει χώρα η αλκοολική ζύμωση, με τελικό αποτέλεσμα τον οίνο (Τσακίρης, 2014). Ο λευκός οίνος που προκύπτει, οδηγείται είτε για ωρίμαση σε κάποιο μέσο παραμονής όπως δεξαμενή, βαρέλι, αμφορέα, ή εμφιαλώνεται αφού έχει περάσει από μια σειρά διεργασιών που αποσκοπούν σε ένα βέλτιστο, σταθερό αποτέλεσμα (σταθεροποίηση) (Εικ. 6).



Εικόνα 6. Στάδια λευκής οινοποίησης

(πηγή: <https://www.winemag.com/2019/09/24/how-white-wine-is-made/>)

Πέραν της κλασικής αυτής προσέγγισης λευκής οινοποίησης, όπου η διαχείριση του γλεύκους γίνεται απουσία φλοιών σταφυλιού, μια σύγχρονη τάση είναι η παραμονή του σταφυλοχυμού ελεύθερης ροής με τους φλοιούς υπό ελεγχόμενες συνθήκες (ατμόσφαιρα CO₂ και $\theta < 15^{\circ}\text{C}$). Η διαδικασία αυτή που ονομάζεται προζυμωτική εκχύλιση, αποσκοπεί στον εμπλουτισμό του παραγόμενου οίνου, τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών και την αύξηση της πολυπλοκότητας του, μέσω της εκχύλισης πρόδρομων αρωματικών ενώσεων και φαινολικών συστατικών από τους φλοιούς προς το γλεύκος (Sancho-Galan *et al.*, 2021). Η εφαρμογή της συγκεκριμένης τεχνικής θέλει προσοχή, με έλεγχο της διάρκειας παραμονής και της θερμοκρασίας, καθώς η αυξημένη συγκέντρωση τερπενίων και φαινολικών ενώσεων μπορεί να οδηγήσει σε εκχύλιση ανεπιθύμητων φυτικών αρωμάτων και στην ενίσχυση της στυπτικότητας του οίνου (Sokolowsky *et al.*, 2015). Επίσης, ένα ακόμη επακόλουθο της

προζυμωτικής εκχύλισης είναι η αύξηση της συγκέντρωσης του καλίου στο γλεύκος, το οποίο ενώνεται με το τρυγικό οξύ και καταβυθίζεται ως άλας, έχοντας ως αποτέλεσμα τη μείωση της οξύτητας (Sancho-Galan *et al.*, 2021). Στην περίπτωση του Ασύρτικου, λόγω του υψηλού φαινολικού φορτίου των φλοιών, η προτεινόμενη διάρκεια παραμονής τους με το σταφυλοχυμό είναι για 4-5 ώρες σε θερμοκρασία 12-15 °C (Κουράκου, 2003).

Στην περίπτωση ποικιλιών που είναι ιδιαίτερα ευοξειδωτες, ένας τρόπος προστασίας του γλεύκους είναι η συνδυαστική χρήση SO₂ και ασκορβικού οξέος τα οποία δρουν προστατευτικά απέναντι στην ενζυματική οξείδωση των φαινολών. Αυτή η μέθοδος προσφέρει μερική προστασία, μιας και η αποτελεσματικότητά του είναι μειωμένη σε υψηλές τιμές pH, ενώ υπάρχει και ποσοτικό όριο στη χρήση τους, που δημιουργεί πρόβλημα στην περίπτωση γλευκών που δεσμεύουν μεγαλύτερες ποσότητες SO₂. Συμπληρωματικά, κατά τη διάρκεια της εξαγωγής του γλεύκους στο πιεστήριο, η πλήρωση του χώρου με κάποιο αδρανές αέριο όπως CO₂ ή N₂, προσφέρει περαιτέρω προστασία από ανεπιθύμητα φαινόμενα οξείδωσης (Ardilouze, 2006).

1.8 Ζύμες

Η σύσταση, τα αρωματικά - γευστικά χαρακτηριστικά και εν γένει η ποιότητα του οίνου συνδέονται στενά με τη μικροβιακή οικολογία της ζύμωσης (Lambrechts & Pretorius, 2000, Bisson & Joseph, 2009). Τα διάφορα είδη που αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης καθώς και το μέγεθος ανάπτυξης τους, καθορίζουν τον τύπο και τις συγκεντρώσεις των διαφόρων ουσιών που συμβάλλουν αποφασιστικά στο άρωμα και τα γευστικά χαρακτηριστικά του κρασιού (Fleet *et al.*, 1984). Το κυρίαρχο χαρακτηριστικό της οينوποιητικής διαδικασίας είναι η μετατροπή των σακχάρων του γλεύκους σε αιθανόλη. Αυτό γίνεται σχεδόν αποκλειστικά από τους ζυμομύκητες, οι οποίοι είναι μονοκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί που ανήκουν στο Βασίλειο των Μυκήτων, κατά κύριο λόγο στο φύλο των Ασκομυκήτων και σε μικρότερο ποσοστό των Δευτερομυκήτων (ατελής μορφή) και αναπαράγονται με μίτωση ή με εκβλάστηση (Boulton *et al.*, 1999, Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Ο μεταβολισμός των σακχάρων από τους ζυμομύκητες, είναι η κεντρική μεταβολική διαδικασία που καθορίζει τόσο την τελική περιεκτικότητα σε αλκοόλ όσο και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρασιού (Rodicio & Heinisch, 2009).

Κατά παράδοση, οι οίνοι παράγονται από αυθόρμητες ζυμώσεις που προκαλούνται με την ανάπτυξη ζυμομυκήτων και βακτηρίων γαλακτικού οξέος (Fleet *et al.*, 1984). Καθώς η ζύμωση προχωράει, η αύξηση του αλκοολικού βαθμού και η κατανάλωση των θρεπτικών

στοιχείων του γλεύκους, περιορίζει την ανάπτυξη των μη ανθεκτικών μικροοργανισμών, ευνοώντας την επικράτηση των ζυμομυκήτων (Henschke, 2007).

Οι ζυμομύκητες μπορεί να προέλθουν από τα σταφύλια στον αμπελώνα, μπορεί να είναι κάτοικοι της χλωρίδας του οινοποιείου ή μπορούν να εξαπλωθούν από τον άνεμο ή από έντομα φορείς όπως μύγες, μέλισσες και σφήκες (Fleet *et al.*, 2002). Αποφασιστικής σημασίας είναι και η ανθρώπινη επίδραση, που μπορεί να είναι είτε άμεση μέσω της χρήσης εμπορικών σκευασμάτων ζυμών (Boulton *et al.*, 1996), είτε έμμεση, με τις αποφάσεις που παίρνονται κατά τη διάρκεια της οινοποίησης να ευνοούν κάποια είδη ζυμών περισσότερο από κάποια άλλα, επηρεάζοντας έτσι την εξέλιξη και το αποτέλεσμα της ζύμωσης (Bisson & Joseph 2009).

Πολλά διαφορετικά είδη ζύμης μπορούν να λάβουν μέρος σε αυθόρμητες αλκοολικές ζυμώσεις, αλλά σε κατευθυνόμενες ζυμώσεις, το κύριο είδος που χρησιμοποιείται συνήθως ως εναρκτήριο είναι ο *Saccharomyces cerevisiae*, αφενός λόγω της ζυμωτικής του ικανότητας ακόμα και σε υψηλό αλκοολικό περιβάλλον (Blondin *et al.*, 2009, Sablayrolles, 2009) και αφετέρου των αμυντικών του μηχανισμών έναντι των άλλων μικροοργανισμών όπως η έκκριση αντιμικροβιακών πεπτιδίων (Albergaria & Arneborg, 2016), που του επιτρέπουν να επικρατεί τελικά έναντι των άλλων ζυμών, χωρίς να αποκλείεται η παρουσία και κάποιων άλλων ειδών, είτε *Saccharomyces* όπως ο *Saccharomyces bayanus* (Fleet *et al.*, 2002) είτε non-*Saccharomyces*, όπως *Brettanomyces* spp. και *Zygosaccharomyces* spp. τα οποία επιδεικνύουν αντίστοιχη με τον *S. cerevisiae* ανθεκτικότητα στην αιθανόλη (Silva *et al.*, 2004, Martorell *et al.*, 2007). Πέρα από τον πρωταρχικό του ρόλο στην παραγωγή οίνου, ο *S. cerevisiae* χρησιμοποιείται ευρέως στην παραγωγή μπύρας, ψωμιού, φαρμακευτικών προϊόντων, βιοκαυσίμων και άλλων βιοτεχνολογικών προϊόντων (Barnett *et al.*, 2000).

Η ποικιλότητα των γενών ζυμών που απαντώνται στην επιφάνεια των σταφυλιών έχει μετρηθεί σε πληθυσμούς της τάξης των $10^4 - 10^6$ κυττάρων ανά cm^{-2} , με τα *Hanseniaspora*, *Metschnikowia* και *Candida* να είναι τα κυρίαρχα, ενώ οι *Saccharomyces* απαντώνται σε μικρά ποσοστά, με την κατανομή του μίγματος και της ποσότητας ζυμών να διαμορφώνεται δυναμικά από τις εδαφοκλιματικές και τις εποχιακές συνθήκες του αμπελώνα, την ποικιλία αμπέλου, τους οργανισμούς φορείς (μέλισσες και λοιπά έντομα), την πίεση ανάπτυξης ασθενειών, το επίπεδο ωρίμασης των σταφυλιών, το επίπεδο ακεραιότητας των ραγών και τις καλλιεργητικές τεχνικές. Εκεί που οι *Saccharomyces* αποκτούν πρωταρχικό ρόλο είναι στο περιβάλλον του οινοποιείου, ακολουθούμενοι σε συγκέντρωση από είδη των *Candida*, *Cryptococcus*, and *Brettanomyces* (Fleet *et al.*, 2002).

Οι ζύμες κρασιού *S. cerevisiae* πιστεύεται ότι επιλέχθηκαν επί μακρόν, από τις πρωτόγονες γεωργικές κοινωνίες, οι οποίες άθελά τους επέλεξαν στελέχη *Saccharomyces* με βάση την ικανότητά τους να ζυμώνουν υποστρώματα με υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα και να προσαρμόζονται στις συνθήκες ζύμωσης που κυριαρχούν σε κάθε περιοχή. Αυτές οι ζύμες είναι ιδιαίτερα προσαρμοσμένες στις σκληρές συνθήκες που επικρατούν στα γλεύκη σταφυλιών και στους οίνους (υψηλή οξύτητα, υψηλή συγκέντρωση σακχάρων ή αλκοόλ, παρουσία θειωδών κ.λπ.), σε σημείο που να έχει διαμορφωθεί το γονιδίωμα τους (Blondin *et al.*, 2009). Για παράδειγμα, τα στελέχη ζύμης από την περιοχή της Μεσογείου είναι ανθεκτικά σε υψηλές περιεκτικότητες ζαχάρων και αιθανόλης και υψηλές θερμοκρασίες ζύμωσης, ενώ τα στελέχη από περιοχές ωκεάνιου ή ηπειρωτικού κλίματος προσαρμόζονται καλύτερα σε χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ζάχαρα και αλκοόλ και χαμηλότερες θερμοκρασίες ζύμωσης (Blondin *et al.*, 2009). Έτσι, ο άνθρωπος συνέβαλε σημαντικά στην επέκταση και την εξέλιξη αυτού του είδους ζυμομύκητα, επιλέγοντας στελέχη ή υβρίδια *S. cerevisiae* και διαδίδοντας στελέχη προσαρμοσμένα στην ανθρώπινη τεχνολογία (Blondin *et al.*, 2009).

Το ζήτημα του κατά πόσο είναι δυνατό οι επιλεγμένες ζύμες που εμβολιάζονται σε μια ζύμωση, να επικρατήσουν έναντι της φυσικής χλωρίδας, έχει υπάρξει αντικείμενο μελέτης εδώ και δεκαετίες (Bouix *et al.*, 1981). Σε κάθε περίπτωση, η φυσική χλωρίδα συνεχίζει να υπάρχει και διατηρεί μια επίδραση στην υπό ανάπτυξη ζύμωση (Fleet *et al.*, 1984). Στα αρχικά στάδια μιας ζύμωσης υπάρχει μεγάλη ποικιλία ειδών ζυμομύκητα που δεν είναι *Saccharomyces*. Αν και αυτοί μπορεί να συμβάλλουν στην παραγωγή αιθανόλης και να παράγουν αρωματικές ενώσεις (Boulton *et al.*, 1999), προσδίδοντας ιδιαιτερότητα και χαρακτήρα στο αρωματικό προφίλ του οίνου (Pramateftaki *et al.*, 2000), γενικά δεν είναι επιθυμητοί λόγω της παραγωγής οξικού οξέος και άλλων δυσάρεστων γεύσεων. Τα τελευταία 30 χρόνια, η οινική βιομηχανία τείνει να απομακρύνεται από τις αυθόρμητες ζυμώσεις και να προτιμά ως πιο αξιόπιστες τις ελεγχόμενες ζυμώσεις που ξεκινούν με εμβολιασμό (π.χ. 70-80% των ζυμώσεων στη Γαλλία ξεκινούν πλέον με εμβολιασμό) (Sablayrolles, 2009). Οι βασικοί λόγοι για αυτό είναι τα μειονεκτήματα των αυθόρμητων ζυμώσεων, όπως η διακύμανση στο τελικό ποιοτικό αποτέλεσμα ανά χρονιά, η αστάθεια στο ρυθμό της ζύμωσης (παρατεταμένη διάρκεια ή πρόωρη παύση), η ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών που οδηγούν σε παραγωγή οίνων με ανεπιθύμητα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Fleet, 2008).

Τα κριτήρια επιλογής μιας ζύμης για παραγωγή οίνου, περιλαμβάνουν ιδιότητες οι οποίες σχετίζονται με τη διαδικασία της ζύμωσης και την ευκολία ανάπτυξης αυτής για χρήση σε

βιομηχανική κλίμακα, καθώς και ιδιότητες που σχετίζονται με την ποιότητα του παραγόμενου οίνου:

i/ κριτήρια επιλογής που παραδοσιακά θεωρούνταν βασικές σε μια ζύμη, όπως η υψηλή ζυμωτική ικανότητα ώστε να μην μένουν μεγάλες ποσότητες υπολειμματικών σακχάρων, η σταθερού ρυθμού ζύμωση με μικρές φάσεις υστέρησης, η υψηλή αναπαραγωγική ικανότητα, η ανθεκτικότητα στην αιθανόλη και η ανθεκτικότητα στη μέχρι κάποιο όριο ύπαρξη θειώδους (Aranda *et al.*, 2011, Suárez-Lepe & Morata, 2012) και οι οποίες να είναι σταθερές σε διάφορες θερμοκρασίες ώστε οι ζύμες αυτές να μπορούν να εφαρμοστούν τόσο στη ζύμωση λευκού, όσο και ερυθρού οίνου (Bisson, 2004). Επιπλέον, για να έχουν τη δυνατότητα εφαρμογής σε μεγάλη κλίμακα, οι ζύμες πρέπει να αναπτύσσονται ικανοποιητικά σε φθηνά υποστρώματα και να είναι ανθεκτικές στους διάφορους χειρισμούς συσκευασίας, αποθήκευσης και επανενεργοποίησης (Soubeyrand *et al.*, 2006).

ii/ κριτήρια επιλογής που σχετίζονται με την ποιότητα, όπως η παραγωγή μεταβολιτών (εστέρες, ανώτερες αλκοόλες) που να αναδεικνύουν την έκφραση των αρωμάτων και η παραγωγή γλυκερόλης και μαννοπρωτεϊνών που δρουν θετικά στην αίσθηση δομής και σώματος, με ταυτόχρονα χαμηλή παραγωγή οξικού οξέος και άλλων δυσάρεστων ουσιών. Επίσης, ο σχηματισμός σταθερών χρωστικών για ενίσχυση του χρώματος του οίνου, η απουσία δραστηριότητας β-γλυκοσιδάσης για την πρόληψη της υποβάθμισης του χρώματος και η διευκόλυνση της κολλοειδούς σταθεροποίησης στα ερυθρά κρασιά, είναι κάποια κριτήρια τα οποία έχουν προστεθεί τα τελευταία χρόνια στη διαδικασία επιλογής ζυμών (Suárez-Lepe & Morata, 2012).

