



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

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΥΓΓΡΟΝΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
I) ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑ II) ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη επίδρασης τεχνολογικών επεμβάσεων κατά την οινοποίηση,
στο αρωματικό προφίλ ερυθρωπών οίνων ποικιλίας Νεγκόσκα

Αλέξανδρος Σ. Γεωργουλούμης

Επιβλέπων Καθηγητής:
Κοτσερίδης Γιώργος, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2022**

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη επίδρασης τεχνολογικών επεμβάσεων κατά την οινοποίηση,
στο αρωματικό προφίλ ερυθρωπών οίνων ποικιλίας Νεγκόσκα

Study of technological interventions during winemaking
in the aromatic profile of rose wines from Negkoska variety

Αλέξανδρος Σ. Γεωργουλούμης

Εξεταστική επιτροπή

Κοτσερίδης Γιώργος, Καθηγητής ΓΠΑ (Επιβλέπων)
Χατζηδημητρίου Ευφημία, Επίκουρη Καθηγήτρια ΑΠΘ
Κουνδουράς Στέφανος, Καθηγητής ΑΠΘ

Μελέτη επίδρασης τεχνολογικών επεμβάσεων κατά την οινοποίηση στο αρωματικό προφίλ ερυθρωπών οίνων ποικιλίας Νεγκόσκα

ΠΜΣ: Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων I) Γαλακτοκομία II) Οινολογία
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής Ανθρώπου
Εργαστήριο Οινολογίας

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας Διπλωματικής ήταν η μελέτη της επίδρασης διαφορετικών στελεχών ζυμομυκήτων στο αρωματικό προφίλ ερυθρωπών οίνων από την ποικιλία Νεγκόσκα. Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις της Μπουτάρη Οινοποιητική Α.Ε στην Γουμένισσα και στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του τμήματος Χημείας του ΑΠΘ.

Τα σταφύλια για τις μικροοινοποιήσεις επιλέχθηκαν από αμπελώνα της Γουμένισσας και για τις ανάγκες του πειράματος, χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα διαφορετικά εμπορικά σκευάσματα (στελέχη) ζυμομυκήτων και πιο συγκεκριμένα ένα *Sacharomyces cerevisiae*, ένα *Torulasporea delbrueckii* το οποίο χρησιμοποιήθηκε σε διαδοχικό εμβολιασμό με άλλο *S.cerevisiae* και ένα υβρίδιο *S. cerevisiae* × *S. Paradoxus*. Η διαδικασία κάθε μικροοινοποίησης πραγματοποιήθηκε εις διπλούν. Στους οίνους που παρήχθησαν πραγματοποιήθηκαν όλες οι κλασικές αναλύσεις (pH, ολική και πτητική οξύτητα, αλκοολικός τίτλος και συγκέντρωση αναγόντων σακχάρων), οργανοληπτικός έλεγχος ενώ προσδιορίστηκε και το προφίλ των πτητικών ενώσεων με αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (GC/MS). Τα αποτελέσματα έδειξαν διαφορές ανάμεσα στους οίνους που παράχθηκαν από τους διαφορετικούς ζυμομύκητες ως προς τα πτητικά συστατικά του αρώματος τους.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: Ποικιλία Νεγκόσκα, ροζέ οινοποίηση, ζυμομύκητες, αρωματικό δυναμικό

Study of technological interventions during winemaking in the aromatic profile of rose wines from Negkoska variety

*MSc: Current Food Technology I) Dairy Science & Technology II) Oenology
Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Oenology & Alcoholic Drinks*

Abstract

The purpose of this thesis was to study the effect of different yeast strains on the aromatic profile of red wines from the Negkoska variety. The present study was carried out at the premises of Boutari Winery SA in Goumenissa and at the Chemistry and Food Technology Laboratory of the Chemistry Department of the AUTH.

The grapes for the microvinifications were selected from a vineyard in Goumenissa and for the needs of the experiment, four different commercial preparations (strains) of yeast were used, more specifically a *Sacharomyces cerevisiae*, a *Torulaspora delbrueckii* which was used in successive inoculation with another *S.cerevisiae* and a hybrid *S. cerevisiae* × *S. Paradoxus*. The process of each microvinification was carried out in duplicate. The wines produced were subjected to all the classical analyzes (pH, total and volatile acidity, alcoholic strength and concentration of reducing sugars), organoleptic control, while the profile of volatile compounds was also determined by gas chromatography combined with mass spectrometry (GC/MS). The results showed differences between the wines produced by the different yeasts in terms of their volatile aroma components.

Scientific area: Oenology

Keywords: Negkoska variety, rose winemaking, yeasts, aromatic potential

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο οινολογίας του τμήματος χημείας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος της οινολογίας του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επίκουρη Καθηγήτρια Οινολογίας κ. Ευφημία Χατζηδημητρίου, που με δέχτηκε στο εργαστήριο και υπό την επίβλεψη της πραγματοποιήθηκε η παρούσα εργασία. Την ευχαριστώ που μου εμπιστεύτηκε την ανάθεση της συγκεκριμένης εργασίας και για τον πολύτιμο χρόνο που μου αφιέρωσε όποτε χρειαζόμουν την βοήθεια της. Η καθοδήγηση της ήταν άμεση, πάντα επι του θέματος και καθοριστική.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Οινολογίας κ.Κοτσερίδη Γεώργιο και την κυρία Νίκη Προξενιά για όλη τη γνώση που μου μετέδωσαν για το κρασί και την πολύτιμη καθοδήγηση τους σε όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών σπουδών μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στον επικεφαλής Οινολόγο του κτήματος Κυρ-Γιάννη, Αντώνη Κιοσέογλου, για την ευκαιρία που μου έδωσε, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε ώστε να πραγματοποιήσω μέρος του πειράματος στις εγκαταστάσεις τους και για όλη τη γνώση που μου μετέδωσε. Θέλω να ευχαριστήσω επίσης και τον οινολόγο του κτήματος Κυρ-Γιάννη, Φώτη Κοντίδη, που ήταν δίπλα μου σε όλη την διάρκεια των οινοποιήσεων του πειράματος, για όλες τις συμβουλές και την καθοδήγηση που μου έδωσε.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, Σταύρο και Αλεξάνδρα, για την στήριξη, την ενθάρρυνση και την υπομονή τους σε κάθε μου βήμα.

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή.....	10
2. Η ποικιλία Νεγκόσκα	12
2.1 Γενικά στοιχεία.....	12
2.2. Χαρακτηριστικά των οίνων από Νεγκόσκα.....	12
2.3.Ανασκόπηση βιβλιογραφίας.....	15
3. Ερυθρωπή (ροζέ) οινοποίηση.....	18
3.1 Οίνοι ροζέ προερχόμενοι από απευθείας πίεση της σταφυλόμαζας.....	18
3.2 Οίνοι ροζέ προερχόμενοι από βραχύχρονη εκχύλιση	19
4. Το άρωμα των οίνων	20
4.1 Πτητικά συστατικά που προέρχονται από το σταφύλι (πρωτογενές άρωμα).....	21
4.1.1 Τερπένια.....	21
4.1.2 C ₁₃ -Νορισοπρενοειδή	21
4.1.3 Μεθοξυπυραζίνες.....	22
4.1.4 Πτητικές θειούχες ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των θειολών.....	22
4.1.2 Αλκοόλες με 6 άτομα C.....	22
4.2. Πτητικά συστατικά που δημιουργούνται κατά την αλκοολική ζύμωση (δευτερογενές άρωμα)	23
4.2.1 Ανώτερες αλκοόλες.....	23
4.2.2 Εστέρες.....	23
4.2.3 Αλειφατικά μονοκαρβονικά οξέα	24
4.2.4 Πτητικές φαινόλες	25
4.2.5 Θειούχες ενώσεις.....	25
4.2.6 Αλδεΐδες	26
4.2.7 Ακετάλες	26
4.2.8 Λακτόνες/ Φουρανόνες.....	26
4.3. Πτητικά συστατικά που δημιουργούνται κατά την παλαίωση (τριτογενές άρωμα)	
27	
4.3.1 Λακτόνες	28
4.3.2 Φαινολικές αλδεΐδες και πτητικές φαινόλες.....	28
4.3.4 Νορισοπρενοειδείς ενώσεις.....	28
4.3.5 Φουρανικά παράγωγα.....	29
5. Οι ζύμες και ο ρόλος τους στην παραγωγή του οίνου.....	29
5.1 Γενικά χαρακτηριστικά των ζυμών.....	29
5.2 Ζύμες <i>Saccharomyces</i>	31
5.2.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32

5.2.2	<i>Saccharomyces paradoxus</i>	33
5.2.3	Υβρίδια μεταξύ ζυμών <i>Saccharomyces</i>	34
5.3	Ζύμες non- <i>Saccharomyces</i>	35
5.3.1	Η εξέλιξη των ζυμών non- <i>Saccharomyces</i>	35
5.3.2	Η ζύμη <i>Torulaspora delbrueckii</i>	37
6.	Μέθοδοι κατεργασίας και ανάλυσης δειγμάτων για τον προσδιορισμό των πτητικών συστατικών σε οίνους	39
6.1	Γενικά.....	39
6.2	Εκχύλιση στερεής φάσης - Solid-phase extraction (SPE).....	39
7.	Οργανοληπτική αξιολόγηση οίνων.....	40
2.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	43
2.1	Υλικά.....	43
2.1.1	Δείγματα.....	43
2.1.	Πρότυπες ενώσεις	44
2.1.2	Διαλύτες και αντιδραστήρια.....	44
2.1.2	Όργανα και συσκευές.....	45
2.1.3	Γυάλινα σκεύη.....	45
2.1.4	Λοιπός εξοπλισμός.....	45
2.2	Μέθοδοι.....	46
2.2.1	Πειραματική ερυθρωπή οиноποίηση.....	46
2.2.2	Ζυμομόκητες.....	52
2.2.3	Αναλύσεις δειγμάτων.....	54
3.	Αποτελέσματα - Συζήτηση.....	59
3.1	Αναλυτικά χαρακτηριστικά των οίνων	59
3.2	Παρακολούθηση αλκοολικής ζύμωσης γλευκών	61
3.3	Αποτελέσματα αεριοχρωματογραφικής ανάλυσης	61
3.3.1	Αλκοόλες.....	63
3.3.2.	Αλδεΐδες.....	74
3.3.3.	Κετόνες.....	80
3.3.4.	Εστέρες.....	84
3.3.5.	Μονοτερπενικές ενώσεις.....	99
3.3.6	C ₁₃ Νορισοπρενοειδείς ενώσεις.....	109
3.3.7	Μονοκαρβονικά οξέα	111
3.3.8.	Φαινολικές ενώσεις.....	120
3.3.9	Λακτόνες	128
3.3.10	Υδρογονάνθρακες.....	129

3.3.11 Λοιπές ενώσεις	129
3.4 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων	130
3.5 Πολυπαραγοντική ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA).....	141
3.6 Αποτελέσματα και πολυπαραγοντική ανάλυση οργανοληπτικής αξιολόγησης....	143
4. Παρατηρήσεις - Συμπεράσματα.....	146
5. Βιβλιογραφία	148

Μέρος Ι

**Θεωρητική προσέγγιση της επίδρασης των τεχνολογικών
επεμβάσεων κατά την οινοποίηση στο αρωματικό προφίλ
των οίνων**

1. Εισαγωγή

Η ποικιλία *Vitis vinifera* L. cv Νεγκόσκα θεωρείται μία ενδιαφέρουσα ελληνική ερυθρή ποικιλία η οποία προέρχεται από την Νάουσα, ωστόσο, σήμερα η καλλιέργειά της εντοπίζεται κυρίως στις πλαγιές του όρους Πάικο. Είναι άριστα προσαρμοσμένη στα γρανιτικού τύπου εδάφη της περιοχής της Γουμένισσας και ιδιαίτερα στις κλιματολογικές συνθήκες της, ενώ λόγω της ποικιλομορφίας των προσανατολισμών αλλά και του ανάγλυφου της περιοχής, οι οινοποιοί προσπαθούν να την «εκφράσουν» με διαφορετικά στυλ οίνων. Τα ασβεστολιθικά εδάφη της περιοχής της Γουμένισσας, η έλλειψη βροχής κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, η ομίχλη που παρατηρείται λόγω της γεινίασης με τον ποταμό Αξιό, ο ευεργετικός άνεμος κατά τους μήνες του καλοκαιριού, καθώς και οι χαμηλής παραγωγής αμπελώνες ηλικίας 40-50 ετών, είναι παράμετροι που διαμορφώνουν την καλλιέργεια και την έκφρασή της ποικιλίας στην συγκεκριμένη περιοχή.

Το κρασί είναι ένα πολύπλοκο μείγμα που αποτελείται από οργανικές καθώς και ανόργανες ενώσεις. Ποικίλοι συντελεστές επηρεάζουν τη σύνθεσή του, οι οποίοι ξεκινούν από το σταφύλι, περνούν από τη διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης και ωρίμανσης σε δρύινο βαρέλι, και φθάνουν μέχρι την παλαίωση του οίνου στη φιάλη. Οι αμπελουργικές τεχνικές που δέχεται το αμπέλι αλλά και όλες οι οινοποιητικές μεταχειρίσεις του γλεύκους και στη συνέχεια του οίνου είναι καθοριστικής σημασίας για την ποιότητα και το αρωματικό προφίλ του προϊόντος που θα έχουμε στο τέλος.

Το αρωματικό προφίλ των οίνων οφείλεται σε πτητικά συστατικά που ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες χημικών ενώσεων όπως αλκοόλες, εστέρες, αλδεΐδες, οξέα, τερπένια κ.ά.. Τα συστατικά αυτά βρίσκονται στο αμπέλι, ή δημιουργούνται στο στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης ή/και της ωρίμανσης σε δρύινο βαρέλι και αργότερα στη φιάλη. Η οσμή και το άρωμα του κρασιού βασίζονται στο σύνολό τους.

Σκοπός αυτής της Διπλωματικής εργασίας είναι να μελετηθεί ο αντίκτυπος ποικίλων τεχνολογικών επεμβάσεων κατά το στάδιο της οινοποίησης στο αρωματικό προφίλ των οίνων από την ερυθρή, γηγενή ποικιλία *Vitis vinifera* L. cv Νεγκόσκα. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η επίδραση της χρήσης διαφορετικών ζυμομυκήτων *Saccharomyces* και non-*Saccharomyces* για την πραγματοποίηση της αλκοολικής ζύμωσης και την παραγωγή ερυθρωπού μονοποικιλιακού κρασιού καθώς και εφαρμογής της τεχνικής παραμονής με τις οινολάσπες, στον αρωματικό χαρακτήρα

των τελικών προϊόντων. Παράλληλα έγινε διερεύνηση της σύστασης του πτητικού κλάσματος των οίνων από την συγκεκριμένη ποικιλία, για την οποία δεν βρέθηκαν στοιχεία στη βιβλιογραφία. Τα αποτελέσματα της εργασίας αναμένεται να αποτελέσουν χρήσιμο εργαλείο για οινοποιούς και οιολόγους καθώς και σπουδαίο εγχειρίδιο για την επιλογή των τεχνικών που καλούνται να εφαρμοστούν στο στάδιο της οινοποίησης, προκειμένου να αναδειχθεί ο τυπικός χαρακτήρας των παραγόμενων οίνων.

2. Η ποικιλία Νεγκόσκα

2.1 Γενικά στοιχεία

Πρόκειται για ποικιλία που καλλιεργείται στον ευρύτερο χώρο της Μακεδονίας. Ετυμολογικά η λέξη παραπέμπει στη σλαβική ονομασία της Νάουσας - Νεγκούς ή Νεγκόσκα. Γνωστή, επίσης, με την ονομασία Ποπόλκα Ναούσης ή Νεγκόσκα Ποπόλκα. Προς το τέλος της δεκαετίας του '60, αυτή η ποικιλία εξαφανίζεται από το χώρο της Νάουσας και μεταφέρεται σε αυτόν της Γουμένισσας, όπου σήμερα είναι και η κύρια περιοχή καλλιέργειάς της, σε μια έκταση που αγγίζει τα 440 στρέμματα (από τα 510 συνολικά σε όλη την επικράτεια) (Γκόγκος, 2021).

Η Νεγκόσκα θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως πολυδύναμη και πολλά υποσχόμενη γηγενής ποικιλία, που είναι δυνατή να προσφέρει διαφορετικούς τύπους κρασιών, με ξεχωριστά ποιοτικά γνωρίσματα, αναλόγως με τον τρόπο οινοποίησης.

Κατά την πλήρη ωρίμανση, η οποία τοποθετείται τέλη Σεπτεμβρίου με αρχές Οκτωβρίου, το γλεύκος χαρακτηρίζεται από μεγάλη περιεκτικότητα σε σάκχαρα (220-230 g/L), η οξύτητα είναι μέτρια (5-7,5 g/L σε τρυγικό οξύ) και η τιμή pH υψηλή (3,70- 4,00) (Σουφλερός, 1997), ενώ οι οίνοι της χαρακτηρίζονται ως *“υψηλόβαθμοι, μέτριας οξύτητας, με έντονο κόκκινο χρώμα”* (Σπινθηροπούλου, 2001; Σταύρακας, 2010).

Ο συνδυασμός της Νεγκόσκα με την ποικιλία Ξινόμαυρο δίνει τον ερυθρό ξηρό οίνο Προστατευόμενης Ονομασίας Προελεύσεως (Π.Ο.Π.) "Γουμένισσα". Επίσης συμμετέχει στην παραγωγή οίνων Προστατευόμενης Γεωγραφικής Ένδειξης (Π.Γ.Ε) “Πλαγιές Πάικου”, λευκών και ερυθρών, ξηρών, ημίξηρων, ημίγλυκων, και γλυκών καθώς και ερυθρωπών (ροζέ) ξηρών, ημίξηρων και ημίγλυκων οίνων (Υφιστάμενες ονομασίες οίνων – Τεχνικός φάκελος, Γουμένισσα, 2011; Υφιστάμενες ονομασίες οίνων – Τεχνικός φάκελος, Πλαγιές Πάικου, 2011; Προδιαγραφή του προϊόντος (κανονισμός (εκ) 1234/2007 αρ. 118γ, παράγραφος 2), Γουμένισσα, 2011; Προδιαγραφή του προϊόντος (κανονισμός (εκ) 1234/2007 άρθρο 118 γ, παράγραφος 2), Πλαγιές Πάικου, 2011).

2.2. Χαρακτηριστικά των οίνων από Νεγκόσκα

Από την ποικιλία Νεγκόσκα παράγονται κυρίως ερυθροί αλλά και ερυθρωποί οίνοι, ξηροί, υψηλής ποιότητας.

Η Νεγκόσκα περιλαμβάνεται ως συνιστώμενη οινοποιήσιμη ποικιλία αμπέλου στο Αμπελουργικό Διαμέρισμα της Μακεδονίας, συμμετέχοντας στον ερυθρό ξηρό οίνο ΠΟΠ Γουμένισσα (θεσμοθετήθηκε το 1979), σε ποσοστό τουλάχιστον 20%, μαζί με το Ξινόμαυρο, καθώς και στον ερυθρό και ερυθρωπό οίνο ΠΓΕ Πλαγιές Πάικου (θεσμοθετήθηκε το 2009), ενώ την τελευταία δεκαετία παρατηρείται έντονο ενδιαφέρον των οινοποιών για παραγωγή μονοποικιλιακών -ερυθρών και ερυθρωπών- οίνων από την ποικιλία.

Οι ερυθροί οίνοι χαρακτηρίζονται από υψηλό αλκοολικό τίτλο, μέτρια οξύτητα, και καλό χρώμα σύμφωνα με την μελέτη της ENOABE, το 2005. Παραγωγοί και οινολόγοι που έχουν ασχοληθεί με την οινοποίησή της αναφέρουν ότι *Δίνει κρασιά υψηλόβαθμα, με μέτρια οξύτητα, έντονο χρώμα και αρώματα λουλουδιών και κόκκινων φρούτων, ή Όταν οινοποιείται μόνη της, ... δίνει πολύ φρουτώδη αρώματα καθώς και Δίνει χρώμα και γεύση φρούτων, και Το σταφύλι της δίνει πολύ καλά, φρέσκα κρασιά, αρωματικά, φρουτώδη* (Λογοθέτης, 2009). Τα αποτελέσματα της πρόσφατης έρευνάς μας αναφορικά με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά -εστιάζοντας στο άρωμα- μονοποικιλιακών ερυθρών και ερυθρωπών οίνων από Νεγκόσκα, τα οποία ανακτήθηκαν από τους ιστότοπους των οινοποιείων καθώς και άλλους σχετικούς με οινογνωσία ιστότοπους, παρουσιάζονται στους **Πίνακες 1** και **2**. Τα χαρακτηριστικά των οίνων φαίνεται ότι είναι άρρηκτα συνδεδεμένα με τον τρόπο οινοποίησης και γενικότερα τη φιλοσοφία κάθε παραγωγού η οποία ξεκινά από τον τρόπο καλλιέργειας για να καταλήξει στην οινοποιητική διαδικασία. Παρόλα αυτά φαίνεται ότι οι οίνοι από Νεγκόσκα -ιδιαίτερα οι ερυθρωποί- χαρακτηρίζονται από αρώματα κόκκινων φρούτων (σμέουρα, βατόμουρα, κεράσια, φράουλα) είτε σε φρέσκια είτε σε πιο εξελιγμένη εκδοχή (αποξηραμένα φρούτα).

Πίνακας 1. Εμπορικοί ερυθροί οίνοι από την ποικιλία Νεγκόσκα (περιοχή Γουμένισσας) και τα αρωματικά τους χαρακτηριστικά (σε παρένθεση η εσοδεία)

Εμπορικά δείγματα	Άρωμα οίνων
Δείγμα 1 (2013) ^a	Έντονα αρώματα γης, βρεγμένα φύλλα, μανιτάρια, τρούφα, κυνήγι και δέρμα
Δείγμα 1 (2013) ^b	Ώριμα <u>κόκκινα φρούτα</u> , γλυκά και πικάντικα μπαχάρια. <u>Βατόμουρο</u> , κανέλα, μαύρο πιπέρι, φρυγανιά, δρυς αποξηραμένα δαμάσκηνα. Βρεγμένα φύλλα, δέρμα, σοκολάτα και ελαφρά βοτανικότητα
Δείγμα 2 (2011) ^c	Αρώματα <u>φραμπουάζ</u> , πιπεριού, κουβερτούρας

Δείγμα 3 (2017)^a	Φινετσάτα <u>αρώματα</u> δέρματος, μπαχαρικών, βοτάνων και <u>κόκκινων φρούτων</u>
Δείγμα 4 (2018)^a	Μεγάλη ένταση μπαχαρικών, βοτάνων και <u>κόκκινων φρούτων</u> και νύξεις από γήινα στοιχεία, όπως δέρμα και κυνήγι
Δείγμα 5^d	Πολύ έντονη μύτη η οποία αποτελείται από <u>αρώματα</u> αποξηραμένης <u>φράουλας</u> , <u>κόκκινων φρούτων</u> , γαρύφαλλου, κανέλας, βαλσάμικου με κάποιες φρέσκες πράσινες νότες.
Δείγμα 6^e	Αρώματα μούρων, κόκκινων κερασιών, κανέλας, με κάποιες φυτικές νότες να ακολουθούν.
Δείγμα 7^f	Έντονα αρώματα βατόμουρου, μπανάνας, μικρών κόκκινων φρούτων
Δείγμα 8^f	Αρώματα μικρών κόκκινων φρούτων με νότες καπνού, βοτάνων και ξηρών καρπών

Πηγές: ^aΣκλαβενίτης, 2019; ^b<https://www.botilia.gr/p/kokkino-krasi/Angels-Heart-Negoska-red-2013-Tatsis>; ^cΚεφαλοπούλου, 2016; ^d<https://chatzivaritis.gr>; ^e<https://www.mycava.gr/gr/chatzibaruti-spin-2019-eruthro-750ml.html>; ^fNouveau - Οινοποιεία Αϊδαρίνη (aidarini.gr)

Πίνακας 2. Εμπορικοί ερυθροποί οίνοι από την ποικιλία Νεγκόσκα (περιοχή Γουμένισσας) και τα αρωματικά τους χαρακτηριστικά (σε παρένθεση η εσοδεία)

Εμπορικά δείγματα	Αρώμα οίνων
Δείγμα 1 (2018)^a	Έντονα <u>αρώματα</u> βοτάνων, <u>κόκκινων φρούτων</u> και φαρμακευτικές νύξεις
Δείγμα 2 (2020)^b	Στη μύτη κυριαρχούν αρώματα λουλουδιών και βανίλιας, σε συνδυασμό με <u>νότες κόκκινων φρούτων</u> και μπαχαρικών
Δείγμα 3^a	Αρώματα από <u>μαρμελαδιασμένα κόκκινα φρούτα</u> , βότανα, γηρασμένα άνθη και αποξηραμένες φλούδες εσπεριδοειδών
Δείγμα 4 (2019)^c	<u>Φράουλα</u> , <u>πετροκέρασο</u> , εσπεριδοειδή, νεράντζι, φλούδα πορτοκαλιού, γλυκό του κουταλιού ντοματάκι, μέλι, κανέλα, μέντα. Τα αρώματα της μύτης εκφράζονται εντονότερα στο στόμα με τη <u>φράουλα</u> , την <u>τομάτα</u> , την <u>κανέλα</u> και την <u>μαντζουράνα</u> να <u>κυριαρχούν</u>
Δείγμα 5 (2015)^d	<u>Κυρίαρχη η φράουλα</u> στη μύτη και τα <u>φρούτα δάσους</u> με νύξεις μελιού
Δείγμα 6^e	<u>Αρώματα κόκκινων φρούτων</u> , και ροζ ανοιξιότικων λουλουδιών

Πηγές: ^aΣκλαβενίτης, 2019; ^b<https://katogiaverooff.gr/ta-krasia-mas/inima-negoska-rose>; ^c<https://www.botilia.gr/p/rose-afrawd-epidorpia-krasia/Negoska-rose-2018-Tatsis>; ^dΚεφαλοπούλου, 2016; ^e<https://www.alexandride-estate.com/wine-type/negoska/>

2.3.Ανασκόπηση βιβλιογραφίας

Στους Πίνακες 3 και 4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την ανασκόπηση της επιστημονικής βιβλιογραφίας σχετικά με την ποικιλία Νεγκόσκα (πρόσβαση Νοέμβριος 2021). Από την έρευνα προέκυψαν 2 Διπλωματικές εργασίες, 11 ερευνητικές εργασίες σε επιστημονικά περιοδικά, που περιλαμβάνουν στοιχεία και για τη συγκεκριμένη ποικιλία (ωστόσο, με εξαίρεση την εργασία της Pasvanka και συν. (2019), σε όλες που αφορούν μελέτη δειγμάτων οίνων, η ποικιλία εξετάζεται μέσω της συμμετοχής της σε οίνο Γουμένισσα κι όχι μονοποικιλιακό), μία μελέτη της ENOABE (2005) σχετικά με τον επαναπροσδιορισμό των ζωνών ΟΠΑΠ Νάουσας και Γουμένισσας ενώ στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας του Α.Π.Θ., την περίοδο υλοποίησης αυτής της Διπλωματικής, βρισκόταν σε εξέλιξη πτυχιακή εργασία (Τριανταφύλλου, Κ.) με αντικείμενο τη διερεύνηση της σύστασης σε πτητικά συστατικά ραγών σταφυλής Νεγκόσκα οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτη ύλη για την παραγωγή των οίνων της παρούσας Διπλωματικής (η εργασία παρουσιάστηκε τον Φεβρουάριο 2022).

Συνοπτικά, οι εργασίες αφορούσαν στη μελέτη αμπελογραφικών χαρακτηριστικών και στον προσδιορισμό φαιολικών συστατικών και αντιοξειδωτικής δράσης ραγών, γιγάρτων και οίνων, από διάφορες γηγενείς ποικιλίες, μεταξύ αυτών και η Νεγκόσκα, καθώς και στη δυνατότητα διαφοροποίησης και γενετικής ταυτοποίησης ποικιλιών αμπέλου με χρήση διαφόρων μεθόδων. Από την έρευνα μας δεν προέκυψε κάποια εργασία αναφορικά με το άρωμα ή πτητικές ενώσεις που συμβάλλουν σε αυτό, και απαντούν είτε σε σταφυλές είτε σε οίνους από την ποικιλία Νεγκόσκα.

Πίνακας 3. Βιβλιογραφική ανασκόπηση -Διπλωματικές εργασίες- αναφορικά με την ποικιλία Νεγκόσκα

Σκοπός	Παράμετροι που μελετήθηκαν	Αναφορά
Ταξινόμηση και διερεύνηση μερικών ελληνικών ποικιλιών του είδους <i>Vitis vinifera</i> L.	Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά (νεαρή κορυφή, νέα φύλλα, αναπτυγμένα φύλλα χαρακτηριστικά σταφυλιού, χαρακτηριστικά ράγας), και χαρακτηριστικά γλεύκους (σάκχαρα, οξύτητα) με χρήση των κωδικών περιγραφής του ΟΙV, καθώς και βάρος ραγών, περιεκτικότητα φλοιών σε ανθοκύανες, φαιολικά συστατικά φλοιών και γιγάρτων, σε 25 ερυθρές και 34 λευκές ελληνικές ποικιλίες <i>Vitis vinifera</i> L. Γενετική ανάλυση 16 ερυθρών και 36 λευκών ποικιλιών με μοριακούς δείκτες	Ιακωβίδου, Σ. (2017). Αμπελογραφική και γενετική ταυτοποίηση μερικών Ελληνικών ποικιλιών της Αμπέλου (<i>Vitis vinifera</i> L.)
Διερεύνηση αμπελογραφικών χαρακτηριστικών ποικιλιών αμπέλου	Φαινολογικά στοιχεία ποικιλιών Αμπελογραφικοί χαρακτήρες (νεαρή βλάστηση, ώριμο φύλλο, σταφυλή, βλαστός, ράγα, κληματίδα), Τεχνολογικά χαρακτηριστικά γλεύκους (σάκχαρα, οξέα)	Διαμαντόπουλος Η. (2006) Αμπελογραφική περιγραφή 23 γηγενών και ξενικής προέλευσης ποικιλιών αμπέλου (<i>Vitis vinifera</i> L.)

Πίνακας 4. Βιβλιογραφική ανασκόπηση -Ερευνητικές εργασίες σε επιστημονικά περιοδικά- αναφορικά με την ποικιλία Νεγκόσκα (συμμετοχή σε οίνους Γουμένισσα)

Σκοπός	Παράμετροι που μελετήθηκαν	Αναφορά
Ανάπτυξη εύκολης, γρήγορης, αξιόπιστης αναλυτικής μεθόδου για τον προσδιορισμό μακροστοιχείων σε οίνους (οίνοι από Νεγκόσκα)	Μακροστοιχεία (Na, Mg, P, K, Ca) σε οίνους με ICP-MS	Pasvanka et al. (2019) Geographic characterization of Greek wine by inductively coupled plasma-mass spectrometry macroelemental analysis.
Ταυτοποίηση και γενετική διαφοροποίηση 49 ελληνικών ποικιλιών <i>Vitis vinifera</i> L. της Βόρειας, Δυτικής και Κεντρικής Ελλάδας (μεταξύ αυτών και Νεγκόσκα)	Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά (λίστα χαρακτηριστικών με βάση τον ΟΙV) RAPD μοριακή ανάλυση σταφυλιών	Biniari & Stavrakaki (2019) Genetic Study of Native Grapevine Varieties of Northern, Western and Central Greece with the Use of Ampelographic and Molecular Methods.
Δημιουργία βάσης δεδομένων για την ταυτοποίηση και γενετική διαφοροποίηση 53 ελληνικών ποικιλιών <i>Vitis vinifera</i> L. της Β. Ελλάδας (μεταξύ αυτών και Νεγκόσκα)	Γενότυπος ποικιλιών αμπέλου	Merkouropoulos, & Mylona (2018) Assessment of genetic diversity of <i>Vitis vinifera</i> local cultivars of northern Greece as a means for valorization of vine and wine territories.
Διερεύνηση δυνατότητας ταυτοποίησης και γενετικής διαφοροποίησης 46 ελληνικών ποικιλιών <i>Vitis vinifera</i> L. (μεταξύ αυτών και Νεγκόσκα) με χρήση της τεχνικής RAPD – PCR	Γενότυπος ποικιλιών αμπέλου	Biniari & Stavrakakis (2012) Genetic study of 46 Greek grape cultivars by random amplified polymorphic DNA markers (RAPD- PCR).
Διερεύνηση επιπέδων ολικών φαιολών, ανθοκυανών, αντιοξειδωτικής δράσης και	Φαιολικό προφίλ οίνων [ολικές φαινόλες μέθοδος Singleton και Rossi (Folin-Ciocalteu), ανθοκύανες μέθοδος Ribéreau-	Gougoulis et.al. (2010). Studies of total phenol contents, anthocyanins, and

ικανότητας παρεμπόδισης ρίζας <i>DPPH</i> ελληνικών ερυθρών οίνων (οίνοι <u>Γουμένισσα</u>)	<i>Gayon και Stonestreet</i> Αντιοξειδωτική δράση (<i>FRAP</i> και σταθερή ρίζα <i>DPPH</i>)	antioxidant activity of some Greek red wines
Διερεύνηση της σύστασης και περιεκτικότητας σε ανθοκυανίνες, ερυθρών ελληνικών και ξενικών ποικιλιών (μεταξύ αυτών και <u>Νεγκόσκα</u>) και της συσχέτισης με την αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων τους	Φαινολικό προφίλ ραγών (<i>ανθοκυανίνες με HPLC</i>) Αντιοξειδωτική δράση (<i>σταθερή ρίζα DPPH</i>)	Kallithraka et al. (2005) Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (<i>Vitis vinifera</i> sp.): association with antiradical activity.
Διερεύνηση πολυφαινολικής σύνθεσης γιγάρτων λευκών και ερυθρών ελληνικών και ξενικών ποικιλιών (μεταξύ αυτών και <u>Νεγκόσκα</u>)	Φαινολικό προφίλ γιγάρτων (<i>επιμέρους φαινολικά συστατικά χαμηλού μοριακού βάρους με HPLC</i>)	Guendez et al. (2005). An Analytical Survey of the Polyphenols of Seeds of Varieties of Grape (<i>Vitis vinifera</i>) Cultivated in Greece: Implications for Exploitation as a Source of Value-added Phytochemicals.
Διερεύνηση πολυφαινολικής σύστασης γιγάρτων ερυθρών ελληνικών και ξενικών ποικιλιών (μεταξύ αυτών και <u>Νεγκόσκα</u>) και εξαγωγή πληροφοριών για την αντιοξειδωτική τους δράση	Φαινολικό προφίλ γιγάρτων (<i>ολικές φαινόλες μέθοδος Singleton και Rossi, επιμέρους φαινολικά συστατικά χαμηλού μοριακού βάρους με HPLC</i>) Αντιοξειδωτική δράση (<i>σταθερή ρίζα DPPH</i>)	Guendez et al. (2005) Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (<i>Vitis vinifera</i> sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity.
Διερεύνηση συγκέντρωσης <i>trans</i> -ρεσβερατρόλης σε ερυθρούς οίνους από ελληνικές ποικιλίες (οίνοι <u>Γουμένισσα</u>)	Επίπεδα ρεσβερατρόλης σε οίνους (<i>με χρήση HPLC</i>)	Kallithraka et al. (2001) The application of an improved method for <i>trans</i> -resveratrol to determine the origin of Greek red wines.
Διερεύνηση των καταλληλότερων αναλυτικών και/ή οργανοληπτικών παραμέτρων για την διαφοροποίηση και κατηγοριοποίηση των ελληνικών οίνων (λευκών και ερυθρών) με βάση την γεωγραφική τους προέλευση, σε συνδυασμό με χημειομετρία (οίνοι <u>Γουμένισσα</u>)	Φαινολικό προφίλ οίνων (<i>ολικές φαινόλες μέθοδος Singleton και Rossi, επιμέρους φαινολικά συστατικά και ανθοκυανίνες με HPLC</i>) Ανόργανα στοιχεία (μέταλλα) Οργανοληπτική αξιολόγηση οίνων με αξιοποίηση πλήρως εκπαιδευμένης ομάδας δοκιμαστών.	Kallithraka et al. (2001) Instrumental and sensory analysis of Greek wines; implementation of principal component analysis (PCA) for classification according to geographical origin
Διερεύνηση συγκέντρωσης <i>trans</i> -ρεσβερατρόλης σε οίνους (λευκούς και ερυθρούς) από ελληνικές ποικιλίες (οίνοι <u>Γουμένισσα</u>)	Επίπεδα ρεσβερατρόλης σε οίνους (<i>με χρήση HPLC</i>)	Dourtoglou et al. (1999) <i>Trans</i> -Resveratrol Concentration in Wines Produced in Greece

3. Ερυθρωπή (ροζέ) οινοποίηση

Ο ερυθρωπός (ροζέ) οίνος είναι ένας τύπος κρασιού που έχει θέση ανάμεσα στον λευκό και τον ερυθρό. Ο γενικός κανόνας είναι πως τα ερυθρωπά κρασιά προέρχονται από έγχρωμα σταφύλια· σε αυτά γίνεται εφαρμογή ολικής, μερικής ή καθόλου εκχύλισης. Αυτό εξαρτάται από το αν η περιεκτικότητα σε χρωστικές είναι μικρή, μέτρια ή μεγάλη, αντιστοίχως (Σουφλερός, 2015), ενώ υπάρχουν και περιπτώσεις όπου οι ροζέ οίνοι παράγονται από συνοινοποίηση λευκών και ερυθρών σταφυλιών.

Υπάρχουν διάφορα χαρακτηριστικά που δίνουν στους ροζέ οίνους την γοητεία τους. Είναι φρουτώδεις με ελαφριά δομή και σώμα ενώ μερικοί από αυτούς μπορούν να συνοδέψουν ένα γεύμα καθ'όλη τη διάρκειά του. (Ribéreau-Gayon, Dubourdieu, Doneche, Lonvaud, 2006).

Οι τρόποι παραγωγής ροζέ οίνων είναι οι εξής δύο:

- a) από λευκή οινοποίηση έγχρωμων σταφυλιών (απευθείας πίεση της σταφυλόμαζας)
- b) από ερυθρή οινοποίηση με περιορισμένη (βραχύχρονη) εκχύλιση

3.1 Οίνοι ροζέ προερχόμενοι από απευθείας πίεση της σταφυλόμαζας

Τα σταφύλια (απαραίτητη προϋπόθεση η χρήση έγχρωμων ποικιλιών) υφίστανται έκθλιψη, στράγγιση και πίεση. Αυτό γίνεται, επίσης, στην περίπτωση της παραγωγής λευκών οίνων (Σχήμα 1). Απαιτείται ένας ορισμένος χρόνος εκχύλισης, που πραγματοποιείται απευθείας στο πιεστήριο, όταν η σταφυλόμαζα στραγγίζει (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Ενίοτε επιδιώκεται ένα ελαφρό ξεκίνημα της εκχύλισης προκειμένου να αποκτηθεί το επιθυμητό χρώμα ή ακόμα επιζητείται η χρησιμοποίηση γλεύκους πίεσης για τον ίδιο σκοπό (Σουφλερός, 2015).

Η μερική στατική απολάσπωση του γλεύκους, το οποίο αφότου το παραλάβουμε, ηρεμεί για 5-6 ώρες και η πραγματοποίηση της αλκοολικής ζύμωσης σε συνθήκες παρεμφερείς με αυτές της λευκής οινοποίησης συνιστούν και κάποιες άλλες ενέργειες προκειμένου να παραχθεί ερυθρωπός οίνος



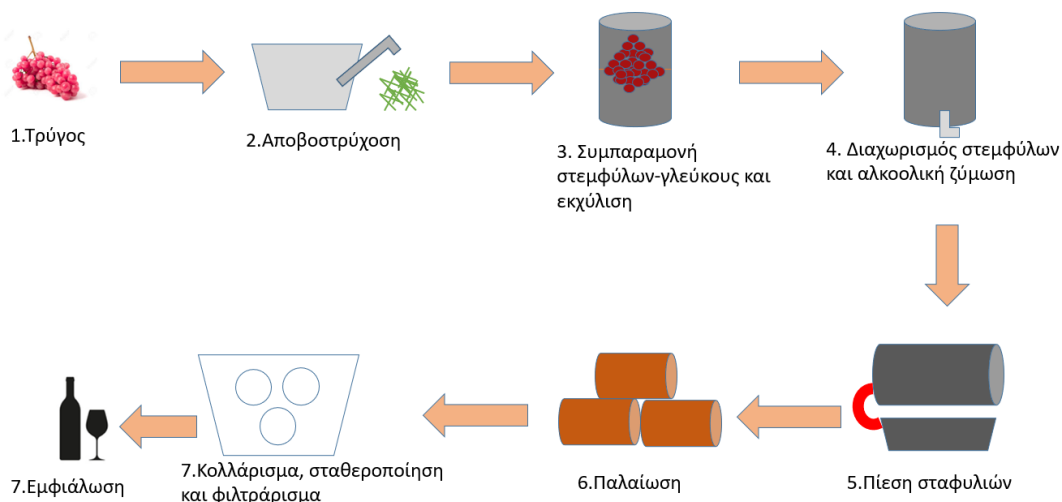
Σχήμα 1.1 Διάγραμμα παραγωγής ροζέ οίνων με εφαρμογή απευθείας πίεσης της σταφυλόμαζας έγχρωμων ποικιλιών

3.2 Οίνοι ροζέ προερχόμενοι από βραχύχρονη εκχύλιση

Ο τρόπος αυτός παρασκευής ροζέ οίνου είναι πιο κοντά στον ερυθρό συγκριτικά με τον προηγούμενο.

Για να παραχθεί ο ροζέ οίνος ακολουθείται βασικά η διαδικασία της ερυθρής οινοποίησης. Η σταφυλομάζα υποβάλλεται σε έκθλιψη, αποβοστρυχώνεται και οδηγείται στη δεξαμενή οινοποίησης (**Σχήμα 2**). Το γλεύκος παραμένει σε επαφή με τα στέμφυλα για κάποιες ώρες (2-20) (Ribereau-Gayon et al., 2006), καθώς είναι δυνατόν να φτάσει και στις 36 ανάλογα με τον επιθυμητό χρωματισμό του παραγόμενου οίνου και τις ποικιλίες των σταφυλιών. Εν συνεχεία παραλαμβάνεται με εκροή (αφαίμαξη) η υγρή φάση που αφήνεται να ζυμωθεί σε ξεχωριστή δεξαμενή (Σουφλερός, 2015).

Και τις δύο περιπτώσεις ακολουθούν ενέργειες όπως παλαίωση, σταθεροποίηση και φιλτράρισμα, μέχρι την τελική εμφιάλωση των οίνων.



