



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

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
Ι) ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑ ΙΙ) ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

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



Αικατερίνη Γ. Νικολάου

Επιβλέπων Καθηγητής:
Σεραφείμ Παπανικολάου, Καθηγητής ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2023

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

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

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

Αικατερίνη Γ. Νικολάου

Εξεταστική Επιτροπή:

Σεραφείμ Παπανικολάου, Καθηγητής ΓΠΑ (Επιβλέπων)

Σταματίνα Καλλίθρακα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Μαρία Μετάφα, Ερευνήτρια ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ

Μελέτη αλκοολικής ζύμωσης και ποιοτικών χαρακτηριστικών οίνων που παράχθησαν με τη χρήση επιλεγμένων στελεχών ζυμομυκήτων

ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων Ι) Γαλακτοκομία ΙΙ) Οινολογία
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Οινολογίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η οινοποίηση είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις μεταξύ μικροοργανισμών σε γλεύκος σταφυλιών με αποτέλεσμα την παραγωγή οίνου. Αυτή η αλληλεπίδραση είναι που σηματοδοτεί τον ιδιόμορφο χαρακτήρα στο κάθε προϊόν. Το ενδιαφέρον του οίνου και η εμπορική του εξέλιξη ήταν η αφορμή για περαιτέρω μελέτες ως προς την παραγωγή με γνώμονα την υψηλή του απόδοση.

Η χρήση γηγενών στελεχών που αποτυπώνουν το χαρακτήρα του *terroir* είναι η αφορμή για δοκιμή νέων τεχνικών οινοποίησης με διαφορετικά στελέχη από τα καθιερωμένα. Η μικροβιακή χλωρίδα του αμπελώνα αλλά και του οινοποιείου αποτελεί πλέον πρόκληση στην εξέλιξη της ποιότητας. Στην παρούσα μελέτη διεξάγεται η παρακολούθηση της κινητικής της ζύμωσης τεσσάρων ζυμομυκήτων του είδους *Saccharomyces cerevisiae*, και ειδικώς των άγριων στελεχών *Merlot*, *Sc24*, *Rhone* και *Mac2* σε αρχικό γλεύκος μάρτυρα Ασύρτικου για τη διεκπεραίωση της τελικής τους ποιότητας. Τα στελέχη που χρησιμοποιούνται είναι απομονωμένα από την συλλογή του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και του αμπελώνα της Σαντορίνης. Η οινοποίηση λαμβάνει χώρα στις εγκαταστάσεις του Santo Wines στην Σαντορίνη με γλεύκος προερχόμενο από αμπελώνες της περιοχής. Τελούνται τέσσερις οινοποιήσεις σε διεργασία πιλοτικής κλίμακας με ίδιο πρωτόκολλο οινοποίησης προς παραγωγή τεσσάρων λευκών ξηρών οίνων Ασύρτικου. Η έρευνα ενσωματώνει φυσικοχημικές αναλύσεις που υλοποιούνται με κλασσικές και σύγχρονες αναλυτικές μεθόδους. Στη συνέχεια διοργανώνονται γευσσιγνωστικά πάνελ για την σφαιρική αντίληψη του οργανοληπτικού χαρακτήρα σε συνοχή με τις εργαστηριακές αναλύσεις.

Η συγκεκριμένη μελέτη, που περιλαμβάνει γλεύκος Ασύρτικου και εμβολιασμό με αυτά τα είδη ζυμών, διεξάγεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα και αποκαλύπτει ποικίλες διαφορές αλλά και ομοιότητες τόσο στον έλεγχο της ζύμωσης όσο και στο αποτέλεσμα του τελικού προϊόντος. Τα δεδομένα προσδίδουν θετικές επιδράσεις κυρίως στο οργανοληπτικό κομμάτι και αναδεικνύουν τη δυναμική ενός στελέχους.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: οίνος, Ασύρτικο, γηγενή στελέχη, ζύμωση, πτητικές ενώσεις, οργανοληπτικός έλεγχος, τιμή δραστηριότητας οσμής, χαρακτήρας, σάκχαρα, αιθανόλη

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

MSc Current Food Technology I) Dairy Science II) Oenology

Department of Food Science & Human Nutrition

Laboratory of Oenology

ABSTRACT

Winemaking is a complex process involving interactions between microorganisms in grape must that result in wine production. This interaction signals the idiosyncratic character in each product. The interest in wine and its commercial development was the reason for further studies in terms of production with high output.

The use of indigenous strains that capture the character of the terroir is the reason for testing new winemaking techniques with strains different from the established ones. The microbial flora of the vineyard as well as the winery is now a challenge in the evolution of quality. The present study is conducted the monitoring of the fermentation kinetic of four new isolates of the species *Saccharomyces cerevisiae*, and specifically the strains *Merlot*, *Sc24*, *Rhone* and *Mac2* in primary must Assyrtiko's control for processing their final quality. The strains used are isolated from the collection of the Food Microbiology and Biotechnology Laboratory of the Agricultural University of Athens and Santorini's vineyard. Vinification takes place in Santo Wines facilities in Santorini with must from local vineyards. Four vinification in semi-pilot scale are carried out with the same vinification protocol to produce four white dry wines of Assyrtiko. The research incorporates physicochemical analyzes implemented with classical and modern analytical methods. The research incorporates physicochemical analyzes carried out with both classical and modern analytical methods. Then, tasting panels are organized for the global perception of the organoleptic character in harmony with the laboratory analyses.

The specific study, which includes Assyrtiko's must and inoculation with these types of yeasts, is being conducted for the first time in Greece and reveals various differences but also similarities both in the control of fermentation and in the result of the final product. The data give positive effects mainly in the organoleptic part and highlight the dynamics of a strain.

Scientific area: Oenology

Keywords: wine, Assyrtiko, indigenous strains, fermentation, volatile compounds, sensory profile, odor activity value, character, sugars, ethanol

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά:

- Τον επιβλέποντα Καθηγητή μου κ. Σεραφείμ Παπανικολάου, Καθηγητή στο Τμήμα Επιστήμης και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και την κ. Σταματίνα Καλλίθρακα, Καθηγήτρια Οινολογίας στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση στο ερευνητικό κομμάτι της παρούσας μελέτης αλλά και την αφιέρωση χρόνου προς διόρθωσή της.
- Την κ. Μαρία Μετάφα, ερευνήτρια Γ' στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων του ΕΛΓΟ – ΔΗΜΗΤΡΑ, για την στήριξη, τις πολύτιμες υποδείξεις της στις εργαστηριακές αναλύσεις και τη συμμετοχή της στην τριμελή επιτροπή.
- Την κ. Ουρανία Καλαντζή, μέλος ΕΔΠ στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων, για όλη την καθοδήγηση και συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια της διατριβής.
- Την Στεφανία Χριστοφή, υποψήφια διδάκτωρ, για την συμβολή της στη διεξαγωγή του οργανοληπτικού ελέγχου.
- Την κ. Νίκη Προξενιά, μέλος ΕΔΠ βαθμίδας Α του εργαστηρίου Οινολογίας και Αλκοολούχων Ποτών του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του ΓΠΑ, για την ενθάρρυνση και επιμόρφωση καθ' όλη τη διάρκεια σπουδών, καθώς και το σύνολο των καθηγητών μου στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών Οινολογίας για την συνεχή ανατροφοδότησή τους.
- Τους φίλους και συμφοιτητές που μου συμπαρυστάθηκαν κατά τη διάρκεια της μεταπτυχιακής διατριβής.
- Τους γονείς μου Γιώργο και Έλλη και την αδερφή μου Σοφία για τη συνεχή αγάπη, την εμπιστοσύνη τους, την ηθική αλλά και οικονομική συμπαράσταση στο δημιουργικό φοιτητικό κύκλο που ολοκληρώθηκε.

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	I
ABSTRACT	II
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	III
ΛΙΣΤΑ ΕΙΚΟΝΩΝ	VI
ΛΙΣΤΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	VI
Κεφάλαιο 1.Εισαγωγή.....	- 1 -
1.1 <i>Vitis Vinifera L.</i>	- 1 -
1.2 Ασύρτικο	- 3 -
1.3 Αμπελώνας και οίνος Σαντορίνης	- 4 -
1.4 Λευκή οινοποίηση	- 5 -
1.4.1 Στάδια οινοποίησης	- 6 -
1.4.2 Χαρακτηριστικά λευκού οίνου	- 8 -
1.4.3 Ποικιλομορφία και στυλ λευκών οίνων	- 8 -
1.5 Αλκοολική ζύμωση	- 10 -
1.6 Ζύμες	- 13 -
1.6.1 Μηχανισμοί όπου οι ζύμες επιδρούν στο οργανοληπτικό προφίλ του οίνου - 16 -	
1.6.2 Αυτόχθονες ζύμες.....	- 18 -
1.6.3 Εμπορικά στελέχη ζυμομυκήτων	- 19 -
1.7 Πτητικές ενώσεις – άρωμα.....	- 20 -
1.7.1 Πρωτογενές άρωμα	- 21 -
1.7.2 Δευτερογενές άρωμα	- 23 -
1.8 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography - HPLC)	- 27 -
1.9 Εκχύλιση υγρού – υγρού (Liquid – liquid Extraction, LLE) – Αέρια Χρωματογραφία συνδυασμένη με Φασματομετρία Μαζών (Gas Chromatography – Mass Spectrometry, GC-MS).....	- 28 -
1.10 Οργανοληπτικός έλεγχος.....	- 30 -
1.11 Σκοπός μεταπτυχιακής μελέτης.....	- 32 -
Κεφάλαιο 2. Υλικά και Μέθοδοι.....	- 32 -
2.1 Οινοποίηση με γηγενείς ζύμες.....	- 32 -
2.2 Προσδιορισμός σακχάρων και δευτερογενών μεταβολιτών της ζύμωσης με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (HPLC)	- 33 -
2.3 Ανάλυση πτητικών συστατικών με Αέρια Χρωματογραφία συνδυασμένη με Φασματομετρία Μαζών (GC-MS)	- 36 -

2.4 Οργανοληπτικός έλεγχος οίνων	- 41 -
2.5 Στατιστική ανάλυση	- 42 -
Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα – Συζήτηση	- 43 -
3.1 Κινητικές αλκοολικής ζύμωσης	- 43 -
3.2 Πτητικά συστατικά του αρώματος	- 48 -
3.2.1 Αλκοόλες	- 49 -
3.2.2 Εστέρες	- 52 -
3.2.3 Οξέα	- 54 -
3.3 Οργανοληπτικός έλεγχος τεσσάρων οίνων	- 57 -
3.4 Odor Activity Value (OAV)	- 59 -
Κεφάλαιο 4. Συμπεράσματα	- 61 -
Βιβλιογραφία	- 63 -
Ξενόγλωσση βιβλιογραφία	- 63 -
Ελληνική βιβλιογραφία	- 66 -
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι	- 69 -
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ	- 72 -

ΛΙΣΤΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

- Εικόνα 1.1:** Στάδια αλκοολικής ζύμωσης σελ.10
- Εικόνα 2.2:** Προετοιμασία κινητής φάσης (10 mM H₂SO₄) σελ.34
- Εικόνα 2.3:** Προετοιμασία δειγμάτων για HPLC σελ.34
- Εικόνα 2.4:** Φυγοκέντρηση δειγμάτων σελ.35
- Εικόνα 2.5:** Φιλτράρισμα δειγμάτων σελ.36
- Εικόνα 2.6:** Έτοιμο δείγμα για HPLC σελ.36
- Εικόνα 2.7:** Φιλτράρισμα οίνων σελ.37
- Εικόνα 2.8:** Οίνος με πρότυπο διάλυμα σελ. 38
- Εικόνα 2.9:** Ανάδευση σε παγόλουτρο σελ.39
- Εικόνα 2.10:** Δείγματα ύστερα από φυγοκέντρηση σελ.39
- Εικόνα 2.11:** Διαχωρισμός φάσεων σε χοάνη σελ.40
- Εικόνα 2.12:** Εξάτμιση υγρασίας σελ.40
- Εικόνα 2.13:** Ερωτηματολόγιο Οργανοληπτικού ελέγχου σελ.42

ΛΙΣΤΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

- Σχήμα 3.1:** Κινητική ζύμωσης γλεύκους Ασύρτικου με τη χρήση ζύμης *Mac2* σελ.44
- Σχήμα 3.2:** Κινητική ζύμωσης γλεύκους Ασύρτικου με τη χρήση ζύμης *Sc24* σελ.45
- Σχήμα 3.3:** Κινητική ζύμωσης γλεύκους Ασύρτικου με τη χρήση ζύμης *Merlot* σελ.46
- Σχήμα 3.4:** Κινητική ζύμωσης γλεύκους Ασύρτικου με τη χρήση ζύμης *Rhone* σελ.50
- Σχήμα 3.5:** Συνολική περιεκτικότητα αλκοολών σελ.50
- Σχήμα 4.6:** Συγκέντρωση αλκοολών (1) ύστερα από τη ζύμωση του κάθε στελέχους σελ.50
- Σχήμα 3.7:** Συγκέντρωση αλκοολών (2) ύστερα από τη ζύμωση του κάθε στελέχους σελ.51
- Σχήμα 3.8:** Συνολική περιεκτικότητα εστέρων σελ.52
- Σχήμα 3.9:** Συγκέντρωση εστέρων ύστερα από τη ζύμωση του κάθε στελέχους σελ.53
- Σχήμα 3.10:** Συνολική περιεκτικότητα οξέων σελ.55
- Σχήμα 3.11:** Συγκέντρωση οξέων ύστερα από τη ζύμωση του κάθε στελέχους σελ.56
- Σχήμα 3.12:** Οργανοληπτικός έλεγχος των τεσσάρων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικου σελ.57
- Σχήμα 3.13:** OAV πτητικών ενώσεων σε τέσσερις οίνους Ασύρτικου σελ.59

ΛΙΣΤΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 3.1: Συνολικές τιμές αναλύσεων των οίνων στο τέλος της ζύμωσης σελ.48

Πίνακας 2. Αλκοόλες $MO \pm$ Τυπικό σφάλμα σελ.69

Πίνακας 3. Εστέρες $MO \pm$ Τυπικό σφάλμα σελ.70

Πίνακας 4. Οξέα $MO \pm$ Τυπικό σφάλμα σελ.71

Πίνακας 5. Απόχρωση οίνου σελ.72

Πίνακας 6. Οπτική ένταση οίνου σελ.72

Πίνακας 7. Ανθικά αρώματα οίνου σελ.72

Πίνακας 8. Φρουτώδη αρώματα οίνου σελ.72

Πίνακας 9. Οξειδωση οίνου σελ.73

Πίνακας 10. Οξύτητα οίνου σελ.73

Πίνακας 11. Γλυκύτητα οίνου σελ.73

Πίνακας 12. Λιπαρότητα-σώμα οίνου σελ.73

Πίνακας 13. Γενική εκτίμηση οίνου σελ.73

Κεφάλαιο 1.Εισαγωγή

1.1 *Vitis Vinifera L.*

Η άμπελος αποτελεί ένα αγγειόσπερμο φυτό που ανήκει στην τάξη *Ramnales*, οικογένεια *Viticeae*, γένος *Vitis*, υπογένη *Euvitis & Muscadinia* και είδος *Vitis Vinifera*. Το ευρωπαϊκό αμπέλι *Vitis Vinifera*, που καλλιεργείται και στην Ελλάδα, κατάγεται από την περιοχή μεταξύ Κασπίας και Μαύρης θάλασσας για τον καρπό του, που χρησιμοποιείται είτε ως επιτραπέζιος, είτε για παραγωγή κρασιού μετά από ζύμωση, είτε για παραγωγή σταφίδας (Γκακνή and Ζαρμπούτης, 2009). Είναι ένα θαμνώδες και αναρριχώμενο πολυετές φυτό με ετήσιο κύκλο και άνθη οργανωμένα σε ταξιανθία σύνθετου βότρυ (Κουνδουράς, 2022). Από την αρχαιότητα μέχρι και σήμερα η άμπελος αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα καλλιεργούμενα φυτά. Η οινοφόρος άμπελος (*Vitis Vinifera L.*) είναι το μοναδικό ευρωπαϊκό είδος του γένους *Vitis*. Αυτό το είδος εμφανίστηκε στα τέλη της τριτογενούς γεωλογικής περιόδου σύμφωνα με τα απολιθώματα που βρέθηκαν σε περιοχές της Ανατολικής Μεσογείου, της Δυτικής Ασίας και Ευρώπης. Όσον αφορά την Ελλάδα λέγεται ότι η καλλιέργεια του φυτού της αμπέλου προήλθε από τους Αιγύπτιους στη Μινωική Κρήτη το 3000 π.Χ., ενώ μια επιπλέον μαρτυρία αναφέρει ότι μεταφέρθηκε στην Κρήτη από τους Φοίνικες ή άλλους λαούς της Ανατολής (Σταυρακάκης, 2013). Σήμερα η καλλιέργεια της αμπέλου εκτείνεται σε όλες τις ηπείρους με συνολική έκταση 74.279.830 στρ., ενώ η έκταση που καταλαμβάνει στον ελλαδικό χώρο είναι 1.105,732 στρ. (OIV, 2017).

Η άμπελος είναι ένα φυλλοβόλο φυτό και αποτελείται από δύο τμήματα το υπόγειο και το υπέργειο. Στο υπόγειο ανήκει η ρίζα ενώ στο υπέργειο τα φύλλα, οι κληματίδες, ο κορμός, οι βραχίονες, οι οφθαλμοί, ταξιανθίες-σταφυλές και έλικες. Η ρίζα μπορεί να χαρακτηριστεί πασσαλώδης (από γίγαρτο) ή θυσσανωτή (από μόσχευμα) και ο ρόλος της είναι η στήριξη, η αποθήκευση υδατανθράκων, η πρόσληψη νερού και θρεπτικών και η βιοσύνθεση ορμονών. Ο κορμός και οι βραχίονες είναι πολυετείς βλαστοί ενώ οι κληματίδες ετήσιοι. Ο ρόλος των βλαστών είναι η στήριξη, η αποθήκευση υδατανθράκων και η μεταφορά ανοδικού και καθοδικού ρεύματος, ενώ τα φύλλα είναι υπεύθυνα για την αναπνοή, τη διαπνοή και φωτοσύνθεση (Κουνδουράς, 2022).

Η ράγα αποτελείται από το φλοιό (10-20%), την σάρκα (74-87%) και τα γίγαρτα (3-6%). Ο φλοιός είναι εκείνος που χαρακτηρίζει σε κάποιο βαθμό την ποιότητα του εκάστοτε οίνου λόγω των πρόδρομων αρωματικών ενώσεων και των πολυφαινολών

(π.χ. οι ανθοκυάνες που προσδίδουν το ερυθρό χρώμα στον οίνο) . Η χημική σύσταση του φλοιού είναι νερό 75-80%, ανόργανες ενώσεις 1,5-2%, όξινα συστατικά 1-1,5%, τανίνες 1-2%, αζωτούχες ενώσεις 1,5-2% και διάφορες ουσίες 10-15%. Τα μέρη του φλοιού είναι από εξωτερικά προς το εσωτερικό η εφυμενίδα (κηρώδης ανθηρότητα), η επιδερμίδα (1 στοιβάδα κυττάρων) και το υπόδερμα (6-10 στοιβάδες). Το κηρώδες επικάλυμμα της εφυμενίδας έχει προστατευτικό ρόλο διότι παρεμποδίζει την εξάτμιση του χυμού, απομακρύνει τη βροχή αποτρέποντας τις μυκητολογικές προσβολές, ενώ συγκρατεί και τους ζυμομύκητες. Επίσης, περιέχει τις θρεπτικές ουσίες που χρειάζονται (Τσακίρης, 1994). Ο κήρος αποτελείται από 70% ολεανολικό οξύ, 30% από διάφορες ενώσεις (αλκοόλες, εστέρες, οξέα, αλδεΐδες) και επικάθεται πάνω στη χυτίνη. Στην επιδερμίδα περιέχονται οι αρωματικές και πρόδρομες αρωματικές ενώσεις, ενώ στο υπόδερμα συγκεντρώνονται στις πρώτες 2-3 στοιβάδες οι φλαβονόλες, οι ανθοκυάνες, οι αδιάλυτες πηκτίνες, οι τανίνες, η κυτταρίνη και πρωτεΐνες. Σε ορισμένες ποικιλίες (βαφικές) οι ανθοκυάνες μπορεί να περιέχονται και στην σάρκα (Κουνδουράς, 2022).

Η σάρκα αποτελείται από 25-30 στρώσεις από μεγάλα κύτταρα με λεπτά τοιχώματα και μεγάλα χυμοτόπια όπου περιέχεται το γλεύκος. Η αύξηση του μεγέθους της ράγας οφείλεται στην αύξηση του όγκου της κατά την πλήρη ωρίμανση. Η χημική σύσταση της σάρκας συνίσταται από 65-80% νερό, 10-30% σάκχαρα, οργανικά οξέα, ανόργανα άλατα, αζωτούχες ενώσεις, τανίνες, πηκτινικές και αρωματικές ουσίες. Τα σημαντικότερα σάκχαρα της είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη και τα σημαντικότερα οξέα είναι το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό. Μπορεί επίσης να ενυπάρχει και το οξαλικό, ασκορβικό, γαλακτουρονικό και γλυκουρονικό οξύ (Κουράκου, 1998).

Τα γίγαρτα είναι τα αναπαραγωγικά όργανα της αμπέλου. Αποτελούνται από το έμβρυο, την αμβουμίνη (θρεπτικός ιστός) και 3 καλύμματα: το εξωτερικό που είναι πλούσιο σε τανίνες και καθίσταται σημαντικό για την οινοποίηση, το μεσαίο που είναι σκληρό και πλούσιο σε τανίνες και το εσωτερικό που είναι μαλακό (Κουράκου, 1998). Τα γίγαρτα ανά ράγα φτάνουν στο μέγιστο μέγεθος κατά τον περκασμό (Κουνδουράς, 2022). Συνήθως η κάθε ράγα απαρτίζεται από 1-3 γίγαρτα, ενώ υπάρχουν και ράγες όπου απουσιάζουν τα γίγαρτα, όπως η Κορινθιακή σταφίδα και η Σουλτανίνα (Σταυρακάκης Μ., 2013). Η χημική σύσταση των γιγάρτων είναι νερό 25-45%, ελαιώδεις ουσίες (13-20%), σάκχαρα-πολυσακχαρίτες 34-36%, λιπαρά οξέα 1%, τανίνες 4-6%, ανόργανα συστατικά 2-4% και αζωτούχα συστατικά 4-6,5% (Τσακίρης, 1994).

1.2 Ασύρτικο

Το Ασύρτικο κατάγεται από την Σαντορίνη και αποτελεί μια όψιμη ποικιλία. Είναι μια λευκή οινοποιήσιμη ποικιλία από τις σπουδαιότερες στη Λεκάνη της Μεσογείου. Έχει μέτρια ως υψηλή τυπικότητα και η επιφάνεια καλλιεργήσιμης γης στην Ελλάδα καλύπτεται από περίπου 20.000 στρ. ενώ μόνο η Σαντορίνη καλύπτεται στο 80% της (Σταύρακας, 2011). Η ποικιλία αυτή παράγει ποικίλους τύπους οίνων, από ξηρά έως γλυκά και αφρώδη. Σήμερα στην Ευρώπη εντοπίζεται μόνο ένας εγγεγραμμένος κλώνος ο 1281 (Τσιλιανός, 2022).

Το Ασύρτικο αποτελεί μια ποικιλία με τεράστια γενετική παραλλακτικότητα τόσο στο μέγεθος του σταφυλιού και ράγας, όσο και στη γονιμότητα, την οξύτητα, το πάχος του φλοιού και το αρωματικό προφίλ. Η σταφυλή μπορεί να είναι μέτρια ως μεγάλη, κυλινδρική ή κωνική, απλή, πυκνή, με ράγες ίσου μεγέθους. Ο φλοιός του είναι κιτρινωπός, με χρυσές αποχρώσεις, διάφανος, με μέτριο πάχος που καλύπτεται από ένα λεπτό στρώμα κέρινης ανθηρότητας. Η σάρκα έχει μέτρια ποσότητα χυμού, ο οποίος χαρακτηρίζεται από υπόξινη γεύση. Επίσης, οι οφθαλμοί της βάσης της κληματίδας δεν είναι γόνιμοι. (Σταυρακάκης, 2010).

Είναι μια ποικιλία που προσδίδει υψηλές οξύτητες και χαμηλά pH σε δυσχερή περιβάλλοντα. Κατέχει μεγάλη προσαρμοστικότητα σε ποικίλες τοποθεσίες, χωρίς να έχει μεγάλη ευαισθησία σε ασθένειες, πέρα από την ευδεμίδα και το τζιτζικάκι. Επίσης, χαρακτηρίζεται από μεγάλη ανθεκτικότητα στον καύσωνα. Γενικά έχει μέτρια έως μικρή ευρωστία και όψιμη έκπτυξη οφθαλμών, κάτι που του επιτρέπει να καλλιεργηθεί σε ποικιλίες που αντιμετωπίζουν προβλήματα με παγετούς, ενώ δίνει και πολύ καλά προϊόντα σε υψηλές παραγωγές. Συνίσταται να καλλιεργείται, σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία, στα αμπελουργικά διαμερίσματα της Στερεάς Ελλάδας, της Πελοποννήσου, Μακεδονίας, Θράκης, των Κυκλάδων, Δωδεκανήσων, στη Λέσβο, Χίο και Ικαρία (Νικολάου, 2012). Θεωρείται η πρώτη ελληνική ποικιλία που θα γίνει σύντομα διεθνής σε Γαλλία, Ιταλία, Ισπανία, Λίβανο, Ισραήλ, Η.Π.Α., Αυστραλία, Ν. Αφρική, Βουλγαρία κ.α. (Μπακασιέτας, 2022).

Όσον αφορά το γλεύκος, κατά την πλήρη ωρίμανση, παρατηρείται υψηλή περιεκτικότητα σακχάρων (250-260 g/L), υψηλή ολική οξύτητα (7-9,5 g τρυγικού οξέος /L) και το pH κυμαίνεται από 3,1 έως 3,3. Η συγκέντρωση τανινών είναι υψηλή για λευκή ποικιλία, ενώ χρήζει προσοχής η οινοποίηση της για την αποτροπή οξειδώσεων λόγω των ευοξειδωτών ουσιών που συμπεριλαμβάνει (Σταυρακάκης, 2010).

Οι υψηλής ποιότητας οίνοι έχουν υψηλό αλκοολικό τίτλο (12,8-14% vol), υψηλή ολική οξύτητα (6,4 g τρυγικού οξέος /L) και pH 2,9-3,1. Το Ασύρτικο μπορεί να οινοποιηθεί μαζί με το Αηδάνι, Ροδίτη, Αθήρι, τη Μονεμβασιά και Κυδωνίτσα δίνοντας οίνους Ονομασίας Προελεύσεως Ανωτέρας Ποιότητας (ΟΠΑΠ) και Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ). Τέλος, είναι γνωστό για τον γλυκό οίνο Vinsanto που προέρχεται από την οινοποίηση λιαστών σταφυλιών (Σταύρακας, 2011).

Η γηγενής ποικιλία Ασύρτικο Σαντορίνης είναι από τις σημαντικότερες ελληνικές λευκές ποικιλίες. Η προσαρμοστικότητα του αμπελιού και οι δυνατότητες του οίνου μετέδωσαν την καλλιέργειά του και σε άλλες γεωγραφικές περιοχές εντός και εκτός συνόρων. Το μεγάλο αυτό ενδιαφέρον αποτέλεσε το κίνητρο για περαιτέρω μελέτη της οινοποίησης αυτής της ποικιλίας από διάφορους ερευνητές κατά καιρούς (Τσιλιανός, 2022).

1.3 Αμπελώνας και οίνος Σαντορίνης

Η Σαντορίνη είναι ένα ηφαιστειογενές νησί της Ελλάδας που φημίζεται για την κατακλυσμική έκρηξη του Πλίνιου την Ύστερη Εποχή του Χαλκού (Μινωική) που κατέστρεψε το μινωικό πολιτισμό. Το έδαφος του νησιού είναι λοιπόν ηφαιστειογενές, κάτι που απάλλαξε τα αμπέλια από τη φυλλοξήρα, αμμώδες και καλύπτεται με λάβα και ελαφρόπετρα (Karatson et al., 2020). Έχει μεσογειακό κλίμα με ήπιους χειμώνες και ζεστά, ξηρά καλοκαίρια με ελάχιστες βροχοπτώσεις. Οι άνεμοι είναι ενεργητικοί και μπορούν να βοηθήσουν το αμπέλι να ανταπεξέλθει στις υψηλές θερμοκρασίες του καλοκαιριού. Το ειδικό λοιπόν *terroir* δημιουργεί ένα ξεχωριστό οικοσύστημα που δίνει χαρακτήρα στους παραγόμενους οίνους από αμπέλια της Σαντορίνης (ΥΠΑΑΤ, 2007).

Σε ξηροθερμικές περιοχές όπως η Σαντορίνη είναι κατάλληλα τα μικρά σχήματα διαμόρφωσης της αμπέλου π.χ. κύπελλα, με μικρή διαφυλλική επιφάνεια για μείωση διαπνοής, αλλά και αραιοφυτεμένα για να μην έχουν μεγάλες συνθετικές απαιτήσεις. Εξαιτίας των δυνατών ανέμων και των άνυδρων και άγονων ηφαιστειακών εδαφών, η Σαντορίνη εφαρμόζει έναν δικό της τρόπο διαμόρφωσης των αμπελιών (Κουνδουράς, 2022). Τα αμπέλια ακουμπούν κοντά στο έδαφος και κλαδεύονται σε μια ειδική μορφή κυπέλλου το λεγόμενο «καλάθι». Τα σταφύλια είναι κρυμμένα στο εσωτερικό και σκεπασμένα από το φύλλωμα για να προστατεύονται από τον ισχυρό άνεμο, τα εγκαύματα και την ξηρασία (Πετροπούλου, 2016).