Η απομόνωση και ταυτοποίηση των ζυμών, έχει περάσει από διάφορα στάδια ακολουθώντας όπως είναι φυσικό την εξέλιξη της επιστήμης και την ανάπτυξη νέων μεθόδων. Αρχικά η ταυτοποίηση σε επίπεδο είδους βασιζόταν στην παρατήρηση φαινοτυπικών χαρακτηριστικών μέσα από διάφορα βιοχημικά τεστ (Pincus *et al.*, 2007). Αυτές οι μέθοδοι, όντας πολύ χρονοβόρες, πλέον θεωρούνται ξεπερασμένες. Πλέον, ευρέως διαδεδομένες θεωρούνται οι μέθοδοι μοριακής ταυτοποίησης PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης, πχ PCR-RFLP, PCR-DGGE) που θεωρούνται κατάλληλες για το διαχωρισμό πολύπλοκων μικροβιακών μειγμάτων (Renouf *et al.*, 2005, Nisiotou & Nychas, 2007) και η μέθοδος ταυτοποίησης μέσω ανάλυσης της ITS (Internal Transcribed Spacer) αλληλουχίας του ριβοσωμικού DNA (Sidari *et al.*, 2021). Για την ταυτοποίηση σε επίπεδο στελέχους, χρησιμοποιούνται αρκετές μοριακές μέθοδοι (αλληλούχιση γονιδιώματος, ανάλυση μικροσυστοιχιών, δ-αλληλουχίες του gDNA, PFGE, CGH, RAPD-PCR, mtDNA-RFLP, MLST) (Tofalo *et al.*, 2013).

1.8.1 Εμπορικά Στελέχη

Μερικές εκατοντάδες διαφορετικά στελέχη *S. cerevisiae* είναι διαθέσιμα στο εμπόριο, το καθένα με πολύ διαφορετικές ιδιότητες ζύμωσης (Sablayrolles, 2009). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η επιλογή και η ανάπτυξη τους έχει ως βασικά χαρακτηριστικά τη σταθερού ρυθμού ζύμωση, την υψηλή ζυμωτική ικανότητα και αναπαραγωγική ικανότητα, την ανθεκτικότητα στην αιθανόλη και στη μέχρι κάποιο όριο ύπαρξη θειώδους, και την παραγωγή γλυκερόλης και β-γλυκοσιδασών σε ικανές ποσότητες ώστε να επιτευχθεί ικανοποιητικός αρωματικός χαρακτήρας (Aranda *et al.*, 2011). Στην τεχνολογική ανάπτυξη των εμπορικών στελεχών *S. Cerevisiae* έχει συνδράμει και η ικανότητα διαφορετικών ειδών του γένους *Saccharomyces* να σχηματίζουν υβρίδια (de Barros Lopes *et. al.*, 2002). Στη σημερινή εποχή, σε όλες τις εγκαταστάσεις παραγωγής οίνου μεγάλης κλίμακας χρησιμοποιούνται καλλιέργειες εκκίνησης με *S. cerevisiae* (Rodicio & Heinisch, 2009).

Τα εμπορικά στελέχη χρησιμοποιούνται από τις οινοποιητικές μονάδες σε συγκεντρώσεις της τάξης των 10^7 κύτταρα/ml, με αποτέλεσμα να υπερισχύουν της τοπικής ζυμοχλωρίδας, δίνοντας από τη μια ένα σταθερό αποτέλεσμα (Zironi *et. al.*, 1993, Clemente-Jimenez *et. al.*, 2005), με πολύ παρόμοιο όμως αρωματικό χαρακτήρα και απώλεια διακριτών χαρακτηριστικών, που δεν αναδεικνύει τον ιδιαίτερο τοπικό χαρακτήρα ενός οίνου (Herjavec *et. al.*, 2003). Αυτό είναι και το αρνητικό των κατευθυνόμενων ζυμώσεων με εμπορικά στελέχη ζυμών, ότι παρά το γεγονός ότι ο πληθυσμός τους είναι πλούσιος και ικανός για τη διεξαγωγή της ζύμωσης, οδηγούν στην παραγωγή κρασιών που δεν αποτυπώνουν πλήρως το χαρακτήρα των ποικιλιών και του τόπου προέλευσης τους, αφού δεν ενισχύουν τα αρωματικά προφίλ που χαρακτηρίζουν πολλές ζύμες που απομονώθηκαν από συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές (δεδομένου ότι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου οφείλονται κατά μεγάλο ποσοστό στις ζύμες). Ως εκ τούτου, πολλοί ερευνητές έχουν προτείνει τη χρήση γηγενών στελεχών ως καλλιιεργειών εκκίνησης με σκοπό την παραγωγή οίνων που θα έχουν ένα ξεχωριστό χαρακτήρα, αντανακλώντας τη βιοποικιλότητα της περιοχής από την οποία προέρχονται (Zironi *et. al.*, 1993, Clemente-Jimenez *et. al.*, 2005, Διαμαντέα, 2014). Η ανάγκη πραγματοποίησης μελετών προς επιλογή γηγενών στελεχών από το φυσικό τους περιβάλλον τα οποία θα αναδεικνύουν τον ιδιαίτερο χαρακτήρα ενός οίνου, προσδίδοντας σε αυτόν ένα διαφοροποιημένο οργανοληπτικό χαρακτήρα με ταυτόχρονα βελτιωμένη ποιότητα, έχει επισημανθεί (Fleet, 2008) και αποτελεί ως τις μέρες μας ένα πολλά υποσχόμενο, αναπτυσσόμενο πεδίο στον τομέα της οινοποίησης (Molinet & Cubillos, 2020, Kontogiannatos *et. al.*, 2021).

1.8.2 Αυτόχθονα Στελέχη

Η χρήση αυτόχθονων στελεχών *S. cerevisiae* στη διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης, αποτελεί αντικείμενο μελέτης ως λύση απέναντι στο φαινόμενο της ομοιομορφίας των παραγόμενων με εμπορικά στελέχη οίνων. Οι γηγενείς ζύμες εμφανίζονται φυσικά σε μια συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή με μεγάλη διαφοροποίηση, ακόμα και σε επίπεδο αμπελώνα (Vontrobouá *et. al.*, 2019). Θεωρούνται περισσότερο ανταγωνιστικές, έχοντας καλύτερη προσαρμοστικότητα στο τοπικό περιβάλλον, στις συνθήκες του οινοποιείου και των τοπικών ποικιλιών, έχοντας ως εκ τούτου μεγαλύτερη δυνατότητα έκφρασης της τυπικότητας ενός τοπικού οίνου (Feng *et. al.*, 2020). Γηγενή στελέχη τα οποία πληρούν τα κριτήρια επιλογής μια ζύμης, όπως αυτά αναφέρθηκαν στην προηγούμενη ενότητα, χρησιμοποιούνται εδώ και δεκαετίες στην οινοποιητική διαδικασία, σε μια προσπάθεια να παραχθούν οίνοι που διατηρούν μοναδικά και ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά συνδεδεμένα με συγκεκριμένες αμπελουργικές περιοχές (Lafon-Lafourcade, 1983, Snow, 1983). Η επίδραση τους στην ποικιλομορφία και την έκφραση του τοπικού χαρακτήρα ενός οίνου, έχει επιβεβαιωθεί μέσα από την ανάδειξη μοναδικών στελεχών, συνδεδεμένων με συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές και ποικιλίες σταφυλιών (Schuller *et. al.*, 2005), ενισχύοντας την έκφραση της μοναδικότητας του terroir του παραγόμενου οίνου (Mendez-Vilas *et. al.*, 2010, Bokulich *et. al.*, 2014). Διαφορετικά γηγενή στελέχη *S. cerevisiae* κυριαρχούν σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές (Van der Westhuizen *et. al.*, 2000), επομένως ο προσδιορισμός αυτών είναι απαραίτητος για την επιλογή των πιο κατάλληλων για χρήση σε καλλιέργειες εκκίνησης (Fernández-Espinar *et. al.*, 2011).

Ως μέρος του λεγόμενου μικροβιακού terroir, δηλαδή της βιοποικιλότητας των μικροοργανισμών μιας περιοχής, οι γηγενείς ζύμες επιδρούν σημαντικά στον οργανοληπτικό χαρακτήρα του οίνου, με τα αποτελέσματα ερευνών να δείχνουν ότι η χρήση τους παρέχει σημαντική διαφοροποίηση, προσδίδοντας στον παραγόμενο οίνο ένα ιδιαίτερο, τοπικό χαρακτήρα (Bokulich *et. al.*, 2016, Nisiotou *et. al.*, 2018), με εφάμιλλα τεχνολογικά χαρακτηριστικά με αυτά των οίνων που παρήχθησαν με εμπορικά στελέχη ζυμών (Kontogiannatos *et. al.*, 2021). Η διαφοροποίηση αυτή αποδίδεται στις διάφορες αλληλεπιδράσεις των οργανισμών μεταξύ τους αλλά και με το περιβάλλον, μέσω των οποίων πραγματοποιείται αναδιάταξη στο γονιδίωμα αυτών, οδηγώντας σε γενετικές διαφοροποιήσεις και στην εξέλιξη του φαινοτύπου τους (Camarasa *et. al.*, 2011, Warringer *et. al.*, 2011). Αυτό επιβεβαιώνεται και στην περίπτωση του *S. cerevisiae*, όπου απομονώνοντας και μελετώντας γηγενή στελέχη, ποικίλες έρευνες από διαφορετικά μήκη και πλάτη καταδεικνύουν τη δυναμική αυτών στην παραγωγή ποιοτικών οίνων που διαφοροποιούνται από το ομοιογενές αποτέλεσμα των εμπορικών στελεχών και εκφράζουν

ένα ιδιαίτερο τοπικό χαρακτήρα (Orlić *et. al.*, 2010, Capece *et. al.*, 2014, Feng *et. al.*, 2019, Feng *et. al.*, 2020, Kontogiannatos *et. al.*, 2021). Στην περίπτωση δε της παρασκευής αφρωδών οίνων με ζύμωση μέσα στη φιάλη, το γεγονός ότι η διαδικασία κυριαρχείται από τη χρήση συγκεκριμένων εμπορικών στελεχών *S. cerevisiae*, με συνέπεια τη γενικευμένη ομοιομορφία του αρωματικού χαρακτήρα των συγκεκριμένων οίνων, η επιλογή γηγενών στελεχών κατάλληλων για το στάδιο της επαναζύμωσης μπορεί να αποτελέσει μια ακόμα πιο στρατηγική πρακτική βελτίωσης - διαφοροποίησης των παραγόμενων οίνων (Vigentini *et. al.*, 2017).

Η ανάδειξη των γηγενών στελεχών ως πρωταγωνιστές στην οινοποιητική διαδικασία συντελείται μέσω είτε της αυθόρμητης ζύμωσης, όπου εκεί ένας άγνωστος αριθμός άγριων ζυμών και βακτηρίων από διαφορετικά είδη ζυμώνουν ταυτόχρονα, είτε με ενεργοποίηση με ξηρή ζύμη επιλεγμένων αυτόχθονων στελεχών. Στην πρώτη περίπτωση ο έλεγχος της πορείας της ζύμωσης είναι δύσκολος, με τον κίνδυνο μέσα από τον ανταγωνισμό των διαφόρων ειδών και τα προβλήματα στο ρυθμό της ζύμωσης, να παραχθούν ανεπιθύμητα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και μεγάλες αποκλίσεις στα αποτελέσματα διαφορετικών ζυμώσεων (Vontrobóna *et. al.*, 2019). Ως εκ τούτου, η μέθοδος της ενεργοποίησης με κάποιο επιλεγμένο στέλεχος *S. cerevisiae* διασφαλίζει την ομαλή πορεία της ζύμωσης πιο αποτελεσματικά από την αυθόρμητη ζύμωση (Börlin *et. al.*, 2020), επιδεικνύοντας ταυτόχρονα καλύτερα οινολογικά χαρακτηριστικά (Aronte & Blaiotta, 2016).

1.8.3 Επίδραση αυτόχθονων στελεχών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου

Η ποιότητα ενός οίνου, ειδικά τα αρωματικά του χαρακτηριστικά, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη συγκέντρωση και την περιεκτικότητα σε πτητικές ενώσεις που συνθέτουν οι ζύμες κατά την αλκοολική ζύμωση (Cabrera *et. al.*, 1988, Lurton *et. al.*, 1995). Οι πιο σημαντικές αρωματικές ενώσεις που σχηματίζονται κατά την αλκοολική ζύμωση είναι οι ανώτερες αλκοόλες, οι πτητικοί εστέρες και τα λιπαρά οξέα. Η συγκέντρωσή τους εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, με το στέλεχος της ζύμης να είναι ένας από τους πιο καθοριστικούς (Soufleros *et. al.*, 1979, Guidici *et. al.*, 1990). Η επιλογή μιας κατάλληλης ζύμης επομένως, αποτελεί μια κρίσιμη παράμετρο που επηρεάζει τις πτητικές αρωματικές ενώσεις του οίνου, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά (Furdíková *et. al.*, 2017).

Η Διαμαντέα (2014) μελετώντας 89 διαφορετικά άγρια στελέχη *S. cerevisiae* απομονωμένων από τον αμπελώνα της Νεμέας, ως προς το οινολογικό τους δυναμικό, διαπίστωσε ότι κάποια από αυτά διαθέτουν πολύ θετικά οινολογικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά, μεταξύ των οποίων η ανθεκτικότητα σε υψηλή συγκέντρωση αιθανόλης και θειώδους, με ταυτόχρονα

χαμηλή παραγωγή βιογενών αμινών και υδρόθειου. Κατέληξε ότι υπάρχουν γηγενή στελέχη *S. cerevisiae* τα οποία θα μπορούσαν να αποτελέσουν εναρκτήριες καλλιέργειες για τη δημιουργία ποιοτικών οίνων που θα εκφράζουν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του τόπου τους.

Οι Kontogiannatos *et. al.* (2021) απομονώνοντας 201 και 229 στελέχη ζυμομυκήτων *S. cerevisiae* μέσα από αυθόρμητες ζυμώσεις των τοπικών ποικιλιών Αγιωργίτικο (περιοχή ΠΟΠ Νεμέα) και Μοσχοφίλερο (περιοχή ΠΟΠ Μαντινεία) αντίστοιχα, ξεχώρισαν με βάση τα βέλτιστα οργανοληπτικά και οινολογικά χαρακτηριστικά τους και μελέτησαν περαιτέρω ένα στέλεχος από την κάθε ποικιλία, σε οινοποίηση βιομηχανικής κλίμακας και σε σύγκριση με εμπορικά στελέχη. Διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά υπέρ των οίνων από τα γηγενή στελέχη, στην παραγωγή διάφορων πτητικών αρωματικών ενώσεων, παρατηρώντας μάλιστα τη δυναμική οινοποίησης του στελέχους της περιοχής της Νεμέας, στην οινοποίηση της άλλης ποικιλίας ή και γενικά λευκών οίνων. Σε μια παρόμοια μελέτη των Carpece *et. al.* (2014), μέσα από την αρχική επιλογή 167 γηγενών στελεχών *S. cerevisiae* απομονωμένων από αυθόρμητη ζύμωση σταφυλιών της ποικιλίας Aglianico, από την περιοχή της Basilicata της νότιας Ιταλίας, 20 από αυτά μελετήθηκαν για τη ζυμωτική τους ικανότητα σε εργαστηριακό επίπεδο και τελικά το στέλεχος M3-59 που ξεχώρισε, συγκρίθηκε με ένα εμπορικό στέλεχος σε οινοποίηση μεγάλης κλίμακας, δίνοντας συγκρίσιμα με αυτό οινολογικά χαρακτηριστικά και πιο ισορροπημένο αρωματικό χαρακτήρα. Στο ίδιο πλαίσιο κυμάνθηκαν και οι παρατηρήσεις των Agarbati *et. al.* (2018), όπου κατά τη σύγκριση 2 γηγενών στελεχών *S. cerevisiae* απομονωμένων από την περιοχή Piceno DOC της Ιταλίας, με 3 εμπορικά στελέχη, τα γηγενή στελέχη είχαν θετική επίδραση στην αρωματική πολυπλοκότητα του παραγόμενου οίνου.