Σχήμα 1.2 Οίνοι ροζέ προερχόμενοι από βραχύχρονη εκχύλιση και αφαιμάριξη

4. Το άρωμα των οίνων

Αρκετές εκατοντάδες πτητικές ενώσεις, σε συγκεντρώσεις που μπορεί να φτάνουν από μερικά mg/L έως λίγα ng/L ή και ακόμη χαμηλότερα, συνιστούν το άρωμα των κρασιών (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Οι ενώσεις αυτές προέρχονται από πολλαπλές πηγές και διεργασίες, ενώ διακρίνονται σε τρεις βασικές κατηγορίες: α) ενώσεις που απαντούν στο σταφύλι, όπως τα μονοτερπένια, νορισοπρενοειδή, μεθοξυπυραζίνες και πτητικές θειούχες ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των θειολών (Gonzalez-Barreiro, Rial-Otero, Cancho-Grande, Simal-Gándara, 2013), β) μεταβολίτες που αποτελούν προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των ζυμομυκήτων και βακτηρίων που πραγματοποιούν την αλκοολική και μηλογαλακτική ζύμωση, αντίστοιχα (μεταβολισμός σακχάρων, λιπαρών οξέων, και οργανικών αζωτούχων ενώσεων που βρίσκονται στο σταφύλι), καθώς και γ) ενώσεις που εκχυλίζονται κατά τη ζύμωση ή/και παλαίωση του οίνου σε δρύνιους περιέκτες και ποικίλουν ανάλογα με την προέλευση, ωρίμανση και ένταση καύσης του ξύλου βελανιδιάς (Garde-Cerdan, & Ancín-Azpilicueta, 2008). Μια ενδεικτική απαρίθμηση των κατηγοριών αρωμάτων που ανιχνεύονται στους οίνους είναι τα αρώματα λουλουδιών, φρούτων, ξηρών φρούτων και καρπών, φυτικά αρώματα, αρώματα μπαχαρικών κ.ά.

Στο στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης έχουμε παραγωγή του πιο μεγάλου ποσοστού των οσμηρών ενώσεων που βρίσκονται στους οίνους και αποτελείται κυρίως από αλκοόλες, αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων, οξικούς εστέρες ανώτερων αλκοολών, αλειφατικά μονοκαρβονικά οξέα και καρβονυλικές ενώσεις (Rapp and Mandery, 1986).

4.1 Πτητικά συστατικά που προέρχονται από το σταφύλι (προτογενές άρωμα)

Τα συστατικά αυτά ανήκουν, όπως προαναφέρθηκε, σε διάφορες τάξεις χημικών ενώσεων, με πιο σημαντικά τα τερπένια (χαρακτηριστικά των μοσχάτων ποικιλιών), τις C₁₃-νορισοπρενοειδείς ενώσεις, τις μεθοξυπυραζίνες, τις πτητικές θειούχες ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των θειολών καθώς και τις ενώσεις με 6 άτομα άνθρακα όπως η εξανόλη.

4.1.1 Τερπένια

Περίπου 40 τερπενικές ενώσεις έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα στα σταφύλια, κυρίως μονοτερπένια με τη μορφή υδρογονανθράκων, αλδεϋδών, αλκοολών ή ακόμη και εστέρων, αλλά και κάποια σεσκιτερπένια. Γενικώς αφορούν ενώσεις με έντονο και ευχάριστο αρωματικό χαρακτήρα και σημαντική οργανοληπτική επίδραση. Στη φύση έχουν εντοπιστεί πάνω από 4000 τερπενικές ενώσεις και σε εκείνες αποδίδεται το άρωμα των λουλουδιών (Τσακίρης, 2008).

Τα τερπένια προσδίδουν στους οίνους έντονο και ευχάριστο ανθικό χαρακτήρα. Έχουν υψηλό κατώφλι αντίληψης αλλά η αθροιστική και συνεργιστική επίδραση του ενός στο άρωμα του άλλου, θα καθορίσει τελικά την πραγματική συνεισφορά τους στο ποικιλιακό άρωμα (Καρίμαλη, 2018).

4.1.2 C₁₃-Νορισοπρενοειδή

Τα C₁₃-νορισοπρενοειδή αποτελούν σημαντικό μέρος των πτητικών ενώσεων ποικιλιών όπως το Cabernet Sauvignon (Bindon, Dry, & Loveys, 2007), Syrah (Pineau, Barbe, Van Leeuwen, & Dubourdieu, 2007, 2007), Sauvignon blanc (Marais, 1994) και Pinot noir (Fang & Qian, 2006). Ο σχηματισμός των C₁₃-νορισοπρενοειδών στο σταφύλι περιλαμβάνει την διάσπαση των καροτενοειδών. Τα ολικά C₁₃-νορισοπρενοειδή αυξάνονται κατά τη διάρκεια των ωρίμανσης των ραγών, και συμβάλουν στο φρουτώδες άρωμα του οίνου (Fang Yuan, Michael C. Qian, 2015).

4.1.3 Μεθοξυπυραζίνες

Αυτές οι ενώσεις έχουν μεγάλη σημασία για το άρωμα του οίνου λόγω των εξαιρετικά χαμηλών ορίων αντίληψής τους (1-2 ng/L σε νερό, Ribéreau-Gayon et al., 2006). Οι πυραζίνες (3-ισοβουτυλο-2-μεθοξυπυραζίνη, 3-*sec*-βουτυλο-2-μεθοξυπυραζίνη και 3-ισοπροπυλο-2-μεθοξυπυραζίνη) συνδέονται με το πράσινο, φυτικό άρωμα το οποίο είναι χαρακτηρίζει τους οίνους από τις ποικιλίες Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc και Merlot, καθώς και Sauvignon blanc, Chardonnay, Riesling (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Η 3-ισοβουτυλο-2-μεθοξυπυραζίνη κατέχει μείζοντα ρόλο στην οσμή πράσινης πιπεριάς συχνά εμφανή στο Sauvignon blanc (Allen, Lacey, Brown, and Harris, 1991).

4.1.4 Πτητικές θειούχες ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των θειολών

Υπάρχουν θειούχες ενώσεις που συνεισφέρουν σημαντικά στον φρουτώδη χαρακτήρα των οίνων με αρώματα όπως του φραγκοστάφυλλου, του γκρέιπφρουτ και του passionfruit τα οποία, σύμφωνα με την έρευνα των Benkwitz, Nicolau και συν., βρίσκονται σε πολύ υψηλά επίπεδα σε ποικιλιακούς οίνους Sauvignon blanc της Ν. Ζηλανδίας. Στους οίνους αυτούς, οι συγκεντρώσεις της 3-σουλφανυλο-εξαν-1-όλης (3MH) (με αρώματα γκρέιπφρουτ και passionfruit) κυμάνθηκαν μεταξύ 100 και 20000 ng/L, με όριο αντίληψης τα 60 ng/L ενώ του οξικού-3-σουλφανυλο-εξυλεστέρα, 3MHA (με γλυκά αρώματα passionfruit) κυμάνθηκαν στα 5-2500 ng/L με όριο αντίληψης τα 4 ng/L (Benkwitz and Nicolau, 2016).

4.1.2 Αλκοόλες με 6 άτομα C

Η εξανόλη, γνωστή και ως "leaf" αλκοόλη, έχει μία χορτώδη οσμή, την οποία αισθανόμαστε όταν περιέχεται σε αρκετή ποσότητα στους οίνους, μαζί με την *cis* και *trans* εξενόλη-1. Συνήθως εντοπίζεται και στο γλεύκος στο οποίο παράγεται μέσω της ενζυματικής οξείδωσης του λινολεϊκού οξέος ως αποτέλεσμα της έκθλιψης των ραγών (Waterhouse, Sacks, & Jeffery, 2020).

4.2. Πτητικά συστατικά που δημιουργούνται κατά την αλκοολική ζύμωση (δευτερογενές άρωμα)

4.2.1 Ανώτερες αλκοόλες

Ως ανώτερες ορίζονται οι αλκοόλες των οποίων η ανθρακική αλυσίδα αποτελείται από περισσότερα από δύο άτομα άνθρακα. Αποτελούν δευτερεύοντα προϊόντα του μεταβολισμού των αμινοξέων στο στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης από τον ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*, και ποσοστό έως και 50% του συνόλου των πτητικών συστατικών του οίνου (Sumbly, Grbin & Jiranek, 2010). Σε υψηλές συγκεντρώσεις (>500 mg/L) επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητα των οίνων καθώς προσδίδουν δριμύ, καυστικό χαρακτήρα ενώ σε χαμηλές (<300 mg/L) προσθέτουν στα επιθυμητά αρωματικά τους χαρακτηριστικά (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Στον οίνο απαντούν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση οι αμυλικές αλκοόλες 2-μεθυλο-1-βουτανόλη (15-150 mg/L) και 3-μεθυλο-1-βουτανόλη (70-500 mg/L) με χαρακτηριστική, δριμεία, ή φρουτώδη/αιθέρια/οινική οσμή, ανάλογα με τη συγκέντρωση, καθώς και η ισοβουτυλική αλκοόλη ή 2-μεθυλο-1-προπανόλη (6-170 mg/L) με αιθέρια/φρουτώδη οσμή (Bakker and Clarke, 2012). Σε μικρότερη συγκέντρωση υπάρχουν η 1-προπανόλη (10-70 mg/L) και η 1-βουτανόλη (0,5-8 mg/L) με οσμή φρουτώδη/παρεμφερή με οσμή αιθανόλης, και οσμή παρόμοια με της αιθανόλης, αντίστοιχα. Οι αλκοόλες 2-προπανόλη και 2-βουτανόλη καθώς και η 1-επτανόλη απαντούν σε ίχνη, για την 1-οκτανόλη αναφέρονται συγκεντρώσεις 1-2,5 mg/L ενώ για την 2-επτανόλη, 2-οκτανόλη, 1- & 2-εννεανόλη και 1-δεκανόλη δεν υπάρχουν στοιχεία (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Bakker and Clarke, 2012). Τέλος, η κυκλική (αρωματική) αλκοόλη 2-φαινυλοαιθανόλη με οσμή τριαντάφυλλου έχει βρεθεί σε συγκεντρώσεις 10-153 mg/L (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Bakker and Clarke, 2012).

4.2.2 Εστέρες

Οι εστέρες αποτελούν ενώσεις οι οποίες αν και, γενικά, απαντούν σε πολύ χαμηλά επίπεδα, ο καθένας ξεχωριστά σε συγκέντρωση συνήθως χαμηλότερη από το κατώφλι αντίληψης του και η συνολική τους συγκέντρωση δεν ξεπερνάει τα 100 mg/L, συμβάλλουν σημαντικά στο άρωμα των οίνων, αποτελώντας αφενός το 35-38% του συνόλου των πτητικών ενώσεων και αφετέρου τη βασική πηγή του φρουτώδους αρώματος, ιδιαίτερα όταν βρίσκονται σε συγκεντρώσεις ίσες ή

μεγαλύτερες από το κατώφλι αντίληψής τους (Sumbly et al., 2010). Στους οίνους έχουν ταυτοποιηθεί περισσότεροι από 160 εστέρες (Bakker and Clarke, 2012). Σχηματίζονται ως αποτέλεσμα αντιδράσεων εστεροποίησης οι οποίες λαμβάνουν χώρα είτε στο στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης και τη βοήθεια ενζύμων είτε στη φάση της παλαίωσης μέσω χημικών διαδικασιών και πιο συγκεκριμένα, όξινια καταλυόμενων αντιδράσεων (Ribereau - Gayon et al., 2006). Οι πιο σημαντικές ομάδες εστέρων που απαντώνται στους οίνους είναι οι αιθυλεστέρες των λιπαρών οξέων μικρής και μεσαίας αλυσίδας και οι οξικοί εστέρες των ανώτερων αλκοολών (Saerens, Delvaux, Verstrepen & Thevelein, 2010).

Από τους αιθυλεστέρες των λιπαρών οξέων πιο σημαντικοί, καθώς απαντούν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση, θεωρούνται εκείνοι που δημιουργούνται από την αιθανόλη και κορεσμένα οξέα όπως το εξανοϊκό, το οκτανοϊκό και το δεκανοϊκό, ενώ από τους οξικούς εστέρες των ανώτερων αλκοολών, οι οξικοί εστέρες της ισοβουτυλικής και ισοαμυλικής αλκοόλης.

Οι εστέρες μικρού μοριακού βάρους λέγονται και 'φρουτώδεις' εστέρες καθώς δίνουν ένα ευχάριστο φρουτώδες άρωμα στον οίνο. Όσο το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας μεγαλώνει, το πηπτικό προφίλ των εστέρων αλλάζει από φρουτώδης σε σαπωνοειδή για να καταλήξει σε λιπαρή νότα, όπως συμβαίνει με τους εστέρες των λιπαρών οξέων με C₁₆-C₁₈ (Killian and Ough, 1979).

4.2.3 Αλειφατικά μονοκαρβονικά οξέα

Είναι κορεσμένα μονοκαρβονικά λιπαρά οξέα με 2-12 άτομα άνθρακα. Τα πτητικά οργανικά οξέα όταν βρίσκονται σε συγκέντρωση κοντά στο κατώφλι αντίληψης, συμβάλλουν στην πολυπλοκότητα του αρώματος του οίνου, σε υψηλότερες ωστόσο συγκεντρώσεις την επηρεάζουν αρνητικά (Bakker and Clarke, 2012). Το οξικό οξύ (C₂) αποτελεί το πιο σημαντικό πτητικό οξύ των οίνων. Προσδίδει οσμή ξιδιού και συνδέεται, κατά κύριο λόγο, με την προσβολή του οίνου από τα οξικά βακτήρια και την αύξηση της πτητικής οξύτητας, ωστόσο σε μικρές συγκεντρώσεις συμβάλλει, στη πολυπλοκότητα του αρώματος του οίνου (Καρίμαλη, 2018). Το προπανοϊκό (C₃) και βουτυρικό (C₄) οξύ με οσμές σόγιας και βουτύρου, αντίστοιχα, σπάνια βρίσκονται σε επίπεδα πάνω από το κατώφλι αντίληψης (Jackson, 2002), ωστόσο υψηλή συγκέντρωσή τους, συνήθως υποδεικνύει βακτηριακή προσβολή. Τέλος, τα εξανοϊκό, οκτανοϊκό, και δεκανοϊκό οξύ παράγονται από τους

ζυμομύκητες και σε ψηλή συγκέντρωση προσδίδουν οσμή ταγγού, τυριού και ιδρώτα (Waterhouse et al., 2016).

4.2.4 Πτητικές φαινόλες

Εδώ ανήκουν ενώσεις όπως η ευγενόλη, βανιλίνη, συριγγόλη, η βινυλο- και αιθυλο-φαινόλη, η βινυλο- και αιθυλο-γουαϊακόλη.

Οι πτητικές φαινόλες παράγονται στο κρασί κατά την αλκοολική ζύμωση, μετά από υδρόλυση –ενζυμική ή χημική– των πρόδρομων μορφών τους (γλυκοζίτες) που υπάρχουν στις ράγες.

Άλλη πηγή προέλευσης, η οποία αφορά ωστόσο μόνο τη βινυλο- και αιθυλο-φαινόλη, και τη βινυλο- και αιθυλο-γουαϊακόλη, αποτελεί ο μεταβολισμός (ενζυματική αποκαρβοξυλίωση) των υδροξυκιναμμωμικών οξέων π-κουμαρικό και φερουλικό, κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, από τον *S. cerevisiae* αλλά και την ζύμη επιμόλυνσης *Brettanomyces*, προς 4-βινυλο-φαινόλη και 4-βινυλο-γουαϊακόλη, αντίστοιχα, και η αναγωγή των τελευταίων προς 4-αιθυλο-φαινόλη και γουαϊακόλη (Waterhouse et al., 2016). Η δεύτερη αντίδραση (αναγωγή) λαμβάνει χώρα κυρίως κατά τη διάρκεια της παλαίωσης στο βαρέλι. Οι φαινόλες αυτές φαίνεται ότι συμμετέχουν σε ένα σύνηθες ελάττωμα που είναι γνωστό ως *φαινολικός χαρακτήρας*. Εκτός από το φαινολικό/φαρμακευτικό χαρακτήρα, χαρακτηρίζονται και από αρώματα καπνού, στάβλου και δέρματος (Clarke & Bakker, 2004).

Ακόμη πιο σημαντική ωστόσο πηγή πτητικών φαινολών στους οίνους αποτελεί η επαφή τους με το καπνισμένο/ψημένο/καμένο ξύλο δρυός και η εκχύλισή τους από αυτό τόσο κατά την αλκοολική ζύμωση σε δρύινο περιέκτη όσο και -κυρίως- κατά την παλαίωση/ωρίμανση σε δρύινο βαρέλι (§ 4.3.1.).

4.2.5 Θειούχες ενώσεις

Απλές θειόλες όπως η αιθανοθειόλη, σε μικρές συγκεντρώσεις δίνουν αρώματα κρεμμυδιού και καμένου λάστιχου, ενώ σε μεγάλες συγκεντρώσεις οσμή περιττωμάτων. Άλλες θειόλες, όπως η 2-μερκαπτοαιθανόλη, η μεθανοθειόλη και η αιθανοδιθειόλη, δίνουν οσμές καμένης γης, βρασμένου λάχανου και λάστιχου αντίστοιχα (Jackson, 2002, όπ. Ανάφ. σε Καρίμαλη, 2018)

Ενώσεις, στα μόρια των οποίων περιέχεται ένα άτομο θείου μεταξύ δύο ατόμων άνθρακα ονομάζονται σουλφίδια. Ενδεικτικά αναφέρονται το διμεθυλο-σουλφίδιο (αρώματα από σπαράγγι, λάχανο, βρασμένο καλαμπόκι), το διαιθυλο-

σουλφίδιο (άρωμα σκόρδου), το διμεθυλο-δισουλφίδιο (αρώματα λάχανου κρεμμυδιού), και το διαιθυλο-δισουλφίδιο (άσχημη μυρωδιά κρεμμυδιού) (Clarke & Bakker, 2004).

4.2.6 Αλδεΐδες

Οι αλδεΐδες, πέρα από την ακεταλδεΐδη, υπάρχουν σε αρκετά μικρή συγκέντρωση στο κρασί, καθώς κατά την οινοποίηση οι πιο πολλές οξειδώνονται στις αντίστοιχες αλκοόλες.

Η ακεταλδεΐδη παράγεται από την αλκοολική ζύμωση, εντούτοις η συγκέντρωσή της έχει να κάνει με την ποσότητα του διοξειδίου του θείου που υπάρχει και με το οποίο γίνεται ένωση. Η ακεταλδεΐδη ενώνεται επίσης με την αιθανόλη προς σχηματισμό ακετάλης. Μόνο η ελεύθερη ακεταλδεΐδη συμβάλει στον αρωματικό χαρακτήρα του οίνου. Η ακεταλδεΐδη σε μεγάλες ποσότητες έχει ως αποτέλεσμα να καθίσταται ο οίνος ανούσιος και επίπεδος.

Η εξανάλη βρίσκεται στο σταφύλι και στο γλεύκος, μαζί με την *trans*-2-εξανάλη και *cis*-3-εξανάλη. Η έκθλιψη των σταφυλιών είναι υπεύθυνη για την παρουσία τους. Κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης αυτές οι αλδεΐδες παίρνουν τη μορφή των αντίστοιχων αλκοολών, που έχουν παρόμοια «χορτώδη» αρώματα σε μικρές συγκεντρώσεις (Κεχαγιά, 2019).

4.2.7 Ακετάλες

Όταν αντιδρά η αιθανόλη με την ακεταλδεΐδη οδηγούμαστε στο σχηματισμό της ακετάλης. Γενικώς, οι ακετάλες, οι οποίες είναι προϊόν σχηματισμού από άλλες αλκοόλες και αλδεΐδες, παρουσιάζουν ένα πιο «φυτικό» αρωματικό χαρακτήρα, με μικρό συμβολή στο άρωμα του οίνου. Λόγω του ότι σχηματίζονται κατά την οξειδωτική παλαίωση και απόσταξη, απαντούν κυρίως σε οίνους τύπου sherry και σε brandy (Jackson, 2008).

4.2.8 Λακτόνες/ Φουρανόνες

Οι λακτόνες/φουρανόνες δείχνουν μια ποικιλία αρωματικών χαρακτηριστικών.

Λακτόνες παράγονται στο στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης, με κυριότερο αντιπρόσωπο την γ-βουτυρολακτόνη, η οποία ωστόσο, αν και παράγεται σε

συγκέντρωση μερικών mg/L, δεν φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στα οργανοληπτικά γνωρίσματα των οίνων (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Μία άλλη λακτόνη, η σοτολόνη (4,5-διμεθυλο-3-υδροξυ-2-φουρανόνη) με οσμή γλυκιά, καμένη, καρυδιού, είναι χαρακτηριστική των οίνων με προέλευση από σταφύλια που έχουν προσβληθεί από ευγενή σήψη (Masuda, Okawa, Nishimura, Yunome, 1984), καθώς και των οίνων τύπου Sherry (Martin, Etievan, LeQuere, Chlich, Okawa, Nishimura, Yunome, 1992).

Οι λακτόνες έχουν την τάση να εμφανίζουν λιπαρό και χορτώδη χαρακτήρα, ιδίως εκείνες με μικρό μοριακό βάρος. Αντιθέτως, οι λακτόνες με μεγάλο μοριακό βάρος παρουσιάζουν και μια νότα «καρύδας» (Κεχαγιά, 2019).

Τέλος, από το ξύλο δρυός απελευθερώνονται λακτόνες στον οίνο κατά το στάδιο της παλαίωσης σε δρύινο βαρέλι (§ 4.3.1.).

4.3. Πτητικά συστατικά που δημιουργούνται κατά την παλαίωση (τριτογενές άρωμα)

Τα τριτογενή αρώματα ή μπουκέτο ή ευωδία ή ανθοσμία, χαρακτηρίζουν τον παλαιωμένο οίνο και για αυτά είναι υπεύθυνα τα αρωματικά συστατικά που δημιουργούνται στο στάδιο της παλαίωσης μέσω αντιδράσεων οξειδωσης, αναγωγής, εστεροποίησης, και άλλους μηχανισμούς. Ανεξαρτήτως από τον περιέκτη που διατηρεί τον οίνο (δεξαμενή, βαρέλι και / ή φιάλη), κατά τη διαδικασία της παλαίωσης διεξάγονται πολλές χημικές αντιδράσεις (Grainger, 2009, όπ. Ανάφ σε Μπουκάρα, 2018).

Εφόσον γίνεται διάκριση σε δύο τύπους παλαίωσης, αντιστοίχως έχουμε και δύο τύπους μπουκέτου: το οξειδωτικό μπουκέτο των οίνων που παλαιώνουν παρουσία οξυγόνου (π.χ. jerez κλπ.) και οφείλεται κατά βάση στην ακεταλδεΐδη και τα παράγωγά της, και το αναγωγικό μπουκέτο των οίνων που παλαιώνουν άνευ παρουσίας οξυγόνου, στη φιάλη. Στην δημιουργία του μπουκέτου συμβάλλουν οι ανώτερες αλκοόλες και τα πτητικά (λιπαρά) οξέα, καθώς αποτελούν πρόδρομες ενώσεις για το σχηματισμό εστέρων (οξικοί εστέρες ανώτερων αλκοολών και αιθυλικοί εστέρες λιπαρών οξέων) κατά τη διάρκεια της παλαίωσης, οι εστέρες των μη πτητικών οξέων, τα οξέα διυδροξυμηλεϊκό, δικετοηλεκτρικό και διοξυτρυγικό, οι ενώσεις βαλίνη, λευκίνη, αιθανολαμίνη και πολλές άλλες (Σουφλερός, 2015).

4.3.1 Λακτόνες

Όπως προαναφέρθηκε, από το ξύλο δρυός απελευθερώνονται λακτόνες στον οίνο κατά την παλαιώση σε δρύινο βαρέλι. Οι ενώσεις αυτές είναι ισομερή της 3-μεθυλο-γ-οκταλακτόνης, η οποία απαντά ως *cis*- και *trans* ισομερές. Ονομάζεται επίσης ουίσκι λακτόνη καθώς για πρώτη φορά εντοπίστηκε σε παλαιωμένο ουίσκι. Οι λακτόνες ταυτοποιήθηκαν για πρώτη φορά στο ξύλο δρυός από τους Masuda and Nishimura το 1971. Συνιστά ένα από τα βασικότερα συστατικά που εκχυλίζονται από το ξύλο δρυός και τα κατώτατα όρια αντίληψής τους είναι 0,092 mg/L για το *cis* ισομερές και 0,49 mg/L για το *trans* ισομερές. Το *cis* ισομερές χαρακτηρίζεται από γήινη και χορτώδη οσμή, με μια ελαφριά οσμή καρύδας, και είναι 4–5 φορές πιο αρωματικό από το *trans* (+) ισομερές. Το *trans* ισομερές έχει μυρωδιά καρύδας και πολύ πικάντικο χαρακτήρα μπαχαρικών. Πάνω από μια ορισμένη συγκέντρωση, τα ισομερή της λακτόνης μπορεί να έχουν αρνητική επίδραση στο άρωμα του οίνου, μιας και εμφανίζουν έντονο χαρακτήρα ξύλου και οσμή ρητίνης (Ribéreau-Gayon, 2003).

4.3.2 Φαινολικές αλδεΐδες και πτητικές φαινόλες

Οι φαινολικές αλδεΐδες υπάρχουν σε μικρή συγκέντρωση στον οίνο. Σχηματίζονται από τη θερμική διάσπαση της λιγνίνης κατά το κάψιμο των βαρελιών και εκχυλίζονται στον οίνο το διάστημα που παραμένουν σε αυτά. Η βανιλίνη, αν και παρουσιάζει πιο μικρή συγκέντρωση από τη συριγκαλδεΐδη, αποτελεί τη βασική φαινολική αλδεΐδη και εφόσον είναι πιο αρωματική, σε αυτήν οφείλεται το άρωμα βανίλιας και καραμέλας (Ribéreau- Gayon et al., 2003).

Έχουμε, επίσης, τα 4-αιθυλο- και 4-βινυλο- παράγωγα της φαινόλης και της γουαϊακόλης. Αυτά αποτελούν κάποιες άλλες φαινόλες με προέλευση από το ξύλο της δρυός. Η 4-αιθυλο-φαινόλη εμφανίζεται ως ανεπιθύμητη, καθώς προσδίδει ζωικά και φαινολικά αρώματα. Είναι αισθητή σε συγκέντρωση 0,4 mg/L (Singleton, 1995, όπ. ανάφ σε Μπουκάρα, 2018).

4.3.4 Νορισοπρενοειδείς ενώσεις

Το ξύλο δρυός μπορεί να απελευθερώσει νορισοπρενοειδείς ενώσεις στον οίνο. Η πιο σημαντική είναι η β-ιονόνη (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

4.3.5 Φουρανικά παράγωγα

Άλλου τύπου αλδεΐδες που επιδρούν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, είναι οι ενώσεις που ανήκουν στα φουρανικά παράγωγα.

Αυτές είναι η φουρφουράλη, η 5-μεθυλο-φουρφουράλη και η 5-υδροξυμεθυλο-2-φουρφουράλη (Jackson, 2008). Τα φουρανικά παράγωγα προέρχονται από την αποικοδόμηση της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης (Moreno-Arribas et al., 2009). Ψημένο αμυγδάλο, ξηροί καρποί και ζαχαρωτά είναι τα αρώματα που παίρνουμε από τις ενώσεις αυτές (Mosedale and Puech, 2003).

5. Οι ζύμες και ο ρόλος τους στην παραγωγή του οίνου

5.1 Γενικά χαρακτηριστικά των ζυμών

Οι ζύμες ή ζυμομύκητες έχουν πιθανώς την πιο σημαντική θέση στην παραγωγή των ποτών με αλκοόλ που προέρχονται από ζύμωση, όπως είναι ο οίνος. Είναι οι μικροοργανισμοί, χάρη στους οποίους διεξάγεται η αλκοολική ζύμωση και η συμβολή τους είναι καθοριστικής σημασίας για την ποιότητα και τα χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων, καθώς διεξάγουν την κύρια αντίδραση, δηλαδή την μετατροπή των σακχάρων σε αιθυλική αλκοόλη και διοξείδιο του άνθρακα, αλλά παράλληλα μέσω του δευτερογενούς μεταβολισμού τους παράγουν ενώσεις, τα λεγόμενα δευτερεύοντα προϊόντα της ζύμωσης. Αυτά διαμορφώνουν καταρχήν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου και κατ'επέκταση επηρεάζουν άμεσα την ποιότητα του (Varela, 2016). Οι ζυμομύκητες, συχνά καλούνται και σακχαρομύκητες, διότι χρησιμοποιούν τους υδατάνθρακες (σάκχαρα) ως πηγή άνθρακα για την παραγωγή αιθυλικής αλκοόλης και διοξειδίου του άνθρακα.

Η ταξινόμηση των ζυμομυκήτων μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, τον τρόπο αναπαραγωγής τους ή και τα φυσιολογικά τους χαρακτηριστικά (Sonali, 2018). Είναι ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί που πολλαπλασιάζονται με εκβλάστηση ή σχάση. Το σχήμα τους συνήθως είναι σφαιρικό, ελλειψοειδές ή ραβδοειδές. Με βάση τις πιο πρόσφατες μελέτες ταξινόμησης, υπάρχουν 149 γένη ζυμομυκήτων που περιλαμβάνουν σχεδόν 1500 είδη (Kurtzman et al., 2011b όπ. ανάφ. σε Jolly, Varela & Pretorius, 2013). Από αυτά, περισσότερα από 40 είδη έχουν απομονωθεί από το γλεύκος σταφυλιών (Jolly, Augustyn & Pretorius, 2006; Ciani, Comitini, Mannazzu, & Domizio, 2010). Οι ζύμες

που χρησιμοποιούνται προκειμένου να παραχθούν αλκοολούχα ποτά, μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες: σε *Saccharomyces* και non-*Saccharomyces* (Jolly et al., 2006).

Τα διαφορετικά είδη ζυμών μπορούν να μετατρέπουν τα σάκχαρα σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα, όπως προαναφέρθηκε, και η διαδικασία αυτή διακρίνεται σε αυθόρμητη και ελεγχόμενη ζύμωση (Μπότσιου, 2021). Η ζύμωση κατά την οποία το γλεύκος ζυμώνεται με τους ιθαγενείς (γηγενείς) ζυμομύκητες που βρίσκονται σε αυτό, λέγεται αυθόρμητη. Η άλλη επιλογή καλείται ελεγχόμενη ζύμωση, κατά την οποία προστίθεται καλλιέργεια συγκεκριμένου είδους ή ειδών ζυμομυκήτων στο γλεύκος και η αλκοολική ζύμωση πραγματοποιείται με αυτούς τους μικροοργανισμούς.

Στην οινοποίηση οι αυθόρμητες ζυμώσεις πραγματοποιούνται από ζύμες που βρίσκονται αφενός στην επιφάνεια των σταφυλιών και μεταφέρονται στο γλεύκος μετά τη ρήξη του φλοιού των ραγών μέσω της έκθλιψης, και αφετέρου στην επιφάνεια των μηχανημάτων τα οποία χρησιμοποιούνται κατά την οινοποίηση και στο περιβάλλον του οινοποιείου γενικότερα (Varela and Bomeman, 2016). Οι ελεγχόμενες ζυμώσεις πραγματοποιούνται από ζύμες, κατά κύριο λόγο του γένους *Saccharomyces*, τις οποίες επιλέγει ο εκάστοτε οινοπαραγωγός. Η επιλογή συγκεκριμένου είδους και ενδεχομένως στελέχους με το οποίο θα εμβολιαστεί το γλεύκος είναι καθοριστική. Η επιλογή αυτή θα διαμορφώσει, σε μεγάλο βαθμό το τελικό προϊόν καθώς εκτός από τη συγκέντρωση της αλκοόλης, θα επηρεαστεί από τον μεταβολισμό της ζύμης και το οργανοληπτικό προφίλ του οίνου.

Παλαιότερα εφαρμοζόταν η τεχνική των αυθόρμητων ζυμώσεων. Στη σύγχρονη οινοποίηση οι ζυμώσεις κατά την πλειοψηφία τους είναι ελεγχόμενες. Ο λόγος που οι οινοποιοί επιλέγουν σήμερα ελεγχόμενη ζύμωση σχετίζεται με τον αυξημένο κίνδυνο που κρύβουν οι αυθόρμητες ζυμώσεις, τόσο όσον αφορά στην ομαλή πορεία και ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης όσο και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος (Varela and Bomeman, 2016). Ωστόσο, στο πλαίσιο διατήρησης της βιοποικιλότητας, και οι αυθόρμητες ζυμώσεις τα τελευταία χρόνια υιοθετούνται από μερίδα οινοποιών, καθώς οι καλύτερες πλέον συνθήκες υγιεινής που επικρατούν στα οινοποιεία επιτρέπουν μια τέτοια διαχείριση.

5.2 Ζύμες *Saccharomyces*

Το γένος *Saccharomyces* περιλαμβάνει το είδος *S. cerevisiae*, έναν πολύ γνωστό οργανισμό σε βιομηχανικές διεργασίες αρτοποιίας και ζυμώνσεων καθώς επίσης και στους τομείς της βιοενέργειας και της βιοϊατρικής (Mager and Winderickx, 2005). Μετά την καταγραφή της πλήρους αλληλουχίας του γονιδιώματος του *S. cerevisiae* το 1996 (Goffeau, Barrell, Bussey, Davis, Dujon, Feldmann, Galibert, Hoheisel, Jac, Johnston, Louis, Mewes, Murakami, Philippsen, Tettelin, and Oliver, 1996), εκτενείς επιστημονικές έρευνες έχουν καταστήσει το μικροοργανισμό αυτό το πιο γνωστό ευκαρυωτικό σύστημα έως σήμερα. Η διαθεσιμότητα μιας αξιόπιστης γονιδιακής αναφοράς και στην συνέχεια, της ανάπτυξης αλληλουχίας υψηλής απόδοσης διευκόλυνε την εύρεση της αλληλουχίας ολόκληρου του γονιδιώματος και την περιγραφή ενός μεγάλου αριθμού ειδών *Saccharomyces* (Cliften, Sudarsanam, Desikan, Fulton, Fulton, Majors, Waterston, Cohen, and Johnston, 2003). Με την πρόοδο της έρευνας για την οικολογία των ειδών *Saccharomyces* στη φύση, αυτά τα είδη γίνονται μοντέλα για μελέτες σχετικά με τη γονιδιωματική του πληθυσμού (Peter, De Chiara, Friedrich, Yue, Pflieger, Bergström, Sigwalt, Barre, Freel, Llored, Cruaud, Labadie, Aury, Istace, Lebrigand, Barbry, Engelen, Lemainque, Wincker, Liti, Schacherer, 2018). Επιπλέον, η αλληλουχία ολόκληρου του γονιδιώματος, οδήγησε σε μεγάλης κλίμακας γονιδιωματικές μελέτες μιας ποικιλίας στελεχών των ειδών *Saccharomyces*, παρέχοντας ενδιαφέροντα στοιχεία για την εξέλιξη και τη φυσική τους παραλλαγή (Peter et al. 2018).

Το όνομα *Saccharomyces* προτάθηκε από τον J. Meyen το 1838, με το είδος *S. cerevisiae* να είναι το πρώτο που περιγράφηκε (Alsammar και Delneri, 2020). Το 1870, ο M. Reess παρουσίασε μια περιγραφή του γένους και του είδους στα οποία περιλαμβάνονταν και ζύμες που σχετίζονται με την αλκοολική ζύμωση (Rainieri, Zambonelli και Kaneko, 2003). Στο άρθρο επισκόπησης των Alsammar και Delneri (2020), αναφέρονται οι ταξινομικές ανακατατάξεις που έγιναν στο εσωτερικό του γένους *Saccharomyces* κατά το διάστημα 1998-2019. Σύμφωνα με την πιο πρόσφατη ταξινόμηση του 2019, το γένος *Saccharomyces* περιλαμβάνει οκτώ είδη: *S. cerevisiae*, *S. paradoxus*, *S. mikatae*, *S. jurei*, *S. kudriavzevii*, *S. arboricola*, *S. eubayanus* και *S. uvarum*. Μερικά από αυτά είναι γονείς φυσικών υβριδίων που είτε σχηματίστηκαν αυθόρμητα στη φύση ή δημιουργήθηκαν σε βιομηχανικά περιβάλλοντα. Στην κατηγορία των φυσικών υβριδίων που περιλαμβάνονται ως είδη

του γένους *Saccharomyces*, στην τελευταία αυτή ταξινόμηση, ανήκουν τα *S. pastorianus* (πρώην *S. carlsbergensis*) και *S. bayanus* (*S. bayanus* var. *bayanus*) (Alsammar and Delneri, 2020).

Οι ανακατατάξεις που προαναφέρθηκαν, ήταν αποτέλεσμα των τεχνικών ταυτοποίησης που κατά καιρούς χρησιμοποιήθηκαν. Στο παρελθόν, κατά την συμβατική ταξινόμηση χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι που είχαν περιορισμούς, όπως η διαφοροποίηση στελεχών ενός είδους βασιζόμενη αποκλειστικά σε μορφολογικά και λίγα φυσιολογικά χαρακτηριστικά. Εξαιτίας αυτών των περιορισμών, προτάθηκαν στη συνέχεια, για την ταξινόμηση των ειδών *Saccharomyces*, μοριακές μέθοδοι, όπως η ανίχνευση DNA, ο χρωμοσωμικός καρυότυπος, ο πολυμορφισμός μήκους περιοριστικού θραύσματος (RFLP) και η αλληλουχία πολλαπλών τόπων (Vaughan-Martini, Martini and Cardinali 1993). Με βάση τις πιο πρόσφατες τεχνικές ανάλυσης DNA και γενετικής υβριδοποίησης, είδη που είχαν περιγραφεί προηγουμένως ως *S. cerevisiae* var. *tetrasporus* και *S. cerevisiae* var. *terrestris* είναι πλέον γνωστά ως συνώνυμα του *S. paradoxus* (Naumov, Naumova, Sancho, Korhbla, 1996). Στη συνέχεια, δύο είδη *Saccharomyces* απομονώθηκαν από σάπια φύλλα και χόμα στην Ιαπωνία και ένα από το είδος *Drosophila* στη Βραζιλία, με διακριτά χρωμοσωμικά προφίλ (Naumov, Sergeevna, Sniegowski, 1998). Το είδος που απομονώθηκε από τη Βραζιλία περιγράφηκε ως *S. cariocanus* (τόρα επαναταξινομείται ως *S. paradoxus* με βάση τη χαμηλή ακολουθία απόκλισης μεταξύ των ειδών), ενώ τα δύο είδη από την Ιαπωνία περιγράφηκαν ως *S. kudriavzevii* και *S. mikatae* (Naumov et al. 2000β όπ. ανάφ. σε Alsammar and Delneri, 2020).

5.2.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Η βιομηχανία τροφίμων και ποτών (παραγωγή άρτου, οίνου, ζύθου και άλλων αλκοολούχων ποτών), η βιομηχανία παραγωγής βιοκαυσίμων αλλά και η φαρμακοβιομηχανία χρησιμοποιούν τον *Saccharomyces cerevisiae* που αποτελεί τον πιο ευρέως γνωστό ζυμομύκητα (Μπότσιου, 2021). Είναι ένας μονοκύτταρος ευκαρυωτικός μικροοργανισμός που ανήκει στο φύλο των Ασκομυκήτων. Τα κύτταρα του έχουν σχήμα σφαιρικό και σχετικά μεγάλο (διάμετρος 5-10μm). Ο *Saccharomyces cerevisiae* ανήκει στους πιο καλά μελετημένους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και αυτό οφείλεται στο ότι είναι μονοκύτταρος μικροοργανισμός (απλοποιεί τη μελέτη του), όπως επίσης και στο ότι έχουμε βρει την αλληλουχία του

γονιδιώματός του, γεγονός που καθιστά την επιστημονική κοινότητα ικανή να γνωρίζει ακριβώς τον τρόπο που λειτουργεί και την ίδια στιγμή να μπορούν να γίνουν κατανοητές οι βιολογικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

Όπως προαναφέρθηκε, ο *Saccharomyces cerevisiae* χρησιμοποιείται ευρέως στην βιομηχανία παραγωγής αλκοολούχων ποτών, χάρη στα βιολογικά του χαρακτηριστικά, όπως είναι η ικανότητα του να ζυμώνει τα υπάρχοντα σάκχαρα και να τα μετατρέπει σε αιθυλική αλκοόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Ακόμη ένα μεγάλης σημασίας γνώρισμά του είναι πως είναι δυνατόν να παραχθούν ενώσεις μέσω του μεταβολισμού του. Αυτές με τη σειρά τους θα διαμορφώσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων, με την πλειοψηφία να είναι θετικά και επιθυμητά. Ένα χαρακτηριστικό του *Saccharomyces cerevisiae* είναι η αυξημένη αντοχή σε μεγάλες συγκεντρώσεις αιθανόλης, καθώς και η μεγάλη ζυμωτική ικανότητα, με αποτέλεσμα το ποσοστό των σακχάρων που μένει αζύμωτο να είναι μικρό (Rainieri & Pretorius, 2000).

Όλα αυτά τα προτερήματα που συγκεντρώνει ο *S. cerevisiae* και τα οποία αξιοποιούνται στην παραγωγή αλκοολούχων ποτών μέσω ζύμωσης, έχουν οδηγήσει στο να μελετηθεί εκτενώς και να γίνεται χρήση του ευρέως από τη βιομηχανία. Παρ'όλ'αυτά, πολύ συχνά, τα προϊόντα που παράγονται δεν διαφοροποιούνται ιδιαίτερα μεταξύ τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι καταναλωτές να ψάχνουν και η επιστημονική κοινότητα να έχει στρέψει το ενδιαφέρον της στη μελέτη κι άλλων ειδών *Saccharomyces*, υβριδίων μεταξύ ειδών καθώς και ζυμών non-*Saccharomyces* αλλά και στην αξιολόγησή της ικανότητας τους να χρησιμοποιηθούν στην παραγωγή οίνων και ζύθων ή άλλων αλκοολούχων ποτών με μεγαλύτερη καινοτομία (Μπότσιου, 2021).

5.2.2 *Saccharomyces paradoxus*

Ο *Saccharomyces paradoxus* είναι ένας ζυμομύκητας φυλογενετικά πολύ κοντά στον *S. cerevisiae*. Έχει απομονωθεί από το φλοιό φυλλοβόλων δέντρων (σφένδαμος, βελανιδιά, σημύδα) και σε ορισμένες περιπτώσεις από έντομα και φρούτα της Β. Αμερικής και ΒΑ Ευρώπης (Sniegowski, Dombrowski, and Fingerhahn, 2002; Bruner and Fox, 2020), επίσης από φλοιό δένδρων σε πάρκα της νότιας Αγγλίας (Johnson, Koufopanou, Goddard, Hetherington, Schafer, and Burt

2004), φλοιό δένδρων δρυός της Φινλανδίας (Nikulin, Vidgren, Krogerus, Magalhães, Valkeemäki, Kangas-Heiska, & Gibson, 2020) αλλά και από αμπελώνες στην Κροατία, περιοχή του Zagreb (Majdak, Herjavec, Orlic, Redjepovic, and Mirocevic, 2002) και πολύ πρόσφατα στην Ιταλία, περιοχή Piedmont (Costantini, Cravero, Panero, Bonello, Vaudano, Pulcini, & Garcia-Moruno, 2021)

Έρευνες έδειξαν ότι, οίνοι που πραγματοποίησαν την αλκοολική ζύμωση γλεύκους από την ποικιλία Gewürtztraminer με στέλεχος *S. paradoxus* σε σχέση με *S. cerevisiae* παρουσίασαν μικρότερη περιεκτικότητα σε ανώτερες αλκοόλες, υψηλότερη περιεκτικότητα σε ορισμένους εστέρες, και στην οργανοληπτική αξιολόγηση, εμφάνισαν πιο έντονο άρωμα. Οι ερευνητές δεν παρατήρησαν διαφορές ως προς την παραγωγή λιπαρών οξέων μεταξύ των δύο ειδών (Majdak, Herjavec, Orlic, Redjepovic, and Mirocevic, 2002).

