



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

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση του σταδίου ωρίμανσης της ποικιλίας Ασύρτικο στη Σαντορίνη στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων

Μαργαρίτα Κ. Κουμπιού

Επιβλέπων καθηγητής:
Γιώργος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2023**

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση του σταδίου ωρίμανσης της ποικιλίας Ασύρτικο στη Σαντορίνη στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων

“Effect of the ripening stage of the Assyrtiko variety in Santorini on the physicochemical characteristics and the organoleptic character of the wines”

Μαργαρίτα Κ. Κουμπιού

Εξεταστική Επιτροπή:

Γιώργος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Σταματίνα Καλλίθρακα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Ταραντίλης Πέτρος, Καθηγητής ΓΠΑ

Επίδραση του σταδίου ωρίμανσης της ποικιλίας Ασύρτικο στη Σαντορίνη στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων

*ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων I) Γαλακτοκομία II) Οινολογία
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Οινολογίας & Αλκοολούχων Ποτών*

Περίληψη

Στη παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε το δυναμικό της ποικιλίας Ασύρτικο, μιας λευκής ποικιλίας η οποία είναι γνωστή σε όλο τον κόσμο και προέρχεται από τη Σαντορίνη. Οι οίνοι παρήχθησαν από σταφύλια που συλλέχθηκαν σε τρία διαφορετικά στάδια ωρίμανσης από το ίδιο αμπελοτεμάχιο (Λιβάδι Ρούσσου) στη περιοχή Μπαζές της Οίας. Στη συνέχεια, ακολουθήθηκε κλασικό πρωτόκολλο λευκής οινοποίησης. Στα δείγματα που παραλήφθηκαν εφαρμόστηκαν οι βασικές αναλύσεις οίνου σύμφωνα με τις μεθόδους του OIV (μέτρηση ολικής, ενεργούς και πτητικής οξύτητας, προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου, μέτρηση αναγόντων σακχάρων). Επιπλέον, έγινε προσδιορισμός των ολικών φαινολικών, καθώς και προσδιορισμός τρυγικού και μηλικού οξέος με ενζυμική ανάλυση. Στη συνέχεια, έγινε μελέτη του ρυθμού οξειδωσης με τεστ επιταχυνόμενης οξειδωσης και μελέτη των πτητικών ενώσεων που υπάρχουν στους συγκεκριμένους οίνους με αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματογράφο μάζας (GCMS). Προκειμένου να γίνει οργανοληπτική αξιολόγηση των τριών οίνων, πραγματοποιήθηκε γευσιγνωσία από ειδικά εκπαιδευμένη ομάδα. Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι οι παραγόμενοι οίνοι από σταφύλια με μεγαλύτερο βαθμό ωρίμανσης έδωσαν οίνους με μεγαλύτερο αλκοολικό τίτλο, πιο ευοξειδωτους αλλά πιο αρεστούς στην ομάδα οργανοληπτικής αξιολόγησης ενώ οι οίνοι της 2^η ωρίμανσης είχαν τις μεγαλύτερες τιμές στα φαινολικά συστατικά, στα τερπένια, στους αιθυλεστέρες και τις πτητικές φαινόλες. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η επίδραση του σταδίου ωρίμανσης της ποικιλίας Ασύρτικο στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και να προσδιοριστεί ο βέλτιστος χρόνος συγκομιδής για κάθε συγκεκριμένο τύπο οίνου με βάση την παρουσία και εξέλιξη συγκεκριμένων ενώσεων όπως και μέσω της οργανοληπτικής αξιολόγησης στους παραχθέντες οίνους.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: Ασύρτικο, ωρίμανση, πτητικά συστατικά, δείκτες φαινολικών συστατικών, GS-MS, τεστ επιταχυνόμενης οξειδωσης

Effect of the ripening stage of the Assyrtiko variety in Santorini on the physicochemical characteristics and the organoleptic character of the wines

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

ABSTRACT

In the present study, the potential of the Assyrtiko variety, a white variety known all over the world, originating from Santorini, was evaluated. The grapes were harvested at three different stages of ripening from the same vineyard (Livadi Roussou) in Baxes, a village located in Oia. A typical white micro-vinification protocol was then followed. According to OIV, a conventional analysis of wine took place. In addition, total phenolics were determined, as well as tartaric and malic acid determination by enzymatic analysis. Then, the rate of oxidation was studied with an accelerated oxidation test and volatile compounds were studied with Gas Chromatography Mass Spectrograph (GCMS). In order to make an organoleptic evaluation of the three wines, a tasting was carried out by a specially trained team. The outcome of the experiment was, that the wine produced from grapes with higher ripening degree resulted in wines with higher alcohol, more oxidized but more preferable by the organoleptic evaluation group. On the other hand, wines of the 2nd ripening had the highest values(rate) in phenolic components, terpenes, ethyl esters and volatile phenols. The aim of this thesis was to study the effect of the ripening stage of the Assyrtiko variety on the physicochemical characteristics and to determine the optimal harvest time for each specific type of wine based on the presence and evaluation of specific compounds as well as through the organoleptic evaluation of the produced wines.

Scientific area: Oenology

Keywords: Assyrtiko, maturity, volatile compounds, phenolic acid indexes, GC-MS, accelerated browning experiment

Πίνακας περιεχομένων

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή.....	2
1.1 Ο αμπελώνας της Σαντορίνης.....	2
1.1.1 Ποικιλίες σταφυλιών	2
1.1.1.1 Η ποικιλία Ασύρτικο	3
1.1.2 Το κλίμα	4
1.1.3 Το έδαφος.....	4
1.1.4 Το πότισμα στον Σαντορινιό αμπελώνα	5
1.1.5 Σχήμα μόρφωσης και ιδιότητες των πρέμνων	5
1.1.5.1 Συστήματα μόρφωσης.....	6
1.1.6 Τρύγος 2022 στη Σαντορίνη	7
1.2 Πορεία ωρίμανσης σταφυλιού.....	8
1.3 Οξείδωση οίνου.....	9
1.3.1 Ενζυμική οξείδωση	10
1.3.2 Χημική οξείδωση (Μη ενζυμική).....	11
1.3.3 Μέθοδοι προσδιορισμού οξείδωσης.....	12
1.4 Μη πτητικά συστατικά οίνων	13
1.4.1 Φλαβονοειδή.....	14
1.5 Πτητικά συστατικά οίνων	15
1.5.1 Κατηγορίες αρωμάτων στον οίνο	16
1.5.1.1 Αλκοόλες.....	17
1.5.1.2 Εστέρες	18
1.5.1.3 Τερπένια.....	19
1.5.1.4 Καρβονυλικές ενώσεις.....	20
1.5.1.5 Λιπαρά οξέα	21
1.5.1.6 Θειούχες ενώσεις.....	22
1.5.1.7 Μεθοξυπυραζίνες	24
1.5.1.8 Ακετάλες	25
1.5.1.9 Λακτόνες.....	26
1.6 Αέρια Χρωματογραφία -Φασματομετρία Μάζας (GC-MS).....	26
1.7 Σκοπός του πειράματος	27
Κεφάλαιο 2. Υλικά και μέθοδοι	29
2.1 Παρακολούθηση ωρίμανσης.....	29
2.2 Τρύγος σταφυλιών	29

2.3	Αναλύσεις γλεύκους.....	29
2.3.1	Προσδιορισμός πυκνότητας	29
2.3.2	Προσδιορισμός ολικής οξύτητας.....	30
2.3.3	Προσδιορισμός της ενεργού οξύτητας (pH)	30
2.4	Λευκή Οινοποίηση.....	30
2.5	Αναλύσεις οίνων	31
2.5.1	Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου (%vol).....	31
2.5.2	Προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας	32
2.5.3	Προσδιορισμός των αναγωγικών σακχάρων με οξικό μόλυβδο	32
2.5.4	Προσδιορισμός θειώδη ανυδρίτη.....	34
2.5.4.1	Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης	34
2.5.4.2	Ολικός θειώδης ανυδρίτης	34
2.5.5	Απορρόφηση στα 420.....	35
2.5.6	Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών	35
2.5.6.1	ΔΦΟ (δείκτης φαινολικών ουσιών)	35
2.5.6.2	Προσδιορισμός ολικών φαινολικών (Folin – Ciocalteu).....	35
2.5.7	Τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης	37
2.5.8	Δείκτες φαινολικών συστατικών	38
2.5.9	Ενζυμικές αναλύσεις.....	39
2.6	Προσδιορισμός πτητικών συστατικών με GC/MS.....	40
2.6.1	Εκχύλιση πτητικών ενώσεων	40
2.6.2	Αέρια χρωματογραφία-Φασματογραφία μάζας.....	40
2.7	Οργανοληπτικός έλεγχος.....	41
2.8	Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων	42
Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση		43
3.1	Παρακολούθηση ωρίμανσης – Προζυμωτικές μετρήσεις	43
3.2	Πορεία αλκοολικής ζύμωσης.....	44
3.3	Βασικές αναλύσεις οίνων	44
3.3.1	Ολική οξύτητα.....	45
3.3.2	Ενεργή οξύτητα (pH)	46
3.3.3	Συγκέντρωση τρυγικού/μηλικού οξέος.....	46
3.3.4	Πτητική οξύτητα.....	47
3.3.5	Ανάγοντα σάκχαρα.....	48
3.3.6	Αλκοολικός τίτλος	48
3.4	Φαινολικά συστατικά	49
3.4.1	Δείκτης φαινολικών ουσιών	49

3.4.2	Ολικά φαινολικά (Folin).....	50
3.4.3	Δείκτες φαινολικών συστατικών	51
3.4.4	Έλεγχος οξειδωτικής σταθερότητας.....	51
3.5	Πτητικά συστατικά των οίνων	52
3.6	Οργανοληπτική αξιολόγηση.....	54
	Κεφάλαιο 4 Αποτελέσματα - Συμπεράσματα	55
	ΠΗΓΕΣ.....	59
	Ηλεκτρονική βιβλιογραφία	59
	Ελληνική βιβλιογραφία.....	59
	Διεθνής βιβλιογραφία.....	59

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

1.1 Ο αμπελώνας της Σαντορίνης

Η Σαντορίνη είναι ένα ενεργό ηφαιστειακό σύμπλεγμα στις Κυκλάδες, με έκταση 79,16 km². Μετά την έκρηξη του ηφαιστείου που σημειώθηκε γύρω στο 1630 π.Χ μόνο τα αμπέλια, οι τομάτες, το φάβα και η κάπαρη κατάφεραν να ευδοκιμήσουν στο νησί . Σήμερα, 942 στρέμματα εδάφους του νησιού καλύπτονται από καλλιεργούμενους αμπελώνες κάνοντας την αμπελοκαλλιέργεια τον σημαντικότερο τομέα αγροτικής παραγωγής στη Σαντορίνη. Η ιστορία της χάνεται στους προϊστορικούς χρόνους, όταν οι Φοίνικες την εισήγαγαν στην ευρύτερη περιοχή του Αιγαίου πελάγους. Η αρχαιολογική σκαπάνη στην προϊστορική πόλη του Ακρωτηρίου έφερε στο φως πλήθος αγγείων, της δεύτερης χιλιετίας π.Χ., που χρησίμευαν για την μεταφορά και την αποθήκευση του κρασιού, διακοσμημένα με μοναδικές παραστάσεις σταφυλιών. Στα νεότερα χρόνια τα σχετικά στοιχεία για τον αμπελώνα της Σαντορίνης και την παραγωγή του, προέρχονται από Δυτικούς περιηγητές, σύμφωνα με τους οποίους ολόκληρο το νησί ήταν ένας αμπελώνας και παρήγαγε το περίφημο γλυκό κρασί VINSANTO, ονομασία προερχόμενη από τους λατινικούς όρους VINO-SANTO, που σήμαινε κρασί της Σαντορίνης.

Ο αμπελώνα της Σαντορίνης διακρίνεται για τη μεγάλη αμπελογραφική συλλογή του, παραπάνω από 50 ποικιλίες αμπέλου έχουν καταγραφεί με ορισμένες να είναι σπάνιες και να έχουν πολύ ιδιαίτερα οινολογικά αμπελογραφικά και χαρακτηριστικά. Τέλος, να σημειωθεί ότι δεν είναι γνωστό ποιες από αυτές τις ποικιλίες καλλιεργήθηκαν στην αρχαιότητα, εκτός από τη Μανδηλαριά και το Αθήρι (Καφούρος, 2012).

1.1.1 Ποικιλίες σταφυλιών

Βασική ποικιλία του αμπελώνα της Σαντορίνης είναι το **Ασύρτικο**, λευκή ποικιλία, η οποία στο ιδιόμορφο εδαφοκλιματικό περιβάλλον της Σαντορίνης έχει προσαρμοστεί τέλεια και δίνει προϊόντα με ξεχωριστά χαρακτηριστικά. Ακόμη, δύο πολύ σημαντικές λευκές ποικιλίες για τον Σαντορινιό αμπελώνα είναι το **Αηδάνι** και το **Αθήρι**. Από τη συνοινοποίηση του Ασύρτικου μαζί με το Αθήρι και το Αηδάνι προκύπτει το Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευση λευκό ξηρό (ΠΟΠ) ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ. Άλλες λευκές ποικιλίες αμπέλου που φιλοξενούνται στον αμπελώνα της Σαντορίνης είναι η Αγριογλυκάδα, το Ασπροβουδόματο, η Ασπρούδα, η Γαιδουριά, η Άσπρη Βάφτρα, η Ασπρομαντηλαριά, η Γλυκάδα, το Κρητικό, το Ποταμίσι, το Πλατάνι, το Κατσανό, το Φλασκασύρτικο, ο Σταυραχιώτης. Από τις ερυθρές ποικιλίες, η **Μανδηλαριά** κατέχει τη πιο σημαντική θέση στον αμπελώνα της Σαντορίνης και

ύστερα το Μαυροτράγανο και ακολουθούν σε πολύ μικρές ποσότητες το Μαυράθηρο, η Βάφτρα και το Βουδόματο, Από παλαιότερα κείμενα φαίνεται πως στο νησί καλλιεργήθηκαν πολλές ποικιλίες, οι οποίες όμως δεν κατάφεραν να αντέξουν με τη πάροδο του χρόνου ,εκτός από το Ασύρτικο, που άντεξε χάρη στην αντοχή του στον περονόσπορο και το οίδιο. Το **Ασύρτικο** είναι μία ποικιλία που έχει μεγάλη ευκολία να προσαρμόζεται σε πολλά βιοκλίματα. Ακόμη, χαρακτηρίζεται από ζωηρότητα και παραγωγικότητα και θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως μέσης πρωιμότητας. Επίσης, άλλο ένα χαρακτηριστικό της ποικιλίας είναι η ανθεκτικότητα στις ασθένειες. Το γλεύκος του χαρακτηρίζεται από υψηλή οξύτητα και περιεκτικότητα σε σάκχαρα και τανίνες, ενώ οι παραγόμενοι οίνοι χαρακτηρίζονται ως ελαφρώς όξινα, με γεμάτο στόμα και καλή ισορροπία και με μακριά επίγευση. (Καφούρος, 2012).



Εικόνα 1. Το έδαφος του αμπελώνα

1.1.1.1 Η ποικιλία Ασύρτικο

Το Ασύρτικο είναι μια λευκή ποικιλία παγκόσμιας κλάσης και μια από τις σπουδαιότερες ποικιλίες που απαντώνται στη λεκάνη της Μεσογείου. Είναι μια γηγενής και πολύ γνωστή ποικιλία στην Ελλάδα και ανήκει στο γένος *Vitis* και είδος *vinifera*. Τα νεαρά φύλλα του ασύρτικου είναι κιτρινοπράσινα με χάλκινες περιοχές, με λεία άνω επιφάνεια και εφηβική αξονική επιφάνεια, ενώ τα ώριμα φύλλα είναι σφηνοειδή και συμμετρικά (Liakopoulos et al 2006). Είναι καλά προσαρμοσμένο στο ηφαιστειακό έδαφος του νησιού της Σαντορίνης και στις ιδιαίτερες κλιματολογικές συνθήκες (Chara et al 2001). Είναι πρώιμη ποικιλία και είναι, ποιοτικά, από τις σημαντικότερες γηγενείς ποικιλίες. Καλλιεργείται κυρίως στα νησιά των Κυκλάδων αλλά κυρίως στο ηφαιστειακό έδαφος της Σαντορίνης

1.1.2 Το κλίμα

Η Σαντορίνη έχει μεσογειακό κλίμα, με ήπιους χειμώνες, χαμηλές βροχοπτώσεις και δροσερές ανοιξιάτικες εποχές που χαρακτηρίζονται από θαλάσσια αύρα από τις αρχές Μαΐου έως τα τέλη του καλοκαιριού. Η θαλάσσια αύρα εμφανίζεται τις ζεστές μέρες, αποτρέποντας την εξάπλωση μυκητιακών ασθενειών στα αμπέλια.

Ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης των αμπελιών, οι ισχυροί άνεμοι μπορεί επίσης να είναι καταστροφικοί, ειδικά όταν τα αμπέλια βρίσκονται στα πρώτα στάδια ανάπτυξης τους, με αποτέλεσμα την απώλεια της απόδοσης.

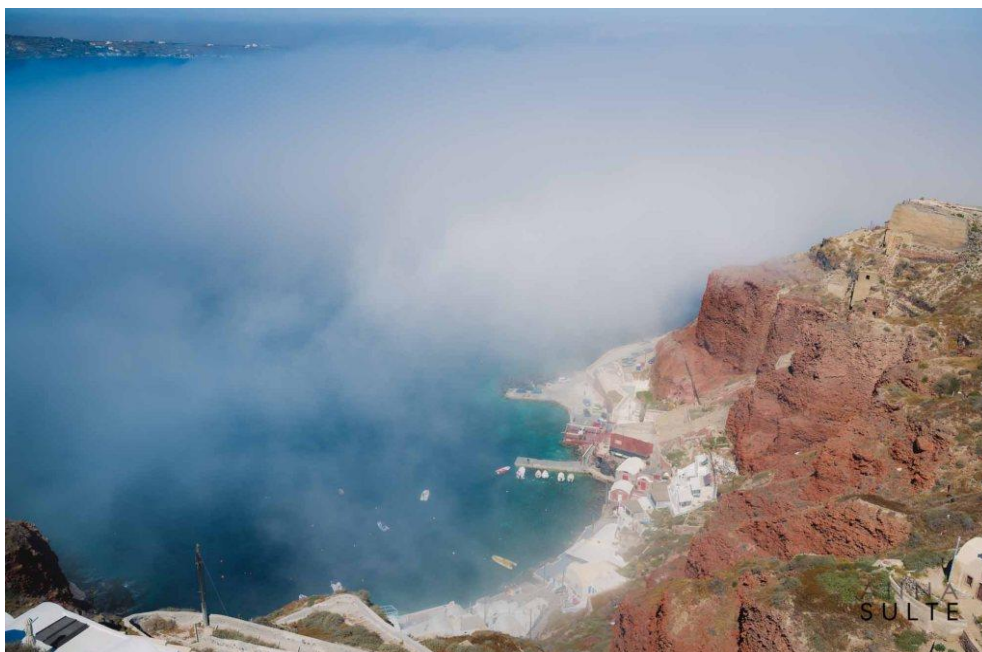
Το καλοκαίρι και τις περιόδους σχεδόν της συγκομιδής, οι καιρικές συνθήκες είναι ακραίες δηλαδή παρατηρούνται υψηλές θερμοκρασίες, καύσωνες και μακρές περίοδοι ξηρασίας. Και τα δύο αυτά κλιματικά γεγονότα επηρεάζουν την απόδοση, την ανάπτυξη, τη σύνθεση των καρπών και το αρωματικό προφίλ του κρασιού (Xyrafis, 2021).