Οι Carpece *et. al.* (2019) επίσης, συγκρίνοντας 3 επιλεγμένα γηγενή στελέχη *S. cerevisiae* απομονωμένα από τρεις αμπελώνες της νότιας Basilicata στην Ιταλία, επιβεβαίωσαν τη μεγάλη επίδραση του κάθε στελέχους στην αρωματική σύνθεση και ποιότητα, καθώς και την ύπαρξη υψηλού βαθμού αλληλεπίδρασης μεταξύ του γλεύκους και του στελέχους που πραγματοποιεί τη ζύμωση και το οποίο απελευθερώνει πτητικές ενώσεις από πρόδρομες ενώσεις του σταφυλιού, συνθέτοντας παράλληλα και νέες. Μια σημαντική παρατήρηση ήταν ότι και τα 3 απομονωμένα στελέχη επέδειξαν μεγαλύτερο βαθμό επικράτησης στη ζύμωση από το μάρτυρα (εμπορικό στέλεχος), όντας καλύτερα εγκλιματισμένα και ανταγωνιστικά απέναντι στη μικροχλωρίδα ενός τοπικού γλεύκους, μια διαπίστωση που ενισχύεται από τα ευρήματα παρόμοιων ερευνών (Schvarczova *et. al.*, 2017, Aponte *et. al.*, 2020). Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι η επιλογή γηγενών εκκινητών ζύμωσης *S. cerevisiae* είναι μια αποτελεσματική στρατηγική από μέρους των οινοποιών ώστε να διαφοροποιήσουν τα προϊόντα τους σε μια ιδιαίτερα ανταγωνιστική αγορά (Carpece *et. al.*, 2019). Στη ίδια σύσταση κατέληξαν και οι Guerrini *et. al.* (2021), ως προς τη δυνατότητα μέσω της επιλογής γηγενών στελεχών *S. cerevisiae*, η τοπική οινοπαραγωγή να καταστεί πιο ανταγωνιστική,

αναδεικνύοντας τυπικότητα στο προφίλ των οίνων, με ταυτόχρονη διατήρηση της μικροβιακής βιοποικιλότητας μιας περιοχής.

Οι Cordero-Bueso *et. al.* (2016) σε μια προσπάθεια βελτίωσης του αρωματικού χαρακτήρα λευκών οίνων προερχόμενων από την ισπανική ποικιλία Malvar, η οποία με τα μέχρι τώρα δεδομένα δεν επιδεικνύει κάποιο ιδιαίτερο αρωματικό χαρακτήρα, μελέτησαν την οινολογική δυνατότητα δυο επιλεγμένων τοπικών στελεχών *S. cerevisiae* (κωδικοποιημένων ως CLI889 και CLI892), συγκρίνοντας τα μεταξύ τους αλλά και με τρεις ανεξάρτητες αυθόρμητες ζυμώσεις. Το στέλεχος CLI889 επέδειξε υψηλές συγκεντρώσεις εστέρων που προσδίδουν φρουτώδη αρώματα όπως ο οξικός ισοαμυλεστέρας και το οξικό εξύλιο και ταυτόχρονα υψηλή οξύτητα, προσδίδοντας όλα μαζί ένα φρέσκο, φρουτώδη χαρακτήρα στον οίνο. Κατέληξαν ότι η επιλογή γηγενών στελεχών αποτελεί μια σημαντική πρακτική στην ανάδειξη του αρωματικού χαρακτήρα οίνων της συγκεκριμένης ποικιλίας (Cordero-Bueso *et. al.*, 2016).

Η δυναμική των γηγενών στελεχών στην παραγωγή οίνων με ξεχωριστό οργανοληπτικό χαρακτήρα, αναδείχθηκε και από τη μελέτη των Alvarez-Pérez *et. al.* (2014), όπου από μια αρχική συλλογή 118 γηγενών στελεχών *S. cerevisiae* της ισπανικής περιοχής Tierra de Leon, 9 από αυτά επιλέχθηκαν για τα οινολογικά χαρακτηριστικά τους ως εκκινητές ζύμωσης της ποικιλίας Priedo Picudo, επιδεικνύοντας μεταξύ τους πολύ διαφορετικά οργανοληπτικά προφίλ. Το στέλεχος C9-I που ξεχώρισε, χρησιμοποιήθηκε σε μεγάλης κλίμακας οινοποίηση, δίνοντας ένα ροζέ οίνο αρωματικά πολύ διαφορετικό από 8 άλλους εμπορικά παραγόμενους οίνους της ίδιας ποικιλίας και περιοχής. Κατέληξαν ότι αυτή η μέθοδος αποτελεί μια άριστη στρατηγική διαφοροποίησης από μέρους των οινοποιείων σε μια τόσο ανταγωνιστική αγορά (Alvarez-Pérez *et. al.*, 2014). Σε μια πρόσφατη μελέτη των Blanco *et. al.* (2021), το απομονωμένο από την περιοχή της Γαλικίας στην Ισπανία γηγενές στέλεχος *S. cerevisiae* XG3, το οποίο σε προηγούμενες δοκιμές μικρής κλίμακας είχε επιδείξει καλή ζυμωτική ικανότητα, με θετική επίδραση στην ποιότητα του οίνου (Blanco *et. al.*, 2013), συγκρίθηκε πλέον σε οινοποιήσεις μεγάλης κλίμακας της ποικιλίας Treixadura, με δυο εμπορικά στελέχη καθώς και με αυθόρμητες ζυμώσεις. Το στέλεχος επέδειξε καλή προσαρμογή στις συνθήκες του γλεύκους, αλλά και στις περιβαλλοντικές συνθήκες των οινοποιείων της περιοχής Ονομασίας Προέλευσης Ribeiro, ολοκληρώνοντας με επιτυχία τη ζύμωση. Οι οίνοι που προέκυψαν από το XG3, είχαν υψηλότερη ολική οξύτητα και χαμηλότερο αλκοολικό βαθμό από τους υπόλοιπους, κάτι που μπορεί να βοηθήσει στην παραγωγή πιο ισορροπημένων οίνων από υπερώριμα σταφύλια. Επιπλέον, ένα πολύ σημαντικό εύρημα της μελέτης ήταν ότι ο παράγοντας ζύμη έχει μικρότερη επίδραση στα χαρακτηριστικά του οίνου από την εσοδεία και την τοποθεσία του οινοποιείου, οπότε και δεν μεταβάλλει τα χαρακτηριστικά που προσδίδουν οι δυο αυτές παράμετροι στον οίνο (Blanco *et. al.*, 2021).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Στελέχη

Στα πλαίσια της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν 4 στελέχη ζυμομυκήτων (*S. cerevisiae*) από την ιδιωτική συλλογή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Εργαστήριο Μικροβιολογίας Τροφίμων και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου). Τα τρία από αυτά (SC09, SC13, SC24) έχουν απομονωθεί από γλεύκος και οίνο Σαντορίνης, ενώ το τέταρτο (Y54) έχει απομονωθεί από οίνο με περιοχή προέλευσης τη Νεμέα. Τα στελέχη διατηρούνταν αποθηκευμένα σε συνθήκες κατάψυξης στους -80°C με κρυοπροστατευτικό διάλυμα γλυκερόλης 30% (v/v). Η ενεργοποίησή τους έγινε με την προσθήκη 200μL σε 10mL μίγματος-μέσου δεξτρόζης, ζύμης, πεπτόνης (20g/L γλυκόζη, 10g/L εκχύλισμα ζύμης και 10g/L πεπτόνης) στους 28°C για 24 ώρες, ενώ η καθαρότητα κάθε στελέχους επαληθεύτηκε μέσω οπτικού μικροσκοπίου. Οι προκαλλιέργειες πραγματοποιήθηκαν σε φιάλες των 250mL γεμάτες με 50mL μέσου (20g/L γλυκόζη, 10g/L εκχύλισμα ζύμης, 10g/L πεπτόνη, $\text{pH}\approx 3,5$) το οποίο είχε προηγουμένως αποστειρωθεί σε αυτόκαυστο ($T=115^{\circ}\text{C}$ και 1,5atm) για 15 λεπτά.

2.2 Πειραματική διαδικασία - Οινοποίηση

Οινοποίηση βιομηχανικής κλίμακας έλαβε χώρα υπό αναερόβιες συνθήκες με εμβολιασμό των τεσσάρων στελεχών σε αζύμωτο γλεύκος Ασύρτικου (ημερομηνία εμβολιασμού 19-08-2021), σε τέσσερις ανοξείδωτες μεταλλικές δεξαμενές (2 χωρητικότητας 500L και 2 χωρητικότητας 800L) στις εγκαταστάσεις του οινοποιείου της Santo Wines στη Σαντορίνη. Η εξαγωγή του γλεύκους έγινε με το πάτημα των σταφυλιών σε πνευματικά πιεστήρια στους 8°C . Το γλεύκος διαύγασε φυσικά, σε θερμοκρασία 4°C για ένα διάστημα 12 ωρών, χωρίς την προσθήκη ενζύμων. Μετά τη διαύγαση, προστέθηκε μικρή ποσότητα διοξειδίου του θείου (SO_2) με τη μορφή μεταδιθειώδους καλίου (Winy, Enartis) σε τελική περιεκτικότητα ολικού θειώδους περίπου 60mg/L και πραγματοποιήθηκε μικροφιλτράρισμα (με φίλτρο 0.45μm) ώστε να απομακρυνθούν κύτταρα γηγενών ζυμών. Τα αρχικά χαρακτηριστικά του γλεύκους ήταν 12.85Be ή 231.3g/L σε υπολειμματικά σάκχαρα, δυναμικό αλκοολικό τίτλο 13.5, ολική οξύτητα 5.23g/L (εκπεφρασμένη ως τρυγικό οξύ) και $\text{pH}=3.26$. Με την έναρξη της ζύμωσης έγινε εμπλουτισμός του γλεύκους και στις 4 δεξαμενές με Εκχύλισμα Ζυμών (Creaferm, Ever) και DAP (φωσφορικό διαμμώνιο) (DAP Activ, Vason), ώστε να

επιτευχθούν συγκεντρώσεις των 150 και 250mg N/L αντίστοιχα, με σκοπό την ομαλή εξέλιξη της ζύμωσης, σύμφωνα με το πιο διαδεδομένο πρωτόκολλο βιομηχανικής οινοποίησης (Dukes & Butzke, 1998). Τα τέσσερα στελέχη αφού αφέθηκαν να ξεπαγώσουν σε θερμοκρασία δωματίου και έγινε η προετοιμασία και η εκκίνηση τους με σταδιακή μεταφορά σε περιέκτες έως και 40L, εμβολιάστηκαν στις αντίστοιχες δεξαμενές σε συγκέντρωση 106 cfu/mL στους 18°C. Ο ρυθμός της ζύμωσης παρακολουθούνταν σε καθημερινή βάση με μέτρηση της πυκνότητας του γλεύκους (Petropoulos et al. 2017). Οι ζυμώσεις εξελίχθηκαν μέχρι πλήρους κατανάλωσης των σακχάρων ή τερματισμό της δραστηριότητας των ζυμών. Μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης προστέθηκε μεταδιθειώδους καλίου (Winy, Enartis) σε τελική περιεκτικότητα ελεύθερου SO₂ 35mg/L.

2.3 Αναλύσεις οίνων

Κλασικές παράμετροι των οίνων (περιεκτικότητα % αλκοόλ, pH, ολική οξύτητα, πτητική οξύτητα, υπολειμματικά σάκχαρα) προσδιορίστηκαν με βάση τις μεθόδους του Διεθνούς Οργανισμού Οίνου και Αμπέλου (IOV, 2020). Ο προσδιορισμός των σακχάρων (γλυκόζη και φρουκτόζη) και των δευτερογενών μεταβολιτών έγινε με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC, High Pressure Liquid Chromatography) η οποία είναι μια διαδεδομένη μέθοδος διαχωρισμού και προσδιορισμού ενώσεων του οίνου, μεταξύ άλλων (Guasch & Busto, 2000).

2.4 Προσδιορισμός σακχάρων και δευτερογενών μεταβολιτών με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC)

Ο προσδιορισμός των σακχάρων (γλυκόζη και φρουκτόζη) καθώς και ορισμένων δευτερογενών μεταβολιτών όπως η γλυκερόλη, το οξικό οξύ και η αιθανόλη, έγινε με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC, High Pressure Liquid Chromatography). Σε ένα τέτοιο σύστημα, αποτελούμενο από έναν εισαγωγέα του δείγματος, μια αντλία υψηλής πίεσης, μια χρωματογραφική στήλη, έναν ανιχνευτή, καθώς και ένα σύστημα καταγραφής των αποτελεσμάτων, ο διαχωρισμός των συστατικών συντελείται με το συνδιασμό μιας κινητής και μιας στατικής φάσης. Αρχικά το δείγμα θα εισαχθεί στη χρωματογραφική στήλη (στατική φάση). Τα συστατικά του δείγματος προωθούνται στη στήλη με μια αντλία και μετακινούμενα με διαφορετικές ταχύτητες, διαχωρίζονται (κινητή φάση). Καθώς αυτά εκλύονται από το άλλο άκρο της στήλης, εισέρχονται στον ανιχνευτή, με τα σήματα να καταγράφονται σε συνάρτηση με το χρόνο, δίνοντας ένα χρωματογράφημα

αποτελούμενο από μια σειρά κορυφές, οι οποίες αντιστοιχούν στα προς ταυτοποίηση συστατικά.

Στη συγκεκριμένη διαδικασία, χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα παροχής πολλαπλών διαλυτών Waters 600E το οποίο ήταν εξοπλισμένο με ένα ανιχνευτή δείκτη διάθλασης Waters 410 (Midland, ON, Canada). Αρχικά τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και στο υπερκείμενο υγρό πραγματοποιήθηκε αραίωμα με υδατικό διάλυμα θεικού οξέος (H_2SO_4) 10mM το οποίο ήταν αραιωμένο σε δισ-απεσταγμένο και φιλτραρισμένο νερό, ενώ ακολούθησε φιλτράρισμα με φίλτρο πόρων διαμέτρου 0,22 μ m. Η στατική φάση αποτελούνταν από τη στήλη τύπου Rezex ROA-Organic Acid H+ (8%) (300mm x 7.8mm) της εταιρείας Phenomenex με την οποία έγινε ο διαχωρισμός του δείγματος. Η κινητή φάση ήταν ένα υδατικό διάλυμα H_2SO_4 10mM αραιωμένο σε δισ-απεσταγμένο και φιλτραρισμένο νερό. Η ροή κατά την ανάλυση των δειγμάτων είχε καθοριστεί στο 0,5 mL/min, η θερμοκρασία της στήλης στους 40 °C, ο όγκος έκχυσης του δείγματος ήταν 20 μ L και η διάρκεια της ανάλυσης στα 30 λεπτά. Στα γραφήματα που προκύπταν η ολοκλήρωση των κορυφών έγινε με τη χρήση του λογισμικού πακέτου Empower2 (Waters Laboratory Informatics). Η ταυτοποίηση των διάφορων δειγμάτων βασίστηκε στο χρόνο κατακράτησης ή ανάσχεσης (Rf), που συγκρίθηκε με γνωστά πρότυπα αυτών.