5.2.3 Υβρίδια μεταξύ ζυμών *Saccharomyces*

Τα τελευταία χρόνια, οι αυθόρμητες ζυμώσεις και οι μη-συμβατικές ζύμες, χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο στην οινοποίηση για την επίτευξη ενός πιο σύνθετου και ιδιαίτερου στυλ οίνων, το οποίο θα ανταποκρίνεται στις διαρκώς μεταβαλλόμενες απαιτήσεις των καταναλωτών για πρωτότυπα προϊόντα. Τα μεταβολικά μονοπάτια ορισμένων ειδών, διαφορετικών από το είδος *Saccharomyces cerevisiae*, μπορεί να οδηγήσουν σε πιο σύνθετα αρωματικά προφίλ οίνων, με τον κίνδυνο ωστόσο μιας ατελούς αλκοολικής ζύμωσης και ταυτόχρονη παραγωγή ανεπιθύμητων πτητικών συστατικών. Για να αντιμετωπιστούν τα παραπάνω προβλήματα και να διατηρηθούν μόνο τα θετικά/επιθυμητά αρώματα που προσφέρουν οι ζύμες αυτές, δημιουργήθηκαν στο εργαστήριο γενετικά υβρίδια του *S. cerevisiae* με άλλα είδη *Saccharomyces* ή αντίστοιχα υβρίδια απομονώθηκαν από φυσικά περιβάλλοντα (Querol, Torrado, Minebois, Stribny, Oliveir, and Barrio, 2018)

Στην οινοποίηση, η χρήση υβριδικών ζυμών δεν είναι πολύ διαδεδομένη. Υπάρχουν περιορισμένες βιβλιογραφικές αναφορές για φυσικά υβρίδια τα οποία απομονώθηκαν από αμπελώνες, σταφύλια, γλεύκος, οίνο και ζύθο (González, Barrio, Gafner, & Querol, 2006; González, Barrio, & Querol, 2008), τα οποία υπάρχουν πλέον και ως εμπορικά σκευάσματα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν καλλιέργειες εκκίνησης κατά την οινοποίηση ή σαν πρότυποι οργανισμοί για την ανάπτυξη νέων υβριδίων (Borneman, Desany, Riches, Affourtit, Forgan, Pretorius,

and Egholm, 2012), καθώς και υβρίδια μεταξύ διαφορετικών ειδών *Saccharomyces* π.χ. *S. cerevisiae* με *S. paradoxus* και *S. kudriavzevii*, τα οποία δημιουργήθηκαν στο εργαστήριο (Bellon, Eglinton, Siebert, Pollnitz, Rose, de Barros Lopes & Chambers, 2011).

Σε έρευνα που μελέτησε την επίδραση των υβριδίων *S. cerevisiae* × *S. Paradoxus*, *S. cerevisiae* (diploid) × *S. kudriavzevii* (haploid), *S. cerevisiae* var. *cerevisiae* × *S. cerevisiae* var. *Bayanus* με μάρτυρα μια ζύμωση που πραγματοποιήθηκε με το είδος *S. bayanus*, στο αρωματικό προφίλ, φάνηκε ότι την μεγαλύτερη συγκέντρωση εστέρων και λιπαρών οξέων την είχε ο οίνος που ζύμωσε μόνο με *bayanus*, ενώ την μεγαλύτερη συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών, τερπενίων και θειολών είχε το δείγμα που ζύμωσε με το υβρίδιο *cerevisiae* × *paradoxus* (Kanter, Benito, Brezina, Beisert, Fritsch, Patz, and Rauhut, 2020)

5.3 Ζύμες non-*Saccharomyces*

Ως non-*Saccharomyces* ορίζονται όλες οι ζύμες που δεν ανήκουν στο γένος *Saccharomyces*. Απαντώνται στην επιφάνεια των σταφυλιών, καθώς και στον μηχανικό εξοπλισμό που χρησιμοποιείται στην οινοποίηση και την ζυθοποίηση. Οι ζύμες αυτές είναι κυρίως υπεύθυνες για τις αυθόρμητες ζυμώσεις, σε συνεργασία βέβαια με τον *Saccharomyces cerevisiae*, ο οποίος βρίσκεται και εκείνος στις ίδιες επιφάνειες. Ανάλογα με την περιοχή που βρίσκεται το αμπέλι, την χρήση διάφορων παρασιτοκτόνων και μυκητοκτόνων σε αυτό και την υγιεινή κατάσταση των σταφυλιών, η ποσότητα τους αλλά και τα είδη αυτών διαφέρουν. Παρουσιάζονται εντονότερα στην επιφάνεια των σταφυλιών και λιγότερο στο μηχανικό εξοπλισμό. Ως απόρροια αυτού οι non-*Saccharomyces* ζύμες βρίσκονται σε όλες τις ζυμώσεις οίνου ανεξάρτητα αν η ζύμωση είναι αυθόρμητη ή ελεγχόμενη (Jolly, Augustyn, Pretorius, 2017).

5.3.1 Η εξέλιξη των ζυμών non-*Saccharomyces*

Παλαιότερα οι οινοποιοί και οι ζυθοποιοί θεωρούσαν ανεπιθύμητη την παρουσία των non-*Saccharomyces* ζυμών μιας και υπήρχε η εντύπωση ότι οι ζύμες αυτές είναι πιθανόν να οδηγήσουν ή ακόμη ότι αποτελούσαν κάποιου είδους επιμόλυνση και την ίδια στιγμή μέσα από το μεταβολισμό τους να συμβάλλουν στην παραγωγή ανεπιθύμητων προϊόντων που επιδρούν αρνητικά στον οργανοληπτικό

χαρακτήρα και έτσι και στην την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Jolly, 2006). Τα τελευταία χρόνια το καταναλωτικό κοινό ζητάει καινοτομία και πολυπλοκότητα στα προϊόντα οίνου, καθώς και αλκοολούχα ποτά με λιγότερες θερμίδες και μικρότερη ή μηδενική περιεκτικότητα σε αλκοόλη με αντίστοιχα ενδιαφέροντα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Η κατάσταση αυτή είχε ως απόρροια να στραφεί το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας σε περαιτέρω έρευνα των non-*Saccharomyces* ζυμών. Όσον αφορά τον οίνο, ένας λόγος που οδήγησε το ενδιαφέρον στις ζύμες αυτές, ήταν ο καθοριστικός τους ρόλος στις αυθόρμητες ζυμώσεις. Επιπροσθέτως, η παραγωγή οίνων, παλαιότερα, με αυτόν τον τρόπο ήταν πιο πολύπλοκη και μοναδική σε σύγκριση με τους οίνους που ζυμώνονταν με τον *S. cerevisiae*. Οι έρευνες βέβαια έχουν αναδείξει, επίσης, τα θετικά αποτελέσματα που μπορεί να έχουν στην παραγωγή αλκοολούχων ποτών με ζύμωση, παρ'ολ'αυτά δεν έχουν επεκταθεί σε τέτοιο βαθμό ώστε να γνωρίζουμε με ακρίβεια τον τρόπο λειτουργίας τους, όπως γίνεται με τον συμβατικό ζυμομύκητα *S. cerevisiae*. Κάποια από τα γενικά χαρακτηριστικά τους όμως, δείχνουν πως είναι ευαίσθητα στην αιθανόλη, πως έχουν μικρότερη ζυμωτική ικανότητα σε σχέση με τον *S. cerevisiae*, ενώ είναι ευαίσθητα στην αυξημένη οσμωτική πίεση και επίσης ευαίσθητα σε μεγάλη συγκέντρωση SO₂ (Jolly et al., 2006). Ωστόσο, μέσω του μεταβολισμού τους παράγονται προϊόντα που προσδίδουν στον οίνο και τον ζύθο μεγαλύτερο βαθμό πολυπλοκότητας όσον αφορά στη γεύση και το άρωμα. Τα χαρακτηριστικά αυτά είτε είναι θετικά είτε όχι, διαφοροποιούνται ανάμεσα στα διάφορα είδη non-*Saccharomyces* ζυμών, αλλά και στα στελέχη του αυτού είδους. Προκειμένου να αξιοποιηθούν καλύτερα τα χαρακτηριστικά τους και να αποφευχθούν ανεπιθύμητα γεγονότα (π.χ διακοπή της αλκοολικής ζύμωσης), οι ερευνητές προτείνουν συνήθως την τεχνική του διαδοχικού εμβολιασμού, δηλαδή να ξεκινήσει η ζύμωση με καλλιέργειες non-*Saccharomyces* και έπειτα να ακολουθήσει εμβολιασμός με τον *S. cerevisiae* ή ταυτόχρονος εμβολιασμός με δύο ή περισσότερες ζύμες (Varela, 2016). Σε κάθε περίπτωση αξιολογούνται τα γνωρίσματα του κάθε είδους ή/και στελέχους non-*Saccharomyces* και γίνεται η σωστότερη επιλογή αναλόγως του προϊόντος που είναι επιθυμητό να παραχθεί.

5.3.2 Η ζύμη *Torulaspota delbrueckii*

5.3.2.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Η *Torulaspota delbrueckii* (anamorph *Candida colliculosa*) αποτελεί ένα είδος με πολύ ενδιαφέρον και το οποίο έχει γίνει σημαντικό αντικείμενο μελέτης, ιδίως τα τελευταία χρόνια, όπως είχε γίνει και με τον *S. cerevisiae* στην αρχή της μικροβιολογίας του οίνου (Benito, 2018). Ανήκει στο γένος *Torulaspota*, το οποίο με τη σειρά του ανήκει στους ασκομύκητες (Jolly et al., 2006). Εκτός της *T. delbrueckii*, είχε αναγνωρισθεί το 2011 από τον Kurtzman, πως σε αυτό το γένος ανήκουν ακόμη 5 είδη, τα οποία είναι η *T. franciscae*, *T. globosa*, *T. maleeae*, *T. microellipsoides* και η *T. pretoriensis*, εντούτοις μόνο η *T. delbrueckii* σχετίζεται με τα αλκοολούχα ποτά ζύμωσης.

Τα κύτταρα που ανήκουν στο γένος *Torulaspota* έχουν σφαιρικό έως ελλειψοειδές σχήμα, και είναι σχετικά πιο μικρά από αυτά του *S. cerevisiae*, με διαστάσεις κατά προσέγγιση 2-4 x 3-5 μm. Αυτό το γένος μπορεί να αναπαράγεται αφυλετικά με κυτταρική διαίρεση σε πολλαπλά εκβλαστήματα, καθώς έχει τη δυνατότητα να παράγει και ψευδοϋφές (Benito, 2018).

Η *T. delbrueckii* έχει βρεθεί στο έδαφος (χώμα), σε χυμό κόκκινων φρούτων, χυμό αγκύρας και φλοιό δέντρων (Benito, 2018) καθώς και ως φυσική χλωρίδα στην επιφάνεια των σταφυλιών, όπως και ο *S. cerevisiae* (van Breda Jolly, Booyse, Van Wyk, 2018). Επιπλέον έχει απομονωθεί από αυθόρμητες ζυμώσεις αλκοολούχων ποτών όπως οίνος, τεκίλα και mezcail (Varela, 2016). Κάποια από τα στελέχη της θεωρούνταν παλαιότερα ως μικροοργανισμοί επιμόλυνσης, ωστόσο πλέον μέσω διαφορετικών ερευνών, αναδεικνύονται τα προτερήματα αυτού του μικροοργανισμού, σε σύγκριση με κάποια στελέχη του *S. cerevisiae*, αλλά και η θετική επιρροή που είναι δυνατή να έχει στην ποιότητα των αλκοολούχων ποτών ζύμωσης όταν συμμετέχει. Εν αντιθέσει, η παρουσία της δύναται να επιδράσει αρνητικά, ως ζύμη αλλοίωσης σε αναψυκτικά, κάτι που όμως αντιμετωπίστηκε με ευκολία με τη χρήση συντηρητικών, ενώ θεωρείται ακόμη ως μικροοργανισμός αλλοίωσης σε τρόφιμα όπως κρέατα, σαλάτες, λαχανικά και γαλακτοκομικά προϊόντα (Benito, 2018).

Η *T. delbrueckii* είναι η non-*Saccharomyces* ζύμη που έχει χρησιμοποιηθεί περισσότερο, και σε βιομηχανικό επίπεδο, ιδίως στην παραγωγή οίνου (Benito, 2018). Έχει προταθεί για οινοποίηση γλευκών, τα οποία έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σακχάρων και οξύτητας, ενώ έχει γίνει χρήση της και στην παραγωγή

ερυθρών και ροζέ οίνων στην Ιταλία και στην παραγωγή οίνων Chenin Blanc (Λ) και Pinotage (Ε) στη Ν. Αφρική (van Breda et al., 2018). Επίπροσθέτως, έχει χρησιμοποιηθεί και σε μικτές καλλιέργειες για την παραγωγή αφρωδών οίνων (Michel, Dörnberg, Jacob, Methner, Wagner, Hutzler, 2017).

Το αρωματικό προφίλ των οίνων επηρεάζεται θετικά από την *T. delbrueckii*, λόγω υψηλότερης παραγωγής επιθυμητών πτητικών ενώσεων, γεγονός που βελτιώνει την πολυπλοκότητα του αρώματος και αυξάνει τον φρουτώδη χαρακτήρα. Υψηλότερες συγκεντρώσεις εστέρων με φρουτώδες άρωμα (fruity esters) έχουν αναφερθεί σε διαδοχικό εμβολιασμό και ζύμωση με *T. delbrueckii* και *S. cerevisiae* (Renault, Coulon, de Revel, Barbe, & Bely, 2015) ενώ στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί και το αντίθετο αποτέλεσμα (Velázquez, Zamora, Álvarez, Hernández, & Ramírez 2015). Οι Milanovic, Sporis, Trajković (2012) σε διαδοχικό εμβολιασμό *T. delbrueckii* και *S. cerevisiae* παρατήρησαν μειωμένη συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών. Σημαντική αύξηση και στις συγκεντρώσεις α-τερπινεόλης και λιναλοόλης έχει παρατηρηθεί σε διαδοχικές ζυμώσεις με *T. delbrueckii* (Cus, & Jenko, 2013). Η *T. delbrueckii* ξεχωρίζει επίσης ανάμεσα στις non-*Saccharomyces* ζύμες λόγω της ικανότητας της να απελευθερώνει πτητικές θειόλες από τις άοσμες πρόδρομες ενώσεις στο γλεύκος, ωστόσο το αποτέλεσμα εξαρτάται από το στέλεχος. Πιο συγκεκριμένα έχει παρατηρηθεί αύξηση στην 3SH (3- σουλφανυλο-εξαν-1-όλη), και στην 4- μεθυλο-4-σουλφανυλοπενταν-2-όνη (4MSP) σε ζυμώσεις με *T. delbrueckii* στην εργασία των Belda, Ruiz, Beisert, Navascués, Marquina, Calderón, Rauhut, Benito & Santos (2017), ενώ αύξηση μόνο στην 3SH και μηδενική παραγωγή 4MSP στην εργασία των Renault, Coulon, Moine, Thibon, & Bely, 2016). Η παραγωγή αιθανόλης είναι πιο μικρή συγκριτικά με την παραγωγή από το *S. cerevisiae*, εντούτοις πιο μεγάλη σε σχέση με άλλες άγριες ζύμες (Ciani, Maccarelli, 1997). Επίσης, ένα χαρακτηριστικό αυτού του είδους είναι η ικανότητά του να παράγει χαμηλές συγκεντρώσεις οξικού οξέος, ακεταλδεϋδης, ακετοΐνης και οξικού αιθυλεστέρα, ιδιότητα επιθυμητή για την οινοποίηση (Ciani & Picciotti 1995, όπ. Ανάφ. σε Μπότσιου, 2021). Χαμηλή παραγωγή οξικού οξέος συνεπάγεται και χαμηλή πτητική οξύτητα και για αυτόν το λόγο έχει ελεγχθεί η ικανότητα του να μειώνει την πτητική οξύτητα οίνων σε μικτή καλλιέργεια με *S. cerevisiae*, με πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα (Bely, Stoeckle, Masneuf-Pomarède, & Dubourdieu, 2008). Το ίδιο έχει φανεί να ισχύει και στην περίπτωση που έχουμε διαδοχικό εμβολιασμό, κάτω από καθορισμένες συνθήκες (Ciani et al. 1997). Επίσης η *T.*

delbrueckii είτε μόνη της, είτε με τον *S. cerevisiae* σε διαδοχικό ή ταυτόχρονο εμβολιασμό, έχει χρησιμοποιηθεί προκειμένου να παραχθούν οίνοι τύπου Sherry, οίνοι από lychee, durian και μάνγκο αλλά και τεκίλα και mezcal. Σε όλες τις περιπτώσεις, τα αλκοολούχα ποτά όπου υπήρχε η συμμετοχή της *T. delbrueckii*, είχαν εντονότερα τα αρώματα φρούτων ή/και λουλουδιών και ήταν πιο ολοκληρωμένα και ευχάριστα τα οργανοληπτικά γνωρίσματα σε συγκριτικά με αντίστοιχα ποτά που είχαν παραχθεί μόνο από τον *S. cerevisiae*. Η *T. delbrueckii*, θεωρείται επίσης πρότυπος μικροοργανισμός μελέτης/έρευνας από την επιστημονική κοινότητα, χάρη σε ορισμένα βιολογικά χαρακτηριστικά της, όπως ο μεταβολισμός των σακχάρων που διαφοροποιείται από αυτόν του *S. cerevisiae* και αυτές οι διαφορές μπορούν να παρέχουν αρκετά πλεονεκτήματα βιοτεχνολογικής σημασίας για τις ποικίλες διεργασίες ζύμωσης (Kerkeni et al., 2016, όπ. Ανάφ. σε Μπότσιου, 2021).

6. Μέθοδοι κατεργασίας και ανάλυσης δειγμάτων για τον προσδιορισμό των πτητικών συστατικών σε οίνους

6.1 Γενικά

Ένα σημαντικό μέρος των πτητικών οσμηρών ενώσεων των οίνων βρίσκεται σε πολύ μικρή συγκέντρωση και αυτό κάνει απαραίτητη την προετοιμασία/προκατεργασία του δείγματος με στόχο την επιλεκτική απομόνωση και συμπύκνωση των επιθυμητών αναλυτών σε επίπεδα που επιτρέπουν την ανίχνευσή τους. Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου απομόνωσης είναι καθοριστική καθώς πολλές από τις ενώσεις είναι ευαίσθητες σε οξείδωση, θερμότητα ή και αλλαγές της τιμής pH. Οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί προκειμένου να επιτευχθεί αυτός ο σκοπός, έχουν τα θετικά και τα αρνητικά τους (Etievant, 1996)

6.2 Εκχύλιση στερεής φάσης - Solid-phase extraction (SPE)

Στην αρχή της SPE κατανέμονται τα εκχυλιζόμενα συστατικά ανάμεσα σε 2 φάσεις: στερεή φάση, δηλαδή το προσροφητικό υλικό και την υγρή, η οποία αποτελεί το υπόστρωμα με όλες τις παρεμποδίσεις. Οι προσδιοριζόμενες ενώσεις πρέπει να εμφανίζουν πιο μεγάλη συγγένεια με τις ομάδες της στερεής φάσης, προκειμένου να μπορούν να διαχωριστούν. Η παραλαβή των ενώσεων από το στερεό υπόστρωμα πραγματώνεται με τη βοήθεια των κατάλληλων διαλυτών. Οι

διαμοριακές δυνάμεις που αναπτύσσονται μεταξύ των προσδιοριζόμενων συστατικών, των ενεργών ομάδων στην επιφάνεια του προσροφητικού υλικού και της υγρής φάσης του υποστρώματος του δείγματος ή του διαλύτη, έχουν ευθύνη για τους διάφορους μηχανισμούς συγκράτησης και έκλουσης των ενώσεων.

Η SPE χωρίζεται σε 5 στάδια. Αρχικά, έχουμε την ενεργοποίηση του προσροφητικού. Έπειτα τη φόρτωση του δείγματος και την έκπλυση, η οποία αφορά την απομάκρυνση των πολικών συστατικών του υποστρώματος που είναι ανεπιθύμητα. Στο τέταρτο στάδιο έχουμε την έκλυση του δείγματος με τον απαραίτητο διαλύτη ή το απαραίτητο μίγμα διαλυτών και τέλος, στο πέμπτο στάδιο, έχουμε την εξάτμιση του διαλύτη.

Τα κύρια προτερήματα της εκχύλισης στερεάς φάσης είναι πως πρώτον δεν χρειάζεται μεγάλος χρόνος εκτέλεσης, αλλά σχετικά μικρός. Δεύτερον, γίνεται χρήση μικρών όγκων διαλυτών, ενώ όσον αφορά το συνδυασμό με ποικίλες τεχνικές χρωματογραφίας (HPLC, GC κ.ά.), αποτελεί την κατάλληλη τεχνική. Είναι δυνατόν να αυτοματοποιηθεί και να αναλυθεί μεγάλος αριθμός δειγμάτων, καθώς επίσης μπορεί να γίνει καθαρισμός του δείγματος σε ικανοποιητικό επίπεδο. Τέλος, επειδή έχουμε προσυγκέντρωση των συστατικών, οδηγούμαστε σε μεγαλύτερη ευαισθησία στην ανάλυση.

Στην εκχύλιση στερεάς φάσης γίνεται χρήση υλικών πλήρωσης παρόμοιων με αυτών που χρησιμοποιούνται στην HPLC, αλλά σε άλλη κοκκομετρική σύσταση. Οι μηχανισμοί διαχωρισμού περιλαμβάνουν SPE αντίστροφης φάσης, για μη πολικές ενώσεις με χρήση μη πολικού προσροφητικού υλικού π.χ. κυκλοεξυλο, οκτυλο-, δεκαοκτυλο-σιλάνιο. Ο διαχωρισμός στην SPE αντίστροφης φάσης βασίζεται σε ελκτικές δυνάμεις van der Waals ή δυνάμεις διασποράς. Η παραλαβή της επιθυμητής ένωσης εν συνεχεία επιτυγχάνεται με χρήση κατάλληλου διαλύτη (Θεοδωρίδης, 2015).

7. Οργανοληπτική αξιολόγηση οίνων

Ο έλεγχος που ως μέσον έχει τις αισθήσεις λέγεται οργανοληπτικός. Στόχος του είναι να προσδιορισθούν και να αξιολογηθούν τα οργανοληπτικά γνωρίσματα ενός κρασιού, προκειμένου να συμπεράνουμε την ποιότητά του.

Ο έλεγχος αφορά πέρα από την ικανότητα του δοκιμαστή, τις γνώσεις και την εμπειρία του στο να αναζητήσει, να εντοπίσει και να επαληθεύσει, μέσα από τις

αισθήσεις του, το “χαρακτήρα” του κρασιού. Αποτελεί μια δοκιμασία κατά την οποία, μέσω των αισθήσεων, οδηγούμαστε στην “ανάλυση” του οίνου.

Ο οργανοληπτικός έλεγχος αποσκοπεί στο να:

- Εκτιμηθεί η ποιότητα του οίνου. Παρότι πλέον από τις αναλυτικές μεθόδους μπορούμε να έχουμε πληροφορίες για περισσότερες από 300 ενώσεις που βρίσκονται στον οίνο, υπάρχουν κι άλλες πολλές, σε μικρότερη συγκέντρωση, οι οποίες έχουν ευθύνη για το διαφορετικό χαρακτήρα των κρασιών και μπορούμε να τις καταλάβουμε παρά μόνο μέσω των αισθητήριων οργάνων.
- Αναλυθούν τα αρωματικά και γευστικά γνωρίσματα του κρασιού, προκειμένου να γίνει αντιληπτή, αλλά και να εξηγηθεί από πού πρόερχονται τα πλεονεκτήματα ή τα μειονεκτήματά του, όπως και να αξιοποιηθεί με τον όσον το δυνατό καλύτερο τρόπο.
- Ταξινομηθούν και συγκριθούν οίνοι με όμοιο τύπο, όπως επίσης να προσδιορισθεί η ποιότητα ανόμοιων τύπων με αντικειμενικότητα.
- Εκτιμηθεί η εμπορική αξία όσον αφορά άλλους οίνους με ίδια προέλευση και ίδιο τύπο.
- Εκτιμηθούν από τους εξειδικευμένους επαγγελματίες οινολόγους, οινολογικές τεχνικές και κατεργασίες προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα που είναι χρήσιμα τόσο για την οινοποίηση όσο και την εξέλιξη του προϊόντος (Τζίζη, Κυπαρισσίου, 2010, όπ. ανάφ. σε Κεχαγιά, 2019).

Μέρος II

Πειραματικό μέρος

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Υλικά

2.1.1 Δείγματα

Τα δείγματα -ερυθρωποί οίνοι- που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτήν τη Διπλωματική εργασία προήλθαν από πειραματική οινοποίηση σταφυλιών της ελληνικής ερυθρής ποικιλίας Νεγκόσκα (*Vitis vinifera* L.) (**Εικ. 1**) από την αμπελουργική περιοχή της Γουμένισσας (Ν. Κιλκίς). Η διαδικασία (το πρωτόκολλο αυτής δίνεται αναλυτικά στην ενότητα 2.2.1) έλαβε χώρα στο οινοποιείο Κυρ-Γιάννη Α.Ε., στη Γουμένισσα. Για τις ανάγκες της εργασίας πραγματοποιήθηκε ανάλυση και δύο εμπορικών προϊόντων (ερυθρωποί μονοποικιλιακοί οίνοι από Νεγκόσκ, 2019 και 2020).



Εικ 1. Σταφυλή της γηγενούς ερυθρής οινοποιήσιμης ποικιλίας Νεγκόσκα

Ο αμπελώνας (**Εικ. 2**) είχε προσανατολισμό με βάση τον άξονα Ανατολής-Δύσης και διαμόρφωση σε υποστηριζόμενο γραμμικό σχήμα με μόνιμους αμφίπλευρους βραχίονες. Η ηλικία των πρέμων (**Εικ. 3**) από τα οποία συγκομίστηκαν τα σταφύλια για τις πειραματικές οινοποιήσεις ήταν 25 έτη. Ήταν φυτεμένα με υποκείμενο 110R και αποστάσεις φύτευσης 2 x 1,35m. Στα αμπέλια είχε εφαρμοστεί μονόπλευρο ξεφύλλισμα από την Βόρεια πλευρά στο στάδιο της πράσινης ράγας, κορυφολόγημα στο ίδιο στάδιο και ένα ακόμα κορυφολόγημα στο στάδιο του περκασμού. Σε όλη την καλλιεργητική περίοδο εφαρμόστηκαν 2 αρδεύσεις μετά τον περκασμό.



Εικ. 2. Ο αμπελώνας στη Γουμένισσα



Εικ. 3. Πρέμνο Νεγκόσκα

2.1.1 Πρότυπες ενώσεις

Στο πλαίσιο της αναλυτικής διαδικασίας χρησιμοποιήθηκε η 3-οκτανόλη, ως εσωτερικό πρότυπο, αναλυτικής καθαρότητας 98% (Riedel-de-Haën, Seelze, Germany).

2.1.2 Διαλύτες και αντιδραστήρια

Η παρασκευή των κατάλληλων διαλυμάτων καθώς και η πραγματοποίηση των πειραματικών μετρήσεων έγιναν με τη χρήση των εξής διαλυτών και αντιδραστηρίων: μεθανόλη (99,9%, Panreac, Spain), διχλωρομεθάνιο ($\geq 99,9\%$, GC) (Riedel-de-Haën, Seelze, Germany), εξάνιο (Chromasolv) (Honeywell- Riedel-de-Haën, Seelze, Germany, απιονισμένο νερό, υπερκάθαρο νερό (milliQ), αιθυλική αλκοόλη 99,8% (Panreac Quimica, SA, Spain), L(+)-Ασκορβικό οξύ (Riedel-de-Haën, Seelze, Germany), L(+) τρυγικό οξύ ($\geq 99,5\%$, Fluka AG, Switzerland), υδροξείδιο του νατρίου (Riedel-de-Haën, Seelze, Germany), μονοένυδρο κιτρικό οξύ (Mallinckrodt Chemicals, St. Louis, Missouri, USA), διένυδρο κιτρικό (τρι)νάτριο (Trisodium citrate dihydrate) (Panreac, Spain), Pure Polyvinylpolypyrrolidone, VINICLAR P (Laffort, France), ένζυμο Rapidase Revelation Aroma (Oenobrand SAS, France), άνυδρο θειικό νάτριο (Chem-Lab, Zedelgem, Belgium), Υψηλής χρωματογραφικής καθαρότητας πρότυπα κ-αλκάνια (C7-C30) του οίκου Supelco (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany).

2.1.2 Όργανα και συσκευές

Όσον αφορά τη ζύγιση των πρότυπων ενώσεων και των αντιδραστηρίων, αυτή έγινε με την απαιτούμενη ανά περίπτωση ακρίβεια, με τη βοήθεια ζυγού ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (AB204-S, Mettler Toledo, Switzerland) και ζυγού ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων (Kern, Switzerland). Κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν επίσης κυκλομίκτης (Vortex) (Snijders Scientific, Tilburg- Holland), φυγόκεντρος (Thermo Scientific SL 16R), πεχάμετρο (HANNA Bench Meter), συσκευή ανατάραξης (shaker) IKA KS 4000 ic control, μαγνητικός αναδευτήρας IKA Werke RCT Basic (Staufen, Germany), συσκευή Visiprep™ SPE SUPELCO 12 θέσεων (Supelco, Germany), περιστροφικός εξατμιστής κενού Rotavapor R-100, με Heating Bath B-200, και Recirculating chiller F-100 (Büchi, Switzerland), τριχοειδής στήλη DB-Wax, με μήκος 60 m, εσωτερική διάμετρο 0,32 mm και πάχος υμενίου στατικής φάσης 0,25 μm του οίκου Agilent, αεριοχρωματογράφος GC-6890A συζευγμένος με εκλεκτικό ανιχνευτή τετραπολικού φίλτρου μάζας MSD-5973 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)

2.1.3 Γυάλινα σκεύη

Για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκαν εσμυρισμένες κωνικές φιάλες των 25 και 50 mL, σφαιρικές των 100 mL, ποτήρια ζέσεως των 100 mL, σιφώνια μέτρησης των 20, 10 και 5 mL, φιαλίδια διαφόρων μεγεθών, φιαλίδια αυτόματου δειγματολήπτη με insert.

2.1.4 Λοιπός εξοπλισμός

Στην εργασία χρησιμοποιήθηκε επίσης εξοπλισμός όπως πλαστικά δοχεία, πιπέττες Pasteur, πουάρ, αυτόματη μικροπιπέτα pipet4u®pro με έμβολο 25-250 μL (Ahn®Bio, Nordhausen-Germany), μικροστήλες SPE TELOS ENV (200 mg/6mL) (Kinesis, USA). Για την εκχύλιση υγρού-υγρού χρησιμοποιήθηκε γυάλινο χωνί, διαχωριστική χοάνη των 100 mL και μαγνητάκια. Για τη στήριξη των διατάξεων της εκχύλισης υγρού-υγρού χρησιμοποιήθηκαν μεταλλικά στηρίγματα και μεταλλικοί δακτύλιοι.

2.2 Μέθοδοι

2.2.1 Πειραματική ερυθρωπή οиноποίηση

Βασικό πρωτόκολλο

Η συγκομιδή των σταφυλιών πραγματοποιήθηκε στις 4 Οκτωβρίου 2021. Προηγήθηκε έλεγχος της πορείας ωρίμανσης των σταφυλιών

Στον **Πίνακα 5** φαίνονται λεπτομερώς τα στοιχεία του γλεύκους του οποίου έγινε χρήση κατά το στάδιο της πειραματικής οиноποίησης (δείγμα πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης)

Πίνακας 5. Σύσταση του γλεύκους από την ποικιλία Νεγκόσκα που χρησιμοποιήθηκε για την πειραματική οиноποίηση

<i>Σάκχαρα</i> (g/L)	<i>pH</i>	<i>Ολική οξύτητα</i> (g τρυγικού οξέος/L)
220	3,99	5,6

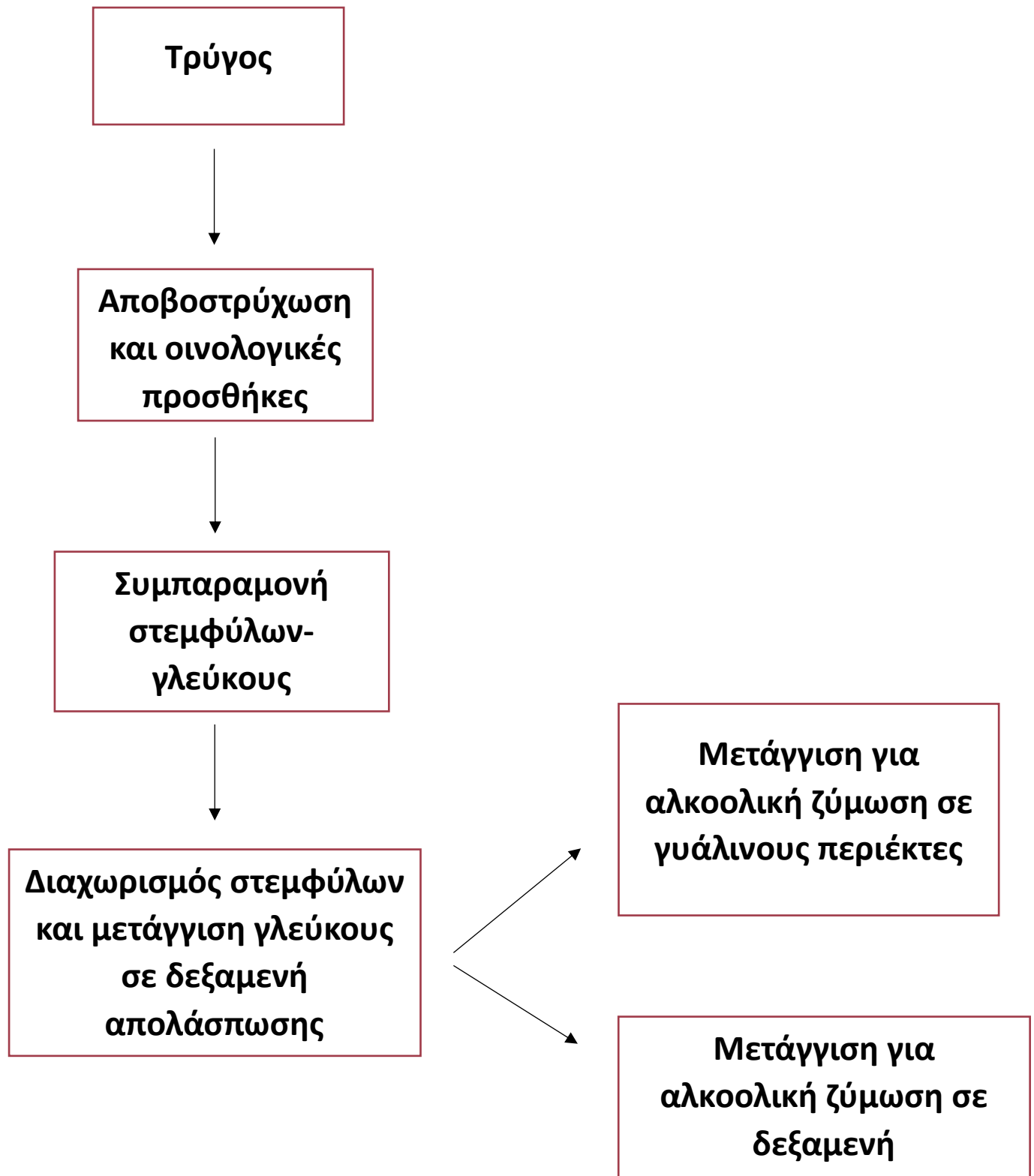
Για τις ανάγκες του πειραματισμού, έγινε μεταφορά στο οиноποιείο των σταφυλιών που συγκομίστηκαν την ίδια μέρα, (**Εικ. 4 & 5**) όπου και τέθηκε σε εφαρμογή σε βιομηχανική κλίμακα (δεξαμενές 20 Tn) το πρωτόκολλο ερυθρωπής οиноποίησης που διαγραμματικά υπάρχει παρακάτω (**Σχήμα 2**).



Εικ. 4. Παραλαβή σταφυλιών



Εικ. 5. Τοποθέτηση σταφυλιών στη σταφυλοδόχο μετά την παραλαβή



Σχήμα 2. Πρωτόκολλο ερυθρωπής οινοποίησης που εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία

Πιο αναλυτικά, ύστερα από τους ελέγχους που κρίνονταν απαραίτητοι κατά την παραλαβή των σταφυλιών και τις προζυμωτικές κατεργασίες [έκθλιψη, αποβοστρύχωση, προσθήκη SO₂ (Sulfossil 100 mL/tn), οινολογικών ταννινών (100 g/tn), ενζύμων εκχύλισης (30 g/tn), συμπαραμονή γλεύκους και στεμφύλων για 18 ώρες, παραλαβή έγχρωμου γλεύκους με αφαίμαξη (**Εικ. 8**), μεταφορά του σε δεξαμενή 500 L (**Εικ. 9**), προσθήκη πηκτινολυτικών ενζύμων (διαύγασης) (3,5 g/hL) και στατική απολάσπωση σε χαμηλή θερμοκρασία για 12h], το διαυγασμένο γλεύκος (**Εικ. 11**) μεταφέρθηκε σε μια δεξαμενή 300 L και σε έξι γυάλινους περιέκτες των 5 L (**Εικ. 12**). Καθ'όλη την διαδικασία προσθήκης γλεύκους στην δεξαμενή απολάσπωσης, και μέχρι την πλήρωση της, γινόταν προσθήκη ξηρού πάγου, για προστασία του γλεύκους από την οξείδωση μέσω της δημιουργίας ατμόσφαιρας CO₂ (**Εικ. 10**).



Εικ. 8. Παραλαβή έγχρωμου γλεύκους με αφαίμαξη



Εικ.. 9. Δεξαμενή απολάσπωσης



Εικ. 10. Προσθήκη ξηρού πάγου στην δεξαμενή απολάσπωσης για προστασία του γλεύκους από την οξείδωση



Εικ. 11. Παραλαβή διαυγασμένου γλεύκους



Εικ. 12. Γυάλινα σκεύη στα οποία πραγματοποιήθηκε η αλκοολική ζύμωση

Αλκοολική ζύμωση με επιλεγμένους ζυμομύκητες

Για την αλκοολική ζύμωση (**Εικ. 13**) η οποία πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του οινοποιείου (θερμοκρασία 15 - 19 °C), σε 6 γυάλινους περιέκτες των 5L και μία δεξαμενή των 300 L, όπως προαναφέρθηκε, έγινε προσθήκη καλλιέργειας ζυμομυκήτων μετά από κατάλληλη προετοιμασία. Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα διαφορετικά εμπορικά σκευάσματα Α, Β, Γ και Δ (βλέπε §.2.2.2.). Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε εις διπλούν για κάθε ζυμομύκητα.

Σε καθημερινή βάση είχαμε παρακολούθηση της ομαλής πορείας της αλκοολικής ζύμωσης μέσω μετρήσεων της πυκνότητας και της θερμοκρασίας του ζυμούμενου γλεύκους.

Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, όταν η πυκνότητα είχε μειωθεί κατά 40 μονάδες, σε κάθε ένα από τους περιέκτες, πραγματοποιήθηκε αερισμός του ζυμούμενου γλεύκους και προσθήκη οργανικής-αζωτούχας θρέψης (Actiferm-2, 200 g/tn).

Αφότου η αλκοολική ζύμωση έφτασε στο τέλος της (συγκέντρωση αναγόντων σακχάρων < 2 g/L), έγινε μετάγχιση του φρέσκου οίνου (για διαχωρισμό από τις χονδρές οινολάσπες) σε γυάλινες φιάλες των 2 L (**Εικ. 14**) και προσθήκη SO₂ (Μεταδιθειώδες κάλιο 40 mg/L).



Εικ 13. Αλκοολική ζύμωση



Εικ. 14. Απολασπωμένοι πειραματικοί οίνοι

Στη συνέχεια, οι φιάλες μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας ΑΠΘ, όπου και παρέμειναν μέχρι την ανάλυση τους. Στο διάστημα αυτό (29.10.2021 έως 1.2.2022) γινόταν εβδομαδιαία ανάδευση

των οινολασπών. Στα δείγματα πραγματοποιήθηκε μία επιπλέον μετάγγιση/απολάσπωση (1.2.2022) και συμπληρωματική προσθήκη SO₂ (20 mg/L).

2.2.2 Ζυμομύκητες

Έγινε χρήση 4 διαφορετικών εμπορικών σκευασμάτων (Α, Β, Γ, Δ) ζυμών *Saccharomyces* και *non-Saccharomyces* προκειμένου να μελετηθεί ο αντίκτυπος του είδους του ζυμομύκητα στα χαρακτηριστικά -αναλυτικά και οργανοληπτικά- των ερυθρωπών οίνων από τη γηγενή ερυθρή ποικιλία Νεγκόσκα. Η μορφή αυτών των ζυμών είναι λυοφιλωμένη και είναι έτοιμες για οινολογική χρήση μετά από κατάλληλη ενεργοποίηση.

Πιο αναλυτικά χρησιμοποιήθηκαν

- ICV Opale (Lalvin ICV OPALE®, Institut Coopératif du Vin (ICV)) (Α)
- Enodoc TD3 (Enodoc™, Danstar Ferment for Dal Cin Group) (Β)
- Alchemy IV (Anchor Alchemy IV, Australian Wine Research Institute (AWRI)) (Γ) και
- Exotics Mosaic (Anchor Exotics Mosaic, Institute for Wine Biotechnology, Stellenbosch University, South Africa) (Δ).

Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ζυμομυκήτων αναφέρονται στον **Πίνακα 6**.

Η παρασκευή των εμβολίων έγινε σε ποτήρια ζέσεως χωρητικότητας 100 mL (**Εικ. 15-16**). Πιο συγκεκριμένα σε ποσότητα νερού ίση με 10 mL και θερμοκρασία 40 °C, έγινε προσθήκη 1 g ζύμης χωρίς ανάδευση για 20min με σκοπό την ενυδάτωση της. Ακολούθησε ανάδευση, προσθήκη 0,5 g ζάχαρης και ανάδευση εκ νέου. Στη συνέχεια, ανά 10 min γινόταν προσθήκη μικρής ποσότητας γλεύκους (3 φορές συνολικά) και στο τέλος προσθήκη 1g αζωτούχας θρέψης (Actiferm-1, 200 g/tn) το οποίο διαλύθηκε σε χλιαρό νερό.