Ο αμπελώνας της Σαντορίνης είναι από τους παλαιότερους στον κόσμο εδώ και 3.500 χρόνια. Από το 19^ο αιώνα οι οίνοι της Σαντορίνης ήταν περιζήτητοι στο εξωτερικό, λόγω των οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών που οφείλονται στο ειδικό αυτό οικοσύστημα του νησιού. Ο υψηλός αλκοολικός τίτλων των οίνων της Σαντορίνης χρησιμοποιούταν για την ενίσχυση χαμηλόβαθμων οίνων άλλων περιοχών. Πέρα λοιπόν από την ιστορική διάσταση του αμπελώνα οι υψηλής ποιότητας οίνοι είναι αυτοί που ξεχωρίζουν, οι οποίοι ύστερα από παλαίωση εκφράζουν την ιδιαιτερότητα της γης αυτής με το μοναδικό terroir (ΥΠΑΑΤ, 2007).

Όπως ειπώθηκε παραπάνω, το 80% των αμπελώνων της Σαντορίνης καλύπτεται από Ασύρτικο, ενώ υπάρχουν και άλλες δύο γηγενείς λευκές ποικιλίες που είναι το Αθήρι και το Αηδάνι. Τέλος, το Vin Santo ο τυπικός αυτός επιδόρπιος οίνος παράγεται στην Τοσκάνη αλλά και σε άλλες περιοχές της βόρειας Ιταλίας (Domizio and Lencioni, 2011). Το Vinsanto της Σαντορίνης παρασκευάζεται από λευκές ποικιλίες. Είναι ένα χαρμάνι όπου πλειονότητα έχει το Ασύρτικο, ενώ αναμιγνύεται το Αηδάνι για ενίσχυση αρώματος (ΥΠΑΑΤ, 2007). Συνοπτικά πραγματοποιείται η συλλογή σταφυλιών αρχές Αυγούστου και αφήνονται στον ήλιο να στεγνώσουν για 8-10 ημέρες. Στη συνέχεια θρυμματίζονται και αφήνονται να ζυμωθούν. Τέλος, το πραγματοποιείται ωρίμανση σε δρύινα βαρέλια. Το τελικό προϊόν έχει χάλκινο έως χρυσοκαστανό χρώμα με αρώματα σταφίδας, μελιού και μπαχαρικών σε μια πλούσια, βελούδινη υφή που εξισορροπεί την οξύτητα. Το σύνολο αυτό καθιστά το μπουκέτο και τη γεύση ιδιαίτερα χαρακτηριστικά (Domizio and Lencioni, 2011).

1.4 Λευκή οινοποίηση

Αν και οι ερυθροί οίνοι λαμβάνονται από την αλκοολική ζύμωση του γλεύους και του στερεού μέρους της σταφυλής, οι λευκοί παράγονται αποκλειστικά με τη ζύμωση των χυμών του σταφυλιού (Κοτσερίδης, 2022). Για τον οίνο έχουν δοθεί διάφοροι ορισμοί κατά καιρούς. Ωστόσο, ο επίσημος ορισμός σύμφωνα με την ευρωπαϊκή νομοθεσία και τον εν ισχύ Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 491/2009 είναι ο εξής: *«Οίνος είναι το προϊόν που παράγεται αποκλειστικά με πλήρη ή μερική αλκοολική ζύμωση νεπών σταφυλιών, είτε αυτά έχουν υποστεί έκθλιψη είτε όχι, ή γλεύκους σταφυλιών.»* Τα κύρια συστατικά των οίνων είναι νερό (85-93%), αιθανόλη (7-15 % vol), σάκχαρα (0-100g/L ανάλογα τον τύπο), οργανικά οξέα (0,1-5 g/L), γλυκερόλη (1-15 g/L), συστατικά αρώματος (1-2 g/L), αζωτούχες ενώσεις (0,05-0,9g/L), φαινολικά συστατικά (0,05-1,3

g/L για λευκούς), μέταλλα (1,3-4,4 g/L), ιχνοστοιχεία (0,1-20 mg/L), βιταμίνες (250-500 mg/L), πρόσθετα όπως διοξείδιο του θείου (50-300 mg/L) (Ταραντίλης, 2021).

Κατά την παραγωγή λευκών οίνων, η εκχύλιση χυμού και οι ποικίλοι βαθμοί διαύγασης προηγούνται της ζύμωσης. Δεν έχει σημασία το χρώμα του σταφυλιού που διακρίνει τη λευκή από την ερυθρή οινοποίηση, αλλά η απουσία επαφής με τα στέμφυλα στην αλκοολική φάση (Ribéaux-Gayon et al., 2006). Όλα τα *Vitis Vinifera* δίνουν λευκούς οίνους μέσω της λευκής οινοποίησης. Ακόμα και οι ερυθρές ποικιλίες με λευκή σάρκα, εφόσον δε χρησιμοποιείται ο φλοιός, παράγουν λευκούς οίνους, τους λεγόμενους Blanc de Noir, αν συμπιεστούν σε συνθήκες που εμποδίζουν τις ανθοκυανίνες του φλοιού να χρωματίσουν το γλεύκος (Κουνδουράς, 2022).

Μετά την συλλογή από τον τρυγητό, τα σταφύλια μεταφέρονται γρήγορα και ανέπαφα στο οινοποιείο για τη μείωση οξειδώσεων. Για την αποφυγή ανεπιθύμητων προζυματικών ενζυμικών ή χημικών αλλοιώσεων συστήνεται η διατήρηση των σταφυλιών σε χαμηλές θερμοκρασίες (όχι πάνω από 20°C) πριν την έναρξη της διαδικασίας. Κατά την υποδοχή των σταφυλιών μπορεί αρχικά να χρησιμοποιηθεί τράπεζα διαλογής για την επιλογή επιθυμητών ραγών και απομάκρυνση ξένων σωμάτων (Ribéaux-Gayon et al., 2006) .

1.4.1 Στάδια οινοποίησης

Γενικά η διαδικασία ξεκινάει με την εισαγωγή ολόκληρων τσαμπιών στον εκραγιστήρα. Εκεί πραγματοποιείται η αποβοστρύχωση (προαιρετική), η έκθλιψη των ραγών από τον σπαστήρα και η μεταφορά με αντλία στο πιεστήριο. Η εισαγωγή στο πιεστήριο γίνεται είτε από τις θυρίδες, είτε από τον κεντρικό άξονα. Στη συνέχεια ακολουθεί στράγγισμα και απομάκρυνση του 50% του συνολικού γλεύκους (Κοτσερίδης, 2022). Η παραλαβή του υπόλοιπου γλεύκους γίνεται από την σταφυλομάζα που έχει υποστεί πιέσεις. Μια διαδικασία που ακολουθείται ιδιαίτερα όταν πρόκειται για παραγωγή ποιοτικών οίνων είναι η προζυμωτική διαύγαση / απολάσπωση. Στο τέλος των πιέσεων, στο γλεύκος αιωρούνται σκόνες, στερεά σωματίδια του σταφυλιού, πηκτινικές ουσίες, χρώματα. Σκοπός λοιπόν είναι η παραλαβή όσο το δυνατό πιο διαυγούς γλεύκους (Mosconi et al., 2022). Με αυτό τον τρόπο οι παραγόμενοι οίνοι είναι πιο αρωματικοί. Αποφεύγονται οι αναγωγικές οσμές, τα χορτώδη αρώματα και οι πρόδρομες ουσίες θειούχων πτητικών, που μυρίζουν άσχημα, ενώ γίνεται απομάκρυνση οξειδώσιμων ουσιών και υπολειμμάτων από φυτοφάρμακα. Τέλος, πραγματοποιείται μετάγγιση στη δεξαμενή οινοποίησης για την

έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, με τελικό προϊόν τον οίνο. Οι λευκοί οίνοι χαρακτηρίζονται για το άρωμά τους (Chenand, 2022). Η διατήρηση λοιπόν του αρώματος εξαρτάται από τη θερμοκρασία ζύμωσης που πρέπει να είναι κάτω από 20°C. Το γένος ή το είδος ζυμών αλλά και του στελέχους συμβάλλει στην τυποποίηση της ποιότητας του οίνου, μέσω της παραγωγής των δευτερογενών πτητικών (ανώτερες αλκοόλες, ανώτεροι εστέρες, αλδεΐδες, πτητικά από πρόδρομες αρωματικές ενώσεις) (Τσακίρης, 2020).

Βασική διαφορά της λευκής οινοποίησης από την ερυθρή, όπως σημειώθηκε, είναι πως η αλκοολική ζύμωση στη λευκή πραγματοποιείται απουσία στεμφύλων. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η εκχύλιση ανεπιθύμητων ουσιών, πραγματοποιείται διαχωρισμός του στερεού μέρους (στέμφυλα) από το υγρό (γλεύκος). Περίπτωση επιθυμητής εκχύλισης μετά την αποβοστρύχωση παρατηρείται κατά τη maceration pelliculaire (επαφή γλεύκους με φλοιούς) για τον εμπλουτισμό του γλεύκους με περισσότερα συστατικά, χαρακτηριστικά της ποικιλίας. Αυτά τα συστατικά περιέχονται στο φλοιό και βελτιώνουν το άρωμα, τη γεύση, το σώμα. Η διάρκεια επαφής κυμαίνεται από 8-24 ώρες, ανάλογα την υγιεινή κατάσταση και ωριμότητα των σταφυλιών, σε θερμοκρασία 10-15°C (Κοτσερίδης, 2022). Στην περίπτωση του Ασύρτικου επιδιώκεται μικρότερη επαφή (4-5 ώρες), λόγω του υψηλού φαινολικού φορτίου που διαθέτει ο φλοιός του (Κουράκου, 2003). Στο γλεύκος παρατηρείται αύξηση της περιεκτικότητας σε Κάλιο, μείωση της οξύτητας και αύξηση του pH. Ύστερα ακολουθεί εμβολιασμός του γλεύκους με κατάλληλες ζύμες και θερμοκρασίες ζύμωσης μικρότερες των 20 °C, για καλύτερη διατήρηση του αρώματος. Κύριο ποιοτικό χαρακτηριστικό των λευκών οίνων συνιστά το άρωμα της πρώτης ύλης και το δευτερογενές άρωμα που σχηματίζεται κατά την αλκοολική ζύμωση. Μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης ο οίνος μεταγγίζεται και διατηρείται για δύο μήνες στις οινολάσπες που απομένουν. Ο παραγόμενος οίνος εμφανίζει μείωση της ολικής οξύτητας και αύξηση του pH, αύξηση του υπολείμματος, ελαφρύ εμπλουτισμό όσον αφορά τις ολικές φαινολικές ενώσεις και αύξηση της κίτρινης απόχρωσης (Τσακίρης, 2020).

Συνέχεια της αλκοολικής ζύμωσης μπορεί να είναι η μηλογαλακτική ζύμωση και ύστερα η ωρίμανση σε βαρέλια, εάν είναι επιθυμητά. Σε αντίθετη περίπτωση πραγματοποιείται θείωση και μετάγγιση, για αποφυγή ανάπτυξης οσμών υδρόθειου (Delso et al., 2023). Τέλος, αφού ο οίνος υποστεί τις κατάλληλες διεργασίες διαύγασης και σταθεροποίησης ακολουθεί η εμφιάλωσή του (Mosconi et al., 2022).

1.4.2 Χαρακτηριστικά λευκού οίνου

Ένας λευκός οίνος έχει τον προσωπικό του χαρακτήρα. Τα αρώματα που τον διακρίνουν είναι λευκά άνθη και φρούτα, ενώ προτιμάται για την υψηλή του οξύτητα σε σχέση με τα ερυθρά (Chenand, 2022). Η οξύτητα σε έναν λευκό οίνο είναι 5-8 g/L και το pH 3,2-3,5. Ο θειώδης ανυδρίτης εφαρμόζεται σε οινολογικές πρακτικές λόγω της αντιοξειδωτικής, αντιμικροβιακής, διαγαστικής, διαλυτικής και όξινης δράσης. Επειδή αμφισβητείται για την τοξικότητά του, είναι σημαντικό να χρησιμοποιείται ορθολογικά ώστε να μην υπερβαίνονται τα ανώτερα όρια, ιδίως όταν πρόκειται για ανθρώπινη κατανάλωση (Delso et al. 2023). Σύμφωνα με την Ε.Ε. και τον κανονισμό 822/87 τα όρια της συνολικής περιεκτικότητας των λευκών οίνων σε θειώδη ανυδρίτη δεν μπορούν να ξεπερνούν τα 200 mg/L. Στην περίπτωση που η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα είναι μεγαλύτερη των 5 g/L, μπορεί να αυξηθεί έως τα 260 mg/L. Όσον αφορά την πτητική οξύτητα λευκών οίνων δεν μπορεί να υπερβαίνει τα 18 me/L ή το 1,1 g οξικού οξέος /L. Εξαιρέσεις μπορούν να σημειωθούν για οίνους ΠΟΠ ή VQPRD με τουλάχιστον 2 ετών παλαιώση ή η παρασκευή τους να έχει γίνει με ειδική μέθοδο ή ο ολικός αλκοολικός τίτλος να είναι ίσος ή να ξεπερνά τα 13 % vol (Κοτσερίδης et al., 2017). Ανάλογα με την περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα ένας οίνος χαρακτηρίζεται ως ξηρός, όταν έχει μέχρι 2 g/L αναγωγικά σάκχαρα, ενώ η ελληνική νομοθεσία ορίζει τα 4 g/L. Στους ημίξηρους η περιεκτικότητα κυμαίνεται 2-18 g/L, σε ημίγλυκους 18-40 g/L και γλυκούς πάνω από 40g/L (Καλλίθρακα, 2021). Ο ΔΦΟ για αραιά λευκά είναι 6, η ένταση για νέους λευκούς οίνους είναι 0,05-0,15, ενώ για οξειδωμένους πάνω από 0,15. Τέλος, η απόχρωση για λευκούς μπορεί να κυμανθεί σε 0,5-0,7 για νέους οίνους και 0,7-1,3 για παλαιωμένους (Κοτσερίδης et al., 2017).

1.4.3 Ποικιλομορφία και στυλ λευκών οίνων

Οι λευκοί οίνοι γενικά παρουσιάζουν μεγαλύτερη ποικιλομορφία σε στυλ σχετικά με τους ερυθρούς (Ribereau-Gayonet et al., 1976). Μπορεί να είναι still ή sparkling οίνοι, ξηροί ή με υπολειμματικά σάκχαρα (από αρκετά γραμμάρια έως αρκετές δεκάδες ή και περισσότερα από 100 g/L). Αυτό μπορεί να προκύψει σε οίνους που παρασκευάζονται από τις ίδιες ποικιλίες και αγροτεμάχια, από σταφύλια που συλλέγονται σε διαφορετικό επίπεδο ωριμότητας όπως συναντάμε σε Αυστριακά, Rieslings, Gewurtztraminer, Bordeaux, Semillons, Sauvignons, Cheninblanc. Η οξύτητα μπορεί επίσης να ποικίλει σημαντικά από 5 έως 8 g/L εκφρασμένα σε τρυγικό οξύ. Επιπλέον οι ξηροί λευκοί οίνοι μπορεί να υποστούν μηλογαλακτική ζύμωση, όπως συμβαίνει συνήθως στους ερυθρούς. Οι λευκοί χαρακτηρίζονται από πλούσια

τυπολογία σχετικά με το άρωμά τους, που καθορίζεται κυρίως από την ποικιλία και την αλκοολική ζύμωση (Jordao and Ricardo-da-Silva, 2022). Σύμφωνα με αυτό διακρίνονται (όπως και οι ερυθροί) σε *premium*, όπου βελτιώνονται κατά την παλαιώση στη φιάλη αναπτύσσοντας ένα μπουκέτο και σε *primeur* τα οποία δεν παλαιώνουν αλλά καταναλώνονται φρέσκα (Ribéaux-Gayon et al., 2006).

Επιπλέον οι λευκοί οίνοι μπορεί να ωριμάσουν μερικώς ή ολικώς σε νέα δρύινα βαρέλια. Σε κάποιους λευκούς ο οργανοληπτικός χαρακτήρας του βαρελιού δεν αναζητείται και χρησιμοποιούνται δεξαμενές ή μεταχειρισμένα βαρέλια. Άλλοι λευκοί οίνοι παρέχουν οξειδωτικά χαρακτηριστικά όπως τα Sherry και τα yellow wines. Ωστόσο οι περισσότεροι γίνονται με εικονική απουσία οξυγόνου και υπό την προστασία αντιοξειδωτικών (όπως διοξείδιο του θείου και ασκορβικό οξύ) για τη διατήρηση του φρουτώδους χαρακτήρα (Ribéaux-Gayon et al., 2006).

Η ποικιλομορφία των λευκών οίνων και των μεθόδων οινοποίησης έχει μειωθεί τα τελευταία 20 χρόνια, λόγω της τάσης στην παγκόσμια αγορά προς τυποποίηση των προτιμήσεων, που συγκλίνουν με μιμούμενα αξιόλογα μοντέλα. Τέσσερις κατηγορίες διακρίνουν σήμερα τον διεθνή ξηρό λευκό οίνο: ουδέτερο, Chardonnay, Sauvignon και αρωματικό (Ribéaux-Gayon et al., 2006).

Οι ουδέτεροι οίνοι δε διαθέτουν ποικιλιακό άρωμα αλλά δευτερογενές λόγω των αιθυλεστέρων, λιπαρών οξέων και ανώτερων αλκοολών που παράγονται από τους ζυμομύκητες, όταν η ζύμωση πραγματοποιείται σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες (16-18 °C). Οι ποικιλίες είναι υψηλής απόδοσης, ελαφρώς ή μη αρωματικές όπως το Ugniblanco, Maccabeau, Airen, White Grenache, Clairette. Τέτοιοι οίνοι διακρίνονται για τον ξεδιψαστικό χαρακτήρα και την αναζωογονητική οξύτητα, που μπορεί να ενισχυθεί ενδεχομένως με διοξείδιο του άνθρακα (0,6-1 g/l). Έχουν χαμηλό αλκοόλ, έλλειψη πικρίας, φευγαλέο άρωμα και χρήζουν άμεσης κατανάλωσης (Ribéaux-Gayon et al., 2006).

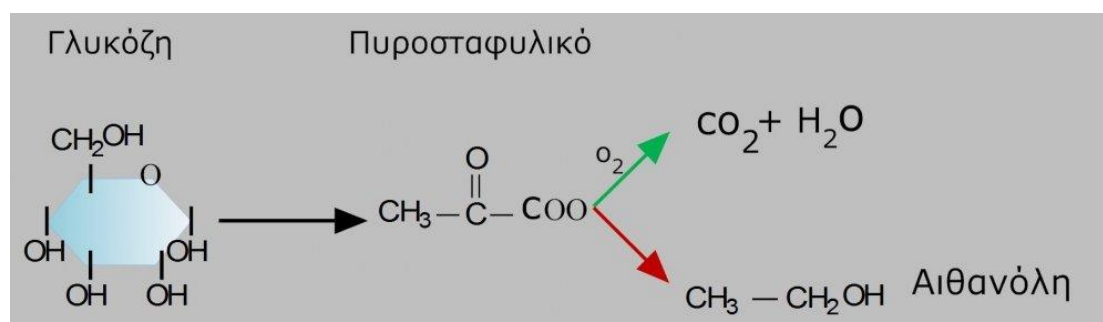
Τα Chardonnay έχουν τις ρίζες τους από τη Βουργουνδία και αποτελούν ένα διεθνές πρότυπο. Χαρακτηρίζονται οι ξηροί οίνοι με μεσαίο σώμα, πλούσιο αρωματικό δυναμικό και ισορροπημένη οξύτητα. Επηρεάζονται από το terroir, την ωρίμανση στο στάδιο της συγκομιδής και την ωρίμανση σε δρύινα βαρέλια (Lyu et al., 2021).

Τα Sauvignon είναι τα εμπνευσμένα από την Κεντρική Γαλλία και αποτελούν άλλο ένα πρότυπο λευκών οίνων. Το συχνά έντονο και πολύπλοκο άρωμα τους αναγνωρίζεται εύκολα. Το άρωμα Sauvignon είναι περισσότερο ευαίσθητο στις κλιματικές συνθήκες κατά την ωρίμανση σε σχέση με του Chardonnay. Επομένως είναι

λιγότερο σταθερό και πιο δύσκολο να αναπαραχθεί. Λόγω του δροσερού κλίματος η Νέα Ζηλανδία παράγει το καλύτερο άρωμα τους. Τέλος, τα Sauvignonέχουν μικρότερη δυνατότητα παλαίωσης από τα Chardonnay (Ribéaux-Gayon et al., 2006).

Οι αρωματικοί οίνοι είναι λευκοί ξηροί εξαιρετικής ποιότητας όπως τα Γερμανικά και τα Ασλατικά. Τέτοιου είδους στυλ παρασκευάζονται επίσης στην Αυστρία και ηπειρωτική Ευρώπη. Παραδείγματα είναι τα Riesling, Pinot Gris, Gewurtztraminer. Αυτές οι ποικιλίες μπορούν να παράξουν άριστης ποιότητας γλυκούς οίνους ικανούς για μακρά παλαίωση (Lyu et al., 2021). Αυτές οι ανθικές ποικιλίες ή τύπου Μοσχάτο προσδίδουν ποικιλιακό άρωμα από πρόδρομες ουσίες του σταφυλιού. Τέτοιες ποικιλίες μπορεί να είναι οι Chenin Blanc, Viognier, Albarino, Petitκαι Gros Manseng (Ribéaux-Gayon et al., 2006) .

1.5 Αλκοολική ζύμωση



Εικόνα 1.1: Στάδια αλκοολικής ζύμωσης

(πηγή: www.infowine.gr/el/winepedia/enology/vinification/?nid=534)

Γενικά ζύμωση είναι η αναερόβια καταβολική διαδικασία παραγωγής ενέργειας και μεταβολικών προϊόντων μέσω της αποικοδόμησης οργανικών ενώσεων. Στην ουσία οι πρώτες ύλες (υποστρώματα) μετατρέπονται σε προϊόντα πιο χρήσιμα για τον άνθρωπο, μέσω της αναερόβιας αποικοδόμησης σακχάρων του υποστρώματος από βακτήρια και ζύμες. Η αλκοολική ζύμωση είναι μια βιοχημική διεργασία κατά την

οποία μικροοργανισμοί, όπως η ζύμη *Saccharomyces cerevisiae*, μετατρέπουν τα σάκχαρα σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα ($C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 CH_3CH_2OH + 2 CO_2$) (Παραμυθιώτης, 2021). Στην αλκοολική ζύμωση γίνεται ο αναερόβιος καταβολισμός της γλυκόζης προς παραγωγή ενέργειας από πλευράς κυττάρου και μεταβολικών προϊόντων (Morrena-Arribas and Polo, 2009). Το πυροσταφυλικό οξύ αποτελεί τον κύριο μεταβολίτη που σχηματίζει μεγάλο αριθμό προϊόντων, ανάλογα με τα ένζυμα των διαφορετικών μικροοργανισμών. Για τους μικροοργανισμούς που παράγουν αιθανόλη (σακχαρομύκητες), το πυροσταφυλικό οξύ αποκαρβοξυλιούμενο μετατρέπεται σε ακεταλδεΐδη και κατόπιν με αναγωγή σε αιθανόλη (κύριο μεταβολικό προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης) (Beltran et al., 2002). Στη γλυκόλυση περιλαμβάνονται οι συνολικές αντιδράσεις που επιτρέπουν στο κύτταρο να μετατρέψει τα σάκχαρα (φρουκτόζη, γλυκόζη) σε πυροσταφυλικό οξύ με ενεργειακό κέρδος 2 ATP (Ribéaux-Gayon et al., 2006). Οι ζυμομύκητες χρειάζονται την ενέργεια για την επιβίωσή τους. Αυτές οι αντιδράσεις αφορούν τόσο την αλκοολική ζύμωση (αναερόβιος καταβολισμός) όσο και την αναπνοή (αερόβιος καταβολισμός) (Παπανικολάου, 2017). Μέσω του μονοπατιού της γλυκόλυσης σχηματίζονται πτητικοί και μη πτητικοί μεταβολίτες που συμβάλλουν στη γεύση του οίνου. Τα είδη της ζύμης, οι συνθήκες της ζύμωσης και η περιεκτικότητα του γλεύκους σε θρεπτικά συστατικά ρυθμίζουν την παραγωγή αυτών των ενώσεων και κατά συνέπεια το προφίλ του οίνου (Morrena-Arribas and Polo, 2009).

Η γλυκόζη και η φρουκτόζη είναι πηγές άνθρακα και ενέργειας στο γλεύκος (Fugelsang and Edwards, 2007). Τα σάκχαρα του γλεύκους καθίστανται υπόστρωμα δράσης των ενζύμων, εξυπηρετώντας τις λειτουργικές ανάγκες του κυττάρου (Νεράντζης et al., 2015). Η συνήθης ποσότητα τους είναι 170-220 g/L η οποία μετατρέπεται μετά τη ζύμωση σε 10-13% vol. Όταν οι υδατάνθρακες είναι σε συγκέντρωση μερικά g/L τότε η ζύμωση είναι πολύ αργή, όταν είναι 15-20 g/L μέχρι και 200 g/L τότε η ζύμωση είναι ταχύτερη, σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μειώνεται η ταχύτητά της, ενώ δεν υπάρχει ζύμωση σε συγκεντρώσεις 600-650 g/L. Η φρουκτόζη ανήκει στα σάκχαρα που παραμένουν στο τέλος της ζύμωσης (όχι φρουκτόφιλα στελέχη ζυμομυκήτων) και έχει πιο γλυκιά γεύση από τη γλυκόζη (Παραμυθιώτης, 2021).

Η ζύμωση είναι έντονη τις πρώτες ημέρες. Η κινητική της εξαρτάται από την καμπύλη ανάπτυξης. Η ζύμωση διαρκεί μερικές εβδομάδες και τις πρώτες περίπου 10 ημέρες η ταχύτητά της είναι βέλτιστη, ενώ μετά ξεκινά η στατική φάση και στην πορεία η φάση θανάτωσης του πληθυσμού της ζύμης. Η ανάπτυξη της ζύμης δεν σταματά

λόγω έλλειψης θρεπτικών αλλά επειδή το περιβάλλον δε θεωρείται πλέον ευνοϊκό. Η κινητική της ζύμωσης επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η πίεση και η σύνθεση του γλεύκους (Παραμυθιώτης, 2021). Όσον αφορά τη θερμοκρασία διατηρεί ένα σημαντικό παράγοντα καθώς επιδρά στην ταχύτητα των ζυμών. Με την αύξηση της θερμοκρασίας οι ζύμες ξεκινούν ταχύτερα, υπάρχει αύξηση του πληθυσμού τους αλλά μείωση της μάζας τους, με αποτέλεσμα η ζύμωση να σταματά νωρίτερα και να απομένουν αζύμωτα σάκχαρα (π.χ. με 35°C, έναρξη ζύμωσης σε 24 ώρες και περιεκτικότητα αλκοόλης 6% vol). Όσο πιο χαμηλή η θερμοκρασία και σταθερή τόσο πιο ευνοϊκή η αύξηση των ζυμών και η ολοκλήρωση της ζύμωσης (π.χ. με 10°C, έναρξη σε 8 ημέρες και περιεκτικότητα αλκοόλης 16,2% vol) (Ribéaux-Gayonet et al., 1975a). Η θερμοκρασία επιδρά επίσης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Βασικό συντελεστή παραγωγής λευκών οίνων είναι η θερμοκρασία ζύμωσης να κυμαίνεται σε χαμηλούς βαθμούς περίπου 16-20°C (Κοτσερίδης, 2022). Σε αυτές τις θερμοκρασίες οι εστέρες, που είναι συστατικό των κυτταρικών τοιχωμάτων της ζύμης, αυξάνονται κατά τη ζύμωση εφόσον αυξάνεται και το πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων στις χαμηλές θερμοκρασίες. Ταυτόχρονα οι ζύμες παράγουν αυξημένα πτητικά συστατικά σε αυτές τις θερμοκρασίες με υψηλό pH (Τσακίρης, 2020). Στην περίπτωση του διοξειδίου του άνθρακα, σχηματίζονται μεγάλα ποσοστά τα οποία όμως διαφεύγουν στην ατμόσφαιρα. Βέβαια το CO₂ είναι ένα ιδιαίτερα διαλυτό αέριο στον οίνο συγκριτικά με το οξυγόνο και το άζωτο. Έχει παρατηρηθεί μείωση του ρυθμού της ζύμωσης σε υψηλές πιέσεις και τελικά η διακοπή της, πιθανώς λόγω τοξικότητας του CO₂. Τέλος, το γλεύκος επηρεάζει την κινητική ζύμωσης μέσω του pH, της θερμοκρασίας, του αζώτου, της συγκέντρωσης σακχάρων. Είναι αναγκαίο να προέρχεται από σταφυλές τεχνολογικής ωριμότητας, με κατάλληλη χημική σύσταση, αποδεκτά σάκχαρα και απαλλαγμένες από παθογόνα (Κουνδουράς, 2022).

Τα τελικά προϊόντα μεταβολισμού των σακχάρων διακρίνονται σε κύρια και δευτερεύοντα. Τα κύρια είναι η αιθανόλη, με ποσοστό 92% - 95% από τη μετατροπή των σακχάρων και το διοξείδιο του άνθρακα. Η αιθανόλη όντας από τα σημαντικότερα συστατικά του οίνου, αποτελεί το 10 – 16% του όγκου του. Τα δευτερεύοντα είναι το οξικό, ηλεκτρικό, γαλακτικό οξύ, η γλυκερόλη, η ακεταλδεϋδη και τα κετονικά οξέα, η ακετοΐνη, διακετύλιο και 2,3-βουτανοδιόλη, οι ανώτερες αλκοόλες και οι εστέρες (Morrena-Arribas and Polo, 2009). Η γλυκερόλη συνήθως παράγεται στα αρχικά στάδια της ζύμωσης και κατέχει την τρίτη θέση σε αφθονία για τους ξηρούς οίνους,

ύστερα από το νερό και την αιθανόλη, με συγκέντρωση περίπου 6-10g/L. Η παρουσία της βελτιώνει την ποιότητα των οίνων προσδίδοντας σώμα και μια ελαφρά γλυκύτητα (Παπανικολάου, 2017). Η ποσότητα της γλυκερόλης εξαρτάται από το στέλεχος της ζύμης και από τις συνθήκες ζύμωσης. Οίνοι που προέρχονται από γλεύκη που έχουν υποστεί κατεργασία με θειώδες, αυξάνουν την συγκέντρωσή της, λόγω της ένωσης του θειώδους με την ακεταλδεΐδη προάγοντας τη γλυκόλυση (Πλέσσας, 2021). Τα σάκχαρα, οι αλκοόλες και η γλυκερόλη συνιστούν τα γλυκά συστατικά του οίνου, εξουδετερώνοντας την πικρή γεύση των φαινολικών ενώσεων και την ξινή γεύση των οξέων (Καρβέλα, 2020).