1.1.3 Το έδαφος

Το έδαφος στους αμπελώνες είναι κυρίως αμμώδες και βραχώδες και αποτελείται από ελαφρόπετρα, λάβα και πυροκλαστικά υλικά (Xyrafis 2021). Τα παλαιότερα χρόνια και συγκεκριμένα πριν την μεγάλη έκρηξη του ηφαιστείου της Σαντορίνης το 1612 π.Χ. το έδαφος χαρακτηριζόταν ως ασβεστολιθικό όπως και είναι και το υπόλοιπο σύμπλεγμα των Κυκλάδων. Σήμερα, ασβεστόλιθο μπορεί κανείς να συναντήσει μόνο στη κορυφή που βρίσκεται το μοναστήρι του Προφήτη Ηλία. Το υπόλοιπο νησί έχει καλυφθεί από πολλαπλά, πολύχρωμα στρώματα στερεοποιημένης λάβας και ηφαιστειακής τέφρας. Η εδαφική σύσταση διαφέρει στις διάφορες περιοχές του νησιού. Κατά κύριο λόγο, τα εδάφη της Σαντορίνης χαρακτηρίζονται ως άγονα, ξηρά και αρκετά φτωχά σε οργανική ουσία. Επιπλέον, σε αυτά τα εδάφη μπορεί κανείς να συναντήσει σίδηρο, μαγνήσιο και ασβέστιο σε επαρκείς ποσότητες. Ωστόσο, το έδαφος είναι εξαιρετικά φτωχό σε κάλιο. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το Ασύρτικο της Σαντορίνης να έχει πολύ υψηλή ολική οξύτητα και σημαντικά χαμηλά επίπεδα pH. Τα πρέμνα είναι αυτόρριζα δηλαδή δεν είναι εμβολιασμένα σε αμερικανικό υποκείμενο αφού η φυλλοξήρα (*Daktulosphaira vitifoliae*, Hemiptera: Phylloxeridae), ένα μικρό έντομο το οποίο δεν διακρίνεται με γυμνό μάτι, δε μπόρεσε να επιβιώσει λόγω της χαμηλής ποσότητας σε οργανική ουσία και άργιλο (Beris 2020).

1.1.4 Το πότισμα στον Σαντορινιό αμπελώνα

Ο αμπελώνας της Σαντορίνης χαρακτηρίζεται ως άνυδρος. Ουσιαστικά το αμπέλι δέχεται νερό από τις λίγες βροχές τον χειμώνα αλλά και από την υγρασία τις πρώτες πρωινές ώρες που σημειώνονται κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού και οι οποίες προέρχεται από την εξάτμιση της καλντέρας. Αυτή η υγρασία αποθηκεύεται στη κίσηρη (ελαφρόπετρα) του εδάφους. Συγκεκριμένα, η «ανεδοσά» όπως την χαρακτηρίζουν οι ντόπιοι, είναι ένα τοπικό φαινόμενο της Σαντορίνης, το οποίο προκαλείται από την διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ του ηφαιστείου και του νησιού κυρίως τους καλοκαιρινούς μήνες. Μοιάζει με ομίχλη, η οποία ανεβαίνει από την θάλασσα της καλντέρας και απλώνεται σ' όλο το νησί. Συμβαίνει κατά τη διάρκεια της νύχτας μέχρι και τις πρώτες πρωινές ώρες.



Εικόνα 2. Η ομίχλη καλύπτει την Καλντέρα της Σαντορίνης

1.1.5 Σχήμα μόρφωσης και ιδιότητες των πρέμων

Τα αμπέλια της Σαντορίνης είναι αυτόριζα, δηλαδή δεν είναι εμβολιασμένα σε αμερικάνικα υποκείμενα. Το αμμώδες έδαφος του νησιού δεν επέτρεψε στο έντομο της φυλλοξήρας να επιβιώσει και να προκαλέσει ζημιές όπως στον υπόλοιπο κόσμο. Η διάταξη των πρέμων μέσα στον αμπελώνα συνήθως είναι τυχαία αφού διαχρονικά η ανανέωση του αμπελώνα γινόταν με καταβολάδες. Το σχήμα μόρφωσης των πρέμων γίνεται σε κουλούρες ή αλλιώς καλάθι. Αυτό το σχήμα υιοθετήθηκε από τους αμπελουργούς του νησιού με σκοπό να

προστατεύσουν τα σταφύλια από τις αντίξοες κλιματικές συνθήκες και ιδιαίτερα από τους ισχυρούς ανέμους αλλά και από τον καύσωνα του καλοκαιριού.

1.1.5.1 Συστήματα μόρφωσης

Τα δύο κυρίαρχα συστήματα μόρφωσης είναι:

Κουλούρα: Οι αμπελουργοί πλέκουν τις κληματίδες σε στεφανωτή μορφή παράλληλα από το έδαφος γύρω από το παλιό ξύλο. Πιο συγκεκριμένα, αφήνουν περίπου 4-5 μεγάλες κληματίδες οι οποίες αποτελούνται από 10-12 μάτια η καθεμία, τις οποίες πλέκουν σε κυκλική – στεφανωτή μορφή. Συνήθως εφαρμόζεται σε μέρη με μεγάλη έκθεση σε δυνατούς ανέμους, δηλαδή στα περισσότερα σημεία στο νησί (<https://www.strassnostress.com/2021/05/22/τεχνική-της-κουλούρας/>).



Εικόνα 3. Μόρφωση Κουλούρα

Κλαδευτικό: Το φυτό διαμορφώνεται σε ένα χαμηλό ύψος με λίγους βραχίονες. Σε κάθε βραχίονα αφήνονται κάποιες κληματίδες οι οποίες μπορούν να διαμορφωθούν είτε ως ‘κουλουράκια’ είτε ως ‘πόστες’ όπως τα αποκαλούν. Τα κουλουράκια είναι κάθετα προς το έδαφος και έχουν περίπου 5-7 μάτια. Οι πόστες είναι ένα μικρό κλαδί με 3-5 μάτια. Το πόσα κουλουράκια και πόστες θα μείνουν στο φυτό είναι απόφαση του αμπελουργού με βάση την εμπειρία του, την δύναμη και μέγεθος του πρέμνου. Συνήθως, σε αυτή τη μόρφωση υπάρχει καλύτερη κυκλοφορία των χυμών καθώς τα κλαδιά είναι μικρότερα και με λιγότερα μάτια.

Αυτό το κλάδεμα προτιμάται σε μέρη καλά προστατευμένα από τον αέρα (<https://www.strassnostress.com/2021/05/22/τεχνική της κουλούρας>).



Εικόνα 4. Μόρφωση Κουλούρακι

1.1.6 Τρύγος 2022 στη Σαντορίνη

Ο τρύγος του 2022 για τον σαντορινιό αμπελώνα καταγράφεται ήπιος ως προς τις κλιματολογικές συνθήκες με την παραγωγή να παρουσιάζει αύξηση γύρω στο 25-30% σε σχέση με την περσινή χρονιά.

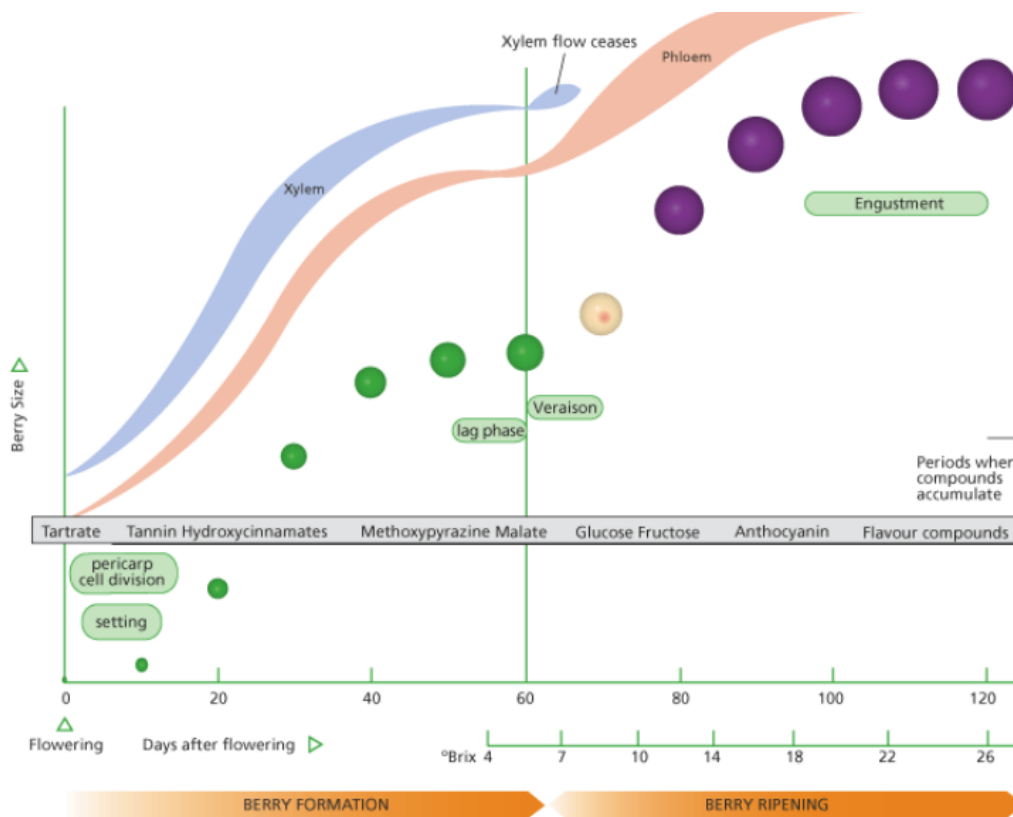
Το κλίμα της Σαντορίνης κατά την καλλιεργητική περίοδο 2021 - 2022 χαρακτηρίστηκε από έναν ήπιο χειμώνα με τις βροχοπτώσεις να ξεπερνούν τον μέσο όρο των τελευταίων δεκαετιών. Για την περίοδο από αρχές Οκτωβρίου έως μέσα Μαρτίου η βροχόπτωση έφτασε τα 320 mm, ενώ η αντίστοιχη τιμή το 2020-2021 ήταν 190 mm. Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά τα μέσα του τρύγου, στις 24 Αυγούστου, σημειώθηκε ραγδαία βροχόπτωση (27 mm), φαινόμενο σπάνιο για την Σαντορίνη, το οποίο επηρέασε ορισμένες περιοχές του νησιού.

Η άνοιξη σκιαγραφείται ως ζεστή χωρίς τους έντονους τυπικούς καταστρεπτικούς ανέμους, που σχεδόν κάθε χρόνο προκαλούν ζημιές στα ευαίσθητα αναπτυξιακά στάδια. Το καλοκαίρι ήταν ιδιαίτερα ήπιο για τα δεδομένα της Σαντορίνης με τα δροσερά μελτέμια να παρουσιάζονται για μεγάλη περίοδο από αρχές του καλοκαιριού προκαλώντας ομαλή και αργή ωρίμανση των σταφυλιών διατηρώντας την υψηλή οξύτητα και την υψηλή ποιότητα του καρπού. Στην περιοχή της Οίας, οι ευνοϊκές κλιματολογικές συνθήκες σε συνδυασμό με τις κατάλληλες καλλιεργητικές επεμβάσεις (φυτοπροστασία) οδήγησαν σε μια εξαιρετική χρονιά, όσον αφορά στην ποιότητα των σταφυλιών.

Τα παραπάνω κλιματολογικά φαινόμενα συνετέλεσαν στην οψίμιση της ωρίμανσης των σταφυλιών, ενώ ο τρύγος ξεκίνησε σταδιακά με πρώτα τα αμπέλια στα χαμηλά υψομετρικά χωριά του νησιού ακολουθώντας την τυπική εξέλιξη του τρύγου.

1.2 Πορεία ωρίμανσης σταφυλιού

Η ανάπτυξη και ωρίμανση των ραγών μετά τη γονιμοποίηση και την καρπόδεση είναι μια διαδικασία που συνοδεύεται από σημαντικές μοριακές, βιοχημικές φυσιολογικές αλλά και μορφολογικές μεταβολές. Η ανάπτυξη της ράγας χωρίζεται σε 3 στάδια. Το 1^ο στάδιο διακρίνεται από τη ταχεία ανάπτυξη της ράγας, έντονη κυτταροδιαίρεση (πράσινη ράγα). Στο 2^ο στάδιο (περκασμός) έχουμε αύξηση του μεγέθους των γιγάρτων (φυσιολογική ωρίμανση) και στο 3^ο στάδιο (ωρίμανση) η ράγα αποκτά το τελικό της μέγεθος και γίνεται μαλακή. Αν το σταφύλι δε τρυγηθεί τότε προστίθεται και ένα 4^ο στάδιο αυτό της υπερωρίμανσης. Εδώ ο όγκος των ραγών μειώνεται λόγω της απώλειας νερού. Σε αυτή τη φάση τα σάκχαρα παρουσιάζουν αύξηση ενώ έχουμε περαιτέρω μείωση της ογκομετρούμενης οξύτητας (Σταυρακάκης, 2013).



Εικόνα 5. Απεικόνιση του μεγέθους και το χρώματος των ραγών σε διαστήματα 10 ημερών μετά την ανθοφορία μέχρι και την υπερωρίμανση, καθώς και οι χρονικοί περίοδοι κατά τους οποίους σχηματίζονται σταδιακά διάφορες ενώσεις και αυξάνονται τα σάκχαρα.

Η σύνθεση του σταφυλιού είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των κρασιών (Niimi, 2017). Είναι πολύ σημαντικό για τους οινοποιούς να βρεθεί το βέλτιστο σημείο για τη συγκομιδή των σταφυλιών με τα καλύτερα δυνατά χαρακτηριστικά τόσο φυσικοχημικά αλλά όσο και οργανοληπτικά. Μέτρηση βασικών χημικών παραμέτρων στο σταφύλι (όπως π.χ pH, ολική οξύτητα, ένταση χρώματος, περιεκτικότητα σε φαινολικά) για τον προσδιορισμό της ωριμότητας πριν από τη συγκομιδή είναι μια τυπική πρακτική της βιομηχανίας. Ωστόσο, οι συμβατικές μετρήσεις δεν επαρκούν για την πρόβλεψη των χαρακτηριστικών του κρασιού (Pérez-Magariño, 2006). Οι φαινολικές ενώσεις μαζί με τις πτητικές ενώσεις θεωρούνται ότι είναι οι κύριοι καθοριστικοί παράγοντες της ποιότητας των ερυθρών κρασιών (Sáenz-Navajas, 2015). Η πιθανή αρωματική σύνθεση του σταφυλιού είναι ένας παράγοντας που εξακολουθεί να είναι ελάχιστα κατανοητός. Γενικά, σε σύγκριση με τα κρασιά που προκύπτουν, τα σταφύλια οινοποίησης παρουσιάζουν ως επί το πλείστον ουδέτερα αρώματα, που είναι αποτέλεσμα της παρουσίας πολύ χαμηλών ποσοτήτων μιας μεγάλης λίστας αρωματικών ενώσεων όπως η φουρανόλη, η β-δαμασκενόνη, οι τερπενόλες, τα βενζενοειδή ή φαινόλες μαζί με ένα σύμπλοκο, σειρά ειδικών πρόδρομων αρωμάτων κυρίως τερπενίων, μεθοξυπυραζινών ή θειόλων (Ruiz et al., 2019). Αυτά τα άοσμα μη πτητικά μόρια, γνωστά ως πρόδρομες ουσίες, συμβάλλουν στα ποικιλιακά αρώματα του κρασιού (Parker, 2018). Αυτές οι πρόδρομες ουσίες παίζουν έναν ουσιαστικό ρόλο στο άρωμα του κρασιού, όμως το πώς η ωριμότητα του σταφυλιού επηρεάζει το δυναμικό του αρώματος σταφυλιού δεν είναι καθόλου ξεκάθαρο. Πρώτον, αυτό συμβαίνει επειδή τα αναλυτικά εργαλεία για τον ποσοτικό προσδιορισμό αυτών των πρόδρομων ουσιών εξακολουθούν να αναπτύσσονται και δεύτερον επειδή η συγκέντρωση των πρόδρομων ουσιών στο γλεύκος δεν συσχετίζεται άμεσα με τις αρωματικές ενώσεις που βρίσκονται στο κρασί (Alegre, Ferreira, 2019).

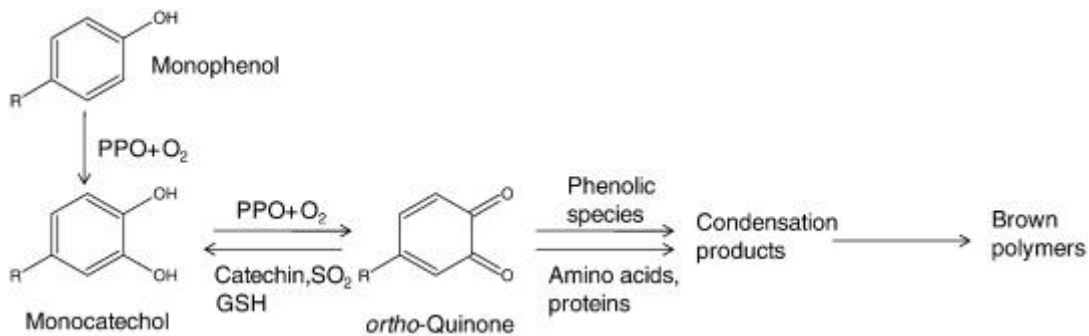
1.3 Οξείδωση οίνου

Ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα στην οινοποίηση είναι η οξείδωση του οίνου, και προπάντων των νεαρών κρασιών, ανεξαρτήτως χρώματος. Η είσοδος οξυγόνου αλλάζει το χημικό προφίλ των οίνων, μεταβάλλοντας κατά συνέπεια τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους. Η οξείδωση οδηγεί σε απώλεια των χαρακτηριστικών αρωμάτων και συμβάλλει στο σχηματισμό αρωμάτων που ταιριάζουν πιο πολύ σε αρώματα οίνων μεγαλύτερης ηλικίας ή σε άτυπα αρώματα που σχετίζονται με την αλλοίωση του οίνου (Voltea, 2022). Η πιο σημαντική μορφή οξείδωσης είναι αυτή από τα φαινολικά συστατικά ενός οίνου και η οποία οδηγεί στη

παραγωγή κινόνων (Oliveira, 2011). Σε λευκούς οίνους ο καφετί χρωματισμός (browning), προέρχεται από τη δημιουργία αυτών των πολυμερισμένων ενώσεων. Αυτό το οξειδωτικό καφέτιασμα μπορεί να προκληθεί με δύο τρόπους είτε ενζυμικά δηλαδή στο γλεύκος είτε μη ενζυμικά στον οίνο (Fernández-Zurbano, 1995).

1.3.1 Ενζυμική οξείδωση

Το ενζυμικό καφέτιασμα συμβαίνει σχεδόν εξ ολοκλήρου στο γλεύκος. Ένας πιθανός μηχανισμός για την οξείδωση των φαινολικών ενώσεων περιλαμβάνει την υδροξυλίωση στην ορθο-θέση, δίπλα σε μια υπάρχουσα ομάδα υδροξυλίου του φαινολικού υποστρώματος και οξείδωση των ορθο-διυδροξυβενζολίων σε ορθο-βενζοκινόνες. Πολλές κατηγορίες ενζύμων μπορούν να καταλύσουν αυτές τις αντιδράσεις. Την οξείδωση των φαινολικών συστατικών τρεις είναι οι κυριότερες κατηγορίες ενζύμων που την προκαλούν, αυτές είναι οι υπεροξειδάσες, η μονοφαινολική μονοοξυγενάση και οι οξειδοαναγωγάσες, που χρησιμοποιούν το οξυγόνο ως δέκτη ηλεκτρονίων (Oliveira, 2011).