Εικόνες 15-16. Προετοιμασία εμβολίων

Τα σκεύασματα χρησιμοποιήθηκαν στην ίδια, ενδεδειγμένη για την ομαλή εκκίνηση της αλκοολικής ζύμωσης δοσολογία (200 g/tn), ώστε να μπορούν να

συγκριθούν τα αποτελέσματα. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι τα **B & Γ** χρησιμοποιήθηκαν σε συνδυασμό και τον εμβολιασμό με το εμπορικό σκεύασμα **B-Enodoc TD3**, ακολούθησε μετά από 24h, εμβολιασμός με το εμπορικό σκεύασμα **Γ-Alchemy IV**, στον ίδιο περιέκτη. Η δεξαμενή εμβολιάστηκε με το εμπορικό σκεύασμα **ICV Opale**.

Πίνακας 6. Γνωρίσματα των ζυμομυκήτων που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή των πειραματικών οίνων στην παρούσα εργασία

	Εμπορική ονομασία / Εταιρεία παραγωγής	Είδος ζυμομύκητα	Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά	Εφαρμογή
1*, 2	OPALE / Lalvin ICV	<i>S. cerevisiae</i>	Παράγει πολύ χαμηλά επίπεδα H ₂ S και SO ₂ . Προσδίδει φρεσκάδα στους οίνους και συμβάλει στα εξωτικά, τροπικά αρώματα και στην ενίσχυση της έκφρασης του χαρακτήρα των εσπεριδοειδών	Οινοποίηση λευκών και ροζέ οίνων υψηλής ποιότητας
3	Enodoc TD3 / Danstar Ferment for Dal Cin Group	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Ενισχύει την αρωματική πολυπλοκότητα και τη δομή λευκών και ερυθρών οίνων	Οινοποίηση όλων των τύπων οίνου
3	Alchemy IV / Anchor	<i>S. cerevisiae</i>	Ενισχύει την παραγωγή αρωμάτων κόκκινων φρούτων όπως κεράσι, βατόμουρο και ρόδι, καθώς και την παραγωγή εστέρων και τερπενίων. Ενισχύει την παραγωγή β-δαμασκηνόνης (άρωμα βιολέτας) και μειώνει την παραγωγή πυραζινών. Στους ροζέ οίνους ιδιαίτερα, ενισχύει το πρωτογενές αρωματικό προφίλ των σταφυλιών	Οινοποίηση όλων των τύπων οίνου, ιδανική για οίνους παλαιώσης που διατηρούν τα έντονα φρουτώδη αρώματα τους
4	Exotics Mosaic / Anchor	Υβρίδιο <i>S. cerevisiae</i> × <i>S. paradoxus</i>	Εντείνει την παραγωγή αρωμάτων φρούτων όπως γκουάβα, φρούτο του πάθους, εξωτικών και πυρηνόκαρπων φρούτων ενώ παράγει χαμηλά επίπεδα πτητικής οξύτητας	Οινοποίηση λευκών και ροζέ οίνων υψηλής ποιότητας, ιδανική για οίνους που ζυμώνουν σε βαρέλι

*Αριθμός δείγματος οίνου

2.2.3 Αναλύσεις δειγμάτων

2.2.4.1. Προετοιμασία δείγματος οίνου

Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Williams and Buica (2016). Πιο αναλυτικά, σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL τοποθετήθηκε δείγμα οίνου και ακολούθησε προσθήκη 200 μ L αιθανολικού διαλύματος εσωτερικού προτύπου (3-οκτανόλη, 100 mg/L). Η εξέταση κάθε δείγματος έγινε εις διπλούν.

2.2.4.2. Εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE)

Η εξισορρόπηση (conditioning) των μικροστηλών για την ενεργοποίηση των δραστικών ομάδων του προσροφητικού υλικού, έγινε με 4 mL διχλωρομεθανίου, 4mL μεθανόλης και 4 mL συνθετικό διάλυμα οίνου (αιθανόλη 12 % v/v, τρυγικό οξύ 5 g/L, pH 3,5) (ροή 3 mL/min).

Ακολούθησε η μεταφορά και διέλευση των 50 mL του δείγματος οίνου (ροή 1,5 mL/min).

Η έκπλυση της στήλης, για την απομάκρυνση των πολικών συστατικών, έγινε με 6 mL υπερκάθαρου νερού (ροή 3mL/min). Ακολούθησε ξήρανση του προσροφητικού υλικού για 45 min (κενό 512 mmHg).

Η έκλυση των συστατικών που βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή πραγματοποιήθηκε με 2 mL διχλωρομεθανίου (ροή 3 mL/min) και των δεσμευμένων με 10 mL MeOH. Η συλλογή πραγματοποιήθηκε σε αριθμημένους δοκιμαστικούς σωλήνες.

Πτητικά συστατικά σε ελεύθερη μορφή

Το έκλουσμα που παραλήφθηκε με διαλύτη διχλωρομεθάνιο, συμπυκνώθηκε με τη βοήθεια ρεύματος N₂ έως 0,5 mL. Ακολούθησε προσθήκη ίσης ποσότητας εξανίου, ανάμιξη σε κυκλομίκτη (vortex), τελική συμπύκνωση του περιεχομένου του δοκιμαστικού σωλήνα σε όγκο ίσο με 0,2 mL και μεταφορά με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur σε γυάλινο φιαλίδιο με insert. Το γυάλινο φιαλίδιο αποθηκεύτηκε στην κατάψυξη μέχρι την ανάλυση.

Πτητικά συστατικά σε δεσμευμένη μορφή

Το έκλουσμα που παραλήφθηκε με διαλύτη μεθανόλη, μεταφέρθηκε σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη των 100 mL, και ακολούθησε απομάκρυνση με απόσταξη της μεθανόλης σε περιστρεφόμενο εξατμιστή κενού στους 55-57 °C.

Στη φιάλη απόσταξης, ακολούθησε διαδοχική προσθήκη 2, 2 και 1 mL (συνολικά 5 mL) ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού οξέος pH 5,0 [μονοένυδρο κιτρικό οξύ 8,041 g/L, διένυδρο κιτρικό (τρι)νάτριο 17,099 g/L, ρύθμιση του pH με τη βοήθεια πυκνού διαλύματος NaOH], και το περιεχόμενό της μεταφέρθηκε στη συνέχεια με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur σε σωλήνα με βιδωτό πώμα, στον οποίο είχε γίνει προσθήκη 14 mg ενζύμου Rapidase Revelation Aroma. Ο σωλήνας (τυλιγμένος με αλουμινόχαρτο) μεταφέρθηκε σε πυριαντήριο όπου και παρέμεινε σε θερμοκρασία 37 °C για 20 h, ώστε να υδρολυθούν τα συστατικά των δειγμάτων τα οποία βρίσκονται σε δεσμευμένη μορφή.

Μετά το πέρας των 20 ωρών, το περιεχόμενο του σωλήνα μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL, στην οποία έγινε επίσης προσθήκη 200 μL αιθανολικού διαλύματος εσωτερικού προτύπου (3-οκτανόλη, 100 mg/L) και 3 mL διχλωρομεθανίου. Η ογκομετρική φιάλη μεταφέρθηκε σε μαγνητικό αναδευτήρα όπου και ακολούθησε ανάδευση για 5 min, στις 350 rpm. Έπειτα έγινε μεταφορά του περιεχομένου της φιάλης σε διαχωριστική χοάνη, έγινε διαχωρισμός των φάσεων και παραλαβή της οργανικής (κατώτερης) φάσης σε γυάλινο φιαλίδιο.

Η υδατική φάση επιστράφηκε στην ογκομετρική φιάλη, και η διαδικασία της ανάδευσης/εκχύλισης επαναλήφθηκε για άλλες δύο φορές. Οι οργανικές φάσεις συλλέχθηκαν όλες στο ίδιο φιαλίδιο.

Ακολούθησε προσθήκη μικρής ποσότητας άνυδρου θειικού νατρίου (Na_2SO_4) στο φιαλίδιο για τη δέσμευση πιθανών υπολειμμάτων νερού, μεταφορά σε αριθμημένο δοκιμαστικό σωλήνα, και συμπύκνωση με τη βοήθεια ρεύματος αζώτου έως 0,5 mL. Ακολούθησε προσθήκη ίσης ποσότητας εξανίου, ανάμιξη σε κυκλομίκτη (vortex), τελική συμπύκνωση του περιεχομένου του δοκιμαστικού σωλήνα σε όγκο ίσο με 0,2 mL και μεταφορά με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur σε γυάλινο φιαλίδιο με insert. Το γυάλινο φιαλίδιο αποθηκεύτηκε στην κατάψυξη μέχρι την ανάλυση.

2.2.4.3. Αεριοχρωματογραφική ανάλυση

Η αεριοχρωματογραφική ανάλυση των πτητικών ενώσεων που βρίσκονται είτε σε ελεύθερη είτε σε δεσμευμένη μορφή έγινε σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας συζευγμένο με φασματόμετρο μάζας (GC/MS).

Ο διαχωρισμός έγινε σε πολική τριχοειδή στήλη DB-Wax, η οποία είχε μήκος 60 m, εσωτερική διαμέτρο 0,32 mm και το πάχος υμενίου στατικής φάσης ήταν 0,25 μm. Το φέρον αέριο (ήλιο) είχε ροή 1,2 mL/min, ενώ η διάταξη εισαγωγής του αεριοχρωματογράφου είχε θερμοκρασία 250 °C. Στην πολιτική τριχοειδή στήλη έγινε έγχυση 1 μL δείγματος και εισαγωγή του δείγματος splitless/split. Η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς (transfer line) ήταν ίση με 240 °C, ενώ στο θάλαμο ιονισμού και στον αναλυτή μάζας (τετραπολικό φίλτρο μάζας) ήταν 230 °C και 150 °C, αντίστοιχα. Αφότου διαχωρίστηκαν, ακολούθησε ο ιονισμός των πτητικών συστατικών, ο οποίος έγινε με πρόσπτωση δέσμης ηλεκτρονίων που είχαν ενέργεια 70eV. Εφαρμόστηκε solvent delay με διάρκεια ίση με 8,5 min.

Ο αεριοχρωματογραφικός διαχωρισμός των πτητικών συστατικών έγινε με προγραμματισμένη αύξηση της θερμοκρασίας του φούρνου ως εξής:

- ισόθερμα για 1 min στους 40 °C
- αύξηση στους 240 °C με ρυθμό 3 °C
- ισόθερμα για 10 min στους 240 °C

Η ανάλυση κάθε δείγματος έγινε δύο φορές.

Η ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών των δειγμάτων έγινε βάσει των δεικτών συγκράτησης Kovats (συγκρίθηκαν με αυτούς από βιβλιογραφικά δεδομένα) και των φασμάτων μαζών που ελήφθησαν μετά τον αεριοχρωματογραφικό διαχωρισμό και τον ιονισμό τους στον ανιχνευτή μάζας (συγκρίθηκαν με αυτά της NIST Mass Spectral database, version 2.0d, 2005, Agilent Technologies). Η ταυτοποίηση έγινε στην περίπτωση ορισμένων από τα πτητικά συστατικά και με σύγκριση των χρόνων συγκράτησής τους με αυτούς πρότυπων ενώσεων υψηλής καθαρότητας.

2.2.4.4. Οργανοληπτική εξέταση οίνων

Οργανοληπτική αξιολόγηση των πειραματικών οίνων μετά από 3μηνη ωρίμανσή τους με τις λεπτές οινολάσπες καθώς και δύο εμπορικών προϊόντων από την ίδια ποικιλία, πραγματοποιήθηκε στις 28.3.2022 στο οινοποιείο Κυρ-Γιάννη, στο

Γιαννακοχώρι Νάουσας. Στην δοκιμή συμμετείχαν 6 εκπαιδευμένοι δοκιμαστές, επαγγελματίες στον χώρο του οίνου.

Οι δοκιμαστές αξιολόγησαν τους οίνους με τη βοήθεια αριθμητικής κλίμακας, συμπληρώνοντας ειδικά διαμορφωμένη φόρμα αξιολόγησης (**Σχήμα 3**), με βάση τα οπτικά (ένταση και απόχρωση του χρώματος), οσφρητικά (ένταση αρώματος και διάρκεια αρώματος) και γευστικά τους χαρακτηριστικά (λιπαρότητα, οξύτητα, στυφάδα, πικράδα, σώμα, ισορροπία) ενώ εκτιμήθηκε επίσης η επίγευση και αρμονία-γενική εντύπωση.

Κωδικός :	Ημερομηνία: 28/03/2022
Δοκιμαστής :	

			Εξαιρετικό	Πολύ καλό	Καλό	Φτωχό	Ανεπαρκές	Παρατηρήσεις
<i>Οπτική εκτίμηση</i>	<i>Χρώμα</i>	Ένταση	6	5	4	2	1	
		Απόχρωση	6	5	4	2	1	
<i>Άρωμα</i>	Ένταση		10	8	6	4	2	
	Διάρκεια		10	8	6	4	2	
	Αρώματα που ξεχωρίζουν και ένταση							
	Περιγράψτε, εάν υπάρχει, κάποιο ελάττωμα							
			Πολύ έντονη	Έντονη	Μέτρια	Ελαφριά	Ανύπαρκτη	Παρατηρήσεις
<i>Γεύση</i>	Λιπαρότητα		10	8	6	4	2	
	Οξύτητα		10	8	6	4	2	
	Στυφάδα		10	8	6	4	2	
	Πικράδα		10	8	6	4	2	
	Σώμα		10	8	6	4	2	
	Ισορροπία		10	8	6	4	2	
			Εξαιρετική	Πολύ καλή	Καλή	Φτωχή	Ανεπαρκής	Παρατηρήσεις
<i>Επίγευση</i>			6	5	4	2	1	
<i>Αρμονία- Γενική εντύπωση</i>			10	8	6	4	2	

Σχήμα 3. Φόρμα οργανοληπτικής αξιολόγησης οίνων που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία

3. Αποτελέσματα - Συζήτηση

3.1 Αναλυτικά χαρακτηριστικά των οίνων

Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά των οίνων που προέκυψαν από τις πειραματικές οινοποιήσεις (οίνοι 1-4) και των εμπορικών δειγμάτων (οίνοι 5-6) που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται στον **Πίνακα 7**.

Ο αλκοολικός τίτλος των πειραματικών οίνων δεν παρουσιάζει ιδιαίτερες διακυμάνσεις (13,0-13,6 % vol.). Υψηλότερο αλκοολικό τίτλο έχει το δείγμα 1 (ζύμη *S. cerevisiae* Opale _{πειρ}), ενώ χαμηλότερο παρουσίασε το δείγμα 2 (ζύμη *S. cerevisiae* Opale _{δεξ}), κάτι που δεν είναι εύκολο να εξηγηθεί δεδομένου ότι πρόκειται για τον ίδιο ζυμομύκητα, κι ίσως οφείλεται στην εξάτμιση αλκοόλης από τον οίνο που ζύμωσε στη δεξαμενή εξαιτίας του μεγαλύτερου όγκου και της μεγαλύτερης ελεύθερης επιφάνειας.

Με βάση την ελληνική νομοθεσία, ως ξηροί ορίζονται οι οίνοι με συγκέντρωση αναγόντων σακχάρων μικρότερη των 4g/L. Όλοι οι (πειραματικοί) οίνοι κατατάσσονται στην κατηγορία των ξηρών, που σημαίνει ότι οι πειραματικές μικροοινοποιήσεις εξελίχθηκαν ομαλά και ολοκληρώθηκαν με επιτυχία.

Υψηλότερη πτητική οξύτητα (0,39 g/L) παρουσίασε το δείγμα 3 (διαδοχικός εμβολιασμός *T. delbrueckii* TD3 και *S. cerevisiae* ALCHEMY IV) [πιθανότατα ωστόσο στο δείγμα έλαβε χώρα μηλογαλακτική ζύμωση (ΜΓΖ)] ενώ χαμηλότερη (0,25 g/L) το δείγμα 4 (υβρίδιο *S. cerevisiae* × *S. paradoxus*, MOSAIC). Ωστόσο όλες οι τιμές είναι εντός ορίων της νομοθεσίας.

Η ολική οξύτητα των οίνων παρουσίασε τιμές μεταξύ 4,1 και 4,7 g/L, με τα δείγματα 2 και 4 να εμφανίζουν τις υψηλότερες τιμές και το δείγμα 3 τη χαμηλότερη (πιθανότατα λόγω της ΜΓΖ), ενώ οι τιμές pH των οίνων κυμάνθηκαν σε μέτρια επίπεδα, χωρίς σημαντικές διαφοροποιήσεις.

Πίνακας 7. Αναλυτικά χαρακτηριστικά πειραματικών και εμπορικών οίνων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία

		1	2	3	4
Αλκοολικός Τίτλος	(% vol)	13,6 ± 0,1	13,0 ± 0,1	13,5 ± 0,0	13,4 ± 0,1
Πυκνότητα	(g/mL)	0,9888±0,0000	0,9896±0,0000	0,9889±0,0001	0,9899±0,0002
Ανάγοντα σάκχαρα	(g/L)	1,8 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,8 ± 0,0	2,7 ± 0,2
Πτητική οξύτητα	(g/L οξικό οξύ)	0,35 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,39 ± 0,08	0,25 ± 0,00
Ολική οξύτητα	(g/L τρυγικό οξύ)	4,5 ± 0,1	4,7 ± 0,1	4,1 ± 0,0	4,7 ± 0,1
Ενεργός οξύτητα (pH)		3,48 ± 0,00	3,50 ± 0,00	3,51 ± 0,01	3,47 ± 0,02
Τρυγικό οξύ	(g/L)	2,3 ± 0,0	2,4 ± 0,2	2,1 ± 0,0	2,3 ± 0,1
Μηλικό οξύ	(g/L)	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	<0,3	0,8 ± 0,0
Γαλακτικό οξύ	(g/L)	<0,3	<0,3	0,7 ± 0,0	<0,3
Κάλιο	(mg/L)	941 ± 10	951 ± 41	924 ± 28	1023 ± 49

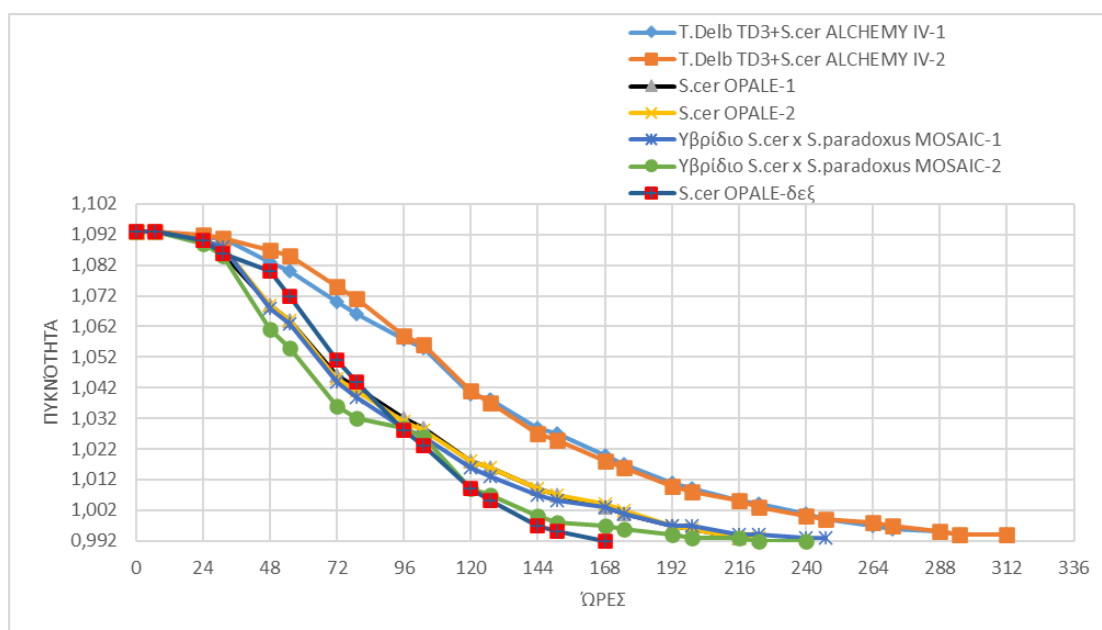
		5	6
Αλκοολικός Τίτλος	(% vol)	12,8	12,6
Πυκνότητα	(g/mL)	0,9887	0,9899
Ανάγοντα σάκχαρα	(g/L)	0,7	1,5
Πτητική οξύτητα	(g/L οξικό οξύ)	0,16	0,42
Ολική οξύτητα	(g/L τρυγικό οξύ)	5,2	5,2
Ενεργός οξύτητα (pH)		3,33	3,31
Τρυγικό οξύ	(g/L)	1,9	2,1
Μηλικό οξύ	(g/L)	1,4	<0,3
Γαλακτικό οξύ	(g/L)	<0,3	0,8
Κάλιο	(mg/L)	714	825

1: *S.cerevisiae* OPALÉ περ, 2: *S.cerevisiae* OPALÉ δεξ, 3: *T.delbrueckii* + *S.cerevisiae* (TD3+ALCHEMY IV), 4: υβρίδιο *S.cerevisiae* × *S. paradoxus* (MOSAIC), 5: εμπορικό δείγμα I, 6: εμπορικό δείγμα II.

3.2 Παρακολούθηση αλκοολικής ζύμωσης γλευκών

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η παρακολούθηση της πορείας της αλκοολικής ζύμωσης (AZ) των γλευκών πραγματοποιήθηκε με μέτρηση της πυκνότητας δύο φορές την ημέρα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4**.

Όπως φαίνεται και από το Σχήμα, πρώτο ολοκλήρωσε την ζύμωση το γλεύκος της δεξαμενής που είχε εμβολιαστεί με το προϊόν με εμπορική ονομασία OPALÉ, με συνολική διάρκεια AZ 168 ώρες (7 ημέρες). Ακολούθησαν τα γλεύκη στους μικρότερους γυάλινους περιέκτες που είχαν εμβολιαστεί με τον ίδιο ζυμομύκητα, με συνολική διάρκεια AZ 216 ώρες (9 ημέρες), στη συνέχεια τα γλεύκη που εμβολιάστηκαν με το υβρίδιο με την εμπορική ονομασία MOSAIC [διάρκεια AZ 216 ώρες (9 ημέρες) και 240 ώρες (10 ημέρες)], ενώ τελευταία ολοκλήρωσαν τις ζυμώσεις τους τα γλεύκη στα οποία είχε γίνει διαδοχικός εμβολιασμός αρχικά με το προϊόν με την εμπορική ονομασία TD3 και έπειτα από 48 ώρες με το προϊόν ALCHEMY IV. Τα δυο αυτά γλεύκη ολοκλήρωσαν τις ζυμώσεις σε 312 ώρες (13 ημέρες), σχεδόν τις διπλάσιες ώρες από το γλεύκος που ολοκλήρωσε πρώτο.



Σχήμα 4. Κινητικές αλκοολικής ζύμωσης των πειραματικών οίνων 1-4

3.3 Αποτελέσματα αεριοχρωματογραφικής ανάλυσης

Κατά τη διερεύνηση της σύστασης σε πτητικά και μη πτητικά συστατικά [που απαντούν δηλαδή σε ελεύθερη και δεσμευμένη (γλυκοζυλιωμένη) μορφή, αντίστοιχα] των πειραματικών και των εμπορικών οίνων από την ποικιλία Νεγκόσκα, με

εφαρμογή της τεχνικής GC/MS, ταυτοποιήθηκαν συνολικά 155 και 97 ενώσεις, σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή, αντίστοιχα.

Το σύνολο των ενώσεων που προσδιορίστηκαν τόσο στους πειραματικούς όσο και στους εμπορικούς οίνους ταξινομήθηκε με βάση τη δομή τους σε:

- **Αλκοόλες** (αλειφατικές, ισοκυκλικές, ετεροκυκλικές)
- **Αλδεΐδες** (αλειφατικές, ισοκυκλικές, ετεροκυκλικές)
- **Κετόνες** (αλειφατικές, ισοκυκλικές, ετεροκυκλικές)
- **Εστέρες** (αλειφατικούς, ισοκυκλικούς, ετεροκυκλικούς)
- **Μονοκαρβονικά οξέα** (αλειφατικά, ισοκυκλικά)
- **Μονοτερπενικές ενώσεις** (υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, οξείδια)
- **C₁₃ νορισοπρενοειδείς ενώσεις**
- **Φαινολικές ενώσεις** (παράγωγα γουαϊακόλης, λοιπές)
- **Λακτόνες**
- **Ετεροκυκλικοί υδρογονάνθρακες**
- **Λοιπές ενώσεις**

Πιο αναλυτικά, σε ελεύθερη μορφή βρέθηκαν στους πειραματικούς και στους εμπορικούς οίνους αλκοόλες (29), αλδεΐδες (7), κετόνες (7), εστέρες (54), μονοτερπενικές ενώσεις (11), C₁₃ νορισοπρενοειδείς ενώσεις (2), μονοκαρβονικά οξέα (23), φαινολικές ενώσεις (14), λακτόνες (4), υδρογονάνθρακες (2) και λοιπές ενώσεις (2). Σε δεσμευμένη μορφή βρέθηκαν στους πειραματικούς και στους εμπορικούς οίνους αλκοόλες (26), αλδεΐδες (6), κετόνες (4), εστέρες (11), μονοτερπενικές ενώσεις (14), C₁₃ νορισοπρενοειδείς ενώσεις (3), μονοκαρβονικά οξέα (12), φαινολικές ενώσεις (15), λακτόνες (3) υδρογονάνθρακες (1) και λοιπές ενώσεις (2).

Στους Πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζονται οι ομάδες των πτητικών ενώσεων που προσδιορίστηκαν (σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή) στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους που εξετάστηκαν, η συγκέντρωση των επιμέρους ενώσεων [MO ± SD εκφρασμένη σε ισοδύναμα 3-οκτανόλης (μg/L)] καθώς και οι δείκτες συγκράτησης Kovats στη στατική φάση της στήλης στην οποία έγινε ο αεριοχρωματογραφικός διαχωρισμός, όπως υπολογίστηκαν και όπως προέκυψαν μετά από βιβλιογραφική αναζήτηση.

Η κωδικοποίηση των δειγμάτων έχει ως εξής:

Αριθμός δείγματος	Ζυμομύκητας που χρησιμοποιήθηκε για την AZ	Αριθμός δείγματος	Ζυμομύκητας που χρησιμοποιήθηκε για την AZ
Δείγμα 1	<i>S. cerevisiae</i> OPALE πειραματικός οίνος	Δείγμα 4	Υβρίδιο <i>S. cerevisiae</i> × <i>S. paradoxus</i> (MOSAIC)
Δείγμα 2	<i>S. cerevisiae</i> OPALE οίνος δεξαμενής	Δείγμα 5	εμπορικός ^{ερυθρωπός μονοποικιλιακός} οίνος από Νεγκόσκα I, εσοδείας 2020
Δείγμα 3	Διαδοχικός εμβολιασμός με ζύμες <i>T.delbrueckii</i> (TD3) + <i>S.cerevisiae</i> (ALCHEMY IV)	Δείγμα 6	εμπορικός ^{ερυθρωπός μονοποικιλιακός} οίνος από Νεγκόσκα II, εσοδείας 2019, ζύμωση & παραμονή 6 μήνες σε δρύινο βαρέλι

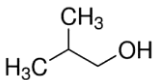
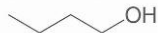
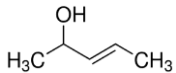
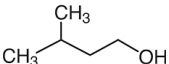
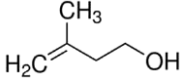
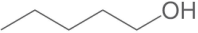
3.3.1 Αλκοόλες

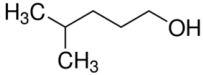
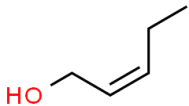
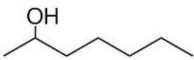
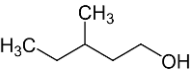
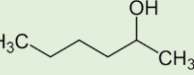
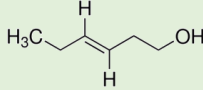

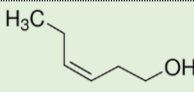
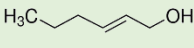
Στους οίνους προσδιορίστηκαν συνολικά **38 αλκοόλες**: 17 σε δεσμευμένη και ελεύθερη μορφή (γκρι γραμμοσκίαση στους Πίνακες), 12 μόνο σε ελεύθερη μορφή, και 9 μόνο σε δεσμευμένη.

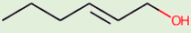
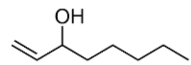
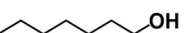
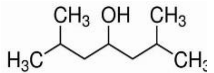
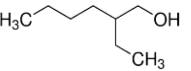
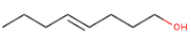

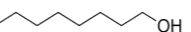
Οι αλειφατικές αλκοόλες 2-μεθυλο-1-προπανόλη, 3-μεθυλο-1-βουτανόλη, 3-μεθυλο-1-πεντανόλη, 1-εξανόλη, και η ισοκυκλική 2-φαινυλοαιθανόλη βρέθηκαν σε υψηλή έως πολύ υψηλή συγκέντρωση (253-512 μg/L, 11.962-18.277, 118-155 -με εξαίρεση το δείγμα 3 με συγκέντρωση 90μg/L-, 400-945, 12.369-21.859 μg/L, αντίστοιχα), στην ελεύθερη μορφή τους, σε όλα τα δείγματα (**Πίνακας 8**). Σε δεσμευμένη μορφή η ισοκυκλική 2-φαινυλοαιθανόλη βρέθηκε σε υψηλή συγκέντρωση σε όλα τα δείγματα (177-421 μg/L) (**Πίνακας 9**) ενώ η επίσης ισοκυκλική βενζυλική αλκοόλη παρουσίασε διαφοροποιήσεις (59-182 μg/L). Στους οίνους βρέθηκαν επίσης αλκοόλες με 4, 5, 7, 8, 9 και 18-άτομα άνθρακα, ευθείας αλυσίδας και διακλαδισμένης, σε χαμηλότερη συγκέντρωση (1-155μg/L), με διακυμάνσεις μεταξύ των δειγμάτων, τόσο σε ελεύθερη όσο και δεσμευμένη μορφή, σε συμφωνία και με τη βιβλιογραφία (Ribereau-Gayon et al., 2006).


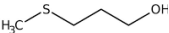
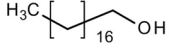
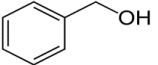
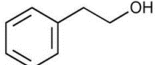
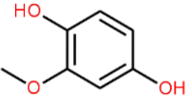
Γενικά, οι αλκοόλες (άθροισμα) σε ελεύθερη μορφή παρουσίασαν πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση (έως 100πλάσια) σε σχέση με τη δεσμευμένη (**Σχήμα 5**) (27.585–40.617 και 390-921 μg/L, αντίστοιχα), με την 2-φαινυλοαιθανόλη και 3-μεθυλο-1-βουτανόλη να αποτελούν τις κυρίαρχες αλκοόλες μεταξύ των αλκοολών σε ελεύθερη μορφή [ποσοστό 45-55% (MO 50%) και 42-49% (MO 45%), αντίστοιχα],

Πίνακας 8. Συγκέντρωση αλκοολών που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.												
Αλειφατικές																
5	2-Μεθυλο-1-προπανόλη		1087	1086	253.1	9.3	329.8	7.6	347.8	11.1	340.1	23.4	330.2	0.1	512.2	13.9
7	1-Βουτανόλη		1140	1140	26.9	4.2	18.2	2.9	20.4	2.8	29.0	0.5	4.9	0.6	32.2	0.6
9	3-Πεντεν-2-όλη*		1164	1163											2.2	0.7
13	3-Μεθυλο-1-βουτανόλη*		1218	1217	14185	619	16628	1545	13539	1773	14192	327	11962	2471	18277	1251
17	3-Μεθυλο-3-βουτεν-1-όλη (ισοπρενόλη)		1255	1255	7.5	0.2	4.3	0.1	6.2	0.3	5.1	0.2	2.7	1.0	4.7	0.9
18	1-Πεντανόλη*		1256	1256	13.2	0.6	11.7	0.3	14.4	0.4	12.7	0.1	4.7	0.3	16.5	1.2

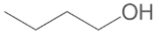
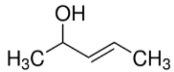
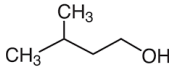
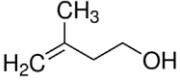
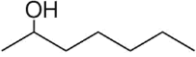
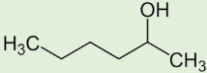
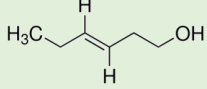
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wex)	Βιβλιογρ.												
30	4-Μεθυλο-1-πεντανόλη		1312	1314	29.8	0.6	37.3	2.6	23.0	4.6	30.5	0.8	48.3	1.3	52.7	1.0
31	(Z)-2-Πεντεν-1-όλη		1316	1316					1.5	0.1	1.2	0.2				
32	2-Επτανόλη		1322	1326	4.8	0.0	4.2	0.1	6.6	0.0	4.2	0.1	2.9	0.6	6.0	1.0
33	3-Μεθυλο-1-πεντανόλη		1328	1325	133.7	0.3	118.6	8.5	89.5	27.1	155.1	2.3	132.7	0.4	133.0	1.8
36	1-Εξανόλη*		1356	1354	450.1	9.0	400.0	27.8	591.0	59.9	518.2	9.8	514.4	30.0	945.8	25.9
37	(E)-3-Εξεν-1-όλη		1362	1371	54.8	1.6	48.6	2.5	59.1	6.5	57.0	1.5	69.1	0.4	55.7	1.2
39	3-αιθοξυ-1-προπανόλη		1375	1377	45.4	0.5	36.8	1.7	71.9	11.8	14.8	0.1	3.1	0.3	16.4	0.4
40	(Z)-3-Εξεν-1-όλη*		1382	1386	19.4	0.5	16.0	1.5	17.1	9.6	20.8	0.4	13.2	0.6	17.4	0.5
45	(E)-2-Εξεν-1-όλη*		1402	1410	3.6	0.5	2.7	0.2	4.9	0.0	3.5	0.4			5.5	0.2

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c		2		3		4		5		6	
			Πειραματ. (DB- Wen)	Βιβλιογρ.												
46	(Z)-2-Εξεν-1-όλη		1413	1420	5.5	0.1	4.7	0.6	7.1	1.1	6.1	0.6	3.0	0.1	7.6	0.3
51	1-Οκτεν-3-όλη*		1447	1446	1.6	0.3	1.6	0.1	3.0	0.2	0.7	0.2			3.8	0.8
53	1-Επτανόλη		1455	1452	126.8	11.6	40.0	2.2	104.9	18.7	137.8	4.4	13.7	3.0	9.9	0.1
56	2,6-διμεθυλο-4-επτανόλη		1465	1458	9.7	0.4	10.0	0.8			3.5	0.1	3.8	0.2		
59	2-Αιθυλο-1-εξανόλη*		1488	1488	7.0	1.1	6.5	1.1	12.6	1.1	9.3	0.5	6.5	1.6	36.8	1.3
61	4-Επτεν-1-όλη		1499	1502					2.6	0.5	1.5	0.1				
67	2,3-Βουτανοδιόλη, [R-(R*,R*)]-		1539	1544	68.2	80.6	20.9	3.9	8.9	1.5	24.0	13.5				
69	1-οκτανόλη		1558	1565	5.7	0.8	4.3	0.2	10.2	0.1	13.5	0.6	4.3	2.3	20.1	0.2

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.												
74	2,3- Βουτανοδιόλη, [S- (R*,R*)]-		1578	1580	12.3	12.3	4.3	0.8	2.9	0.2	3.8	1.1	2.2	0.0	7.6	3.5
91	Μεθειονόλη		1713	1715	35.8	2.3	87.3	2.4	123.0	27.2	90.1	4.0	100.5	3.9	133.9	0.7
141	1-Δεκαοκτανόλη		2580	2585					9.2	1.6	15.5	0.2	4.1	0.9		
Ισοκυκλικές																
104	Βενζυλική αλκοόλη*		1869	1869	87.2	4.6	63.8	1.9	139.1	0.9	93.9	0.4	19.1	6.7	153.9	3.0
105	2- Φαινυλοαιθανόλη*		1927	1929	12886	301	21859	2508	12370	1299	17605	142	14793	5343	20167	1335
154	2-Μεθοξυ-1,4- βενζενδιόλη		2948	2918	9.1	0.6										

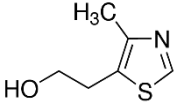
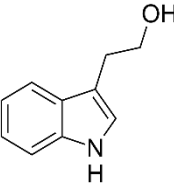
^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

Πίνακας 9. Συγκέντρωση αλκοολών που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (δεσμευμένη μορφή)

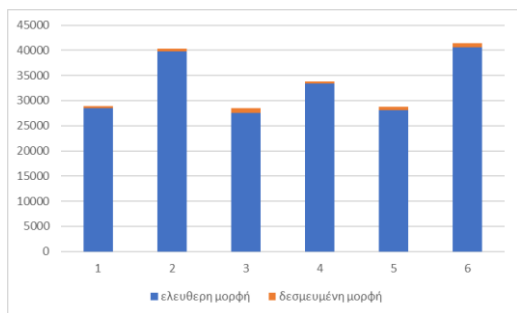
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.												
Αλειφατικές																
2	1-Βουτανόλη*		1140	1140	1.4	0.1	1.4	0.3	2.2	0.4	1.6	0.1	1.3	0.2	1.6	0.2
3	3-Πεντεν-2-όλη*		1164	1163	2.0	0.7	1.9	0.4	1.2	0.1	1.0	0.2	6.5	0.1	15.4	2.3
5	3-Μεθυλο-1-βουτανόλη*		1218	1217	20.2	0.1	19.0	2.0	19.8	1.0	12.0	1.4	24.1	3.4	25.6	5.1
6	3-Μεθυλο-3-βουτεν-1-όλη (ισοπρενόλη)*		1255	1255	1.1	0.1	0.7	0.2	0.7	0.1	0.8	0.0	1.1	0.1	1.7	0.4
10	2-Επτανόλη*		1322	1326	4.0	0.3	3.7	0.2	3.4	0.4	3.4	0.2	3.2	0.4	4.5	0.3
12	1-Εξανόλη*		1356	1354	33.8	1.8	30.1	3.9	26.4	0.5	28.4	1.3	24.8	1.4	62.9	7.6
13	(Ε)-3-Εξεν-1-όλη*		1362	1371	0.73	0.05	0.6	0.2	0.55	0.02	0.8	0.2	0.7	0.1	2.7	0.6

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c		2	3	4	5	6					
14	(Z)-3-Εξεν-1-όλη		1382	1386	1.9	0.3	1.3	0.3	1.1	0.2	1.1	0.3	1.1	0.1	3.0	0.3
18	(E)-2-Εξεν-1-όλη*		1402	1410	4.1	0.3	3.5	0.5	3.0	0.1	3.3	0.2	3.6	0.2	7.6	0.7
19	2-Οκτανόλη		1418	1420	1.04	0.11	1.00	0.01	0.90	0.04	1.04	0.03	0.59	0.00	1.43	0.18
23	1-Οκτεν-3-όλη		1447	1446	6.5	0.3	5.4	0.3	4.8	0.0	5.5	0.0	3.1	0.4	7.9	0.9
25	1-Επτανόλη		1455	1452	4.2	0.4	3.5	0.5	3.26	0.04	3.64	0.02	2.8	0.2		
27	2-Αιθυλο-1-εξανόλη		1488	1488	9.7	2.1	7.2	1.4	9.5	3.6	6.2	0.7	4.6	1.8	7.2	0.2
30	2-εννεανόλη		1517	1516	1.6	0.1	0.90	0.04	1.6	0.2	1.9	0.2				
32	2,3-Βουτανοδιόλη, [R-(R*,R*)]-		1539	1544						1.9	0.2				2.5	0.6
34	1-οκτανόλη*		1558	1565	9.4	0.4	6.5	0.8	7.1	1.1	6.3	0.4	5.3	1.3	10.5	2.8
38	(E)-2-Οκτεν-1-όλη		1611	1611	5.3	0.4	4.1	0.1	3.7	0.0	3.9	0.1	2.8	0.6	6.0	1.9

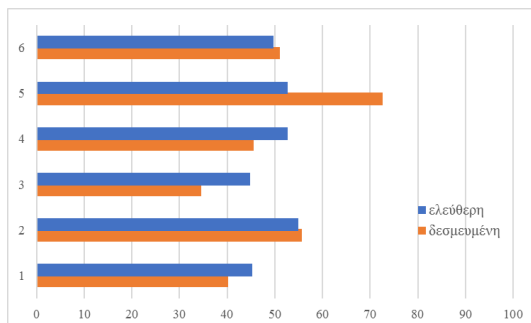
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
55	1-Δωδεκανόλη		1963	1970					4.3	1.1						
84	1-Δεκαοκτανόλη		2580	2585	4.6	1.2	12.7	2.7	6.1	0.4	4.9	0.3	9.3	1.4	11.6	4.7
Ισοκυκλικές																
51	Βενζυλική* αλκοόλη		1869	1869	111.0	6.1	99.2	13.4	86.1	0.6	85.1	1.4	59.1	4.0	182.7	12.9
52	2-Φαινυλοαιθανόλη*		1927	1929	193.6	0.3	304	125	318	109	178	5	502	240	421	19
60	3-Φαινυλο- προπανόλη		2037	2041	13.6	0.1	15	2.7	11.4	0.0	14.7	0.5	11.6	0.9	13.1	0.9
62	2-Φαινοξυ- αιθανόλη*		2132	2130	16.0	1.2	14	2.8	14.0	1.0	13.3	0.01	10.7	1.1	19.9	0.5
91	3,4,5-Τριμεθοξυ βενζυλική αλκοόλη		2876	2857	8.7	0.6										
Ετεροκυκλικές																

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
75	4-μεθυλο-5-θειαζολοαιθανόλη		2302	2302	27.9	0.5	10.6	1.5	12.6	0.2	11.9	1.0	7.9	2.3	14.8	6.7
97	τρυπτοφόλη (Indole-3-ethanol)		>3000	>3000			384	6	**	**	**		**	**		

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD



Σχήμα 5. Ολική συγκέντρωση αλκοολών που προσδιορίστηκαν σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους



Σχήμα 6. Ποσοστά 2-φαινυλοαιθανόλης στο σύνολο της συγκέντρωσης των αλκοολών που προσδιορίστηκαν σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους

και την 2-φαινυλοαιθανόλη και βενζυλική αλκοόλη να αποτελούν τις κυρίαρχες αλκοόλες μεταξύ των αλκοολών σε δεσμευμένη μορφή [ποσοστό 35-73% (MO 50%) και 9-23% (MO 17%), αντίστοιχα] (Σχήμα 6), ακολουθούμενες από την 1-εξανόλη, 3-μεθυλο-1-βουτανόλη, 3-φαινυλο-προπανόλη και 2-φαινοξυ-αιθανόλη.