2.5 Οργανοληπτικός έλεγχος οίνων

Σκοπός του οργανοληπτικού ελέγχου ενός οίνου είναι η αξιολόγηση και ο προσδιορισμός των χαρακτηριστικών του, με απώτερο σκοπό την εξαγωγή συμπερασμάτων αναφορικά με την ποιότητά του. Στον οργανοληπτικό έλεγχο συμμετέχουν οι αισθήσεις της όρασης, της όσφρησης και της γεύσης. Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν δυο οργανοληπτικοί έλεγχοι με σκοπό την αξιολόγηση και σύγκριση των παραγόμενων οίνων ως εξής:

i/ πειραματικός οργανοληπτικός έλεγχος έλαβε χώρα στην Αθήνα, σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο του Εργαστηρίου Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΓΠΑ), ο οποίος είναι εξοπλισμένος με λευκούς πάγκους. Για τον έλεγχο χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα ποτήρια γευσιγνωσίας τύπου ISO σε σχήμα τουλίπας. Το κάθε ποτήρι πληρώθηκε με 30ml οίνου και έφερε καπάκι για τη μείωση της απώλειας αρωμάτων. Όλα τα δείγματα πτύονταν σε πτυελοδοχείο, ενώ υπήρχε και ποτήρι με νερό για καθαρισμό του στόματος μεταξύ των δειγμάτων. Τα δείγματα εξετάστηκαν δυο φορές, χωρίς να είναι γνωστή η προέλευση του δείγματος στους ερωτώμενους και η κωδικοποίηση έγινε με τυχαίους τριψήφιους, μη επαναλαμβανόμενους αριθμούς, οι οποίοι αντιστοιχούσαν στα προς εξέταση δείγματα ως

εξής: 738 = Y54, 125 = SC13, 471 = SC09, 952 = SC24, 631 = Y54, 293 = SC13, 856 = SC09, 369 = SC24

Συμπληρώθηκαν ερωτηματολόγια από 10 αξιολογητές (άντρες και γυναίκες), της ομάδας του Εργαστηρίου Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, με ηλικίες μεταξύ 23-55. Τα κριτήρια τα οποία κλήθηκαν να αξιολογήσουν ήταν κατηγοριοποιημένα σε τρεις κατηγορίες: χρώμα, μύτη (λευκά άνθη, τροπικά, εσπεριδοειδή, πυρηνόκαρπα, οξείδωση, overall αρώματος) και στόμα (οξύτητα, λιπαρότητα-σώμα, overall). Παρακάτω παρουσιάζεται η φόρμα όπως χρησιμοποιήθηκε κατά την πραγματοποίηση του οργανοληπτικού ελέγχου:

Παρακαλώ όπως βαθμολογήσετε τα δείγματα από 1-5 (1 λιγότερο, 5 περισσότερο)	738	125	471	952	631	293	856	369
Χρώμα (1 απαλό, 5 καφέ)								
Μύτη								
Λευκά Άνθη								
Τροπικά								
Εσπεριδοειδή								
Πυρηνόκαρπα								
Οξείδωση								
Overall Αρώματος								
Στόμα								
Οξύτητα								
Λιπαρότητα - Σώμα								
Overall								

Εικόνα 7. Ερωτηματολόγιο γευσιγνωσίας ΓΠΑ

ii/ εμπορικός οργανοληπτικός έλεγχος έλαβε χώρα στη Σαντορίνη, στα πλαίσια εκπαιδευτικής εκδρομής του Μεταπτυχιακού Τμήματος του Εργαστηρίου Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, στην αίθουσα γευσιγνωσιών του οινοποιείου Santo Wines με λευκές επιφάνειες και ποτήρια λευκού κρασιού Spiegelau. Το κάθε ποτήρι πλήρώθηκε με 50ml οίνου από κάθε δείγμα και έφερε καπάκι για τη μείωση της απώλειας αρωμάτων. Όλα τα δείγματα πτύονταν σε πτυελοδοχείο, ενώ υπήρχε και ποτήρι με νερό για καθαρισμό του στόματος μεταξύ των δειγμάτων. Συμπληρώθηκαν ερωτηματολόγια βασισμένα στο πιο πρόσφατο πρωτόκολλο γευσιγνωσίας που επεξεργάζεται ο IOV, από 27

αξιολογητές (άντρες και γυναίκες), αποτελούμενο από φοιτητές και εκπαιδευτικό προσωπικό με ηλικίες μεταξύ 23-60. Τα κριτήρια τα οποία κλήθηκαν να αξιολογήσουν ήταν κατηγοριοποιημένα σε τέσσερις κατηγορίες: όψη (καθαρότητα, χρώμα και διαφοροποιήσεις), οσμή (καθαρότητα, ένταση, πολυπλοκότητα), γεύση (καθαρότητα, ένταση γεύσεων, δομή και πολυπλοκότητα, επίγευση) και συνολική εντύπωση (ισορροπία, γενική εκτίμηση). Παρακάτω παρουσιάζεται η φόρμα όπως χρησιμοποιήθηκε κατά την πραγματοποίηση του οργανοληπτικού ελέγχου:

		EXCELLENT					POOR					
VISUAL ASPECT	Limpidity	5					3					1
	Colour & nuances	5	4	3	2	1						
SMELL	Purity	10	9	8	7	6						
	Olfactory intensity	10	9	8	7	6						
	Olfactory Complexity	10	9	8	7	6						
TASTE	Purity	10	9	8	7	6						
	Intensity of flavours	10	9	8	7	6						
	Structure & Complexity	10	9	8	7	6						
	Persistence	10	9	8	7	6						
OVERALL IMPRESSION	Balance & harmony	10	9	8	7	6						
	General appreciation	10	9	8	7	6						
TOTAL :												
DEFECT :												

Εικόνα 8. Ερωτηματολόγιο γευστιγνωσίας IOV

2.6 Στατιστική ανάλυση

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πρόγραμμα Statistica V.7 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, ΗΠΑ) για να προσδιοριστεί εάν οι μέσες τιμές των παραμέτρων διέφεραν μεταξύ των δειγμάτων. Το τεστ Tukey's HSD (ειλικρινώς σημαντική διαφορά) χρησιμοποιήθηκε ως συγκριτικό τεστ μετά την ANOVA, όταν τα δείγματα διέφεραν σημαντικά ($p < 0,05$).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

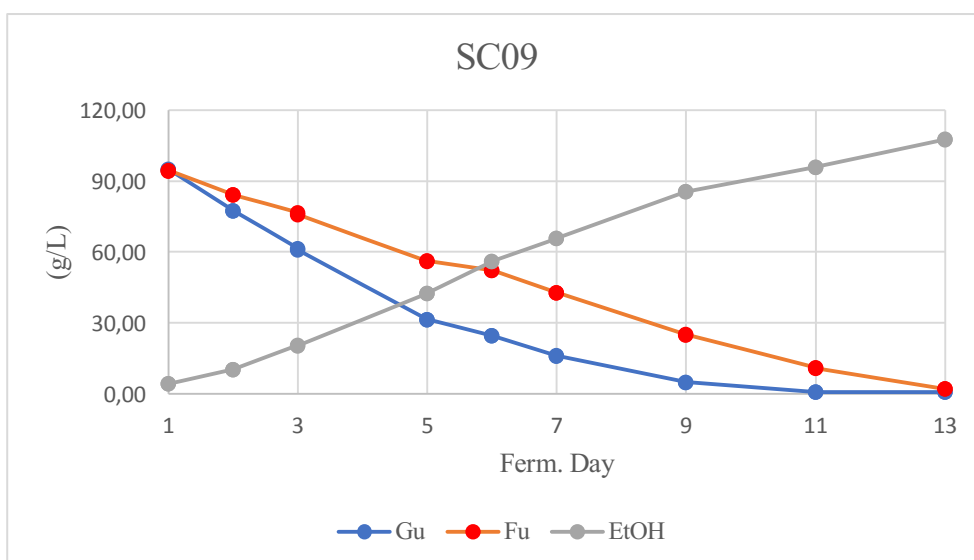
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στο κεφάλαιο αυτό παρατίθενται τα αποτελέσματα των μετρήσεων που διεξήχθησαν κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, η οποία αποτελούνταν από 4 ταυτόχρονες οινοποιήσεις με τα προς εξέταση στελέχη *S. cerevisiae*. Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της κατανάλωσης σακχάρων και της παραγωγής μεταβολικών προϊόντων, όπως επίσης και τα αποτελέσματα των δυο οργανοληπτικών ελέγχων.

Στα ραβδογράμματα, οι μπάρες δείχνουν την τυπική απόκλιση \pm των μέσων τιμών. Διαφορετικά γράμματα στην κορυφή των ράβδων υποδηλώνουν ότι τα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0,05$).

3.1 Κινητικές ζυμώσεις

1. Κινητική ζύμωσης με το στέλεχος *S. cerevisiae* SC09

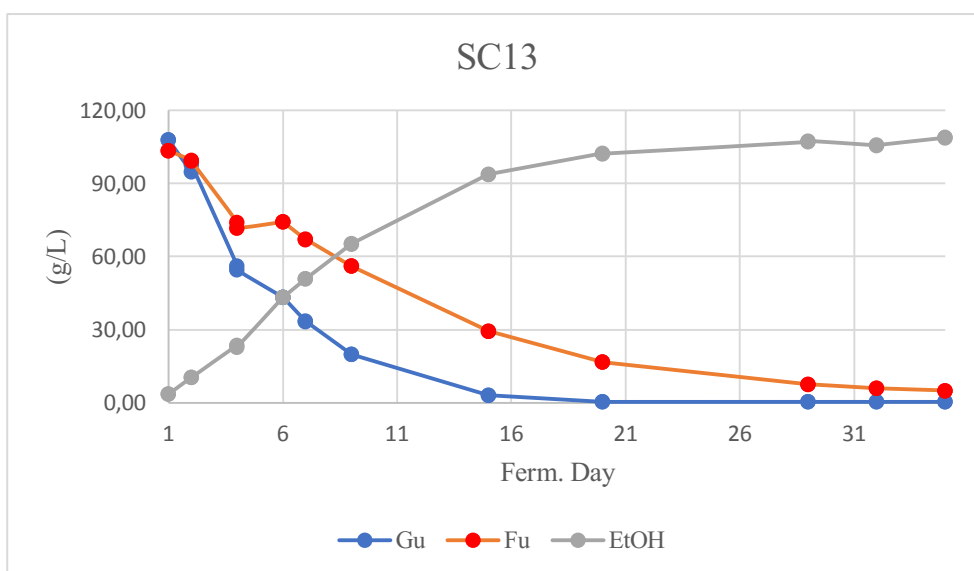


Σχήμα 1. Κατανάλωση σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) και παραγωγή αιθανόλης σε γλεύκος Ασύρτικου από τον μικροοργανισμό *S. cerevisiae* SC09

Το στέλεχος *S. cerevisiae* SC09 ήταν αυτό που ξεχώρισε από άποψη ταχύτητας ζύμωσης, ολοκληρώνοντας τη ζύμωση του γλεύκου σε 13 ημέρες. Τόσο στη συγκεκριμένη ζύμωση (σχήμα 1), όσο και σε εκείνες των άλλων στελεχών που παρουσιάζονται παρακάτω, η

γλυκόζη λόγω της γνωστής προτίμησης του *S. cerevisiae* σε αυτή, καταναλώθηκε πιο γρήγορα από τη φρουκτόζη (Berthels *et. al.*, 2004). Η τελική του περιεκτικότητα σε υπολειπόμενα σάκχαρα σύμφωνα με την τελική μέτρηση στον οίνο με τη μέθοδο του OIV (Πίνακας 1) ήταν 2.06 (g/L).

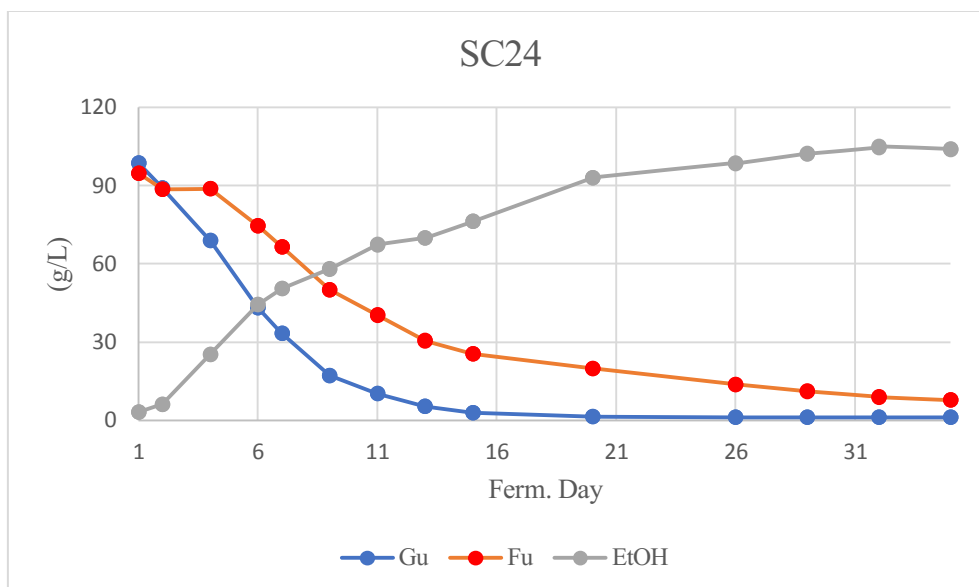
2. Κινητική ζύμωσης με το στέλεχος *S. cerevisiae* SC13



Σχήμα 2. Κατανάλωση σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) και παραγωγή αιθανόλης σε γλεύκος Ασύρτικου από τον μικροοργανισμό *S. cerevisiae* SC13

Το στέλεχος *S. cerevisiae* SC13 όπως και τα SC24, Y54, δυσκολεύτηκαν να ολοκληρώσουν τη ζύμωση, επιδεικνύοντας ένα πολύ αργό ρυθμό κατανάλωσης της φρουκτόζης μετά την 20 ημέρα, όπου και είχε καταναλωθεί η γλυκόζη. Η ζύμωση τερματίστηκε την 40^η ημέρα με θείωση, προσθέτοντας μεταδιθειώδες κάλιο σε τελική περιεκτικότητα ελεύθερου θειώδους 35mg/L. Η τελική περιεκτικότητα του οίνου σε υπολειπόμενα σάκχαρα σύμφωνα με την τελική μέτρηση με τη μέθοδο του OIV (Πίνακας 1) ήταν 4.00 (g/L).

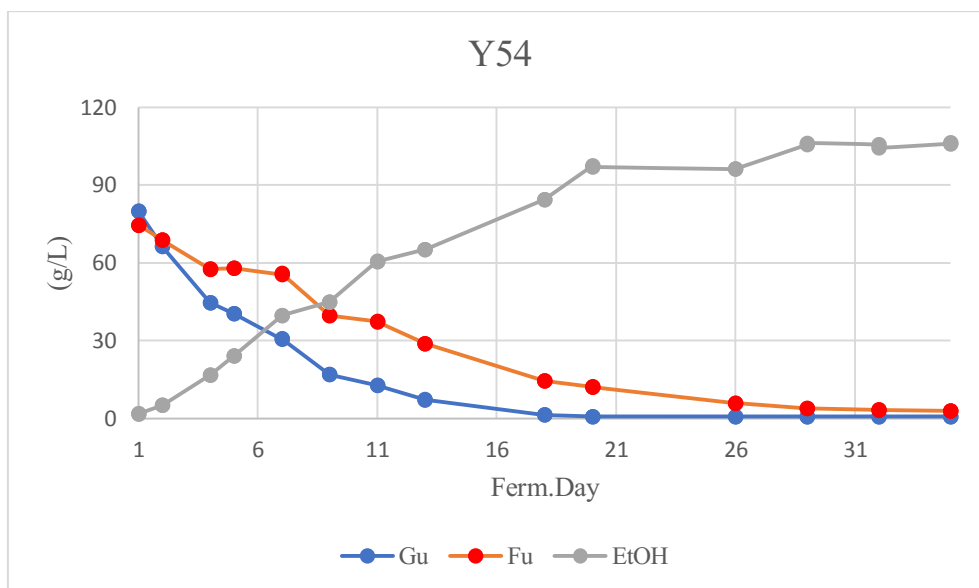
3. Κινητική ζύμωσης με το στέλεχος *S. cerevisiae* SC24



Σχήμα 3. Κατανάλωση σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) και παραγωγή αιθανόλης σε γλεύκος Ασύρτικου από τον μικροοργανισμό *S. cerevisiae* SC24

Το στέλεχος SC24, όπως φαίνεται στο παραπάνω σχήμα, ενώ στην κατανάλωση της γλυκόζης επέδειξε αντίστοιχη ρυθμό με άλλα στελέχη (SC13, Y54), δυσκολεύτηκε περισσότερο από όλα στην κατανάλωση της φρουκτόζης, επιδεικνύοντας πολύ μικρό ρυθμό κατανάλωσης μετά την 26^η ημέρα και σταματώντας ουσιαστικά τη δραστηριότητα του μετά την 35^η ημέρα. Η τελική περιεκτικότητα του οίνου σε υπολειπόμενα σάκχαρα σύμφωνα με την τελική μέτρηση με τη μέθοδο του OIV (Πίνακας 1) ήταν 6.87 (g/L). Πιθανές αιτίες του φαινομένου, αποτελούν η δυναμική κατανάλωσης του στελέχους, η ανεπάρκεια θρεπτικών στοιχείων όπως το αφομοιώσιμο άζωτο κατά τη ζύμωση, λοιπές πηγές στρεσαρίσματος και πιθανότατα περιβαλλοντικοί παράγοντες (Berthels *et. al.*, 2004). Στη συγκεκριμένη περίπτωση, λαμβάνοντας υπόψη ότι όλες οι παράμετροι ήταν ίδιες (μούστος, συνθήκες, πρωτόκολλο οινοποίησης), η αδυναμία ζύμωσης σε επίπεδα ξηρού οίνου, θα μπορούσε να αποδοθεί στη δυναμική του στελέχους.