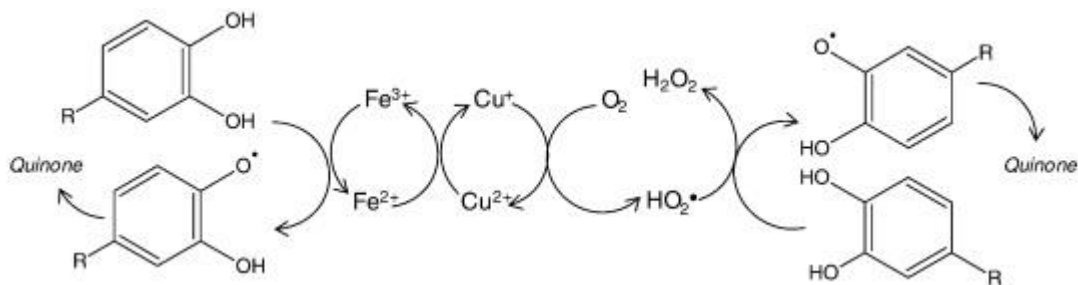
Εικόνα 6: Μηχανισμός ενζυμικής οξείδωσης στο γλεύκος σταφυλιών (Li, 2008)

Οι κύριες οξειδοοξειδωτικές που είναι υπεύθυνες για το καφέτιασμα κατά την επεξεργασία του σταφυλιού είναι οι πολυφαινολοοξειδάσες (PPO) και υπεροξειδάση (POD) (Li, 2005). Κατά τη σύνθλιψη των στεμφύλων, πραγματοποιείται απελευθέρωση πολυφαινολοοξειδασών (PPO), που οξειδώνουν πολύ γρήγορα τα υδροξυκινναμωμικά οξέα σε βενζοκινόνες και στη πορεία θα υποστούν και άλλες αντιδράσεις (Cheynier, 1986). Στο σταφύλι, μπορεί κανείς να βρει αρκετά είδη πολυφαινολοοξειδασών, όπως οι λακκάσες, κατεχόλες, οι τυροσινάσες και οι ορθο-αμινοφαινολοοξειδάσες. Αυτά τα ένζυμα διακρίνονται από πολλές διαφορές μεταξύ τους. Για παράδειγμα, η λακκάση υπάρχει μόνο σε σταφύλια τα οποία έχουν υποστεί προσβολή από βοτρυτή, και οξειδώνει ο- και π-διφαινόλες, από την άλλη μεριά η κατεχόλη οξειδώνει μόνο ο-διφαινόλες (Sanchez-Ferrer, 1995). Με εξαίρεση τη λακκάση, η αντιμετώπιση των οξειδώσεων και η αποφυγή εμφάνισης οξειδωτικού καφετιάσματος σε

λευκούς οίνους, μπορεί να παρεμποδιστεί με την προσθήκη αντιοξειδωτικών (δέσμευση κινονών). Όσον αφορά τη λακκάση, μπορεί να αποφευχθεί με θέρμανση του γλεύκους, αυτή όμως η μέθοδος δε συνίσταται γιατί θα συμβάλει στην υποβάθμιση του τελικού προϊόντος (οίνου). Με την ολοκλήρωση της ζύμωσης τα οξειδωτικά ένζυμα απενεργοποιούνται, έτσι οποιαδήποτε οξείδωση υπάρξει στον οίνο θα είναι μη ενζυμικής φύσεως (Oliveira, 2011).

1.3.2 Χημική οξείδωση (Μη ενζυμική)

Κατά τη διαδικασία της μη ενζυμικής οξείδωσης, που ονομάζεται επίσης χημική οξείδωση του οίνου, οι οξειδωτικές διεργασίες ευνοούνται από την οξείδωση πολυφαινολών που περιέχουν ένα τμήμα ορθο-διυδροξυβενζολίου (ένας δακτύλιος κατεχόλης) ή ένα τμήμα 1,2,3-τριυδροξυβενζολίου, όπως η (+)-κατεχίνη/(-)-επικατεχίνη, η γαλλοκατεχίνη, το γαλλικό οξύ, οι εστέρες και το καφεϊκό οξύ, τα οποία είναι τα πιο ευοξειδωτά συστατικά του κρασιού (Singleton, 1987, Singleton, 2000, Kilmartin, 2001, Danilewicz, 2003, Li, 2008). Συγκεκριμένα, γίνεται διαδοχική οξείδωση των συγκεκριμένων πολυφαινολών σε ημικινόνες και βενζοκινόνες, ενώ ταυτόχρονα το οξυγόνο ανάγεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (Danilewicz, 2008). Η συγκεκριμένη διαδικασία παρεμβαίνει στον κύκλο οξειδοαναγωγής των μετάλλων του Cu και του Fe. Περαιτέρω ενώσεις με πιο απομονωμένες φαινολικές ομάδες όπως η μαλβιδίνη, η ανθοκυανίνη των ερυθρών οίνων, το παρα-κουμαρικό οξύ και η ρεσβερατρόλη οξειδώνονται σε υψηλότερα δυναμικά (Kilmartin, 2001).



Εικόνα 7. Οξειδοαναγωγική αντίδραση των Fe και Cu για παραγωγή κινονών (Danilewicz, 2008).

Ο Danilewicz (2003), Waterhouse και Laurie (2006), εξέτασαν και άλλους μηχανισμούς με τους οποίους το οξυγόνο και τα ενδιάμεσα αναγωγικά προϊόντα του θα κατάφερναν να οξειδώσουν τις φαινολικές ενώσεις του οίνου. Έτσι λοιπόν, κατέληξαν στο συμπέρασμα πως δεν υπάρχει κάποια άμεση σύνδεση μεταξύ των φαινολικών συστατικών και του οξυγόνου σε περιβάλλον στο οποίο δεν ύφιστανται τα ιόντα των μετάλλων (Fe & Cu). Οι κινόνες που σχηματίζονται από την οξείδωση των πολυφαινολών, ως πρωτογενή προϊόντα, είναι ασταθείς ενώσεις και ενδέχεται να υποβληθούν σε περισσότερες αντιδράσεις, όπως για παράδειγμα να

συνδεθούν με πυρηνόφιλες ενώσεις (φαινόλες, θειόλες και αμίνες), και να αναδιατάξουν τη δομή τους (Waterhouse & Laurie, 2006).

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου, σε συνδυασμό με τα ιόντα σιδήρου, δημιουργεί ρίζες υδροξυλίου (HO•), μία αντίδραση γνωστή ως αντίδραση Fenton. Η ρίζα υδροξυλίου οξειδώνει σχεδόν κάθε οργανικό μόριο που βρίσκεται στο κρασί (Waterhouse & Laurie 2006). Επιπλέον, λόγω της μη επιλεκτικότητάς του θα αντιδράσει με τα πρώτα είδη που συναντά στον οίνο, ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους (Danilewicz, 2003, Danilewicz, 2007, Li, 2008), όπως η αιθανόλη, το τρυγικό οξύ, η γλυκερίνη, τα σάκχαρα και τα οργανικά οξέα (Danilewicz, 2003, Waterhouse & Laurie, 2006). Η οξείδωση Fenton της αιθανόλης και του τρυγικού οξέος παράγει, αντίστοιχα, ακεταλδεΐδη και γλυκοξυλικό οξύ (Danilewicz 2003, Es-Safi 1999, Li 2008, Singleton, 2000).



Εικόνα 8. Αντίδραση Fenton (Boulton, 2001)

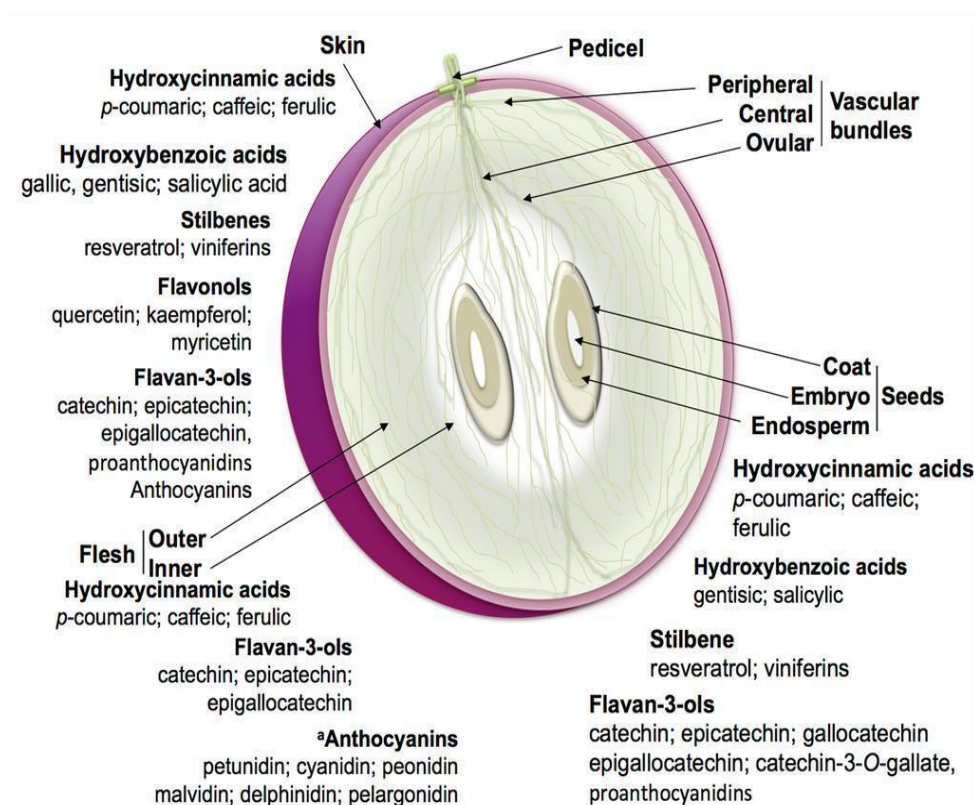
1.3.3 Μέθοδοι προσδιορισμού οξείδωσης

Για την πρόληψη κάποιας πιθανής οξείδωσης στους οίνους ή και για να επιτευχθεί εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας που μπορεί να έχουν, έχουν θεσπιστεί κάποιες μέθοδοι, με τις οποίες μέσω της χρήσης φασματοφωτομέτρου μπορεί να προσδιοριστεί η απορρόφηση του οίνου δίνοντας πληροφορίες για την κατάσταση στην οποία βρίσκεται ο οίνος. Τα αποτελέσματα των απορροφήσεων που θα προκύψουν αλλά και σύμφωνα με τη σύγκριση των αντίστοιχων προτύπων καμπυλών αναφοράς, μπορεί εύκολα να γίνει η εκτίμηση για το αν κάποιο κρασί χρήζει προστασία αλλά και μετά από πόσο χρονικό διάστημα από την εμφιάλωση του ίσως θα εμφανίσει συμπτώματα οξείδωσης. Οι πιο διαδεδομένοι μέθοδοι προσδιορισμού της οξείδωσης είναι;

- Μέθοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης (Απορρόφηση στα 420 nm)
- Αντιοξειδωτική ικανότητα (Μέθοδος DPPH)
- Προσδιορισμός ολικών ελεύθερων σουλφυδρυλομάδων (-SH)

1.4 Μη πτητικά συστατικά οίνων

Οι φυτικές πολυφαινόλες είναι μία μεγάλη και ετερογενής κατηγορία χημικών ενώσεων που παράγονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες από τα φυτά. Οι γνωστές πολυφαινόλες υπολογίζονται σήμερα σε περισσότερες από 8000. Βασικό χαρακτηριστικό τους είναι ο αρωματικός δακτύλιος του βενζολίου στον οποίο συνδέονται μία ή περισσότερες υδροξυλικές ομάδες. Οι πολυφαινόλες χωρίζονται σε διαφορετικές κατηγορίες ανάλογα με τον αριθμό των αρωματικών δακτυλίων που περιέχουν και τις ομάδες που είναι συνδεδεμένες σε αυτούς. Έτσι οι πολυφαινόλες διακρίνονται στα φλαβονοειδή, τα πολυφαινολικά οξέα, τα στιλβένια και τις λιγνάνες (Manach, 2004)



Εικόνα 9. Παρουσία φαινολικών συστατικών σε ράγα σταφυλιού (Teixeira, 2013)

Τα φλαβονοειδή περιλαμβάνουν πάνω από 5000 ενώσεις και αυτές χωρίζονται σε 13 υποκατηγορίες. Ένα από τα πιο βασικά χαρακτηριστικά των φλαβονοειδών είναι οι δύο αρωματικοί δακτύλιοι (A και B) που συνδέονται μέσω ενός πυρανικού δακτυλίου (C) που περιέχει οξυγόνο, δηλαδή παρουσιάζουν τη δομή (C6-C3-C6) (Riberau Gayon, 2006). Έξι

είναι οι βασικές κατηγορίες στις οποίες διακρίνονται τα φλαβονοειδή: στις φλαβονόλες (π.χ. κερκετίνη, ρουτίνη, καμπερόλη και μυρικετίνη), στις φλαβανόνες (π.χ. ναριγενίνη και εσπεριτίνη), στις φλαβόνες (π.χ. απιγενίνη και λουτεολίνη), στις ανθοκυανιδίνες (π.χ. κυανιδίνη, δελφινιδίνη και μαλβιδίνη), στις φλαβανόλες (π.χ. κατεχίνη, επικατεχίνη και γαλλοκατεχίνη) και τέλος στις ισοφλαβόνες (π.χ. γενιστεΐνη και δαϊντζεΐνη). Ακόμη, μπορεί να υπάρχουν είτε ως μονομερή, είτε να πολυμερίζονται αντιδρώντας με άλλα φλαβονοειδή, με μη φλαβονοειδή, μεσάκχαρα ή ακοόμη και με συνδυασμούς αυτών των ενώσεων.

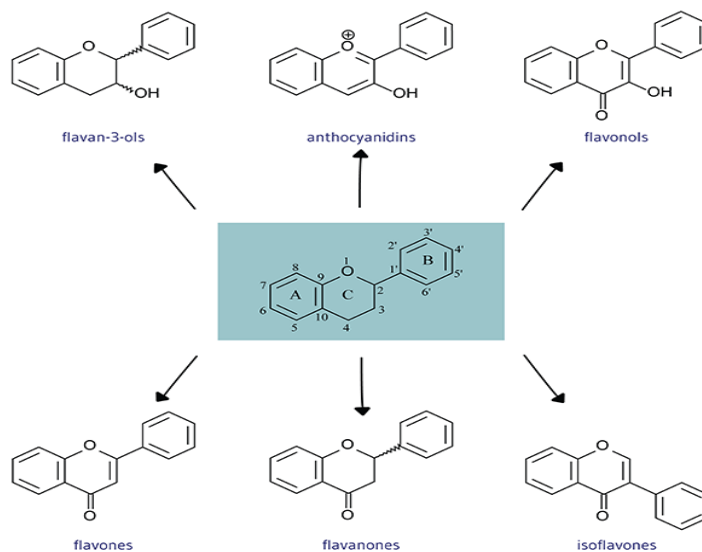
Μία σημαντική κατηγορία πολυμερών είναι οι προανθοκυανιδίνες, οι οποίες προκύπτουν από τον πολυμερισμό των φλαβανολών με τους γαλλικούς εστέρες, με δεσμούς μεταξύ του C4 και του C6 ή C8. Επίσης, τα φλαβονοειδή μπορεί να αντιδρούν με σάκχαρα όπως η D-γλυκόζη, η L-ραμνόζη, η γαλακτόζη, η αραβινόζη και η λιγνίνη και να σχηματίζουν γλυκοζίτες (Ferguson, 2001).

Οι φλαβονόλες βρίσκονται σε πολλές φυτικές τροφές που μάλιστα καταναλώνονται από τον άνθρωπο και οι κυριότερες πηγές τους είναι τα κρεμμύδια, τα μπρόκολα, τα πράσα, τα βατόμουρα, το τσάι και το κρασί (Manach, 2004). Οι φλαβόνες υπάρχουν στο σέλινο, στο μαϊντανό στα εσπεριδοειδή (κυρίως σε πολυμεθοξυλιωμένες μορφές) και στα δημητριακά (κυρίως σε γλυκοζυλιωμένη μορφή). Οι φλαβανόνες μπορεί κανείς να τις βρει στις τομάτες, στη μέντα και σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα εσπεριδοειδή (Tomas, 2000). Τα ισοφλαβονοειδή βρίσκονται σχεδόν αποκλειστικά στα όσπρια και κυρίως στη σόγια και τα προϊόντα της. (Cassidy, 2000). Οι φλαβανόλες, είτε ως μονομερή (κατεχίνες) είτε ως πολυμερή (προκυανιδίνες), βρίσκονται σε πολλά φρούτα (π.χ. βερίκοκα και σταφύλια) και στο κρασί, αλλά η σημαντικότερη πηγή τους είναι το πράσινο τσάι και η σοκολάτα. Οι ανθοκυανιδίνες βρίσκονται στο κρασί, σε ορισμένα είδη δημητριακών, στα λαχανικά (π.χ. στο λάχανο, στα φασόλια, στη μελιτζάνα), αλλά είναι περισσότερο άφθονες στα φρούτα (Clifford, 2000; Baderschneider, 2001).

1.4.1 Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή αποτελούνται από μια βασική δομή 15 ατόμων άνθρακα με δύο αρωματικούς δακτυλίους, οι οποίοι συνδέονται μέσω μιας αλυσίδας 3 ανθράκων (C6-C3-C6), που μπορεί να σχηματίζει δακτύλιο ή να είναι ανοικτή. Ο συγκεκριμένος σκελετός είναι υπεύθυνος για τη χημική ποικιλομορφία αυτής της οικογένειας ενώσεων. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φλαβονολών σε σταφύλια έχουν βρεθεί στο στάδιο της ανθοφορίας, από την άλλη μεριά αξίζει να σημειωθεί ότι κατά την αύξηση του μεγέθους των σταφυλιών υπάρχει

μείωση της συγκέντρωσης τους. Επιπλέον, η μεγαλύτερη αύξηση σε φλαβονόλες ανά ράγα μπορεί να παρατηρηθεί 3-4 εβδομάδες μετά από την έναρξη της ωρίμανσης (Mattivi, 2006).



Εικόνα10. Φλαβονοειδείς ενώσεις σταφυλιού (Delage, 2015, Linus Pauling Institute, Oregon State University)

1.5 Πτητικά συστατικά οίνων

Το άρωμα των οίνων έχει βρεθεί ότι αποτελείται από αρκετές εκατοντάδες πτητικές ενώσεις που υπάρχουν στον οίνο σε συγκεντρώσεις από μερικά mg/L μέχρι και ng/L και μπορεί να είναι και πολύ μικρότερες. Το οσφρητικό κατώφλι αντίληψης των διάφορων πτητικών ενώσεων διαφέρει σημαντικά και εξαρτάται από την συγκέντρωση και το είδος της ένωσης. Για παράδειγμα, κάποιες ενώσεις οι οποίες υπάρχουν σε πολύ μικρές ποσότητες (ng/L) μπορεί να παίζουν καθοριστικότερο ρόλο στο άρωμα του οίνου, από άλλες οι οποίες είναι σε αρκετά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις και μπορεί να μη γίνουν αντιληπτές. Κάθε ένωση συμβάλει στο άρωμα του κρασιού ανάλογα με τις ιδιότητες της (Pascal Ribéreau-Gayon, 2006).

Το άρωμα του κρασιού είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης της σύστασης του σταφυλιού και των ενώσεων που παράγονται κατά τη διαδικασία της οινοποίησης, της ζύμωσης αλλά και της παλαίωσης (Falque, 2001).

Η σύσταση του σταφυλιού εξαρτάται από εγγενείς παράγοντες, όπως η ποικιλία, καθώς και εξωγενείς παράγοντες, όπως οι κλιματικές συνθήκες, το έδαφος, η περιοχή και οι τεχνικές καλλιέργειας (Dirninger 1998, Jackson 1993, Jones 2000, Troost, 1985). Για παράδειγμα, προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει πως επιδρά η ημερομηνία συγκομιδής στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των οίνων. Ο Perez (2006) βρήκε ότι η ημερομηνία συγκομιδής (σε άμεση

συσχέτιση με το βαθμό ωριμότητας των σταφυλιών) επηρεάζει τα χρωματικά χαρακτηριστικά των κρασιών. Επίσης, η στιγμή της συγκομιδής είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την παραγωγή ποιοτικών κρασιών. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά του αμπελώνα, αρκετοί ερευνητές έχουν διαπιστώσει ότι το έδαφος επηρεάζει τη συνολική ποιότητα του σταφυλιού και συνεπώς την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Du-Plessis 1984, Hamilton, 1992). Αξίζει να αναφερθεί ότι βρέθηκαν διαφορετικές συνθέσεις κρασιού ανάλογα με τον τύπο του εδάφους (Sayed, 1992; Wiebe, 1977). Επιπλέον, έχει αναφερθεί η επιρροή του εδάφους στο Rhone Valley (Γαλλία) στην αρωματική σύνθεση του Grenache (Sabon, 2002).

Πρωτογενή αρώματα: Οι συγκεκριμένες ουσίες εμφανίζονται στο διάστημα μεταξύ της συγκομιδής και κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης μέσω ενζυμικών αντιδράσεων που εμφανίζονται όταν τα σταφύλια δεχτούν σύνθλιψη.