Είναι γνωστό ότι οι αλκοόλες είναι μια κατηγορία πτητικών ενώσεων που απαντάται σε υψηλή συγκέντρωση σε όλους τους οίνους. Ως ανώτερες ορίζονται οι αλκοόλες των οποίων η ανθρακική αλυσίδα αποτελείται από περισσότερα από δύο άτομα άνθρακα (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Παράγονται κατά τη διάρκεια της AZ ως παραπροϊόν του μεταβολισμού των αμινοξέων από τους ζυμομύκητες, μέσω της οδού Ehrlich, και συμμετέχουν σε αντιδράσεις εστεροποίησης προς σχηματισμό εστέρων οξικού οξέος αλλά και οξειδωσης προς τις αντίστοιχες αλδεΐδες (Waterhouse, Sacks, & Jeffery, 2020). Η περιεκτικότητα ενός οίνου σε ανώτερες αλκοόλες ποικίλλει ανάλογα με τις συνθήκες της αλκοολικής ζύμωσης (θερμοκρασία), τη σύσταση του γλεύκους (επίπεδα αφομοιώσιμου αζώτου, θολερότητα) και το είδος του ζυμομύκητα (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Η 2-μεθυλο-1-προπανόλη και οι αμυλικές αλκοόλες (2-μεθυλο-1-βουτανόλη και 3-μεθυλο-1-βουτανόλη) θεωρούνται οι κυριότερες ανώτερες αλκοόλες, ενώ η 1-προπανόλη και 1-βουτανόλη απαντούν συνήθως σε μικρότερη συγκέντρωση. Η 3-μεθυλο-1-βουτανόλη χαρακτηρίζεται ως ένωση με ευχάριστη οσμή αλκοόλης και ώριμων φρούτων (Φερεντίδου, 2016), η 2-φαινυλοαιθανόλη είναι έντονα αρωματική με χαρακτηριστική οσμή λουλουδιών, κυρίως τριαντάφυλλου και γιασεμιού (Μακρυνίτσας, 2017). Η τρυπτοφόλη βρέθηκε σε μεγάλη συγκέντρωση σε δεσμευμένη μορφή στο δείγμα 3. Είναι μια ένωση που εμφανίζει ήπια φρουτώδη

αρώματα αλλά και αρώματα αμυγδάλου (The GoodScentsCompany, 2009). Η ένωση έχει ρόλο ως μεταβολίτης του *Saccharomyces cerevisiae* (PUBCHEM).

Η κατηγορία των C₆ αλκοολών (1-εξανόλη, (E)- και (Z)-3-Εξεν-1-όλη, (E)- και (Z)-2-Εξεν-1-όλη), είναι μια ιδιαίτερη κατηγορία συστατικών των οίνων με προέλευση από το σταφύλι. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι ενώσεις αυτές δημιουργούνται ως αποτέλεσμα της ενζυμικής οξείδωσης των C₁₈-πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (ελαϊκό, λινελαϊκό και λινολενικό), η οποία λαμβάνει χώρα κατά την ρήξη των κυτταρικών ιστών. Οι ενώσεις αυτές είναι υπεύθυνες για τις “πράσινες”, “φυτικές” οσμές φρεσκοκομμένης χλόης, φρέσκων βοτάνων, και φρεσκοθρυμματισμένων πράσινων φύλλων που προσδίδουν σε οίνους που προέρχονται από άγουρα σταφύλια (Waterhouse et al., 2016). Κατά τη διάρκεια της ΑΖ τα επίπεδα της 1-εξανόλης και της (Z)-3-Εξεν-1-όλης παραμένουν σχεδόν αμετάβλητα, και είναι αυτά που προϋπήρχαν στα σταφύλια.

Τα επίπεδα των C₆ αλκοολών σε ελεύθερη μορφή -με εξαίρεση την 1-εξανόλη- δεν παρουσίασαν κάποια διαφοροποίηση μεταξύ των πειραματικών οίνων, καθώς αυτοί προήλθαν από την ίδια πρώτη ύλη (σταφύλια). Μεταξύ των ενώσεων, η 1-εξανόλη ήταν παρούσα σε υψηλή συγκέντρωση (400-590μg/L, MO 490μg/L), οι (E)- και (Z)-3-Εξεν-1-όλες σε συγκεντρώσεις υποδεκαπλάσιες (MO 55 και 18μg/L, αντίστοιχα) και οι (E)-και (Z)-2-Εξεν-1-όλες σε υποεκατονταπλάσιες (3,7 και 5,8μg/L, αντίστοιχα) σε σχέση με την 1-εξανόλη. Σε δεσμευμένη μορφή οι συγκεντρώσεις της 1-εξανόλης ήταν πολύ χαμηλότερες (26-33μg/L) και των υπολοίπων αλκοολών δέκα φορές χαμηλότερες.

Οι περισσότερες από τις αλκοόλες που προσδιορίστηκαν στους οίνους είχαν βρεθεί και στα σταφύλια που χρησιμοποιήθηκαν για τις πειραματικές οινοποιήσεις (πτυχιακή εργασία Τριανταφύλλου, 2022) κι αυτό υποδηλώνει την σύνδεση μεταξύ των δύο προϊόντων. Οι ενώσεις αυτές αναφέρονται με αστερίσκο στους **Πίνακες 8** και **9**. Σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία, η 1-εξανόλη βρέθηκε σε σταφύλια και οίνους σε υψηλή συγκέντρωση, ενώ οι ανώτερες αλκοόλες (π.χ. 2-μεθυλο-1-προπανόλη, 3-μεθυλο-1-βουτανόλη και 2-φαινυλοαιθανόλη) που παρουσίασαν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους οίνους, αποτελούν αναμφισβήτητα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης.

3.3.2. Αλδεΐδες

Στους οίνους προσδιορίστηκαν συνολικά **9 αλδεΐδες**: 4 σε δεσμευμένη και ελεύθερη μορφή (γκρι γραμμοσκίαση στους Πίνακες), 3 μόνο σε ελεύθερη μορφή, και 2 μόνο σε δεσμευμένη.

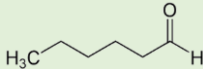
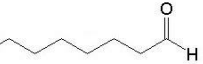
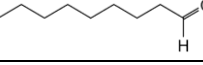
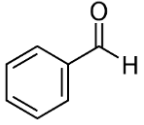
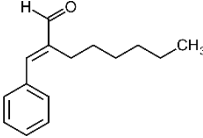
Οι αλειφατικές αλδεΐδες εξανάλη, οκτανάλη και εννεανάλη -προσδίδει αρώματα τριαντάφυλλου και πορτοκαλιού- όπως και η ετεροκυκλική 5-υδροξυμεθυλο-φουρφουράλη βρέθηκαν στην ελεύθερη μορφή τους, σε όλα τα δείγματα, σε αρκετά χαμηλή συγκέντρωση (1-9 $\mu\text{g/L}$), ακολουθούμενες από τη βενζαλδεΐδη -αρώματα πικραμυγδάλου (7-14 $\mu\text{g/L}$)-, και σε ελαφρώς υψηλότερη συγκέντρωση στη δεσμευμένη μορφή τους (1,7-15 $\mu\text{g/L}$, και 3-25 $\mu\text{g/L}$, αντίστοιχα) (**Πίνακας 10 & 11**).

Η φουρφουράλη, με αρώματα αμύγδαλου και καμένης ζάχαρης (Yu, Xie, Xie, Chen, Ai & Tian, 2020) είναι μια αλδεΐδη η οποία παράγεται κατά την καύση των δρύνων βαρελιών, μέσω της αποικοδόμησης των ημικυτταρινών και των υδατανθράκων του ξύλου, και μεταφέρεται στον οίνο κατά τη διάρκεια της παλαίωσης. Η θέρμανση μονοσακχαριτών (φρουκτόζη, γλυκόζη), σε όξινο περιβάλλον, μπορεί να οδηγήσει επίσης στην παραγωγή φουρφουράλης (F) και υδροξυ-μεθυλο-φουρφουράλης (HMF) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009). Οι μονοσακχαρίτες μετατρέπονται αρχικώς στην 1,2-εν-διόλη τους και στη συνέχεια, μετά από απόσπαση τριών μορίων νερού, σε 5-υδροξυμεθυλοφουρφουράλη (όσοι έχουν 6 C-άτομα στο μόριό τους) ή σε φουρφουράλη (όσοι έχουν 5 C-άτομα στο μόριό τους). Η α -εξυλοκινναμωμική αλδεΐδη, με οσμή που θυμίζει γιασεμί και φυσική παρουσία στο χαμομήλι (<https://www.acs.org/molecule-of-the-week/archive/h/hexylcinnamaldehyde.html>), έχει βρεθεί σε οίνους ΠΟΠ Croatian Istria από τις ποικιλίες Malvazija istarska, Chardonnay and Muscat yellow (Lukic and Horvat, 2017). Στην παρούσα εργασία, τα επίπεδα της φουρφουράλης σε ελεύθερη μορφή (17-24 $\mu\text{g/L}$) ήταν υψηλότερα από τα επίπεδα των υπολοίπων αλδεϊδών σε ελεύθερη μορφή, και τα επίπεδα της σε δεσμευμένη μορφή ακόμη υψηλότερα: 37-111 $\mu\text{g/L}$ και 156-293 $\mu\text{g/L}$, στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους, αντίστοιχα. Μεταξύ των ζυμομυκήτων παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές όσον αφορά στα επίπεδα τόσο της ελεύθερης όσο και της δεσμευμένης μορφής της φουρφουράλης. Η α -εξυλοκινναμωμική

αλδεΐδη προσδιορίστηκε μόνο σε ελεύθερη μορφή, σε επίπεδα παρόμοια με της φουρφουράλης.

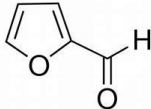
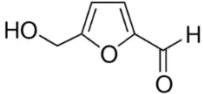
Η φουρφουράλη ήταν η ένωση με την μεγαλύτερη συγκέντρωση και στις ράγες, ενώ η βενζαλδεΐδη και η εννεανάλη είχαν βρεθεί σε μικρότερες συγκεντρώσεις.

Πίνακας 10. Συγκέντρωση αλδεϋδών που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c		2		3		4		5		6	
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.												
Αλειφατικές																
4	Εξανάλη		1074	1077			0.86	0.02	0.68	0.04					1.14	0.00
26	Οκτανάλη		1281	1289			1.99	0.04	2.22	0.45	1.33	0.09				
43	Εννεανάλη		1387	1396	6.50	0.69	9.21	0.36	8.58	0.21	6.99	0.08	3.72	0.16	4.28	0.30
Ισοκυκλικές																
62	Βενζαλδεϋδη		1510	1515	6.8	0.4	7.0	1.3	13.9	2.1	7.7	0.3	7.2	1.0	21.4	0.3
127	α-Εξυλοκινναμωμική αλδεϋδη [2-Βενζυλιδενο-οκτανάλη]		2349	2356	15.7	0.5	17.9	1.9	23.6	0.5	19.6	0.3	17.0	9.3	21.6	1.1

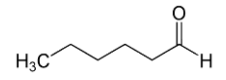
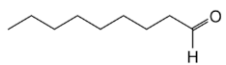
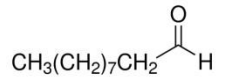
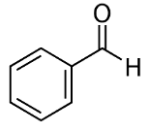
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.						

Ετεροκυκλικές

52	Φουρφουράλη		1451	1474	19.9	1.7	20.3	3.0	6.7	0.3	10.2	0.5	43.3	1.8	60.8	1.9
137	5-Υδροξυμεθυλο- φουρφουράλη		2491	2494	2.9	0.1	4.9	0.4			1.3	0.0	7.7	1.1	16.4	0.9

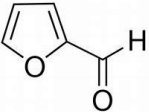
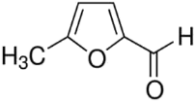
^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

Πίνακας 11. Συγκέντρωση αλδεϋδών που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (δεσμευμένη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
Αλειφατικές																
1	Εξανάλη		1074	1077	1.7	0.3	2.0	0.1	2.2	0.3	1.7	0.1	2.5	0.2	3.8	0.4
16	Εννεανάλη		1387	1396	14.8	5.2	15.3	5.5	14.9	3.9	11.5	1.7	7.0	2.2	6.7	0.3
28	Δεκανάλη		1490	1496									2.32	0.39		
Ισοκυκλικές																
29	Βενζαλδεϋδη		1510	1515	10.9	0.5	8.6	0.6	5.8	2.2	3.3	0.7	11.8	0.4	24.3	0.5

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.						

Ετεροκυκλικές

24	Φουρφουράλη		1451	1474	111.7	4.5	102.9	20.3	41.3	1.5	37.2	3.2	155.9	7.0	293.3	14.1
35	5-Μεθυλο-2-φουρφουράλη		1561	1570	5.6	0.8	5.2	1.1	2.1	0.4	2.3	0.1	7.2	0.6	13.0	0.9

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

3.3.3.Κετόνες

Στους οίνους προσδιορίστηκαν συνολικά **8 κετόνες**: 3 σε δεσμευμένη και ελεύθερη μορφή (γκρι γραμμοσκίαση στους Πίνακες), 4 μόνο σε ελεύθερη μορφή, και 1 μόνο σε δεσμευμένη.

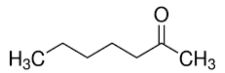
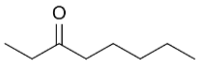
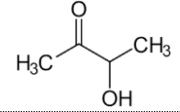
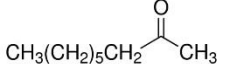
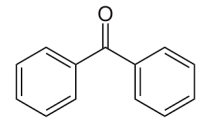
Παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, τόσο των πειραματικών οίνων όσο και μεταξύ πειραματικών και εμπορικών οίνων.

Η ισοκυκλική βενζοφαινόνη (ΒΦ) και η ετεροκυκλική δεϋδρο-2-μεθυλο-3(2H)-θειοφαινόνη (ΔμΘ) βρέθηκαν σε ελεύθερη μορφή σε όλα τα δείγματα, σε σχετικά υψηλή συγκέντρωση (51-73 µg/L και 20-87 µg/L, αντίστοιχα), με έντονη διαφοροποίηση η δεύτερη μεταξύ των δειγμάτων (**Πίνακας 12**). Η βενζοφαινόνη βρέθηκε και σε δεσμευμένη μορφή, σε όλα τα δείγματα, σε σχετικά υψηλή συγκέντρωση (36-65 µg/L), με μικρή διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων (**Πίνακας 13**). Ο οίνος που προέκυψε από AZ με διαδοχικό εμβολιασμό *T.delbrueckii* & *S.cerevisiae* (δείγμα 3) εμφάνισε την υψηλότερη συγκέντρωση ελεύθερης ΔμΘ και ο οίνος OPALÉ^{πείρ} (δείγμα 1) τη χαμηλότερη. Το δείγμα 3 εμφάνισε επίσης την υψηλότερη συγκέντρωση δεσμευμένης βενζοφαινόνης, ενώ το δείγμα 4 (υβρίδιο MOSAIC) τη χαμηλότερη.

Η βενζοφαινόνη προσδιορίστηκε ως η κύρια πτητική κετόνη των ραγών σταφυλών των ποικιλιών Sangiovese, Sauvignon Blanc, Gewürztraminer, Grüner Veltliner Chardonnay στις οποίες βρέθηκε μόνο σε δεσμευμένη μορφή (Vrhovsek, Lotti, Masuero, Carlin, Weingart, & Mattivi, 2014). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η ένωση αυτή απαντά ως φυσικό συστατικό στα οινοποιήσιμα σταφύλια (*Vitis vinifera* L.) σε συγκέντρωση 0,08-0,13 mg/kg (TNO, 2010), κυρίως στις Μοσχάτες ποικιλίες Council of Europe (2000), ενώ έχει ανιχνευτεί σε είδη *Passiflora* (TNO, 2010), *Cherimoya* (*Annona cherimola*), mountain papaya (*Carica pubescens*) και soursop (*Annona muricata* L.) (Burdock, 2005) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK373188/>).

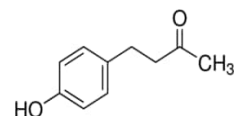
Η θειούχος κετόνη δεϋδρο-2-μεθυλο-3(2H)-θειοφαινόνη προσδίδει θειούχα και φρουτώδη αρώματα (thegoodscentcompany.com). Έχει βρεθεί σε οίνους mango οι οποίοι προέκυψαν από AZ με 3 διαφορετικά στελέχη *S. cerevisiae* ενώ δε βρέθηκε στον αντίστοιχο φρέσκο χυμό, γεγονός που πιθανότατα σημαίνει ότι η ένωση παράγεται από τον σακχαρομύκητα κατά τη διάρκεια της AZ (Li, Yu, Curran & Liu, 2011). Η θειούχος αυτή κετόνη συνήθως ανιχνεύεται σε malt whiskey (Masuda & Nishimura, 1982) και πιθανότατα συμβάλλει στο “blackberry flavor”.

Πίνακας 12. Συγκέντρωση κετονών που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
Αλειφατικές																
11	2-Επτανόνη		1175	1173	3.96	0.03	3.95	0.04								
19	3-Οκτανόνη		1258	1258					2.38	1.22						
25	Ακετοΐνη		1277	1278	3.50	0.81	1.80	0.14	10.85	5.57	2.74	0.20				
41	2-Εννεανόνη		1382	1394	7.26	1.16	7.23	0.71		1.91	0.03					
Ισοκυκλικές																
134	Βενζοφαινόνη		2467	2462	61.4	4.4	62.7	2.2	61.8	10.3	72.6	2.8	66.0	15.1	50.8	9.7

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.						

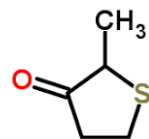
156 4-(4-Υδροξυφαινυλο)-2-βουτανόνη [Raspberry κετόνη]



2979 2982 **44.3** 5.9 **53.3** 23.1

Ετεροκυκλικές

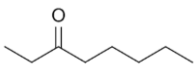
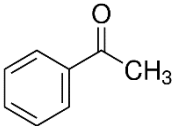
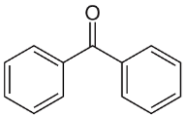
64 Δεϋδρο-2-μεθυλο-3(2H)-θειοφαινόνη



1516 1518 **19.7** 0.5 **31.1** 4.7 **87.4** 1.6 **28.9** 4.1 **22.3** 2.1 **30.9** 2.4

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

Πίνακας 13. Συγκέντρωση κετονών που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (δεσμευμένη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
Αλειφατικές																
7	3-Οκτανόνη		1258	1258	5.0	0.4	4.3	0.1	4.3	0.3	4.4	0.0	2.9	1.2	5.5	2.2
15	2-Εννεανόνη	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$	1382	1394			2.54	0.03	3.37	0.79	4.24	0.29	1.57	0.43	2.78	0.70
Ισοκυκλικές																
39	Ακετοφαινόνη		1637	1638									13.2	1.2	17.2	2.3
80	Βενζοφαινόνη		2467	2462	52.0	4.1	49.2	15.4	64.8	24.8	38.6	4.7	35.8	0.2	51.6	4.7

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

Τέλος, η ισοκυκλική 4-(4-υδροξυφαινυλο)-2-βουτανόνη, η οποία βρέθηκε μόνο σε ελεύθερη μορφή και μόνο στους οίνους που ζύμωσαν με τη ζύμη OPALÉ - όπως και η 2-επτανόνη-, σε συγκέντρωση 44 και 53 μg/L, αποτελεί μείζον συστατικό του πρωτογενούς αρώματος των σμέουρων (raspberries), ενώ η παρουσία της έχει αναφερθεί επίσης σε βατόμουρα, σταφύλια, και ραβέντι.

Στα δείγματα ανιχνεύτηκε επίσης ακετοΐνη σε ελεύθερη μορφή, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, μόνο στους πειραματικούς οίνους -στο δείγμα 3 στην υψηλότερη συγκέντρωση 10,9 μg/L-, όπως και 2-εννεανόνη (με εξαίρεση το δείγμα 3) και ακετοφαινόνη μόνο σε δεσμευμένη μορφή, και μόνο στα εμπορικά δείγματα. Η αρωματική σημασία της ακετοΐνης είναι περισσότερο στη δυνητική επίδραση που μπορεί να έχει στο άρωμα από ό, τι στο η ίδια της την οσμή. Στην πραγματικότητα, το διακετύλιο και το 2,3-βουτυλένιο, οι οποίες είναι γνωστό ότι αναπτύσσουν άρωμα σε αλκοολούχα ποτά, μπορεί να προέρχεται από ακετοΐνη: η πρώτη με χημική οξείδωση και η δεύτερη με αυτόλυση των ζυμών (Romano and Suzzi, 1992).

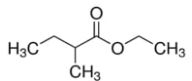
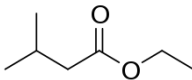
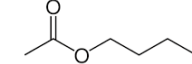
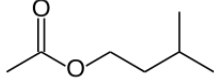
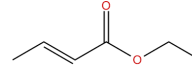
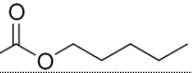
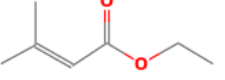
Συγκριτικά με τις κετόνες της ράγας, διαπιστώνεται ότι μόνο η βενζοφαινόνη βρίσκεται και στους οίνους αλλά και στις ράγες, ενώ οι άλλες δυο ενώσεις που βρίσκονται σε μεγάλη συγκέντρωση, υπάρχουν μόνο στους οίνους.

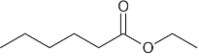
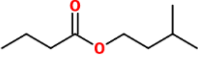
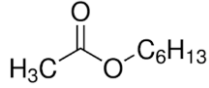
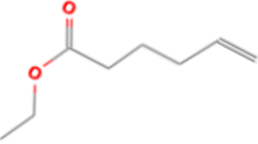
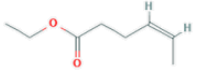
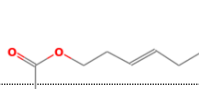
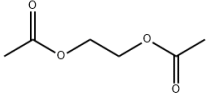
3.3.4. Εστέρες

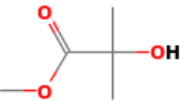
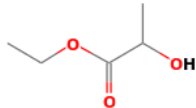
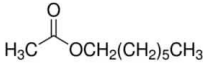
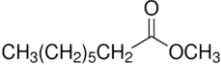
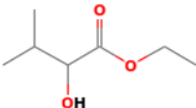
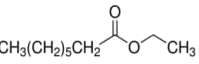
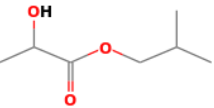
Στους οίνους προσδιορίστηκαν συνολικά **56 εστέρες**: 9 σε δεσμευμένη και ελεύθερη μορφή (γκρι γραμμοσκίαση στους Πίνακες), 45 μόνο σε ελεύθερη μορφή, και 2 μόνο σε δεσμευμένη (**Πίνακες 14, 15**).

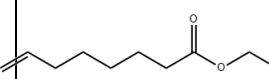
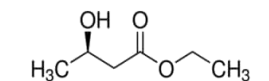
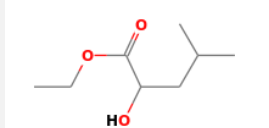
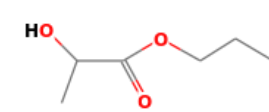
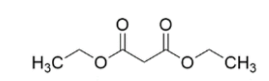
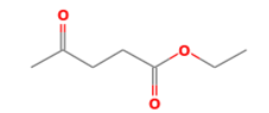
Οι εστέρες αποτέλεσαν την ομάδα πτητικών συστατικών με τον μεγαλύτερο αριθμό ενώσεων που προσδιορίστηκε στους οίνους της παρούσας εργασίας, και τη δεύτερη ομάδα μετά τις αλκοόλες όσον αφορά στην ολική συγκέντρωση των συστατικών της. Προσδιορίστηκαν οι κύριες κατηγορίες εστέρων που απαντούν συνήθως στους οίνους και αποτελούν προϊόντα της AZ, όπως οξικοί εστέρες ανώτερων αλκοολών, αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων μεσαίας και μακρίας αλυσίδας, εστέρες ευθείας και διακλαδισμένης αλυσίδας, αλειφατικοί, ισοκυκλικοί και ετεροκυκλικοί.

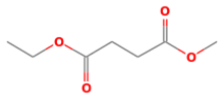
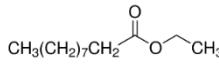
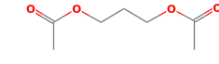
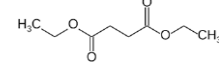
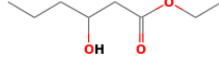
Πίνακας 14. Συγκέντρωση εστέρων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

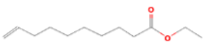
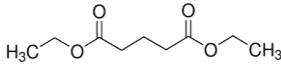
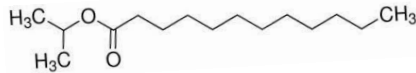
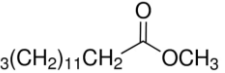
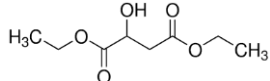
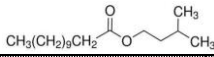
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6								
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.														
Αλειφατικοί																		
1	2-Μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας		1047	1048													13,8	8,7
2	3-Μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας		1061	1060	5,82	0,01	3,89	0,23	3,91	0,29	0,76	0,05	21,96	1,81	28,56		1,06	
3	Οξικός βουτυλεστέρας		1063	1070	8,22	0,91	4,50	0,39	4,21	0,24	4,07	0,04						
6	Οξικός ισοαμυλεστέρας		1113	1113	4370	378	2983	311	3263	327	3487	92	1464	96	629		12	
8	(E)-2-βουτενικός αιθυλεστέρας		1155	1158	6,1	1,1	3,6	0,5	4,7	0,3	7,0	0,6	3,2	1,5	13,6		1,3	
10	Οξικός πεντυλεστέρας		1166	1167	1,1	0,2												
14	3-Μεθυλο-2-βουτενικός αιθυλεστέρας		1227	1217	2,9	0,2	2,9	1,3	2,7	0,4							2,9	0,3

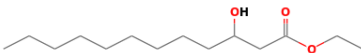
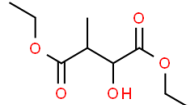
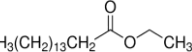
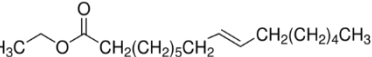
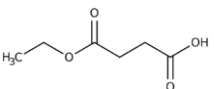
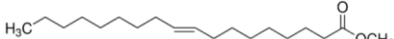
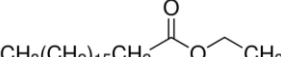
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
16	Εξανοϊκός αιθυλεστέρας		1246	1246	709	45	437	40	1000	292	942	1	585	30	1026	38
21	Βουτανοϊκός (βουτυρικός) 3-μεθυλο-βουτυλεστέρας (βουτανοϊκός ισοαμυλεστέρας)		1260	1259											5,8	0,4
22	Οξικός εθυλεστέρας		1267	1269	173,7	7,2	82,4	8,1	152,9	13,3	150,1	2,3	51,6	1,3	10,4	0,1
24	Εξ-5-ενοϊκός αιθυλεστέρας		1270	1272							4,3	0,1				
27	(Z)-Εξ-4-ενοϊκός αιθυλεστέρας		1285	1292	1,6	0,3					1,5	0,1	3,1	0,0	1,4	0,1
28	Οξικός εστέρας της (E)-3-Εξεν-1-όλης		1300	1300	11,71	0,10	6,60	0,60	10,99	1,41	9,60	0,38	3,98	0,00		
29	Οξικός εστέρας της (Z)-3-Εξεν-1-όλης		1309	1310	3,9	0,0	2,5	0,3	3,3	0,1	3,9	0,2	0,6	0,1		

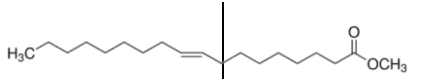
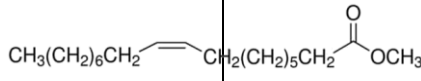
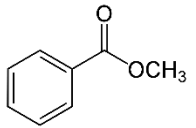
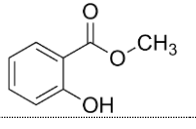
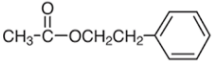
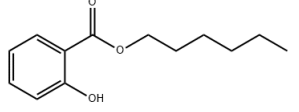
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
34	2-Υδροξυ-2-μεθυλο-προπανοϊκός μεθυλεστέρας		1333	1340				8,8	0,1							
35	2-Υδροξυ-προπανοϊκός αιθυλεστέρας (γαλακτικός αιθυλεστέρας)		1337	1342	139,4	4,5	101,8	5,8	714,3	44,0	168,3	22,7	161,1	1,2	1857,2	79,6
38	Οξικός επτυλεστέρας	 $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$	1367	1370	7,1	0,9	3,0	0,3	4,7	0,4	2,6	0,1				
42	Οκτανοϊκός μεθυλεστέρας	 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{OCH}_3$	1383	1387							4,0	0,1	2,5	0,3	5,3	0,7
47	2-Υδροξυ-3-μεθυλοβουτανοϊκός αιθυλεστέρας		1419	1421				22,1	3,2	2,8	0,2	3,4	0,7	37,0	0,6	
48	Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{OCH}_2\text{CH}_3$	1432	1430	1273,7	69,6	780,0	59,6	1195,6	302,1	1494,6	16,2	1074,7	35,3	1929,7	51,5
54	2-Υδροξυ-προπανοϊκός 2-μεθυλο-προπυλεστέρας (γαλακτικός ισοβουτυλεστέρας)		1454	1455											22,8	0,6

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
58	Οκτ-7-ενοϊκός αιθυλεστέρας		1478	1478			3,1	0,7	6,6	0,5						
63	3-Υδροξυ-βουτανοϊκός αιθυλεστέρας		1514	1515	47,5	0,2	67,6	2,5	70,2	12,6	46,0	1,9	18,1	10,1	93,8	1,7
66	2-Υδροξυ-4-μεθυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας		1539	1538	13,1	3,3	17,6	0,3	62,5	5,5	27,1	4,7	63,6	1,6	167,9	1,0
71	2-Υδροξυ-προπανοϊκός 3-μεθυλο-βουτυλεστέρας (γαλακτικός ισοαμυλεστέρας)		1565	1570	15,0	0,7	13,9	0,1	59,3	2,4	18,1	2,2	18,4	1,1	157,5	1,5
73	Προπανοδιοϊκός (μαλονικός) διαιθυλεστέρας		1570	1572	2,7	0,6	1,8		3,4	0,2	2,8	0,2	3,8	0,1	7,1	0,2
75	Δεκανοϊκός μεθυλεστέρας	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}_2\text{COOCH}_3$	1588	1586			2,7	1,5	2,4	0,4	2,8	1,3	2,4	1,2	4,2	0,6
77	4-Οξο-πεντανοϊκός αιθυλεστέρας		1602	1602	2,0	0,3									3,6	0,0

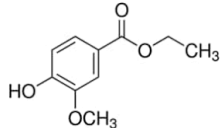
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
83	Βουτανοδιοϊκός (ηλεκτρικός) αιθυλ-μεθυλ- εστέρας		1629	1632	12,8	1,0	11,7	1,1	19,1	1,6	18,0	0,5	18,7	4,7	78,0	0,5
84	Δεκανοϊκός αιθυλεστέρας	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 	1635	1633	388,9	22,5	239,6	27,9	419,0	107,6	339,4	2,3	107,6	12,0	845,0	8,7
85	Δι-οξικός εστέρας της 1,3- προπανοδιόλης		1649	1655, 1660	32,8	2,1	24,3	2,3	11,6	1,5	20,1	2,1				
87	Βουτανοδιοϊκός (ηλεκτρικός) δαιθυλεστέρας	$\text{H}_3\text{CCH}_2\text{OOC(CH}_2)_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 	1674	1677	1027,3	19,6	1021,4	60,7	4775,0	719,3	1801,2	37,9	2024,7	267,9	15821,5	901,0
88	3-Υδροξυ- εξανοϊκός αιθυλεστέρας		1676	1677	6,4	0,7	4,2	0,2			8,9	3,0	2,9	0,1		

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
89	Δεκ-9-ενοϊκός αιθυλεστερας		1686	1689	456,4	24,0	112,2	10,7	306,9	9,3	619,5	6,3	8,1	6,3	19,5	1,4
96	Πεντανοδιϊκός (γλουταρικός) διαιθυλεστερας		1775	1780											54,5	0,5
100	Δωδεκανοϊκός (Λαουρικός) ισοπροπυλεστερας		1832	1832					43,1	4,6	24,9	3,9	35,6	3,2	32,1	5,5
108	Δεκατετρανοϊκός (Μυριστικός) μεθυλεστερας	 CH ₃ (CH ₂) ₁₁ CH ₂ COOCH ₃	2003	2008							10,3	0,8	11,2	0,9		
111	2-υδροξυ- βουτανοδιϊκός (μηλικός) διαιθυλεστερας		2042	2041	154,6	8,4	123,6	18,1	174,3	31,1	234,3	14,6	1459,4	466,2	949,6	1,0
113	Δωδεκανοϊκός (Λαουρικός) 3- μεθυλο- βουτυλεστερας (δωδεκανοϊκός ισοαμυλεστερας)	 CH ₃ (CH ₂) ₉ CH ₂ COOCH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂	2065	2064	16,5	0,4	17,7	0,5	27,6	3,4	29,0	1,6	13,1	1,6	20,0	0,6

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
114	3-υδροξυ-δωδεκανοϊκός αιθυλεστέρας	 2097			15,9	0,9	20,6	1,1	55,5	16,9	63,5	8,4	8,9	1,4	26,9	2,1
117	2-υδροξυ-3-μεθυλο-ηλεκτρικός διαιθυλεστέρας	 2161	2137		98,5	2,4	93,8	7,4	720,9	89,3	139,9	21,9	651,4	219,8	2422,0	525,3
121	Δεκαεξανοϊκός (παλμιτικός) αιθυλεστέρας	 CH ₃ (CH ₂) ₁₃ CH ₂ CO ₂ CH ₃	2249	2250					42,2	19,9						
124	(9E)-δεκαεξα-9-ενοϊκός (παλμιτελαϊδικός) αιθυλεστέρας	 H ₃ C-CH ₂ -O-CO-CH ₂ (CH ₂) ₅ CH=CH-CH ₂ (CH ₂) ₄ CH ₃	2275	2277	29,0	1,1					34,8	4,6				
129	Ηλεκτρικός αιθυλεστέρας	 H ₃ C-CH ₂ -O-CO-CH ₂ CH ₂ COOH	2385	2395	3027,0	18,1	4358,2	384,7	9979,7	3034,1	4298,2	193,9	5427,3	2039,6	19982,2	480,8
132	(9E)-δεκαοκτα-9-ενοϊκός (ελαϊδικός) μεθυλεστέρας	 H ₃ C-CH ₂ (CH ₂) ₇ -CH=CH-CH ₂ (CH ₂) ₇ -COOCH ₃	2438	2445	8,1	1,1	17,4	3,2	15,2	2,6	8,9	2,4	16,2	3,4		
133	Δεκαοκτανοϊκός (στεατικός) αιθυλεστέρας	 CH ₃ (CH ₂) ₁₅ CH ₂ CO ₂ CH ₃	2452	2458					36,2	4,3	14,9	1,1				

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
135	(9E)-δεκαοκτα-9-ενοϊκός (ελαϊδικός) αιθυλεστέρας		2471	2476			47,0	6,6								
138	(9Z)-δεκαοκτα-9-ενοϊκός (ελαϊκός) μεθυλεστέρας		2539					23,5	4,6							
Ισοκυκλικοί																
79	Βενζοϊκός μεθυλεστέρας		1608	1607				2,2	0,1							
94	Σαλικυλικός (2-υδροξυ-βενζοϊκός) μεθυλεστέρας		1761	1765	19,5	0,9	9,4	1,2	37,8	5,0	27,7	6,3	16,1	8,8	31,0	0,5
98	Οξικός 2-φαινυλ-αιθυλεστέρας		1806	1805	1022,0	18,2	1297,3	90,9	1005,3	64,7	1198,5	99,2	605,8	85,5	364,2	2,8
120	Σαλικυλικός εθυλεστέρας		2198	2203	21,2	0,7	27,4	2,1	32,5	3,5	29,7	1,1	25,9	4,9	42,9	0,0

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.						

142	Βανιλλικός αιθυλεστέρας		2619	2614	25,5	5,2	33,2	1,8	17,5	2,8	34,2	2,8
-----	-------------------------	---	------	------	-------------	-----	-------------	-----	-------------	-----	-------------	-----

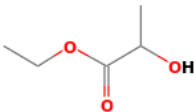
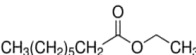
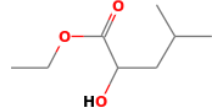
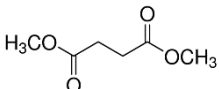
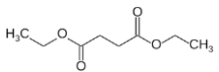
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.						

Ετεροκυκλικοί

80	2-Φουροϊκός αιθυλεστέρας		1611	1611	3,0	1,0		4,6	0,4	4,9	0,1	8,9	0,3	32,5	0,7
----	--------------------------	--	------	------	------------	-----	--	------------	-----	------------	-----	------------	-----	-------------	-----

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

Πίνακας 15. Συγκέντρωση εστέρων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (δεσμευμένη μορφή)

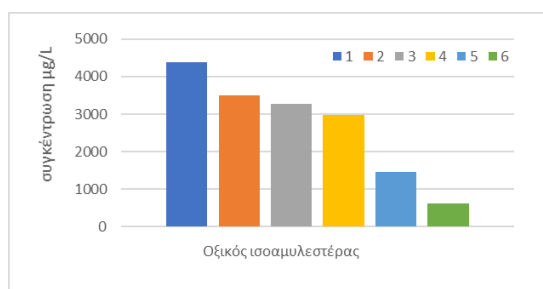
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6					
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.											
Αλειφατικοί															
11	2-Υδροξυ-προπανοϊκός αιθυλεστέρας (γαλακτικός αιθυλεστέρας)		1337	1342			1.65	0.03							
20	Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	 <chem>CH3(CH2)5CH2COOCH2CH3</chem>	1432	1430				0.70	0.04	0.76	0.05				
31	2-Υδροξυ-4-μεθυλοπεντανοϊκός αιθυλεστέρας		1539	1538						0.45	0.04	1.77	0.54		
36	Ηλεκτρικός διμεθυλεστέρας	 <chem>H3CO-CO-CH2-CH2-CO-OCH3</chem>	1585	1580		4.8	1.6	5.0	1.0	4.8	0.3	4.5	0.0	7.8	1.2
41	Βουτανοδιϊκός (ηλεκτρικός) διαιθυλεστέρας	 <chem>H3C-CH2-O-CO-CH2-CH2-CO-O-CH2-CH3</chem>	1674	1677				38.2	14.6	1.6	0.05	5.7	5.2	20.7	2.3

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b	1	2	3	4	5	6						
59	2-υδροξυ-βουτανιοϊκό (μηλικός) διαιθυλεστέρας		2042 2041					21.7	1.7						
69	Δεκαεξανοϊκό (παλμιτικό) αιθυλεστέρας		2249 2250			4.0	0.9	3.0	0.7	2.3	0.2	5.1	1.5		
78	Ηλεκτρικό αιθυλεστέρας		2385 2395	9.5	0.7	14.2	2.5	111.1	86.2	32.1	10.1	94.8	6.1	157.1	27.3
Ισοκυκλικοί															
37	Βενζοϊκό μεθυλεστέρας		1608 1607					2.3	0.8	2.0	0.1	1.8	0.5	4.4	2.1
44	Σαλικυλικό (2-υδροξυ-βενζοϊκό) μεθυλεστέρας		1761 1765	7.0	2.0	4.7	0.7	6.8	3.0	4.7	1.2	6.9	1.2	22.3	6.3
Ετεροκυκλικοί															
93	1H-Indole-3-ethanol, acetate (ester) Οξικό εστέρας της τρυπτοφάνης		2921							**	**	**		**	

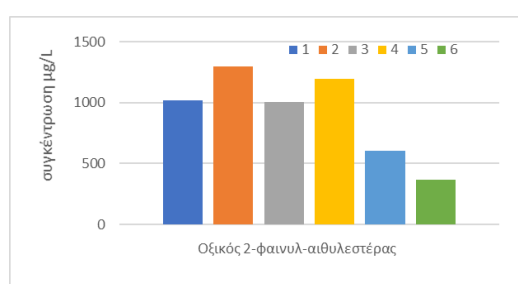
σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

Ο οξικός ισοαμλεστέρας (ΟξΙσ) (άρωμα μπανάνας), βρέθηκε μόνο σε ελεύθερη μορφή -όπως και όλοι οι οξικοί εστέρες-, στη μεγαλύτερη συγκέντρωση μεταξύ των οξικών εστέρων (629-4370 μg/L), με το δείγμα 1 (OPALE_{πειρ}) να εμφανίζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση και το δείγμα 6 (εμπορικός οίνος II) τη μικρότερη (Σχήμα 7). Γενικά τα δύο εμπορικά δείγματα εμφάνισαν χαμηλότερη συγκέντρωση ΟξΙσ, ωστόσο ήταν και κατά ένα και δύο χρόνια παλαιότερα και είναι γνωστή από τη βιβλιογραφία η υδρόλυση των οξικών εστέρων κατά την αποθήκευση του οίνου. Μεταξύ των πειραματικών οίνων, η συγκέντρωση του ΟξΙσ είχε ως εξής: OPALE_{πειρ}>OPALE_{δεξ}>TD3+ALCHEMY IV>MOSAIC με διακύμανση μεταξύ 4370 και 2983μg/L.

Ο οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας (άρωμα τριαντάφυλλου) βρέθηκε επίσης σε υψηλή συγκέντρωση στους πειραματικούς οίνους (1005-1297μg/L, με τα δείγματα OPALE_{πειρ} και TD3+ALCHEMY IV να εμφανίζουν την χαμηλότερη συγκέντρωση και τα δείγματα OPALE_{δεξ} και MOSAIC την υψηλότερη) και σε αρκετά χαμηλότερη και πάλι στους εμπορικούς (605 και 364μg/L, στο δείγμα 5 και 6, αντίστοιχα) (Σχήμα 8).