Το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης εντοπίζεται με τη μέτρηση του ειδικού βάρους. Αν είναι κάτω από 0,996 είναι απαραίτητη η μέτρηση των αναγόντων σακχάρων. Εάν η συγκέντρωσή τους είναι κάτω από 2g/L επιβεβαιώνεται η ολοκλήρωση της ζύμωσης. Στην περίπτωση που επιθυμείται η μηλογαλακτική ζύμωση, αφήνεται ο οίνος σε επαφή με τις οινολάσπες ειδάλλως θειώνεται (Τσακίρης, 2020).

1.6 Ζύμες

Στην ταξινόμηση οι επιστήμονες ορίζουν τις ζύμες ως μονοκύτταρους μύκητες. Οι ζύμες σχηματίζουν μια σύνθετη ετερογενή ομάδα που βρέθηκε σε τρεις κατηγορίες μυκήτων που χαρακτηρίζονται από τον τρόπο αναπαραγωγής σε Ασκομύκητες, Βασιδιομύκητες και Δευτερομύκητες. Οι ζύμες της επιφάνειας του σταφυλιού είναι οι Ασκομύκητες και οι Δευτερομύκητες (König et al., 2009). Η μετατροπή του γλεύκους σε οίνο γίνεται με την συμβολή των ενζύμων των ζυμών, μεταβολίζοντας τα σάκχαρα προς παραγωγή αιθανόλης. Ο πολλαπλασιασμός των ζυμών γίνεται αγενώς (εκβλαστήσεις, κυτταρική διαίρεση) ή εγγενώς (σπόρια). Όσον αφορά τις σπορογόνες ζύμες, όταν βρίσκονται σε δυσχερές υπόστρωμα, σταματούν τον πολλαπλασιασμό και μετατρέπονται σε ασκούς που περιέχουν τα ασκοσπόρια. Αυτή η μεταβολή προσδίδει ανθεκτικότητα (Ribéaux-Gayon et al., 2006). Οι ζύμες που είναι ικανές να σχηματίσουν σπόρια ανήκουν στους ασκομύκητες. Τα σπόρια υποδηλώνουν την τέλεια μορφή. Αντίθετα εκείνες που είναι ανίκανες ταξινομούνται στις ατελείς ζύμες (Fugelsang and Edwards, 2007). Οι ζύμες σχηματίζουν ψευδοϋφές, έχουν μικρότερα κύτταρα από τους μύκητες (5-8μ) και τα septa είναι στρογγυλεμένα και όχι κάθετα. Υπάρχει διαφοροποίηση μεταξύ των ζυμών σε επίπεδο είδους και σε επίπεδο στελέχους

(Παραμυθιώτης, 2021). Για την τυποποίηση της ποιότητας του οίνου είναι βασικό το γένος ή το είδος των ζυμών αλλά και του στελέχους (Morrena-Arribas and Polo, 2009).

Συνήθως χρησιμοποιείται και ένα άτυπο σύστημα ομαδοποίησης ζυμών με βάση τη μορφολογία τους ή άλλα χαρακτηριστικά. Για παράδειγμα η *Kloeckera apiculata* αναφέρεται συχνά ως «apiculate yeast», λόγω της μορφής της που παραπέμπει σε φύλλο λεμονιάς (Fugelsang and Edwards, 2007). Αυτές οι ζύμες όπως και οι *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Issatchenkia*, *Kluuyveromyces*, *Mentschikowia*, *Pichia* and *Rhodotorula* ονομάζονται «γηγενείς» ή «άγριες» ή «αυτόχθονες» ή «φυσικές» λόγω της καταγωγής τους από τον αμπελώνα ή το οινοποιείο (Pretorius, 1999). Ορισμένοι οινολόγοι έχουν συμφωνήσει στη χρήση αυτών των ορολογιών για το διαχωρισμό των ζυμών που δεν ανήκουν σε αυτή την παραπάνω κατηγορία και θεωρούνται «μη γηγενείς» ή «αφύσικες» π.χ. *Saccharomyces*, *Brettanomyces* (Morrena-Arribas and Polo, 2009). Αντίθετα ο όρος που *Saccharomyces* χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις ζύμες που εντοπίζονται στο γλεύκος των σταφυλιών και δεν ανήκουν στο γένος *Saccharomyces* (König et al., 2009). Οι ζύμες που βρέθηκαν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και ύστερα, κατατάσσονται σε άτυπες ομάδες. Επίσης, κατά την παλαίωση μερικές ζύμες μπορούν να αναπτυχθούν στην επιφάνειά του οίνου με την παρουσία οξυγόνου. Λόγω του φιλμ που δημιουργούν, συνδέονται με αλλοίωση (*Candida*, *Hansenula*, *Pichia*). Οι λεγόμενες «μαύρες ζύμες» (*Aureobasidium pullulans*) είναι περιστασιακά απούσες από το περιβάλλον του σταφυλιού και του οίνου (Fugelsang and Edwards, 2007).

Στο δεύτερο μισό του 19^{ου} αιώνα, ο Λουί Παστέρ αποκάλυψε το ρόλο των ζυμών κατά τη διαδικασία ζύμωσης του γλεύκους αποδεικνύοντας πως είναι ο πλέον υπεύθυνος καταλύτης για τη μετατροπή σακχάρων σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Παρατήρησε ότι στο γλεύκος συνυπήρχε ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών. Σύμφωνα με μικροσκοπικές αναλύσεις εντόπισε δύο είδη ζυμών. Το ένα ήταν άφθονο στα πρώιμα στάδια της διαδικασίας σε μικρό σχήμα λεμονιού, το *Saccharomyces apiculatus* (*Hanseniaspora uvarum*) και το άλλο που αυξήθηκε πληθυσμιακά στην πορεία και συνέβαλε στη ζύμωση και ήταν μορφολογικά στρογγυλό, το ονόμασε *Saccharomyces pastorianus* ή *Saccharomyces ellipsoideu*, το σημερινό *Saccharomyces cerevisiae* (Barnett, 2000). Παρά την περίπλοκη διαδικασία της ζύμωσης ο τελευταίος ζυμομύκτης έγινε η κατεξοχήν ζύμη του οίνου (Fleet, 1993).

Κατά την αλκοολική ζύμωση οι ζύμες μπορεί να είναι επιλεγμένες ή γηγενείς (Larra et al., 2020). Η επιλογή των στελεχών των ζυμών που θα πραγματοποιήσουν την αλκοολική ζύμωση είναι σημαντική για τη γρήγορη ολοκλήρωση της ζύμωσης και για την έκφραση του ποικιλιακού αρώματος (Morrena-Arribas and Polo, 2009). Υπάρχουν non-volatiles ενώσεις που δεν έχουν άρωμα αρχικά, διότι είναι γλυκοσιλιωμένες με κάποιο σάκχαρο (πολυσακχαρίτη) και μέσω της ενζυμικής παρέμβασης ζυμών γίνεται απελευθέρωση του αρωματικού μέρους. Η χρήση των επιλεγμένων στελεχών εξαρτάται από τη ζυμωτική τους ικανότητα και την παραγωγή ενώσεων που επιδρούν άμεσα στον οίνο (π.χ. για το Sauvignon blanc η ζύμη με την εμπορική ονομασία VL3) (Κοτσερίδης., 2017).

Τα είδη *Saccharomyces* μπορούν να αναπτυχθούν σε ένα ελάχιστο εύρος οργανικών και ανόργανων θρεπτικών συστατικών με σάκχαρα (εξόζες) (Ribéaux-Gayon et al., 2006). Περιέχονται στο γλεύκος πηγές αζώτου, φωσφορικών, θεικών, διαφόρων στοιχείων καλίου, μαγνησίου, μαγγανίου, ασβεστίου, σιδήρου και ψευδάργυρου που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη και αναπαραγωγή τους ακόμα και στις αναερόβιες συνθήκες που επικρατούν κατά την αλκοολική ζύμωση. Ορισμένα στελέχη *Saccharomyces cerevisiae* απαιτούν αρκετές βιταμίνες, συνήθως τη βιοτίνη. Ο εμπλουτισμός με βιοτίνη και θιαμίνη βελτιώνουν την κινητική της ζύμωσης (0,5 mg/L θιαμίνη αυξάνει τον πληθυσμό της ζύμης κατά 30%, αλλά δεν είναι πάντα αποτελεσματική). Σε αρκετά διαυγασμένα γλεύκη οι *Saccharomyces* παρουσιάζουν περιορισμένη παραγωγή με πλήρη απουσία οξυγόνου. Αντίθετα οι *non Saccharomyces* απαιτούν οξυγόνο για την ανάπτυξή τους (Morrena-Arribasa and Polo., 2009).

Η οινοποίηση είναι μια σύνθετη και μεγάλης κλίμακας διαδικασία όπου εμπλέκονται φυσικές, χημικές και μικροβιολογικές αντιδράσεις (Larra et al., 2020). Σε μια αλκοολική ζύμωση οι μικροοργανισμοί είναι αυτοί που παίζουν ρόλο στα διάφορα στάδια οινοποίησης (Ribéaux-Gayon et al., 2006). Ωστόσο μπορεί να αντιπροσωπεύουν σοβαρά προβλήματα αλλοίωσης του οίνου που οδηγούν σε οικονομική απώλεια. Οι αυτόχθονες ζύμες και τα βακτήρια που υπάρχουν στην επιφάνεια του σταφυλιού ή στις εγκαταστάσεις του οινοποιείου μπορούν να μολύνουν το γλεύκος ή τον οίνο, να αφήσουν ίχνη σακχάρων που αποτελούν τροφή για την ανάπτυξη μικροοργανισμών και να δυσκολέψουν τα γαλακτικά βακτήρια να ξεκινήσουν τη μηλογαλακτική ζύμωση (Delso et al., 2023). Άρα είναι επιθυμητό ο ζυμομύκτης να μεταβολίσει όσο το δυνατό περισσότερη γλυκόζη και φρουκτόζη. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει τεράστιες προσπάθειες για την αναζήτηση αυτόχθονων

στελεχών ζυμών, ικανών να βελτιώσουν τους οίνους όσον αφορά το χρώμα, το άρωμα, το σώμα και άλλες ιδιότητες συμπεριλαμβανομένων της σταθερότητας και ασφάλειας (AponTE and Blaiotta, 2016).

1.6.1 Μηχανισμοί όπου οι ζύμες επιδρούν στο οργανοληπτικό προφίλ του οίνου

Οι ζύμες διεξάγουν την αλκοολική ζύμωση. Έχουν ζυμωτική ικανότητα και μεταβολίζουν τα σάκχαρα (γλυκόλυση) απελευθερώνοντας αρώματα και πρόδρομες ενώσεις. Σε τυπικές συνθήκες οινοποίησης, η ζύμωση αρχίζει με την απελευθέρωση σακχάρων και άλλων θρεπτικών που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των ζυμών της σταφυλής (Ribéaux-Gayon et al., 2006). Οι ζύμες των σταφυλιών και του οινολογικού εξοπλισμού (άγριες) είναι ικανές να ξεκινήσουν τη ζύμωση, ενώ μπορεί να προστεθεί μια καλλιέργεια επιλεγμένης ζύμης (εμβολιασμός). Βέβαια το διοξείδιο του θείου που προστίθεται για αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση, μειώνει τους πληθυσμούς των γηγενών ζυμών όπως και των βακτηρίων (König et al., 2009). Μέσω της σύνθλιψης των σταφυλιών απελευθερώνονται πτητικές και μη πτητικές ενώσεις που συνδέονται με το γλεύκος, ενώ η διαβροχή των στεμφύλων με πηκτινολυτικά ένζυμα απελευθερώνει τις πρόδρομες πτητικές ενώσεις που βρίσκονται στο φλοιό του σταφυλιού. Οι ενώσεις που εντοπίζονται σε ένα γλεύκος είναι θρεπτικά συστατικά, πρόδρομες πτητικές ενώσεις και οι πρόδρομες μη πτητικές. Η δράση λοιπόν των ζυμομυκήτων σε αυτές τις ενώσεις έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ανθοσμίας (μπουκέτο) στο κρασί (Morrena-Arribas and Polo, 2009).

Τα χαρακτηριστικά των ζυμών καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τη γενετική σύσταση (Larra et al., 2020). Ωστόσο η ισορροπία των θρεπτικών σε κάθε γλεύκος έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει την ανάπτυξη και το μεταβολισμό τους, κάτι που καθίσταται βασικός παράγοντας για την σύνθεση και τη γεύση του οίνου. Οι ζύμες παρέχουν μηχανισμούς που επιδρούν στο οργανοληπτικό του προφίλ. Η χρήση αντιμικροβιακών στελεχών προστατεύει από την ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών (μύκητες, βακτήρια) (Δημοπούλου, 2021).

Η οξύτητα είναι κάτι που διακρίνει τους λευκούς οίνους και ιδίως το Ασύρτικο, αποτελώντας ένα από τα σπουδαιότερα χαρακτηριστικά. Είναι απαραίτητη τόσο για την συντήρηση με το πέρασ του χρόνου, όσο και για την ενίσχυση του οργανοληπτικού χαρακτήρα. Προσφέρει φρεσκάδα και νευρικότητα στον οίνο (Καλλίθρακα, 2022). Η οξύτητα των οίνων δεν οφείλεται μόνο στα οξέα του σταφυλιού, αλλά και στην παραγωγή αυτών κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Το πιο γνωστό που

παράγεται στην αλκοολική ζύμωση από τα σάκχαρα και συμμετέχει στη διαμόρφωση της οξύτητας είναι το ηλεκτρικό οξύ (König et al., 2009). Η συγκέντρωση του στο κρασί κυμαίνεται σε 0,5-1,5 g/L από τη δράση των ζυμών ή των βακτηρίων και συμβάλλει στη διαμόρφωση της γεύσης. Μπορεί να συνδυάσει το ξινό, το πικρό και το αλμυρό. Η συγκέντρωση του εξαρτάται από την περιεκτικότητα των σακχάρων, το είδος της ζύμης που πραγματοποιεί την αλκοολική ζύμωση, τη θερμοκρασία, τον αερισμό (Καλλίθρακα, 2021).

Το οξικό είναι το κύριο πτητικό οξύ του οίνου. Παράγεται κυρίως από βακτηριακή αλλοίωση, αλλά σχηματίζεται και από τους ζυμομύκητες κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (0,2-0,4 g/L). Πέρα από ένα ορισμένο όριο, το οποίο ποικίλει από οίνο σε οίνο, το οξικό οξύ μπορεί να χαρακτηριστεί επιβλαβές για την ποιότητά του (Τσακίρης, 2020). Σε υγιές γλεύκος με μέτρια συγκέντρωση σακχάρων (λιγότερη από 220 g/L), ο *S. cerevisiae* παράγει μικρές ποσότητες (100-300 mg/L) ανάλογα με το στέλεχος. Μάλιστα σε ορισμένες συνθήκες οινοποίησης, ακόμα και χωρίς βακτηριακή μόλυνση, το οξικό οξύ από τις ζύμες μπορεί να παραχθεί σε ασυνήθιστες υψηλές ποσότητες όντας πρόβλημα για τον οινοπαραγωγό (König et al., 2009).

Επιπρόσθετη λειτουργία των ζυμών είναι ότι χρησιμοποιούν το πυροσταφυλικό οξύ για να σχηματίσουν ακετοΐνη, διακετύλιο και 2,3-βουτανοδιόλη. Από την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης οι ζυμομύκητες παράγουν διακετύλιο το οποίο μειώνεται γρήγορα σε ακετοΐνη και 2,3-βουτανοδιόλη. Αυτή η μείωση κατατοπίζεται στο τέλος της ζύμωσης όταν οι οίνοι συντηρούνται με τη βιομάζα. Η ακετοΐνη και ιδιαίτερα το διακετύλιο είναι ενώσεις με έντονη οσμή που προκαλούν ένα βουτυρένιο άρωμα (Fugelsang and Edwards, 2007).

Ο ρόλος των ζυμών επεκτείνεται και στην περιεκτικότητα των πτητικών φαινολών στον οίνο. Οι πτητικές φαινόλες απαντώνται ενίοτε στους οίνους είτε σε μερικές δεκάδες είτε σε πολλές εκατοντάδες μg/L. Η παραγόμενη ποσότητα βινυλο-φαινολών κυμαίνεται ανάλογα με το στέλεχος που θα πράξει την αλκοολική ζύμωση. Οι βινύλ-φαινόλες προσδίδουν φαρμακευτικό άρωμα αλλά σε ελεγχόμενη συγκέντρωση είναι επιθυμητές για την ποιότητα ορισμένων οίνων Gewurtztraminer (Κοτσερίδης, 2017). Στους λευκούς οίνους οι βινύλ-φαινόλες παράγονται από την ενζυμική αποκαρβοξυλίωση των δύο κινναμωμικών αλδεϋδών. Η συγκέντρωσή τους εξαρτάται από το περιεχόμενο των πρόδρομων φαινολικών οξέων στο γλεύκος αλλά και από τη δραστηριότητα της κινναμωμικής αποκαρβοξυλάσης των στελεχών των ζυμών που ενεργούν στην αλκοολική ζύμωση (König et al., 2009).

Επειδή το γλεύκος περιέχει λίγο οργανικό θείο, οι ζύμες αφομοιώνουν θειικά και θειώδη, όταν προστίθενται για την σύνθεση οργανικών ενώσεων του θείου. Ο μεταβολισμός του θείου είναι σημαντικός στην οινοποίηση, αφού ανάλογα με το στέλεχος της ζύμης και τη θρεπτική σύνθεση μετατρέπεται σε πηγή δυσάρεστων οσμών αλλοιώνοντας το οργανοληπτικό προφίλ (Rauhut, 1993).

Όσον αφορά τους *non Saccharomyces* διαθέτουν τα περισσότερα γονίδια για να μετατρέψουν τις non-volatiles ενώσεις σε αρωματικές (θειόλες, τερπένια). Προσδίδουν σώμα στον οίνο κι έχουν ισχυρή επίδραση στο ποικιλιακό άρωμα (Aronste and Blaiotta, 2016). Αυτό συμβαίνει λόγω της ύπαρξης γονιδίων που ενεργοποιούνται για το μεταβολισμό ενώσεων που αντιπροσωπεύουν την ποικιλία, αντίθετα με τον *Saccharomyces cerevisiae* που δεν έχει τη δυνατότητα να υδρολύσει τα γλυκοσιλιωμένα παράγωγα. Οι *non Saccharomyces* ζύμες με αυτό τον τρόπο συνδέονται σε μεγαλύτερο βαθμό με την τυπικότητα σε σχέση με τη ζύμη *Saccharomyces cerevisiae* (König et al., 2009). Παρόλα αυτά η αποκλειστική χρήση *non Saccharomyces* θεωρείται επικίνδυνη για τη ζύμωση. Υπάρχει περίπτωση να παράξουν κάποια στελέχη θειώδη ανυδρίτη που θα δυσκολέψουν την πλήρη ζύμωση, οπότε θα απομείνουν ανάγοντα σάκχαρα ενώ δε θα παραχθεί η επιθυμητή ποσότητα αλκοόλης (Κοτσερίδης, 2021).

1.6.2 Αυτόχθονες ζύμες

Οι αυτόχθονες ζύμες όπως και τα βακτήρια και άλλοι μικροοργανισμοί εντοπίζονται στον αμπελώνα και στο έδαφος. Η μεταφορά τους πάνω στο σταφύλι γίνεται με τα έντομα (κυρίως μεδρσοσόφιλα). Ο πληθυσμός τους κάθε φορά ποικίλει και εξαρτάται από τις κλιματικές συνθήκες που επικρατούν. Οι αυτόχθονες ζύμες ή άγριες, ανήκουν στους *non Saccharomyces*, είναι οξυκόρυφες και όχι στρογγυλές όπως το γένος *Saccharomyces* (Παραμυθιώτης, 2021). Στην αρχή ξεκινούν τη ζύμωση με υψηλό πληθυσμό αλλά φαίνεται να έχουν μικρή ζυμωτική ικανότητα. Έτσι, στην πορεία επέρχεται η μείωση του πληθυσμού τους. Αυτές οι ζύμες υπάρχουν στο ενδιαίτημα του σταφυλιού σε αντίθεση με τον *Saccharomyces cerevisiae* (Δημοπούλου, 2021).

Για περισσότερη ποικιλομορφία, οι ζύμες *non Saccharomyces* που προέρχονται από το σταφύλι, απομονώνονται και καλλιεργούνται. Αξιολογούνται ως νέες στρατηγικές εμβολιασμού που αναπτύχθηκαν για την εξέλιξη των οργανοληπτικών χαρακτήρων του οίνου (Jolly et al., 2006). Οι άγριες ζύμες αν και αντιπροσωπεύουν

μια απροσδιόριστη ομάδα ειδών και στελεχών, παράγουν προφίλ γεύσης που δεν μπορεί να επιτευχθεί εύκολα με άλλες κλασικές τεχνικές (Morrena-Arribas and Polo, 2009). Ωστόσο έχει παρατηρηθεί πως ζύμες απομονωμένες από μια περιοχή προσδίδουν καλύτερη σύσταση σε γλεύκος ίδιας περιοχής. Η κοινή μικροχλωρίδα λοιπόν έχει συσχέτιση με το terroir και το σύνολό τους προσδίδει χαρακτήρα στον οίνο (Δημοπούλου, 2021).

1.6.3 Εμπορικά στελέχη ζυμομυκήτων

Οι ζυμομύκητες αντιπροσωπεύουν την πιο σημαντική ομάδα μικροοργανισμών για τους οινοπαραγωγούς. Τα εμπορικά στελέχη επιλέγονται για την καλή ζυμωτική ικανότητα και για το μεγάλο πληθυσμό τους (Aronte and Blaiotta, 2016). Θεωρείται ότι η παραγωγή ποιοτικού οίνου χωρίς τη δράση των *Saccharomyces* θα ήταν αδύνατη. Πέρα από αυτούς, όπως ήδη αναφέρθηκε, υπάρχουν και άλλα γένη και είδη στην οινοποίηση που επηρεάζουν τελικά την ποιότητα είτε αρνητικά είτε θετικά (Fugelsing and Edwards, 2007). Ο κύριος λόγος εμβολιασμού επιλεγμένων στελεχών είναι η αποφυγή μιας αυθόρμητης ζύμωσης που φέρει κινδύνους αλλοίωσης, ο έλεγχος και η ομοιογένεια της ζύμωσης (Beltran et al., 2002). Αν και πολλοί οίνοι παρασκευάζονται με ελάχιστη παρέμβαση και βασίζονται σε άγριες ζύμες που προϋπήρχαν στο γλεύκος, η σύγχρονη οινοποίηση στηρίζεται στη χρήση επιλεγμένων στελεχών *Saccharomyces cerevisiae* που διαθέτουν αξιόπιστες ικανότητες ζύμωσης σε συνδυασμό με γευστικά χαρακτηριστικά εξαιτίας της μεγάλης γενετικής και μεταβολικής ποικιλομορφίας (Morrena-Arribas and Polo, 2009).

Έχει τεκμηριωθεί πως οι *non Saccharomyces*, που θεωρούνταν ανεπιθύμητες και ζύμες αλλοίωσης στο παρελθόν, μπορούν να βελτιώσουν την αναλυτική σύνθεση και το άρωμα στον οίνο (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Η ικανότητά τους να εκκρίνουν ένζυμα που παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες, η παραγωγή γλυκερόλης, αιθανόλης, η απελευθέρωση μαννοπρωτεϊνών, η σταθεροποίηση του χρώματος οδήγησε στην επιλογή μεικτής χρήσης *Saccharomyces* και *non Saccharomyces*. Η αφορμή για αναζήτηση βελτιωμένων στελεχών προσαρμοσμένων για κάθε τύπο οίνου έγινε ανάγκη για διεξαγωγή πολλών επιστημονικών μελετών (Padilla et al., 2016).

Στα πλαίσια της προσπάθειας καινοτομίας, διαφοροποίησης και απομίμησης των συνθηκών που επικρατούν σε μια αυθόρμητη ζύμωση, οι ερευνητές έχουν προβεί στην απομόνωση και χρήση ζυμών *non Saccharomyces*. Γίνεται εμβολιασμός του γλεύκους

με τις ζύμες αυτές ενώ στην συνέχεια θα πρέπει να γίνει και προσθήκη του *S. Cerevisiae* (Aronte and Blaiotta, 2016). Στον συνεμβολιασμό συγκαταλέγεται και τυχόν ανταγωνισμός, οπότε και πρέπει να ελέγχεται η κοινή ανάπτυξη. Υπάρχουν λοιπόν σκευάσματα που περιέχουν και τα δύο είδη (Richter et al., 2013). Το σκεύασμα PRELUDE με 100% *Torulasporea delbrueckii* δίνει χαρακτήρα ζύμωσης με άγριες ζύμες. Ο παραγόμενος οίνος έχει χαμηλή πτητική οξύτητα, στρογγυλό σώμα, αρωματική πολυπλοκότητα και ένταση. Χρησιμοποιείται για λευκούς και ερυθρούς οίνους. Το σκεύασμα CONCERTO με 100% *Kluyveromyces thermotolerans* κυκλοφόρησε στην αγορά για πρώτη φορά το 2012. Δίνει εξίσου τα ίδια χαρακτηριστικά ενώ συμβάλλει στην παραγωγή γαλακτικού οξέος που είναι ιδανικό για τους μεσογειακούς οίνους. Αυτό το σκεύασμα χρησιμοποιείται κυρίως για ερυθρούς εκφράζοντας έντονα αρώματα κόκκινων φρούτων. Το MELODY αποτελεί ένα μοναδικό σκεύασμα με *S. cerevisiae*, *K. thermotolerans*, *T. delbrueckii* σε αναλογία 60:20:20. Η ανάμιξη αυτή των καλλιιεργειών εξασφαλίζει μια ασφαλή και ολοκληρωμένη αλκοολική ζύμωση για ερυθρούς και λευκούς οίνους ενώ προσδίδει ενισχυμένο αρωματικό χαρακτήρα (Κοτσερίδης, 2017).

1.7 Πτητικές ενώσεις – άρωμα

Με την όσφρηση γίνεται αντιληπτό το άρωμα της πρώτης ύλης, το άρωμα της αλκοολικής ζύμωσης και το άρωμα της παλαίωσης. Με αυτή τη διαδικασία παρέχονται πληροφορίες για την ποιότητα, τον τρόπο οινοποίησης, επεξεργασίας και διατήρησης του οίνου (Καλλίθρακα, 2021). Διατηρεί πρωταρχικό λόγο για το αν ο οίνος αυτός καθίσταται αποδεκτό από τον καταναλωτή (Styger et al., 2011). Η χημική ανάλυση αποδίδει την ύπαρξη περίπου 250 διαφορετικών συστατικών στους οίνους, όπου η ταυτότητα του καθενός εξαρτάται από την αναλογία αυτών. Ο συνδυασμός από εστέρες, κετόνες και αλδεΐδες δημιουργούν το άρωμα του οίνου και τα οξέα συντελούν στην ισοροπία αυτού (Ταραντίλης, 2021).

Ο οίνος περιέχει μια σειρά από πτητικά συστατικά που αντιστοιχούν σε ποικίλες κατηγορίες χημικών ενώσεων για τη δημιουργία του αρώματος (Styger et al., 2011). Για την αποσαφήνιση συστατικών που συμβάλλουν στο αρωματικό του προφίλ χρησιμοποιείται το κατώφλι αντίληψης, δηλαδή η μικρότερη συγκέντρωση ενός συστατικού που γίνεται αντιληπτή από το 50% των δοκιμαστών σε ένα τριγωνικό τεστ (Ταραντίλης, 2021). Ουσίες με χαμηλό κατώφλι αντίληψης εντοπίζονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (10^{-4} – 10^{-12} g/L,) διαμορφώνοντας το αρωματικό δυναμικό. Το

χαμηλό κατώφλι αντίληψης εξαρτάται και από το μέσο διαλύματος (Κουνδουράς, 2021). Γενικά αφορά τη λειτουργική ομάδα των οργανικών μορίων, η οποία συνδέεται εύκολα σε έναν υποδοχέα δίνοντας την τελική αίσθηση στο δοκιμαστή, μέσω ενός νευρικού παλμού που φθάνει στον εγκέφαλό του. Συνήθως οι ενώσεις αυτές θυμίζουν φρούτα, άνθη, μπαχαρικά, βότανα, ορυκτά. Επιπλέον με το κατώφλι αντίληψης υπάρχει το όριο αναγνώρισης και το όριο προτίμησης. Το όριο αναγνώρισης συσχετίζει την αντίληψη μιας πτητικής ένωσης και της ταύτισής της με μια οσμή. Σύμφωνα με το όριο προτίμησης συγκαταλέγεται η μέγιστη συγκέντρωση ύπαρξης μιας ένωσης η οποία δεν προκαλεί κάποια αρνητική αίσθηση (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Αντίθετα μπορεί να υπάρξουν ενώσεις σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις με μικρή συμβολή στο άρωμα. Πέρα από τη λειτουργική ομάδα απαραίτητη ιδιότητα των συστατικών για αισθητό άρωμα αποτελεί η πτητικότητά τους εξαρτώμενη από τα σάκχαρα, τον αλκοολικό τίτλο και τη θερμοκρασία (Bakker and Clarke, 2012). Ωστόσο, η έκφραση του αρώματος επηρεάζεται και από μη πτητικά συστατικά, καθώς αυτά είτε δεσμεύουν σημαντικά συστατικά του αρώματος είτε αυξάνουν την πτητικότητα άλλων (Mina and Tsaltras, 2019). Η δυναμικότητα του αρώματος εξαρτάται από το μεταβολισμό του σταφυλιού (ποικιλία, terroir, καλλιεργητικές τεχνικές) και τα βιοχημικά φαινόμενα που λαμβάνουν μέρος πριν την αλκοολική ζύμωση, κατά την έκθλιψη σταφυλιών, την εκχύλιση χυμού και την παραμονή του γλεύκους με τα στέμφυλα (Flamini and Traldi, 2010). Επιπλέον, διαμορφώνεται από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών που δρουν στην αλκοολική και μηλογαλακτική ζύμωση και τις χημικές-ενζυμικές αντιδράσεις κατά τη διάρκεια συντήρησης, ωρίμανσης και παλαίωσης σε δεξαμενή, βαρέλι και φιάλη αντίστοιχα (Padilla et al., 2016).