Δευτερογενή αρώματα: Αυτή η κατηγορία, πρόκειται για αρώματα που προέρχονται από δευτερογενή προϊόντα μεταβολισμού (αιθυλεστέρες και αλκοόλες) δηλαδή από τους μικροοργανισμούς (ζυμομύκητες ή γαλακτικά βακτήρια) και είναι υπεύθυνες για τα οσφρητικά

Τριτογενή αρώματα: Στη συγκεκριμένη περίπτωση ανήκουν αρώματα που προκύπτουν κατά την παλαίωση του κρασιού και περιλαμβάνουν χημική ή βιοχημική μετατροπή πτητικών ενώσεων (Roland, 2011).

1.5.1 Κατηγορίες αρωμάτων στον οίνο

Στον οίνο απαντώνται οι ακόλουθες χημικές ομάδες πτητικών συστατικών αρώματος

- Ανώτερες αλκοόλες
- Ακετάλες
- Εστέρες
- Θειούχες ενώσεις
- Καρβονυλικές ενώσεις
- Λακτόνες
- Λιπαρά οξέα
- Πτητικές αζωτούχες ενώσεις
- Πτητικές φαινόλες
- Τερπένια
- Υδρογονάνθρακες και παράγωγα

1.5.1.1 Αλκοόλες

Η αιθανόλη είναι η σημαντικότερη αλκοόλη στο κρασί είναι και παράγεται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης των σακχάρων του γλεύκους. Η οσμή της, είναι αρκετά χαρακτηριστική. Έχει διαλυτικές ιδιότητες οι οποίες χρησιμεύουν στην εκχύλιση των φαινολών από τα στέμφυλα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (Σουφλερός, 2015). Μία άλλη αλκοόλη που υπάρχει σε μικρές ποσότητες (36-350 mg/L) στο κρασί είναι η μεθανόλη, η οποία όμως δεν είναι προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης αλλά προέρχεται από την υδρόλυση των πηκτινών του σταφυλιού. οι οποίες πηκτίνες αποτελούνται από γαλακτουρονικό οξύ εστεροποιημένο σε κάποιο ποσοστό με μεθανόλη. Λόγω της προέλευσης τους ότι δηλαδή οι πηκτίνες προέρχονται από τα στερεά συστατικά των ραγών, έτσι και η ποσότητα της μεθανόλης θα εξαρτηθεί από τη διάρκεια παραμονής των σταφυλιών με το γλεύκος. Άρα μπορεί να καταλήξει κανείς ότι, οι ερυθροί οίνοι περιέχουν μεγαλύτερη ποσότητα μεθανόλης από τους ροζέ και τους λευκούς οίνους (Ribéreau-Gayon, 2006).

Να σημειωθεί πως οι δύο σημαντικότερες αλκοόλες που βρίσκονται στο άρωμα του οίνου είναι η τυροσόλη και η 2- φαινυλοαιθανόλη . Η τελευταία συντίθεται κατά την αλκοολική ζύμωση, υπάρχει στους οίνους σε ποσότητες 20-180 mg/L και όσον αφορά το άρωμα του οίνου πρόκειται για ένα σημαντικό συστατικό αφού δίνει μια ευχάριστη οσμή τριαντάφυλλου. Παρόλο που βρίσκεται σε μικρές ποσότητες στους οίνους, η οσμή της γίνεται αρκετά αισθητή γιατί αντιληπτή σε χαμηλές περιεκτικότητες (50 mg/L περίπου). Η σύνθεση της ευνοείται με την παρουσία οξυγόνου, από τις χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης και από την θερμοοινοποίηση (Σουφλερός, 2015). Από την άλλη, η τυροσόλη, είναι δευτερεύον προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης και βρίσκεται στους οίνους σε συγκεντρώσεις από 50-100 mg/L, έχει άρωμα μελιού και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο άρωμα του οίνου (Σουφλερός, 2015).

Οι ανώτερες αλκοόλες είναι πηκτικές αλκοόλες με περισσότερα από δύο άτομα άνθρακα. Οι κυριότερες είναι η η ισοβουτανόλη, 1-προπανόλη, 1-βουτανόλη, η ισοπροπανόλη , 1-εξανόλη, 3-μεθυλο-1-βουτανόλη (ισοαμυλική αλκοόλη), 2-φαινυλοαιθανόλη κ.α. Αυτές οι αλκοόλες είναι δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης, με εξαίρεση όμως την 1-εξανόλη που προέρχεται από το σταφύλι και όχι από τη ζύμωση και δίνει χορτώδη οσμή σε μερικά κρασιά. Η συγκέντρωση των οίνων σε ανώτερες αλκοόλες κυμαίνεται από 150- 500 mg/L και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως από τις συνθήκες αερισμού, τη σύσταση του γλεύκους, το είδος των ζυμών που θα χρησιμοποιηθούν, τις συνθήκες αλκοολικής

ζύμωσης κτλ (Σουφλερός, 2015). Ακόμη, να σημειωθεί ότι όσο μεγαλύτερο pH έχει το γλεύκος και ταυτόχρονα χαμηλή θερμοκρασία ζύμωσης, τόσο μεγαλύτερη θα είναι η παραγωγή των ανώτερων αλκοολών. Οι ανώτερες αλκοόλες συμβάλουν στο οργανοληπτικό προφίλ των κρασιών και ευθύνονται έμμεσα στην ανάπτυξη του μπουκέτου σε παλαιωμένους οίνους. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις δηλαδή μικρότερες από 300 mg/L, επιδρούν θετικά στη πολυπλοκότητα του αρώματος του κρασιού ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις η οσμή τους υπερκαλύπτει την αρωματική φινέτσα του οίνου. Η προπανόλη μία από τις βασικότερες ανώτερες αλκοόλες που βρίσκονται στο κρασί, δεν έχει μεγάλη επίδραση στο άρωμα του οίνου λόγω της ουδέτερης οσμής της. Οι αμυλικές αλκοόλες (ζυμέλαια), δεν έχουν θετική επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρασιού, όμως η παρουσία τους είναι ευνοϊκή για την αξιολόγηση των αποσταγμάτων που προέρχονται από τους οίνους (Σουφλερός, 2015).

Οι ακόρεστες αλκοόλες, trans-2-εξενόλη και η cis-3-εξενόλη, δίνουν και αυτές μία άλλη αρωματική νότα στον οίνο. Αυτές οι αλκοόλες προσδιορίζονται σαν οσμή από φρεσκοκομμένο γρασίδι ή από τα πράσινα μέρη των φυτών (Ντουρτόγλου, 2020). Ταυτόχρονα, εντοπίζονται στους οίνους κάποιες κορεσμένες πολυσθενείς αλκοόλες (διόλες, πολυόλες) και συγκεκριμένα η 2,3-βουτανοδιόλη, η 1,2,3-προπανοτριόλη (γλυκερίνη) και ακετυλομεθυλοκαρβινόλη ή ακετοΐνη. Αρχικά, η 2,3-βουτανοδιόλη είναι η πιο σημαντική διόλη στον οίνο, η οσμή της είναι ελάχιστα διακριτή και η γεύση της χαρακτηρίζεται ως ήπια γλυκόπικρη, γι' αυτό τον λόγο δεν επηρεάζει σημαντικά το αρωματικό προφίλ του οίνου. Σχηματίζεται και αυτή κατά την εξέλιξη της αλκοολικής ζύμωσης από το πυροσταφυλικό οξύ το οποίο μετατρέπεται σε ακετοΐνη, η οποία όταν ανάγεται δίνει την 2,3-βουτανοδιόλη. Ακόμη, η περιεκτικότητα της 2,3-βουτανοδιόλης στον οίνο αποτελεί βασικό κριτήριο για την ενδυνάμωσή του και δεν προσβάλλεται από βακτήρια. Η 1,2,3-προπανοτριόλη (γλυκερίνη), εντοπίζεται σε ξηρούς οίνους και έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μετά το νερό και την αλκοόλη.

1.5.1.2 Εστέρες

Οι εστέρες σχηματίζονται από την αντίδραση των οργανικών οξέων του οίνου με την αιθυλική αλκοόλη. Προέρχονται σε πολύ μικρό ποσοστό από τα σταφύλια, από την αλκοολική ζύμωση (ουδέτεροι εστέρες) και τέλος κατά την ωρίμανση των οίνων (όξινοι εστέρες). Σχηματίζονται με δύο τρόπους είτε κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης

(ενζυμική διαδικασία), είτε κατά τη διάρκεια της παλαίωσης των οίνων (χημική διαδικασία),. Κατά τη παλαίωση ενός οίνου, δημιουργούνται πιο πολλοί εστέρες σε σχέση με ένα νέο κρασί μέσω μιας αργής χημικής αντίδρασης (2-3 meq/L νέοι οίνοι, 9-10 meq/L παλαιωμένοι οίνοι) (Σουφλερός, 2015). Σήμερα, στο κρασί έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί 160 διαφορετικοί εστέρες. Οι περισσότεροι από αυτούς έχουν βρεθεί σε ίχνη και έχουν είτε μικρή πτητικότητα, είτε ήπια οσμή.

Οι πιο κοινοί εστέρες είναι οι αιθυλεστέρες, υπάρχουν σε συγκεντρώσεις οι οποίες είναι στο όριο αντίληψης τους ή και πάνω από αυτό. Έχουν φρουτώδη οσμή και παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία του αρώματος των φρέσκων λευκών κρασιών. Κατά την παλαίωση οι συγκεντρώσεις τους μειώνονται λόγω υδρόλυσης, η οποία ευνοείται σε χαμηλό pH (Ντουρτόγλου, 2020). Ο πιο σημαντικός εστέρας του οίνου είναι ο οξικός αιθυλεστέρας και σχηματίζεται από τους ζυμομύκητες μικρή ποσότητα αυτού κατά την αλκοολική ζύμωση. Ο εστέρας αυτός οφείλεται στην εστεροποίηση του οξικού οξέος με την αιθανόλη κατά τη παλαίωση, αλλά και κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις (150 mg/L), δίνει ελαττωματική οσμή. Αυτό το ανεπιθύμητο άρωμα του οξικού αιθυλεστέρα μπορεί να προκληθεί και από κάποια βακτήρια και έτσι θα καταστραφεί το άρωμα του οίνου (Ντουρτόγλου, 2020).

Στο σχηματισμό των ανώτερων εστέρων μπορεί να οφείλονται διάφοροι παράγοντες, όπως για παράδειγμα το είδος ζυμών, το pH, η θερμοκρασία της ζύμωσης, ο αερισμός του γλεύκους και η τεχνική της οινοποίησης (Σουφλερός, 2015).

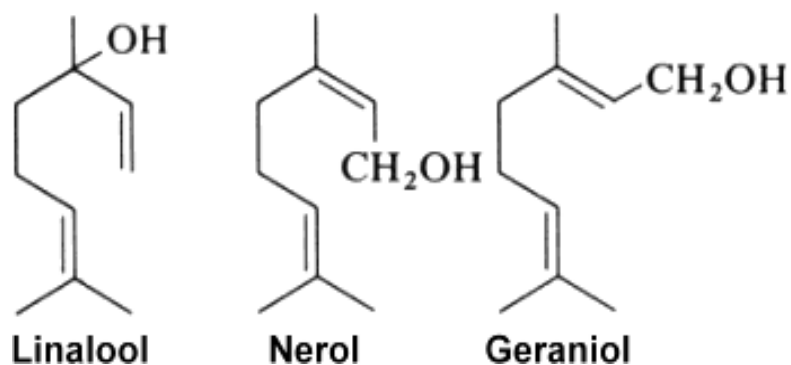
1.5.1.3 Τερπένια

Τα τερπένια είναι ενώσεις που αποτελούνται από 10 άτομα άνθρακα και υπάρχουν στη φύση κυρίως σαν συστατικά των αιθερίων ελαίων. Τα τερπένια είναι χαρακτηριστικά του πρωτογενούς αρώματος και η συγκέντρωσή τους εξαρτάται από την ποικιλία του αμπελιού. Το Μοσχάτο και το Riesling είναι ποικιλίες με μεγάλη συγκέντρωση τερπενίων και χαρακτηρίζονται από έντονο άρωμα (Σουφλερός, 2015).

Τα κυριότερα τερπένια που βρίσκονται στα σταφύλια (κυρίως στο φλοιό των ραγών και λίγο στη σάρκα και τους οίνους) είναι οι τερπενικές αλκοόλες. Οι κυριότερες είναι η νερόλη (λεμόνι), λιναλόλη (λουλούδια κίτρου), η γερανιόλη (λουλούδια) και η α-τερπινεόλη (λουλούδια, πασχαλιά). Η συνολική τους συγκέντρωση κυμαίνεται από 1-3 mg/L. Μερικές από αυτές τις ενώσεις καταστρέφονται μερικώς κατά την αλκοολική ζύμωση και τη

παλαίωση, λόγω οξείδωσης, και μετατρέπονται σε ενώσεις λιγότερο αρωματικές. Ειδικά, η λιναλόλη, η γερανιόλη και η κιτρονελλόλη μειώνονται αισθητά όσο αυξάνεται ο χρόνος ωρίμανσης. Οι ενώσεις αυτές δεν έχουν προσδιοριστεί σε ποικιλίες οι οποίες δεν είναι αρωματικές ή με ελάχιστο άρωμα στο σταφύλι (Σουφλερός, 2015).

Η παρουσία τερπενικών ενώσεων στα σταφύλια και στον οίνο εξαρτάται από: τις βιοχημικές μεταβολές (οξειδώσεις, υδρολύσεις), τον μεταβολισμό των σταφυλιών (ποικιλία, περιβάλλον, καλλιεργητικές συνθήκες), τον μεταβολισμό των ζυμομυκήτων κατά την αλκοολική ζύμωση αλλά και τις χημικές μεταβολές οι οποίες πραγματοποιούνται μετά τη ζύμωση.



Εικόνα 11. Σημαντικότερες τερπενικές αλκοόλες του οίνου

1.5.1.4 Καρβονυλικές ενώσεις

Οι καρβονυλικές ενώσεις έχουν βρεθεί και αυτές στους οίνους σε αρκετά σημαντικό ποσοστό. Οι αλειφατικές καρβονυλικές ενώσεις αποτελούν ενδιάμεσα προϊόντα στο σχηματισμό των αλκοολών από σάκχαρα και αμινοξέα. Σχηματίζονται με την αποκαρβοξυλίωση του αντίστοιχου α-κετοξέος. Στη συνέχεια, μεταφέρονται από τους ζυμομύκητες στον οίνο, όπου ανάγονται ενζυμικά σε αλκοόλες. Βασικό ρόλο στο σχηματισμό των αλδεϋδών διαδραματίζει το στέλεχος της ζύμης αλλά και το θρεπτικό υλικό που θα χρησιμοποιηθεί. Επιπλέον, το pH του γλεύκους, θερμοκρασία της ζύμωσης αλλά και το SO₂ είναι εξίσου βασικοί παράγοντες οι οποίοι θα συμβάλλουν στον σχηματισμό των καρβονυλικών ενώσεων (Μαλλούχος, 2003).

Η πιο βασική καρβονυλική ένωση είναι η ακεταλδεϋδη και αυτή αποτελεί το 90% του συνόλου των αλδεϋδών στους οίνους. Έχει σπουδαίες οργανοληπτικές ιδιότητες και σε μικρές συγκεντρώσεις δίνει στον οίνο ευχάριστη οσμή φρούτου. Όμως, σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις δίνει στον οίνο οσμή οξείδωσης (Miyake & Shibamoto, 1993). Είναι δευτερεύον προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης και παράγεται μετά από την αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος. Η ακεταλδεϋδη λόγω της ικανότητας της χαρακτηριστικής της

ομάδας (-CHO) να δεσμεύει το SO₂, διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της προσθήκης του θειώδους ανυδρίτη. Αλλάζει τα γευστικά χαρακτηριστικά στους οίνους οι οποίοι δεν περιέχουν επαρκείς ποσότητες θειώδη ανυδρίτη. Στους οίνους, η ποσότητα της ακεταλδεΐδης είναι ανάλογη με τις θειώσεις που θα γίνουν αλλά και τους αερισμούς κατά τη διάρκεια οινοποίησης και παλαίωσης. Επιπλέον, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην αλλαγή χρώματος σε ερυθρούς οίνους γιατί βοηθάει το συμπολυμερισμό των φαινολών (ανθοκυάνες, τανίνες). Τέλος να σημειωθεί ότι κατά την ωρίμανση των οίνων σχηματίζονται μικρές ποσότητες ακεταλδεΐδης λόγω οξειδωσης της αιθανόλης με παρουσία οξυγόνου (Μαλλούχος, 2003).

Στους οίνους ανιχνεύονται και άλλες αλδεΐδες αλλά σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις. Οι ανώτερες αλδεΐδες συμβάλλουν στο τριτογενές άρωμα των οίνων. Επιπλέον, στο κρασί βρίσκονται και αρωματικές αλδεΐδες, όπως για παράδειγμα η βανιλίνη, η οποία έχει μια ευχάριστη οσμή βανίλιας και σχετίζεται με την παλαίωση του οίνου σε βαρέλι. Επίσης, η εξανάλη, που προέρχεται από το σταφύλι και μαζί με την εξανόλη είναι υπεύθυνη για τις χορτώδεις οσμές στα κρασιά (Ribereau, 2006). Τέλος, η φουρφουράλη, η οποία σχηματίζεται κατά τη θερμική επεξεργασία της σταφυλομάζας ή του γλεύκους κι έχει βρεθεί σε πολλούς επιδόρπιους οίνους Tokay, Μαδέρας και Καλιφόρνιας (Σουφλερός, 2015). Στον οίνο υπάρχει ακόμα και η ακετάλη, η οποία σχηματίζεται από την αντίδραση της αιθυλικής αλκοόλης με την ακεταλδεΐδη. Το χαμηλό pH ευνοεί τον σχηματισμό της και χαρακτηρίζεται από ισχυρή οσμή αλδεΐδης. Η συγκέντρωσή της στα κρασιά είναι αρκετά μικρή, όμως τη βρίσκουμε σε μεγαλύτερη ποσότητα σε οίνους sherry και σε αποστάγματα (Σουφλερός Ε. 2015).

Στο κρασί οι κετόνες που έχουν βρεθεί είναι η βουτανόνη, η προπανόνη και η πεντανόνη. Οι βασικότερες από αυτές που συναντώνται στον οίνο είναι η ακετοΐνη, η οποία σχηματίζεται κατά την αλκοολική ζύμωση αλλά και από την συμπύκνωση δυο μορίων ακεταλδεΐδης και από το διακετύλιο το οποίο είναι δευτερεύον προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης και έχει μυρωδιά φρέσκου βουτύρου (Ribereau, 2006).

1.5.1.5 Λιπαρά οξέα

Μετά τη ζύμωση εμφανίζονται τα λιπαρά οξέα (μονοκαρβονικά οξέα), τα οποία είναι πτητικά και συμμετέχουν στο δευτερογενές άρωμα του οίνου (Σουφλερός, 2015). Στο κρασί τα λιπαρά οξέα που συναντάται (1-6 άτομα άνθρακα) είναι το οξικό, μυρμηκικό, το προπιονικό, , το ισοβουτυρικό, το βουτυρικό, το βαλερικό, , το εξανοϊκό, το ισοβαλερικό ,το επτανοϊκό, το

δεκανοϊκό, το οκτανοϊκό, το ελαϊκό, το λινελαϊκό κ.α. και έχει βρεθεί ότι δίνουν στο κρασί πολύ σημαντικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Ribereau, 2006).

Το πιο βασικό οξύ είναι το οξικό, το οποίο είναι και το οξύ της πτητικής οξύτητας. Η συγκέντρωση του στο κρασί ελέγχεται από την νομοθεσία, γιατί μεγάλες συγκεντρώσεις του δείχνουν ότι ο οίνος έχει υποστεί βακτηριακή προσβολή. Υπάρχουν και άλλα οξέα που σχετίζονται με άλλες βακτηριακές προσβολές, όπως το προπιονικό οξύ και τα βουτυρικά οξέα (Ribereau, 2006).