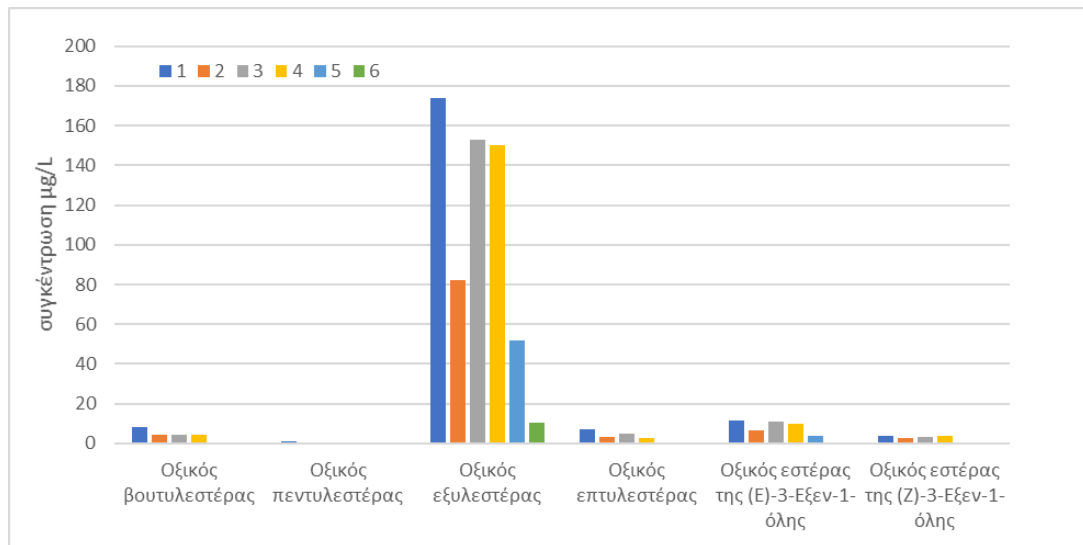


Σχήμα 7. Συγκέντρωση οξικού ισοαμλεστέρα που προσδιορίστηκε σε ελεύθερη μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους



Σχήμα 8. Συγκέντρωση οξικού 2-φαινυλ-αιθυλεστέρα που προσδιορίστηκε σε ελεύθερη μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους

Στους οίνους προσδιορίστηκαν επίσης οξικός εξυλεστέρας (άρωμα κερασιού) (82-173μg/L πειραματικοί οίνου, 10-51μg/L εμπορικοί), οξικός βουτυλεστέρας (4,1-8,2μg/L), πεντυλεστέρας (1,1μg/L) και επτυλεστέρας (2,6-7,1μg/L) μόνο στους πειραματικούς οίνους, καθώς και οξικοί εστέρες της (E)- και (Z)-3-εξενόλης (4-11,7 και 0,3-3,9μg/L, αντίστοιχα), στους πειραματικούς οίνους και στο εμπορικό δείγμα I (Σχήμα 9).

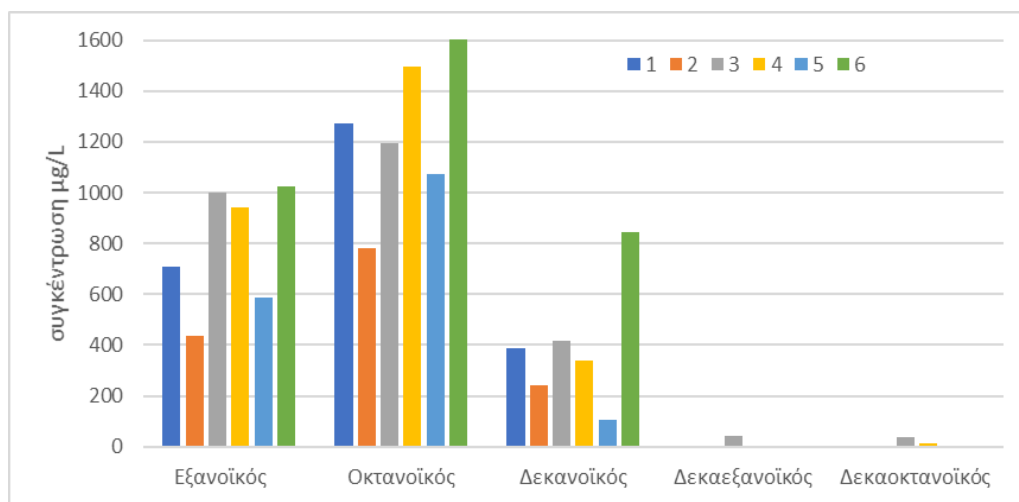


Σχήμα 9. Συγκέντρωση οξικών εστέρων ανώτερων αλκοολών που προσδιορίστηκαν σε ελεύθερη μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους

Από τους αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων προσδιορίστηκαν σε ελεύθερη μορφή εξανοϊκός (καπροϊκός) (πράσινο μήλο), οκτανοϊκός (καπρυλικός) (ροδάκινο), δεκανοϊκός (καπρικός) και δεκ-9-ενοϊκός αιθυλεστέρας σε όλα τα δείγματα, δεκαεξανοϊκός (παλμιτικός) στο δείγμα 3, δεκαοκτανοϊκός (στεατικός) στα 3 και 4, (9E)-δεκαεξα-9-ενοϊκός (παλμιτελαϊδικός) στα 1 και 4, (9E)-δεκαοκτα-9-ενοϊκός (ελαϊδικός) στο 3, βανιλλικός αιθυλεστέρας στα 1-4 και 2-Φουροϊκός αιθυλεστέρας στα 1 & 3-6, ενώ σε δεσμευμένη προσδιορίστηκε μόνο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας στα δείγματα 4-5 και δεκαεξανοϊκός στα 3-6 (**Πίνακας 14, 15**). Οι αιθυλεστέρες των λιπαρών οξέων παράγονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης από λιπαρά οξέα, που αποτελούν προϊόντα του μεταβολισμού των λιπιδίων του ζυμομύκητα *S. cerevisiae*, και έχουν ενεργοποιηθεί από το ακυλο-CoA (Styger, Prior & Bauer., 2011).

Ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας εμφάνισε την υψηλότερη συγκέντρωση μεταξύ των αιθυλεστέρων (780-1500µg/L πειραματικοί οίνοι, 1075 & 1930µg/L εμπορικοί), ακολουθούν ο εξανοϊκός (437-1000µg/L πειραματικοί οίνοι, 585 & 1026µg/L εμπορικοί) και δεκανοϊκός αιθυλεστέρας (240-419µg/L πειραματικοί οίνοι, 108 & 845µg/L εμπορικοί). Μεταξύ των πειραματικών οίνων, το δείγμα 2 (OPALE_{δεξ}) εμφάνιζε τη μικρότερη συγκέντρωση όλων των εστέρων, το 3 (TD3+ALCHEMY IV) τη μεγαλύτερη συγκέντρωση εξανοϊκού και δεκανοϊκού αιθυλεστέρα, το 4 (MOSAIC) οκτανοϊκού ενώ το δείγμα 1 (OPALE_{πειρ}) βρισκόταν ανάμεσα (**Σχήμα**

10). Από τα δυο εμπορικά δείγματα, το δείγμα 6 εμφάνισε 2πλάσια έως 8πλάσια συγκέντρωση αιθυλεστέρων σε σχέση με το δείγμα 5.



Σχήμα 10. Συγκέντρωση αιθυλεστέρων λιπαρών οξέων που προσδιορίστηκαν σε ελεύθερη μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους

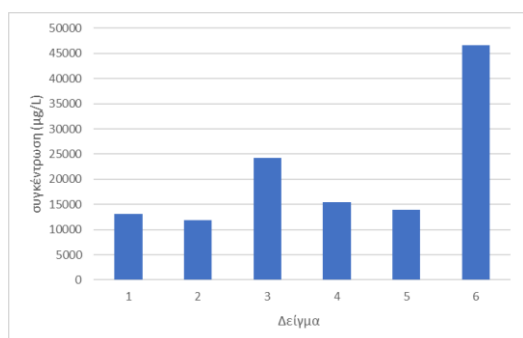
Στα δείγματα προσδιορίστηκαν επίσης σε υψηλή συγκέντρωση δεκ-9-ενοϊκός αιθυλεστέρας (112-619μg/L πειραματικοί οίνοι, 8 & 19μg/L εμπορικοί), καθώς και βανιλλικός αιθυλεστέρας (17-34μg/L) μόνο στους πειραματικούς οίνους, και 2-φουροϊκός αιθυλεστέρας (3-5μg/L πειραματικοί οίνοι, 9 & 32μg/L εμπορικοί) σε πολύ χαμηλότερη.

Τέλος, οι εστέρες του ηλεκτρικού οξέος ήταν εκείνοι με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μεταξύ όλων των εστέρων τόσο σε ελεύθερη μορφή [3027-9980μg/L, πειραματικοί οίνοι -με το δείγμα 3 (TD3+ALCHEMY IV) να έχει την ψηλότερη συγκέντρωση και το δείγμα 1 (OPALEπειρ) τη χαμηλότερη-, 5427 & 19982μg/L εμπορικοί οίνοι, για τον ηλεκτρικό αιθυλεστέρα και 1021-4775μg/L πειραματικοί οίνοι - με το δείγμα 3 (TD3+ALCHEMY IV) και πάλι να έχει την ψηλότερη συγκέντρωση και το δείγμα 1 (OPALEπειρ) και πάλι τη χαμηλότερη-, 2025 & 15822μg/L εμπορικοί οίνοι, για τον ηλεκτρικό διαιθυλεστέρα)], όσο και δεσμευμένη (10-111μg/L πειραματικοί οίνοι, 94 & 157μg/L εμπορικοί οίνοι, για τον ηλεκτρικό αιθυλεστέρα).

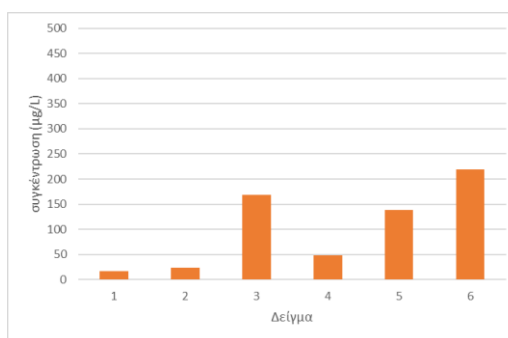
Γενικά, οι εστέρες, όπως και οι αλκοόλες, παρουσίασαν σε ελεύθερη μορφή πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση (έως 1000πλάσια) σε σχέση με τη δεσμευμένη (Σχήμα 11&12) (11.927–24.296 μg/L στους πειραματικούς οίνους, 13.922 & 46.581 μg/L στους εμπορικούς, και 16,5-169 μg/L στους πειραματικούς οίνους, 138,9 & 219,2 μg/L, αντίστοιχα), με τον ηλεκτρικό αιθυλεστέρα, τον οξικό ισοαμυλεστέρα και

τον ηλεκτρικό διαιθυλεστέρα να αποτελούν τους κυρίαρχους εστέρες σε ελεύθερη μορφή [ποσοστό 23-41% (MO 33,5%), 10,5-33% (MO 21%) και 8-20% (MO 12,5%) αντίστοιχα], αλλά και σε δεσμευμένη, σε συμφωνία και με τη βιβλιογραφία. Το άθροισμα των τριών αυτών εστέρων εμφάνισε -κατά μέσο όρο- ποσοστό ίσο με 67% στο σύνολο των εστέρων σε ελεύθερη μορφή.

Οι εστέρες του ηλεκτρικού οξέος οι οποίοι προσδίδουν οινική και φρουτώδη οσμή, αποτελούν προϊόντα αντιδράσεων εστεροποίησης και διεστεροποίησης οι οποίες λαμβάνουν χώρα κυρίως κατά την παλαίωση των οίνων.



Σχήμα 11. Ολική συγκέντρωση εστέρων που προσδιορίστηκαν σε **ελεύθερη** μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους



Σχήμα 12. Ολική συγκέντρωση εστέρων που προσδιορίστηκαν σε **δεσμευμένη** μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους

Περιλαμβάνονται στις πτητικές οσμηρές ενώσεις που συνιστούν το τριτογενές άρωμα του οίνου και η συγκέντρωσή τους αυξάνεται αισθητά κατά την παλαίωση, ενώ η παρουσία του ηλεκτρικού διαιθυλεστέρα συνδέεται και με την παραμονή του οίνου σε δρύινα βαρέλια (Clarke & Bakker, 2004). Πιθανότατα στο τελευταίο οφείλεται η ιδιαίτερα αυξημένη συγκέντρωση των εστέρων του ηλεκτρικού οξέος στο δείγμα 5 (19.982 και 15.821 μg/L) το οποίο ζύμωσε και παρέμεινε για 6 μήνες σε δρύινο βαρέλι.

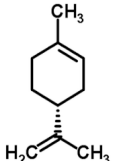
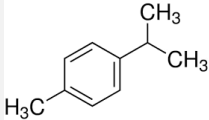
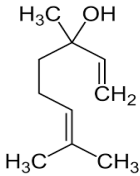
Στις ράγες δεν βρέθηκαν εστέρες καθώς είναι προϊόντα κατά κύριο λόγο της αλκοολικής ζύμωσης.

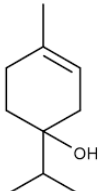
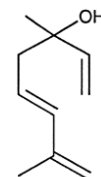
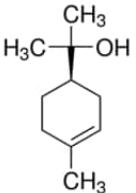
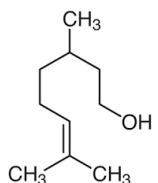
3.3.5. Μονοτερπενικές ενώσεις

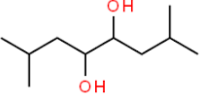
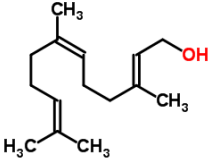
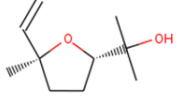
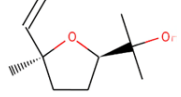
Στους οίνους προσδιορίστηκαν συνολικά **18 μονοτερπενικές ενώσεις**: 7 σε δεσμευμένη και ελεύθερη μορφή (γκρι γραμμοσκίαση στους Πίνακες), 4 μόνο σε ελεύθερη μορφή, και 7 μόνο σε δεσμευμένη (Πίνακες 16, 17).

Οι ενώσεις αυτές σε ελεύθερη μορφή ανήκουν στην κατηγορία των τερπενικών υδρογονανθράκων (λεμονένιο, π-κυμένιο), μονοτερπενολών (λιναλοόλη, τερπινεν-4-όλη, χο-τριενόλη, α-τερπινεόλη, β-κιτρονελλόλη), διολών (2,7-διμεθυλο-4,5-οκτανοδιόλη), σεσκιτερπενίων (φαρνεσόλη) και οξειδίων της λιναλοόλης. Σε δεσμευμένη μορφή υπάρχουν ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των τερπενικών υδρογονανθράκων (λεμονένιο, π-κυμένιο), μονοτερπενολών (λιναλοόλη, α-τερπινεόλη β-κιτρονελλόλη, νερόλη, γερανιόλη, υδροξυκιτρονελλόλη, (E)-8-υδροξυ-λιναλοόλη), οξέων (γερανικό οξύ) και οξειδίων της λιναλοόλης.

Πίνακας 16. Συγκέντρωση μονοτερπενικών ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

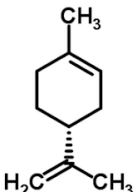
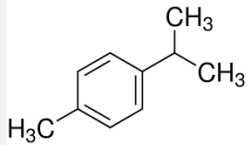
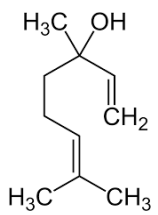
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
<i>Υδρογονάνθρακες</i>																
12	Λεμονένιο		1191	1195	18,53	0,28	3,91	0,49	8,70	0,17	6,31	0,32	2,14	1,11	7,18	0,19
20	π-Κυμένιο		1260	1258	3,46	0,20	2,56	0,20	4,10	0,25						
<i>Αλκοόλες</i>																
68	Λιναλοόλη		1545	1544	14,27	1,46	16,69	2,19	18,81	0,82	18,90	0,13	8,71	1,64	19,02	1,02

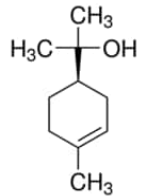
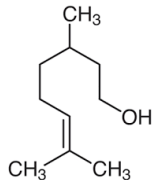
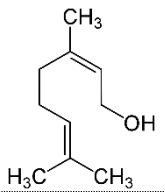
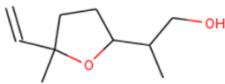
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
76	Τερπινεν-4-όλη		1597	1600	2,73	0,92	2,84	2,12	3,07	0,52	4,00	1,77				
78	Χο-τριενόλη		1605	1605	4,34	0,35		4,96	0,45	2,64	0,27	2,04	0,19	3,56	0,28	
90	α-Τερπινεόλη		1695	1694	13,68	0,43	13,06	2,83	16,48	1,63	13,81	0,16	6,03	2,22	38,41	1,95
95	β-Κιτρονελλόλη		1764	1768	8,23	0,60	5,77	0,23								

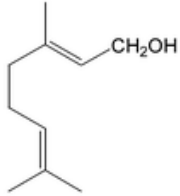
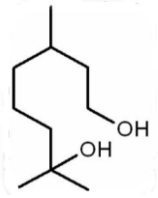
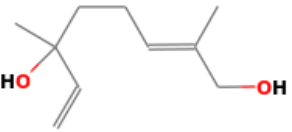
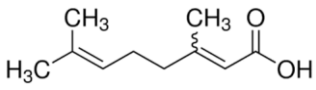
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1 ^c	2	3	4	5	6					
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.											
97	2,7-διμεθυλο-4,5-οκτανοδιόλη		1789			31,76	1,23	14,86	2,90	20,35	1,33	15,79	8,69	24,48	0,79
128	Φαρνεσόλη (3,7,11-Τριμεθυλο-2,6,10-δωδεκατριεν-1-όλη)		2350	2378	10,31	1,71	5,8598	0,38	25,86	4,37	20,03	0,13			
Οξείδια															
49	<i>trans</i> -φουρανικό οξείδιο λιναλοόλης		1440	1437										36,08	0,42
57	<i>cis</i> -φουρανικό οξείδιο λιναλοόλης		1468	1472	1,61	0,17	1,18	0,01	2,33	0,04	2,36	0,12		4,43	0,11

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

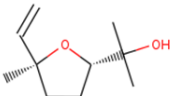
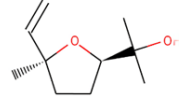
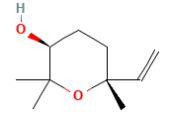
Πίνακας 17. Συγκέντρωση μονοτερπενικών ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (δεσμευμένη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.												
<i>Υδρογονάνθρακες</i>																
4	Λεμονένιο		1191	1195	1,2	0,2	1,0	0,2	1,2	0,1	1,2	0,1	0,39	0,04	0,9	0,1
8	π-κυμένιο		1260	1258	3,0	0,4	1,7	0,2	0,797	0,003	0,8	0,1	3,2	0,5	5,2	0,1
<i>Αλκοόλες</i>																
33	Λιναλοόλη		1545	1544	5,2	0,2	5,3	0,5	3,9	0,1	3,7	0,1	1,0	0,3	1,4	0,1

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
42	α-Τερπινεόλη		1695	1694		3,1	0,8	3,0	0,3	2,7	0,1	1,7	0,1	3,8	0,3	
45	β-Κιτρονελλόλη		1762	1762	4,4	0,3	3,4	0,8	2,5	0,5	2,7	0,0				
46	Νερόλη		1795	1797	13,7	0,3	14,1	1,4	10,4	0,9	11,3	0,2	7,2	0,7	15,5	3,8
47	Λίλακ αλκοόλη C, D		1824	1835		1,5	0,3									

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
49	Γερανιόλη		1843	1851	48,6	0,8	50,3	5,2	37,8	4,3	39,58	0,03	22,0	3,0	33,4	8,6
68	Υδροξυκιπρονελλόλη		2205	2206	23,5	3,5	20,7	0,1	14,4	0,1	15,4	3,2	6,7	0,5	35,7	3,0
			2269	2295												
72	(E)-8-υδροξυλιναλόλη				13,8	0,8	12,4	0,0	10,5	1,1	10,0	0,5	6,4	0,8	21,5	1,2
			2328	2340												
77	Γερανικό οξύ				69,8	13,5	50,5	2,9	10,5	2,2	20,4	1,1	31,2	9,3	62,5	12,3

Οξείδια

α/α^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
21	<i>trans</i> - φουρανικό οξειδίο λιναλοόλης		1440	1437	5,1	0,1	4,5	0,2	4,1	0,1	4,1	0,2	2,4	0,2	9,1	1,9
26	<i>cis</i> - φουρανικό οξειδίο λιναλοόλης		1468	1472	2,6	0,1	2,5	0,3	2,1	0,1	2,12	0,05	1,05	0,04	5,0	1,2
43	<i>trans</i> - πυρανικό οξειδίο λιναλοόλης		1735	1739	9,6	0,6	8,0	1,2	6,4	0,6	6,3	0,3	4,1	0,1	11,6	2,6

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

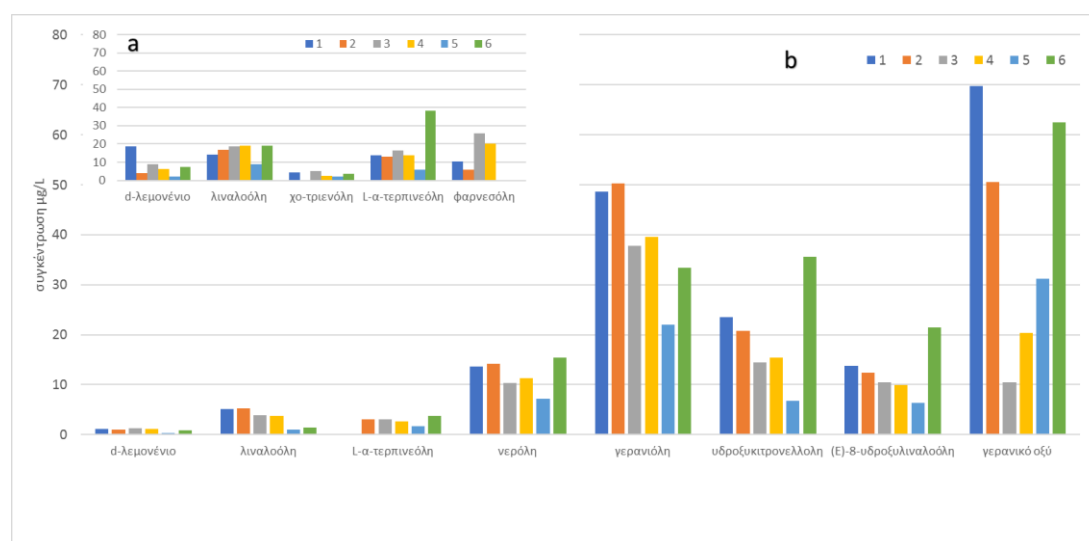
Η λιναλοόλη και α-τερπινεόλη είναι δυο μονοτερπενόλες που προσδιορίστηκαν τόσο σε ελεύθερη όσο και δεσμευμένη μορφή, σε όλα τα δείγματα, σε 5-πλασια έως δεκαπλάσια συγκέντρωση ως ελεύθερες (14,3-18,9μg/L πειραματικοί οίνοι, 8,7 & 19μg/L εμπορικοί, και 13,1-16,5μg/L πειραματικοί οίνοι, 6 & 38,4μg/L εμπορικοί, αντίστοιχα), παρά ως δεσμευμένες (1,0-5,3μg/L και 1,7-3,8μg/L, αντίστοιχα) (Σχήμα 13).

Σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή προσδιορίστηκε και λεμονένιο σε χαμηλή συγκέντρωση (3,9-18,5μg/L πειραματικοί οίνοι, 2,1 & 7,2μg/L εμπορικοί, και 1,0-1,2μg/L πειραματικοί & εμπορικοί οίνοι, αντίστοιχα), καθώς και *cis*-φουρανικό οξείδιο της λιναλοόλης, όπως και κυμένιο και β-κιτρονελλόλη με κάποιες εξαιρέσεις.

Η φαρνεσόλη όπως και η χο-τριενόλη είναι δύο ενώσεις που προσδιορίστηκαν μόνο σε ελεύθερη μορφή και μόνο στους πειραματικούς οίνους, με διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.

Η διόλη 2,7-διμεθυλο-4,5-οκτανοδιόλη προσδιορίστηκε επίσης μόνο σε ελεύθερη μορφή με διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.

Μόνο σε δεσμευμένη μορφή στους οίνους προσδιορίστηκε νερόλη, γερανιόλη, υδροξυκιτρονελλόλη, (E)-8-υδροξυ-λιναλοόλη και γερανικό οξύ, σε συγκεντρώσεις (ΜΟ) ίσες με 12, 39, 19, 12 και 41μg/L, αντίστοιχα, καθώς και *trans*-φουρανικό και πυρανικό οξείδιο της λιναλοόλης.



Σχήμα 13. Συγκέντρωση *τερπενικών ενώσεων* που προσδιορίστηκαν σε (α) *ελεύθερη* & (β) *δεσμευμένη μορφή* στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους

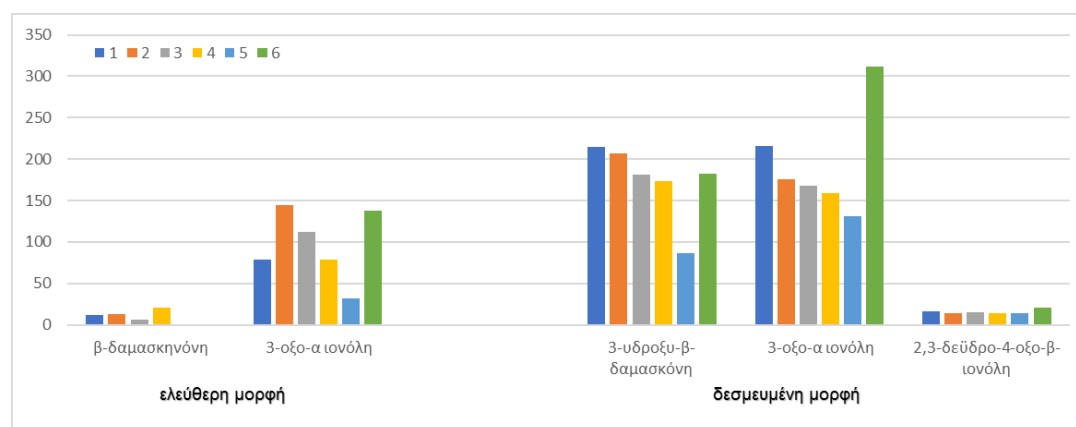
Το λεμονένιο προσδίδει φρέσκα αρώματα λεμονιού αλλά και μέντας, καρβόνης, τζίντζερ στους φρέσκους οίνους (Picard, Franc, Revel, Marchand, 2018), η λιναλοόλη έχει χαρακτηριστεί ως υπεύθυνη για τα ανθικά αρώματα του λυκίσκου (Stucky and McDaniel, 1997) και η γερανιόλη που βρέθηκε μόνο σε δεσμευμένη μορφή προσδίδει αρώματα τριαντάφυλλου (Ribéreau-Gayon et al. 1998).

Σύμφωνα με την μελέτη για τα πτητικά στις ράγες της ποικιλίας Νεγκόσκα βρέθηκαν και οι 3 μονοτερπενικές ενώσεις και στις ράγες. Το λεμονένιο βρέθηκε μόνο σε ελεύθερη μορφή και σε μικρή συγκέντρωση, η λιναλοόλη βρέθηκε μόνο σε δεσμευμένη μορφή σε μικρή συγκέντρωση και η γερανιόλη βρέθηκε σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή σε μικρές συγκεντρώσεις.

3.3.6 C₁₃ Νορισοπρενοειδείς ενώσεις

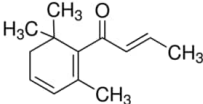
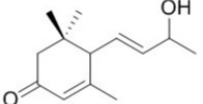
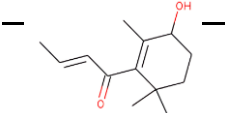
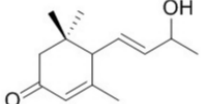
Στους οίνους προσδιορίστηκαν συνολικά 4 C₁₃-νορισοπρενοειδείς ενώσεις: 1 σε δεσμευμένη και ελεύθερη μορφή (γκρι γραμμοσκίαση στους Πίνακες), 1 μόνο σε ελεύθερη μορφή, και 2 μόνο σε δεσμευμένη (Πίνακες 18, 19).

Η 3-οξο-α-ιονόλη καταγράφηκε τόσο σε ελεύθερη (79-144μg/L πειραματικοί οίνοι, 31 & 137μg/L εμπορικοί) όσο και σε δεσμευμένη μορφή (158-215μg/L πειραματικοί οίνοι, 130 & 311μg/L εμπορικοί), σε ψηλές συγκεντρώσεις, η δεσμευμένη μορφή τουλάχιστον διπλάσια της ελεύθερης, με σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων, πειραματικών και εμπορικών (Σχήμα 14). Η β-δαμασκηνόνη ανιχνεύτηκε μόνο σε ελεύθερη μορφή, μόνο στους πειραματικούς οίνους, σε πολύ χαμηλότερη συγκέντρωση (6-20,5 μg/L), ενώ η 3-υδροξυ-β-δαμασκόνη και 2,3-δεϋδρο-4-οξο-β-ιονόλη μόνο σε δεσμευμένη, σε συγκεντρώσεις όπως η 3-οξο-α-ιονόλη σε δεσμευμένη μορφή (173-215μg/L) και η β-δαμασκηνόνη (14-21μg/L), αντίστοιχα.



Σχήμα 14. Συγκέντρωση C₁₃ νορισοπρενοειδών ενώσεων που προσδιορίστηκαν σε ελεύθερη & δεσμευμένη μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους

Πίνακας 18-19. Συγκέντρωση C₁₃ νορισοπρενοειδών ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη & δεσμευμένη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
Ελεύθερη μορφή																
99	β-δαμασκηνόνη		1813	1814	11.83	1.35	12.99	1.28	5.91	0.27	20.49	2.45				
144	3-Οξο-α-ιονόλη		2636	2637	79.28	7.43	144.64	26.62	111.83	13.67	78.74	0.99	31.44	17.90	137.29	9.85
Δεσμευμένη μορφή																
82	3-Υδροξυ-β-δαμασκόνη		2533	2535	214.7	12.8	206.4	36.4	181.3	12.4	172.9	6.9	86.4	21.6	182.3	45.0
86	3-Οξο-α-ιονόλη		2635	2637	215.3	38.4	175.5	24.9	167.8	13.5	158.8	4.8	130.9	18.9	311.4	63.1
87	2,3-Δεϋδρο-4-οξο-β-ιονόλη		2770	2800	16.2	2.5	14.0	0.7	15.2	2.8	14.6	0.3	14.3	0.7	21.3	9.3

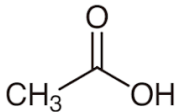
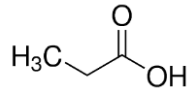
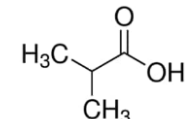
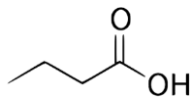
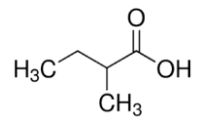
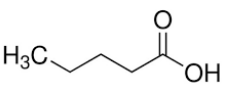
Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η 3-οξο-α-ιονόλη με οσμή καπνού και η 3-υδροξυ-β-δαμασκόνη με οσμή τσαγιού και καπνού, χαρακτηρίζονται από πολύ υψηλότερο κατώφλι αντίληψης σε σχέση με τη β-δαμασκηνόνη, και η επίδρασή τους στο άρωμα των οίνων αναμένεται να είναι πολύ περιορισμένη έως μηδενική, παρά τις υψηλές συγκεντρώσεις στις οποίες σε ορισμένες περιπτώσεις απαντούν (Ribereau-Gayon et al., 2006). Παρόλα αυτά, η παρουσία τους έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς θεωρούνται πρόδρομες ενώσεις (με τη μορφή γλυκοζιτών) της ιδιαίτερα αρωματικής β-δαμασκηνόνης (Boido, Lloret, Medina, Fariña, Carrau, Versini, & Dellacassa, 2003), η οποία θα απελευθερωθεί κατά την παλαίωση του οίνου μέσα από αντιδράσεις υδρόλυσης και μοριακών αναδιατάξεων (Slaghenaufi and Ugliano, 2018) προσδίδοντας αρώματα ανθέων και τροπικών φρούτων ενώ και η δική τους παρουσία ως ελεύθερων μορίων θα προσδώσει αρώματα καπνού. Επιπλέον, η παρουσία της 3-υδροξυ-β-δαμασκόνης μπορεί να είναι δείκτης της ύπαρξης μιας άλλης πρόδρομης ένωσης, της 3-υδροξυ-7,8-διεϋδρο-β-ιονόλης, δυνητικά πιο αποτελεσματικής να απελευθερώσει β-δαμασκηνόνη (Boido et al., 2003).

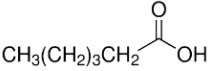
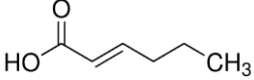
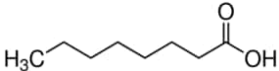
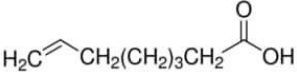
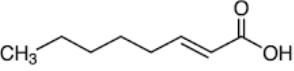
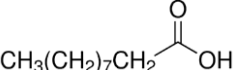
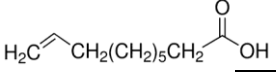
3.3.7 Μονοκαρβονικά οξέα

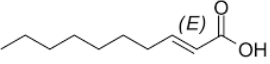
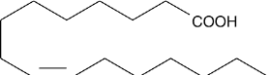
Στους οίνους προσδιορίστηκαν συνολικά **26 μονοκαρβονικά οξέα**: 9 σε δεσμευμένη και ελεύθερη μορφή (γκρι γραμμοσκίαση στους Πίνακες), 14 μόνο σε ελεύθερη μορφή, και 3 μόνο σε δεσμευμένη (Πίνακες 20, 21).

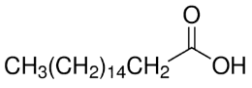
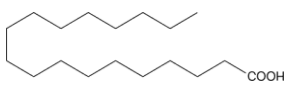
Τα οξέα με 2, 6, 8, 10, 12, 16 και 18 άτομα άνθρακα βρέθηκαν τόσο σε ελεύθερη όσο και δεσμευμένη μορφή. Ανάμεσά τους, τα C6, C8, και C10 βρέθηκαν σε πολύ υψηλή συγκέντρωση στην ελεύθερη μορφή τους (1680-2800μg/L πειραματικοί οίνοι, 2070 & 3250μg/L εμπορικοί, 3300-4800μg/L πειραματικοί οίνοι, 2800 & 5600μg/L εμπορικοί, 2300-2900μg/L πειραματικοί οίνοι, 1190 & 3480μg/L εμπορικοί, αντίστοιχα), σύμφωνα και με τη βιβλιογραφία, η οποία ήταν τουλάχιστον 20 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με τη δεσμευμένη (Σχήματα 14,15). Παρατηρήθηκε διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων, πειραματικών και εμπορικών. Γενικότερα τα δείγματα 3 (TD3+ALCHEMY IV) και 4 (MOSAIC) παρουσίαζαν την υψηλότερη συγκέντρωση και το δείγμα 2 (OPALE_{δεξ}) τη χαμηλότερη μεταξύ των πειραματικών οίνων και το εμπορικό δείγμα II μεταξύ των εμπορικών.

Πίνακας 20. Συγκέντρωση μονοκαρβονικών οξέων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

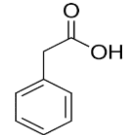
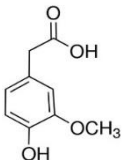
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.												
Αλειφατικά																
50	Οξικό		1442	1445	3,76	0,5	2,6	1,0	35,5	23,8	2,8	1,3	8,2	7,5	15,7	4,5
65	Προπανοϊκό		1530	1534	11,45	0,7	11,3	0,3	14,1	0,1	12,2	0,5	6,3	3,1	13,5	4,6
70	2-Μεθυλο προπανοϊκό		1560	1568	96,1	1,4	82,5	3,9	225,3	27,9	101,6	9,9	84,0	1,5	130,6	1,3
82	Βουτανοϊκό (Βουτυρικό)		1620	1630	113,7	8,2	75,8	3,1	116,5	15,6	118,2	0,1	92,7	6,1	156,5	2,0
86	2- και 3-Μεθυλο- βουτανοϊκό		1662	1667	380,4	0,5	378,3	19,7	353,0	13,6	358,8	42,5	391,7	28,2	433,5	3,0
92	Πεντανοϊκό		1732	1744									12,0	6,1		

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
101	Εξανοϊκό		1842	1839	2063,9	89,5	1678,3	99,5	2619,9	703,5	2807,5	41,3	2068,1	50,3	3246,4	124,4
107	(E)-3-Εξενοϊκό οξύ		1975	1971	58,1	1,7	53,9	1,9	21,0	7,6	14,3	1,0	50,9	1,8	22,8	0,7
112	Οκτανοϊκό οξύ		2060	2062												
115	ΟΚΤ-7- ενοϊκό		2113													
118	(E)-ΟΚΤ-2-ενοϊκό		2175	2182					13,1			1,1				
123	Δεκανοϊκό		2267	2270	2302,7	110,2	2464,5	239,1	2896,3	885,0	2458,5	60,4	1189,2	381,7	3483,0	102,0
126	Δεκ-9-ενοϊκό		2326	2336	2106,4	91,1	788,3	49,0	1668,9	226,7	2822,7	18,6	129,2	40,9	149,2	4,2

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b	1	2	3	4	5	6						
130	(E)-Δεκ-2-ενοϊκό		2391 2428				16,8	3,6							
136	Δωδεκανοϊκό (Λαυρικό)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}_2\text{COOH}$	2477 2474	177,94	15,0	132,3	14,0	134,7	19,5	201,9	3,9	14,3	5,6	146,5	3,3
145	Δεκατετρανοϊκό (Μυριστικό)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_2\text{COOH}$	2743 2734			15,3	2,6								
148	Δεκαπεντανοϊκό	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{COOH}$	2793 2791			200,3	17,0	42,8	16,9						
151	Δεκαεξανοϊκό (Παλμυτικό)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{COOH}$	2898 2899	35,9	2,3	38,8	3,7	2634,8	611,5	319,1	226,9	57,0	10,9	88,7	14,1
153	(Z)-Δεκαεξ-9-ενοϊκό (Παλμιτελαϊκό)		2933 2908			262,5	3,0	113,1	83,1						

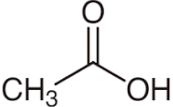
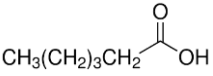
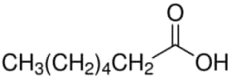
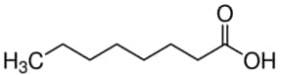
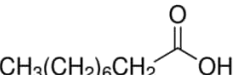
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b	1	2	3	4	5	6		
158	Δεκαεπτανοϊκό	<chem>CH3(CH2)14CH2COOH</chem> 	>3000 3027			94,3	8,0	54,5	7,5		
160	Δεκαοκτανοϊκό		>3000 >3000			2492,27	425,46	457,11	197,87	22,13	17,82

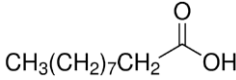
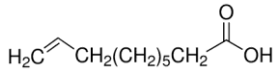
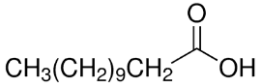
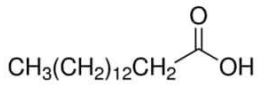
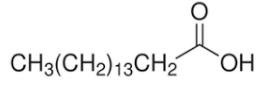
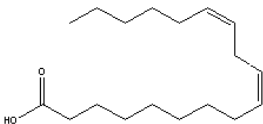
Ισοκυκλικά

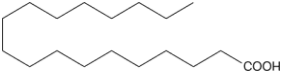
139	2-φαινυλο-οξικό		2546 2543	17,93	0,8	11,3	1,9	16,9	5,4	25,2	2,0	33,6	1,7	25,3	0,2
155	Ομοβανιλλικό (4-Υδροξυ-3-μεθοξυ φαινυλο-οξικό)		2974 2969	15,52	1,47	35,61	23,47	27,16	4,01	21,88	4,56	12,26	5,14	97,12	2,28

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD

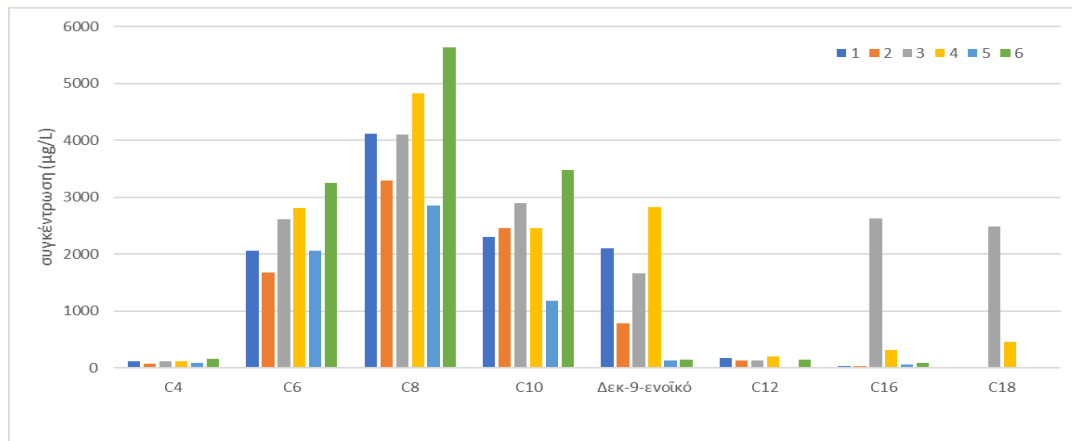
Πίνακας 21. Συγκέντρωση μονοκαρβονικών οξέων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (δεσμευμένη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.												
Αλειφατικά																
22	Οξικό		1442	1445	1.72	0.7	0.9	0.2	2.6	0.5	2.2	1.2	0.9	0.1	1.2	0.4
48	Εξανοϊκό		1842	1839	31.3	3.8	40.7	11.9	22.7	4.4	22.0	2.5	64.7	6.1	48.5	0.3
54	Επτανοϊκό		1944	1946			4.0	0.5		1.5	0.0	3.8	1.0	6.2	1.3	
61	Οκτανοϊκό οξύ		2060	2062	98.0	17.5	135.4	25.4	34.7	0.4	31.8	10.1	207.5	52.4	116.0	6.2
65	Εννεανοϊκό		2158	2159	18.6	0.2	16.0	4.3		3.1	0.1	14.7	8.2	22.8	0.2	

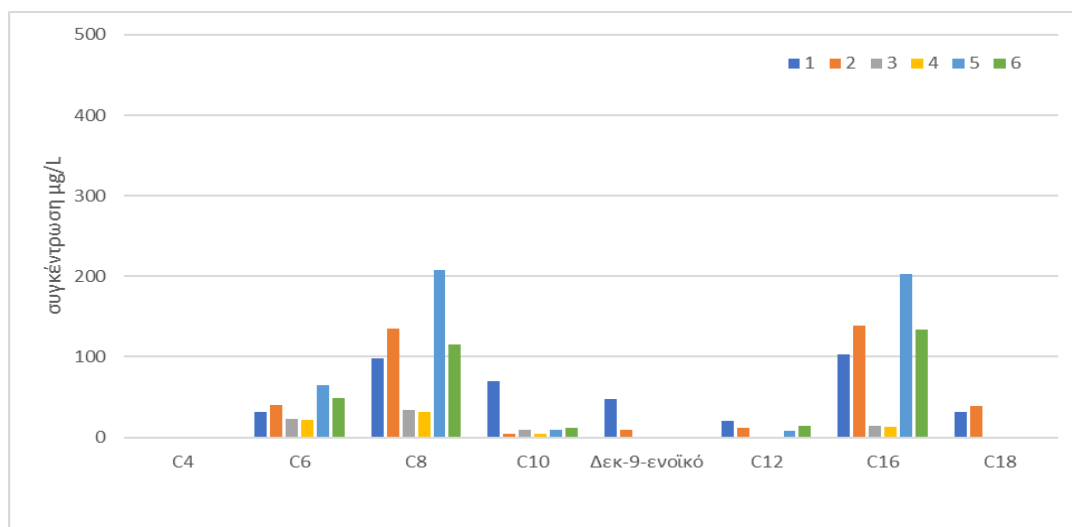
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b	1	2	3	4	5	6						
71	Δεκανοϊκό		2267 2270	70.2	3.2	4.9	0.9	9.8	1.2	3.9	0.1	9.3	5.1	11.6	0.5
76	Δεκ-9-ενοϊκό		2326 2336	47.5	9.9	10.0	1.6								
81	Δωδεκανοϊκό (Λαουρικό)		2477 2474	20.52	3.2	11.8	1.7					8.2	0.6	14.0	1.6
89	Δεκαπεντανοϊκό		2793 2791	14.9	2.7	40.0	3.5					13.1	3.7	40.2	7.8
92	Δεκαεξανοϊκό (παλμιτικό)		2898 2899	103.7	21.8	138.3	1.4	14.7	0.2	13.3	2.5	202.8	47.4	133.5	38.8
95	(Z, Z)- 9,12- Δεκαοκτα- διενοϊκό (α- λιγνελαικό)		>3000 3168			85.9	5.1								

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b	1	2	3	4	5	6
98	Δεκαοκτανοϊκό			31.1	1.2	38.8	1.6		
			>3000	>3000					

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax; ^b δείκτης συγκράτησης Kovats στη στήλη DB-Wax ^c MO±SD



Σχήμα 14. Συγκέντρωση μονοκαρβονικών οξέων που προσδιορίστηκαν σε ελεύθερη μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους



Σχήμα 15. Συγκέντρωση μονοκαρβονικών οξέων που προσδιορίστηκαν σε δεσμευμένη μορφή στους πειραματικούς και εμπορικούς οίνους

Τα αλειφατικά μονοκαρβονικά οξέα ήταν η τρίτη πολυπληθέστερη κατηγορία πτητικών ενώσεων στη συγκεκριμένη μελέτη μετά τις αλκοόλες και τους εστέρες. Η πλειοψηφία των αλειφατικών μονοκαρβονικών οξέων, οργανοληπτικά, εμφανίζουν οσμή δυσάρεστη, έντονη και επιθετική. Εξάιρεση αποτελεί το οκτανοϊκό οξύ το οποίο ανάλογα με τη συγκέντρωση στην οποία απαντά, παρουσιάζει έναν ελαφρά φρουτώδη χαρακτήρα (Miranda-Lopez., Libbey., Watson. & McDaniel., 1992).