4. Κινητική ζύμωσης με το στέλεχος *S. cerevisiae* Y54



Σχήμα 4. Κατανάλωση σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης) και παραγωγή αιθανόλης σε γλεύκος Ασύρτικου από τον μικροοργανισμό *S. cerevisiae* Y54

Το Y54 ήταν το στέλεχος το οποίο μετά το SC09 μπόρεσε και ολοκλήρωσε τη ζύμωση στα χαμηλότερα επίπεδα υπολειπόμενων σακχάρων, στα 3,20 (g/L). Όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις, έτσι κι εδώ, η γλυκόζη καταναλώθηκε πιο γρήγορα από τη φρουκτόζη. Όπως τα SC13, SC24, παρομοίως και το Y54 δυσκολεύτηκε στην κατανάλωση της υπολειπόμενης γλυκόζης, χαμηλώνοντας πολύ τη ζυμωτική του δραστηριότητα μετά τη 18^η ημέρα και ολοκληρώνοντας ουσιαστικά την 35^η. Αυτό ήταν αντίθετο με τα ευρήματα της Μπασά (2020) η οποία μελετώντας το συγκεκριμένο στέλεχος σε περιβάλλον μικροοινοποίησης Ασύρτικου, κατέγραψε ολοκλήρωση της ζύμωσης σε διάστημα 15 ημερών.

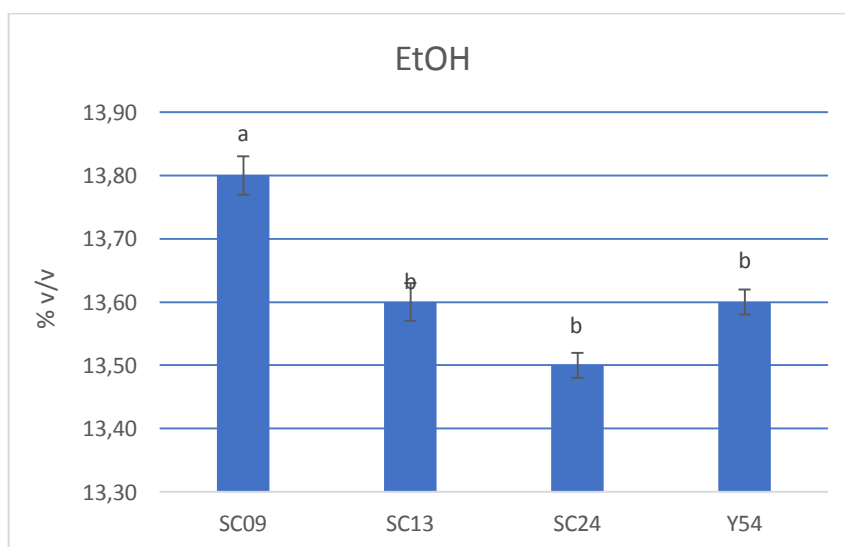
3.2 Τελικές μετρήσεις οίνων

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των μετρήσεων στους τελικούς οίνους, με την τυπική τους απόκλιση, ενώ ακολουθούν τα σχετικά ραβδογράμματα της στατιστικής ανάλυσης:

Πίνακας 1. Τελικές μέσες τιμές των βασικών αναλύσεων των οίνων, με την τυπική τους απόκλιση

Στέλεχος	Αιθυλική αλκοόλη (%v/v)	Πτητική οξύτητα (g/L)	Υπολειμματικά σάκχαρα (g/L)	Οξύτητα εκφρασμένη ως g/L τρυγικού οξέος	pH
SC09	13,80±0,03	0,49±0,01	2,06±0,01	5,20±0,02	3,19±0,01
SC13	13,60±0,03	0,65±0,01	4,00±0,05	5,30±0,01	3,25±0,01
SC24	13,50±0,02	0,70±0,01	6,87±0,01	5,30±0,02	3,22±0,01
Y54	13,60±0,02	0,70±0,01	3,20±0,01	5,35±0,02	3,22±0,01

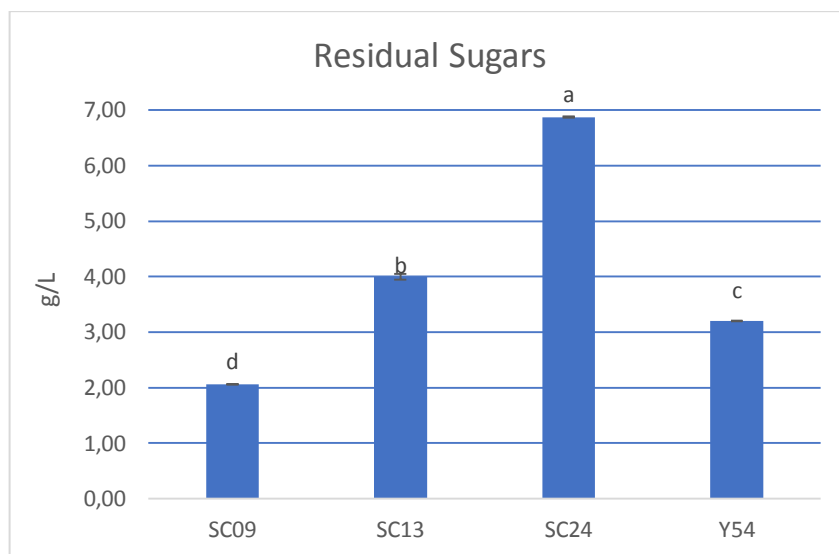
3.2.1 Αλκοολικός τίτλος



Σχήμα 5. Αλκοολικός τίτλος των παραγόμενων οίνων

Όλοι οι οίνοι που παρήχθησαν είχαν αλκοολικό τίτλο από 13,5% vol και πάνω, με στατιστικώς σημαντική διαφορά μόνο στην περίπτωση του SC09 σε σύγκριση με τα υπόλοιπα τρία στελέχη, λόγω της ταχύτερης και πιο απρόσκοπτης κατανάλωσης των σακχάρων από το συγκεκριμένο στέλεχος (σχήμα 1) που του επέτρεψαν να φθάσει σε υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης αιθανόλης.

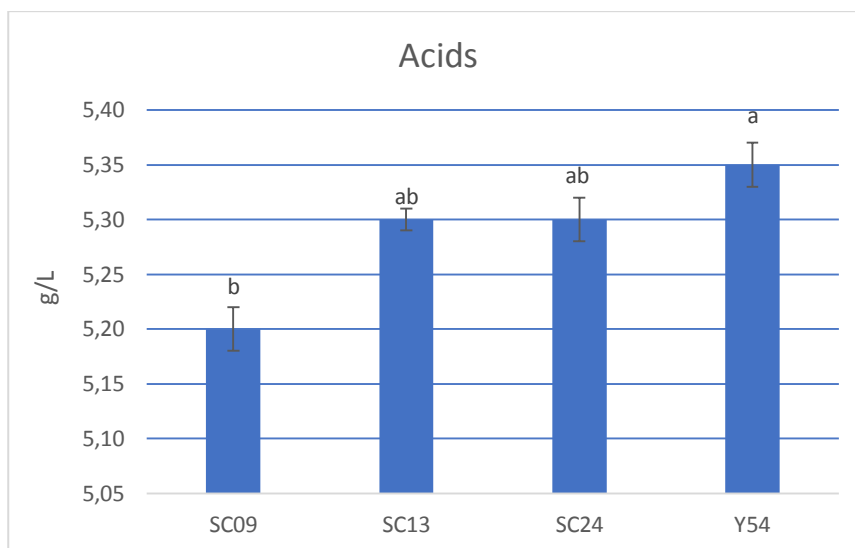
3.2.2 Υπολειμματικά σάκχαρα



Σχήμα 6. Συγκέντρωση υπολειμματικών σακχάρων των παραγόμενων οίνων

Καθώς η γλυκόζη καταναλώνεται πρώτη και ταχύτερα από τη φρουκτόζη, όπως είδαμε στις κινητικές των ζυμώσεων παραπάνω, ουσιαστικά η ποσότητα των υπολειπόμενων σακχάρων αντιστοιχεί στη φρουκτόζη. Όλα τα στελέχη διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους, με το SC09 να επιδεικνύει τη μικρότερη συγκέντρωση στα 2.06 g/L και το SC24 τη μεγαλύτερη στα 6,87 g/L. Πάντως, τρία από τα τέσσερα στελέχη (SC09, SC13, Y54) κατάφεραν να ολοκληρώσουν τη ζύμωση τους όντας ουσιαστικά μέσα στο εύρος ενός ξηρού οίνου (< 4 g/L), κάτι που αποτέλεσε βασική παράμετρος προς διερεύνηση της παρούσας μελέτης.

3.2.3 Ολική οξύτητα

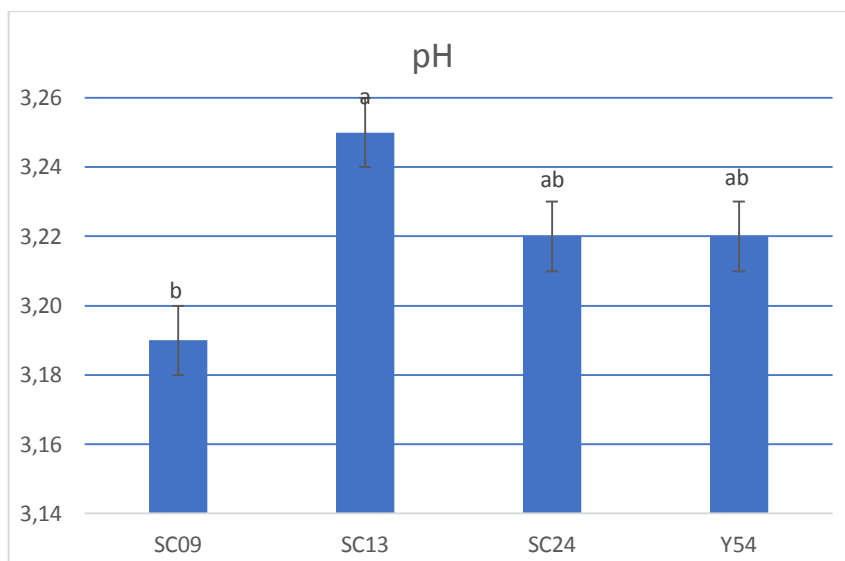


Σχήμα 7. Συγκέντρωση οξέων των παραγόμενων οίνων

Στο παραπάνω σχήμα παρουσιάζεται η ολική οξύτητα των οίνων που παρήχθησαν από τα τέσσερα στελέχη *S. cerevisiae*. Το στέλεχος Y54 έδωσε τη μεγαλύτερη ολική οξύτητα, η οποία όμως από τη στιγμή που δεν συνοδεύεται με αντίστοιχα το χαμηλότερο pH, συμπεραίνουμε ότι προέρχεται από την παραγωγή κάποιων ασθενών οξέων κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Τα υπόλοιπα τρία στελέχη δεν είχαν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Οι σχετικά υψηλές τιμές ολικής οξύτητας (και χαμηλού pH, σχήμα 8) των τελικών οίνων είναι μέσα στο συνηθισμένο εύρος που συναντάται σε οίνους Ασύρτικου (Kechagia *et. al.*, 2008). Στην περίπτωση του Ασύρτικου Σαντορίνης οι σχετικές τιμές συνήθως είναι ακόμα υψηλότερες, αλλά στη συγκεκριμένη περίπτωση το αποτέλεσμα μπορεί να εξηγηθεί με τους συγκεκριμένους οίνους να προέρχονται από μια χρονιά (εσοδεία 2021) ιδιαίτερη, με παρατεταμένους καύσωνες οι οποίοι οδήγησαν σε υπερωρίμανση των σταφυλιών, φαινόμενο το οποίο είχε αρνητικό αντίκτυπο στις μετρούμενες τιμές ολικής οξύτητας και pH, μέσω κυρίως της αποδόμησης του μηλικού οξέος (Drappier *et. al.*, 2019).

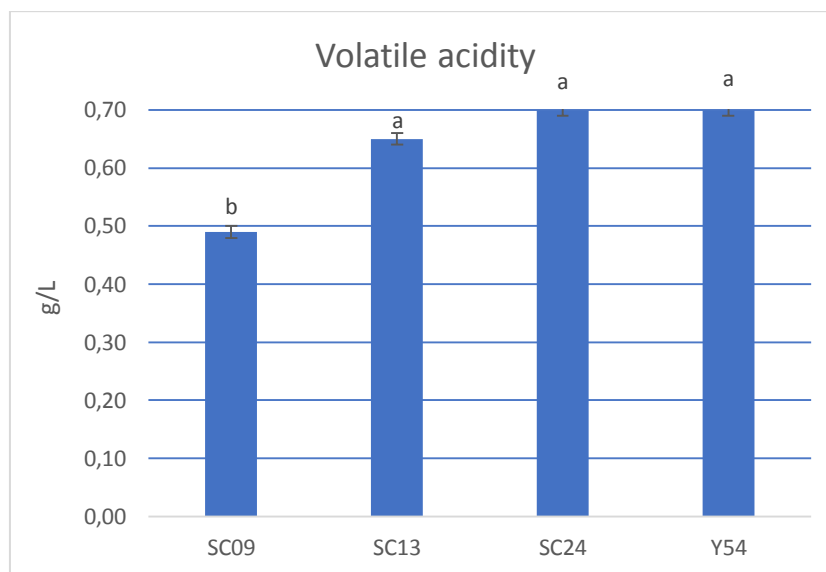
3.2.4 pH



Σχήμα 8. pH των παραγόμενων οίνων

Όλες οι τιμές pH των παραγόμενων οίνων κυμάνθηκαν σε πολύ κοντινό εύρος 3.19 - 3.25, με στατιστικώς σημαντική διαφορά να παρουσιάζεται μόνο μεταξύ των SC09 και SC13, η οποία όμως λόγω των παραπλήσιων τιμών, δεν κρίνεται σημαντική για διαφοροποίηση στην ποιότητα του κρασιού.

3.2.5 Πτητική οξύτητα



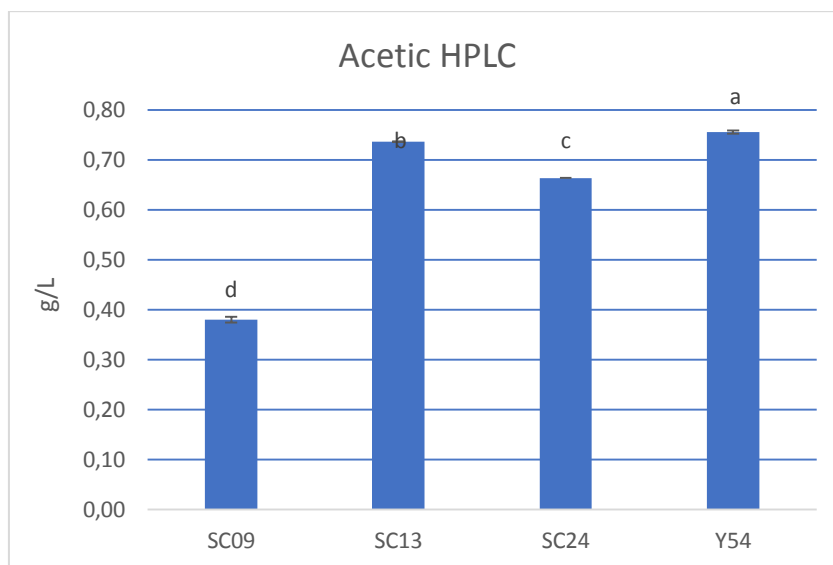
Σχήμα 9. Πτητική οξύτητα των παραγόμενων οίνων

Η μέτρηση της πτητικής οξύτητας εκπεφρασμένη σε συγκέντρωση (g/L) οξικού οξέος στους τελικούς οίνους, έδειξε τη μικρότερη τιμή 0.49 g/L στο στέλεχος SC09, σημαντικά χαμηλότερη από τα υπόλοιπα τρία στελέχη, το οποίο μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι το συγκεκριμένο στέλεχος είχε την πιο ταχεία και απρόσκοπτη ζύμωση.