Τα λιπαρά οξέα με 6, 8, και 10 άτομα άνθρακα σχηματίζονται κατά την αλκοολική ζύμωση και λειτουργούν παρεμποδιστικά σε αυτήν . Ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις μερικών mg/L μπορούν να διακόψουν τη ζύμωση. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας (18C, 20C) ανήκουν στην οικογένεια των στερολών και οι ενώσεις αυτές είναι ενεργοποιητές ζύμωσης, κυρίως κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Τα σημαντικότερα από αυτά είναι το ελαϊκό (18C με ένα διπλό δεσμό) και το λινελαϊκό οξύ (18C με δύο διπλούς δεσμούς). Καθίστανται ενεργά σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις και η προέλευση τους από είναι από την κηρώδη ανθηρότητα του φλοιού του σταφυλιού (Ribereau, 2006)

Τα λιπαρά οξέα συμβάλουν και αυτά στο οργανοληπτικό προφίλ του οίνου. Η συμμετοχή τους στο άρωμα του κρασιού είναι σημαντική γιατί δίνουν αρωματικά ευχάριστους εστέρες. Το ισοβαλερικό οξύ και το βουτυρικό έχουν μυρωδιά που θυμίζει τυρί. Το λινολενικό οξύ και το λινελαϊκό είναι πρόδρομες ενώσεις από τις οποίες προέρχονται η εξανάλη και η εξανόλη. Αυτές οι ενώσεις είναι υπεύθυνες για τις χορτώδεις οσμές που ανιχνεύονται στους οίνους. Να σημειωθεί ότι το οξικό οξύ σε μικρές συγκεντρώσεις είναι σημαντικό συστατικό του κρασιού γιατί συμβάλλει στην αρωματική πολυπλοκότητά του (Τσακίρης, 2017).

1.5.1.6 Θειούχες ενώσεις

Οι ενώσεις του θείου μπορεί να μεταβολιστούν από τους μικροοργανισμούς με δύο οδούς. Στην πρώτη οδό της αναγωγής των θεικών, γίνεται απορρόφηση θεικού και χρησιμοποιείται για τη βιοσύνθεση οργανικών ενώσεων όπως η μεθειονίνη και η η κυστεΐνη. Στη δεύτερη οδό, γίνεται αναγωγή στο θεικό μόριο ως μέρος μιας αναπνευστικής οδού προς θειώδες ή σουλφίδιο χωρίς να μεταβολίζεται κανένα από αυτά και το μεγαλύτερο μέρος να αποβάλλεται. Ακόμη, οι μικροοργανισμοί μπορούν να αποικοδομήσουν το θείο που εμπεριέχεται στα αμινοξέα (μεθειονίνη και κυστεΐνη) για τον σχηματισμό σουλφιδίων και στη συνέχεια άλλων πτητικών θειούχων ενώσεων και θειολών (Swiegers, 2007).

Ο ζυμομύκητας *Saccharomyces cerevisiae* διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή των πτητικών ενώσεων του θείου. Από το μονοπάτι της αναγωγής των θεικών, δημιουργείται το HS⁻, το οποίο όμως μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό υδρόθειου (άρωμα κλούβιου αυγού) και διαφόρων μερκαπτανών (Τσακίρης, 2017). Άρα, ο περιορισμός του σχηματισμού του ιόντος HS⁻ από τους ζυμομύκητες είναι ένας σημαντικός στόχος στην παραγωγή του οίνου. Κατά τη την αλκοολική ζύμωση, η αφομοιωτική αναγωγή των θεικών από τις ζύμες (για την βιοσύνθεση κυστεΐνης και μεθειονίνης) μπορεί να οδηγήσει στην υπερβολική παραγωγή του ιόντος HS⁻, που οδηγεί στο σχηματισμό υδροθείου (Spiropoulos, 2000). Αυτό χαρακτηρίζεται ως ένα από τα πιο σημαντικά προβλήματα σε ένα οινοποιείο το οποίο πρόβλημα αν δεν αντιμετωπιστεί εγκαίρως το τελικό προϊόν θα έχει ελάττωμα που θα οδηγήσει σε υποβάθμιση της ποιότητας. Η ποσότητα του υδροθείου που παράγεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης του οίνου εξαρτάται από την παρουσία θειούχων ενώσεων, τις συνθήκες της ζύμωσης, το στέλεχος του ζυμομύκητα και τη θρεπτική κατάσταση του γλεύκους. Κάποια στελέχη ζυμομυκήτων παράγουν υδρόθειο χωρίς να επηρεάζονται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Swiegers, 2007).

Έχει βρεθεί ότι η παρουσία των ενώσεων του θείου μπορεί να έχει θετική αλλά και αρνητική επίδραση στο αρωματικό προφίλ του οίνου. Αρχικά, οι πτητικές ενώσεις που περιέχουν θείο συσχετίστηκαν με αρνητικές οσμές λόγω του υδροθείου (H₂S) και των θειολών (μερκαπτάνες), που προσδίδουν ένα άσχημο άρωμα κλούβιου αυγού και αυτό είχε αρνητική επίδραση στο άρωμα και στην ποιότητα του κρασιού. Όμως, αυτή η εντύπωση άλλαξε μετά την ανίχνευση των πτητικών θειολών, όπως του οξικού 3-μερκαπτοεξυλεστέρα, της 3-μερκαπτοεξανόλης και της 4-μερκαπτο-4-μεθυλοπενταν-2-όνης οι οποίες πτητικές ενώσεις, είναι πολύ βασικές αφού δίνουν μία νότα φρεσκάδας και έχουν θετική επίδραση στη γεύση και στο άρωμα του κρασιού (Τσακίρης, 2017). Η θετική συμβολή των θειολών επισημάνθηκε αρχικά από τον Du Plessis και τον Augustyn οι οποίοι απέδειξαν ότι το άρωμα γκουάβα που βρίσκεται στα κρασιά Sauvignon blanc της Νότιας Αφρικής οφείλεται κυρίως στην παρουσία 4MMP (4-μερκαπτο-4-μεθυλοπενταν-2-όνη) (Roland, 2011).

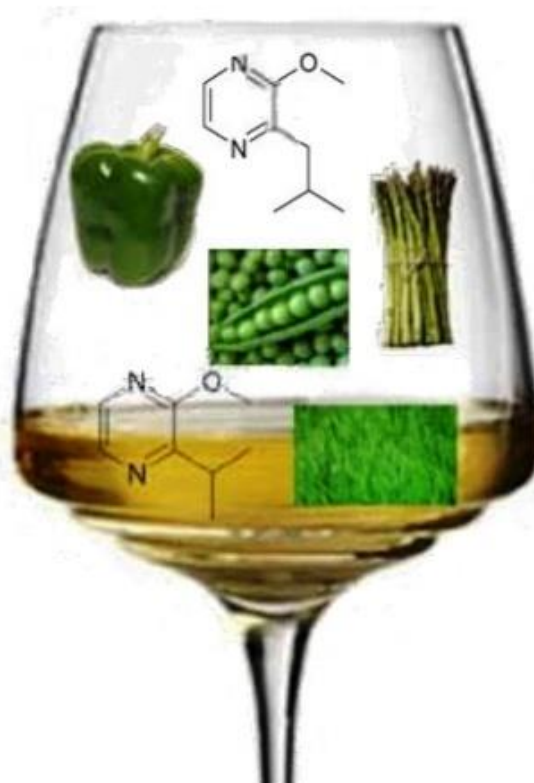
Από την άλλη πλευρά, οι ζύμες μπορούν επίσης να παράγουν πτητικές θειούχες ενώσεις που είναι πολύ χρήσιμες για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Η φουρφουρυλοθειόλη είναι μία από αυτές τις ενώσεις, η οποία ανιχνεύτηκε στο άρωμα ερυθρών οίνων του Bordeaux ,σε λευκό Pinot manseng και σε καμένο βαρέλι. Η φουρφουρυλοθειόλη είναι μια πολύ ισχυρή ένωση γεύσης (κατώφλι αντίληψης 0,4 ng/L) και έχει επίσης ταυτοποιηθεί σε κρέας, ψωμί σιταριού, καβουρδισμένο καφέ και ποπκορν. Η φουρφουρυλοθειόλη δημιουργείται από τους

ζυμομύκητες μέσω του μετασχηματισμού της φουρφουράλης η οποία απελευθερώνεται από τη δρυ (βαρέλι) κατά την αλκοολική ζύμωση.

Οι πτητικές θειόλες που παράγονται στους οίνους από τους ζυμομύκητες, από πρόδρομες ενώσεις του ίδιου του σταφυλιού, όπως 3-μερκαπτοεξάν-1-όλη (3MH), η 4-μερκαπτο-4-μεθυλοπενταν-2-όνη (4MMP) και ο οξικός 3-μερκαπτοεξυλεστέρας(3MHA) είναι πολύ έντονες και έχουν πολύ χαμηλά όρια αντίληψης: 0,8 ng/L (4MMP), 60 ng/L (3MH) και 4 ng/L (3MHA) (Swiegers, 2007).

1.5.1.7 Μεθοξυπυραζίνες

Οι μεθοξυπυραζίνες είναι ενώσεις με υψηλό αρωματικό δυναμικό και βρίσκονται σε πολλά είδη λαχανικών (πιπεριά, παντζάρια, σπαράγγια), ξηρών καρπών (π.χ φιστίκια), φρούτα και μπαχαρικά (μαύρο και άσπρο πιπέρι). Επίσης, έχουν ανιχνευθεί σε αρκετές ποικιλίες σταφυλιού καθώς και στους οίνους αυτών. Σε μερικές ποικιλίες, όπως το Sauvignon blanc και το Cabernet sauvignon, διαδραματίζουν θετικό ρόλο στο αρωματικό τους προφίλ. Όμως, σε μεγάλες συγκεντρώσεις μπορεί να οδηγήσει σε δυσάρεστους «πράσινους» και «άγουρους» χαρακτήρες. Η συγκέντρωση των μεθοξυπυραζινών στα σταφύλια και στους οίνους επηρεάζεται από κλιματολογικούς, καλλιεργητικούς αλλά και οινολογικούς παράγοντες, όπως από την έκθεση στο ηλιακό φως, το ξεφύλλισμα, την ωρίμανση του σταφυλιού αλλά και την τεχνική πίεσης, την διάρκεια διαβροχής και το στέλεχος της ζύμης (Botezatu, 2015). Τέλος, έχει βρεθεί πως και ο τύπος φελλού και η επιλογή συσκευασίας μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη συγκέντρωσή τους (Blake, 2008).



Εικόνα 12. Απεικόνιση του χημικού τύπου των μεθοξυπυραζινών και χαρακτηριστικών αρωμάτων της ένωσης.

1.5.1.8 Ακετάλες

Ο σχηματισμός των ακετάλων συμβαίνει όταν έρχεται σε επαφή μια αλκοόλη με μια αλδεΐδη. Η αντίδραση περιλαμβάνει δύο μόρια αλκοόλης και ένα μόριο αλδεΐδης. Στα κρασιά έχουν βρεθεί περίπου είκοσι ενώσεις αυτού του τύπου. Η σημαντικότερη από αυτές είναι το διαιθοξυαιθάνιο, το οποίο και προκύπτει από την αντίδραση μεταξύ αιθανόλης και αιθανάλης. Η συγκεκριμένη αντίδραση είναι αργή, αναστρέψιμη και καταλυόμενη από υδρογονοκατιόντα. Ευνοείται σε χαμηλό pH και ολοκληρώνεται σε λίγες ώρες όταν το pH είναι 2-3, ενώ χρειάζονται αρκετές ημέρες για την πραγματοποίησή της σε pH 4 (Ribereau, 2006).

Αν σκεφτεί κανείς τις πολύ μικρές ποσότητες ακεταλδεΐδης που υπάρχουν στο κρασί, η περιεκτικότητά τους σε ακετάλη είναι σχεδόν μηδέν (<5mg/L). Από την άλλη μεριά, τα Sherry και τα αποστάγματα που έχουν υψηλή συγκέντρωση αιθανόλης, έχουν και μεγαλύτερη συγκέντρωση ακετάλης. Οι ακετάλες έχει βρεθεί ότι έχουν βοτανική οσμή και βοηθούν στην αρωματική πολυπλοκότητα του Sherry. Το διαιθοξυαιθάνιο έχει αναφερθεί ότι έχει φρουτώδη οσμή (Ribereau, 2006).

1.5.1.9 Λακτόνες

Οι λακτόνες σχηματίζονται από εσωτερική αντίδραση εστεροποίησης μεταξύ μιας λειτουργικής ομάδας οξέος και μιας λειτουργικής ομάδας αλκοόλης που βρίσκονται στο ίδιο μόριο. Αυτή η αντίδραση παράγει ένα ετεροκυκλικό δακτύλιο οξυγόνου. Η γνωστότερη αλκοόλη είναι η γ -βουτυρολακτόνη και υπάρχει στο κρασί σε συγκεντρώσεις των mg/L. Δεν έχει δείξει να παίζει σημαντικό ρόλο στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Ακόμη, οι λακτόνες μπορεί να προέρχονται και από το σταφύλι, αυτό συμβαίνει και στη περίπτωση της ποικιλίας Riesling.

Έχει βρεθεί ότι η μόλυνση των σταφυλιών από *Botrytis cinerea* μπορεί να οδηγήσει στη παραγωγή σοτολόνης (4,5-διμεθυλ-3-υδροξυ-2-φουρανόνη) η οποία είναι υπεύθυνη για τα πικάντικα αρώματα που είναι χαρακτηριστικά των κρασιών που παράγονται από σταφύλια με ευγενή σήψη. Οι συγκεντρώσεις που υπάρχουν στο κρασί, της τάξης των 5 $\mu\text{g/L}$, είναι πάνω από το κατώφλι αντίληψης. Η σοτολόνη επίσης μπορεί να προκύψει από μια αντίδραση συμπύκνωσης, που δεν καταλύεται από ένζυμα, μεταξύ α -κετο βουτυρικού οξέος και ακεταλδεΐδης (Ribereau, 2006).

Η ωρίμανση σε δρύινο βαρέλι είναι μια άλλη πηγή προέλευσης των λακτονών στους οίνους. Η δρυς απελευθερώνει λακτόνες στον οίνο κατά τη διάρκεια της παλαίωσης στο βαρέλι. Τα *cis* και *trans* ισομερή της 3-μεθυλο- γ -οκταλακτόνης είναι γνωστά ως «λακτόνες δρυός» ή «ουίσκι λακτόνες». Οι καθαρές ενώσεις έχουν οσμή καρύδας. Οι συγκεντρώσεις τους στο κρασί είναι της τάξης μερικών δεκάδων mg/L, αρκετά υψηλότερες από το κατώφλι αντίληψης (το οποίο είναι της τάξης των $\mu\text{g/L}$) (Ribereau, 2006).

1.6 Αέρια Χρωματογραφία -Φασματομετρία Μάζας (GC-MS)

Η χρωματογραφία αερίων (GC) σε συνδυασμό με τη φασματομετρία μάζας (MS) αποτελεί μια αναλυτική τεχνική η οποία περιλαμβάνει έναν αέριο χρωματογράφο συνδεδεμένο με ένα φασματογράφο μάζας. Η τεχνική αυτή συνδυάζει τα πλεονεκτήματα της αέριας χρωματογραφίας που διαχωρίζει αποτελεσματικά πολύπλοκα μίγματα καθώς αυτά κινούνται μέσα σε μια τριχοειδή στήλη, με αποτέλεσμα τα συστατικά του μίγματος σε μορφή μορίων, να εκλούνται σε διαφορετικές χρονικές στιγμές (χρόνος συγκράτησης) και να ανιχνεύονται. Το φασματόμετρο μάζας (MS) σπάει τα μόρια που εξέρχονται από το GC σε ιονισμένα θραύσματα που επιταχύνονται, εκτρέπονται και ανιχνεύονται από τον λόγο μάζα/φορτίο (m/z) σε amu (atomic mass units) ή Da (Dalton).

Αυτή η σύζευξη των δυο τεχνικών οδηγεί σε μια πολύ λεπτομερέστερη ανάλυση των συστατικών του μίγματος που δεν μπορεί να επιτευχθεί με τη χρησιμοποίηση της μιας μόνο τεχνικής. Η διαδικασία ανάλυσης της φασματομετρίας μάζας απαιτεί συνήθως ένα πολύ καθαρό δείγμα, ενώ η αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιώντας ένα παραδοσιακό ανιχνευτή (π.χ ανιχνευτή ιονισμού φλόγας) δεν μπορεί να διακρίνει μόρια που τυχαίνει να έχουν τον ίδιο χρόνο συγκράτησης, γεγονός που οδηγεί σε δύο ή περισσότερα μόρια να συνεκλούνται. Μερικές φορές δύο διαφορετικά μόρια μπορούν επίσης να έχουν ένα παρόμοιο μοτίβο ιονισμένων θραυσμάτων σε ένα φασματόμετρο μάζας.

Ο συνδυασμός των δύο τεχνικών μειώνει την πιθανότητα λάθους, δεδομένου ότι είναι εξαιρετικά απίθανο δύο διαφορετικά μόρια να συμπεριφέρονται με τον ίδιο τρόπο τόσο σε αέριο χρωματογράφο όσο και σε φασματόμετρο μάζας. Επομένως όταν σε ένα φάσμα GC-MS εμφανίζεται ένα συστατικό με συγκεκριμένο χρόνο συγκράτησης μας παρέχεται αυξημένη βεβαιότητα ότι αναφέρεται σε ένα και μόνο ένα συστατικό του δείγματος.

Το σύστημα GC-MS είναι μια πανίσχυρη τεχνική χημικής ανάλυσης, η οποία χρησιμοποιείται για:

- Την ταυτοποίηση πτητικών οργανικών ενώσεων σε πολύπλοκα μίγματα
- Τη διερεύνηση της χημικής δομής άγνωστης οργανικής ένωσης σε μίγματα
- Τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους άγνωστης οργανικής ένωσης
- Την ύπαρξη ισοτόπων, την κινητική αντιδράσεων, τη διερεύνηση των δεσμών
- Το μηχανισμό των αντιδράσεων και τον ποσοτικό προσδιορισμό

Η τεχνική αυτή βρίσκει εφαρμογή στην ανάλυση μεγάλης ποικιλίας δειγμάτων όπως περιβαλλοντικών, φυσικών προϊόντων, τροφίμων, υδρογονανθράκων, φαρμακευτικών και προϊόντων μεταβολισμού αυτών στο αίμα και τα ούρα (ιατροδικαστικό και ιατρικό πεδίο), αναλύσεις για τον ποιοτικό έλεγχο βιομηχανικών προϊόντων, στην οργανική σύνθεση κ.α (Καραγιάννης, 2007).

1.7 Σκοπός του πειράματος

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να μελετηθεί η επίδραση του σταδίου ωρίμανσης της ποικιλίας Ασύρτικο στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των οίνων που θα παραχθούν και να προσδιοριστεί ο βέλτιστος χρόνος συγκομιδής ανάλογα με τον επιθυμητό τύπο οίνου. Κριτήριο θα αποτελέσει η μελέτη της παρουσίας και της εξέλιξης των βασικών παραμέτρων των οίνων αλλά και των πτητικών ενώσεων μέσω της ενόργανης ανάλυσης όπως και τα

οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους μέσω της οργανοληπτικής αξιολόγησης από πάνελ δοκιμαστών.

Κεφάλαιο 2. Υλικά και μέθοδοι

2.1 Παρακολούθηση ωρίμανσης

Πριν να ληφθεί η απόφαση του τρύγου της 1^{ης} ωρίμανσης στο αμπελοτεμάχιο πραγματοποιήθηκαν 2 δειγματοληψίες 300 ραγών σε διάστημα 5 ημερών. Οι ράγες συλλέχθηκαν με τυχαιοποιημένη δειγματοληψία από το σύνολο του αμπελοτεμαχίου. Οι ράγες αφού συλλέχθηκαν, μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου εκεί μετρήθηκε η πυκνότητα, η ολική οξύτητα καθώς και το pH. Σκοπός ήταν να διερευνηθεί η ακριβής ημερομηνία του πρώτου τρύγου.