3.3.8. Φαινολικές ενώσεις

Στους οίνους προσδιορίστηκαν συνολικά **18 φαινολικές ενώσεις**: 11 σε δεσμευμένη και ελεύθερη μορφή (γκρι γραμμοσκίαση στους Πίνακες), 3 μόνο σε ελεύθερη μορφή, και 4 μόνο σε δεσμευμένη (Πίνακες 22, 23).

Ως γενική παρατήρηση προκύπτει ότι μεγάλος αριθμός φαινολικών ενώσεων βρέθηκε και σε ελεύθερη και σε δεσμευμένη μορφή. Ανάμεσα τους η γουαϊακόλη, 4-αιθυλο-γουαϊακόλη, ευγενόλη, 4-βινυλο-γουαϊακόλη, συριγγόλη, 2,4-δισ(1,1-διμεθυλοαιθυλο) φαινόλη, βανιλίνη, ακετοβανιλλόνη, ζιγκερόνη, ομοβανιλλική αλκοόλη, τυροσόλη και 3,4,5- τριμεθοξυ φαινόλη.

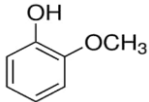
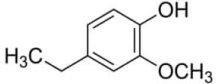
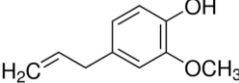
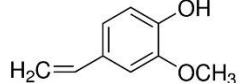
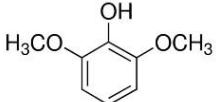
Η τυροσόλη με φρουτώδη και ανθική οσμή (Valera, Olivera, Boido, Dellacassa, Carrau, 2021), ήταν η ένωση με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση και στις δυο μορφές, σε όλα τα δείγματα, με διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων. Υψηλή σχετικά συγκέντρωση και στις δυο μορφές και παρουσία σε όλα τα δείγματα εμφάνισαν και η 4-βινυλο-γουαϊακόλη (2-μεθοξυ-4-βινυλο φαινόλη) με χαρακτηριστική οσμή γαρύφαλλου, η ακετοβανιλλόνη (4-Υδροξυ-3-μεθοξυ-ακετοφαινόνη) και η ομοβανιλλική αλκοόλη.

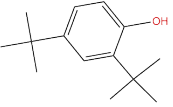
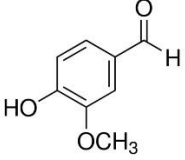
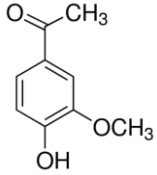
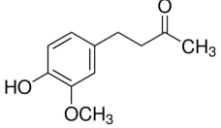
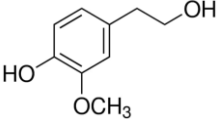
Η ακετοβανιλλόνη προέρχεται από κάποιες άγνωστες άοσμες πρόδρομες ουσίες, και πιθανότατα με τη δράση γλυκοσιδασών που υπάρχουν στα σταφύλια απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της παλαίωσης του οίνου μέσω αργής χημικής υδρόλυσης (Escudero, Cacho, Ferreira, 1999).

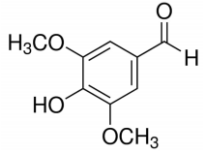
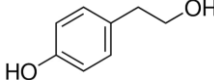
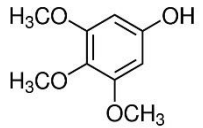
Η ευγενόλη σε ελεύθερη μορφή βρέθηκε μόνο στο δείγμα 3 σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση (6,1 μg/L) και σε όλα τα δείγματα σε δεσμευμένη, ενώ η βανιλίνη με χαρακτηριστική οσμή βανίλιας και υψηλό κατώφλι αντίληψης (>20μg/L), βρέθηκε σε ελεύθερη μορφή στα δείγματα 2, 5 και 6, με μεγαλύτερη συγκέντρωση (73,51 μg/L) ως αναμενόμενο, στο δείγμα 6, και σε όλα τα δείγματα σε δεσμευμένη. Η ευγενόλη με οσμή γαρύφαλλου (μπαχαρικό) είναι ένα τυπικό συστατικό των οίνων που ωριμάζουν σε ξύλινα βαρέλια, ενώ σχηματίζεται και από την οξείδωση διαφόρων πρόδρομων ενώσεων που προέρχονται από τα σταφύλια (Escudero, Cacho, Ferreira, 1999).

Στο δείγμα 6 (εμπορικό δείγμα II) βρέθηκαν ως ήταν αναμενόμενο, αφενός οι υψηλότερες συγκεντρώσεις σε όλα σχεδόν τα φαινολικά συστατικά [π.χ. 4-Αιθυλο-γουαϊακόλη (2-μεθοξυ-4-αιθυλο-φαινόλη), ομοβανιλλική αλκοόλη, ακετοβανιλλόνη] και αφετέρου επιπλέον φαινολικές ενώσεις σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα (π.χ. 4-αιθυλο-γουαϊακόλη, συριγγαλδεύδη), καθώς ζύμωσε και παλαίωσε για 6 μήνες σε δρύινο βαρέλι.

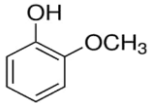
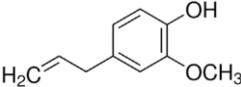
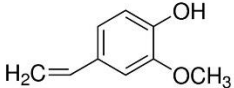
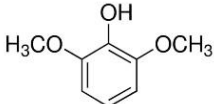
Πίνακας 22. Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

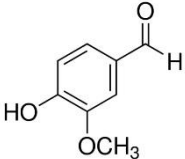
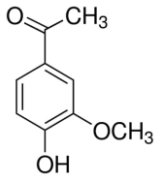
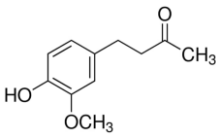
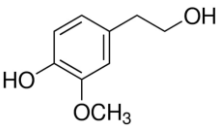
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.												
<i>Παράγωγα της γουαϊακόλης</i>																
102	Γουαϊακόλη (2-μεθοξυ-φαινόλη)		1848	1860	22.8	0.8	59.2	4.0	43.0	7.5	28.6	5.6	19.8	3.6		
109	4-Αιθυλο-γουαϊακόλη (2-μεθοξυ-4-αιθυλο-φαινόλη)		2017	2014									630.5	0.2		
116	Ευγενόλη (2-μεθοξυ-4-αλλυλο-φαινόλη)		2153	2156					6.1	0.8						
119	4-Βινυλο-γουαϊακόλη (2-μεθοξυ-4-βινυλο-φαινόλη)		2182	2197	78.6	7.6	65.4	2.3	85.9	10.8	79.8	9.1	58.8	22.5	76.1	6.9
122	2,6-διμεθοξυ-φαινόλη (συριγγόλη)		2255	2264	42.6	2.2	61.6	5.7	24.1	7.3	48.3	20.2	26.7	10.3	69.9	9.8

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wex)	Βιβλιογρ.												
125	2,4-δισ(1,1-διμεθυλοαιθυλο) φαινόλη		2300	2280	50.6	7.7	56.4	1.8	43.2	5.4	42.5	0.7				
140	Βανιλίνη (4-Υδροξυ-3-μεθοξυ-βενζαλδεΐδη)		2549	2566			22.65	2.29			18.40	2.11	73.51	6.57		
143	Ακετοβανιλόνη (4-Υδροξυ-3-μεθοξυ-ακετοφαινόνη)		2627	2620	116.8	1.9	136.6	28.9	180.7	32.7	134.0	2.6	50.6	12.0	191.3	8.9
147	Ζιγκερόνη [4-(4-υδροξυ-3-μεθοξυ-φαινυλο (2-βουτανόνη)]		2785	2786	20.7	2.1	25.2	7.4			18.3	0.3	13.9	7.8	19.0	0.1
149	Ομοβανιλλική αλκοόλη		2834	2830	57.2	6.7	63.8	1.5	69.0	2.3	82.5	1.8	131.3	2.3	183.0	10.6

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6							
			Πειραματ. (DB- Wex)	Βιβλιογρ.													
152	Συριγγαλδεύδη (4-Υδροξυ-3,5- διμεθοξυ- βενζαλδεύδη)		2933	2907												63.4	12.1
<i>Λοιπές</i>																	
146	3,4-διμεθοξυ- φαινόλη (συριγγόλη)		2753	2750	13.89	0.25	13.05	5.92	13.36	0.46	16.20	3.36					
157	Τυροσόλη [2-(4- υδροξυ- φαινυλο) αιθανόλη		2997	2999	3317.8	354.0	7217.5	703.5	2077.4	303.6	4207.9	81.5	4641.3	2012.8	6986.3	330.3	
159	3,4,5- Τριμεθοξυ φαινόλη		>3000	>3000 / 2960	51.2	0.7	55.1	5.7	84.7	17.7	73.0	15.7	26.8	20.1	80.4	4.5	

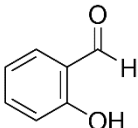
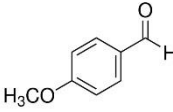
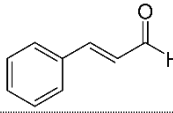
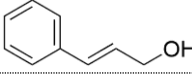
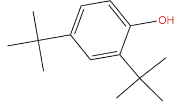
Πίνακας 23. Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (δεσμευμένη μορφή)

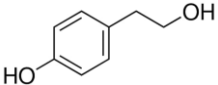
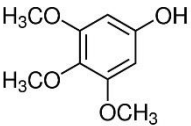
α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.												
<i>Παράγωγα της γουαϊακόλης</i>																
50	Γουαϊακόλη (2-μεθοξυ-φαινόλη)		1848	1860	3.8	0.8	3.6	1.4			3.6	1.4				
64	Ευγενόλη (2-μεθοξυ-4-αλλυλο-φαινόλη)		2153	2156	11.0	0.5	11.2	1.3	9.2	0.1	9.4	0.8	4.0	0.3	20.0	2.2
66	4-Βινυλο-γουαϊακόλη (2-μεθοξυ-4-βινυλοφαινόλη)				132.6	59.8	120.7	17.9	34.7	0.0	29.5	2.1	83.1	18.8	78.7	14.3
			2182	2197												
70	2,6-διμεθοξυ-φαινόλη (συριγγόλη)		2255	2264	12.0	0.4	10.4	0.7			2.8	0.3	2.3	0.8	10.0	0.2

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wen)	Βιβλιογρ.												
83	Βανιλίνη (4-Υδροξυ-3-μεθοξυ-βενζαλδεΐδη)		2549	2566	6.10	0.25	8.20	0.55	6.45	1.69	6.56	0.52	8.62	3.56	8.93	0.69
85	Ακετοβανιλλόνη (4-Υδροξυ-3-μεθοξυ-ακετοφαινόνη)		2627	2620					12.4	0.6	10.7	0.1	12.2	0.9	28.0	0.3
88	Ζιγκερόνη [4-(4-υδροξυ-3-μεθοξυ-φαινυλο (2-βουτανόνη)]		2785	2786	5.9	0.8	14.3	3.8	11.4	1.0	9.9	1.5	12.0	1.6	19.1	2.7
90	Ομοβανιλλική αλκοόλη		2834	2830	15.6	2.3	13.6	0.1	13.4	0.1	12.4	0.8	13.6	2.1	20.3	5.3

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	R ¹ ^b		1	2	3	4	5	6
			Πειραματ. (DB- Wax)	Βιβλιογρ.						

Λοιπές

40	Σαλικυλική αλδεύδη (2- Υδροξυ- βενζαλδεύδη)		1661	1663	31.4	0.6	29.3	4.8	13.5	0.4	12.1	0.1	43.2	3.4	78.1	0.1
56	p-Ανισαλδεύδη (4-Μεθοξυ- βενζαλδεύδη)		2010	2006	4.0	0.2	3.5	0.7	3.5	0.1	3.7	0.8	2.9	0.4	7.4	1.6
58	(E)- Κινναμωμική αλδεύδη		2025	2025					1.9	0.0	1.5	0.3	2.1	0.7	4.0	0.9
73	(Z)-3-Φαινυλο- 2-Προπεν-1-όλη [(Z)- Κινναμμυλική αλκοόλη]		2272	2274							2.5	0.6	2.3	0.0	4.7	0.8
74	2,4-δισ(1,1- διμεθυλοισοπυλο) φαινόλη		2300	2280	56.5	4.6	47.6	6.0	22.4	2.3	23.7	6.8	44.2	8.0	54.6	4.6

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB- Wex)	Βιβλιογρ.												
94	Τυροσόλη [2-(4-υδροξυ-φαινυλο) αιθανόλη		2997	2999	265.5	181.7	239.1	14.3	291.5	141.0	390.2	74.3	611.4	183.6	206.4	222.2
96	3,4,5-Τριμεθοξυ φαινόλη		>3000	>3000 / 2960	53.5	6.0	55.9	7.0								

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της έρευνας στις ράγες, η βανιλίνη βρέθηκε σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή, η ακετοβανιλλόνη μόνο σε δεσμευμένη μορφή στους φλοιούς ενώ η ευγενόλη και η τυροσόλη δεν βρέθηκαν καθόλου στις ράγες.


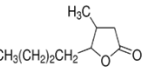

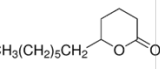
3.3.9 Λακτόνες

Στους οίνους προσδιορίστηκαν συνολικά **7 λακτόνες**: 4 μόνο σε ελεύθερη μορφή, και 3 μόνο σε δεσμευμένη (Πίνακες 24, 25).

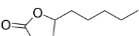
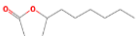
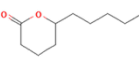
Η γ-βουτυρολακτόνη όπως και η D,L-Παντολακτόνη βρέθηκαν σε ελεύθερη μορφή σε όλα τα δείγματα, η πρώτη στο δείγμα 6 στη μεγαλύτερη συγκέντρωση (60,27 μg/L). Η *cis*-Whiskey λακτόνη προσδιορίστηκε μόνο στο δείγμα 6 (46,10μg/L), και η (+)-δ-δωδεκαλακτόνη μόνο στο δείγμα 3 (36,3μg/L)..

Η γ-νοναλακτόνη και η γ-δεκαλακτόνη βρέθηκαν σε δεσμευμένη μορφή σε όλα τα δείγματα, ενώ σε δεσμευμένη μορφή προσδιορίστηκε και δ-δεκαλακτόνη.

Πίνακας 24. Συγκέντρωση λακτονών που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
ΛΑΚΤΟΝΕΣ																
81	γ-βουτυρολακτόνη		1616	1622	19,66	0,81	18,09	2,05	30,19	2,17	23,82	0,11	17,16	3,56	60,27	2,86
106	<i>cis</i> -Whiskey λακτόνη [5-βουτυλο-4-μεθυλο-διδρο-2(3H)-φουρανόνη]		1952	1964											46,10	0,74
110	D,L-Παντολακτόνη [3-υδροξυ-4,4-διμεθυλοδιδρο-2(3H)-φουρανόνη]		2023	2034	17,02	0,38	16,29	1,48	16,69	0,79	12,25	0,85	16,16	4,78	15,07	2,15
131	(+)-δ-δωδεκαλακτόνη (6-επιπυλετραυδρο-2H-πυραν-2-όνη)		2425	2426					36,25	6,13						

Πίνακας 25. Συγκέντρωση λακτονών που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (δεσμευμένη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
ΛΑΚΤΟΝΕΣ																
57	γ-νοναλακτόνη [2(3H)-Φουρανόνη, διυδρο-5-πεντυλ-]		2019	2023	4,47	0,04	4,30	0,48	2,67	0,55	3,26	0,03	3,47	1,29	5,85	1,39
63	γ-δεκαλακτόνη [2(3H)-Φουρανόνη, 5-εξυλ-διυδρο]		2135	2136	3,5	1,7	12,6	5,5	14,6	3,4	9,9	4,4	11,8	0,3	13,06	0,04
67	δ-δεκαλακτόνη [6-πεντυλ-τετραυδρο-2H-πυραν-2-όνη]		2187	2192					8,4	0,2	7,2	0,6	7,0	0,1	13,5	0,9

^a σειρά έκλυσης στη στήλη DB-Wax

3.3.10 Υδρογονάνθρακες

Υδρογονάνθρακες (ετεροκυκλικοί) σε ελεύθερη μορφή βρέθηκαν μόνο στα εμπορικά δείγματα και συγκεκριμένα η ένωση 2-πεντυλο φουράνιο βρέθηκε στο εμπορικό δείγμα II (2,65μg/L) και η ένωση 2-ακετυλο φουράνιο στο εμπορικό δείγμα I (5,32μg/L) (Πίνακας 26).

Σε δεσμευμένη μορφή βρέθηκε το 2,3 δεϋδρο-βενζοφουράνιο στα δείγματα 1-3 (Πίνακας 27).

Πίνακας 26. Συγκέντρωση υδρογονανθράκων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6	
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.							
ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ											
Ετεροκυκλικοί											
15	2-πεντυλο φουράνιο		1229	1229						2,65	0,24
60	2-ακετυλο φουράνιο		1494	1498					5,32	1,29	

Πίνακας 27. Συγκέντρωση υδρογονανθράκων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (δεσμευμένη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6	
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.							
ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ											
Ετεροκυκλικοί											
79	2,3 δεϋδρο-βενζοφουράνιο		2376	2389	47,6	3,4	24,2	2,7	40,0	10,2	

^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax

3.3.11 Λοιπές ενώσεις

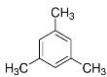
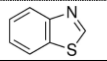
Στους οίνους βρέθηκαν επιπλέον σε όλα τα δείγματα, σε ελεύθερη μορφή, μεσιτυλένιο με μέγιστη τιμή συγκέντρωσης στο δείγμα 3 (12,6μg/L) και διμεθυλοακετάλη εννεανάλης με μέγιστη τιμή 7,82μg/L στο δείγμα 6 (Πίνακας 28).

Πίνακας 28. Συγκέντρωση λοιπών ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	RI ^b		1	2	3	4	5	6						
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.												
ΛΟΙΠΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ																
23	Μεσιτυλένιο		1271	1271	7,1	0,4	2,3	0,2	12,6	0,0	8,4	0,1	2,7	0,8	7,8	0,6
58	Διμεθυλοακετάλη εννεανάλης		1462	1465	4,59	0,30	3,38	0,29	7,46	1,22	5,38	0,24	1,91	1,99	7,82	0,18

Σε δεσμευμένη μορφή, βρέθηκε και πάλι σε όλα τα δείγματα μεσιτυλένιο και βενζοθειαζόλιο με μέγιστες συγκεντρώσεις στο δείγμα 6 (Πίνακας 29).

Πίνακας 29. Συγκέντρωση λοιπών ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στους οίνους της παρούσας εργασίας (ελεύθερη μορφή)

α/α ^a	Ενώσεις	Χημική δομή	R _I ^b		ΛΟΙΠΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ											
			Πειραματ. (DB-Wax)	Βιβλιογρ.	1		2		3		4		5		6	
9	Μεσιτυλένιο		1271	1271	2,7	0,3	2,0	0,4	1,9	0,2	1,6	0,1	1,9	0,0	3,3	0,0
53	Βενζοθειαζόλιο		1941	1941	5,5	0,2	5,7	1,1	5,2	0,9	5,5	1,4	4,6	0,1	7,7	0,9

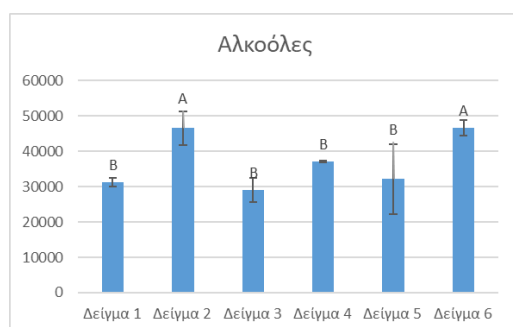
^a σειρά έκλουσης στη στήλη DB-Wax

3.4 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

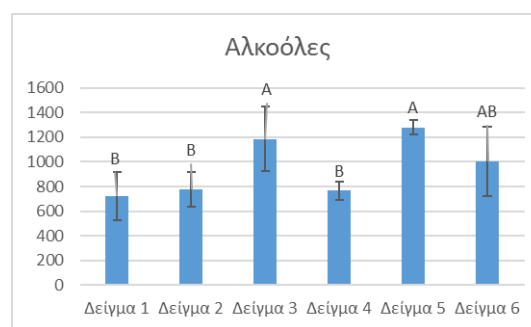
Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό λογισμικό JMP11. Οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων (τιμή επιπέδου σημαντικότητας $p < 0,05$ ή όριο εμπιστοσύνης 95%) αξιολογήθηκαν μέσω της εφαρμογής της ανάλυσης διακύμανσης με έναν παράγοντα (OneWay ANOVA), με χρήση του Tukey HSD test για την σύγκριση των μέσων και για τον εντοπισμό των συγκεκριμένων ζευγών που εμφανίζουν στατιστικές διαφορές. Για την δημιουργία των διαγραμμάτων χρησιμοποιήθηκε το Microsoft Excel. Τα αποτελέσματα που απεικονίζονται σε γράφημα, παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των επαναλήψεων (ως μπάρες) και η τυπική απόκλιση των επαναλήψεων καθώς και οι χαρακτήρες διαφοροποίησης (A, B, C, ...) που δηλώνουν την στατιστική ή μη διαφορά των δειγμάτων (σε επίπεδο 0.05%). Δείγματα με διαφορετικό γράμμα παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Σε δεύτερο στάδιο εφαρμόστηκε πολυπαραγοντική ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) για να φανούν οι συσχετισμοί των δειγμάτων με τις παραμέτρους που μελετήθηκαν.

Συνοπτικά προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

Αλκοόλες



Σχήμα 16. Αθροιστικά οι αλκοόλες των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

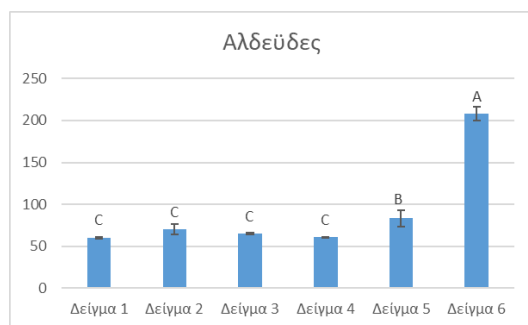


Σχήμα 17. Αθροιστικά οι αλκοόλες των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

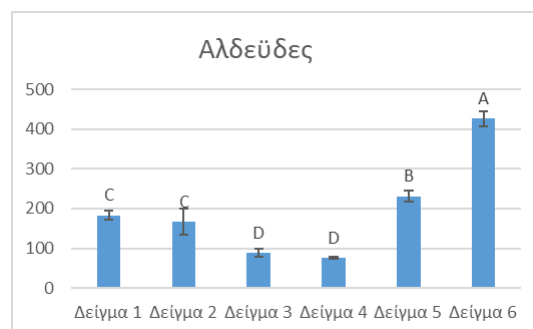
Στην ελεύθερη μορφή τους μεγαλύτερη συγκέντρωση αλκοολών έχει το δείγμα 2 και ακολουθεί το δείγμα 6. Ακολουθούν τα δείγματα 1,3,4,5 χωρίς στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Η επίδραση γενικά των ανώτερων αλκοολών στο άρωμα του οίνου εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους. Σε μέτρια συγκέντρωση συμβάλλουν στην πολυπλοκότητα του αρώματος του οίνου ενώ σε υψηλότερη την επηρεάζουν μάλλον αρνητικά.

Στην δεσμευμένη μορφή το δείγμα 5 έχει την μεγαλύτερη συγκέντρωση με το δείγμα 3 να ακολουθεί. Τα δείγματα 1,2,4,6 δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Αλδεΐδες



Σχήμα 18. Αθροιστικά οι αλδεΐδες των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

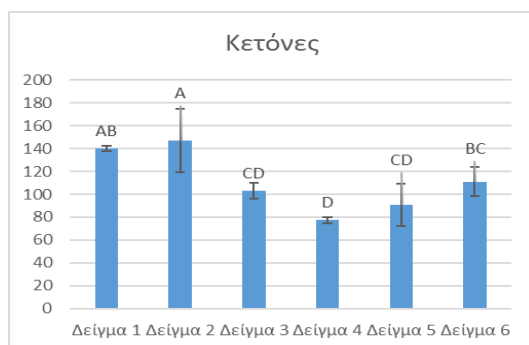


Σχήμα 19. Αθροιστικά οι αλδεΐδες των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

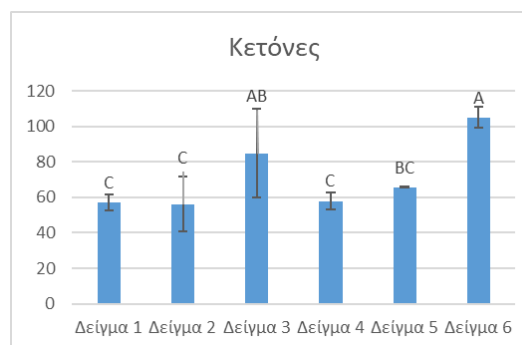
Στην ελεύθερη μορφή τους συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 6 ενώ ακολουθεί το δείγμα 5. Τα υπόλοιπα δείγματα δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Η υψηλή συγκέντρωση αλδεϋδών στους οίνους, έχει αρνητική επίδραση στο πτητικό του δυναμικό, ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις ενισχύει την πολυπλοκότητα του.

Στην δεσμευμένη μορφή, τα αποτελέσματα παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Κετόνες



Σχήμα 20. Αθροιστικά οι κετόνες των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

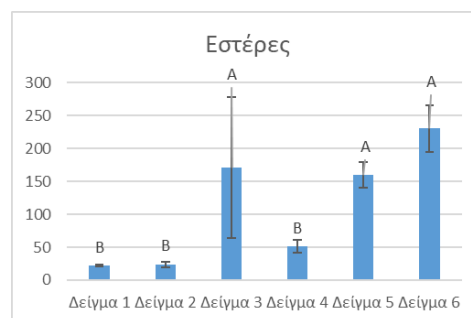
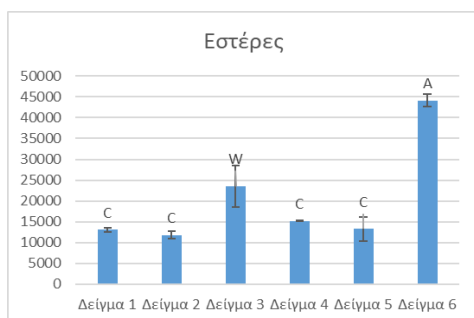


Σχήμα 21. Αθροιστικά οι κετόνες των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

Στην ελεύθερη μορφή τους, μεγαλύτερη συγκέντρωση παρουσιάζει το δείγμα 2 ενώ ακολουθεί το δείγμα 1 χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά. Τα υπόλοιπα δείγματα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, οι κετόνες επιδρούν θετικά στο άρωμα των οίνων, προσδίδοντας ανθικά αρώματα και αρώματα τροπικών φρούτων.

Στην δεσμευμένη μορφή τους, συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 6 και ακολουθεί το δείγμα 3, ενώ τα υπόλοιπα δείγματα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Εστέρες



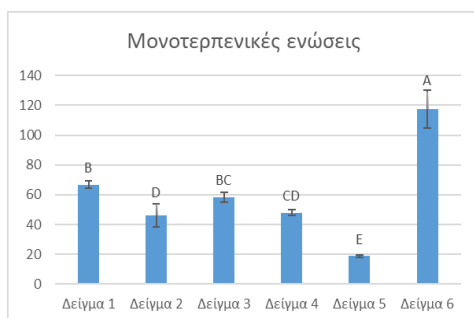
Σχήμα 22. Αθροιστικά οι εστέρες των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

Σχήμα 23. Αθροιστικά οι εστέρες των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

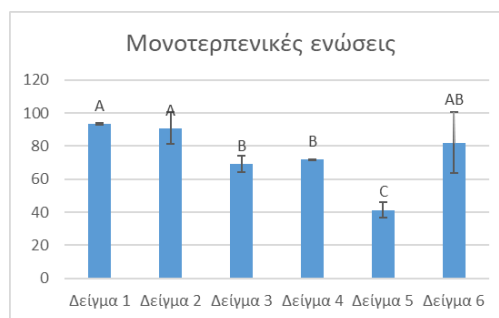
Στην ελεύθερη μορφή των εστέρων, συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 6 και ακολουθεί το δείγμα 3. Τα υπόλοιπα δείγματα είναι χωρίς στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Οι εστέρες έχουν ευεργετική συνεισφορά στο άρωμα των οίνων καθώς προσφέρουν φρουτώδη αρώματα σε αυτούς.

Στην δεσμευμένη μορφή τους τα δείγματα παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Μονοτερπενικές ενώσεις



Σχήμα 24. Αθροιστικά οι μονοτερπενικές ενώσεις των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

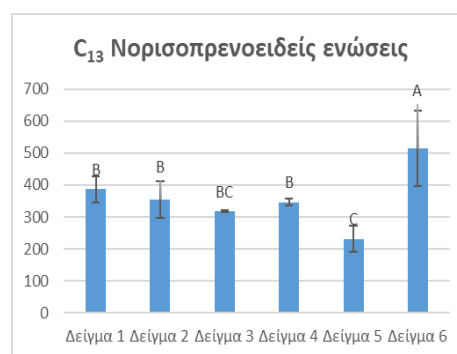
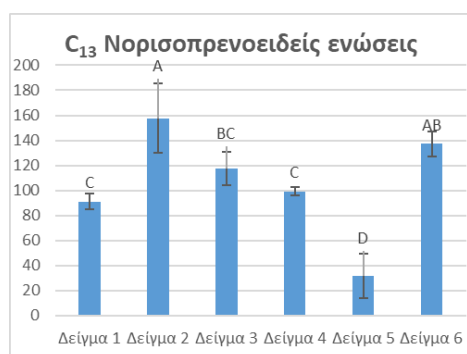


Σχήμα 25. Αθροιστικά οι μονοτερπενικές ενώσεις των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

Στην ελεύθερη μορφή των μονοτερπενικών ενώσεων, συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 6, ενώ τα υπόλοιπα δείγματα παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Οι μονοτερπενικές ενώσεις επιδρούν θετικά στο άρωμα των οίνων, προσδίδοντας ανθικά, φρουτώδη αρώματα και φρέσκα αρώματα εσπεριδοειδών.

Στην δεσμευμένη μορφή τους, τα δείγματα παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

C₁₃ Νορισοπρενοειδείς ενώσεις



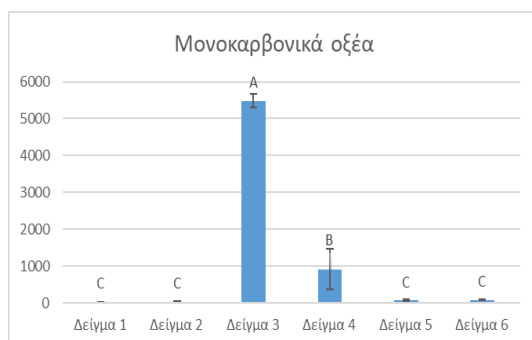
Σχήμα 25. Αθροιστικά οι C₁₃ νορισοπρενοειδείς ενώσεις των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το ± τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, p<0.05).

Σχήμα 26. Αθροιστικά οι C₁₃ νορισοπρενοειδείς ενώσεις των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το ± τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, p<0.05).

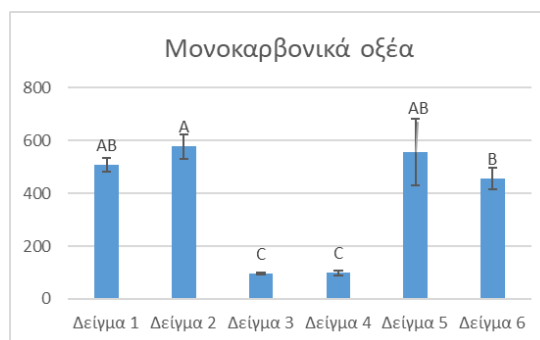
Στην ελεύθερη μορφή τους, συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 2 και το δείγμα 6, ενώ ακολουθεί το δείγμα 3 που δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά από το δείγμα 6. Οι ενώσεις, έχουν θετική επίδραση στο αρωματικό προφίλ των οίνων, προσδίδοντας αρώματα ανθέων και τροπικών φρούτων.

Στην δεσμευμένη μορφή τους, συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 6. Ακολουθούν τα δείγματα 1,2,3,4 που δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους και τέλος το δείγμα 5 που διαφέρει στατιστικά σημαντικά με τα υπόλοιπα.

Μονοκαρβονικά οξέα



Σχήμα 27. Αθροιστικά τα μονοκαρβονικά οξέα των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

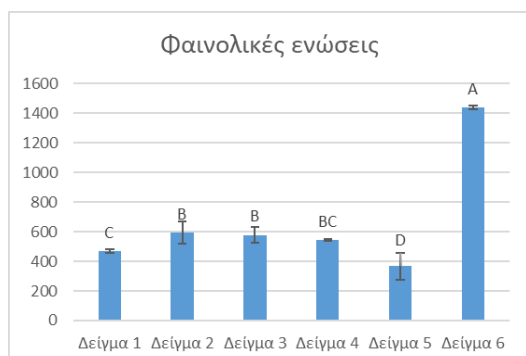


Σχήμα 28. Αθροιστικά τα μονοκαρβονικά οξέα των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

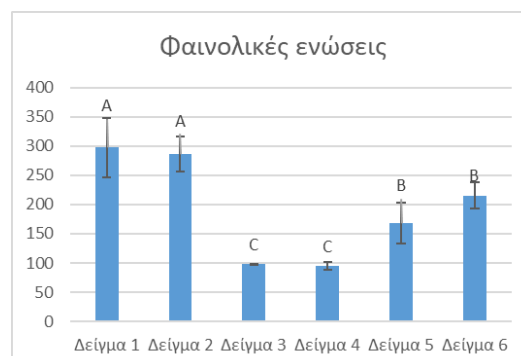
Στην ελεύθερη μορφή τους, συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 3. Ακολουθεί το δείγμα 4 ενώ τα δείγματα 1,2,5,6 είναι χωρίς στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η πλειοψηφία των οξέων επιδρά αρνητικά στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων.

Στην δεσμευμένη μορφή τους, τα δείγματα 1,2,5 και 1,5,6 δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, ενώ ακολουθούν τα δείγματα 3 και 4 χωρίς στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

Φαινολικές ενώσεις



Σχήμα 29. Αθροιστικά οι φαινολικές ενώσεις των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

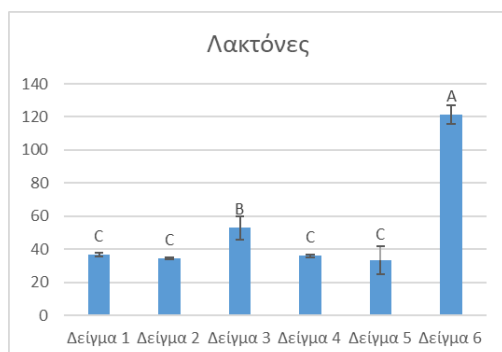


Σχήμα 30. Αθροιστικά οι φαινολικές ενώσεις των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

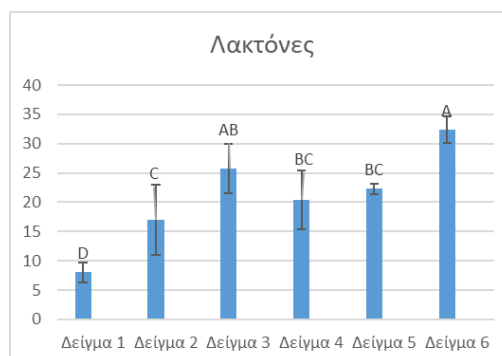
Στην ελεύθερη μορφή των φαινολικών ενώσεων, το δείγμα 6 παρουσιάζει συγκριτική διαφορά ενώ ακολουθούν τα δείγματα 2,3,4 που δεν έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, οι φαινολικές ενώσεις έχουν θετικό αντίκρυσμα στο πτητικό δυναμικό των οίνων.

Στην δεσμευμένη μορφή τους, τα δείγματα 1 και 2 δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά και έχουν την μεγαλύτερη συγκριτική διαφορά με τα υπόλοιπα, ενώ ακολουθούν τα δείγματα 5 και 6 και τέλος 3 και 4.

Λακτόνες



Σχήμα 31. Αθροιστικά οι λακτόνες των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

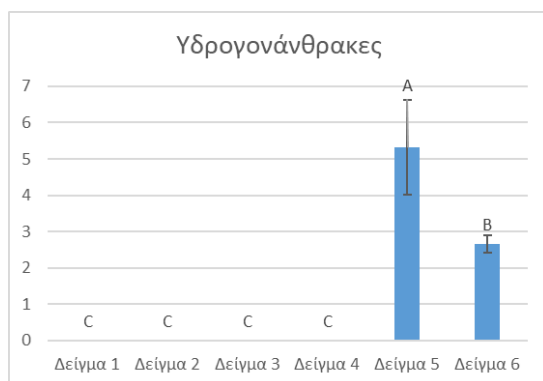


Σχήμα 32. Αθροιστικά οι λακτόνες των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

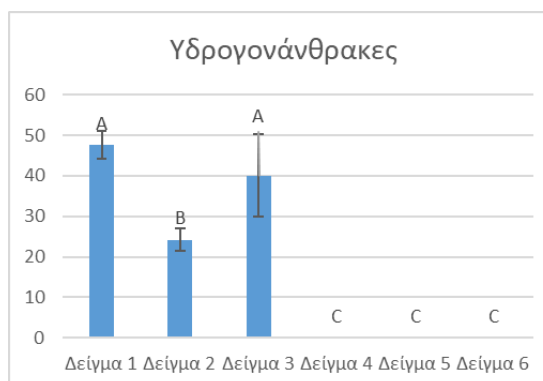
Στην ελεύθερη μορφή τους συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 6 ενώ ακολουθεί το δείγμα 3. Τα δείγματα 1,2,4,5 δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Οι λακτόνες επιδρούν θετικά στο αρωματικό δυναμικό των οίνων.

Στην δεσμευμένη μορφή τους, τα δείγματα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά.

Υδρογονάνθρακες



Σχήμα 33. Αθροιστικά οι υδρογονάνθρακες των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

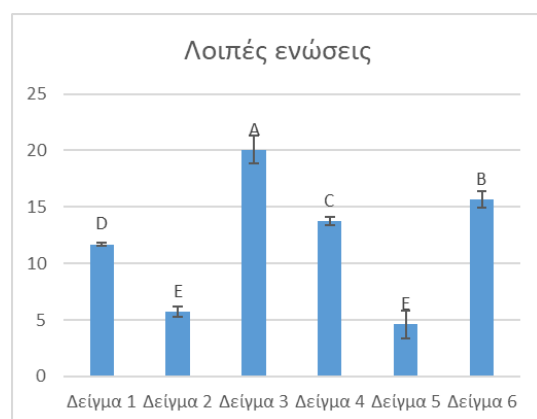


Σχήμα 34. Αθροιστικά οι υδρογονάνθρακες των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

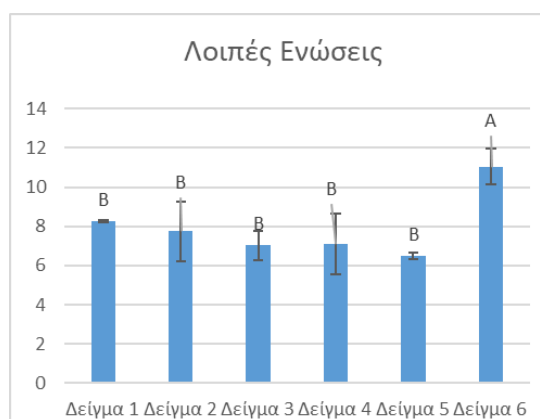
Στην ελεύθερη μορφή τους, συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 5 ενώ ακολουθεί το δείγμα 6. Τα υπόλοιπα δείγματα παρουσιάζουν μηδική τιμή.

Στην δεσμευμένη μορφή τους, τα δείγματα 1 και 3 δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ενώ ακολουθεί το δείγμα 2. Τα δείγματα 4,5 και 6 παρουσιάζουν μηδενικές τιμές.