1.7.1 Πρωτογενές άρωμα

Το πρωτογενές άρωμα λέγεται αλλιώς ποικιλιακό, προέρχεται από το σταφύλι και προσδίδει προσωπική ταυτότητα στον οίνο. Μπορεί να συνδέεται με ένα ή περισσότερα συστατικά ή να οφείλεται σε ποσοτικές διακυμάνσεις με επακόλουθο να μην εκφράζεται πάντα (Mina and Tsaltras, 2019).

Οι πτητικές ουσίες που χαρακτηρίζουν την ποικιλία εντοπίζονται στην εσωτερική στοιβάδα των κυττάρων του φλοιού της ράγας, αλλά απαντώνται και σε μικρότερες ποσότητες στην σάρκα και στο γλεύκος. Στο εξωκάρπιο βρίσκονται τα τερπένια

(γερανιόλη, λιναλόολη). Λόγω της μικρής συγκέντρωσης των πτητικών αυτών στη ράγα, επιβάλλεται η έντονη προσοχή στο χειρισμό των σταφυλιών πριν και μετά τον τρυγητό (Carrau et al., 2005). Τα πτητικά συστατικά υπάρχουν μεν στα σταφύλια σε ελεύθερη μορφή, αλλά κυρίως εντοπίζονται ως μη πτητικές πρόδρομες ενώσεις που απελευθερώνουν το αρωματικό τους μόριο κατά την προζυμωτική φάση, ζύμωση, παλαίωση (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Οι μεθοξυπυραζίνες είναι προϊόντα μεταβολισμού των αμινοξέων και εντοπίζονται κυρίως στο φλοιό αλλά και σε γίγαρτα σε μικρότερες ποσότητες (Sidhu et al., 2015). Η μέγιστη συγκέντρωσή τους απαντάται κατά τον περκασμό και βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή. Μείωση μπορεί να παρέλθει ύστερα από εξάντληση της ζωηρότητας του αμπελιού, υδατική καταπόνηση, έκθεση στο φως και προχωρημένη ωρίμανση (Gonzalez-Barreiro et al., 2014). Χαρακτηριστικά αρώματα είναι τα ποώδη, χορτώδη, της πράσινης πιπεριάς, του χλωρού φασολιού και συναντώνται κυρίως στο Sauvignon blanc, Cabernet sauvignon, Merlot. Το κατώφλι αντίληψης είναι 2 ng/L και στον οίνο κυμαίνεται περίπου 9-42 ng/L. Οι λευκοί οίνοι περιέχουν μικρότερες συγκεντρώσεις 4-8 ng/L. Συγκεντρώσεις άνω των 25 ng/L θεωρούνται ανεπιθύμητες από το καταναλωτικό κοινό (Ταραντίλης, 2021).

Τα ισοπρενοειδή μονοτερπένια (δαμασκηνόνη, βιτισπιράνιο, κιτρονόολη) είναι μακρομοριακές ενώσεις που ανήκουν στα τερπενοειδή και είναι έντονα πτητικές. Βρίσκονται στο φλοιό και στην σάρκα κοντά στο φλοιό. Στη ράγα του σταφυλιού απαντώνται ως μη αρωματικές πρόδρομες ενώσεις (γλυκοζίτες). Κατά την αλκοολική ζύμωση τα ένζυμα των γλυκοσιδασών υδρολύουν τους γλυκοσιδιωμένους δεσμούς και απελευθερώνεται το αρωματικό μέρος (Bakker and Clarke, 2012). Η αύξηση των μονοτερπενίων γίνεται συγχρόνως με τη μείωση της οξύτητας. Η οσμή τους θυμίζει φρούτα, άνθη και παρουσιάζεται έντονα στα Μοσχάτο, Riesling, Gewurtztraminer όπου καταγράφονται υψηλά επίπεδα λιναλόολης και α-τερπινεόλης. Τα C13-νορ-ισοπρενοειδή προέρχονται από τη διάσπαση των καροτενοειδών κατά την ωρίμανση του σταφυλιού. Τα καροτενοειδή συντίθεται στην πράσινη ράγα παρουσία φωτός. Ομοίως τα νορ-ισοπρενοειδή δεν έχουν οσμή στο σταφύλι και οι αρωματικές ενώσεις απελευθερώνονται κατά την προζυμωτική φάση. Η β-δαμασκηνόνη θυμίζει μήλο, τριαντάφυλλο, μέλι, το βιτισπιράνιο χλωρό χρυσάνθεμο, φρούτα και λουλούδια. Παρίστανται γενικά στα Riesling που είναι πλούσιες σε ισοπρενοειδή (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Οι εστέρες ταυτίζονται με τα αρώματα κόκκινων φρούτων ή μπανάνας. Κυρίως η μεγάλη τους αναλογία εμπίπτει στην αλκοολική ζύμωση. Οι εστέρες προσδίνουν φρουτώδες άρωμα και γεύση στον οίνο, το οποίο με το πέρασμα του χρόνου εξασθενεί λόγω της αστάθειας αυτών των ενώσεων (Escudero et al., 2017). Βέβαια οι εστέρες συναντώνται και στο σταφύλι σε μικρότερες συγκεντρώσεις ως μη πρόδρομες αρωματικές ενώσεις (Flamini and Traldi, 2010).

Άλλα συστατικά που συμπεριλαμβάνονται στο ποικιλιακό άρωμα είναι οι κετόνες. Συνδέονται με αρώματα ανθέων εσπεριδοειδών, ρόδων, τριαντάφυλλου, βιολέτας (Ταραντίλης, 2021). Κυρίως οι α, β-ιονόνη παραπέμπουν σε βιολέτα και σε τριαντάφυλλο. Η β-δαμασκηνόνη είναι ένα νορι-ισοπρενοειδές που συμβάλλει εξίσου στο πρωτογενές άρωμα και επέρχεται από τη διάσπαση καροτενοειδών. Οι κετόνες προέρχονται από την έκθλιψη των σταφυλιών και συναντώνται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα στους ερυθρούς οίνους παρά στους λευκούς (Fang and Qian, 2016).

Επίσης, το σταφύλι περιλαμβάνει τις θειούχες ενώσεις της οικογένειας των θειολών. Γενικά θεωρούνται υπεύθυνες για τις ελαττωματικές οσμές. Στο σταφύλι βρίσκονται σε μορφή μη αρωματικών πρόδρομων ενώσεων της κυστεΐνης και της γλουταθειόνης. Φανερόνουν κυρίως το άρωμα του ανανά, φραγκοστάφυλου, φρούτα του πάθους, γκουάβα και του γκρέιπφρουτ, αλλά και φυτικές οσμές όταν τα σταφύλια είναι ακόμα άγουρα (Jackson, 2002). Ύστερα από αρκετά χρόνια παλαίωσης της φιάλης, μερικά κρασιά εμφανίζουν αρώματα ψητών κρεάτων, τρούφας, καπνού. Το κατώφλι αντίληψης των θειολών σε ένα πρότυπο διάλυμα είναι 0,8 ng/L. Τέτοιες ενώσεις εμφανίζονται σε φυλλώδη κλαδιά που φτιάχνονται σκούπες, γι' αυτό πολλές φορές οι γευσιγνώστες χρησιμοποιούν όρους περιγραφής οσμών ως πυξάρι και σκούπα σε διάφορα Sauvignon blanc (Ribéaux-Gayon et al., 2006). Τέλος, το μαύρο πιπέρι που χαρακτηρίζει τα Syrahoφείλεται στα σεσκιτερπένια με βασικότερο τη ροτουντόνη (Κουνδουράς, 2021).

1.7.2 Δευτερογενές άρωμα

Το δευτερογενές άρωμα ή άρωμα ζύμωσης αναπτύσσεται κατά την αλκοολική ζύμωση. Τα αρώματα αυτά αποτελούν, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά, το σημαντικότερο μέρος των πτητικών ενώσεων του οίνου. Αντιπροσωπεύουν τα φρέσκα κρασιά με τα φρουτώδη αρώματα αλλά και τις ελαττωματικές οσμές (οξικό οξύ, ακεταλδεϋδη). Στην κατηγορία αυτή ανήκουν και τα αρώματα που προέρχονται από τη μηλογαλακτική ζύμωση (Grainger, 2009). Οι πτητικοί μεταβολίτες των ζυμών και της

ζύμωσης μπορεί να είναι εστέρες, ανώτερες αλκοόλες, καρβονυλικές ενώσεις, πτητικά οξέα, πτητικές φαινόλες, θειούχες ενώσεις (Bakker and Clarke, 2012).

Οι εστέρες είναι η ομάδα με τη μεγαλύτερη σημασία στον οίνο και συνήθως κυριαρχούν στη διαμόρφωση τού τελικού χαρακτήρα. Σχηματίζονται ως προϊόντα συμπύκνωσης μεταξύ της καρβοξυλικής ομάδας ενός οργανικού οξέος και του υδροξυλίου μιας αλκοόλης ή φαινόλης (Jackson, 2002). Έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 160 εστέρες στον παραγόμενο οίνο. Στον οίνο δύο τύποι εστέρων μπορούν να συναντηθούν, αυτοί που διαμορφώνονται ενζυματικά από τις ζύμες και αυτοί που σχηματίζονται εξαιτίας της παλαίωσης (Flamini and Traldi, 2010). Η ενζυματική διαμόρφωση καταλύεται κυρίως από τις λιπάσες και τις εστεράσες. Οι πιο σημαντικοί εστέρες που επηρεάζουν τη γεύση και το άρωμα είναι οι isoamyl acetate, isobutyl acetate, ethyl acetate, ethyl caproate και 2-phenyl acetate (Mina and Tsaltas, 2017). Η συγκέντρωσή τους ποικίλει κάθε δεδομένη στιγμή και εξαρτάται από το είδος των ζυμών, τις ενζυματικές δραστηριότητες, την υδρόλυση των εστέρων, τη θερμοκρασία, την ύπαρξη στερεών αιωρημάτων, την ταχύτητα της ζύμωσης (Τσακίρης, 2020). Έχει τεκμηριωθεί πως οι ποσότητές τους μεταβάλλονται και φθάνουν σε υψηλότερα επίπεδα σε ζυμώσεις με μεικτά στελέχη παρά με μονοκαλλιέργεια *Saccharomyces cerevisiae* (Carrascosa et al., 2011). Οι εστέρες που σχηματίζονται από ένζυμα εμπίπτουν σε δυο κατηγορίες. Η μια κατηγορία περιλαμβάνει τους εστέρες των λιπαρών οξέων με αιθανόλη και η άλλη εστέρες ανώτερων αλκοολών με οξικό οξύ (Mina and Tsaltas, 2017). Οι αιθυλεστέρες των λιπαρών οξέων και οι οξικοί εστέρες προσδίδουν οσμές φρούτων όπως μήλο, μπανάνα, ανανά, αχλάδι αλλά και λουλουδιών. Ωστόσο, υπάρχουν εστέρες που προκύπτουν από τη βακτηριακή δράση του γαλακτικού οξέος και προσδίδουν ανεπιθύμητες οσμές. Για παράδειγμα ο οξικός αιθυλεστέρας σε συγκέντρωση άνω των 150mg/l συμπίπτει με την οσμή ακετόνης και θεωρείται ελάττωμα (Ταραντίλης, 2021). Οι μικρού μοριακού βάρους εστέρες δίνουν κυρίως αρώματα φρούτων και οι μεγάλου (C16, C18) άρωμα σαπουνιού. Ο εξανοϊκός και ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας συχνά αντιπροσωπεύουν τους ποιοτικούς ερυθρούς οίνους (Ronald, 2002).

Οι ανώτερες αλκοόλες ανήκουν στην ομάδα των αλκοολών με περισσότερα από δύο άτομα άνθρακα και μαζί με τους εστέρες συνεισφέρουν σημαντικά στο άρωμα του οίνου (Lai et al, 2023). Αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες των ζυμών με θετικές αλλά και αρνητικές επιπτώσεις στο άρωμα. Σχηματίζονται από την σύνθεση σακχάρων από τις ζύμες α-κετοξέων, που αποκαρβοξυλιώνονται και ανάγονται σε αλκοόλες ή

από αμινοξέα ύστερα από απαμίνωση και αποκαρβοξυλίωση (Mina and Tsaltas, 2017). Η συμβολή τους στο άρωμα είναι θετική (φρούτα, άνθη, τριαντάφυλλο, μέλι) όντας σε συγκεντρώσεις έως 300mg/L, ενώ άνω των 400mg/L γίνεται αρνητική, με πικάντικη έντονη οσμή (βερνίκι νυχιών, γρασίδι, οινόπνευμα, ζυμέλαια). Μερικές από τις ανώτερες αλκοόλες που συναντώνται συχνά είναι προπανόλη-1,2, βουτανόλη-1,2, ισοβουτανόλη, 2-μέθυλο-1βουτανόλη, εξανόλη, φαίνυλο-2-αιθανόλη (Bakker and Clarke, 2012). Η πορεία σχηματισμού των ανώτερων αλκοολών διαφέρει ανά μελέτες. Οι Fraile et al. Υποστηρίζουν ότι παράγονται στο τέλος της ζύμωσης, οι Rapp και Versini μαζί με την παραγωγή αιθανόλης και μια πρόσφατη μελέτη των Hernandez-Orte et al. κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Το ποσοστό που θα παραχθεί εξαρτάται από την σύσταση του γλεύκους, τα είδη των ζυμομυκήτων, τη θερμοκρασία της ζύμωσης, την συγκέντρωση της αιθανόλης, το pH, τα στερεά συστατικά, το χρόνο παραμονής των στεμφύλων. Η αιθανόλη ή αλκοόλ, το κύριο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης, έχει χαρακτηριστική δριμεία οσμή και συμβάλλει εξίσου στο άρωμα και τη γεύση του παραγόμενου οίνου (Ronald, 2008).

Από πλευράς καρβονυλικών ενώσεων η ακεταλδεΐδη και το διακετύλιο συμμετέχουν στο δευτερογενές άρωμα. Η ακεταλδεΐδη είναι η κύρια αλδεΐδη των οίνων και παραπροϊόν της αλκοολικής ζύμωσης (Mina and Tsaltas, 2017). Σε αυξημένες συγκεντρώσεις θεωρείται ελαττωματική η οσμή της, παρ' όλα αυτά σε συνέργεια με οξειδωμένα συστατικά συνδράμει στην ανθοσμία οξειδωμένων οίνων όπως tasherry (Clarke, 2004). Κατέχει χαρακτηριστική οσμή καρυδιού και μωλωπισμένου μήλου, με κατώφλι αντίληψης τα 100mg/L και τυπική συγκέντρωση σε οίνους 10-75 mg/L. Η ποσότητά της μπορεί να αυξηθεί με την πάροδο του χρόνου εξαιτίας αερισμού και οξείδωσης της αιθανόλης και να υπάρξει συσσώρευση λόγω υψηλής συγκέντρωσης διοξειδίου του θείου. Σε λευκό οίνο η εμφάνισή της σηματοδοτεί οξείδωση. Το διακετύλιο δίνει την αίσθηση του βουτύρου και της καραμέλα, ενώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις καρύδι και καβουρδισμένους ξηρούς καρπούς (Romano and Suzzi, 1996). Συγκεκριμένα, διακυμάνσεις μεταξύ 1-4 mg/L παραπέμπουν σε βούτυρο, κρέμα καραμελέ και σε 5mg/L ανεπιθύμητα αρώματα χαλασμένου βουτύρου. Είναι ενδιάμεσο προϊόν στην αναγωγική αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος σε 2,3 βουτανοδιόλη με κατώφλι αντίληψης στους λευκούς οίνους τα 0,2mg/L (Martineau et al., 1995).. Σημαντική ποσότητα μπορεί να σχηματιστεί κατά τη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης από τα γαλακτικά βακτήρια. Επιπλέον, παράγοντες που μεσολαβούν στην περιεκτικότητα του

διακετυλίου είναι η ποικιλία, η θερμοκρασία ζύμωσης, τα επίπεδα του διεοξειδίου του θείου, η διάρκεια της μηλογαλακτικής και ο αέρας. Σε αερόβιρες συνθήκες αντιστοιχούν υψηλές ενδείξεις (Ταραντίλη, 2021).

Στα πτητικά συστατικά ανήκουν και τα πτητικά οξέα σε συγκεντρώσεις 500-1000mg/L. Τα πτητικά λιπαρά οξέα (προπιονικό και εξανοϊκό οξύ) είναι προϊόντα μεταβολισμού των λιπαρών οξέων από ζύμες και βακτήρια. Κύριο πτητικό λιπαρό οξύ στον οίνο είναι το οξικό οξύ που σε υψηλή περιεκτικότητα προσδίδει άρωμα ξυδιού (Τσακίρης, 2020). Τα αναερόβια οξικά βακτήρια μεταβολίζουν την αιθανόλη σε οξικό οξύ προκαλώντας αλλοίωση ως συνέπεια της υπερβολικής οξυγόνωσης. Ο *Saccharomyces* που επιτελεί τη ζύμωση παράγει επίσης οξικό οξύ σε μεταβαλλόμενες ποσότητες ανάλογα το στέλεχος, ενώ είναι και προϊόν της οξείδωσης της ακεταλδεϋδης. Άνω του 0,7-1,1 mg/L αποτελεί συνήθως πρόβλημα. Συνήθως τα εμπορικά στελέχη είναι εκείνα που παράγουν λιγότερο οξικό οξύ συγκριτικά με τα μητρικά (Bakker and Clarke, 2012). Η συνεισφορά του στον οίνο είναι αξιοσημείωτη χάρις την πολυπλοκότητα και την οσφρητική ισορροπία που προσδίδει (Khalafyan et al., 2023).

Επιπλέον στο δευτερογενές άρωμα συναντάμε τις λακτόνες. Πρόκειται για κυκλικούς εστέρες που προέρχονται από εσωτερική εστεροποίηση μεταξύ των ομάδων του καρβοξυλίου και του υδροξυλίου. Χαρακτηριστικός εκπρόσωπος λακτονών είναι γ-βουτυρολακτόνη, η οποία αυξάνεται κατά τη ζύμωση (Ταραντίλης, 2021). Οι λακτόνες σχετίζονται με ευχάριστες οσμές και διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στο αρωματικό προφίλ σταφυλιού και οίνου. Εν τούτοις, συνήθως υπάρχουν σε ίχνη στον οίνο και είναι δύσκολο να ποσοτικοποιηθούν (Qian et al., 2020).

Οι πτητικές φαινόλες είναι αρωματικές ενώσεις που συνεισφέρουν στο άρωμα του τελικού προϊόντος ζύμωσης. Δεν προϋπάρχουν στο γλεύκος αλλά σχηματίζονται στην αλκοολική ζύμωση ή απελευθερώνονται κατά την ωρίμανση. Παράγονται από πρόδρομα υδροξυκινναμωμικά οξέα στο γλεύκος (p-coumaric, ferulic). Στα σταφύλια υπάρχουν σε ίχνη αλλά κυρίως παράγονται σε σημαντικότερες συγκεντρώσεις κατά την αλκοολική ζύμωση από τον *Saccharomyces cerevisiae* και από μύκητες (*Brettanomyces*, *Dekkera spp.*) (Suarez et al., 2007). Η εμφάνισή τους είναι αποτέλεσμα υγιεινής στον εξοπλισμό του οινοποιείου και στον αέρα. Αξιοσημείωτες είναι η 4-αιθυλοφαινόλη που παραπέμπει σε οσμές φαρμάκων, στάβλου, η 4-αιθυλογουαϊκόλη σε οσμή πικάντικου, καπνιστού, η 4-βαιθυλοφαινόλη θυμίζει φάρμακα και η 4-βινυλογουαϊκόλη άρωμα γαρύφαλλου. Οι δύο πρώτες ενώσεις

συνεισφέρουν ουσιωδώς στον οίνο αλλά σε αυξημένες συγκεντρώσεις καθίσταται δυσάρεστες (Bakker and Clarke, 2012). Οι δύο τελευταίες συνήθως εντοπίζονται κάτω από το κατώφλι αντίληψής μας (Τσακίρης, 2020).

Υπάρχουν πέντε διαφορετικές ομάδες θειούχων ενώσεων στον οίνο: θειόλες, σουλφίδια, πολυσουλφίδια, θειοεστέρες και ετεροκυκλικές ενώσεις (Τσακίρης, 2020). Συνεισφέρουν κυρίως αρνητικά στο αρωματικό προφίλ και αναφέρονται ως ελαττωματικές οσμές. Κύρια πηγή τους είναι η αποικοδόμηση των θειούχων ενώσεων, η αποικοδόμηση των φυτοφαρμάκων με θείο, η απελευθέρωση και ο μεταβολισμός πρόδρομων ενώσεων της σταφυλής που περιέχουν θείο. Αποτέλεσμα είναι οι οσμές υδρόθειου που θυμίζουν κλούβιο αυγό, με κατώφλι αντίληψης τα 10-80 µg/L (Ronald, 2008). Το υδρόθειο προέρχεται από ανόργανες θειούχες ενώσεις, θειικό και θειώδες άλας και από οργανικές ενώσεις θείου, κυστεΐνη και γλουταθειόνη. Το σύνολό τους επηρεάζεται από την ποσότητα των θειούχων ενώσεων, τα στελέχη των ζυμομυκήτων, τα θρεπτικά συστατικά και τις συνθήκες ζύμωσης (Moreira et al., 2002). Η στιγμή παραγωγής του είναι στα αρχικά και τα ενδιάμεσα στάδια της ζύμωσης ως υποπροϊόντα. Οι θειόλες ή μερκαπτάνες με κατώφλι αντίληψης 1,1 µg/L, σχηματίζονται όπως η αιθανοθειόλη με αντίδραση του υδρόθειου με αιθανόλη ή ακεταλδεΐδη. Η αιθανοθειόλη σε υψηλά επίπεδα έχει αίσθηση κρεμμυδιού, καουτσούκ, φυσικού αερίου, η μεθανοθειόλη, κρεμμυδιού καουτσούκ και λάχανου ή σήψης (Jackson, 2002). Το διμεθυλοσουλφίδιο έχει χαμηλό κατώφλι αντίληψης (27 µg/L) και έχει άρωμα καλαμποκιού, σπαραγγιού, μελάσας λαμβάνοντας μέρος στο μπουκέτο του οίνου. Γενικά συναντάται λιγότερο στους λευκούς οίνους σε σχέση με τους ερυθρούς (Bakker and Clarke, 2012).

1.8 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography - HPLC)

Το 1906 ο Ρώσος Mikhail Tswett χρησιμοποίησε τη χρωματογραφία χάρτου για να διαχωρίσει φυτικές χρωστικές, εξού και το όνομα (χρώμα + γράφω) (Κωστάκης, 2021). Η HPLC ανήκει στις χρωματογραφικές τεχνικές. Ο διαχωρισμός είναι συνέπεια της συνδυαστικής δράσης μιας κινητής και μιας στατικής φάσης. Το δείγμα εισάγεται στην κορυφή της στήλης και με την συνδρομή της κινητής φάσης τα συστατικά του μετακινούνται με τη μορφή ζωνών με αποτέλεσμα να εκχλίζονται το ένα μετά το άλλο. Οι ουσίες που βρίσκονται προς ανάλυση κατανέμονται μεταξύ των δύο φάσεων.

Επακόλουθο είναι η μετακίνηση τους κατά μήκος της στήλης με διαφορετικές ταχύτητες (Κοντογιάννης, 2015).

Υπάρχουν διάφοροι τύποι HPLC: η χρωματογραφία προσροφήσεως, κατανομής στήλης, μοριακού αποκλεισμού, ιοντοανταλλαγής, ζεύγους ιόντων, συγγένειας, αποκλεισμού μεγέθους ή διάχυση πηκτής. Ένα σύστημα HPLC περιλαμβάνει φιάλες αποθήκευσης διαλυτών, αντλία (σταθερής ροής, σταθερής πίεσης), μονάδα εισαγωγής δείγματος, χρωματογραφική στήλη, ανιχνευτή, καταγραφικό. Ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος πραγματοποιείται στην αναλυτική στήλη. Η προώθηση της κινητής φάσης δια μέσου της στήλης γίνεται με αντλία. Η διαδικασία του διαχωρισμού ξεκινά με την εισαγωγή του δείγματος στην στήλη. Οι ανιχνευτές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι οι ακόλουθοι: ανιχνευτές ορατού-υπεριώδους, δείκτης διάθλασης, ανιχνευτής παράταξης φωτοδιοδών, αγωγιμομετρικοί, φασματογράφοι μάζας, ηλεκτροχημικοί, ραδιενέργειας, σκεδασμού φωτός, ανιχνευτής φλόγας, ηλεκτροχημικοί (Skoog et al., 2007).

Η προετοιμασία του δείγματος αποτελεί ένα σημαντικό μέρος. Σκοπός είναι η παραλαβή ενός ομογενούς διαλύματος, κατάλληλο για εισχώρηση στην στήλη. Στόχος της προετοιμασίας είναι η λήψη απαλλαγμένου δείγματος από ανεπιθύμητες ουσίες, ακίνδυνο για την στήλη και συμβατό με τη μέθοδο. Κάποιες φορές επιθυμείται η προσυγκέντρωση των προσδιοριζόμενων ουσιών ή η παραγωγοποίησή τους για βέλτιστη ανίχνευση ή καλύτερο διαχωρισμό. Η προετοιμασία αρχίζει με την συλλογή του δείγματος και επεκτείνεται με ενδιάμεσα στάδια μέχρι και την έγχυση στην στήλη χρωματογραφίας (Κωστάκης, 2021).

Στην υγρή χρωματογραφία η στατική φάση συναντάται ως υγρό καθηλωμένο σε στερεό υπόστρωμα ή ως στερεό πορώδες υλικό. Από την άλλη η κινητή φάση είναι υγρή. Ο διαχωρισμός αφορά τις διαφορές σε ορισμένες ιδιότητες που περιέχονται μεταξύ των συστατικών ενός μείγματος. Η διαβίβαση της κινητής φάσης μέσα από την στατική μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο τρόπους, είτε με τη χρήση αντλιών χαμηλής πίεσης είτε υψηλής πίεσης. Η HPLC είναι μια ταχύς τεχνική που καθιερώνεται για την ανάλυση μειγμάτων ουσιών. Παρέχει τόσο ποιοτικό όσο και ποσοτικό προσδιορισμών των ουσιών που εξετάζονται (Skoog et al., 2007).

1.9 Εκχύλιση υγρού – υγρού (Liquid – liquid Extraction, LLE) – Αέρια Χρωματογραφία συνδυασμένη με Φασματομετρία Μαζών (Gas Chromatography – Mass Spectrometry, GC-MS)

Η υγρή-υγρή εκχύλιση συνιστά την πιο διαδεδομένη μέθοδο εκχύλισης. Εφαρμόζεται για το διαχωρισμό μιας ουσίας με τη βοήθεια κάποιου διαλύτη σε σημαντικά ελλιπής ποσότητα. Ουσιαστικά πραγματοποιείται εκχύλιση υγρού από ένα άλλο υγρό. Μπορεί να είναι μια απλή εκχύλιση σε θερμοκρασία δωματίου, ή εν θερμώ, π.χ. 25 °C για εξάτμιση των πτητικών συστατικών, με ή χωρίς ανάδευση. Άλλος τρόπος λειτουργίας της μεθόδου αποτελεί η χρήση διαχωριστικής χοάνης για εκχύλιση, με προσθήκη ενός διαλύτη, ανάδευση της χοάνης και παραλαβή της υποκείμενης φάσης. Η επιλογή του διαλύτη καθορίζεται ώστε να μην αναμιγνύεται με την ένωση άρα να οδηγείται στη δημιουργία δύο στρωμάτων (Ταραντίλης, 2021). Οφείλεται να σημειωθεί πως η ένωση που θα εκχυλιστεί χρειάζεται να έχει μεγαλύτερη διαλυτότητα από το διαλύτη που χρησιμοποιείται. Η επιλογή κατάλληλου διαλύτη είναι συνάρτηση των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων των συνολικών ουσιών του μείγματος. Ο διαλύτης που επιλέγεται πρέπει να διαλύει μόνο την ουσία που χρειάζεται να εκχυλιστεί, να έχει χαμηλό σημείο ζέσεως για εύκολη απομόνωση της ουσίας, να μην είναι τοξικός και εύφλεκτος και να σχηματίζει σταθερό γαλάκτωμα με την ένωση (Γαλάνη, 2022).

Αυτή η τεχνική βασίζεται στην ισορροπία κατανομής ουσιών μεταξύ δύο φάσεων που αναμιγνύονται ελάχιστα μεταξύ τους. Τα συστατικά του μίγματος κατανέμονται σε ανόργανα άλατα και πολικές οργανικές ουσίες σε υδατική φάση και σε μη πολικές οργανικές ουσίες σε μια οργανική φάση. Γενικά είναι μια χρήσιμη μέθοδος για την συμπύκνωση και απομόνωση των πτητικών συστατικών του οίνου. Χαρακτηρίζεται ως μια ταχεία, εύκολη, οικονομική μέθοδος με αναπαραγωγικότητα. Αν και πρόκειται για μια απλή διαδικασία, η αφαίρεση υγρασίας χρήζει προσοχής για την παραλαβή του επιθυμητού δείγματος για GC-MS (Ortega et al., 2001).

Μετά την κατάλληλη προετοιμασία το δείγμα οδηγείται στον αέριο χρωματογράφο για ανάλυση. Οι δυνατότητες της αέριας χρωματογραφίας πληθύνονται με τη χρήση του φασματόμετρου μάζας, ως ανιχνευτή των συστατικών που εξέρχονται από την στήλη (Ivanova et al., 2012). Το φασματόμετρο μάζας επιδρά στη διάσπαση τους σε ιόντα και στην πορεία διαχωρίζει τα ιόντα ανάλογα με τη μάζα και το φορτίο τους. Η καταγραφή των θραυσμάτων των εξαγόμενων συστατικών ονομάζεται φάσμα μάζας και αποτελεί το δακτυλικό αποτύπωμα του ανάλογου συστατικού. Η σύγκριση του φάσματος της μάζας των συστατικών με τα φάσματα μάζας γνωστών ουσιών οδηγεί στην ταυτοποίηση των συστατικών αυτών (Fabjanowicz et al., 2022). Γίνεται ποιοτική ανάλυση (προσδιορισμός ταυτότητας) σχετικά με το χρόνο ανάσχεσης κάθε ουσίας σύμφωνα με τις πρότυπες ουσίες και ποσοτική ανάλυση (ποσότητα)

συγκρίνοντας το ύψος ή το εμβαδό της κορυφής των συστατικών του δείγματος συγκριτικά με των ουσιών. Η αέρια χρωματογραφία αναφέρει τη διαφορετική ταχύτητα μετατόπισης των συστατικών μέσω μιας κινητής και μια στατικής φάσης (Ταραντίλης, 2022).