2.2 Τρύγος σταφυλιών

Η συγκομιδή των σταφυλιών έγινε σε τρεις διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια το τρύγου της αμπελουργικής χρονιάς 2022. Ο τρύγος έγινε χειρωνακτικά σε χρονικό διάστημα 3 εβδομάδων μέσα στο μήνα Αύγουστο. Κάθε κοπή απείχε η μία από την άλλη διάστημα 7 ημερών. Επιπλέον, και οι τρεις συγκομιδές σταφυλιών έγιναν από ένα συγκεκριμένο αμπελοτεμάχιο στην περιοχή Μπαξές της Οίας στη Σαντορίνη με ονομασία λιβάδι Ρούσσου. Να σημειωθεί ότι μεταξύ της 2^{ης} και της 3^{ης} ωρίμανσης έβρεξε στην περιοχή με συνολικό ύψος βροχής 27mm.

Ημερομηνία	πυκνότητα	ολική οξύτητα	pH	Παρατηρήσεις
5-Αυγ	1079	8,55	3,04	Δειγματοληψία 300 ραγών
10-Αυγ	1084,8	7,95	3,02	Δειγματοληψία 300 ραγών
14-Αυγ	1088,8	5,8	3,04	Τρύγος 1ης ωρίμανσης
21-Οκτ	1099,8	5,25	3,13	Τρύγος 2ης ωρίμανσης
24-Αυγ				βροχή 27mm
28-Αυγ	1101,6	5,33	2,97	Τρύγος 3ης ωρίμανσης

Πίνακας 1: Παρακολούθηση της ωριμότητας των στεμφύλων

2.3 Αναλύσεις γλεύκους

2.3.1 Προσδιορισμός πυκνότητας

Ο προσδιορισμός σακχάρων κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης έγινε με τη χρήση αραιόμετρου το οποίο προσδιορίζει το ειδικό βάρος. Έτσι παίρνουμε ένδειξη της πυκνότητας του γλεύκους η οποία όμως εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Το αραιόμετρο που χρησιμοποιήθηκε ήταν βαθμονομημένο σε θερμοκρασία 20 °C και οποιαδήποτε μέτρηση ανάγεται και διορθώνεται σε αυτή τη θερμοκρασία με τη χρήση πινάκων.

2.3.2 Προσδιορισμός ολικής οξύτητας

Ο προσδιορισμός της ολικής οξύτητας πραγματοποιήθηκε με ογκομέτρηση 10 mL του δείγματος με τιτλοδοτημένο διάλυμα NaOH 0,1 N ώσπου να εξουδετερωθούν οι περιεχόμενες ελεύθερες καρβοξυλομάδες. Προκειμένου να γίνει αντιληπτή η εξουδετέρωση γίνεται χρήση δείκτη (κυανού της βρωμοθυμόλης). Ο συγκεκριμένος δείκτης υφίσταται αλλαγή χρώματος σε pH περίπου 7. Η εξουδετέρωση των οξέων πραγματοποιείται σε pH 7. Το CO₂ αφαιρείται με ανάδευση υπό κενό. Η έκφραση των αποτελεσμάτων γίνεται σε g τρυγικού οξέος / L οίνου ή γλεύκους (Σουφλερός, 2009).

2.3.3 Προσδιορισμός της ενεργού οξύτητας (pH)

Για τον προσδιορισμό του pH έγινε χρήση ηλεκτρονικού pHμέτρου, το οποίο φέρει γυάλινο ηλεκτρόδιο. Με το pHμετρο γίνεται γνωστή η συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου μέσα στο διάλυμα αναφοράς. Η μέτρηση γίνεται με τη χρήση δύο ηλεκτροδίων ενός ενδεικτικού και ενός ηλεκτροδίου αναφοράς. Η βαθμονόμηση του οργάνου γίνεται με πρότυπα ρυθμιστικά διαλύματα γνωστού pH 4 και 7. Η διαφορά δυναμικού των δύο ηλεκτροδίων δίνει την τιμή του pH του διαλύματος.

2.4 Λευκή Οινοποίηση

Η λευκή οινοποίηση έλαβε χώρα στο οινοποιείο του Κτήματος Σιγάλα στη Σαντορίνη με ευγενική παραχώρηση της πρώτης ύλης αλλά και του εξοπλισμού. Το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε είναι το παρακάτω:

Τα σταφύλια μετά τον τρύγο μεταφέρθηκαν άμεσα και αποθηκεύτηκαν σε ψυκτικό θάλαμο στους 4 °C για περίπου 20 ώρες. Η οινοποίηση ξεκίνησε την επόμενη μέρα του τρύγου.

Τα σταφύλια μεταφέρθηκαν σε μάγγανο και πατήθηκαν χειρωνακτικά. Το γλεύκος μεταφέρθηκε σε γυάλινες νταμιτζάνες των 20 L οι οποίες γέμισαν μέχρι τα 15 λίτρα. Σε κάθε διαφορετική ωρίμανση γεμίζονταν 2 γυάλινα δοχεία με σκοπό την πραγματοποίηση του πειράματος εις διπλούν. Στο γλεύκος πραγματοποιήθηκαν οι βασικές αναλύσεις σύμφωνα με τον ΟΙV (σακχαροπεριεκτικότητα, pH, ολική οξύτητα). Ύστερα, από 24 ώρες τα γλεύκη απολασπώθηκαν σε θολότητα 180 NTU και όταν η θερμοκρασία του σταφυλοπολτού έφτασε τους 15°C εμβολιάστηκαν με εμπορικό στέλεχος ζύμης *Saccharomyces bayanus*. Σε

καθημερινή βάση γινόταν παρακολούθηση της πορείας ζύμωσης καθώς και έλεγχος της θερμοκρασίας ζύμωσης. Η αλκοολική ζύμωση έγινε κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες σε θερμοκρασία 15-17 °C μέσα στα γυάλινα δοχεία. Όταν τελείωσε η αλκοολική ζύμωση οι οίνοι θειώθηκαν και σφραγίστηκαν σε μικρότερα γυάλινα δοχεία των 10 λίτρων. Μετά το πέρας 45 ημερών οι οίνοι εμφιαλώθηκαν και σφραγίστηκαν με φελλούς Diam5.



Εικόνα 13. Χειροκίνητο σταφυλοπιεστήριο από το πάτημα της 1ης ωρίμανσης.

2.5 Αναλύσεις οίνων

Ο προσδιορισμός της ολικής οξύτητας και του pH περιγράφηκε παραπάνω.

2.5.1 Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου (%vol)

Στη συγκεκριμένη περίπτωση ακολουθήθηκε η μέθοδος της απλής απόσταξης. Η μέθοδος αυτή συνίσταται από την απλή απόσταξη του υγρού αφού προηγουμένως αυτό καταστεί αλκαλικό και ύστερα γίνεται μέτρηση της πυκνότητας του αποστάγματος, με αραιόμετρο και ο αλκοολικός τίτλος προσδιορίζεται με προσέγγιση ενός περίπου δεκάτου (0,1% vol) (Σουφλερός, 2009).

Αρχικά, 200 mL οίνου, μετρημένα με ογκομετρική φιάλη και αφού παρθεί η θερμοκρασία τους, μεταφέρονται στη γυάλινη φιάλη της αποστακτικής μηχανής μαζί με τα ξεπλύματα. Ακόμη, γίνεται προσθήκη 10-12 mL γάλα ασβεστίου για την εξουδετέρωση των πτητικών

οξέων. Η φιάλη θερμαίνεται ήπια και το παραγόμενο απόσταγμα συλλέγεται στην αρχική ογκομετρική φιάλη, στην οποία έχει γίνει προσθήκη και μιας μικρής ποσότητας απιονισμένου νερού. Μόλις έχουν συλλεχθεί τα $\frac{3}{4}$ του όγκου του αρχικού δείγματος η απόσταξη σταματά. Το απόσταγμα φέρεται σε θερμοκρασία συν πλην 2 από την αρχική θερμοκρασία που είχε το δείγμα πριν ξεκινήσει η απόσταξη και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 200 mL με απεσταγμένο νερό. Το διάλυμα θα αναδευτεί και θα μεταφερθεί σε ογκομετρικό κύλινδρο. Ύστερα, με τη χρήση ενός αλκοολόμετρου, μετρήθηκε η ένδειξη του αλκοολικού τίτλου, ενώ ταυτόχρονα μετρήθηκε και η θερμοκρασία του αποστάγματος. (Σουφλερός, 2009).

2.5.2 Προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας

Η πτητική οξύτητα αποτελεί ποιοτικό κριτήριο των οίνων επειδή εξαρτάται από την εκδήλωση ή μη βακτηριακών προσβολών (Σουφλερός, 2009). Η μέθοδος που εφαρμόστηκε βασίζεται στην παραλαβή των πτητικών οξέων με απόσταξη και στην ογκομέτρηση αυτών με άλκαλι, παρουσία δείκτη φαινολοφθαλεΐνης (Σουφλερός, 2009).

Κατά την προετοιμασία του δείγματος γίνεται απομάκρυνση του CO₂. Μετά ακολουθήθηκε απόσταξη μεθ' υδρατμών όπου στον υποδοχέα του δείγματος τοποθετήθηκαν 20 mL οίνου, 0.5 g τρυγικού οξέος και έτσι ξεκίνησε η απόσταξη. Συλλέχθηκαν τουλάχιστον 250 mL αποστάγματος.

Το απόσταγμα ογκομετρήθηκε με διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 0.1 M και με τη χρήση δείκτη φαινολοφθαλεΐνης (δύο σταγόνες). Έστω n ο αριθμός των καταναλωθέντων mL. Μετά, έγινε προσθήκη τεσσάρων σταγόνων αραιωμένου HCl 1/4, 2 mL διαλύματος αμύλου και μερικοί κρύσταλλοι KI. Το ελεύθερο SO₂ ογκομετρείται με διάλυμα 0.005 M ιωδίου. Έστω n' ο αριθμός των καταναλωθέντων mL.

Η πτητική οξύτητα, εκφραζόμενη σε g οξικού οξέος ανά λίτρο με δύο δεκαδικά ψηφία, δίνεται από τον τύπο $A = 0,300 (n - 0.1 n')$.

2.5.3 Προσδιορισμός των αναγωγικών σακχάρων με οξικό μόλυβδο

Αρχικά, γίνεται αποχρωματισμός του δείγματος(οίνου). Σε ογκομετρική φιάλη 100 mL φέρονται 50 mL ξηρού οίνου. Προστίθενται $\frac{1}{2} (n-0,5)$ mL διαλύματος NaOH 1 M (όπου n είναι ο όγκος διαλύματος 0,1 M που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της ολικής οξύτητας 10 mL οίνου). Προστίθενται υπό ανάδευση 2,5 mL κορεσμένου διαλύματος οξικού μόλυβδου και 0,5 g ανθρακικού ασβεστίου. Αναδύεται επανειλημμένως και αφήνεται σε ηρεμία για 15 λεπτά. Συμπληρώνεται ο όγκος με νερό και ακολουθεί διήθηση. Στο διήθημα ακολουθεί προσδιορισμός των σακχάρων με την μέθοδο Luff.

Σε μία κωνική φιάλη 300 mL μεταφέρονται 25 mL αλκαλικού διαλύματος χαλκού, x mL διαυγασμένου διηθήματος οίνου και 25-x mL ύδατος σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα. Η ποσότητα του οίνου δεν πρέπει να περιέχει περισσότερο από 60 mg ιμβερτοσακχάρου.

Πίνακας 2: Ποσότητα οίνου-αραιώσεις

Ποσότητα οίνου Αραιώσεις	Σάκχαρα	Συντελεστής διαίρεσης
25 mL	< 2 g/L	25
20 mL	< 3 g/L	20
10 mL	< 6 g/L	10
5 mL	< 12 g/L	5
20 mL → 200 mL ↓ 20 mL	< 30 g/L	2
10 mL → 200 mL ↓ 20 mL	< 60 g/L	1
10 mL → 200 mL ↓ 10 mL	< 120 g/L	0,5
10 mL → 200 mL ↓ 5 mL	< 240 g/L	0,25

Η φιάλη προσαρμόζεται σε κάθετο ψυκτήρα. Ύστερα το δείγμα φέρεται σε βρασμό και αυτό θα διατηρηθεί για 10 λεπτά. Μετά γίνεται ταχεία και άμεση ψύξη με τρεχούμενο νερό και προστίθενται 10 mL διαλύματος ιωδιούχου καλίου 30 % και 25 mL θειικού οξέος 25 % (με πολύ μεγάλη προσοχή γιατί αφρίζει). Τέλος, γίνεται προσθήκη περίπου 2 mL δείκτη αμύλου και πραγματοποιείται ογκομέτρηση με πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0.1 M.

Το τελικό σημείο της ογκομέτρησης προσδιορίζεται με την αλλαγή του καφέ χρώματος του I₂ σε έντονο κίτρινο. Έστω n τα mL που καταναλώθηκαν. Να αναφερθεί ότι, είναι σημαντικό να γίνει ο προσδιορισμός του μάρτυρα για να βρεθεί η ολική οξειδωτική ικανότητα των 25 mL του διαλύματος CuSO₄. Στο δείγμα αυτό, αντί για διαυγασμένο οίνο, χρησιμοποιούνται 25 mL απιονισμένου νερού και ακολουθείται η παραπάνω διαδικασία. Έστω n' τα mL θειοθειικού νατρίου που καταναλώθηκαν.

Για την έκφραση των αποτελεσμάτων γίνεται υπολογισμός της ποσότητας του σακχάρου που περιέχεται στον όγκο του σακχαρούχου διηθήματος που χρησιμοποιήθηκε για ανάλυση με τη βοήθεια γνωστού πίνακα. Το αποτέλεσμα του πίνακα διαιρείται με τον συντελεστή διαίρεσης που αναγράφεται στον πίνακα 2 και εκφράζεται σε g ιμβερτοσακχάρου /L οίνου.

2.5.4 Προσδιορισμός θειώδη ανυδρίτη

Ο προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ολικού και ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη έγινε με αυτόματο τιτλοδότη (ENO20, TDI).



Εικόνα 14: Μέτρηση θειώδη ανυδρίτη

2.5.4.1 Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης

Για τη μέτρηση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη μεταφέρθηκαν 20 mL οίνου και προστέθηκαν 2 mL H_2SO_4 (πυκνό διάλυμα H_2SO_4 αραιωμένο κατά το 1/3) σε ποτήρι ζέσεως. Στη συνέχεια, το δείγμα τοποθετήθηκε στον αυτόματο τιτλοδότη, όπου έγινε η τιτλοδότησή του με ιώδιο N/50. Μετά το πέρας της τιτλοδότησης, πάρθηκε η ένδειξη της προχοΐδας σε mg/L.

2.5.4.2 Ολικός θειώδης ανυδρίτης

Με σκοπό να γίνει ο προσδιορισμός του ολικού θειώδη ανυδρίτη ακολουθήθηκε η παραπάνω μέθοδος αλλά προηγουμένως έγινε η αποδέσμευση του δεσμευμένου SO_2 από τις θέσεις δέσμευσης (πχ ακεταλδεΐδη) που υπάρχουν μέσα στον οίνο. Η αποδέσμευση αυτή λαμβάνει χώρα με αλλαγή του pH του οίνου σε ισχυρά αλκαλικό περιβάλλον, που έγινε με την προσθήκη NaOH.

Έτσι λοιπόν σε ποτήρι ζέσεως 50mL μεταφέρθηκαν 20 mL οίνου και 2 mL NaOH (5N) ,τα οποία και αναδεύτηκαν και έμειναν σε ηρεμία για 10 λεπτά. Έπειτα, προστέθηκαν 4 mL H₂SO₄ (πυκνό H₂SO₄ αραιωμένο κατά 1/3) και το τελικό διάλυμα μεταφέρθηκε στον αυτόματο τιτλοδότη όπου εκεί έγινε η τιτλοδότηση με ιώδιο και έγινε λήψη της ένδειξης από την προχοΐδα. Ο όγκος του ιωδίου που καταναλώθηκε δείχνει τη συγκέντρωση του ολικού θειώδους ανυδρίτη που έχει το δείγμα του οίνου, εκφρασμένη σε χιλιοστογραμμάρια ολικού SO₂ ανά λίτρο (mg/L) (Κοτσερίδης & Προξενιά, 2020).

2.5.5 Απορρόφηση στα 420

Για να γίνει η εκτίμηση του χρώματος των υπό μελέτη οίνων, μετρήθηκε η απορρόφηση στα 420 nm. Για τη μέτρηση αυτή έγινε χρήση του φασματοφωτομέτρου (UV-1900, SHIMAZDU) και για τον μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό και στη συνέχεια μετρήθηκαν τα δείγματα.

2.5.6 Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών

2.5.6.1 ΔΦΟ (δείκτης φαινολικών ουσιών)

Οι χαρακτηριστικοί βενζολικοί δακτύλιοι των φαινολικών ενώσεων του γλεύκους και του οίνου παρουσιάζουν ισχυρή απορρόφηση στο υπεριώδες φως, το μέγιστο της οποίας παρατηρήθηκε γύρω στα 280 nm. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε είναι των Ribéreau-Gayon (2000).

Οι προς μέτρηση οίνοι διηθούνται από ηθμό 1,2 μm και αραιώνονται σε αναλογία 1/100 με απεσταγμένο νερό. Μετράται η οπτική πυκνότητα (OD) του διαλύματος στα 280 nm χρησιμοποιώντας κυψελίδα χαλαζία οπτικής διαδρομής 1 cm (Σουφλερός 2009). Ο υπολογισμός του δείκτη φαινολικών ουσιών γίνεται από τη σχέση: $\Delta\Phi O = OD_{280} * 100$.

2.5.6.2 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών (Folin – Ciocalteu)

Είναι η επίσημη μέθοδος που περιγράφεται από τον ΟΙV. Μετρά το σύνολο των φαινολικών ουσιών, πρόκειται λοιπόν για μια φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην οξειδωση των φαινολικών ενώσεων του οίνου από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Την χρησιμοποιούμε για την μέτρηση των ολικών φαινολικών με το μειονέκτημα ότι δε γίνεται διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών ή μεγαλύτερων φαινολικών συστατικών. Το κύριο αντιδραστήριο της μεθόδου αυτής είναι ένα διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων και ονομάζεται Folin-

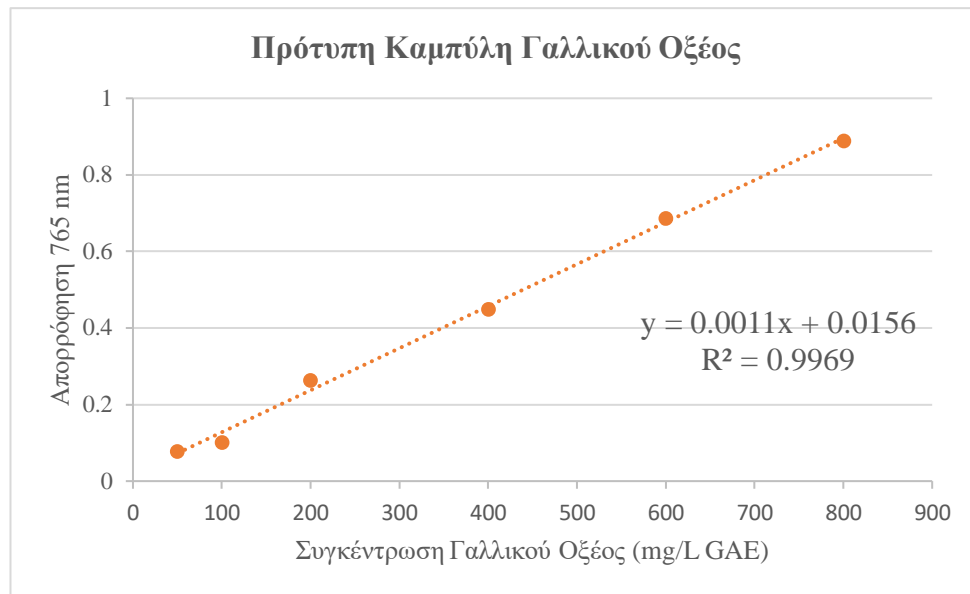
Ciocalteu,. Τα φαινολικά ιόντα οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Κατά την οξείδωση των φαινολών, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}). Το κυανό χρώμα που προκύπτει παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750 nm και είναι ανάλογο της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων. Με διάλυμα Na_2CO_3 ρυθμίζεται η αλκαλικότητα. Τέλος, οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται με τον συγκεκριμένο δείκτη εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος.