3.3 Αποτελέσματα HPLC

Η μέθοδος της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) εφαρμόστηκε προς μελέτη της παραγωγής των ακόλουθων δευτερογενών μεταβολιτών.

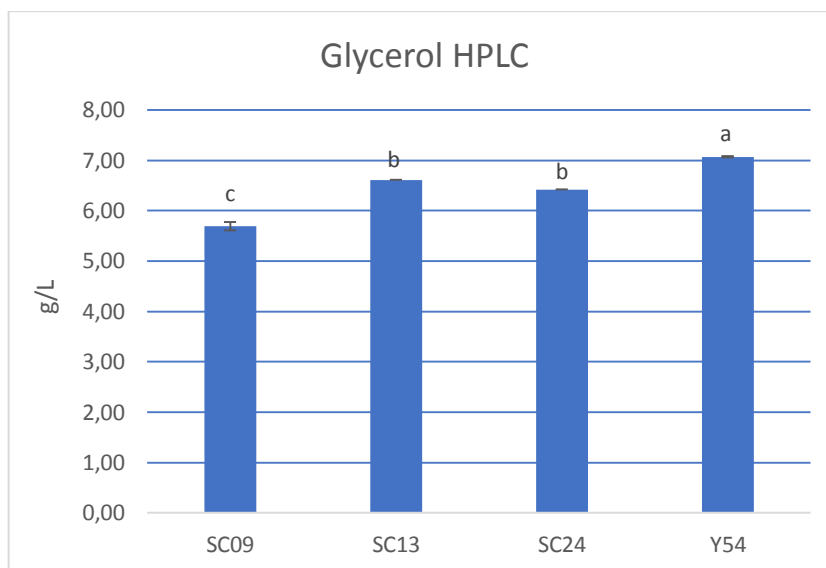
3.3.1 Παραγωγή οξικού οξέος



Σχήμα 10. Συγκέντρωση οξικού οξέος των παραγόμενων οίνων

Στο παραπάνω σχήμα παρατηρούμε ότι τα αποτελέσματα της μέτρησης του οξικού οξέος, έχοντας άμεση συσχέτιση με το συνολικό ύψος της πτητικής οξύτητας (Buick & Holdstock, 2003), συμφωνούν με τη μέτρηση της πτητικής οξύτητας που παρουσιάσαμε στο Σχήμα 9, με το στέλεχος SC09 να έχει σημαντικά χαμηλότερη παραγωγή οξικού οξέος από το Y54. Οι αποκλίσεις μεταξύ των δυο μετρήσεων στα άλλα δυο στελέχη οφείλεται σε παρουσία άλλων πτητικών οξέων όπως τα μυρμηκικό, βουτυρικό, φορμικό και προπανικό (Zoecklein *et. al.*, 1995) τα οποία δεν μετρήσαμε. Η διακύμανση της συγκέντρωσης οξικού οξέος μεταξύ των τεσσάρων στελεχών, παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την παραγωγή γλυκερόλης (Σχήμα 11), κάτι το οποίο συμφωνεί με τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης (Remize *et. al.*, 1999).

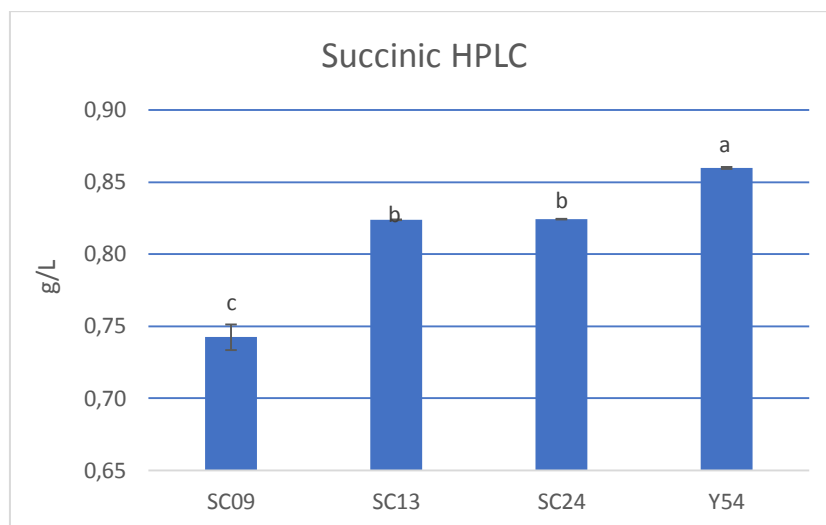
3.3.2 Παραγωγή γλυκερόλης



Σχήμα 11. Συγκέντρωση γλυκερόλης των παραγόμενων οίνων

Το στέλεχος με τη μεγαλύτερη παραγωγή γλυκερόλης μετρήθηκε να είναι το Y54, έχοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά από τα άλλα τρία στελέχη. Το αποτέλεσμα αυτό είναι σύμφωνο με εκείνα του οργανοληπτικού ελέγχου από το πάνελ του ΓΠΑ, όπου ο οίνος που παράχθηκε από το Y54 κρίθηκε ως αυτός με τη μεγαλύτερη αίσθηση όγκου σώματος, οφειλόμενο κατά πάσα πιθανότητα στην υψηλότερη παραγωγή γλυκερόλης (Σχήμα 13) (Ribereau-Gayon *et. al.*, 1972; Gawel *et. al.*, 2007).

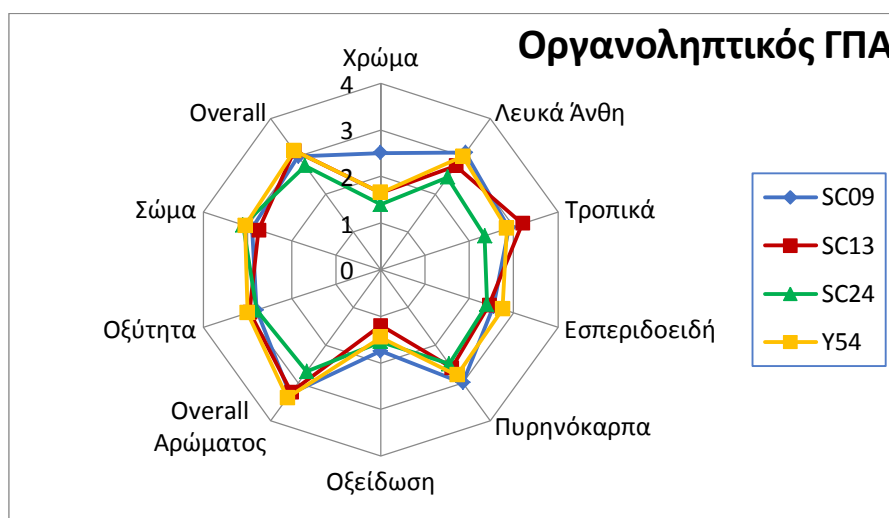
3.3.3 Παραγωγή ηλεκτρικού οξέος



Σχήμα 12. Συγκέντρωση ηλεκτρικού οξέος των παραγόμενων οίνων

Αναφορικά με την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος, το στέλεχος Y54 έδωσε στατιστικώς σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα στελέχη, η παρουσία του οποίου προσδίδει στον οίνο εστερικά αρώματα ανθών και τροπικών φρούτων (De Klerk, 2010), αρώματα τα οποία όπως διαπιστώθηκε και στον οργανοληπτικό έλεγχο, αναγνωρίστηκαν στον οίνο σε πολύ καλό ποσοστό (σχήμα 13).

3.4 Οργανοληπτικός ΓΠΑ

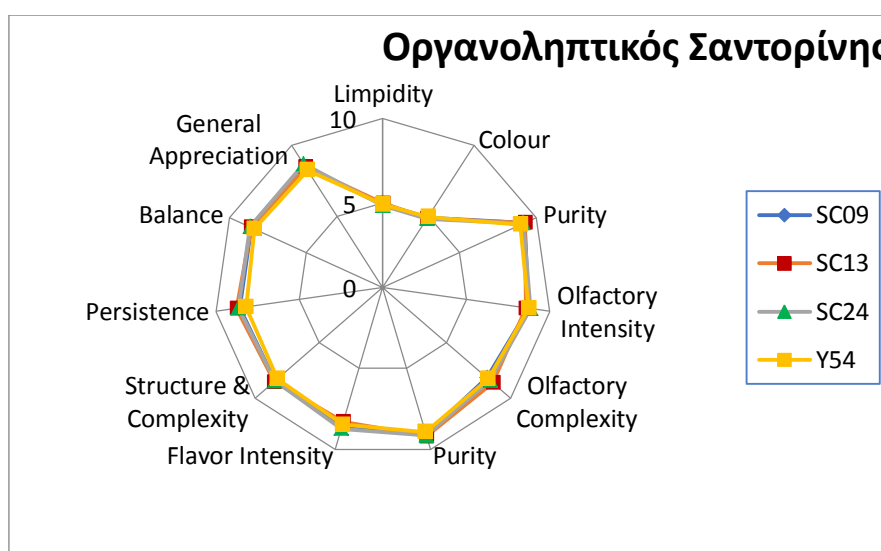


Σχήμα 13. Αραχνόγραμμα αποτελεσμάτων οργανοληπτικού ελέγχου ΓΠΑ

Ο στόχος του συγκεκριμένου οργανοληπτικού ελέγχου ήταν να διερευνηθούν διαφορές ανάμεσα στους οίνους Ασύρτικου των τεσσάρων γηγενών στελεχών *S. cerevisiae*. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 13, οι δοκιμαστές αξιολόγησαν τις διαφορές των οίνων σε 10 διαφορετικές παραμέτρους. Η μοναδική στατιστικά σημαντική διαφορά που παρατηρήθηκε ήταν στο χρώμα του SC09 το οποίο κρίθηκε πιο κίτρινο, παράμετρος που συνδέεται με το γεγονός ότι ο οίνος από το συγκεκριμένο στέλεχος έδειξε κάπως μεγαλύτερο οξειδωτικό χαρακτήρα σε σύγκριση με τα υπόλοιπα στελέχη (WatreLOT, 2020). Παρόλο που δεν βρέθηκαν λοιπές στατιστικά σημαντικές διαφορές, παρατηρήθηκε χαμηλότερη έκφραση οξύτητας στον οίνο του SC24, η οποία παρότι δεν επιβεβαιώνεται από τις μετρήσεις της ολικής οξύτητας (Σχήμα 7), εν τούτοις, μπορεί να αποδοθεί στην υψηλότερη συγκέντρωση σακχάρων του συγκεκριμένου οίνου (Σχήμα 6) η παρουσία των οποίων επηρεάζει την αντίληψη της οξύτητας (Noordeloos & Nagel, 1972). Σχετικά με το αρωματικό προφίλ των οίνων, παρατηρήθηκε για το στέλεχος SC13 μεγαλύτερη έκφραση τροπικού χαρακτήρα, ενώ για το Y54 αντίστοιχα, εσπεριδοειδών αρωμάτων. Συνολικά το Y54 σκόραρε ελαφρώς καλύτερα από τα άλλα στελέχη τόσο στις επιμέρους κατηγορίες αλλά και συνολικά, εκφράζοντας καλύτερα και την αρωματική τυπικότητα του Ασύρτικου ως ποικιλία, με τα αρώματα εσπεριδοειδών (ΥΠΑΑΤ, 2007).

Αναλυτικά αποτελέσματα παρατίθενται στο Παράρτημα Ι.

3.5 Οργανοληπτικός Σαντορίνης



Σχήμα 14. Αραχνόγραμμα αποτελεσμάτων οργανοληπτικού ελέγχου Σαντορίνης

Σκοπός της διενέργειας του συγκεκριμένου οργανοληπτικού ελέγχου ήταν να αξιολογηθούν εμπορικά οι οίνοι ασύρτικου των τεσσάρων γηγενών στελεχών *S. cerevisiae*. Αρχικά, όπως φαίνεται στο Σχήμα 14 όλοι οι οίνοι αξιολογήθηκαν πολύ κοντά στις 11 διαφορετικές παραμέτρους, χωρίς να παρατηρηθούν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Εντούτοις, όπως φαίνεται στον Πίνακα 2 και οι τέσσερις οίνοι βρέθηκαν να καταγράφουν πολύ ικανοποιητική βαθμολογία, σε επίπεδα άνω του 85%, που σύμφωνα με την κλίμακα απονομής βραβείων του IOV (2021) αντιστοιχεί σε μετάλλιο. Το γεγονός αυτό αναδεικνύει τη δυναμική και των τεσσάρων γηγενών στελεχών στην παραγωγή οίνων υψηλής ποιότητας.

Πίνακας 2. Μέσες τιμές βαθμολογίας των οίνων, με την τυπική τους απόκλιση

Στέλεχος	Μέσος όρος βαθμολογίας
SC09	87,59 ± 0,82
SC13	88,11 ± 0,60
SC24	88,22 ± 1,03
Y54	86,33 ± 0,89

Αναλυτικά αποτελέσματα παρατίθενται στο Παράρτημα II.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι ζύμες και οι συνθήκες ζύμωσης είναι οι πιο σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τον τελικό οργανοληπτικό χαρακτήρα στον οίνο. Η χρήση επιλεγμένων στελεχών *S. cerevisiae* ως καλλιέργειες εκκίνησης αντανάκλα τη βιοποικιλότητα και την εκφραστική ιδιαιτερότητα μιας συγκεκριμένης περιοχής (Lambrechts & Pretorius, 2000). Λαμβάνοντας υπόψη την αυξανόμενη εκτίμηση από πλευράς των καταναλωτών, οίνων που φέρουν μια οργανοληπτική πολυπλοκότητα, συνδεδεμένη και με την περιοχή προέλευσης, η επιλογή γηγενών στελεχών *S. cerevisiae* αποτελεί μια καίρια μέθοδος, που στοχεύει στην παραγωγή κρασιών με τυπικότητα και χαρακτήρα, αναδεικνύοντας αυτό που ονομάζουμε “έκφραση του terroir” (Pulcini *et. al.*, 2020). Επιπρόσθετα, η επιλογή γηγενών στελεχών *S. cerevisiae* προσαρμοσμένων σε ένα συγκεκριμένο αμπελοοινικό περιβάλλον, περιορίζοντας τη χρήση εμπορικών ζυμών, πέρα από τη συμβολή στη διατήρηση της τυπικότητας των οίνων μιας συγκεκριμένης περιοχής, προάγει και την ανάπτυξη μιας πιο διαφοροποιημένης, οπότε και ανταγωνιστικής τοπικής οινικής παραγωγής, ενώ τέλος έχει μεγάλη σημασία για τη διατήρηση και αξιοποίηση της βιοποικιλότητας (Guerrini *et. al.*, 2021). Αποτελεί διαφαινόμενη ευκαιρία η σε βάθος διερεύνηση της γενετικής και φαινοτυπικής μεταβλητότητας φυσικών πληθυσμών μικροοργανισμών, οι οποίοι εξακολουθούν να έχουν διερευνηθεί ελάχιστα. Ως εκ τούτου, τα άγρια, γηγενή στελέχη φιλοξενούν μια πολύτιμη τράπεζα γενετικής ποικιλότητας, η οποία είναι χρήσιμη για προγράμματα επιλογής και αναπαραγωγής νέων στελεχών ή υβριδίων για τις βιομηχανίες ζύμωσης κρασιού και μύρας (Molinet & Cubillos, 2020). Η υποσχόμενη αυτή πηγή μικροοργανισμών ζύμωσης θα βοηθήσει τους οινοπαραγωγούς να ικανοποιήσουν την επιθυμία του καταναλωτή για ιδιαίτερους οίνους με τοπικό χαρακτήρα και να εξασφαλίσουν την ανάδειξη της πιο συναρπαστικής πτυχής του κρασιού που δεν είναι άλλη από την ατελείωτη ποικιλία του (Lambrechts & Pretorius, 2000).