1.10 Οργανοληπτικός έλεγχος

Ο οργανοληπτικός έλεγχος πραγματοποιείται με τέσσερις αισθήσεις: την όραση, την όσφρηση, τη γεύση και την αφή. Σκοπό έχει να προσδιορίσει και να αξιολογήσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου που αντιπροσωπεύουν την ποιότητά του (Τζίτζη and Κυπαρισσίου, 2010). Πέρα από την ενόργανη ανάλυση που πραγματοποιείται σε όλη τη διάρκεια παραγωγής του οίνου, η οργανοληπτική εκτίμηση είναι εκείνη που οδηγεί στα τελικά συμπεράσματα για την αξία του οίνου. Αν και η πληθώρα των πτητικών εντοπίζεται εργαστηριακά, υπάρχουν ουσίες που γίνονται αντιληπτές μόνο μέσω των αισθήσεων λόγω της μικρής συγκέντρωσης που κατέχουν (Charters et al., 2006).

Η γευσιγνωσία έχει διαφορετικό σκοπό για διαφορετικούς ανθρώπους. Η εκπαίδευση και η εμπειρία απαιτούνται για το διαχωρισμού της υποκειμενικής αξιολόγησης από την αντικειμενική. Γενικά η γευστική δοκιμή διεξάγεται σε συνθήκες που ευνοούν τη θετική αξιολόγηση. Δεν πρόκειται για κριτική αλλά για αντανάκλαση των διαφορετικών λειτουργιών της οινογευσίας. Από τη μια πλευρά οι οινοπαραγωγοί και οι οινολόγοι κατέχουν τα προσωπικά τους κριτήρια δοκιμής. Μέσα από την συνεχή γευσιγνωσία και παρακολούθηση, προετοιμάζουν κρασιά σταθερής ποιότητας και χωρίς ελαττώματα (Jackson, 2009). Ταυτόχρονα προσπαθούν να ενστερνιστούν έναν ειδικό τύπο οίνου ή να δημιουργήσουν έναν νέο. Οι χονδρέμποροι και οι λιανοπωλητές εστιάζουν στα ενδιαφέροντα και τις επιθυμίες των πελατών τους, ενώ οι καταναλωτές προτιμούν τον οίνο με το οποίο αντλούν την περισσότερη απόλαυση. Η επαφή του με τις αισθήσεις του κάθε ανθρώπου διαμορφώνει μια σχετική αντίληψη η οποία μπορεί να συνάδει ατομικά, τοπικά ή παγκόσμια. Για την περιγραφή του κάθε οίνου και την κατανόηση των αντιλήψεων χρησιμοποιείται εξειδικευμένο λεξιλόγιο για καλύτερη συνεννόηση μεταξύ των ειδικών (Τσακίρης, 2020).

Για μια επιτυχημένη λήψη αποτελεσμάτων προαπαιτείται η απαραίτητη προετοιμασία της οργανοληπτικής δοκιμασίας. Η οργανοληπτική εκτίμηση πραγματοποιείται σε ειδικά διαμορφωμένους χώρους με βάση το πρωτόκολλο όπως ορίζεται από τον International Organization for Standardization ISO 3591. Ο χώρος

πρέπει να είναι καθαρός, απαλλαγμένος από μυρωδιές και θορύβους. Είναι αναγκαίο να διατηρείται κατάλληλος φωτισμός, ευχάριστος καλά φωτισμένος χώρος με λευκό ή φυσικό φως, με κατάλληλη σταθερή θερμοκρασία 20-22 °C και σχετική υγρασία σε 60-70%. Καθίσταται υποχρεωτικό να υπάρχουν κουβούκλια για το διαχωρισμό μεταξύ των δοκιμαστών, καθώς και μέρος για τη δυνατότητα αποθήκευσης και προετοιμασίας των δειγμάτων. Ένα υποδειγματικό ποτήρι πρέπει να είναι κρυστάλλινου τύπου με μορφή τουλίπας. Το ποτήρι δοκιμής πρέπει να έχει μακρύ πόδι και να στενεύει προς τα πάνω. Με αυτό τον τρόπο επιτρέπεται η κράτηση του ποτηριού χωρίς τη μεταφορά θερμότητας του σώματος στο περιεχόμενο. Ο δοκιμαστής έχει τη δυνατότητα να παρατηρεί καλύτερα τον οίνο και τα αρώματα παγιδεύονται στο εσωτερικό του ποτηριού. Ο κάθε δοκιμαστής χρειάζεται να έχει ατομικό πτυελοδοχείο και έντυπο αξιολόγησης (Grainger, 2009). Οι γευσιγνώστες οφείλουν πριν τη διαδικασία να μην έχουν καταναλώσει συγκεκριμένες τροφές (π.χ. καφές), να μην έχουν καπνίσει, βάλει αρώματα ή καλλωπιστικά προϊόντα στα χείλη. Είναι σημαντικό να σέβονται τα ωράρια προσέλευσης και να διατηρούν την ησυχία καθ' όλη τη διάρκεια. Σύμφωνα με τον OIV οι προτεινόμενες θερμοκρασίες δοκιμής διαφέρουν ανάλογα με το είδος του οίνου. Για παράδειγμα οι αφρώδη οίνοι σερβίρονται στους 8-10 °C, οι λευκοί και ροζέ στους 10-12 °C, οι ερυθροί στους 15-18 °C, οι γλυκείς στους 10-14 °C, ενώ τα αποστάγματα στους 12-16 °C (Καλλίθρακα, 2022).

Η σωστή δοκιμή προέρχεται ύστερα από ορισμένα βήματα ειδικής τεχνικής για τον έλεγχο της όψης, της οσμής και της γεύσης του οίνου. Οι τέσσερις αισθήσεις που χρησιμοποιούνται για την συνολική αξιολόγηση ποιότητας είναι η όραση για την οπτική εξέταση, η όσφρηση για την οσφρητική εξέταση, η γεύση και αφή για τη γευστική εξέταση. Ως επί το πλείστον, είναι σημαντική η τήρηση της σειράς δοκιμής, με τους αφρώδης οίνους να προηγούνται, ύστερα οι λευκοί, μετά οι ερυθροί και τελευταίοι οι γλυκείς ή τα αποστάγματα (Styger et al., 2011). Η οπτική εξέταση περιλαμβάνει την παρατήρηση του οίνου για το χρώμα, την απόχρωση, την ένταση, τη διαύγεια, την αδράνεια, τη ρευστότητα αλλά και την έκλυση διοξειδίου του άνθρακα. Ο οσφρητικός έλεγχος εμπεριέχει τη δύναμη, την ποιότητα και το είδος των αρωμάτων. Πληροφορεί για τυχόν ελαττωματικές οσμές και σηματοδοτεί τεχνικές οινοποίησης. Τέλος, με τη γευστική εξέταση γίνονται αντιληπτές οι στοιχειώδεις γεύσεις του πικρού, γλυκού, αλμυρού, όξινου και η αίσθηση της στυφάδας, του ιξώδους, του σώματος και της λιπαρότητας. Τα αρώματα και η διάρκεια επίγευσης συντελούν συνολικά στην

ποιότητα γεύσης και ισορροπίας. Όλη η παραπάνω διαδικασία προσδίδει διέξοδο στην αδυναμία της χημικής ανάλυσης να αναδείξει κάθε οίνο (Ντουρτόγλου, 2020).

1.11 Σκοπός μεταπτυχιακής μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιοποίηση γηγενών στελεχών σε μια ιδιαίτερη ποικιλία, το Ασύρτικο Σαντορίνης, για τη διεξαγωγή της αλκοολικής ζύμωσης και την ενδυνάμωση του αρωματικού προφίλ, αλλά και η σύγκριση των παραγόμενων οίνων ως προς αυτά τα χαρακτηριστικά.

Κεφάλαιο 2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Οινοποίηση με γηγενείς ζύμες

Στα πλαίσια της μελέτης υλοποιήθηκαν τέσσερις οινοποιήσεις με την ποικιλία Ασύρτικο της Σαντορίνης. Ο τρύγος έλαβε χώρα στις 13/08/2022 στον αμπελώνα της Σαντορίνης. Η αλκοολική ζύμωση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση τεσσάρων διαφορετικών στελεχών, προς παραγωγή οίνου λευκού ξηρού. Τα στελέχη ζυμών ήταν το *Rhone*, το *Mac2*, το *Merlot* και ο ζυμομύκητας από την Σαντορίνη *Sc24*. Όλα τα στελέχη απομονώθηκαν από την ιδιωτική συλλογή του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Τα στελέχη διατηρούνταν αποθηκευμένα σε συνθήκες κατάψυξης (-80°C) με κρυοπροστατευτικό διάλυμα γλεκερόλης 30% (v/v). Η ενεργοποίηση των ζυμών πραγματοποιήθηκε με προθήκη 200 μL σε 10 mL μίγματος – μέσου δεξτρόζης, ζύμης πεπτόνης (20 g/L γλυκόζη, 10 εκχύλισμα ζύμης g/L, 10 g/L πεπτόνης, $\text{pH} \approx 3,5$) στους 24°C για 24 ώρες. Η καθαρότητα του κάθε στελέχους διαπιστώθηκε μέσω οπτικού μικροσκοπίου. Οι προκαλλιέργειες πραγματοποιήθηκαν σε φιάλες των 250 mL με 50 mL μέσου, που είχε προηγηθεί αποστείρωση σε αυτόκαυστο ($T = 115^{\circ}\text{C}$ και 1,5 atm) για 15 λεπτά.

Η διεξαγωγή του γλεύκους τελέστηκε με τη χρήση πνευματικών πιεστηρίων στους 8°C . Στη συνέχεια το γλεύκος διαύγασε φυσικά κατά τη διάρκεια 12 ωρών στους 4°C , χωρίς την προσθήκη ενζύμων. Μετά το τέλος της διαύγασης, προστέθηκε στο γλεύκος διοξείδιο του θείου με τη μορφή μεταθειώδους καλίου (Winy, Enartis) σε περιεκτικότητα ολικού θειώδους περίπου 60 m/L και έγινε μικροφιλτράρισμα (με φίλτρο 0,45 μm) για την απομάκρυνση των κυττάρων γηγενών ζυμών. Πρόκειται για οινοποίηση βιομηχανικής κλίμακας υπό αναερόβιες συνθήκες με εμβολιασμό των

τεσσάρων στελεχών σε αζύμωτο γλεύκος Ασύρτικου. Τα στελέχη αφού αποψύχθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου. Στην πορεία έγινε η προετοιμασία και η εκκίνησή τους με σταδιακή μεταφορά σε περιέκτες έως 40 L.

Για την οινοποίηση χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις ανοξείδωτες μεταλλικές δεξαμενές χωρητικότητας 500 λίτρων, μία για το κάθε στέλεχος και στις 16/08/2022 έγινε ο εμβολιασμός του μάρτυρα με τον κάθε ζυμομύκητα σε συγκέντρωση 106 cfu/mL στους 18°C . Με την έναρξη της ζύμωσης το γλεύκος σε κάθε δεξαμενή εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα ζυμών (Creaferm Ever) και DAP (φωσφορικό διαμμώνιο) (DAP Activ, Vason) προς επίτευξη επιθυμητών συγκεντρώσεων 150 και 250 mg N/L αντίστοιχα, με στόχο την ομαλή εξέλιξη της ζύμωσης. Ύστερα από παρακολούθηση της ζύμωσης σε καθημερινή βάση με μέτρηση της πυκνότητας, πάρθηκαν δείγματα καθ' όλη τη διάρκεια της οινοποίησης προς μελέτη των επιπέδων σακχάρων γλυκόζης και φρουκτόζης και παρατήρηση της εξέλιξης της αιθανόλης. Οι ζυμώσεις εξελίχθηκαν μέχρι πλήρης κατανάλωσης των σακχάρων ή τερματισμού της δραστηριότητας των ζυμομυκήτων. Η παραγωγή και η εμφιάλωση σε φιάλες των 750 mL διεξάγει στο οινοποιείο Santo Wines, στην τοποθεσία του Πύργου Θήρας της Σαντορίνης. Από τις τέσσερις φιάλες Ασύρτικου εκτελέστηκε η μελέτη των πτητικών συστατικών και διενεργήθηκε ο οργανοληπτικός έλεγχος των οίνων.

Για το Ασύρτικο με τη χρήση ζύμης *Rhone* σημειώθηκε αλκοόλη 15,1 % vol., ολική οξύτητα 7,8 g. τρυγικού οξέος και pH 2,98. Για το Ασύρτικο με τη χρήση ζύμης *Mac2* σημειώθηκε αλκοόλη 13,6 % vol., ολική οξύτητα 6,9 g. τρυγικού οξέος και pH 2,99. Για το Ασύρτικο με τη χρήση ζύμης *Sc24* σημειώθηκε αλκοόλη 14,9 % vol., ολική οξύτητα 7,5 g. τρυγικού οξέος και pH 2,99 και με τη ζύμη *Merlot* μετρήθηκε αλκοόλη 14,2 % vol, ολική οξύτητα 7,2 g. τρυγικού οξέος και pH 2,95. Οι παράμετροι αυτοί προσδιορίστηκαν με βάση τις μεθόδους του Διεθνούς Οργανισμού Οίνου και Αμπέλου (IOV, 2020).

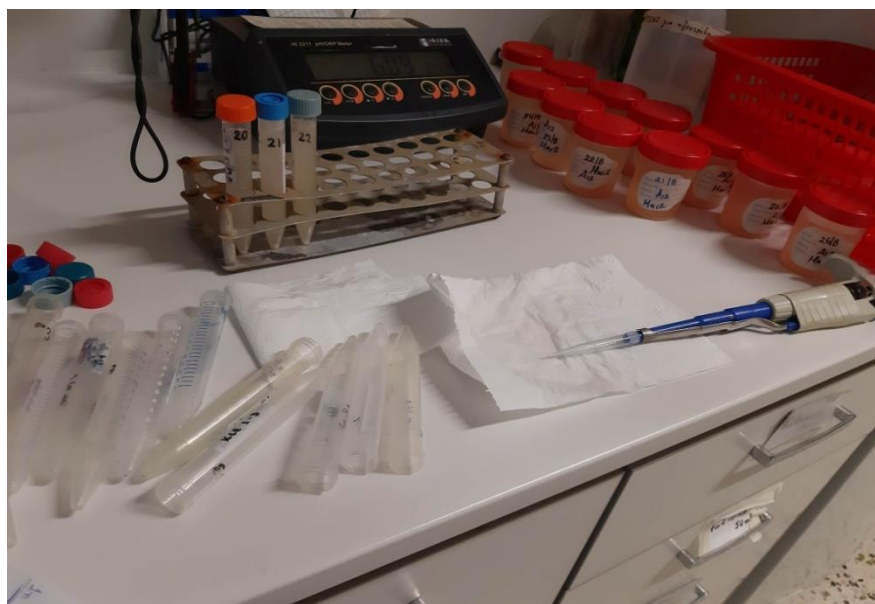
2.2 Προσδιορισμός σακχάρων και δευτερογενών μεταβολιτών της ζύμωσης με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (HPLC)

Για τον προσδιορισμό των σακχάρων γλυκόζης και φρουκτόζης καθώς και των δευτερογενών μεταβολιτών αιθανόλης και γλυκερόλης, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (HPLC). Αρχικά φτιάχτηκε η κινητή φάση 10 mM H₂SO₄ (θεικού οξέος), ένα υδατικό διάλυμα αραιωμένο με δισαπεσταγμένο και φιλτραρισμένο νερό (1 L νερό + 555 μL θειικό) (Εικόνα 1.). Στη

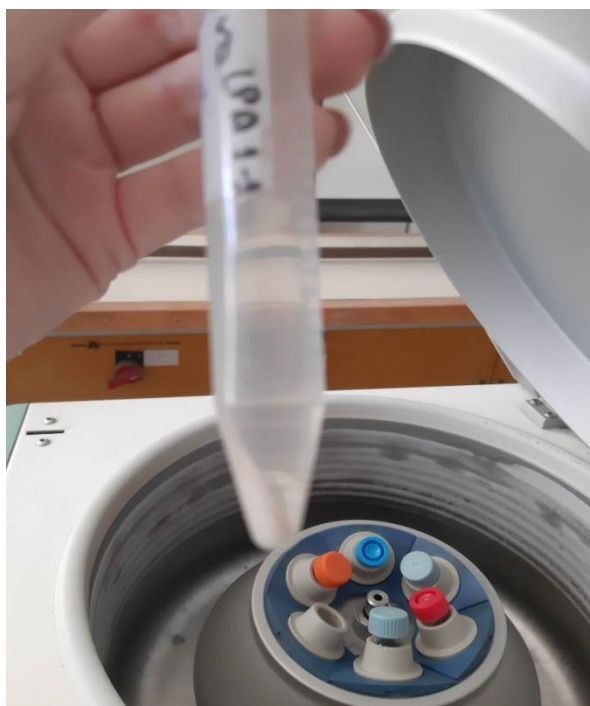
συνέχεια έγινε η προετοιμασία των δειγμάτων. Τα δείγματα διακρίθηκαν (Εικόνα 2.), φυγοκεντρήθηκαν (Εικόνα 3.) και πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός φάσεων.



Εικόνα 2.2: Προετοιμασία κινητής φάσης (10 mM H₂SO₄)



Εικόνα 2.3: Προετοιμασία δειγμάτων για HPLC

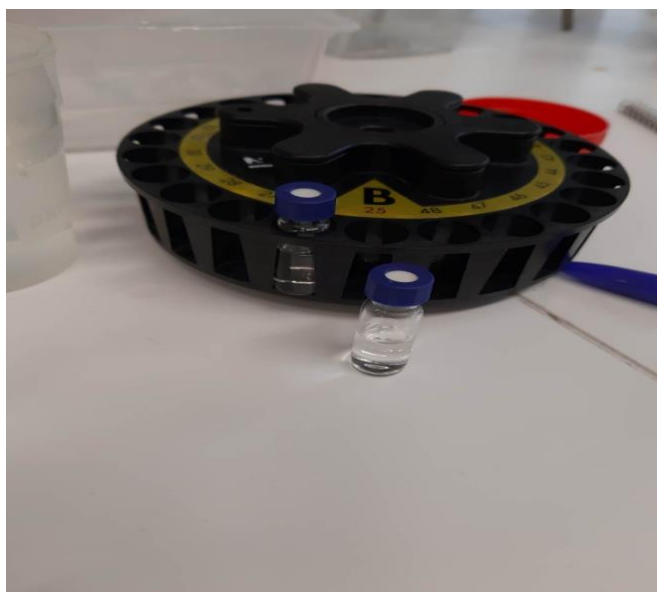


Εικόνα 2.4: Φυγοκέντρηση δειγμάτων

Στη συνέχεια έγινε η αραιώση της υπερκείμενης φάσης με το υδατικό διάλυμα θεικού οξέος 10 mM και ακολούθησε φιλτράρισμα με φίλτρο πόρων 0,2 μm (Εικόνα 4.). Για την συγκεκριμένη διαδικασία χρησιμοποιήθηκε το σύστημα της HPLC με το δείγμα (Εικόνα 5.) να εισάγεται στη χρωματογραφική στήλη (στατική φάση), τα συστατικά του να προωθούνται μέσω αντλίας, να μετακινούνται με διαφορετικές ταχύτητες και να διαχωρίζονται (κινητή φάση). Η στατική φάση αποτελούνταν από την στήλη τύπου ROA – Organic Acid H^+ (LCColumn 300 x 7,8 mm) της εταιρείας Phenomenex. Η κινητή φάση ήταν ένα υδατικό διάλυμα θεικού οξέος 10 mM αραιωμένο σε δισπαπεσταγμένο και φιλτραρισμένο νερό. Η ροή κατά την ανάλυση των δειγμάτων καθορίστηκε στο 0,5 mL/min με θερμοκρασία θαλάμου στους 60 °C. Το χρωματογράφημα διαρκεί 30 λεπτά για τον όγκο 15 mL της στήλης. Η ταυτοποίηση των δειγμάτων βασίστηκε στο χρόνο ανασχεσης ή κατακράτησης που συγκρίθηκε με γνωστά πρότυπα διαλύματα.



Εικόνα 2.5: Φιλτράρισμα δειγμάτων

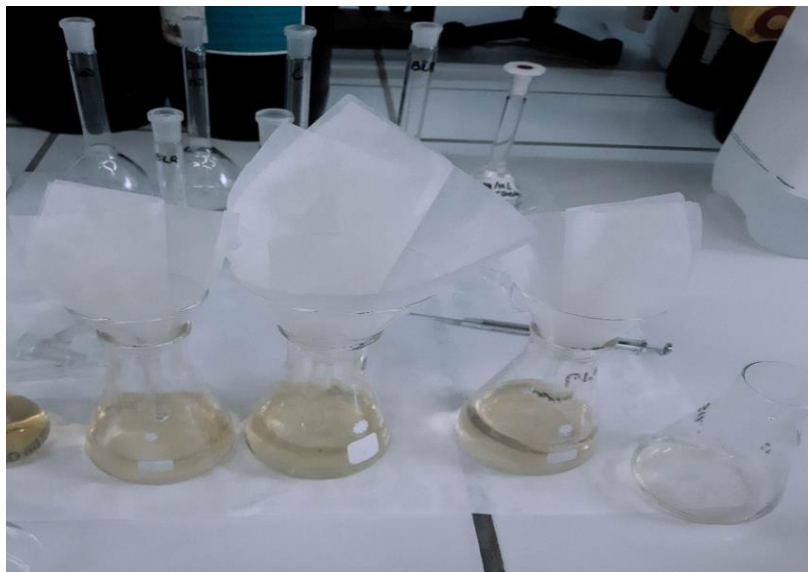


Εικόνα 2.6: Έτοιμο δείγμα για HPLC

2.3 Ανάλυση πτητικών συστατικών με Αέρια Χρωματογραφία συνδυασμένη με Φασματομετρία Μαζών (GC-MS)

Ο προσδιορισμός των πτητικών συστατικών των τεσσάρων οίνων Ασύρτικου πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο εκχύλισης υγρού – υγρού και η ανάλυσή τους διενεργήθηκε με αέρια χρωματογραφία συνδυασμένη με φασματομετρία μαζών. Για

την εκχύλιση υγρού – υγρού χρειάστηκε να φτιαχτεί ένα εσωτερικό πρότυπο διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης 2-οκτανόλης. Για 70% αλκοόλης με υπερκάθαρο νερό, προστέθηκε σε μια κωνική φιάλη 35 mL αιθανόλη και 50 mL υπερκάθαρο νερό δισαπιονισμένο και ανακατεύτηκε. Ζυγίστηκαν 50 mg 2-οκτανόλης, προστέθηκε το υδροαλκολικό διάλυμα και αναδεύτηκαν. Για την προετοιμασία των δειγμάτων εφαρμόστηκε διήθηση του οίνου σε μια κωνική φιάλη (Εικόνα 6.).



Εικόνα 2.7: Φιλτράρισμα οίνων

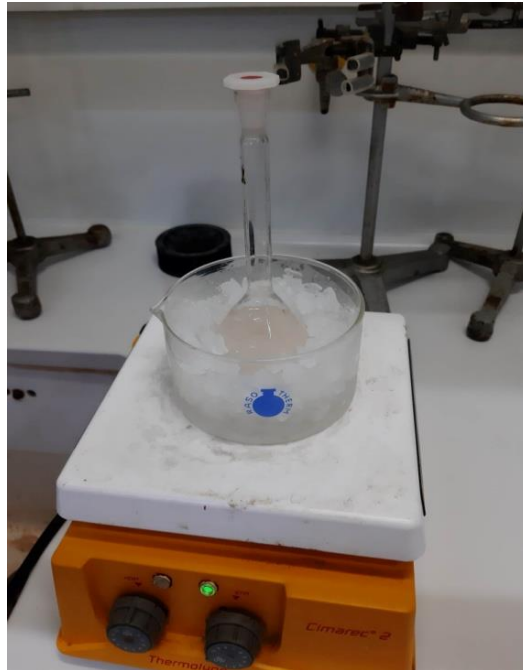
Στη συνέχεια σε μια ογκομετρική φιάλη μεταφέρθηκαν 50 mL και έγινε προσθήκη 100μL πρότυπου διαλύματος. Κλείστηκε με πώμα και αναδεύτηκε (Εικόνα 7.). Το διάλυμα αυτό εισήχθη σε μια άλλη ογκομετρική φιάλη των 100 mL όπου προστέθηκαν 25 mL διχλωρομεθανίου. Αυτός ήταν ο οργανικός μας διαλύτης.



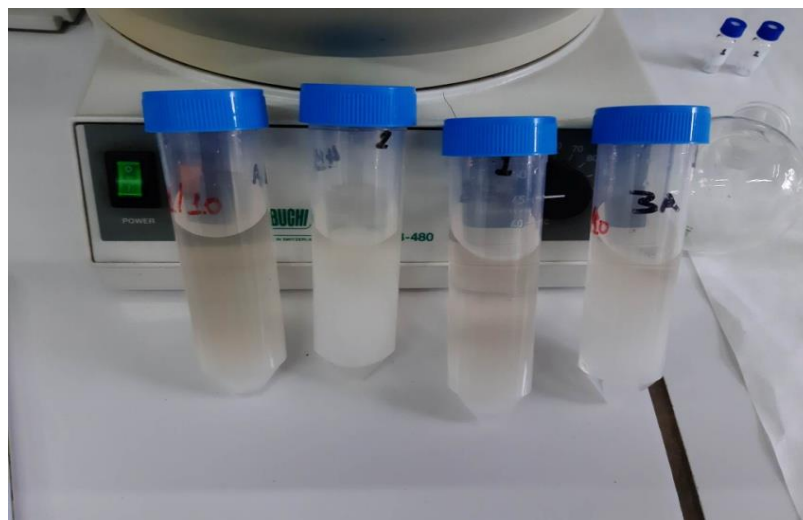
Εικόνα 2.8: Οίνος με πρότυπο διάλυμα

Στην πορεία έγινε μεταφορά για ανάδευση 30 λεπτών σε παγόλουτρο (Εικόνα 8.). Μετά την ολοκλήρωση της ανάδευσης πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση στα 9000xG για 10 λεπτά στους 4 °C για το διαχωρισμό των φάσεων (Εικόνα 9.). Μεταφέρθηκε το διάλυμα σε μια χοάνη (Εικόνα 10.) και διαχωρίστηκε η υδατική φάση από την οργανική την οποία και κρατήσαμε. Τέλος, οδηγήθηκε στον εξατμιστήρα για αφαίρεση υγρασίας (Εικόνα 11.). Με μια πιπέτα Pasteur μεταφέρθηκε το δείγμα σε φιαλίδιο με inserts και εφαρμόστηκε ειδικός πωματισμός (Teflon lined septum) δια μέσου του οποίου εισήχθη η SPME σύριγγα. Η ανάλυση των δειγμάτων έλαβε χώρα σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματογράφο μάζας (GC/MS), Agilent 6890/5972. Οι πτητικές ενώσεις διαχωρίστηκαν σε τριχοειδή στήλη Innowax (Cross linked Polyethylene glycol) διαστάσεων 60m x 0.2mm x 0.2μm. Το φέρον αέριο ήταν ήλιον υψηλής καθαρότητας (He, 5.0), με πίεση 18 psi και ροή 1 mL/min. Η εισαγωγή του δείγματος, όγκου 1 μL, πραγματοποιήθηκε με αυτόματο δειγματολήπτη. Χρησιμοποιήθηκε γυάλινος εισαγωγέας με λειτουργία splitless/split (μη διαμοιρασμός για 1min και ακολούθως διαμοιρασμός 1:50). Το πρόγραμμα θερμοκρασίας του κλιβάνου είχε ως εξής: 60 °C για 5 min (ισόθερμα), στη συνέχεια ρυθμός αύξησης 1,5 °C/min έως τους 140 °C και κατόπιν ρυθμός αύξησης 3 °C/min έως τους 205 °C. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα και της γραμμής μεταφοράς (transferline) των αναλυτών στον ανιχνευτή ήταν σταθερή στους 200 °C και 280 °C, αντίστοιχα. Η ενέργεια των ηλεκτρονίων για την θραυσματοποίηση των μορίων στο φασματογράφο μάζας ήταν

70eV. Η ταυτοποίηση των ενώσεων έγινε με σύγκριση των χρόνων ανάλυσης και των σχετικών αφθονιών των ιόντων με τα αντίστοιχα των προτύπων ουσιών.