Σύμφωνα με την διαδικασία προσδιορισμού, σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες (εις διπλούν) μεταφέρθηκαν κατά σειρά:

- Απιονισμένο νερό 2 mL,
- Δείγμα 50 μ L,
- 250 μ L Folin,
- 750 μ L Na_2CO_3 20% και
- 1950 μ L απιονισμένο νερό.

Μετά από κάθε προσθήκη γινόταν ανάδευση στο vortex. Στο τέλος, οι σωλήνες παρέμειναν για 30 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, σε ηρεμία, για την ανάπτυξη του χρωμοφόρου. Κατόπιν μετρήθηκε η απορρόφηση στα 765 nm. Για τον μάρτυρα της μεθόδου, στην αντίδραση, αντί για δείγμα χρησιμοποιείται H_2O (ο μάρτυρας παρασκευάζεται εις διπλούν σε κάθε πείραμα).

Για την βαθμονόμηση της μεθόδου κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς του γαλλικού οξέος. Σε erpendorf των 2 mL παρασκευάστηκαν συγκεντρώσεις 50, 100, 200, 400, 600 και 800 mg/L από πρότυπο διάλυμα γαλλικού οξέος 1 g/L και ακολουθήθηκε ο προσδιορισμός των φαινολικών όπως παραπάνω και λήφθηκαν οι απορροφήσεις. Στη συνέχεια, έγινε αντιστοίχιση αυτών των συγκεντρώσεων με τις απορροφήσεις και έτσι κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη. Μετά από την ευθεία της μορφής $y=ax+\beta$ γίνεται ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των φαινολικών των υπό εξέταση οίνων σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE).



Σχήμα 1. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος (μέθοδος Folin)

2.5.7 Τεστ επιταχυνόμενης οξείδωσης

Τα δείγματα οίνου φυγοκεντρήθηκαν στις 5000 rpm για 15 min. Για κάθε δείγμα οίνου χρησιμοποιούνται 2 φιαλίδια με βιδωτό καπάκι χωρητικότητας 45 mL. Στα φιαλίδια αυτά τοποθετήθηκε ποσότητα οίνου ίση με 30 mL, κλείστηκαν αεροστεγώς και μεταφέρθηκαν σε υδατόλουτρο 55°C σε συνθήκες σκότους.

Κάθε μέρα και περίπου την ίδια ώρα, τα φιαλίδια αποσύρονταν από το υδατόλουτρο και αφήνονταν για διάστημα περίπου 1 h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια, γινόταν μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων στα 420 nm. Από τα φιαλίδια γινόταν λήψη με μικρά πλαστικά πουάρ, η απαραίτητη για τη μέτρηση ποσότητα και μεταφερόταν στην κυψελίδα. Για τον μηδενισμό του φωτόμετρου χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό. Η απορρόφηση των δειγμάτων στα 420 nm καταγράφεται (A420). Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε για 12 ημέρες.

Για την εκτίμηση της οξειδωσιμότητας κάθε δείγματος για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, οι ημέρες επώασης (άξονας x) αντιστοιχίζονται με τις απορροφήσεις (μέσος όρος των 3 απορροφήσεων) (άξονας y) σε ένα σύστημα αξόνων και προκύπτει μια καμπύλη μεταβολής της απορρόφησης στα 420 nm. Η γραμμή τάσης που προκύπτει περιγράφεται από μια εξίσωση της μορφής $y = ax + \beta$. Από την ευθεία αυτή μπορεί να υπολογιστεί ο συντελεστής k, ο οποίος και περιγράφει την ταχύτητα μεταβολής του χρώματος στα 420 nm για κάθε οίνο.

Όσο μικρότερη τιμή έχει ο συντελεστής k τόσο πιο αργά θα εμφανιστούν οι καφέ οξειδωτικές αποχρώσεις στον οίνο.

2.5.8 Δείκτες φαινολικών συστατικών

Για την μέθοδο χρησιμοποιήθηκαν 4 αντιδραστήρια

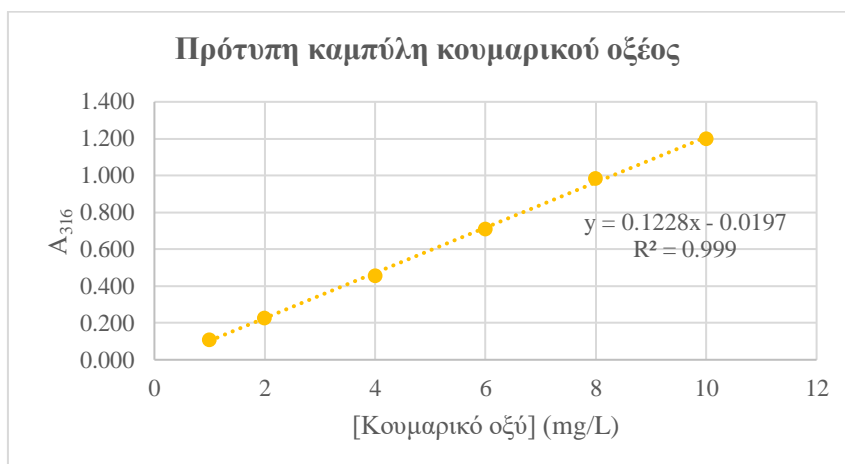
- Πρότυπο διάλυμα γαλλικού οξέος 1 g/L
- Πρότυπο διάλυμα p – κουμαρικού οξέος 1 g/L
- Πρότυπο διάλυμα κερκετίνης 1 g/L
- Model wine (12% αιθανόλη, 5 g/L τρυγικό, pH 3.3 με NaOH 1N)

Στη συνέχεια, τα δείγματα μετρήθηκαν στα 360 nm με σκοπό να βρεθούν οι ολικές φλαβονόλων, στα 280 nm για τις ολικές φλαβανόλες και στα 316 nm για τα ολικά φαινολικά οξέα. Για τις συγκεκριμένες φωτομετρήσεις χρησιμοποιήθηκε κυψελίδα χαλαζία.

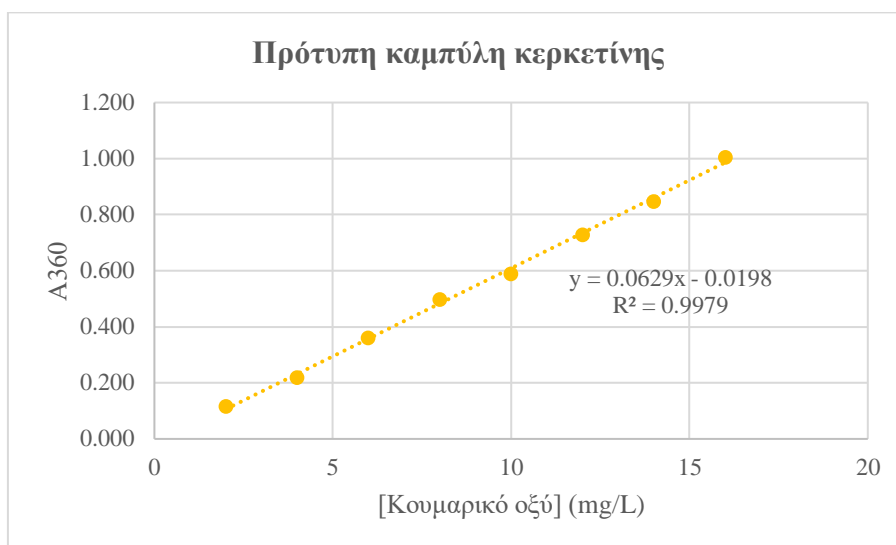
Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα κερκετίνης (mg/L QUE), ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mg/L GAE) και σε ισοδύναμα p-κουμαρικού οξέος (mg/L PCAE) αντίστοιχα.

Καμπύλες αναφοράς

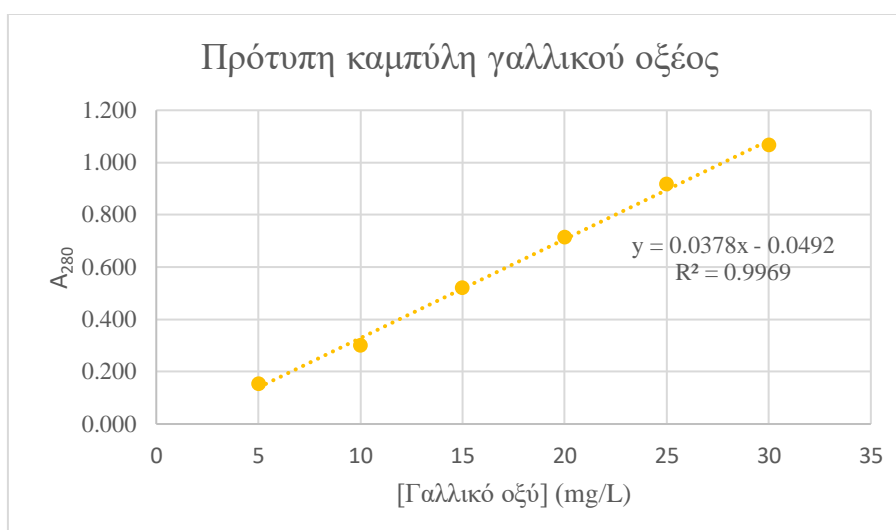
Από τις καμπύλες αναφοράς του κουμαρικού οξέος, της κερκετίνης και του γαλλικού οξέος, οι οποίες γίνονται πειραματικά με αραιώσεις (με model wine) και αφού αντιστοιχίσουμε τις συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων με τις απορροφήσεις κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη. Από την ευθεία της μορφής $y=ax+\beta$ που προκύπτει, υπολογίζεται η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των δειγμάτων στα αντίστοιχα ισοδύναμα χωρίς όμως να ξεχαστεί να ληφθεί υπόψη και η αραιώση που τυχόν έγινε.



Σχήμα 2: Πρότυπη καμπύλη κουμαρικού οξέος



Σχήμα 3: Πρότυπη καμπύλη κερκετίνης



Σχήμα 4: Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος

2.5.9 Ενζυμικές αναλύσεις

Για τον προσδιορισμό του τρυγικού και του μηλικού οξέος χρησιμοποιήθηκε ενζυμικός αναλυτής (multiparametric analyzer Hyperlab smart) και μαζί με τα προπαρασκευασμένα αντιδραστήρια (κιτ) της ίδιας εταιρείας, έγιναν οι μετρήσεις.

2.6 Προσδιορισμός πτητικών συστατικών με GC/MS

2.6.1 Εκχύλιση πτητικών ενώσεων

Αρχικά, τα δείγματα οίνου που χρησιμοποιήθηκαν φυγοκεντρήθηκαν στις 8000 rpm για 15 min. Σε μία ογκομετρική φιάλη (50 mL) μεταφέρθηκαν 40 mL οίνου και προστέθηκαν όγκοι από τα 3 μητρικά διαλύματα εσωτερικών προτύπων (οι εστέρες με ethyl-heptanoate, τα πτητικά λιπαρά οξέα με το heptanoic acid και οι ανώτερες αλκοόλες με 3-octanol) έτσι ώστε η τελική συγκέντρωσή τους να είναι 10 mg/L. Στη συνέχεια, συμπληρώθηκε ο όγκος της φιάλης στα 50 mL με απιονισμένο νερό. Το περιεχόμενο της ογκομετρικής φιάλης μεταφέρθηκε σε κωνική φιάλη των 100 mL και προστέθηκαν 5 mL διχλωρομεθάνιο. Στη φιάλη προστέθηκε μαγνητάκι και έκλεισε με γυάλινο πώμα. Ύστερα, τοποθετήθηκε σε μαγνητικό αναδευτήρα και ακολούθησε ισχυρή ανάδευση για 10 λεπτά. Στο τέλος του χρόνου, το περιεχόμενο της κωνικής φιάλης μεταφέρεται στην διαχωριστική χοάνη.

Μετά από αναμονή 10 λεπτών, ώστε να γίνει ο διαχωρισμός των δύο φάσεων, παραλαμβάνεται η οργανική φάση (κάτω στιβάδα) με πιπέτα Pasteur και μεταφέρεται στον γυάλινο σωλήνα φυγοκέντρου ο οποίος και καλύπτεται. Η υδατική φάση επιστρέφει στην κωνική φιάλη και η διαδικασία της εκχύλισης επαναλαμβάνεται με προσθήκη 5 mL διχλωρομεθανίου, ανάδευση και παραλαβή της οργανικής φάσης στον ίδιο σωλήνα φυγοκέντρου όπου έχει γίνει και η προηγούμενη παραλαβή.

Στη συνέχεια, ο σωλήνας που περιέχει το σύνολο της οργανικής φάσης φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά στα 4000 rpm. Μετά τον διαχωρισμό, γίνεται παραλαβή προσεκτικά με χρήση πιπέτας Pasteur η οργανική φάση και τοποθετείται σε γυάλινο φιαλίδιο των 20 mL.

Τέλος, γίνεται προσθήκη άνυδρου θεικού νατρίου (περίπου μισό κουταλάκι) με σκοπό να πραγματοποιηθεί αφύγρανση του δείγματος και ακολουθεί προσεκτική μετάγγιση σε νέο φιαλίδιο για αφαίρεση του άλατος. Κατόπιν γίνεται συμπύκνωση του εκχυλίσματος με άζωτο υπό ροή μέχρι τα 500 μ L. Η συντήρηση του δείγματος γίνεται στους -20° C και κατά προτίμηση στο στάδιο πριν την συμπύκνωση.

2.6.2 Αέρια χρωματογραφία-Φασματογραφία μάζας

Η ανάλυση των συγκεκριμένων δειγμάτων έγινε με αέριο χρωματογράφο Clarus 5090, Perkin Elmers GC, εξοπλισμένο με έναν ανιχνευτή MS Clarus 5Q8S και τριχοειδή στήλη GC Agilent J&W (DB 5MS UI) (μήκους 50 m, πλάτους 0,25 mm και πάχους 0,25 μ m). Το πρόγραμμα

περιλαμβάνει αρχικά την παραμονή των δειγμάτων στους 40° C για 2 λεπτά και έπειτα την σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας με βήμα 5°C κάθε λεπτό μέχρι να φτάσει τους 240° C, όπου εκεί και παραμένει για ακόμα 20 λεπτά. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή ήταν στους 240 °C και της έγχυσης στους 250 °C. Η πίεση της κεφαλής της στήλης ήταν 47 psi και ο ρυθμός ροής ηλίου ορίστηκε σε 1,96 mL/min.

Τα vials μεταφέρονται στο GC/MS και μόλις ολοκληρωθεί η ανάλυσή τους, εμφανίζεται στην οθόνη του υπολογιστή το αντίστοιχο χρωματογράφημα με τις κορυφές των πτητικών ενώσεων για κάθε εξεταζόμενο οίνο. Στη συνέχεια, εντοπίζονται και ολοκληρώνονται οι κορυφές που αντιστοιχούν στις ενώσεις για τις οποίες υπάρχουν πρότυπες καμπύλες και για τα εσωτερικά πρότυπα. Μεταφέρονται τα δεδομένα (peak area) σε αρχείο excel και υπολογίζονται οι λόγοι των ενώσεων με το αντίστοιχο εσωτερικό πρότυπο (τα πτητικά λιπαρά οξέα με το heptanoic acid, οι εστέρες με ethylheptanoate και οι ανώτερες αλκοόλες με 3-octanol). Για κάθε δείγμα γίνονται από τέσσερις επαναλήψεις και μετά υπολογίζεται ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση τους. Στη συγκεκριμένη μελέτη έγινε ημιποσοτική ανάλυση, δηλαδή, παρουσιάζονται οι λόγοι του εμβαδού της κορυφής κάθε πτητικής ένωσης ως προς το εμβαδό του εσωτερικού προτύπου.

2.7 Οργανοληπτικός έλεγχος

Η οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων έγινε από ομάδα 11 εκπαιδευμένων δοκιμαστών του εργαστηρίου Οινολογίας και Αλκοολούχων Ποτών και 13 οινολόγων/οινοποιών της Σαντορίνης. Οι οίνοι σερβιρίστηκαν σε τυποποιημένα ποτήρια γευσιγνωσίας οίνου INAO, σε θερμοκρασία 11°C, υπό λευκό φως και καλυμμένα με πλαστικό επίθεμα για την ελαχιστοποίηση της διαφυγής πτητικών συστατικών. Οι δοκιμαστές κάθονταν σε ξεχωριστές θέσεις χωρίς οπτική επαφή ο ένας από τον άλλο. Κάθε θέση έφερε πτυελοδοχείο για την απόρριψη των δειγμάτων μετά την γευσιγνωσία. Ο χώρος είχε θερμοκρασία περίπου 20-22°C, καλό εξαερισμό και ήταν απαλλαγμένος από παρεμβολές όσον αφορά το θόρυβο, την οπτική διέγερση και την οσμή του περιβάλλοντος. Τα δείγματα δόθηκαν στους δοκιμαστές επισημασμένα με τυχαιοποιημένους τριψήφιους αριθμούς για την αναγνώριση. Έγινε οπτική, οσφρητική και γευστική αξιολόγηση στα κριτήρια που φαίνονται στο παρακάτω φύλλο γευσιγνωσίας με βάση κλίμακα 5 σημείων. Ανάμεσα στα δείγματα οι γευσιγνώστες ξέπλεναν το στόμα τους με νερό και κρατούσαν διαλείμματα τουλάχιστον 2 λεπτών. Τα κριτήρια που επιλέχθηκαν για ποιοτική αξιολόγηση ήταν στην οπτική

αξιολόγηση, το χρώμα. Στην οσφρητική αξιολόγηση, οι οίνοι αξιολογήθηκαν στην ένταση του αρώματος καθώς και στα αρώματα των εσπεριδοειδών, των ανθέων, την βοτανικότητα, την ορυκτότητα, τα τροπικά φρούτα και στην οσμή ζύμης. Επιπλέον, στην γευστική αξιολόγηση, εξετάστηκε η οξύτητα, η τανικότητα, η ισορροπία, το σώμα και η επίγευση των οίνων. Τέλος, οι δοκιμαστές αξιολόγησαν την συνολική εκτίμηση του οίνου. Οι βαθμολογίες για το κάθε κριτήριο συγκεντρώθηκαν κι έγινε στατιστική ανάλυση.

Δοκιμαστής:	Κλίμακα 1-5				
Δείγματα					
Οπτική αξιολόγηση					
Χρώμα (λεμονοκίτρινο-χρυσάφι)					
Οσφρητική αξιολόγηση					
Ένταση αρώματος (άτονο-μέτριο-έντονο)					
Εσπεριδοειδή (λίγα-μέτρια-πολλά)					
Άνθη (λίγα-μέτριο-πολύ)					
Βοτανικό (λίγα-μέτριο-πολύ)					
Ορυκτότητα (λίγο-μέτριο-πολύ)					
Τροπικά φρούτα (λίγα-μέτρια-πολλά)					
Γευστική αξιολόγηση					
Οξύτητα (χαμηλή-μέτρια-υψηλή)					
Τανικότητα (χαμηλή-μέτρια-υψηλή)					
Ισορροπία (χαμηλή-μέτρια-υψηλή)					
Σώμα (ελαφρύ-μέτριο-γεμάτο)					
Επίγευση (μικρή-μέτρια-μακρά)					
Γενική εκτίμηση (αποδεκτό-μέτριο-άριστο)					

Εικόνα 15. Φύλλο αξιολόγησης των οίνων

2.8 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό λογισμικό JMP-11. Οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων (τιμή επιπέδου σημαντικότητας $p < 0,05$ ή όριο εμπιστοσύνης 95%) αξιολογήθηκαν μέσω της εφαρμογής της ανάλυσης διακύμανσης με έναν παράγοντα, OneWay ANOVA, με χρήση του Tukey HSD για την σύγκριση των μέσων και για τον εντοπισμό των συγκεκριμένων ζευγών που εμφανίζουν στατιστικές διαφορές..