Ο στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής ποιοτικών οίνων από Ασύρτικο Σαντορίνης, με τη χρήση 4 γηγενών στελεχών *S. cerevisiae*. Συνοψίζοντας, εντοπίστηκαν διαφορές τόσο στις κλασσικές αναλύσεις οίνου, όσο και στις συγκεντρώσεις των δευτερογενών μεταβολιτών. Όσον αφορά το γεγονός ότι τρία από τα τέσσερα στελέχη καθυστέρησαν τόσο πολύ να ζυμώσουν σε επίπεδα ξηρού οίνου, με το SC24 μάλιστα να μην το καταφέρνει, καταδεικνύει την ανάγκη επανάληψης των δοκιμών σε γλεύκος Ασύρτικου με σκοπό την εξαγωγή πιο ασφαλών συμπερασμάτων. Σαν πρώτη μελέτη

πάντως, τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά, αφού τα τρία από τα τέσσερα στελέχη μπόρεσαν να δώσουν το δυναμικό τους, με κάποιες βέβαια αποκλίσεις.

Στον τεχνικό οργανοληπτικό έλεγχο διαπιστώθηκε ο πολύ καλός από άποψη έντασης, και πολύπλοκος αρωματικός χαρακτήρας και των τεσσάρων οίνων, ενώ στον εμπορικό οργανοληπτικό έλεγχο αναδείχθηκε η υψηλή ποιοτική τους στάθμη. Σαν συμπέρασμα της παρούσας μελέτης, μπορούμε να πούμε ότι και τα τέσσερα γηγενή στελέχη δείχνουν την ικανότητα να δώσουν οίνους υψηλής ποιότητας. Επανάληψη της πειραματικής διαδικασίας και περαιτέρω μελέτη των συγκεκριμένων στελεχών φυσικά συνίσταται, στο πλαίσιο της γενικής παραδοχής εκ μέρους πολλών ερευνητών μεταξύ των οποίων και οι Börlin *et. al.*, (2020), της υφιστάμενης ανάγκης εμπλουτισμού της γνώσης για την περαιτέρω αξιοποίηση των γηγενών μικροοργανισμών.

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

- Agarbati, A., Canonico, L., Ciani, M., & Comitini, F. (2018). Fitness of selected indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for white Piceno DOC wines production. *Fermentation*, 4(2), 37
- Albergaria, H., & Arneborg, N. (2016). Dominance of *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation processes: role of physiological fitness and microbial interactions. *Applied microbiology and biotechnology*, 100 (5), 2035-2046
- Allan, J. (2019). Phenolic Change Associated With Post-Fermentation Skin Contact For Two White Wine Varietals, Cornell University
- Alvarez-Pérez, J. M., Alvarez-Rodríguez, M. L., Campo, E., Sáenz de Miera, L. E., Ferreira, V., Hernández-Orte, P., Garzon-Jimeno, E., & Coque, J. J. R. (2014). Selection of *Saccharomyces cerevisiae* strains applied to the production of Prieto Picudo Rosé wines with a different aromatic profile. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 35(2), 242-256
- Aponte, M., & Blaiotta, G. (2016). Selection of an autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strain for the vinification of “Moscato di Saracena”, a southern Italy (Calabria Region) passito wine. *Food Microbiology*, 54, 30-39
- Aponte, M., Romano, R., Villano, C., & Blaiotta, G. (2020). Dominance of *S. cerevisiae* commercial starter strains during Greco di Tufo and aglianico wine fermentations and evaluation of oenological performances of some indigenous/residential strains. *Foods*, 9(11), 1549
- Aranda, A., Matallana, E., & Del Olmo, M. (2011). *Saccharomyces* yeasts I: primary fermentation. *Molecular wine microbiology*, 1-31
- Ardilouze, C. (2006). Reductive vinification of white and rosé wines: the question of must extraction. *Int J Vitic Enol*, 13, 1-9
- Avgeli, Vasiliki A. (2019) “Wine Tourism in Santorini, Crete: Exploring the Behaviour, Motives, and Intentions of Wine Tourists.” *Journal of Tourism and Hospitality Management*, Mar.-Apr. 2019, Vol. 7, No. 2, 45-60, doi: 10.17265/2328-2169/2019.02.001
- Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. 2000. *Yeasts: Characteristics and Identification* (3rd Ed) Cambridge: Cambridge University Press. Cambridge, UK
- Beltran, G., Torija, M. J., Novo, M., Ferrer, N., Poblet, M., Guillamón, J. M. & Mas, A. (2002). Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: a six-year follow-up study. *Systematic and Applied Microbiology*, 25(2), 287-293
- Berthels, N. J., Cordero Otero, R. R., Bauer, F. F., Thevelein, J. M., & Pretorius, I. S. (2004). Discrepancy in glucose and fructose utilisation during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains. *FEMS yeast research*, 4(7), 683-689
- Betrand, A. A.-S. (1987). Incidence du debourbage et role des liquides sur la formation par les levures des produits secondaires lors de la vinification en blanc. *Act. Rech. Inst. Oenol Bordeaux.*, 67-71
- Bisson, L. F. (2004). The biotechnology of wine yeast. *Food Biotechnology*, 18(1), 63-96

- Bisson F. Linda, Joseph C. M. Lucy (2009). Yeasts. In *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine* (pp. 47-60). Springer, Berlin, Heidelberg
- Blanco, P., Mirás-Avalos, J. M., Suárez, V., & Orriols, I. (2013). Inoculation of Treixadura musts with autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains: Fermentative performance and influence on the wine characteristics. *Food science and technology international*, 19(2), 177-186
- Blanco, P., Vázquez-Alén, M., Garde-Cerdán, T., & Vilanova, M. (2021). Application of Autochthonous Yeast *Saccharomyces cerevisiae* XG3 in Treixadura Wines from DO Ribeiro (NW Spain): Effect on Wine Aroma. *Fermentation*, 7(1), 31
- Blondin, B., Dequin, S., Querol, A., & Legras, J. L. (2009). Genome of *Saccharomyces cerevisiae* and related yeasts. In *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine* (pp. 361-378). Springer, Berlin, Heidelberg
- Bokulich, N. A., Thorngate, J. H., Richardson, P. M., & Mills, D. A. (2014). Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(1), E139-E148
- Bokulich, N. A., Collins, T. S., Masarweh, C., Allen, G., Heymann, H., Ebeler, S. E., & Mills, D. A. (2016). Associations among wine grape microbiome, metabolome, and fermentation behavior suggest microbial contribution to regional wine characteristics. *MBio*, 7(3), e00631-16
- Börlin, M., Miot-Sertier, C., Vinsonneau, E., Becquet, S., Salin, F., Bely, M., ... & Masneuf-Pomarède, I. (2020). The "pied de cuve" as an alternative way to manage indigenous fermentation: impact on the fermentative process and *Saccharomyces cerevisiae* diversity. *OENO one*, 54(3), 435-442
- Borrell B. (2009), The Origin of Wine: Imbibing the liquid of fermented fruit may have had its start in medicinal traditions, accessed 20/02/2022, <https://www.scientificamerican.com/article/the-origin-of-wine/>
- Bouix, M., J. Y. Leveau, and C. Cuinier. 1981. Applications de l'ectrophorese des fractions exocellulaires de levures au controle de l'efficacite d'un levurage on vinification, p. 87-92. In G. G. Stewart and I. Russel (ed.), Current developments in yeast research. Pergamon Press. Toronto
- Boulton RB, Singleton VL, Bisson LF, Kunkel RE (1996) Principles and practices of winemaking. Chapman & Hall, New York
- Buick, D., Holdstock, M. (2003). The relationship between acetic acid and volatile acidity. *AWRI Tech. Rev.* (143): 39-43
- Cabrera M.J., Moreno J., Ortega J. M., Medina M., *Am. J. Enol. Vitic.* 39 (1988) 283-287
- Camarasa, C., Sanchez, I., Brial, P., Bigey, F., & Dequin, S. (2011). Phenotypic landscape of *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation: evidence for origin-dependent metabolic traits. *PloS one*, 6(9), e25147
- Capece, A., Romaniello, R., Pietrafesa, R., & Romano, P. (2014). Indigenous *Saccharomyces cerevisiae* yeasts as a source of biodiversity for the selection of starters for specific fermentations. In *BIO web of Conferences* (Vol. 3, p. 02003). EDP Sciences

- Capece, A., Pietrafesa, R., Siesto, G., Romaniello, R., Condelli, N., & Romano, P. (2019). Selected indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains as profitable strategy to preserve typical traits of primitivo wine. *Fermentation*, 5(4), 87
- Clemente-Jimenez J. M., Mingorance-Cazorla L., Martinez- Rodriguez S., Heras-Vazquez F. J. L. & Rodriguez-Vico F. (2005). Influence of sequential mixtures on wine fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 98, 301-308
- Cordero-Bueso, G., Esteve-Zarzoso, B., Gil-Díaz, M., García, M., Cabellos, J. M., & Arroyo, T. (2016). Improvement of Malvar wine quality by use of locally-selected *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Fermentation*, 2(1), 7
- Danezis, Ioannis. (2001). Santorini: Thira, Thirasia, Aspronisi, Ifestia. Athens: Adam publications/Pergamos Ekdotiki ABEE
- De Barros Lopes M, Bellon JR, Shirley NJ, Ganter PF (2002) Evidence for multiple interspecific hybridization in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res* 1:323–331
- De Klerk, J. L. (2010). *Succinic acid production by wine yeasts* (MSc dissertation, Stellenbosch: University of Stellenbosch), <https://scholar.sun.ac.za/handle/10019.1/4228>
- Doumas, C. (1995). A Historical Review. In “The Santorini of Santorini” 27-34. Athens: The Boutari Foundation
- Drappier, J., Thibon, C., Rabot, A., & Geny-Denis, L. (2019). Relationship between wine composition and temperature: Impact on Bordeaux wine typicity in the context of global warming. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(1), 14-30
- Dukes, B. C., & Butzke, C. E. (1998). Rapid determination of primary amino acids in grape juice using an o-phthaldialdehyde/N-acetyl-L-cysteine spectrophotometric assay. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(2), 125-134
- Ellis, L. P., & Kok, C. (1987). Colour changes in Blanc de noir wines during ageing at different temperatures and its colour preference limits. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 8(1), 16-22
- Etcheverria, O. (2014). Du vignoble à la destination oenotouristique. L'Exemple de l'île de Santorin. *CULTUR: Revista de Cultura e Turismo*, 8(3), 188-210
- Feng, L., Jia, H., Wang, J., Qin, Y., Liu, Y., & Song, Y. (2019). Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for winemaking in northwest China. *American Journal of Enology and Viticulture*, 70(2), 115-126
- Feng, L., Wang, J., Ye, D., Song, Y., Qin, Y., & Liu, Y. (2020). Yeast population dynamics during spontaneous fermentation of icewine and selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for the winemaking in Qilian, China. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(15), 5385-5394
- Fernández-Espinar, M. T., Llopis, S., Querol, A., & Barrio, E. (2011). Molecular identification and characterization of wine yeasts. *Molecular wine microbiology*, 111-140
- Fleet, G.H., Lafon-Lafourcade, S., & Ribereau-Gayon, P. (1984). Evolution of yeasts and lactic acid bacteria during fermentation and storage of Bordeaux wines. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(5), 1034-1038

Fleet GH, Prakitchaiwattana C, Beh AL, Heard GM (2002) The yeast ecology of wine grapes. In: Ciani M (ed) Biodiversity and biotechnology of wine yeasts. Research Signpost, Kerala, India, pp 1–17

Fleet G. H. (2008) Wine yeasts for the future. *FEMS Yeast Res.* 979-995

Frankel, C. (2019). *Volcanoes and Wine: From Pompeii to Napa*, University of Chicago Press.

Freese, C. C. (2005). The Role of Wine Production in the Changing Structure of an Island Economy: A Case Study of Santorini Greece [Master's thesis, University of Cincinnati]. OhioLINK Electronic Theses and Dissertations Center. http://rave.ohiolink.edu/etdc/view?acc_num=ucin1116006153

Furdíková K., Makyšová K., Špánik I. (2017): Effect of indigenous *S. cerevisiae* strains on higher alcohols, volatile acids and esters in wine. *Czech J. Food Sci.*, 35: 131-142

Gawel, R., SLUYTER, S. V., & Waters, E. J. (2007). The effects of ethanol and glycerol on the body and other sensory characteristics of Riesling wines. *Australian Journal of grape and wine research*, 13(1), 38-45

Guasch, J., & Busto, O. (2000). Wine: Gas And Liquid Chromatography. In Wilson, I. D. (2000). *Encyclopedia of separation science*. Academic Press. ISBN: 9780080917795

Guerrini, S., Barbato, D., Guerrini, L., Mari, E., Buscioni, G., Mangani, S., ... & Granchi, L. (2021). Selection of Indigenous *Saccharomyces cerevisiae* Strains and Exploitation of a Pilot-Plant to Produce Fresh Yeast Starter Cultures in a Winery. *Fermentation*, 7(3), 99

Guidici P., Romano P., Zambonelli C., *Can. J. Microbiol.* 36 (1990) 61-63

Henschke P. (2007). Yeast strains available for winemaking. *Austr. Wine Res. Instit. Tech. Rev.* 171, 9-29

Herjavec, S., Podgorski, V., Redzepovic, S., & Mirosevic, N. (2003). The influence of some commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains on the quality of Chardonnay wines. *Food Technology and Biotechnology*, 41(1), 77-82

Iliopoulos C., I. Theodorakopoulou, A. Lontakis and G. Angelopoulou (2012). Case Study Report; Structure and Strategy of Wine Cooperatives: The Case of the Santo Wine Cooperative in Santorini, Greece. Wageningen: Wageningen UR

IOV (International Organization of Vine and Wine) (2020). Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. <https://www.oiv.int/public/medias/7372/oiv-compendium-volume-1-2020.pdf>

IOV (International Organization of Vine and Wine) (2021). Standard for international wine and spirituous beverages of vitivinicultural origin competitions, <https://www.oiv.int/public/medias/7895/oiv-patronage-competition-norme-ed-2021.pdf>

Jackson, R. S. (2008). *Wine science: principles and applications*. Academic press

Karakasis Y. (2021) The Wines of Santorini. Hardcover, available at <https://www.karakasis.mw/wines-santorini>

- Kechagia, D., Paraskevopoulos, Y., Symeou, E., Galiotou-Panayotou, M., & Kotseridis, Y. (2008). Influence of prefermentative treatments to the major volatile compounds of Assyrtiko wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(12), 4555-4563
- Kontogiannatos, D., Troianou, V., Dimopoulou, M., Hatzopoulos, P., & Kotseridis, Y. (2021). Oenological Potential of Autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Strains from the Greek Varieties of Agiorgitiko and Moschofilero. *Beverages*, 7(2), 27
- Kourakou-Dragona S. (1995a) The Historical Testimony of Ampelies. In “The Santorini of Santorini.” 35-38. Athens: The Boutari Foundation
- Kourakou-Dragona S. (1995b) The Wine of Santorini: Testimony in Writings of Travellers. In “The Santorini of Santorini.” 39-60. Athens: The Boutari Foundation
- Lafon-Lafourcade, S. (1983). Wine and brandy. In G. Reed (Ed.), *Biotechnology* (pp. 81e163). Heidelberg, Germany: Verlag-Chemie
- Lambrechts, M. G., & Pretorius, I. S. (2000). Yeast and its importance to wine aroma-a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21(1), 97-129
- Lurton L., Snackers G., Roulland C., Galy B., J. Sci. Food Agric. 67 (1995) 485-491
- Marathonas, J. (2017). World’s best wine tours and trails—from France to Australia. CNN Travel. Retrieved from <http://edition.cnn.com/travel/article/wine-trail-destinations/index.html>
- Martorell P., Stratford M., Steels H., Fernández-Espinar Ma Teresa & Querol A. (2007) Physiological characterization of spoilage strains of *Zygosaccharomyces bailii* and *Zygosaccharomyces rouxii* isolated from high sugar environments. *Int. J. Food Microbiol.* 114, 234-242
- McGovern, P. E., Glusker, D. L., Exner, L. J., and Voigt, M. M. (1996) Neolithic resinated wine. *Nature* 381, 480-481
- Mendez-Vilas, A., Mercado, L., & Combina, M. (2010). Exploring the biodiversity of a wine region: *Saccharomyces* yeasts associated with wineries and vineyards. *Current Research Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. Formatex*
- Molinet, J., & Cubillos, F. A. (2020). Wild yeast for the future: exploring the use of wild strains for wine and beer fermentation. *Frontiers in Genetics*, 1281
- Nisiotou, A. A., & Nychas, G. J. E. (2007). Yeast populations residing on healthy or Botrytis-infected grapes from a vineyard in Attica, Greece. *Applied and environmental microbiology*, 73(8), 2765-2768
- Nisiotou, A., Sgouros, G., Mallouchos, A., Nisiotis, C. S., Michaelidis, C., Tassou, C., & Banilas, G. (2018). The use of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* and *Starmerella bacillaris* strains as a tool to create chemical complexity in local wines. *Food Research International*, 111, 498-508
- Noordeloos, S., & Nagel, C. W. (1972). Effect of sugar on acid perception in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 23(4), 139-143