Εικόνα 2.9: Ανάδευση σε παγόλουτρο



Εικόνα 2.10: Δείγματα ύστερα από φυγοκέντρηση



Εικόνα 2.11: Διαχωρισμός φάσεων σε χοάνη



Εικόνα 2.12: Εξάτμιση

2.4 Οργανοληπτικός έλεγχος οίνων

Σκοπός του οργανοληπτικού ελέγχου ήταν να αξιολογηθεί η τελική ποιότητα του οίνου και να συγκριθούν οι εργαστηριακές αναλύσεις με τις οργανοληπτικές εκτιμήσεις. Η οργανοληπτική αξιολόγηση έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Οινολογίας στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών σε ειδικά διαμορφωμένους χώρους με λευκούς πάγκους. Συγκεντρώθηκαν 8 δοκιμαστές, άντρες και γυναίκες, που δοκίμασαν από δύο φορές το κάθε κρασί χωρίς να γνωρίζουν την προέλευση του καθενός. Χρησιμοποιήθηκε τριψήφιος αριθμός για την κωδικοποίηση των δειγμάτων με τυχαία σειρά. Η αντιστοίχιση των κωδικών για το Ασύρτικο με *Sc24* ήταν 718 και 345, για το *Merlot* 294 και 653, για το *Rhone* 518 και 105, για το *Mac2* 841 και 235. Για τον οργανοληπτικό έλεγχο χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα ποτήρια γευσιγνωσίας τύπου ISO σε σχήμα τουλίπας και πλήρωση 30 mL. Τα ποτήρια ήταν καλυμμένα με καπάκια για τη μείωση της απώλειας των πτητικών συστατικών. Όλοι οι δοκιμαστές είχαν ποτήρι με νερό για καθαρισμό του στόματος. Όλα τα δείγματα πτύονταν σε ατομικό πτυελοδοχείο. Για την συμπλήρωση των ερωτηματολογίων (Εικόνα 12.) ήταν απαραίτητη η οπτική, η οσφρητική και η γευστική εξέταση των οίνων. Τα κριτήρια που κρίθηκαν να αξιολογήσουν οι δοκιμαστές αναφέρονταν στην όψη για τη διαπίστωση της απόχρωσης, στη μύτη για τον εντοπισμό της έντασης, των αρωμάτων και της οξείδωσης και στο στόμα για την αντίληψη της οξύτητας, γλυκύτητας και του σώματος. Τέλος, δόθηκε μια τελική αξιολόγηση για τη συνολική εντύπωση του οίνου. Η κλίμακα βαθμολόγησης που χρησιμοποιήθηκε ήταν το 1 έως 5 με το 1 να αντιστοιχεί στο λιγότερο και το 5 στο περισσότερο. Παρακάτω παρατίθεται η φόρμα όπως δόθηκε στους συμμετέχοντες του οργανοληπτικού ελέγχου:

<i>Παρακαλώ όπως βαθμολογήσετε τα δείγματα από 1-5 (1=λιγότερο, 5= περισσότερο)</i>	Δείγματα	718	294	345	105	841	528	235	653
Όψη	Απόχρωση (1 πράσινο, 5 καφέ)								
Μύτη	Ένταση								
	Ανθικά αρώματα								
	Φρουτώδη αρώματα								
	Οξείδωση								
Στόμα	Οξύτητα								
	Γλυκύτητα								
	Λιπαρότητα - Σώμα								
	Γενική Εκτίμηση								

Εικόνα 2.13: Ερωτηματολόγιο Οργανοληπτικού ελέγχου

2.5 Στατιστική ανάλυση

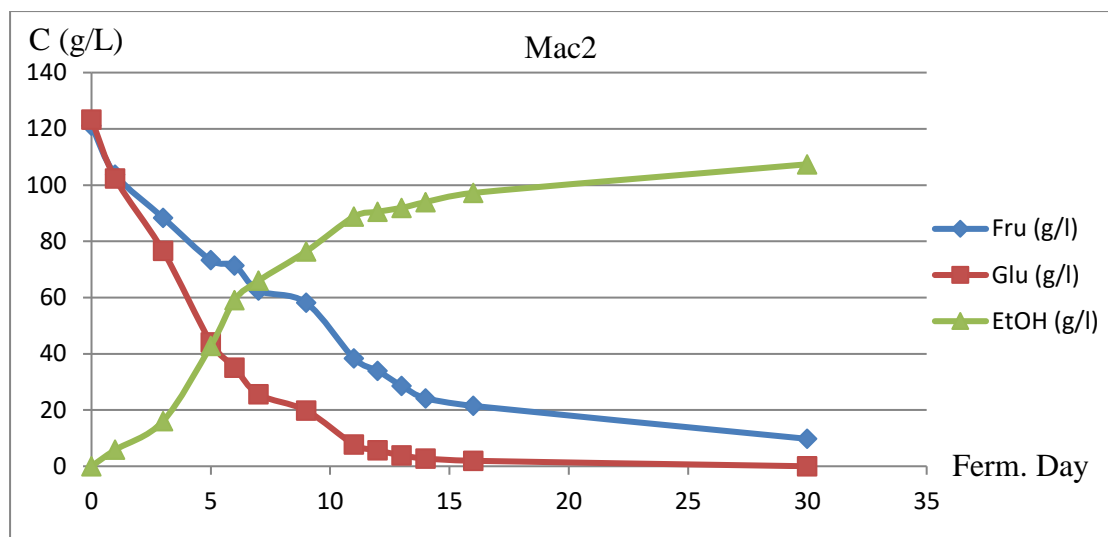
Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης Statgraphics. Το Tukey's HSD (honest significant difference) test χρησιμοποιήθηκε για την σύγκριση των δειγμάτων, όταν παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές μετά την εφαρμογή ANOVA ($p < 0,05$) στα αποτελέσματα των αναλύσεων. Στα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στη συνέχεια σε πίνακες, αναγράφεται το μέσο σφάλμα των επαναλήψεων ως \pm του μέσου όρου αυτών ή ως μπάρες όταν τα αποτελέσματα απεικονίζονται σε διάγραμμα. Με a, b, c, d χαρακτηρίζεται η στατιστική διαφορά των δειγμάτων (σε επίπεδο σημαντικότητας 5%), ενώ δείγματα με ίδιο γράμμα δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα – Συζήτηση

Σε αυτό το κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα των αναλύσεων που διεξήχθησαν κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας για τέσσερις οινοποιήσεις της ποικιλίας Ασύρτικου Σαντορίνης με τη χρήση επιλεγμένων στελεχών ζυμομυκήτων *Saccharomyces* (*Rhone*, *Mac2*, *Sc24*, *Merlot*). Παρακάτω παρουσιάζονται οι κινητικές κάθε ζύμωσης με την κατανάλωση των σακχάρων γλυκόζη και φρουκτόζη και την παραγωγή δευτερογενών μεταβολικών προϊόντων αιθανόλης και γλυκερόλης. Στη συνέχεια παριστάνονται σε γραφήματα στήλης τα πτητικά συστατικά που μελετήθηκαν για τον κάθε οίνο με το αντίστοιχο στέλεχος και καταλήγει ο οργανοληπτικός έλεγχος σε αραχνοειδές διάγραμμα.

3.1 Κινητικές αλκοολικής ζύμωσης

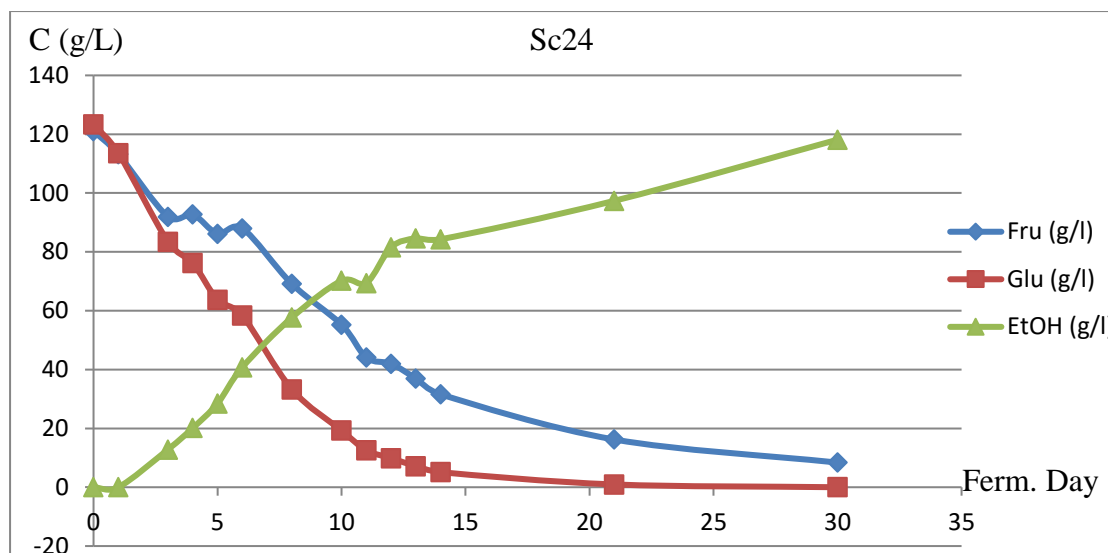
Στο Σχήμα 1. καταγράφεται η κατανάλωση της γλυκόζης και της φρουκτόζης και η παραγωγή αιθανόλης κατά τη δράση της ζύμης *Mac2* σε γλεύκος Ασύρτικου. Στην αρχή της ζύμωσης φαίνεται τα σάκχαρα να καταναλώνονται με ίδιο ρυθμό, ενώ από την 5^η μέχρι τη 12^η ημέρα η γλυκόζη μειώνεται με πιο γρήγορο ρυθμό και μέχρι την 30^η ημέρα έχει καταναλωθεί πλήρως. Αντίθετα η φρουκτόζη δε ζυμώθηκε πλήρως αλλά παρέμειναν 9,75 g/L στον οίνο. Η παραγωγή της αιθανόλης την 30^η ημέρα είναι 107,4 g/L, η μικρότερη συγκέντρωση μεταξύ των στελεχών την ίδια ημερομηνία και την ίδια στιγμή η μετρήσιμη ποσότητα γλυκερόλης είναι 5,61 g/L. Ο συντελεστής απόδοσης της αλκοολικής ζύμωσης για το *Mac2* είναι 0,458 g/g.



Σχήμα 3.1: Κινητική ζύμωσης γλεύκους Ασύρτικου με τη χρήση ζύμης *Mac2*

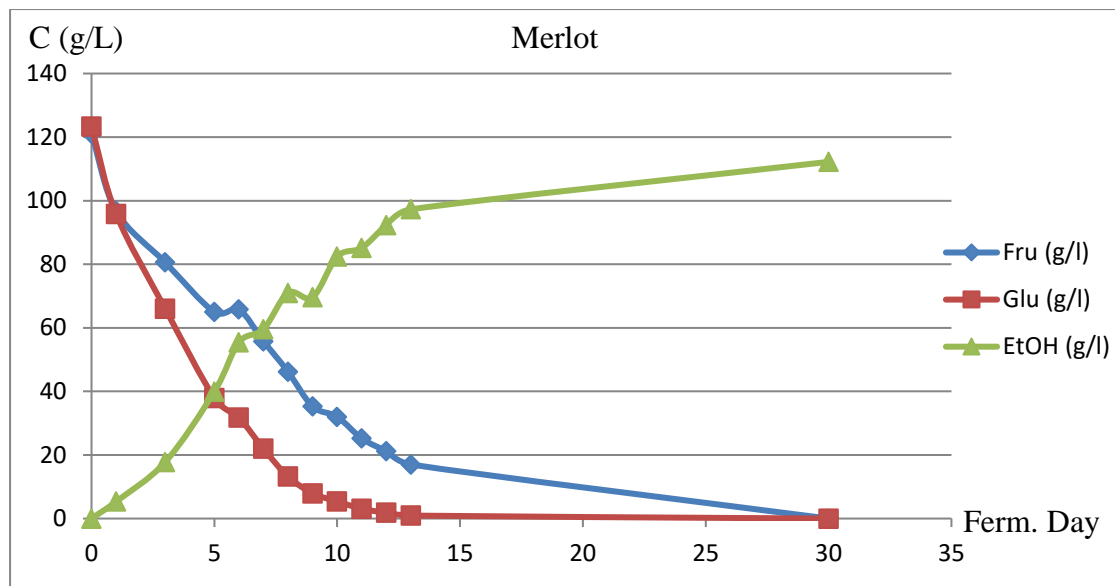
Στο Σχήμα 2. αποτυπώνεται η κατανάλωση των δύο σακχάρων και η παραγωγή αιθανόλης σύμφωνα με τη δράση του στελέχους *Sc24*. Όπως και στην περίπτωση με το *Mac2*, η φρουκτόζη είναι εκείνη που καταναλώνεται πιο αργά και όχι πλήρως συγκριτικά με τη γλυκόζη. Την 30^η μέρα η φρουκτόζη είναι μικρότερη σε σχέση με αυτή του *Mac2*, με συγκέντρωση 8,38 g/L και η αιθανόλη περισσότερη με συγκέντρωση 118,2 g/L. Ο συντελεστής απόδοσης της αλκοολικής ζύμωσης για το *Sc24* είναι 0,501 g/g.

Σε σχέση με το *Mac2*, το *Sc24* έχει πιο αργό ρυθμό κατανάλωσης σακχάρων και η αιθανόλη άργησε ελάχιστα να παραχθεί, κάτι που δε συνέβη με τα άλλα τρία στελέχη. Η ποσότητα της γλυκερόλης την 30^η ημέρα είναι 6,98 g/L.



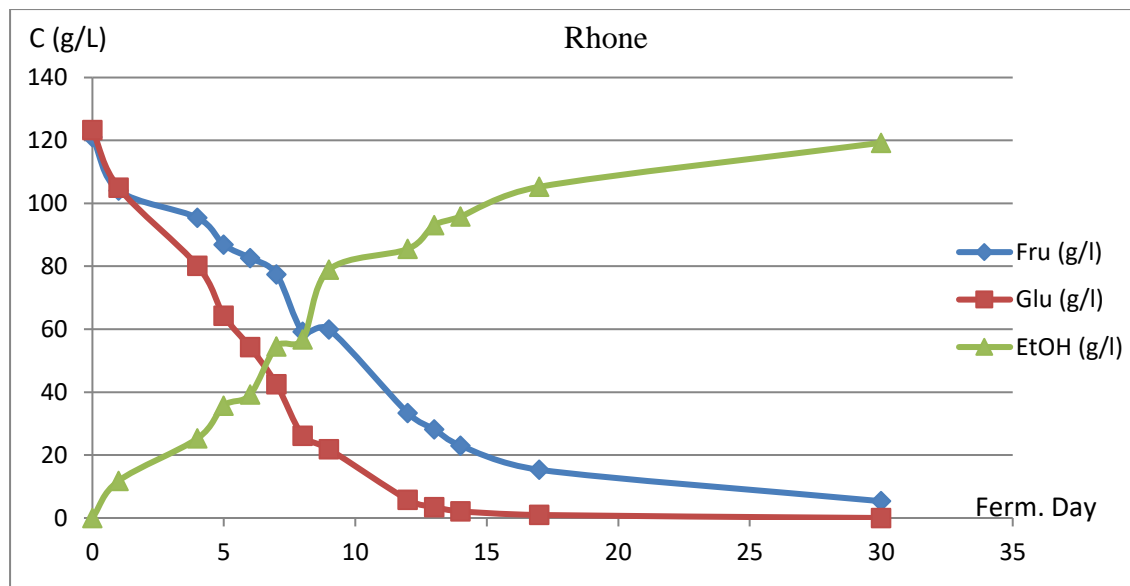
Σχήμα 3.2: Κινητική ζύμωσης γλεύκους Ασύρτικου με τη χρήση ζύμης *Sc24*

Στο Σχήμα 3. απεικονίζεται η κατανάλωση της γλυκόζης και φρουκτόζης και η παραγωγή αιθανόλης όταν χρησιμοποιείται το στέλεχος *Merlot*. Σε αυτή τη ζύμωση η γλυκόζη καταναλώνεται πιο γρήγορα σε σχέση με τη φρουκτόζη. Εδώ βέβαια την 30^η ημέρα έχει γίνει πλήρης κατανάλωση και των δύο σακχάρων, κάτι που δεν έχει παρατηρηθεί σε καμία άλλη ζύμωση και η αιθανόλη βρίσκεται σε συγκέντρωση 112,2 g/L, μεγαλύτερη του *Mac2* αλλά μικρότερη των άλλων δύο στελεχών. Ο συντελεστής απόδοσης της αλκοολικής ζύμωσης για το *Merlot* είναι 0,459 g/g. Ο ρυθμός κατανάλωσης των σακχάρων είναι ενδιάμεσος με τα προηγούμενα στελέχη (*Sc24*, *Mac2*) και φαίνεται να υπάρχει μια καλή ροή και ολοκλήρωση ζύμωσης. Η ποσότητα της γλυκερόλης για την 30^η ημέρα συγκεντρώνει 5,85 g/L.



Σχήμα 3.3: Κινητική ζύμωσης γλεύκους Ασύρτικου με τη χρήση ζύμης *Merlot*

Στο Σχήμα 4. παρουσιάζεται η κατανάλωση γλυκόζης και φρουκτόζης και η παραγωγή αιθανόλης κατά την αλκοολική ζύμωση με τη χρήση του στελέχους *Rhone*. Σε αυτή τη ζύμωση επίσης η γλυκόζη καταναλώνεται πιο γρήγορα από τη φρουκτόζη. Η αιθανόλη αυξάνεται πιο γρήγορα από τις άλλες οινοποιήσεις στο αρχικό στάδιο, ενώ αμέσως μετά ακολουθεί έναν παρόμοιο ρυθμό με το *Merlot* και φθάνει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε σχέση με τα υπόλοιπα 119,2 g/L. Ο συντελεστής απόδοσης για το *Rhone* είναι 0,499 g/g. Εδώ η φρουκτόζη την 30^η μέρα παραλαβής δείγματος ήταν 5,3 g/L, μεγαλύτερη δηλαδή κατανάλωση σχετικά με τα *Mac2* και *Sc24*. Η συγκέντρωση της γλυκερόλης για τον οίνο με το στέλεχος *Merlot* για την 30^η ημέρα φθάνει τα 7,07 g/L.



Σχήμα 3.4: Κινητική ζύμωσης γλεύκους Ασύρτικου με τη χρήση ζύμης *Rhone*

Γενικά όλες οι ζυμώσεις έχουν έναν παρόμοιο ρυθμό κατανάλωσης σακχάρων αλλά και παραγωγής αιθανόλης. Το στέλεχος *Sc24* εμφανίζει το μεγαλύτερο συντελεστή απόδοσης της αλκοολικής ζύμωσης ενώ ακολουθεί το *Rhone* και στο τέλος το *Merlot* με το *Mac2*. Λόγω της φρουκτόζης που έχει απομείνει στις τρεις ζυμώσεις, εκτός από αυτή με το ζυμομύκητα *Merlot*, φαίνεται πως τα υπόλοιπα στελέχη (*Sc24*, *Mac2*, *Rhone*) δεν είναι φρουκτόφιλα με το *Mac2* να δυσκολεύεται περισσότερο ήδη από τη 12^η μέρα που μειώνεται με αργό σταθερό ρυθμό. Το *Merlot* είχε την πιο γρήγορη κατανάλωση γλυκόζης σε σύντομο χρονικό διάστημα και την πιο αργή το *Sc24*. Περισσότερη φρουκτόζη απομένει στο *Mac2*, μετά ακολουθεί το *Sc24*, ύστερα το *Rhone*, ενώ στο *Merlot* όπως ειπώθηκε έγινε πλήρης κατανάλωση. Σε όλες τις ζυμώσεις η κατανάλωση τις πρώτες μέρες της φρουκτόζης και γλυκόζης είναι ίδια ενώ σε όλη την υπόλοιπη πορεία η γλυκόζη καταναλώνεται γρηγορότερα έως την πλήρη ζύμωσή της. Η παραγωγή αιθανόλης με το *Rhone* γίνεται με πιο γρήγορο ρυθμό απ' όλα τα άλλα στελέχη. Η συγκέντρωση της γλυκερόλης είναι μεγαλύτερη στο *Rhone* και *Sc24* και μικρότερη στο *Merlot* και *Mac2*.

Στελέχη	Αιθανόλη (g/L)	Αιθανόλη (%v/v)	Γλυκόζη (g/L)	Φρουκτόζη (g/L)	Συντελεστής απόδοσης ζύμωσης (g/g)
<i>Mac2</i>	107,4	13,6	0	9,75	0,458
<i>Sc24</i>	118,2	14,9	0	8,38	0,501
<i>Merlot</i>	112,2	14,2	0	0	0,459
<i>Rhone</i>	119,2	15,1	0	5,3	0,499

Πίνακας 3.1: Συνολικές τιμές αναλύσεων των οίνων στο τέλος της ζύμωσης

3.2 Πηθτικά συστατικά του αρώματος

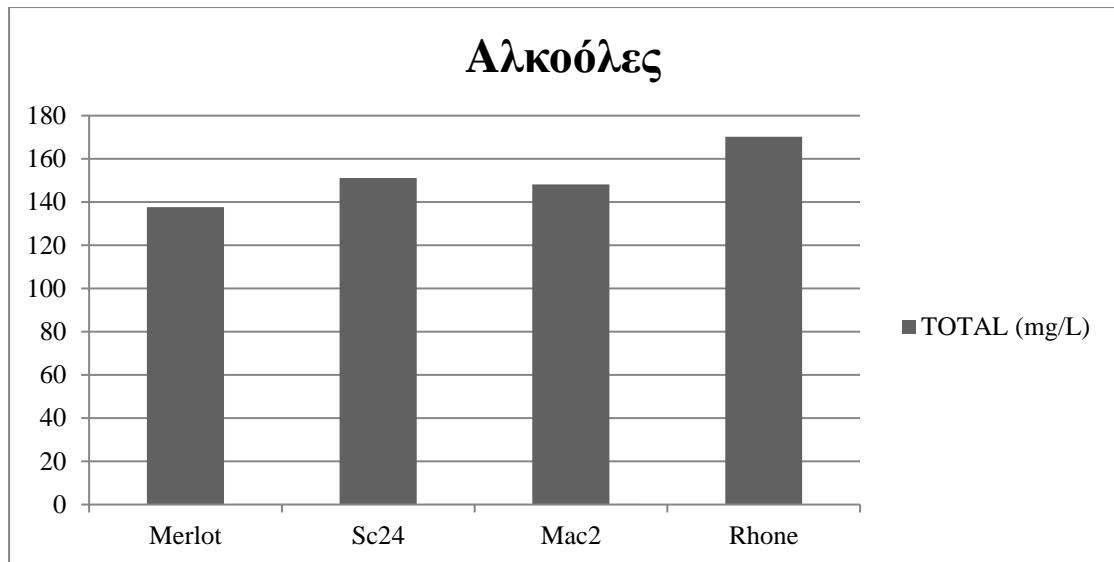
Παρακάτω παρουσιάζονται οι πηθτικές ενώσεις που μελετήθηκαν μαζί με την αντίστοιχη οσμή τους:

- Isoboutanol (ισοβουτανόλη) → αιθέριος οίνος
- Isoamylalcohol (ισοαμυλική αλκοόλη) → φρούτωδες – μπανάνα, ούισκι, καμμένο
- 1-hexanol (1-εξανόλη) → ρητίνη, λουλούδι, πράσινο, φρεσκοκομμένη χλόη
- 2,3-Butanediol (2,3-βουτανεδιόλη) → φρέσκο βούτυρο
- Butyrolactone (γ-βουτυρολακτόνη) → κρεμώδες, ελαιώδες, καραμελωμένο, λιπαρό
- Phenylethyl Alcohol (φαινυλο-2-αιθανόλη) → τριαντάφυλλο, γιασεμί
- METHIONOL (3-μεθύλιο-1-προπανόλη) → κρέας, μαγειρεμένο λαχανικό, κρεμμύδι, αλμυρή σούπα
- Isoamylacetate (οξικός εστέρας της ισοαμυλικής αλκοόλης) → μπανάνα
- Ethyl Hexanoate (εξανοϊκόαιθυλεστέρας) → φρουτώδες, πράσινη μπανάνα, ανανάς, ροδάκινο, λουλούδια
- Hexyl Acetate (οξικός εξυλεστέρας) → φρούτο, βότανο
- Ethyl L-Lactate (γαλακτικός αιθυλεστέρας) → φρουτώδες, κεράσι, μήλο, μπανάνα, καραμέλα βουτύρου
- Ethyl Octanoate (οκτανοϊκόαιθυλεστέρας) → φρουτώδες, μπανάνα, αχλάδι, γλυκό βερίκοκο, λουλούδια, κονιάκ

- Ethyl Decanoate (δεκανοϊκός ή καπρυλικός αιθυλεστέρας) → γλυκό, κηρώδες φρούτο, λιπαρό, φρουτώδες, μήλο, σταφύλι, κονιάκ, μπανάνα
- Diethyl Succinate (ηλεκτρικός διαιθυλεστέρας) → φρουτώδες, μήλο μαγειρεμένο
- Phenylethyl Acetate (οξικός φαινυλαιθυλεστέρας) → λουλουδένιο τριαντάφυλλο, γλυκό, μέλι, τροπικά φρούτα
- Ethyl-3-hydroxy-butyrate (αιθυλ-3-υδροξυ-βουτυρικός εστέρας) → φρουτώδες, πράσινο σταφύλι, φλούδα μήλου
- Isobutyric Acid (ισοβουτυρικό οξύ) → όξινο, τυρώδες, βούτυρο ταγγισμένο
- Butyric Acid (βουτυρικό οξύ) → βουτυρώδες, φρουτώδες
- Hexanoic Acid (εξανικό ή καπροϊκό οξύ) → τυρί, κερι, πολύ λιπαρό
- Octanoic Acid (οκτανοϊκό οξύ) → λιπαρό λαχανικό, κηρώδες, ταγγισμένο
- Decanoic Acid (δεκανοϊκό οξύ) → λιπαρά, ξινά εσπεριδοειδή

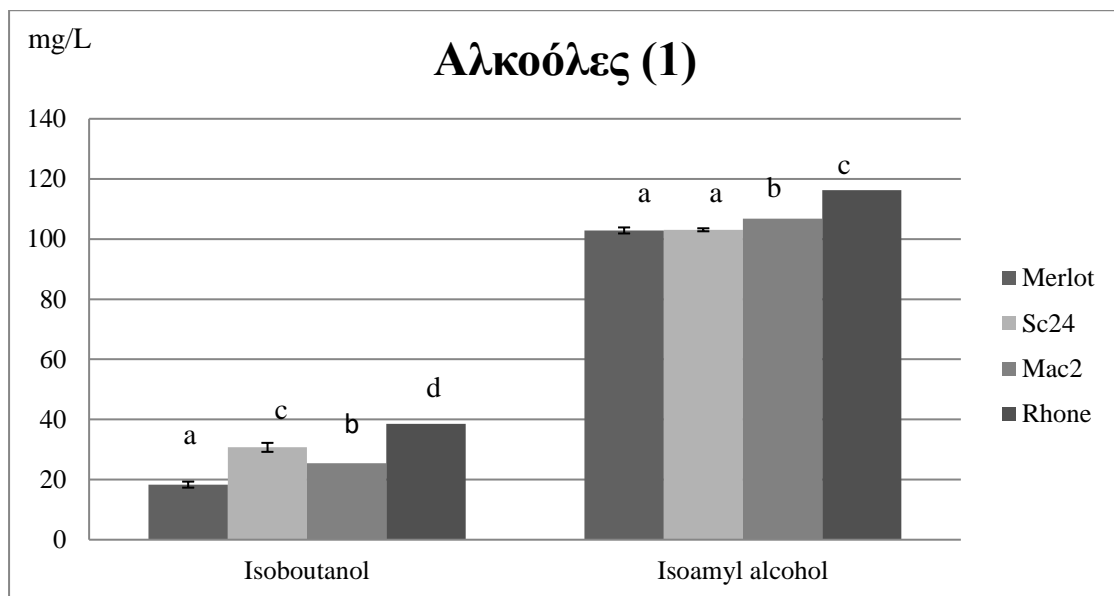
3.2.1 Αλκοόλες

Στο Σχήμα 5. παρουσιάζεται σε γράφημα η συνολική ποσότητα συγκεκριμένων αλκοολών ανάλογα με το στέλεχος που χρησιμοποιήθηκε για τη ζύμωση του γλεύκους Ασύρτικου. Γενικά όταν η συνολική περιεκτικότητα των αλκοολών είναι έως 300mg/L, τότε ο οίνος χαρακτηρίζεται από θετικές οσμές. Αντίθετα όσο αυξάνεται η ποσότητα των αλκοολών με συνολική περιεκτικότητα άνω των 450 mg/L, μειώνεται η θετική επίδραση με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια βαριά οσμή (Τσακίρης Α., 2020). Στην συγκεκριμένη μελέτη η συγκέντρωση μελετημένων αλκοολών είναι για *Merlot* 137,6 mg/L, *Sc24* 151,2 mg/L, *Mac2* 148,2 mg/L και *Rhone* 170,2 mg/L. Άρα το *Merlot* φαίνεται να εμπεριέχει τη μικρότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλες και τη μεγαλύτερη το *Rhone*.



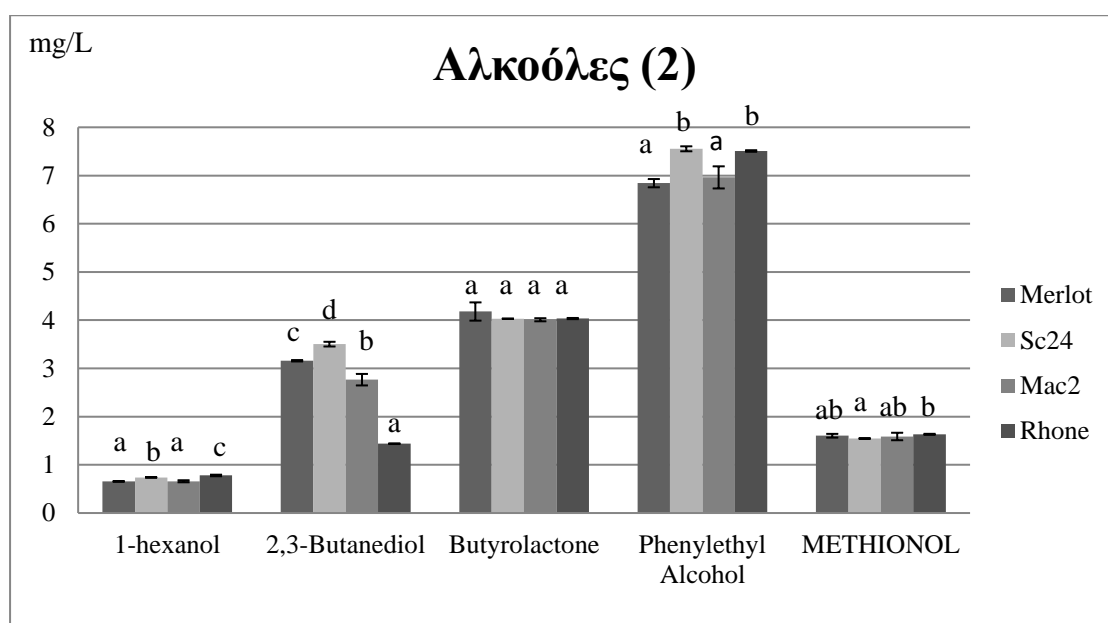
Σχήμα 3.5: Συνολική περιεκτικότητα αλκοολών

Στο Σχήμα 6. και στο Σχήμα 7. απεικονίζονται οι διάφορες συγκεντρώσεις των πτητικών ενώσεων που ανήκουν στις αλκοόλες και παράχθηκαν κατά την αλκοολική ζύμωση ενός γλεύκους μάρτυρα Ασύρτικου με τη χρήση διαφορετικού στελέχους κάθε φορά.