Λοιπές ενώσεις



Σχήμα 35. Αθροιστικά οι *λοιπές ενώσεις* των δειγμάτων σε ελεύθερη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).



Σχήμα 36. Αθροιστικά οι *λοιπές ενώσεις* των δειγμάτων σε δεσμευμένη μορφή. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στα δείγματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test, $p < 0.05$).

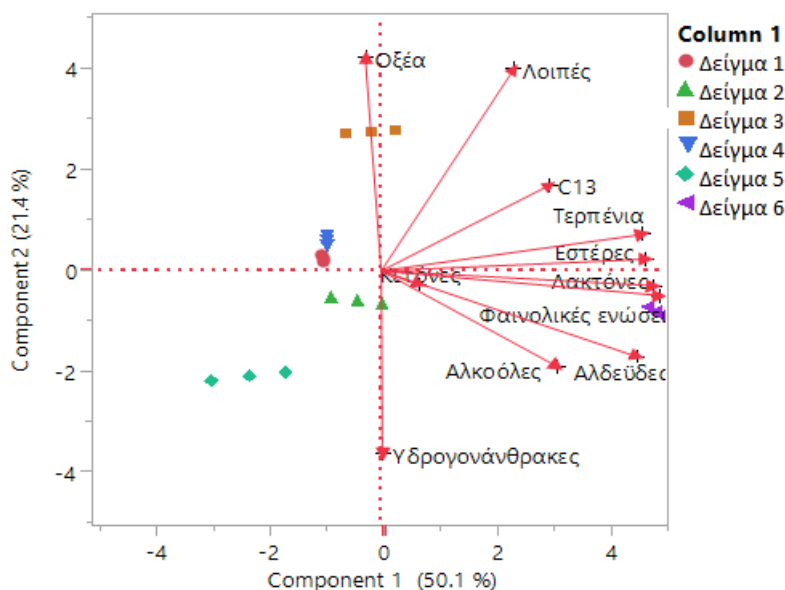
Στην ελεύθερη μορφή τους, τα δείγματα παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Στην δεσμευμένη μορφή τους, συγκριτική διαφορά έχει το δείγμα 6 ενώ τα υπόλοιπα δείγματα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά.

3.5 Πολυπαραγοντική ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA)

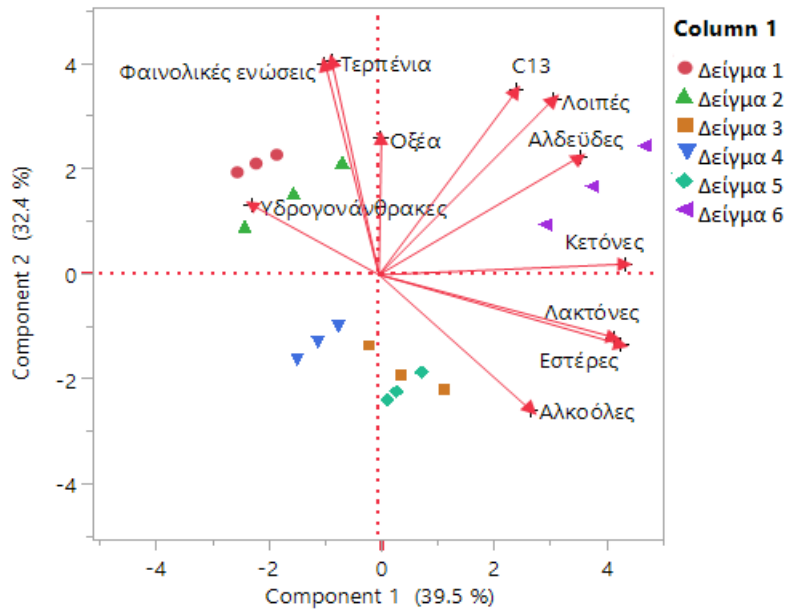
Μέσω της διαδικασίας της πολυπαραγοντικής ανάλυσης τα παρακάτω σχήματα (**Σχήμα 37** και **Σχήμα 38**) δείχνουν την θετική ή αρνητική συσχέτιση των δειγμάτων με το σύνολο των παραμέτρων, στην ελεύθερη ή δεσμευμένη μορφή των ενώσεων. Πιο αναλυτικά στο σχήμα 37, που δείχνει την πολυπαραγοντική ανάλυση στην ελεύθερη μορφή των ενώσεων, παρατηρήθηκε ότι το δείγμα 1 έχει μεγαλύτερη θετική συσχέτιση με τα οξέα, τις λοιπές ενώσεις, τους εστέρες, τα τερπένια, τις κετόνες και τα C_{13} νορισοπρενοειδή, ενώ αρνητική συσχέτιση με τους υδρογονάνθρακες. Το δείγμα 2, έχει μεγαλύτερη θετική συσχέτιση με τις αλκοόλες, τις αλδεΐδες και τις κετόνες, ενώ αρνητική συσχέτιση με τα οξέα. Το δείγμα 3 έχει πολύ θετική συσχέτιση

με τα οξέα, τις λοιπές ενώσεις τα, C₁₃ νορισοπρενοειδή, τα τερπένια και τους εστέρες, ενώ πολύ αρνητική συσχέτιση με τους υδρογονάνθρακες. Το δείγμα 4 έχει μεγαλύτερη θετική συσχέτιση με τα οξέα, τις λοιπές ενώσεις, τους εστέρες, τα τερπένια και τα C₁₃ νορισοπρενοειδή, ενώ αρνητική συσχέτιση με τους υδρογονάνθρακες. Το δείγμα 6 έχει θετική συσχέτιση με τις φαινολικές ενώσεις, τις λακτόνες, τις αλδεΐδες, τους εστέρες και τις κετόνες ενώ αρνητική συσχέτιση με τα οξέα.



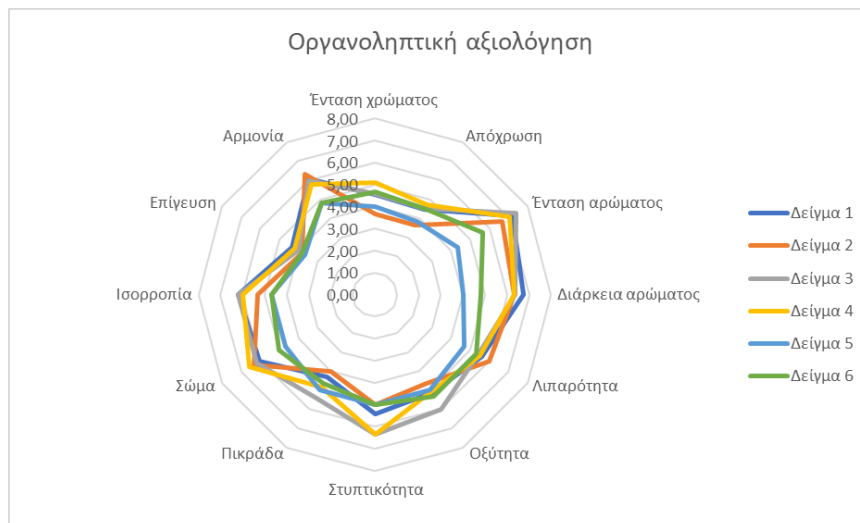
Σχήμα 37. Πολυπαραγοντική ανάλυση στην ελεύθερη μορφή των ενώσεων. Οι ομάδες χημικών ενώσεων που βρίσκονται πιο κοντά στο κάθε δείγμα είναι αυτές που έχουν την μεγαλύτερη συγκέντρωση-θετική συσχέτιση.

Σύμφωνα με το σχήμα 38, τα δείγμα 1 και 2 έχουν μεγαλύτερη θετική συσχέτιση με τους υδρογονάνθρακες, τις φαινολικές ενώσεις, τα τερπένια και τα οξέα, ενώ αρνητική συσχέτιση με τις αλκοόλες, τους εστέρες και τις λακτόνες. Τα δείγματα 3,4 και 5 έχει θετική συσχέτιση με τις αλκοόλες και τους υδρογονάνθρακες και αρνητική με τα οξέα, τα C₁₃ νορισοπρενοειδή, τις αλδεΐδες και τις λοιπές ενώσεις. Το δειγμα 6 έχει θετική συσχέτιση με τις αλδεΐδες, τις κετονες και τις λοιπές ενώσεις και αρνητική με τους υδρογονάνθρακες και τις αλκοόλες.



Σχήμα 38. Πολυπαραγοντική ανάλυση στην δεσμευμένη μορφή των ενώσεων. Οι ομάδες χημικών ενώσεων που βρίσκονται πιο κοντά στο κάθε δείγμα είναι αυτές που έχουν την μεγαλύτερη συγκέντρωση-θετική συσχέτιση.

3.6 Αποτελέσματα και πολυπαραγοντική ανάλυση οργανοληπτικής αξιολόγησης



Σχήμα 39. Αποτελέσματα οργανοληπτικής αξιολόγησης πειραματικών και εμπορικών οίνων.

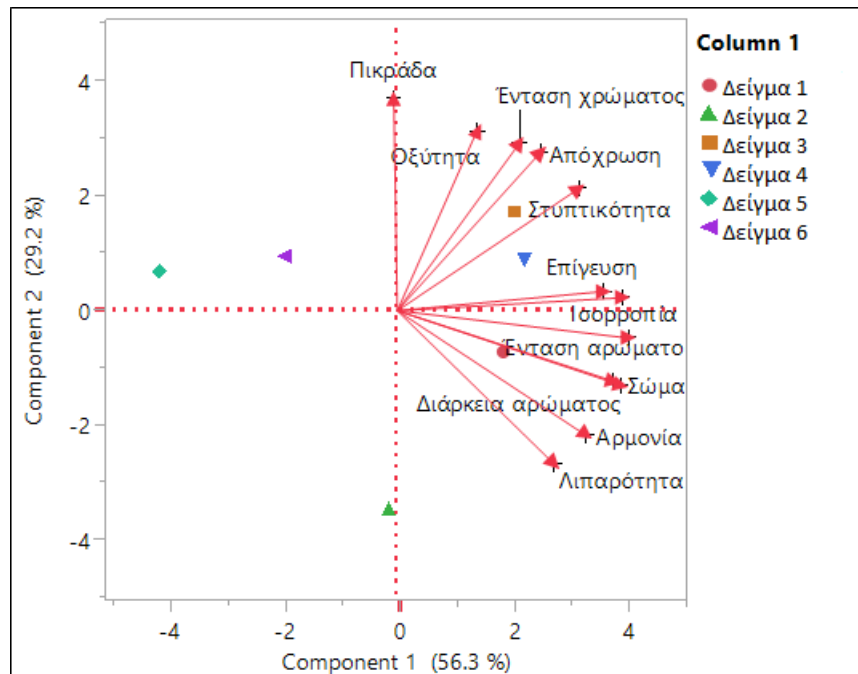
Σύμφωνα με το παραπάνω σχήμα (Σχήμα 39), τον υψηλότερο μέσο όρο έντασης χρώματος και απύκνωσης τον είχε το δείγμα 4 ενώ τον χαμηλότερο το δείγμα 2.

Υψηλότερο μέσο όρο έντασης αρώματος είχαν οι οίνοι που δέχτηκαν τον διαδοχικό εμβολιασμό (δείγμα 3), ενώ τον χαμηλότερο το εμπορικό δείγμα Ι (δείγμα 5). Την υψηλότερη βαθμολογία όσον αφορά την διάρκεια αρώματος την είχαν οι οίνοι που εμβολιάστηκαν με OPALÉ (δείγμα 1), ενώ την χαμηλότερη αυτοί που εμβολιάστηκαν με την MOSAIC (δείγμα 4) καθώς και ο οίνος που εμβολιάστηκε στην δεξαμενή (δείγμα 2) και τα εμπορικά δείγματα.

Στην γευστική αξιολόγηση, την υψηλότερη λιπαρότητα την είχε το δείγμα 2, ενώ την υψηλότερη οξύτητα, στυφάδα και πικράδα οι οίνοι με τον διαδοχικό εμβολιασμό (δείγμα 3).

Ως πιο πλούσιο στο σώμα, οι δοκιμαστές χαρακτήρισαν τον οίνο που εμβολιάστηκε με τη MOSAIC (δείγμα 4).

Πιο ισορροπημένοι χαρακτηρίστηκαν οι οίνοι με τον διαδοχικό εμβολιασμό (δείγμα 3) καθώς και ο οίνος που εμβολιάστηκε με την OPALÉ στη δεξαμενή (δείγμα 2), ο οποίος είχε και την μεγαλύτερη επίγευση. Ο ίδιος οίνος χαρακτηρίστηκε και ο πιο αρμονικός.



Σχήμα 40. Αποτελέσματα πολυπαραγοντικής ανάλυσης της οργανοληπτικής αξιολόγησης. Οι παράγοντες οι οποίοι αξιολογήθηκαν που βρίσκονται πιο κοντά στο κάθε δείγμα είναι αυτοί που έχουν την μεγαλύτερη θετική συσχέτιση.

Σύμφωνα με το παραπάνω σχήμα (Σχήμα 40), το δείγμα 1 έχει θετική συσχέτιση με την ένταση αρώματος, την διάρκεια αρώματος, το πλούσιο σώμα, την ισορροπία και την αρμονία, ενώ έχει αρνητική συσχέτιση με την πικράδα. Το δείγμα 2 έχει την θετική συσχέτιση με την λιπαρότητα και αρνητική με την πικράδα και την οξύτητα. Το δείγμα 3 και το δείγμα 4 έχουν θετική συσχέτιση με την οξύτητα, την ένταση χρώματος, την απόχρωση, την στυπτικότητα και την επίγευση, ενώ αρνητική συσχέτιση με την λιπαρότητα, την πικράδα και την διάρκεια αρώματος. Τα δείγματα 5 και 6, έχουν θετική συσχέτιση με την πικράδα και την οξύτητα, ενώ αρνητική συσχέτιση με την λιπαρότητα, την αρμονία και την διάρκεια αρώματος.

4. Παρατηρήσεις - Συμπεράσματα

Σύμφωνα με τις κινητικές των ζυμώσεων, την πιο αργή αλκοολική ζύμωση την είχαν τα γλεύκη στα οποία έγινε διαδοχικός εμβολιασμός με TD3 και ALCHEMY IV (δείγμα 3). Όπως είναι γνωστό από την βιβλιογραφία, οι αργές αλκοολικές ζυμώσεις έχουν πιο πλούσιο αρωματικό δυναμικό.

Από την αεριοχρωματογραφική ανάλυση των οίνων, προέκυψαν διαφορές όσον αφορά στη συγκέντρωση, στο είδος και στον αριθμό των ενώσεων που βρίσκονται σε ελεύθερη ή δεσμευμένη μορφή ανάμεσα στα δείγματα οίνων.

Από την στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι το δείγμα 2 (OPALE) είχε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε αλκοόλες, κετόνες και νορισοπρενοειδής ενώσεις στην ελεύθερη τους μορφή, ενώσεις που συμβάλουν θετικά στο αρωματικό προφίλ των οίνων, πράγμα που επιβεβαίωσε και η PCA. Το δείγμα 3 από την στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση σε οξέα, εστέρες και λοιπές ενώσεις. Το δείγμα 6 σύμφωνα με την PCA, είχε θετική συσχέτιση με τις περισσότερες κατηγορίες ενώσεων από τα υπόλοιπα δείγματα, αλλά η υψηλή συγκέντρωση αλδευδών που είχε, πιθανών λειτούργησε ως ανασταλτικός παράγοντας για τον θετικό χαρακτηρισμό του στην οργανοληπτική αξιολόγηση.

Στην οργανοληπτική αξιολόγηση, υψηλότερο μέσο όρο έντασης αρώματος όπως προαναφέρθηκε είχαν οι οίνοι που δέχτηκαν τον διαδοχικό εμβολιασμό (δείγμα 3), ενώ τον χαμηλότερο το εμπορικό δείγμα I (δείγμα 5). Την υψηλότερη βαθμολογία όσον αφορά την διάρκεια αρώματος την είχαν οι οίνοι που εμβολιάστηκαν με OPALE (δείγματα 1 & 2), ενώ την χαμηλότερη αυτοί που εμβολιάστηκαν με την MOSAIC (δείγμα 4) καθώς και ο οίνος που εμβολιάστηκε στην δεξαμενή (δείγμα 2). Σύμφωνα με την PCA που έγινε για την οργανοληπτική αξιολόγηση, μεγαλύτερη συσχέτιση με την ένταση αρώματος έχει το δείγμα 1 και δείγμα 2.

Σύμφωνα με προγενέστερη έρευνα που είχε στόχο την μελέτη του πτητικού δυναμικού των ραγών σταφυλιών της ποικιλίας Νεγκόσκα και χρησιμοποιήθηκαν για τις μικροοινοποιήσεις της παρούσας εργασίας, βρέθηκε ότι η ετεροκυκλική αλδεΐδη φουρφουράλη ανιχνεύτηκε σε υψηλή συγκέντρωση στις ράγες της ποικιλίας. Η ίδια ένωση βρέθηκε σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις και στους οίνους της ποικιλίας. Για τον χαρακτηρισμό της ένωσης ως τυπική για την ποικιλία απαιτείται παραπάνω έρευνα.

Συμπερασματικά, παρατηρήθηκαν διαφορές στο αρωματικό προφίλ μεταξύ των οίνων που προήλθαν από ζυμώσεις με διαφορετικά στελέχη ζυμομυκήτων. Από την αεριοχρωματογραφική ανάλυση, την στατιστική ανάλυση, την PCA και την οργανοληπτική αξιολόγηση, φάνηκε ότι το είδος *Saccharomyces cerevisiae* με την εμπορική ονομασία Lalvin ICV OPALÉ®, να δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα στο πτητικό δυναμικό της ποικιλίας. Παρόλα αυτά ο άμεσος συσχετισμός των διαφορών αυτών με τα διαφορετικά στελέχη ζυμομυκήτων απαιτεί παραπάνω έρευνα.

5. Βιβλιογραφία

- Allen, M.S. Lacey, M.J., Brown, W.V., and Harris, R.L.N., (1991), Contribution of methoxypyrazines to Sauvignon Blanc wine aroma.
- Amparo Querol, Roberto Pérez-Torrado, Javier Alonso-del-Real, Romain Minebois, Jiri Stribny, Bruno M. Oliveira, Eladio Barrio (2018) New Trends in the Uses of Yeasts in Oenology
- Ana Majdak, Stanka Herjavec, Sandi Orli, Sulejman Red'epovi and Nikola Miro (2002) Comparison of Wine Aroma Compounds Produced by *Saccharomyces paradoxus* and *Saccharomyces cerevisiae* Strains
- Ann Vaughan-Martini, Alessandro Martini & Gianluigi Cardinali (1996) Electrophoretic karyotyping as a taxonomic tool in the genus *Saccharomyces*
- Anthony R. Borneman Brian A. Desany David Riches Jason P. Affourtit Angus H. Forgan Isak S. Pretorius Michael Egholm & Paul J. Chambers (2012) The genome sequence of the wine yeast VIN7 reveals an allotriploid hybrid genome with *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces kudriavzevii* origins
- Augustyn, O.P.H. , Rapp, A. , Van Wyk, C.J. , (1982). Some volatile aroma components of *Vitis vinifera* L. Cv. Sauvignon blanc
- Bayonove, C., Cordonnier, R., Dubois, P. , (1975) Etude d'une fraction caractéristique de l'arôme du raisin de la variété Cabernet-Sauvignon; mise en évidence de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine.
- Belda, I., Ruiz, J., Beisert, B., Navascués, E., Marquina, D., Calderón, F., ... & Santos, A. (2017). Influence of *Torulaspora delbrueckii* in varietal thiol (3-SH and 4-MSP) release in wine sequential fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 257, 183-191. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.028>
- Bellon, J. R., Eglinton, J. M., Siebert, T. E., Pollnitz, A. P., Rose, L., de Barros Lopes, M., & Chambers, P. J. (2011). Newly generated interspecific wine yeast hybrids introduce flavour and aroma diversity to wines. *Applied microbiology and biotechnology*, 91(3), 603-612.
- Bely, M., Stoeckle, P., Masneuf-Pomarède, I., & Dubourdieu, D. (2008). Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*-*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation.
- Benito, S. (2018). The impact of *Torulaspora delbrueckii* yeast in winemaking.
- Benkowitz Frank and Nicolau Laura, (2016) Thiols and Beyond, "The Science of Sauvignon Blanc"

- Berry DR. (1995). Alcoholic beverage fermentations. In: Lea AGH, Piggott JR, editors. b
- Bock, G., Benda, I., and Schreier, P. (1988). Microbial transformation of geraniol and nerol by *Botrytis cinerea*.
- Bouloumpasi E., Soufleros E.H., Tsarchopoulos C., and Biliaderis C.G. (2002). Primary amino acid composition and its use in discrimination of Greek red wines with regard to variety and cultivation region.
- Burdock GA (2005) *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*, 5th ed. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Buttery, R.G. , Seifert, R.M. , Lundin, R.E. , Guadagni, O.G. Ling, , L.C. , Chem. Ind. 4 (1969) Characterisation of Some Volatile Constituents of Bell Peppers.
- Capece, A., Romaniello, R., Siesto, G., & Romano, P. (2018). Conventional and nonconventional yeasts in beer production.
- Chatonnet, P., Dubourdieu, D. & Boidron, J.N. (1991). Effects of fermentation and maturation in oak barrels on the composition and quality of white wines.
- Chen, EC-H(1978). The relative importance of Ehrlich and biosynthetic pathways to the fermentation of fusel alcohols,
- Ciani M, Comitini F, Mannazzu I, Domizio P.. (2010) Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non-Saccharomyces yeasts in winemaking
- Ciani, M., & Maccarelli, F. (1997). Oenological properties of non-Saccharomyces yeasts associated with wine-making.
- Clarke R.J., and Bakker J. (2004). «Wine flavour chemistry» Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
- Cletus Kurtzmav, Jack W Fell, Teun Boekhout (2011) The Yeasts: a taxonomic study definition, classification and nomenclature of the yeasts Cletus Kurtzmav, Jack W Fell, Teun Boekhout
- Cliften P, Sudarsanam P, Desikan A, Fulton L, Fulton B, Majors J, Waterston R, Cohen BA, Johnston M (2003) Finding functional features in Saccharomyces genomes by phylogenetic footprinting.
- Council of Europe (2000). *Chemically-defined Flavouring Substances*. Strasbourg, France: Council of Europe Publishing.
- Cristian Varela and Anthony R. Borneman, (2016) Yeasts found in vineyards and wineries
- De Barros Lopes M, Bellon JR, Shirley NJ, Ganter PF (2002) Evidence for multiple interspecific hybridization in *Saccharomyces cerevisiae*.

- Delphine Sicard 1, Jean-Luc Legras, (2011) Bread, beer and wine: yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex
- Dunham, MJ; Louis, ED (2011). ["Yeast evolution and ecology meet genomics"](#).
- Falcao, L.D., Revel, G.D. Perello, M.C., Riquier, L, Rosier, J.P., Uberti, A. A. A. (2008). Volatile profile characterization of young Cabernet-Sauvignon wines from a new grape growing region in Brazil.
- Falcetti, M., and Scienza, . (1992). Utilisation de l'analyse sensorielle comme instrument d'évaluation des choix viticoles. Application pour déterminer les sites aptes a la culture du cepage Chardonnay pour la production de vins mousseux en Trentin.
- Fernandez De Simon, B., Cadahia, E., Hernandez, T. and Estrella, I., (2006). Evolution of oak-related volatile compounds in a Spanish redwine during 2 years bottled, after aging in barrels made of Spanish, French and American oak wood.
- Foroni, F., Vignando, M., Aiello, M., Parma, V., Paoletti, M. G., Squartini, A., & Rumiati, R. I. (2017). The smell of terroir! Olfactory discrimination between wines of different grape variety and different terroir.
- Franc Čuš Mojca Jenko (2013) The Influence of Yeast Strains on the Composition and Sensory Quality of Gewurztraminer Wine
- Franc Čuš, Mojca Jenko (2013) The Influence of Yeast Strains on the Composition and Sensory Quality of Gewurztraminer Wine
- Frangipane, M.T., De Santis, D., and Ceccarelli, A. (2007). Influence of oak woods of different geographical origins on quality of wines aged in barriques and using oak chips. Food Chemistry,
- Gennadi I. Naumov, Elena S. Naumova, Enrique D. Sancho, Matti P. Korhbla (1996) Polymeric SUC genes in natural populations of *Saccharomyces cerevisiae*
- Gennadi Naumov Elena Sergeevna Naumova Elena Sergeevna Naumova Paul D. Sniegowski (1998) w *Saccharomyces paradoxus* and *Saccharomyces cerevisiae* are associated with exudates of North American oaks
- Goffeau A, Barrell BG, Bussey H, Davis RW, Dujon B, Feldmann H, Galibert F, Hoheisel JD, Jacq C, Johnston M, Louis EJ, Mewes HW, Murakami Y, Philippsen P, Tettelin H, Oliver SG (1996) Life with 6000 genes
- González, S. S., Barrio, E., & Querol, A. (2008). Molecular characterization of new natural hybrids of *Saccharomyces cerevisiae* and *S. kudriavzevii* in brewing. Applied and environmental microbiology, 74(8), 2314-2320.

- González, S. S., Barrio, E., Gafner, J., & Querol, A. (2006). Natural hybrids from *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus* and *Saccharomyces kudriavzevii* in wine fermentations. *FEMS Yeast Research*, 6(8), 1221-1234.
- González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2015). Wine aroma compounds in grapes: a critical review
- Grainger K. (2009). *Wine quality: tasting and selection* (Vol. 8). John Wiley & Sons.
- Guinard, J., and Cliff, M. (1987). *Descriptive analysis of Pinot noir wines from Carneros, Napa, and Sonoma*.
- *Handbook of Enology Volume 2, The chemistry of wine stabilization and treatments*, P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdiou, WILEY, 2006
- Haya Alsammar and Daniela Delneri (2020) An update on the diversity, ecology and biogeography of the *Saccharomyces* genus
- Haya Alsammar Daniela Delneri (2020) An update on the diversity, ecology and biogeography of the *Saccharomyces* genus
- Heimann, W., Rapp, A., Volter, J., and Knipser, W. (1983). Beitrag zur Entstehung des Korktons in Wein.
- Hernández-Orte, P., Cacho, J. F., & Ferreira, V. (2002). Relationship between varietal amino acid profile of grapes and wine aromatic composition. Experiments with model solutions and chemometric study. *Journal of agricultural and food chemistry*,
- Hideki Fukuda, Akihiko Kondo ,Sriappareddy Tamalampudi, (2009) *Bioenergy: Sustainable fuels from biomass by yeast and fungal whole-cell biocatalysts*
- Hyma, KE; Jay, JC (2013). ["Mixing of vineyard and oak-tree ecotypes of *Saccharomyces cerevisiae* in North American vineyards"](#).
- J.R.Mosedale J.-L.Puech (2003) *BARRELS | Wines, Spirits, and Other Beverages*
- Jackson R. S. (2008). *Oak and Cooperage*. In: *Wine Science Principles and Applications*.
- Jackson R.S., (2008), *Wine Science: Principles and Applications*, 3rd edition,
- Jackson, R.S.(1994&2000) *Wine Science, Principles, Practice, Perception*, 2nd edition.
- Jean Philippe Kantera Santiago Benitob Silvia Brezinaa Beata Beiserta Stefanie Fritscha Claus-DieterPatzc Doris Rauhuta (2020) *The impact of hybrid yeasts on the aroma profile of cool climate Riesling wines*

- Johnson, LJ; Koufopanou, V; Goddard, MR (2004). ["Population genetics of the wild yeast *Saccharomyces paradoxus*"](#).
- Jolly, N. P., Augustyn, O. P. H. & Pretorius, I. S. 2006. The role and use of non-saccharomyces yeasts in wine production. *South African Journal of Enology & Viticulture*, 27(1):15-39, doi:10.21548/27-1-1475.
- Jolly, N. P., Augustyn, O. P. H., & Pretorius, I. S. (2017). The Role and Use of NonSaccharomyces Yeasts in Wine Production.
- Jolly1 , O.P.H. Augustyn and I.S. Pretorius (2006) The Role and Use of Non-Saccharomyces Yeasts in Wine Production
- Killiam, E and Ough C.S (1979), Fermentation esters- formation and retention as affected by fermentation temperature.
- Kotseridis Y., Baumes Raymond., Skouromounis Georges K., .(1998) "Synthesis of labelled[2 H4]b-damascenone, [2H2]2-methoxy-3-isobutylpyrazine, [2H3]a-ionone, and [2H3]b-ionone, for quantification in grapes, juices and wines
- Kotseridis Y.S , Spink M., Brindle , I.D., Blake A.J., Sears M., Chen , X.Soleasf , G., Inglis D., Pickering G.J. (2008) Quantitative analysis of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in juice and wine using stable isotope labelled internal standard assay
- Leducq, J-B; Charron, G; Samani, P (2014). ["Local climatic adaptation in a widespread microorganism"](#).
- Lee, D., Lloyd, N. D., Pretorius, I. S., & Borneman, A. R. (2016). Heterologous production of raspberry ketone in the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* via pathway engineering and synthetic enzyme fusion. *Microbial Cell Factories*, 15(1), 1-7.
- Lewis J. Michael and Young W.Tom (1998), "BREWING",
- Li, X., Yu, B., Curran, P., & Liu, S. Q. (2011). Chemical and volatile composition of mango wines fermented with different *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 32(1), 117-128.
- Liti, G; Carter, DM; Moses, AM (2009). ["Population genomics of domestic and wild yeasts"](#).
- Lytra G., Tempere S., Gilles de Revel and Jean-Christophe Barbe, (2012) Distribution and Organoleptic Impact of Ethyl 2-Hydroxy-4-methylpentanoate Enantiomers in Wine
- Mager WH, Winderickx J.. (2005) Yeast as a model for medical and medicinal research.

- Marina Bely , Philippe Stoeckle, Isabelle Masneuf-Pomarède, Denis Dubourdiou (2008) Impact of mixed *Torulasporea delbrueckii*-*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation
- Martin,B., Etievant,P. X.,LeQuere, J. L. and Schlich,P. (1992).More clues about sensory impact of Sotolon in some florscherry wines.
- Martineau B. and Herick-King T., (1995) Performance and diacetyl production of commercial strains of malolactic bacteria in wine
- Martini A (1993) Origin and domestication of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae*.
- Martins, V., Teixeira, A., & Gerós, H. (2015). Changes in the volatile composition of wine from grapes treated with Bordeaux mixture: a laboratory-scale study.
- Masneuf I, Hansen J, Groth C, Piškur J, Dubourdiou D (1998) New hybrids between *Saccharomyces sensu stricto* yeast species found among wine and cider production strains.
- Masuda, J., Okawa, E., Nishimura, K., and Yunome, H. (1984). Identification of 4,5- dimethyl-3-hydroxy-2(5H)-furanone (Sotolon) and ethyl 9-hydroxynonanoate in botrytised wine and evaluation of the roles of compounds characteristic of it.
- Matthias Sipiczki (2008) Interspecies hybridization and recombination in *Saccharomyces*
- Maurizio Ciani (1995) Role, enological properties and potential use of non-*Saccharomyces* wine yeasts
- Mendez-Costabel, M. P., Wilkinson, K. L., Bastian, S. E. P., Jordans, C., McCarthy, M., Ford, C. M., & Dokoozlian, N. (2014). Effect of winter rainfall on yield components and fruit green aromas of *Vitis vinifera* L. cv. Merlot in California.
- Michel, M., Meier-Dörnberg, T., Jacob, F., Methner, F. J., Wagner, R. S., & Hutzler, M. (2017). Review: Pure non-*Saccharomyces* starter cultures for beer fermentation with a focus on secondary metabolites and practical applications.
- Moreno Victoria. M. and Carmen M. Arribes Polo,(2009) *Wine Chemistry and Biochemistry*, Springer, 2009.
- Mosedale J.R. & Puech J.L. (2003). *Wines, Spirits, and Other Beverages*, UMR Sciences pour l'oenologie, Montpellier, France.
- N. Jolly, O. Augustyn, I. Pretorius (2017) The role and use of non-*saccharomyces* yeasts in wine production
- Nielsen J.C and Richelieu M., (1999), Control of flavor development in wine during and after MLF.

- Oliveira, C., Silva Ferreira, A. C., Mendes Pinto, M., Hogg, T., Alves, F., & Guedes de Pinho, P. (2003). Carotenoid compounds in grapes and their relationship to plant water status.
- P. X. Etiévant (1996) Artifacts and contaminants in the analysis of food flavor
- Pascal Ribereau-Gayon ´ Denis Dubourdieu Bernard Doneche ` Aline Lonvaud (2003) Handbook of Enology Volume 1 The Microbiology of Wine and Vinifications 2nd Edition
- Pérez-Coella, M.S. and González-Viñas, M.A. (2003) Influence of storage temperature on the volatile compounds of young white wines.
- Peter J, et al. (2018) Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates.
- Picard, M., Van Leeuwen, C., Guyon, F., Gaillard, L., De Revel, G., & Marchand, S. (2017). Vine water deficit impacts aging bouquet in fine red Bordeaux wine.
- Pretorius IS (2000) Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking.
- Rainieri S, Zambonelli C, Kaneko Y (2003) *Saccharomyces sensu stricto*: systematics, genetic diversity and evolution.
- Rainieri, S., & Pretorius, I. S. (2000). Selection and improvement of wine yeasts.
- Rapp ., Güntert M., and lmy J. (1985).Identification and significance of several sulfur-containing compounds in wine.
- Rapp and H. Mandery (1986) Wine aroma
- Rapp, A., and Guntert, M. (1986). Changes in aroma substances during the storage of white wines in bottles. In “The Shelf Life of Foods and Beverages”
- Redzepovic´ S, Orlic´ S, Majdak A, Pretorius IS (2002) Identification and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces paradoxus* strains isolated from Croatian wines.
- Renault, P., Coulon, J., de Revel, G., Barbe, J. C., & Bely, M. (2015). Increase of fruity aroma during mixed *T. delbrueckii*/*S. cerevisiae* wine fermentation is linked to specific esters enhancement. *International Journal of Food Microbiology*, 207, 40-48. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.037>
- Renault, P., Coulon, J., Moine, V., Thibon, C., & Bely, M. (2016). Enhanced 3-sulfanylhexas-1-ol production in sequential mixed fermentation with *Torulaspora delbrueckii*/*Saccharomyces cerevisiae* reveals a situation of synergistic interaction between two industrial strains. *Frontiers in microbiology*, 7, 293. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00293>

- Renault, P., Miot-Sertier, C., Marullo, P., Hernández-Orte, P., Lagarrigue, L., Lonvaud-Funel, A., & Bely, M. (2009). Genetic characterization and phenotypic variability in *Torulaspora delbrueckii* species: Potential applications in the wine industry.
- Ribereau- Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubordieu, D. (2000) Handbook of Enology, Vol. 2 The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments. John Wiley & Sons, Chiches
- Ribereau- Gayon, P.,(1978) Wine flavor. In: Flavour of Foods and Beverages(eds G.Charalambous& G.E. Inglett)
- Rocío Velázquez, Emiliano Zamora, María L. Álvarez, Luis M. Hernández, and Manuel Ramírez, (2015) Effects of new *Torulaspora delbrueckii* killer yeasts on the must fermentation kinetics and aroma compounds of white table wine
- Roujou de Bou e, D., Cumsille, A., Pons, M., Dubourdieu, D., (2002) Location of 2- methoxy-3 isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon grape bunches and its extractability during vinification.
- Sala, C. , Busto, O., Guasch, J. , Zamora, F. (2007) Contents of 3-Alkyl-2-Methoxy pyrazines in Musts and Wines from *Vitis vinifera* Variety Cabernet Sauvignon: Influence of Irrigation and Plantation Density
- Sandra Rainieri , Carlo Zambonelli, Yoshinobu Kaneko (2003) *Saccharomyces sensu stricto*: systematics, genetic diversity and evolution
- Sandra Rainieri Isak S. Pretorius Isak S. Pretorius (2000) Selection and improvement of wine yeast
- Scrimgeour, N., Nordestgaard, S., Lloyd, N. D. R., and Wilkes, E. N. (2015). Exploring the effect of elevated storage temperature on wine composition.
- Simpson, R.F. (1978) Aroma and compositional changes in wine with oxidation, storage and aging.
- Singleton L.V. (1995). Maturation of wines and spirits: Comparisons, Facts and Hypotheses.
- Sniegowski, PD; Dombrowski, PG; Fingerman, E (2002). "[Saccharomyces cerevisiae and Saccharomyces paradoxus coexist in a natural woodland site in North America and display different levels of reproductive isolation from European conspecifics](#)".
- Sonali Phale (2018) Yeast: Characteristics and Economic Significance
- Swiegers J.H., Bartowsky E.J., Henschke P.A., and Pretorius I.S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour.

- [Teresa Garde-Cerdan](#) , [Carmen Ancín-Azpilicueta](#) (2008) Effect of the addition of different quantities of amino acids to nitrogen-deficient must on the formation of esters, alcohols, and acids during wine alcoholic fermentation
- TeresaGarde-CerdánCarmenAncín-Azpilicueta (2008) Effect of the addition of different quantities of amino acids to nitrogen-deficient must on the formation of esters, alcohols, and acids during wine alcoholic fermentation
- TNO (2010). *Volatile Compounds in Food Database*. Release 12.1. Available at: <http://www.vcf-online.nl/VcfHome.cfm>
- Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, Rosen TA, Gilbert H, Skinner K, Raumann BE, Basbaum AI, Julius D. (1998). The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli
- Valmary Michelle Van BredaNeil JollyNeil JollyM. BooyseM. BooyseJessy. Van WykJessy. Van Wyk (2018) *Torulaspora delbrueckii* Yeast Strains for Small-scale Chenin blanc and Pinotage Vinifications
- Varela, C. (2016). The impact of non-Saccharomyces yeasts in the production of alcoholic beverages.
- Vaughan-Martini A, Martini A (1998) *Saccharomyces Meyen ex Rees*. In: Kurtzman CP, Fell JW (ed.) *The yeast, a taxonomic study*, 4th ed
- Williams, A. A., Bains, C. R., and Arnold, G. M. (1982). Towards the objective assessment of sensory quality in less expensive red wines. In “Grape and Wine Centennial Symposium Proceedings” (. D.We , edwine yeasts
- Yehudit Hasin-Brumshtein, Doron Lancet, Tsviya Olender (2009). Human olfaction: from genomic variation to phenotypic diversity
- YehuditHasin-Brumshtein, DoronLancet, TsviyaOlender (2009) Human olfaction: from genomic variation to phenotypic diversity
- Zhang, M., Qu, W., Zhang, H., Han, F., & Duan, C. (2007). Effect of maceration enzymes on the formation of aroma compounds during Cabernet Sauvignon alcohol fermentation.
- Zhu F., Du B., and Li J. (2016). Aroma Compounds in Wine. In *Grape and Wine Biotechnology*
- Zoran Milanović Goran Sporis Nebojša Trajković (2012) Differences in Body Composite and Physical Match Performance in Female Soccer Players According to Team Position
- Βλάχος Μ., (1986). Αμπελογραφία, Υπηρεσία Δημοσιευμάτων Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.
- Γκανάς Β. (2010). Εναλλακτικές μεθοδοι παλαίωσης οίνων. Πτυχιακή διατριβή, Τμήμα Γεωπονίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

- Δήμου Φ. Ε. (2012). Μελέτη των πτητικών συστατικών που συμμετέχουν στο άρωμα των οίνων από τις ερυθρές ποικιλίες Ξινόμαυρο και Μαυροτράγανο. Μεταπτυχιακή μελέτη.
- Κεχαγιά Δέσποινα (2019) Μελέτη των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των λευκών οίνων και αποσταγμάτων αυτών, της ποικιλίας Ασύρτικο Σαντορίνης
- Κοντοκόστας Σ. (2010). Οι επιδράσεις της ζύμωσης και της ωρίμανσης του κρασιού στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Πτυχιακή Διατριβή.
- Κοτσερίδης Γ., Επικ. Καθ., Προξενιά Ν., ΕΕΔΙΠ, ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ Ι, Εργαστηριακές ασκήσεις 2012
- Λιολιούσης Θ. (2007). Εκχύλιση Συστατικών της Γαλλικής Δρυός σε Ερυθρό Οίνο από την ποικιλία Αγιωργήτικο. Μεταπτυχιακή μελέτη. Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών
- Μπότσιου Χαρά-Ναταλία, (2021), Μελέτη της *Torulasporea delbrueckii* στην παραγωγή οίνου και ζύθου
- Μπουκαρά, Ευαγγελία – Ελένη (2018) Μελέτη παραγόντων που επιδρούν στα αρωματικά χαρακτηριστικά του οίνου
- Νεραντζής Η., (2009.) Εισαγωγή στην μικροβιολογία. Πανεπιστημιακές εκδόσεις «ΑΡΑΚΥΝΘΟΣ»
- Νικολάου, Ν. Α., (2001). Θέματα και τεχνικές καλλιέργειας της Αμπέλου, Θεσσαλονίκη
- Νικολάου, Ν. Α., (2005). Γενική Αμπελουργία, Υπηρεσία Δημοσιευμάτων Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.
- Ντουρτόγλου Θάλεια, Αρωματικές ενώσεις οίνου, Σημειώσεις, ΤΕΙ Αθήνας, Τμήμα Οινολογίας και Τεχνολογίας Ποτών
- Οινολογία, Επιστήμη και Τεχνογνωσία, Ε. Σουφλερός, ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ, 2009
- Πάντος, Α. (2000). Νέες τεχνικές στην ερυθρή οινοποίηση. Αμερικάνικη Γεωργική Σχολή, Θεσσαλονίκη.
- Πετροπούλου, Καραγιαννοπούλου Σ. (2016). Σημειώσεις Αμπελουργίας. Καλαμάτα.
- Σουφλερός Ε.(2015) Οινολογία Επιστήμη και τεχνογνωσία, Θεσσαλονίκη
- Σταυρακάκης Μ. (2010). Αμπελογραφία, Αθήνα. Εκδόσεις Τροπή
- Σταύρακας, Δ.Ε., (1998). Μαθήματα γενικής αμπελουργίας, Εκδόσεις Α.Π.Θ.
- Ταβερναράκη, Ν. (2000). Αμπέλι και οίνος. Αμερικάνικη Γεωργική Σχολή, Θεσσαλονίκη.

- Τεχνικές κατεργασίας βιολογικών δειγμάτων. Θεοδορίδης Γεώργιος, Γηρούση Στέλλα, Ζαχαριάδης Γεώργιος, Ζώτου Αναστασία Στέλλα, Σαμανίδου Βικτωρία, 2015
- Τζιτζη Μαρία, Πάρις Κυπαρισσίου (2010), Στοιχεία οινολογίας η τέχνη του οινοχόου, β' έκδοση
- Τσακίρης Αργύρης, Οινολογία από το σταφύλι στο κρασί (2008), Εκδόσεις Ψύχαλος.
- Τσιανόπουλος Γρηγόριος, (2016) Ανάλυση παραλλακτικότητας φυσιολογικών χαρακτηριστικών αμπελιού με την βοήθεια της γεωργίας ακριβείας