- Orlić, S., Vojvoda, T., Babić, K. H., Arroyo-López, F. N., Jeromel, A., Kozina, B., ... & Comi, G. (2010). Diversity and oenological characterization of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* associated with Žilavka grapes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(8), 1483-1489
- Petropoulos, S., Kanellopoulou, A., Paraskevopoulos, I., Kotseridis, Y., & Kallithraka, S. (2017). Characterization of grape and wine proanthocyanidins of Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L. cv.) cultivar grown in different regions of Nemea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 63, 98-110
- Pincus, D. H., Orega, S., & Chatellier, S. (2007). Yeast identification—past, present, and future methods. *Medical mycology*, 45(2), 97-121
- Pramateftaki P.V., Lanaridis P. & Typas M.A. (2000) Molecular identification of wine yeasts at species or strain level: a case study with strains from two vine-growing areas of Greece. *J. Appl. Microbiol.* 89, 236-248
- Pulcini, L., Gamalero, E., Costantini, A., Vaudano, E. T., Tsolakis, C., & Garcia-Moruno, E. (2021). An Overview on *Saccharomyces cerevisiae* Indigenous Strains Selection Methods. In A. Morata, I. Loira, & C. González (Eds.), *Grapes and Wine*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99095>
- Remize, F., Roustan, J. L., Sablayrolles, J. M., Barre, P., & Dequin, S. (1999). Glycerol overproduction by engineered *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains leads to substantial changes in by-product formation and to a stimulation of fermentation rate in stationary phase. *Applied and environmental microbiology*, 65(1), 143-149
- Renouf, V., Claisse, O., & Lonvaud- Funel, A. L. I. N. E. (2005). Understanding the microbial ecosystem on the grape berry surface through numeration and identification of yeast and bacteria. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(3), 316-327
- Ribéreau-Gayon, P., Peynaud, E., Sudraud, P., (1972). In *Traité D'oenologie*. Sciences et Techniques Du Vin, pp. 353 361. Paris: Dunod
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (Eds.). (2006). Handbook of enology, Volume 1: The microbiology of wine and vinifications (Vol. 1). John Wiley & Sons
- Rodicio, R., & Heinisch, J. J. (2009). Sugar metabolism by *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts. In *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine* (pp. 113-134). Springer, Berlin, Heidelberg
- Sablayrolles, J. M. (2009). Control of alcoholic fermentation in winemaking: Current situation and prospect. *Food Research International*, 42(4), 418-424
- Sancho-Galan, P., Amores-Arrocha, A., Jimenez-Cantizano, A., Palacios, V. (2021). Influence of the Presence of Grape Skins during White Wine Alcoholic Fermentation. *Agronomy*, 11 (3): 452
- Schuller, D., Alves, H., Dequin, S., & Casal, M. (2005). Ecological survey of *Saccharomyces cerevisiae* strains from vineyards in the Vinho Verde Region of Portugal. *FEMS Microbiology Ecology*, 51(2), 167-177

- Schvarczova, E. V. A., Stefanikova, J., Jankura, E., & Kolek, E. (2017). Selection of autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains for production of typical Pinot Gris wines. *Journal of Food & Nutrition Research*, 56(4)
- Sidari, R., Ženišová, K., Tobolková, B., Belajová, E., Cabicarová, T., Bučková, M., ... & Pangallo, D. (2021). Wine yeasts selection: Laboratory characterization and protocol review. *Microorganisms*, 9(11), 2223
- Silva P., Cardoso H. & Gerós H. (2004) Studies on the wine spoilage capacity of *Brettanomyces/Dekkera* spp. *Am. J. Enol. Vitic.* 55, 65-72
- Snow, R. (1983). Genetic improvement of wine yeast. In J. F. T. Spencer, D.M. Spencer, & A. R.W. Smith (Eds.), *Yeast genetics. Fundamental and applied aspects* (pp. 439-459). New York, NY: Springer-Verlag
- 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
- Soubeyrand, V., Julien, A., & Sablayrolles, J. M. (2006). Rehydration protocols for active dry wine yeasts and the search for early indicators of yeast activity. *American journal of enology and viticulture*, 57(4), 474-480
- Soufleros E., Bertrand A., *Conn. Vigne et Vin.* 13 (1979) 181-198
- Suárez-Lepe, J. A., & Morata, A. (2012). New trends in yeast selection for winemaking. *Trends in Food Science & Technology*, 23(1), 39-50
- Tofalo, R., Perpetuini, G., Schirone, M., Fasoli, G., Aguzzi, I., Corsetti, A., & Suzzi, G. (2013). Biogeographical characterization of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast by molecular methods. *Frontiers in microbiology*, 4, 166
- Van der Westhuizen, T. J., Augustyn, O. P. H., & Pretorius, I. S. (2000). Geographical distribution of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from vineyards in the coastal regions of the Western Cape in South Africa. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21(1), 3-9
- Vigentini, I., Barrera Cardenas, S., Valdetara, F., Faccincani, M., Panont, C. A., Picozzi, C., & Foschino, R. (2017). Use of native yeast strains for in-bottle fermentation to face the uniformity in sparkling wine production. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1225
- Vontrobová, E., Kubizniaková, P., Fiala, J., Sochor, J., & Matoulková, D. (2019). Autochthonous yeasts as one of the tools to produce wines by original technologies. *Kvasny prumysl*, 65(1), 38-45
- Xyrafis, E. G., et al. (2021). "The unique and extreme vineyards of Santorini Island (Cyclades): Original language of the article: English." *IVES Technical Reviews, vine and wine*
- Warringer, J., Zörgö, E., Cubillos, F. A., Zia, A., Gjuvslund, A., Simpson, J. T., & Blomberg, A. (2011). Trait variation in yeast is defined by population history. *PLoS genetics*, 7(6), e1002111

Watrelet, A. (2020). Oxidation in white wine. Iowa State University.
<https://www.extension.iastate.edu/wine/lets-focus-dr-watrelet-0/>

Wrann Alexandra (2022) "Greece: Assyrtiko, the rising star", accessed 20/02/2022,
<https://www.wine-business-international.com/wine/styles-regions/greece-assyrtiko-rising-star>

Zironi R., Romano P., Suzzi G., Battistutta F. & Comi G. (1993). Volatile metabolites produced in wine by mixed and sequential cultures of *Hanseniaspora guilliermondii* or *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Lett.* 15, 235-238

Zoecklein, B.W.; Fugelsang, F.C.; Gump, B.H.; Nury, F.S. (1995). Wine analysis and production. New York: Chapman & Hall. ISBN: 978-1-4757-6967-8

Ελληνική Βιβλιογραφία

Βενετσάνος Γ. (2016). Παραδοσιακή Οινοποίηση στη Σαντορίνη. Έκδοση: Οινοποιείο Βενετσάνου, Σαντορίνη, Σελ. 42-44

Διαμαντέα Ε. (2014) Μοριακός χαρακτηρισμός και οινολογικό δυναμικό άγριων στελεχών και εργαστηριακών μεταλλαγμάτων *Saccharomyces cerevisiae*. Μεταπτυχιακή Διατριβή. Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΕΔΟΑΟ (Εθνική Διεπαγγελματική Οργάνωση Αμπέλου και Οίνου) (2022). Αμπελώνας στη Σαντορίνη, πρόσβαση 20/02/2022, http://www.newwinesofgreece.com/the_vineyard_on_santorini/el_ampelonas_sti_santorini.html

ΕΕΑΠΚΤΕ (Εθνικό Ευρετήριο Αύλης Πολιτιστικής Κληρονομιάς Της Ελλάδας) (2018). Η αμπελοοινική κληρονομιά της Σαντορίνης (Θήρας - Θηρασίας), πρόσβαση 11/02/2022, https://ayla.culture.gr/i_ampeloooiniki_klironomia_tis_santorinis/

ΚΕΟΣΟΕ (Κεντρική Συνεταιριστική Ένωση Αμπελοοινικών Προϊόντων) (2022). Στρατηγικό σχέδιο για το Marketing & Branding του ελληνικού κρασιού, πρόσβαση 20/02/2022, <https://www.keosoe.gr/marketingbranding/ethniki-stratigiki-marketing.html>

Κοτσερίδης Γ. (2015), Οινολογία Ι Εργαστηριακές ασκήσεις, Εργαστήριο Οινολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Κουράκου Σ. (2003). Σεμινάριο Γευσιγνωσίας γηγενών ποικιλιών Βορείου Ελλάδος. Θεσσαλονίκη. Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ

Κουράκου Σ. (2015). Σαντορίνη Ιστορικό Οινοπέδιο. Αθήνα. Εκδόσεις Φοίνικα

Μπασά Κ. (2020), *Μελέτη της παράγωγης αιθανόλης κατά την αύξηση άγριων και εμπορικών ζυμών σε υποστρώματα προσομοίωσης γλεύκους και έλεγχος της δυνατότητας χρήσης των στελεχών αυτών προς παράγωγή οίνων υψηλής ποιότητας* (Μεταπτυχιακή διατριβή). Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Ρούσσου Α. (2006) Συμβατική και Βιολογική καλλιέργεια αμπελιού στη Σαντορίνη. Πτυχιακή εργασία. Τμήμα Φυτικής Παραγωγής. Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης.

Σουφλερός Ευ. (2012). Οινολογία, 2^η Έκδοση. Θεσσαλονίκη

Σπινθηροπούλου, Χ. (2009). Οινοποιήσιμες Ποικιλίες του Ελληνικού Αμπελώνα. Αθήνα. Εκδόσεις Σταμούλης

Σταυρακάκης, Μ. Ν. (2010). Αμπελογραφία. Εκδόσεις Τροπή

Τσακίρης, Α. (1995). Οινογνωσία. Αθήνα. Εκδόσεις Ηνίοχος

Τσακίρης, Α. (2014). Οινολογία από το σταφύλι στο κρασί, 4η Έκδοση. Αθήνα. Εκδόσεις Ψύχαλου

Τσέτουρας, Π. (2003). Οινότεχνία, η επιστήμη του κρασιού στην πράξη. Αθήνα. Εκδόσεις Σταμούλη

ΥΠΑΑΤ (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων) (2007). Προδιαγραφή του προϊόντος (Κανονισμός (ΕΚ) 1234/2007, ΑΡΘΡΟ 118 γ, ΠΑΡ/ΦΟΣ 2). Από: Οίνοι ΠΟΠ –

Τεχνικοί Φάκελοι. Σαντορίνη, πρόσβαση 11/02/2022,
http://www.minagric.gr/images/stories/docs/agrotis/POP-PGE/2021/lista_POP_180119.pdf

ΥΠΑΑΤ (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων) (2020). Νομοθεσία Οίνου, πρόσβαση 20/02/2022, <http://www.minagric.gr/index.php/el/for-farmer-2/crop-production/ampeli/oin/353-oinos>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

(Αναλυτικά αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου ΓΠΑ)

Strain	Χρώμα	STDEV	
SC24	1,400000	0,223607	a
SC13	1,650000	0,150000	a
Y54	1,650000	0,112390	a
SC09	2,500000	0,166623	b

Strain	Λευκά Άνθη	STDEV	
SC24	2,450000	0,331662	a
SC13	2,750000	0,298020	a
Y54	3,000000	0,211200	a
SC09	3,100000	0,280976	a

Strain	Τροπικά	STDEV	
SC24	2,350000	0,280038	a
Y54	2,850000	0,236198	a
SC09	2,900000	0,232549	a
SC13	3,200000	0,243602	a

Strain	Εσπεριδοειδή	STDEV	
SC24	2,400000	0,266310	a
SC13	2,450000	0,234801	a
SC09	2,550000	0,168585	a
Y54	2,750000	0,306723	a

Strain	Πυρηνόκαρπα	STDEV	
SC24	2,500000	0,229416	a
SC13	2,600000	0,233959	a
Y54	2,800000	0,235081	a
SC09	3,000000	0,236198	a

Strain	Οξειδωση	STDEV	
SC13	1,200000	0,216126	a
Y54	1,450000	0,091766	a
SC24	1,550000	0,184605	a
SC09	1,750000	0,184605	a

Strain	Overall Αρώματος	STDEV	
SC24	2,700000	0,241704	a
SC13	3,250000	0,239242	a
SC09	3,300000	0,241704	a
Y54	3,400000	0,222427	a

Strain	Οξύτητα	STDEV	
SC09	2,800000	0,212751	a
SC24	2,800000	0,223312	a
SC13	2,950000	0,155597	a
Y54	3,000000	0,177705	a

Strain	Σώμα	STDEV	
SC13	2,750000	0,216430	a
SC09	2,900000	0,160181	a
Y54	3,050000	0,228266	a
SC24	3,100000	0,245753	a

Strain	Overall	STDEV	
SC24	2,750000	0,205196	a
SC09	3,000000	0,232549	a
Y54	3,150000	0,250000	a
SC13	3,150000	0,166623	a

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

(Αναλυτικά αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου Σαντορίνης)

Strain	Limpidity	STDEV	
SC09	4,925926	0,074074	a
SC13	5,000000		a
SC24	4,846154	0,106588	a
Y54	4,925926	0,074074	a

Strain	Colour	STDEV	
SC09	4,925926	0,051361	a
SC13	4,851852	0,087766	a
SC24	4,846154	0,072160	a
Y54	4,962963	0,037037	a

Strain	Purity	STDEV	
SC09	9,222222	0,144543	a
SC13	9,259259	0,126227	a
SC24	9,153846	0,181382	a
Y54	8,962963	0,188573	a

Strain	Olfactory Intensity	STDEV	
SC09	8,703704	0,183468	a
SC13	8,555556	0,111111	a
SC24	8,846154	0,143498	a
Y54	8,740741	0,156462	a

Strain	Olfactory Complexity	STDEV	
SC09	8,185185	0,177326	a
SC13	8,629630	0,142706	a
SC24	8,423077	0,185415	a
Y54	8,259259	0,126227	a

Strain	Purity	STDEV	
SC09	9,111111	0,144543	a
SC13	9,185185	0,107245	a
SC24	9,153846	0,153846	a
Y54	8,925926	0,184329	a

Strain	Flavor Intensity	STDEV	
SC09	8,518519	0,123694	a
SC13	8,296296	0,310384	a
SC24	8,730769	0,104627	a
Y54	8,481481	0,154425	a

Strain	Structure & Complexity	STDEV	
SC09	8,444444	0,123267	a
SC13	8,518519	0,134719	a
SC24	8,461538	0,114095	a
Y54	8,259259	0,137049	a

Strain	Persistence	STDEV	
SC09	8,555556	0,123267	a
SC13	8,740741	0,101170	a
SC24	8,653846	0,165876	a
Y54	8,185185	0,141593	a

Strain	Balance	STDEV	
SC09	8,555556	0,111111	a
SC13	8,592593	0,110157	a
SC24	8,653846	0,156326	a
Y54	8,370370	0,121108	a

Strain	General Appreciation	STDEV	
SC09	8,444444	0,134327	a
SC13	8,481481	0,111585	a
SC24	8,692308	0,144320	a
Y54	8,259259	0,126227	a

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

ΑΘΗΝΑ
2022