Σχήμα 3.6: Συγκέντρωση αλκοολών (1) ύστερα από τη ζύμωση του κάθε στελέχους Μέσοι όροι με διαφορετικό γράμμα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των κλώνων της ποικιλίας. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. (Tukey's test, $p < 0.05$)

Στο παραπάνω διάγραμμα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις συγκεκριμένα της ισοβουτανόλης και της ισοαμυλικής αλκοόλης για κάθε ζύμωση. Οι δύο αυτές ενώσεις βρέθηκαν στις πιο υψηλές συγκεντρώσεις στην ομάδα των αλκοολών σε όλους τους οίνους. Η ισοβουτανόλη διαφέρει στατιστικά σε όλους τους παραγόμενους οίνους με μεγαλύτερη συγκέντρωση στο *Rhone* και τη μικρότερη στο *Merlot*. Για την ισοαμυλική αλκοόλη από την άλλη πλευρά δεν παρατηρείται στατιστική διαφορά μεταξύ των στελεχών *Merlot* και *Sc24*. Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα ισοαμυλικής αλκοόλης παρατηρείται πάλι στον οίνο με τη ζύμη *Rhone*.



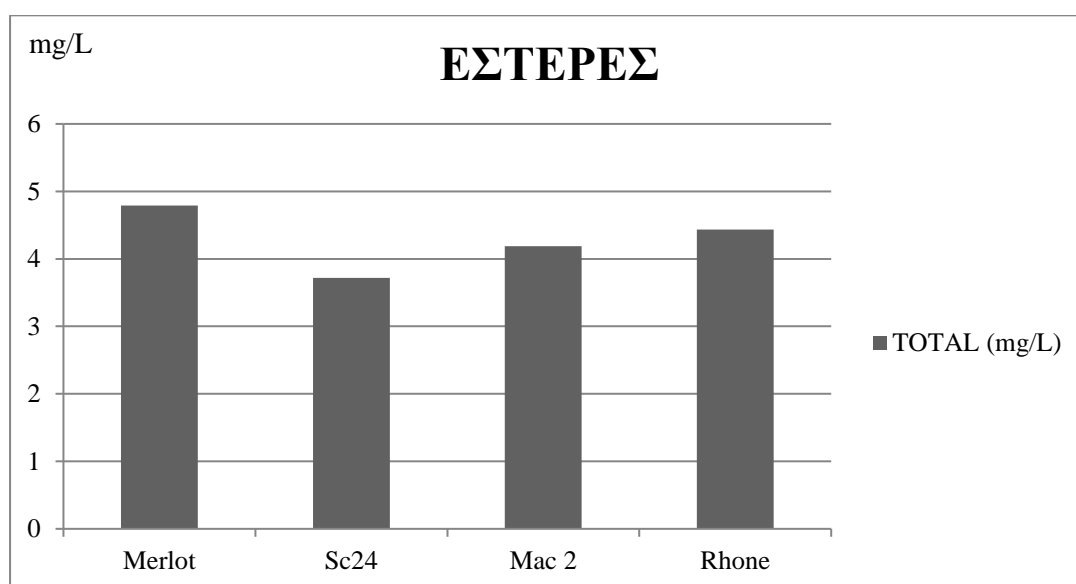
Σχήμα 3.7: Συγκέντρωση αλκοολών (2) ύστερα από τη ζύμωση του κάθε στελέχους. Μέσοι όροι με διαφορετικό γράμμα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των κλώνων της ποικιλίας. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. (Tukey's test, $p < 0.05$)

Στο παραπάνω γράφημα φαίνονται οι συγκεντρώσεις της 1-εξανόλης, της 2,3-βουτανεδιόλης, της βουτυρολακτόνης, της φαινυλο-2-αιθανόλης και Methionol. Σε όλους τους οίνους η φαινυλο-2-αιθανόλη έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ενώ η 1-εξανόλη τη μικρότερη. Η 1-εξανόλη δε διαφέρει στατιστικά μόνο στο *Merlot* και το *Mac2*. Η συγκέντρωση της 2,3 βουτανεδιόλης διαφέρει στατιστικά σε όλους τους οίνους, ενώ της βουτυρολακτόνης δεν παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική διαφορά. Η φαινυλο-2-αιθανόλη δε διαφέρει στατιστικά μεταξύ των *Merlot* και *Mac2* και μεταξύ

των *Sc24* και *Rhone*. Η *Methionol* διαφέρει στατιστικά στο *Sc24* και *Rhone*, ενώ τα άλλα δύο στελέχη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

3.2.2 Εστέρες

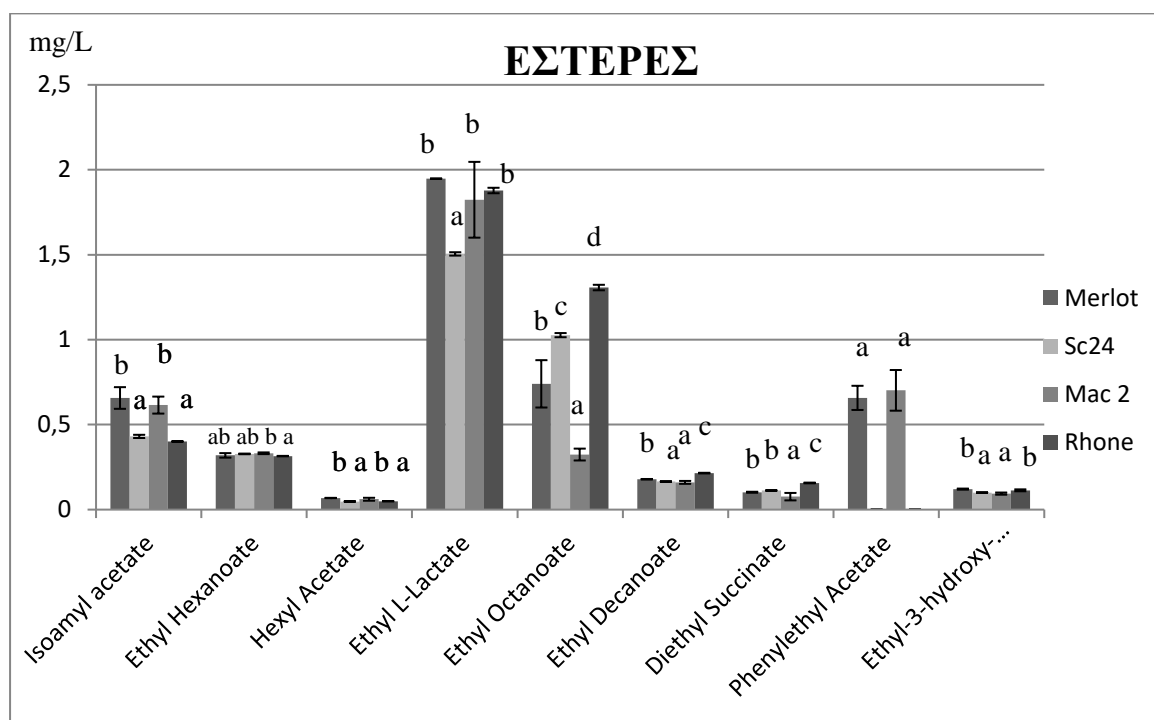
Οι εστέρες είναι αποτέλεσμα ενζυματικής εστεροποίησης κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Όταν εντοπίζονται σε αυξημένες συγκεντρώσεις προσδίδουν στον οίνο ευχάριστα αρώματα φρούτων και οσμές ζύμωσης. Μια ομάδα εστέρων είναι αυτή των λιπαρών οξέων με αιθανόλη όπως ο εξανοϊκός, οκτανοϊκός και δεκανοϊκός αιθυλεστέρας με φρουτώδη αίσθηση. Μια δεύτερη ομάδα είναι οι εστέρες των ανώτερων αλκοολών μαζί με το οξικό οξύ όπως ο οξικός εξυλεστέρας και ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας (Τσακίρης, 2020). Ακόμη υπάρχουν και άλλοι εστέρες σαν αυτούς των παραγόμενων αμινοξέων που βρίσκονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις δίχως κάποια εμφανή οργανοληπτική παρουσία. Παρακάτω στο Σχήμα 8. εμφανίζονται σε διάγραμμα οι συνολικές περιεκτικότητες των εστέρων που αναλύθηκαν στους τέσσερις παραγόμενους οίνους Ασύρτικου, με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση να παρατηρείται στο *Merlot* 4,8 mg/L.



Σχήμα 3.8: Συνολική περιεκτικότητα εστέρων

Στο Σχήμα 9. περιγράφονται οι ποικίλες συγκεντρώσεις των διαφορετικών ενώσεων που ανήκουν στους εστέρες ανάλογα με τη δράση του εκάστοτε ζυμομύκητα. Οι ενώσεις που μελετήθηκαν ήταν οξικός εστέρας της ισοαμυλικής αλκοόλης, ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας, ο οξικός εξυλεστέρας, γαλακτικός αιθυλεστέρας, οκτανοϊκός

αιθυλεστέρας, δεκανοϊκός ή καπρυλικός αιθυλεστέρας, ο ηλεκτρικός διαιθυλεστέρας, οξικός φαινυλαιθυλεστέρας και ο αιθυλ-3-υδροξυ-βουτυρικός εστέρας.



Σχήμα 3.9: Συγκέντρωση εστέρων ύστερα από τη ζύμωση του κάθε στελέχους Μέσοι όροι με διαφορετικό γράμμα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των κλώνων της ποικιλίας. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. (Tukey's test, $p < 0.05$)

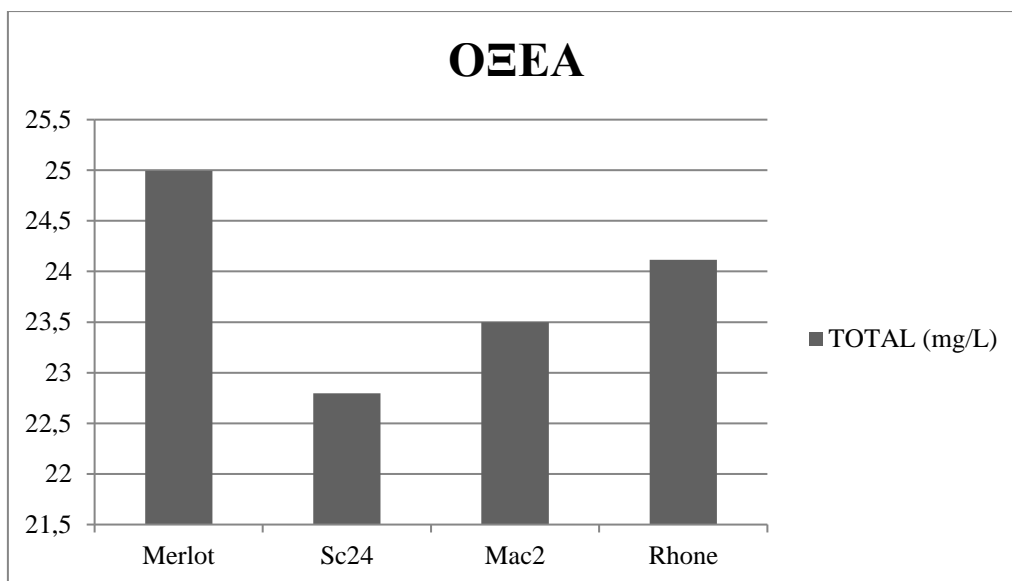
Στο παραπάνω σχήμα φαίνεται αρχικά ο οξικός εστέρας της ισοαμυλικής αλκοόλης όπου το Merlot και το Mac2 παρουσιάζουν στατιστική διαφορά με το Sc24 και Rhone. Όσον αφορά τον εξανοϊκό αιθυλεστέρα διαφέρουν στατιστικά μόνο το Mac2 με το Rhone. Για τον οξικό εξυλεστέρα παρατηρείται στατιστική διαφορά των Merlot-Mac2 με τους Sc24-Rhone. Στο γαλακτικό αιθυλεστέρα υποδηλώνεται στατιστικώς σημαντική διαφορά για το Sc24 που έχει και τη μικρότερη συγκέντρωση, ενώ στον οκτανοϊκό αιθυλεστέρα παρατηρείται σε όλα τα στελέχη. Για το δεκανοϊκό αιθυλεστέρα δεν καταγράφεται στατιστική διαφορά μεταξύ του Sc24 και Mac2 και στον ηλεκτρικό διαιθυλεστέρα μεταξύ των Merlot και Sc24. Στο Sc24 και Rhone δεν καταγράφηκε κάποια ποσότητα οξικού φαινυλαιθυλεστέρα ενώ τα Merlot και Mac2 δεν παρουσιάζουν κάποια στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Τέλος, για τον αιθυλ-3-υδροξυ-βουτυρικό εστέρα τα Sc24 και Mac2 δεν εμφανίζουν κάποια στατιστική

διαφορά μεταξύ τους, όπως και τα *Merlot* και *Rhone* δεν εμφανίζουν εξίσου στατιστική διαφορά στη συγκέντρωση μεταξύ τους.

3.2.3 Οξέα

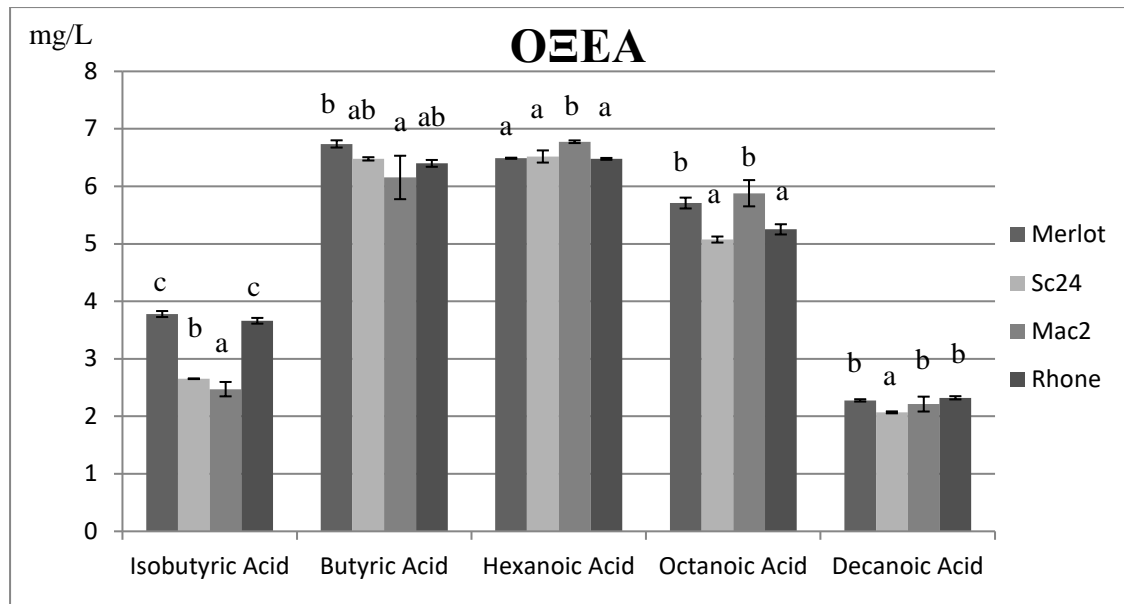
Γενικά τα οξέα μπορεί να θεωρηθούν ανεπιθύμητα για το αρωματικό προφίλ των οίνων αλλά στην πραγματικότητα συνεισφέρουν στην ενίσχυση της πολυπλοκότητας του αρώματος. Όταν αυξάνεται το μοριακό βάρος των οξέων, ο οίνος χαρακτηρίζεται από αρώματα βουτύρου, τυριού, σαπουνιού, ξυδιού, λαχανικών. Το οξικό οξύ, το σημαντικότερο πτητικό οξύ του οίνου, παραπέμπει σε οσμή ξυδιού. Η εμφάνισή του συνδέεται με προσβολή από οξικά ή γαλακτικά βακτήρια ή αποτελεί υποπροϊόν δράσης κάποιας ζύμης ή βακτηρίου. Σε συγκεκριμένα επίπεδα η εμφάνισή του είναι επιθυμητή, ωστόσο σε συγκεντρώσεις άνω των 300mg/L επιδρά αρνητικά στην ποιότητα του οίνου (Σουφλερός, 2012).

Τα λιπαρά οξέα συμβάλλουν στο αρωματικό δυναμικό των οίνων λόγω του χαμηλού κατωφλιού αντίληψης και της υψηλής τους συγκέντρωσης. Η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων μέσης αλύσου (6-12 άτομα άνθρακα), όπως το δεκανοϊκό, οκτανοϊκό, εξανοϊκό οξύ, επηρεάζεται από την καλλιέργεια της αμπέλου, την σύνθεση του γλεύκους, το στέλεχος της ζύμης, τις αναερόβιες συνθήκες ανάπτυξης, τη θερμοκρασία διεξαγωγής της ζύμωσης, τις οινολογικές πρακτικές. Τα λιπαρά πτητικά οξέα είναι προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης, ενώ μπορεί να εντοπιστούν σε ίχνη στο γλεύκος (Pinu et al., 2017). Στο Σχήμα 10. διατυπώνεται η συνολική συγκέντρωση ορισμένων πτητικών οξέων που μελετήθηκαν στους τέσσερις οίνους Ασύρτικου.



Σχήμα 3.10: Συνολική περιεκτικότητα οξέων

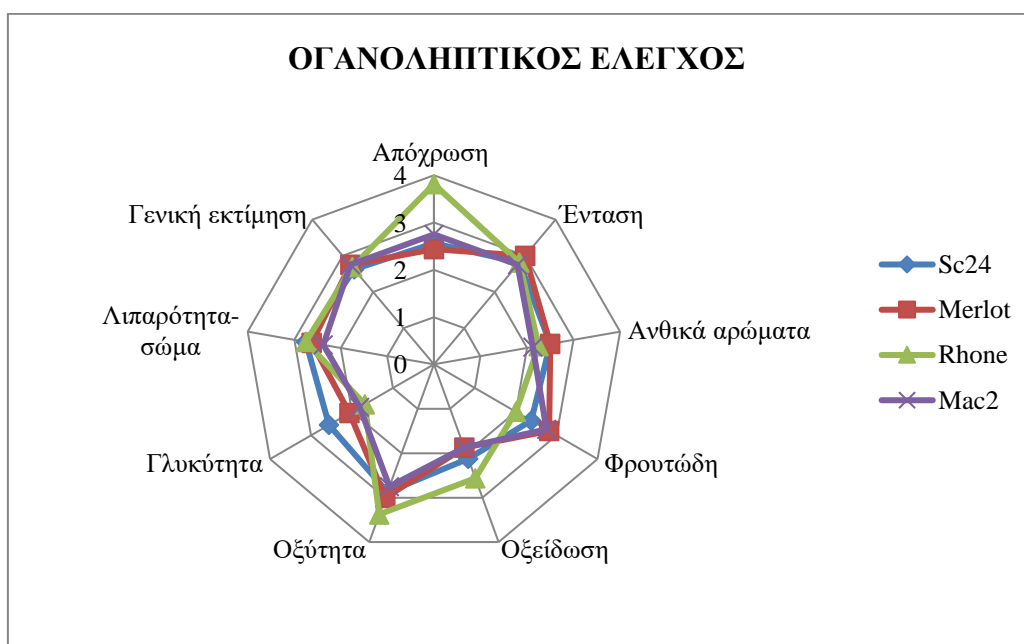
Σύμφωνα με το παραπάνω γράφημα τα οξέα που επιδρούν στο άρωμα των Ασύρτικων βρίσκονται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα στον οίνο με τη ζύμη *Merlot*. Η μικρότερη ποσότητα εντοπίζεται στον οίνο με το *Sc24*. Γενικά και στους τέσσερις οίνους η συνολική περιεκτικότητά τους σε αλκοόλες ήταν μεγαλύτερη, μετά ακολουθούν τα οξέα και τελευταίοι οι εστέρες. Εδώ η συγκέντρωση των πτητικών συστατικών που ανήκουν στα οξέα είναι 25 mg/L για *Merlot*, 22,8 mg/L για *Sc24*, 23,5 mg/L για *Mac2*, 24,1 mg/L για το *Rhone*. Συγκεκριμένα τα οξέα που μελετήθηκαν στην παρούσα έρευνα ήταν το ισοβουτυρικό οξύ, βουτυρικό, εξανοϊκό, οκτανοϊκό και δεκανοϊκό οξύ.



Σχήμα 3.11: Συγκέντρωση οξέων ύστερα από τη ζύμωση του κάθε στελέχους Μέσοι όροι με διαφορετικό γράμμα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των κλώνων της ποικιλίας. Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. (Tukey's test, $p < 0.05$)

Παραπάνω φαίνεται πως τις σχετικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις οξέων τις εμφανίζουν το βουτυρικό και το εξανοϊκό οξύ και στους τέσσερις οίνους. Η συγκέντρωση του ισοβουτυρικού οξέος δεν παρουσιάζει κάποια στατιστική διαφορά μόνο στο *Merlot* και *Rhone*. Για το βουτυρικό οξύ το *Merlot* και *Mac2* διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ενώ τα *Sc24* και *Rhone* δεν παρουσιάζουν γενικά στατιστικές διαφορές. Για το εξανοϊκό οξύ δε διαφέρουν στατιστικά το *Merlot*, *Sc24* και *Rhone* μεταξύ τους ενώ το *Mac2* διαφέρει με τα άλλα τρία. Τα *Merlot* και *Mac2* για την συγκέντρωση του οκτανοϊκού οξέος δε διαφέρουν στατιστικά όπως και τα *Sc24* και *Rhone* δε διαφέρουν εξίσου στατιστικά. Τέλος, οι μικρότερες συγκεντρώσεις οξέων εμφανίζονται στο δεκανοϊκό οξύ. Το *Mac2* είναι αυτό που διαφέρει στατιστικά από τους υπόλοιπους τρεις οίνους.

3.3 Οργανοληπτικός έλεγχος τεσσάρων οίνων



Σχήμα 3.12: Οργανοληπτικός έλεγχος των τεσσάρων οίνων της ποικιλίας Ασύρτικου (*Tukey's test, p < 0.05*)

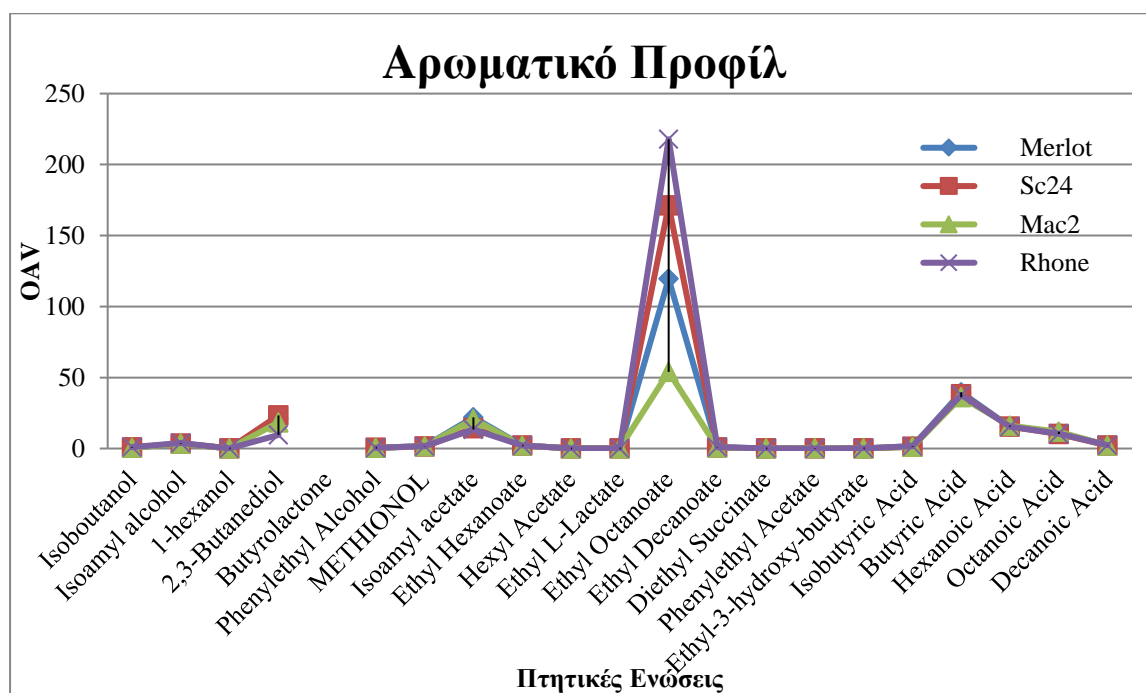
Στο αραχνοειδές διάγραμμα που εμφανίζεται στο Σχήμα 12. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την οργανοληπτική αξιολόγηση που διαδραματίστηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών για τέσσερις οίνους Ασύρτικου, ζυμωμένους με διαφορετικά στελέχη γηγενών ζυμών (*Sc24, Merlot, Rhone, Mac2*). Στην οπτική εξέταση αξιολογήθηκε η απόχρωση και η ένταση. Ο οίνος που ζυμώθηκε με το στέλεχος *Rhone* χαρακτηρίστηκε με την κλίμακα 1 έως 5, δηλαδή πράσινο έως καφέ, με υψηλή βαθμολογία. Σημειώθηκε λοιπόν πως ο οίνος με το *Rhone* φέρει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τους υπόλοιπους, πλησιάζοντας την καφέ απόχρωση σύμφωνα με τους δοκιμαστές.

Στη συνέχεια έγινε οσφρητική αξιολόγηση που συμπεριλαμβάνει την ένταση, τα ανθικά και φρουτώδη αρώματα και την οξείδωση. Η ένταση δεν παρουσιάζει κάποια στατιστική διαφορά μεταξύ των κρασιών και φαίνεται να θεωρείται μέτρια. Όσον αφορά τα ανθικά αρώματα το *Merlot* με το *Sc24* που δε διαφέρουν στατιστικά, βαθμολογήθηκαν κατά μέσο όρο με πιο υψηλή βαθμολογία. Επίσης, στατιστικά δε διαφέρει και το *Sc24* με το *Rhone*. Ενώσεις με ανθικά αρώματα όπως η φαινυλο-2-αιθανόλη, ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας, ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας, ο οξικός φαινυλαιθυλεστέρας και η 1-εξανόλη φαίνεται να υπάρχουν περισσότερο στο *Rhone*

και μετά στο *Merlot*. Στα φρουτώδη αρώματα το *Rhone* διαφέρει στατιστικά με τα υπόλοιπα, συγκεντρώνοντας τη μικρότερη βαθμολογία ενώ το *Merlot* τη μεγαλύτερη. Το *Merlot* επιβεβαιώνεται και από τις αναλύσεις των πτητικών πως συγκεντρώνει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση εστέρων που εκπροσωπούν αρώματα φρούτων. Στην οξείδωση το *Rhone* διαφέρει στατιστικά με τα υπόλοιπα και χαρακτηρίστηκε πιο οξειδωμένο.

Αργότερα έγινε η γευστική αξιολόγηση που περιλάμβανε την οξύτητα, τη γλυκύτητα και το σώμα – λιπαρότητα. Στην οξύτητα το *Rhone* πάλι διαφέρει στατιστικά με τα υπόλοιπα με πιο μεγάλη βαθμολογία. Από τις αναλύσεις που έγιναν στο Santo Wines η ολική οξύτητα που βρέθηκε στον οίνο με το *Rhone* ήταν η μεγαλύτερη με 7,8 γρ/γλυκού οξέος και το pH ήταν το δεύτερο μεγαλύτερο με 2,98 (2,99 το αμέσως επόμενο pH σε *Sc24*, *Mac2*). Αν και στο *Merlot* εντοπίζονται τα περισσότερα οξέα και ύστερα στο *Rhone*, το ισοβουτυρικό και δεκανοϊκό οξύ που παραπέμπουν σε ξινό βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση και στο *Merlot* αλλά και στο *Rhone*, χωρίς να διαφέρουν στατιστικά. Ως προς τη γλυκύτητα το *Sc24* διαφέρει στατιστικά με τα υπόλοιπα δίνοντας μεγαλύτερη αίσθηση γλυκύτητας ενώ σε δεύτερη θέση έρχεται το *Merlot*. Το *Sc24* είναι ο δεύτερος με την πιο πολλή φρουκτόζη 8,4 g/L (μετά το *Mac2* με 9,74g/L) αλλά η αλληλεπίδραση με το υψηλό αλκοόλ πιθανόν να αύξησε την αντίληψη του γλυκού. Αντίθετα το *Merlot* ήταν ο μόνος οίνος όπου καταναλώθηκε και η γλυκόζη και η φρουκτόζη. Στη λιπαρότητα και το σώμα μόνο το *Mac2* διαφέρει στατιστικά δίνοντας τη μικρότερη αίσθηση της λιπαρότητας και έχοντας και το μικρότερο αλκοολικό βαθμό (13,6 %vol). Κάτι τέτοιο συμβαδίζει και με τις αναλύσεις όπου σύμφωνα με ενώσεις που προσφέρουν λιπαρότητα όπως 2,3 βουτανεδιόλη, βουτυρολακτόνη, βουτυρικό οξύ, εξανοϊκό οξύ, οκτανοϊκό οξύ, δεκανοϊκό οξύ και το γαλακτικό αιθυλεστέρα οι οίνοι με τα στελέχη *Merlot*, *Sc24*, *Rhone* έχουν κοινές συγκεντρώσεις. Επίσης, και από τις μετρήσεις της HPLC το *Mac2* έχει τη μικρότερη συγκέντρωση γλυκερόλης μαζί με το *Merlot*. Ολοκληρώνοντας τον οργανοληπτικό έλεγχο, οι δοκιμαστές ρωτήθηκαν για τη γενική εκτίμηση που είχαν για τον κάθε οίνο, όπου κατά μέσο όρο δεν ξεχώρισε κάποιος οίνος εφόσον δεν υπήρξε σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

3.4 Odor Activity Value (OAV)



Σχήμα 3.13: OAV πτητικών ενώσεων σε τέσσερις οίνους Ασύρτικο

Η τιμή δραστηριότητας της οσμής (OAV) αποτελεί ένα μέτρο σήμανσης μιας συγκεκριμένης ένωσης για την οσμή της σε ένα δείγμα. Υπολογίζεται ως η αναλογία μεταξύ της συγκέντρωσης που έχει η συγκεκριμένη ένωση σε ένα δείγμα και της συγκέντρωσης του κατωφλιού οσμής, δηλαδή της ελάχιστης συγκέντρωσης που μπορεί να ανιχνευθεί από την ανθρώπινη όσφρηση. Όταν η αναλογία αυτή είναι μεγαλύτερη της μονάδας, τότε η οσμή είναι ανιχνεύσιμη από τον δοκιμαστή (Escudero et al., 2004).

Στο Σχήμα 13. παρουσιάζεται το αρωματικό προφίλ των τεσσάρων οίνων που μελετήθηκαν. Από τις αλκοόλες η isoamylalcohol, η 2,3-butanediol και η methionol και στα τέσσερα κρασιά είναι ανιχνεύσιμες οσφρητικά με τη 2,3-butanediol να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή σε όλους τους οίνους. Από την ομάδα των εστέρων οι isoamylacetate, ethylhexanoate, ethyloctanoate είναι ανιχνεύσιμες και στους τέσσερις οίνους με τις μεγαλύτερες τιμές να κατέχει η τελευταία. Η ethyl decanoate είναι άνω της μονάδας μόνο στο Ασύρτικο με το Rhone. Από τα οξέα που μελετήθηκαν, όλα έχουν ανιχνεύσιμες τιμές με τις μεγαλύτερες να παρουσιάζονται στο butyric acid και ύστερα στο hexanoic acid.

Γενικά οι μεγαλύτερες τιμές OAV που ξεχωρίζουν σε αυτούς τους οίνους που μελετήθηκαν αφορούν τις ενώσεις 2,3-butanediol, isoamylacetate, ethyloctanoate, butyric acid και hexanoic acid. Στον ethyl octanoate ο οίνος με το *Rhone* έχει τη μεγαλύτερη τιμή και ύστερα ο *Sc24*, για την isoamyl acetate το *Merlot* και ύστερα το *Mac2*, για το butyric acid το *Merlot* και μετά το *Sc24*. Κάτι τέτοιο φάνηκε να έγινε αντιληπτό από τους δοκιμαστές οι οποίοι χαρακτήρισαν τα Ασύρτικα με το *Merlot* και με το *Sc24* πιο φρουτώδη. Ο φρουτώδης χαρακτήρας στον οργανοληπτικό έλεγχο σημείωσε υψηλότερη βαθμολογία. Αυτό μπορεί να επαληθευτεί και με τον OAV όπου οι επικρατέστερες αυξημένες τιμές αφορούν ενώσεις με αρώματα φρούτων.

Κεφάλαιο 4. Συμπεράσματα

Το Ασύρτικο είναι μια διεθνώς δημοφιλής ποικιλία με πολλές προοπτικές στον ελλαδικό χώρο αλλά και στο εξωτερικό. Η αλκοολική ζύμωση με γηγενή στελέχη συμβάλλει στην εναρμόνιση του παραγόμενου οίνου με το *terroir* της αντίστοιχης περιοχής. Η χρήση επιλεγμένων στελεχών συνεισφέρει στην ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα του οίνου. Η δυναμικότητα της ποικιλίας αυτής και η αλκοολική της ζύμωση με αυτόχθονα στελέχη προσδοκούν στη δημιουργία ενός εκφραστικού οίνου, με τυπικότητα και μοναδικό χαρακτήρα, προσελκύοντας τις επιθυμίες του καταναλωτικού κοινού. Τα διακριτά στελέχη διαχειρίζονται ανάλογα την αλκοολική ζύμωση και εκλύουν ποικίλες πτητικές ενώσεις με διαφορετικό κατώφλι οσμής, αποτυπώνοντας την έννοια της ποικιλομορφίας.

Τα τέσσερα στελέχη *Saccharomyces cerevisiae* που μελετήθηκαν ήταν τα *Sc24*, *Merlot*, *Rhone*, *Mac2*. Η αλκοολική ζύμωση που διεξήχθη με αυτά τα στελέχη ήταν παρόμοια με έντονη κατανάλωση φρουκτόζης και γλυκόζης τις πρώτες μέρες και αργή κατανάλωση προς το τέλος. Παρ' όλα αυτά μόνο το *Merlot* κατάφερε να ολοκληρώσει τη ζύμωση με πλήρη κατανάλωση σακχάρων, δίνοντας ικανοποιητικό υψηλό αλκοολικό βαθμό 14,2 % vol. Αντίθετα το *Mac2* είχε την περισσότερη συγκέντρωση φρουκτόζης την 30^η μέρα και το μικρότερο αλκοολικό βαθμό 13,2 % vol. Όλα τα στελέχη παρουσίασαν διαφορές στις κλασσικές αναλύσεις οίνου. Όσον αφορά το γεγονός ότι τα τρία από τα τέσσερα στελέχη δεν κατάφεραν να ζυμώσουν πλήρως, αφήνοντας ποσότητα φρουκτόζης, υποδεικνύει πως δεν πρόκειται για φρουκτόφιλες ζύμες και σηματοδοτεί την ανάγκη επανάληψης δοκιμών σε γλεύκος Ασύρτικου με σκοπό την αποσαφήνιση των αποτελεσμάτων.

Η διεξαγωγή των πτητικών αναλύσεων απέδειξε την ύπαρξη αρκετών συστατικών που προβάλλουν ένα φρουτώδες κυρίως αρωματικό προφίλ και στους τέσσερις οίνους. Η παρουσία στατιστικών διαφορών ανάμεσα στις πτητικές ενώσεις των οίνων αποδεικνύει την ύπαρξη της ποικίλης έκφρασης ανάλογα με τη δράση του κάθε ζυμομύκητα. Ο καθένας προσέδωσε διαφορετικές συγκεντρώσεις πτητικών οι οποίες μεταξύ τους συγκλίνουν διαμορφώνοντας τέσσερα ιδιόμορφα Ασύρτικα με παρόμοια χαρακτηριστικά.

Η τέλεση του οργανοληπτικού ελέγχου οδήγησε στην απολαβή συμπερασμάτων που ικανοποιούνται από τις εργαστηριακές αναλύσεις. Ο οίνος που ξεχώρισε ως

περισσότερο οξειδωμένος οπτικά ήταν ο *Rhone*, ο οποίος στην οξείδωση και στην οξύτητα κατείχε εξίσου τις υψηλότερες βαθμολογίες. Το σύνολο των οίνων παρουσίασε αρκετή ένταση στην οσφρητική αξιολόγηση και δομημένο σώμα στη γευστική. Ο αρωματικός χαρακτήρας αν και απέδωσε ανθικά και φρουτώδη αρώματα, η φρουτώδης αντίληψη ήταν εκείνη που αναδείχθηκε συνολικά με το *Merlot* να ξεχωρίζει. Αν και ο *Mac2* καταγράφηκε με περισσότερη φρουκτόζη, ο αμέσως επόμενος οίνος με το *Sc24* ήταν εκείνος που εξέδωσε υψηλότερη γλυκύτητα στο στόμα των δοκιμαστών. Ολοκληρώνοντας, η γενική εκτίμηση στην ποιότητα των παραγόμενων οίνων ήταν αρκετά καλή και στα τέσσερα είδη.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη μπορεί να διακρίνει το Ασύρτικο με το στέλεχος *Merlot* ως πιο κατάλληλο για παραγωγή εξελιγμένου οίνου. Η συγκεκριμένη ζύμη ήταν ικανή να ολοκληρώσει την αλκοολική ζύμωση με πλήρη κατανάλωση σακχάρων και να αποδώσει υψηλό αλκοολικό βαθμό όπως αρμόζει τυπικά σε ένα Ασύρτικο. Επίσης, κατάφερε να συγκεντρώνει τους περισσότερους εστέρες και οξέα αλλά και αρκετές αλκοόλες, ώστε να αποδώσει τον ιδιαίτερο φρουτώδη χαρακτήρα, όπως εντόπισαν και οι δοκιμαστές, δίνοντας έναν ποιοτικό οίνο με υψηλές προδιαγραφές. Ωστόσο, η επανάληψη της πειραματικής διαδικασίας, για περαιτέρω αναλύσεις και συμπεράσματα, είναι αναγκαία για τον εμπλουτισμό των γνώσεων και την ανάδειξη νέων τεχνικών, που οδηγούν στην εμπορική ανάπτυξη του οίνου.

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Aponte M. & Blaiotta G. (2016). Selection of an autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strain for the vinification of “Moscato di Saracena”, a southern Italy (Calabria Region) passito wine. *Food Microbiology* 54: 30-39.

Bakker J. & Clarke R. (2012). *Wine Flavor Chemistry*. 2nd ed. Chichester. Wiley-Blackwell.

Beltran, G., Torija, M. J., Novo, M., Ferrer, N., Poblet, M., Guillamón, J. M. & Mas A. (2002). Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: a six year follow-up study. *Systematic and Applied Microbiology* 25: 287-293.

Carrascosa A. V., Munoz R. & Gonzalez R. (2011). *Molecular Wine Microbiology*. Cambridge. Academic Press.

Carrau, F. M., Medina, K., Boido, E., Farina, L., Gaggero, C., Dellacassa, E., Versini G. & Henschke P. (2005). De novo synthesis of monoterpenes by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *FEMS Microbiology Letters* 243: 107-115.

Charters S. & Pettigrew S. (2006). Product involvement and the evaluation of wine quality. *Qualitative Market Research: An International Journal* 9(2): 181-193.

Chen K. & Li J. (2022). A glance into the aroma of white wine. Morata A. *White Wine Technology*. Beijing. College of Food Science & Nutritional Engineering 24: 313-326.

Clarke, R. J. & Bakker, J. (2004). Wine flavour chemistry. United Kingdom. *Blackwell Publishing Languages Training and Development Oxford* 4: 120-183.

Delso C., Bersosa A., Sanz J., Alvarez I. & Raso J. (2023). Pulsed electric field processing as an alternative to sulfites (SO₂) for controlling *Saccharomyces cerevisiae* involved in the fermentation of Chardonnay white wine. *Food Research International* 165: 112-525.

Domizio P. & Lencioni L. (2011). Vin Santo. *Advances in Food and Nutrition Research* 63: 41-100.

Escudero A., Campo E., Farina L., Cacho J. & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(11): 4501-4510.

Escudero A., Gorgoza B., Melus M. A., Ortin N., Cacho J. & Ferreira V. (2004). Characterization of the Aroma of a Wine from Maccabeo. Key Role Played by Compounds with Low Odor Activity Values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 3516-1524.

Fabjanowicz M., Rozanska A., Kalinowska K. & Plotka-Wasyłka J. (2022). Miniaturized, green salting-out liquid-liquid microextraction coupled with GC-MS used to evaluate biogenic amines in wine samples. *Microchemical Journal* 180:107-616.

Fang, Y. & Qian, M. C. (2016). Development of C13-norisoprenoids, carotenoids and other volatile compounds in *Vitis vinifera* L. Cv. Pinot Noir grapes. *Food Chemistry* 192: 633–664.

Flamini R. & Traldi P. (2010). *Mass Spectrometry in Grape and Wine Chemistry*. Canada. A John Wiley & Sons 5: 117-150.

Fugelsang K. C. & Edwards C. G. (2007). *Wine Microbiology Practical Applications and Procedures*. 2nd ed. New York. Springer.

Gonzalez-Barreiro C., Rackel R.O., Beatriz C. G. & Jesus S. G. (2014). Wine aroma compounds in grapes. *Critical Reviews in Food and Science Nutrition* 55: 202-218.

Grainger K. (2009). Wine quality: tasting and selection. United Kingdom. *John Wiley & Sons Languages Training and Development* 1: 1-18.

Ivanova V., Stefova M., Stafilov T., Vojnoski B., Biro I., Bufa A. & Kilas F. (2012). Validation of a Method for Analysis of Aroma Compounds in Red Wine using Liquid–Liquid Extraction and GC–MS. *Food Analytical Methods* 5: 1427-1434.

Jackson, R. S. (2002). Wine tasting: A Professional Handbook. 2nd ed. Canada. *Cool Climate Oenology and Viticulture Institute -Brock University* 1: 1-230.

Jordao A. & Ricardo-da-Silva J. (2022). Use of different wood species for white wine production: wood composition and impact on wine quality. Morata A. *White Wine Technology*. Cambridge. Academic Press – Elsevier 22: 281-300.

Karatson D., Telbisz T., Gertisser R., Strasser T., Nomikou P., Druitt T., Verev V., Quidelleur X. & Kosik S. (2020). Constraining the landscape of Late Bronze Age Santorini prior to the Minoan eruption: Insights from volcanological, geomorphological and archaeological findings. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 401: 5-12.

Khalafyan A., Temerdashev Z., Abakumov A., Yacuba Y., Sheludko O. & Kaunova A. (2023). Multidimensional analysis of the interaction of volatile compounds and amino acids in the formation of sensory properties of natural wine. *Heliyon - Cell Press* 9: 114-128.

König H., Unden G. & Fröhlich J. (2009). *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Berlin. Springer Science + Business Media.

Lai Y-T. Yuan J-F., Chen Z-Y., Wang D-H. & Sun J-R. (2023). Microwave irradiation: Reduction of higher alcohols in wine and the effect mechanism by employing model wine. *Lebensmittel Wissenschaft & Technology* 11: 17-78.

Lappa I. K., Kachrimanidou V., Pateraki C., Koulougliotis D., Eriotou E. & Kopsahelis N. (2020). Indigenous yeasts: emerging trends and challenges in winemaking. *Current Opinion in Food Science* 32: 133-143.

Lyu X., Araujo L., Quek S. & Kilmartin P. (2021). Effects of antioxidant and elemental sulfur additions at crushing on aroma profiles of Pinot Gris, Chardonnay and Sauvignon Blanc wines. *Food Chemistry* 346: 128-914.

Martineau B., Acree T. & Henick-Kling T. (1995). Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. *Food Research International* 28: 139-143.

Mina M. & Tsaltas D. (2017). Contribution of Yeast in wine Aroma and Flavor. Morata A. & Loira I. *Yeast – Industrial Applications*. United Kindom. IntechOpen 5: 706-756.

Moreira N., Mendes F., Pereira O., Guedes de Pinho P., Hogg T. & Vasconcelos I. (2002). Volatile sulphur compounds in wine relate to yeast metabolism and nitrogen composition of grape must. *Analytica Chimica Acta* 458: 157-167.

Morrena-Arribas M. V. & Polo C M. (2009). Wine Chemistry and Biochemistry. Madrid. *Springer Science + Business Media* 2: 161-438.

Mosconi S., Bachetta A., Melloni R., Oliva M. & Botti L. (2022). A structured approach to support the definition of confined space entry and working procedures in the wine industry. *Transportation Research Procedia* 67: 109-117.

OIV. (2017). Statistical report on world vitiviniculture. Paris. International Organization of Vine and Wine. Intergovernmental Organization. Ανακτήθηκε από <https://www.oiv.int/> στις 10/04/2023.

Ortega C., Lopoez R. & Ferreira V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds, development and validation of a new method based on gas chromatographic – flame ionization detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A* 923: 205-214.

Padilla B., Gili J. V. & Manzanares P. (2016). Past and Future of Non-Saccharomyces Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving Wine Aroma Complexity. *Frontiers in Microbiology* 7: 1-20.

Pinu F. R., Villas-Boas S. & Martin D. (2017). Pre – fermentative supplementation of fatty acids alters the metabolic activity of wine yeasts. *Food Research International* 121: 835-844.

Qian X., Lan Y., Han S., Liang N., Zhu B., Shi Y. & Duan C. (2020). Comprehensive investigation of lactones and furanones in icewines and dry wines using gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Food Research International* 137: 109-650.

Rauhut G. (1993). Sulfur compounds and their influence on wine quality. *Wein - Wissenschaft* 48: 214-218.

Ribéaux-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B. & Lonvaud A. (2006). Handbook of Enology Volume 1 The Microbiology of Wine and Vinifications. 2nd ed. Chichester. *John Wiley & Sons, Languages Training and Developmen* 1: 1-192.

Ribéaux-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Durboudieu D. & Rychlewski C. (2006). Handbook of Enology Volume 2 The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. 2nd ed. Chichester. *John Wiley & Sons, Languages Training and Development* 1: 1-230.

Romano P. & Suzzi G. (1996). Origin and Production of Acetoin during Wine Yeast Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 309-315.

Ronald S. J. (2002). *Wine Science*. 2nd ed. Cambridge. Academic Press.

Ronald S. J. (2002). *Wine Tasting A Professional Handbook*. 2nd ed. Cambridge. Academic Press.

Scoog D. A., Holler F. J. Nieman T. A. (2007). *Principles of Instrumental Analysis*. 5th ed. Kostarakis.

Sidhu, D., Lund, J., Kotseridis, Y. & Saucier, C. (2015). Methoxypyrazine analysis and influence of viticultural and enological procedures on their levels in grapes, musts, and wines. *Critical Reviews in Food and Science Nutrition* 55: 485–502.

Styger G., Prior B. & Bauer F.F. (2011). Wine flavor and aroma. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 38: 1145-1159.

Suarez, R., Suarez-Lepe, J.A., Morata, A. & Calderon, F. (2007) The production of ethylphenols in wine by yeasts of the genera *Brettanomyces* and *Dekkera*: A review. *Food Chemistry* 102: 10–21.

Ελληνική βιβλιογραφία

Γαλάνη Α. (2022). Σημειώσεις: Εργαστηριακές ασκήσεις οργανικής χημείας: εκχύλιση. Πάτρα. Πανεπιστήμιο Πατρών. Πολυτεχνική Σχολή Πανεπιστήμιο Πατρών. Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος.

Δημοπούλου Μ. (2021). Σημειώσεις Μικροβιολογία Οίνου. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου.

Ζαρμπούτης Γ. Β. & Γκαγκνή Α. Ι. (2009). *Γεωργικές Καλλιέργειες*. Αθήνα. Εκδόσεις ΙΩΝ Στέλλα Παρίκου & ΣΙΑ Ο.Ε.

Καλλίθρακα Σ. (2022). Σημειώσεις: Γευσιγνωσία Οίνου. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου.

Καλλίθρακα Σ. (2021). Σημειώσεις: Χημεία Οίνου. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου.

Κοντογιάννης Χ. (2015). Σημειώσεις: Ενόργανη Ανάλυση. Πάτρα. Πανεπιστήμιο Πατρών. Σχολή Επιστημών Υγείας. Τμήμα Φαρμακευτικής.

Καρβέλα Ε. (2020). Σημειώσεις: Παραγωγή Οίνου. Αθήνα. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής. Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής.

Κοτσερίδης Γ., Καλλίθρακα Στ. & Προξενιά Ν. (2017). Σημειώσεις: Οινολογία II Εργαστηριακές ασκήσεις. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου. Εργαστήριο Οινολογίας.

Κοτσερίδης Γ. (2017). Σημειώσεις: Τεχνολογία Οίνου I. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου.

Κοτσερίδης Γ. (2022). Σημειώσεις: Τεχνολογία Οίνου I. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου.

Κουνδουράς Σ. (2021). Σημειώσεις: Αμπελουργία για οινολόγους. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου.

Κουνδουράς Σ. (2022). Σημειώσεις: Αμπελουργία για οινολόγους. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου.

Κουράκου Σ. (1998). *Θέματα Οινολογίας, Επιστήμη και Τεχνολογία στον τομέα της οινοποιητικής τεχνικής*. Αθήνα. Εκδόσεις Τροχαλία.

Κουράκου Σ. (2003). Σεμινάριο Γευσιγνωσίας γηγενών ποικιλιών Βορείου Ελλάδος. Θεσσαλονίκη. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. Σχολή Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος. Τμήμα Γεωπονίας.

Κωστάκης Μ. (2021) Σημειώσεις: Υγροχρωματογραφία – HPLC. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Θετικών Επιστημών. Τμήμα Χημείας.

Μπακασιέτας Κ. (2022). Ελληνικές ποικιλίες και γενετική παραλλακτικότητα. Σημειώσεις Αμπελουργίας για οινολόγους. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου.

Νεράντζης Η., Ταταρίδης Π., Λιούνη Μ. & Βαρελάς Β. (2015). *Μικροβιολογία Οίνου*. Αθήνα. Εκδόσεις Έμβρυο.

Νικολάου Ν. (2012). *Αμπελογραφία*. Θεσσαλονίκη. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία.

Ντουρτόγλου Θ. (2020) Σημειώσεις: Αρωματικές Ενώσεις Οίνου. Αθήνα. Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής. Σχολή Επιστημών Τροφίμων. Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών.

Παπανικολάου Σ. (2017). Σημειώσεις: Μικροβιολογία Οίνου – Τεχνολογία Ζυμώσεων. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου. Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων.

Παραμυθιώτης Σ. (2021). Σημειώσεις: Μικροβιολογία Οίνου. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου.

Πετροπούλου Σ. (2016). Σημειώσεις: Αμπελουργίας. Καλαμάτα. Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου. Σχολή Γεωπονίας και Τροφίμων. Τμήμα Γεωπονίας.

Πλέσσας Σ. (2021). Σημειώσεις: Οινολογίας. Ορεστιάδα. Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης. Σχολή Επιστημών Γεωπονίας και Δασολογίας. Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης.

Σουφλερός Ε. (2000). *Οινολογία*. Θεσσαλονίκη. Εκδόσεις Σταμούλη.

Σουφλερός Ε. (2012). *Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία*. Θεσσαλονίκη. Εκδόσεις Σταμούλη.

Σταυρακάκης Μ. (2010). *Αμπελογραφία*. Αθήνα. Εκδόσεις Τροπή.

Σταυρακάκης Μ. (2013). *Αμπελουργία*. Αθήνα. Εκδόσεις Τροπή.

Σταύρακας Δ. (2011). *Αμπελογραφία*. Αθήνα. Εκδόσεις Ζήτη.

Ταραντίλης Π. Α. (2021). Σημειώσεις: Χημεία και Ανάλυση Γλεύκους και Οίνου. Αθήνα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας και Ανάπτυξης. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου. Εργαστήριο Χημείας.

Τζίτζη Μ. & Κυπαρισσίου Π. (2010). *Στοιχεία οινολογίας, Η τέχνη του οινοχόου*. Αθήνα. Le Monde – Lec Livres du Tourism.

Τσακίρης Α. (1994). *Οινολογία*. Αθήνα. Εκδόσεις Ψυχάλου.

Τσακίρης Α. (2020). *Οινολογία από το σταφύλι στο κρασί*. Αθήνα. Εκδόσεις Ψυχάλου.

Τσιλιανός Δ. (2022). Σημειώσεις: Χαρακτηριστικά και ιδιότητες ποικιλιών αμπέλου. Καλαμάτα. Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου. Σχολή Γεωπονίας και Τροφίμων. Τμήμα Γεωπονίας. Εργαστήριο Αμπελουργίας. Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου.

ΥΠΑΑΤ (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων). (2007). Προδιαγραφή του προϊόντος (Κανονισμός (ΕΚ) 1234/2007, ΑΡΘΡΟ 118 γ, ΠΑΡ/ΦΟΣ 2). Από: Οίνοι ΠΟΠ – Τεχνικοί Φάκελοι. Σαντορίνη. Ανακτήθηκε από <http://www.minagric.gr/greek/data/pop-.pdf> στις 07/04/2023.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

(Αναλυτικά αποτελέσματα πτητικών ενώσεων)

ΑΛΚΟΟΛΕΣ (mg/L)

Στελέχη	Isoboutanol	Isoamylalcohol	1-hexanol	2,3-Butanediol	Butyrolactone	Phenylethyl Alcohol	Methionol
Merlot	18,3234 ± 0,0559 a	102,864 ± 1,4935 a	0,6549 ± 0,0082 a	3,1582 ± 0,0144 c	4,1796 ± 0,1894 a	6,8416 ± 0,0857 a	1,6026 ± 0,0387 ab
Sc24	30,7167 ± 0,0395 c	103,0852 ± 0,5021 a	0,7385 ± 0,002 b	3,5030 ± 0,0487 d	4,0299 ± 0,0031 a	7,5543 ± 0,0514 b	1,5454 ± 0,0040 a
Mac2	25,4151 ± 0,6361 b	106,8204 ± 2,4195 b	0,6587 ± 0,0215 a	2,7657 ± 0,1192 b	4,0089 ± 0,0320 a	6,9613 ± 0,2292 a	1,5873 ± 0,0776 ab
Rhone	38,5473 ± 0,0028 d	116,2553 ± 0,2918 c	0,7792 ± 0,016 c	1,4381 ± 0,007 a	4,0337 ± 0,0122 a	7,5086 ± 0,0161 b	1,6319 ± 0,0107 b

Πίνακας 2. Αλκοόλες MO ± Τυπικό σφάλμα., Μέσοι όροι με διαφορετικό γράμμα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των στελεχών των ζυμομυκήτων σε κρασί ποικιλίας Ασύρτικο (Tukey's test, $p < 0.05$)

ΕΣΤΕΡΕΣ (mg/L)

Στελέχη	Isoamyl acetate	EthylHexanoate	HexylAcetate	Ethyl L-Lactate	EthylOctanoate	Ethyl Decanoate	DiethylSuccinate	Phenylethyl Acetate	Ethyl-3-hydroxybutyrate
Merlot	0,6569 ± 0,0637 b	0,3192 ± 0,0132 ab	0,0684 ± 0,001 b	1,9479 ± 0,002 b	0,7169 ± 0,1402 b	0,1785 ± 0,0017 b	0,1021 ± 0,0028 b	0,6123 ± 0,1142 a	0,1206 ± 0,003 b
Sc24	0,4309 ± 0,0094 a	0,3278 ± 0,019 ab	0,0477 ± 0,0006 a	1,5049 ± 0,01 a	1,0268 ± 0,0122 c	0,1652 ± 0,001 a	0,1124 ± 0,0013 b	0 0	0,1004 ± 0,0013 a
Mac2	0,6151 ± 0,05 b	0,3316 ± 0,05 b	0,0609 ± 0,0086 b	1,8237 ± 0,223 b	0,3241 ± 0,0348 a	0,1602 ± 0,0085 a	0,0762 ± 0,022 a	0,7020 ± 0,12 a	0,0941 ± 0,0064 a
Rhone	0,4009 ± 0,0012 a	0,3149 ± 0,0013 a	0,0493 ± 0,001 a	1,8782 ± 0,0161 b	1,3069 ± 0,0161 d	0,2147 ± 0,0018 c	0,1568 ± 0,0021 c	0 0	0,1135 ± 0,0056 b

Πίνακας 3. Εστέρες MO ± Τυπικό σφάλμα., Μέσοι όροι με διαφορετικό γράμμα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των στελεχών των ζυμομυκήτων σε κρασί ποικιλίας Ασύρτικου (Tukey's test, $p < 0.05$)

ΟΞΕΑ (mg/L)

Στελέχη	Isobutyric Acid	Butyric Acid	Hexanoic Acid	Octanoic Acid	Decanoic Acid
Merlot	3,7794 ± 0,052 c	6,7379 ± 0,063 b	6,4890 ± 0,01 a	5,7099 ± 0,0942 b	2,2771 ± 0,02 b
Sc24	2,6538 ± 0,006 b	6,4783 ± 0,03 ab	6,5194 ± 0,1056 a	5,0745 ± 0,0527 a	2,0690 ± 0,0168 a
Mac2	2,4728 ± 0,1248 a	6,1550 ± 0,3776 a	6,7762 ± 0,0232 b	5,8805 ± 0,2282 b	2,2131 ± 0,1294 b
Rhone	3,6620 ± 0,05 c	6,3996 ± 0,06 ab	6,4781 ± 0,0163 a	5,2519 ± 0,089 a	2,3224 ± 0,028 b

Πίνακας 4. Οξέα $MO \pm$ Τυπικό σφάλμα., Μέσοι όροι με διαφορετικό γράμμα υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των στελεχών των ζυμομυκήτων σε κρασί ποικιλίας Ασύρτικου (Tukey's test, $p < 0.05$)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

(Αναλυτικά αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου στο ΓΠΑ)

	Απόχρωση	STDV	
Sc24	2,5625	0,0625	ab
Merlot	2,4375	0,1875	a
Rhone	3,8125	0,0625	c
Mac2	2,75	0	b

Πίνακας 5. Απόχρωση οίνου

	Ένταση	STDV	
Sc24	2,8125	0,1875	a
Merlot	3	0,125	a
Rhone	2,8125	0,1875	a
Mac2	2,75	0,125	a

Πίνακας 6. Οπτική ένταση οίνου

	Ανθικά	STDV	
Sc24	2,5	0	bc
Merlot	2,5	0,125	c
Rhone	2,25	0,125	ab
Mac2	2,125	0,125	a

Πίνακας 7. Ανθικά αρώματα οίνου

	Φρουτώδη	STDV	
Sc24	2,375	0,0625	b
Merlot	2,8125	0,1875	b
Rhone	2	0,25	a
Mac2	2,75	0,25	b

Πίνακας 8. Φρουτώδη αρώματα οίνου

	Οξειδωση	STDV	
Sc24	2,125	0,125	ab
Merlot	1,875	0,125	a
Rhone	2,5625	0,0625	b
Mac2	1,875	0,125	a

Πίνακας 9. Οξειδωση οίνου

	Οξύτητα	STDV	
Sc24	2,875	0,25	a
Merlot	3	0,125	a
Rhone	3,375	0,125	b
Mac2	2,75	0,125	a

Πίνακας 10. Οξύτητα οίνου

	Γλυκύτητα	STDV	
Sc24	2,5625	0,1875	c
Merlot	2,0625	0,0625	b
Rhone	1,6875	0,0625	a
Mac2	1,8125	0,0625	a

Πίνακας 11. Γλυκύτητα οίνου

	Λιπαρότητα	STDV	
Sc24	2,75	0,125	b
Merlot	2,625	0	b
Rhone	2,75	0,125	b
Mac2	2,375	0,125	a

Πίνακας 12. Λιπαρότητα-σώμα οίνου

	Γενικά	STDV	
Sc24	2,625	0,125	a
Merlot	2,75	0	a
Rhone	2,6875	0,1875	a
Mac2	2,75	0,25	a

Πίνακας 13. Γενική εκτίμηση οίνου

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

ΑΘΗΝΑ 2023