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

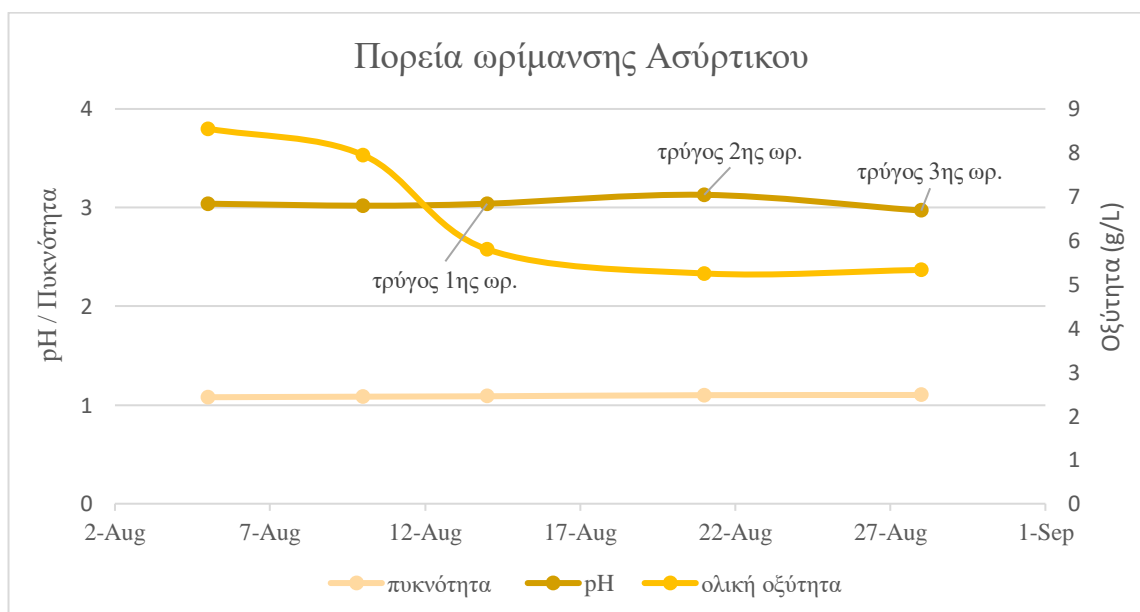
Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα όλων των μετρήσεων που διεξήχθησαν κατά την διάρκεια της μελέτης αυτής.

3.1 Παρακολούθηση ωρίμανσης – Προζυμωτικές μετρήσεις

Οι μετρήσεις του γλεύκους που προέκυψε κατά την διάρκεια των δειγματοληψιών της παρακολούθησης ωρίμανσης φαίνονται στον πίνακα 3 και το γράφημα 1. Η πυκνότητα ακολουθεί αυξητική πορεία από 1,079 μέχρι 1,1016 και αντικατοπτρίζει σε πολύ μεγάλο ποσοστό την συγκέντρωση των σακχάρων. Η ολική οξύτητα μειώνεται από 8.55 σε 5.33 g/L στα σταφύλια κοντά στην τεχνολογική ωριμότητα. Αντίθετα το pH μένει περίπου σταθερό.

Πίνακας 3: Παρακολούθηση της ωριμότητας των στεμφύλων

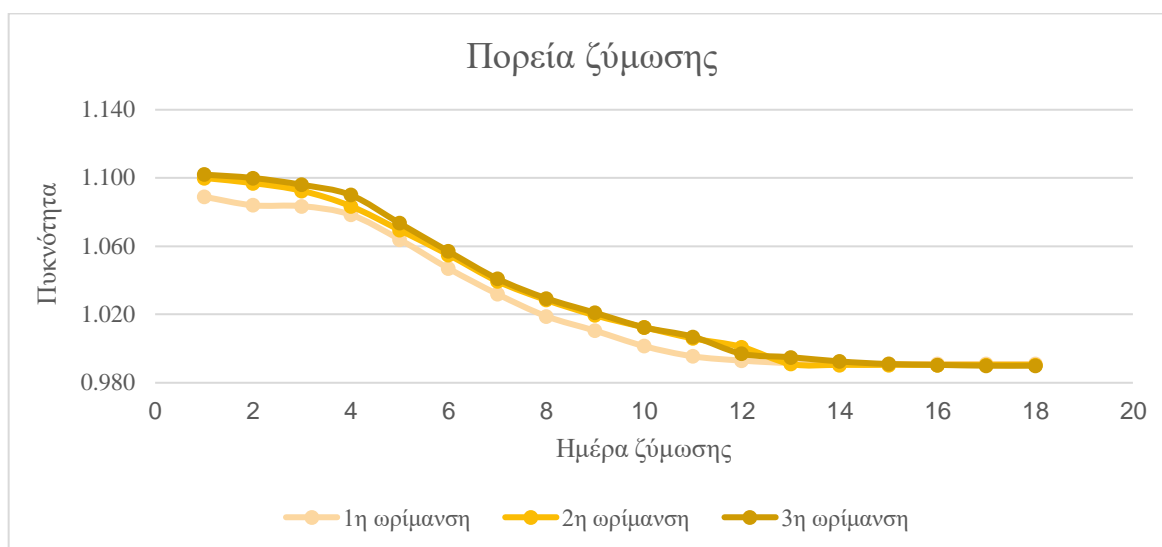
Ημερομηνία	Παρατηρήσεις	πυκνότητα	ολική οξύτητα	pH
5-Αυγ	Δειγματοληψία 300 ραγών	1.079	8,55	3,04
10-Αυγ	Δειγματοληψία 300 ραγών	1.0848	7,95	3,02
14-Αυγ	Τρύγος 1ης ωρίμανσης	1.0888	5,8	3,04
21-Αυγ	Τρύγος 2ης ωρίμανσης	1.0998	5,25	3,13
28-Αυγ	Τρύγος 3ης ωρίμανσης	1.1016	5,33	2,97



Γράφημα 1: Πορεία ωρίμανσης σταφυλών Ασύρτικου. Καταγραφή πυκνότητας, ολικής οξύτητας και pH σε γλεύκος από σταφύλια κατά την διάρκεια των δειγματοληψιών και των τρύγων

3.2 Πορεία αλκοολικής ζύμωσης

Τα γλεύκη που παραλήφθηκαν από τα 3 στάδια ωρίμανσης εμβολιάστηκαν με εμπορικό παρασκεύασμα ζύμης και ακολούθησε συμβατική αλκοολική ζύμωση. Η πορεία της και η εξέλιξή της παρακολούθηθηκε με μέτρηση πυκνότητας και απεικονίζεται στο γράφημα 2. Και οι τρεις ζυμώσεις εξελίχθηκαν ομαλά και ολοκληρώθηκαν σε 18 ημέρες. Το τέλος τους διαπιστώθηκε με την σταθεροποίηση της πυκνότητας σε μια χαμηλή τιμή και αργότερα επιβεβαιώθηκε με προσδιορισμό αναγόντων σακχάρων.



Γράφημα 2: Απεικόνιση της πορείας ζύμωσης των τριών διαφορετικών ωριμάνσεων της ποικιλίας Ασύρτικο

3.3 Βασικές αναλύσεις οίνων

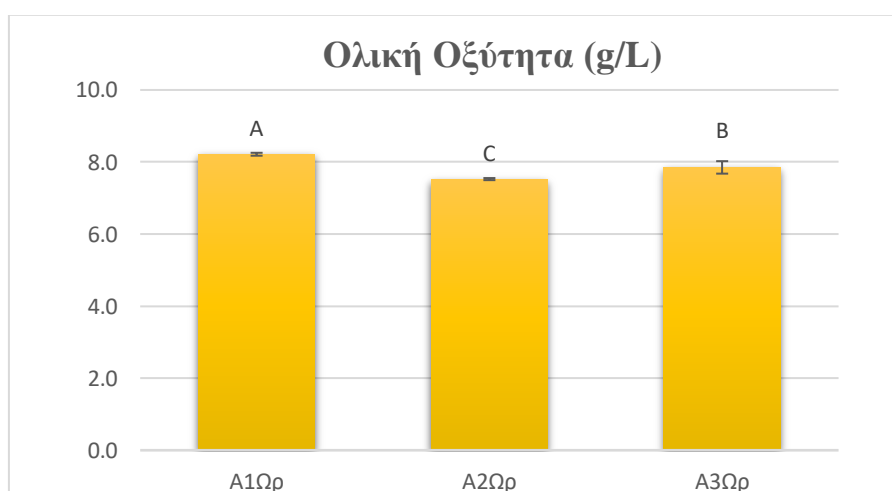
Στους οίνους που παράχθηκαν έγιναν οι βασικές αναλύσεις και προσδιορίστηκαν οι παράμετροι που αφορούν τα κύρια χαρακτηριστικά τους. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν επεξεργάστηκαν μαθηματικά και υπολογίστηκε ο Μέσος όρος και η Τυπική απόκλιση των επαναλήψεων κάθε ανάλυσης. Για την ύπαρξη ή όχι σημαντικών διαφορών ακολούθησε στατιστική επεξεργασία. Οι χαρακτήρες a, b, c που εμφανίζονται προσδιορίζουν την ύπαρξη ή όχι στατιστικά σημαντικών διαφορών σύμφωνα με τη τεστ Tukey HSD σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 5\%$. Ίδιοι χαρακτήρες δεν δείχνουν διαφορά, διαφορετικοί χαρακτήρες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά. Το σύνολο των αποτελεσμάτων των αναλύσεων παρουσιάζεται στον πίνακα 4. Οι ίδιες τιμές φαίνονται και στα γραφήματα που ακολουθούν όπου φαίνονται οι συσχετίσεις για κάθε μεταβλητή ξεχωριστά.

Πίνακας 4: Βασικές Αναλύσεις Οίνων που παράχθηκαν από σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο σε τρεις διαφορετικές ωριμάνσεις.

Ωρίμανση	Αλκοολικός τίτλος (% vol)	Ολική οξύτητα (g τρυγικού οξέος/L οίνου)	pH	Υπολειπόμενα σάκχαρα (g σακχάρων /L οίνου)	Πτητική οξύτητα (g οξικού οξέος/L οίνου)
1η	12,85 ±0,06c	8,215±0,04a	2,96±0c	1,14±0,02c	0,365±0,01b
2η	14,6±0b	7,525±0,03c	3,015±0,01a	2,305±0,26b	0,51±0,01a
3η	14,8±0a	7,85±0,17b	2,99±0,01b	3,1± 0a	0,51±0,01a

3.3.1 Ολική οξύτητα

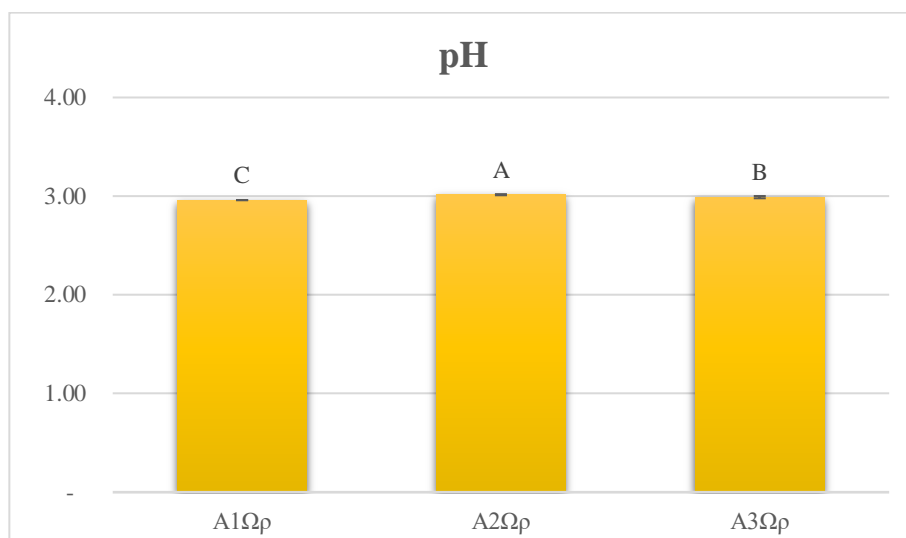
Η ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα είναι το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων είτε βρίσκονται σε διάσταση είτε όχι. Η ολική οξύτητα μετράει τα οξέα του οίνου ανεξαρτήτως ισχύος, εκφράζεται σε τρυγικό γιατί είναι το κυρίαρχο οξύ του σταφυλιού αλλά και του οίνου, αυξάνεται στη διάρκεια της ωρίμανσης και μειώνεται προς το τέλος. Στο γράφημα 3 παρουσιάζεται η ολική οξύτητα των τριών ωριμάνσεων της ποικιλίας Ασύρτικο εκφρασμένη σε g/L τρυγικού οξέος. Παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών της ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας των τριών οίνων με την 1η ωρίμανση να παρουσιάζει την μεγαλύτερη τιμή, 8,21 g/L τρυγικού οξέος, και την μικρότερη στα 7,53 g/L τρυγικού οξέος στη 2η ωρίμανση. Η 1η ωρίμανση σαν πρωιμότερη είναι λογικό να έχει και την μεγαλύτερη τιμή και καθώς προχωράμε προς τη 2^η να μειώνεται. Όμως αξίζει να αναφερθεί ότι στη 3^η ωρίμανση η ολική οξύτητα αυξάνεται.



Γράφημα 3: Απεικόνιση της ολικής οξύτητας (g/L τρυγικού οξέος) των 3 οίνων που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων. Φαίνεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικές διαφοροποίησης. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tukey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

3.3.2 Ενεργή οξύτητα (pH)

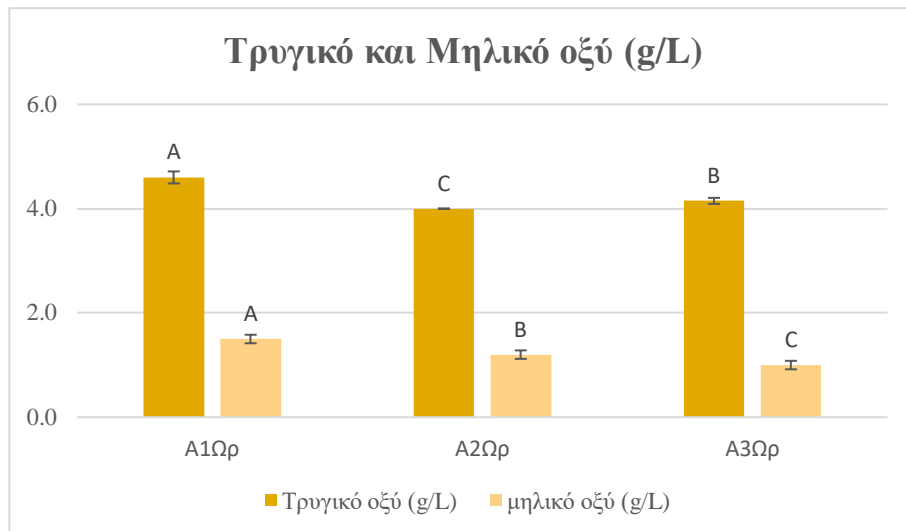
Το σύνολο των καρβοξυλομάδων που βρίσκεται σε διάσταση και που αντιστοιχεί στο σύνολο των H^+ , δηλώνει το μέγεθος της όξινης γεύσης του οίνου. Η ενεργή οξύτητα εξαρτάται από το είδος και από τη συγκέντρωση των οξέων καθώς κάθε ένα έχει διαφορετική ικανότητα διάστασης. Στο γράφημα 4 παρουσιάζεται το pH των 3 οίνων που παράχθηκαν από την ποικιλία Ασύρτικο κατά την διάρκεια του πειράματος. Να σημειωθεί ότι παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών ωριμάνσεων στις τιμές των τριών οίνων με μεγαλύτερη τιμή αυτή της 2ης ωρίμανσης (3,02). Βέβαια, όπως γίνεται αντιληπτό και από το γράφημα 4 οι διαφορές στις τιμές του pH είναι σχεδόν αμελητέα.



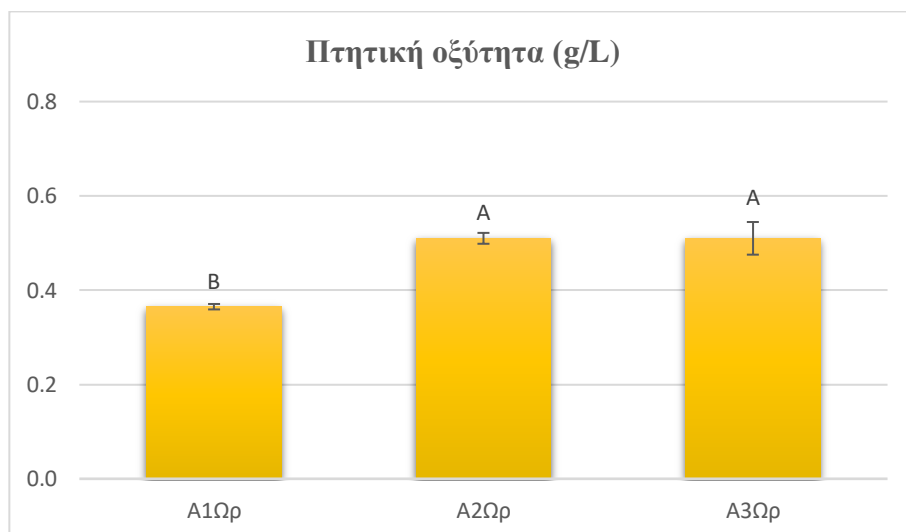
Γράφημα 4: Απεικόνιση της ενεργούς οξύτητας (pH) των 3 οίνων που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων. Φαίνεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικές διαφοροποιήσεις. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tuckey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

3.3.3 Συγκέντρωση τρυγικού/μηλικού οξέος

Στη προσπάθεια να διερευνηθεί η συμμετοχή και η επίδραση των κύριων οξέων του σταφυλιού, αλλά και του οίνου, στην οξύτητα προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του τρυγικού και του μηλικού οξέος και τα αποτελέσματα φαίνονται στο γράφημα 5. Τόσο το τρυγικό όσο και το μηλικό στο συγκεκριμένο πείραμα έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά στις 3 ωριμάνσεις. Παρατηρείται ότι καθώς ωριμάζει το σταφύλι το μηλικό μειώνεται ενώ το τρυγικό ενώ μειώνεται από τη 1^η στη 2^η ωρίμανση μετά στη 3^η παρουσιάζει μία μικρή αύξηση.



Γράφημα 5: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων τρυγικού και μηλικού οξέος (g/L) των 3 οίνων που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων. Φαίνεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικές διαφοροποίησης. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tukey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.



Γράφημα 6: Απεικόνιση της πτητικής οξύτητας (g/L οξικού οξέος) των 3 οίνων που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων. Φαίνεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικές διαφοροποίησης. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tukey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

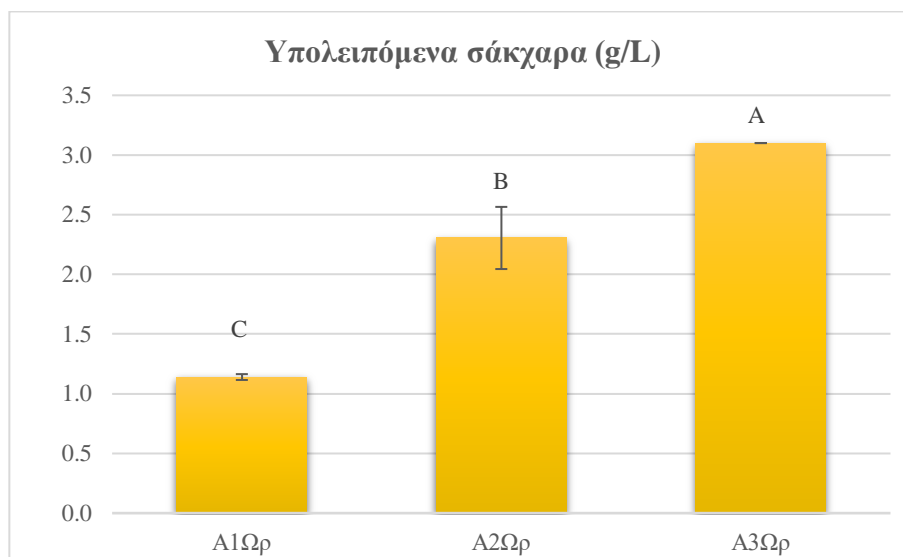
3.3.4 Πτητική οξύτητα

Σύμφωνα με τον OIV το επικρατέστερο οξύ από τα οξέα της σειράς του οξικού οξέος που υπάρχουν στους οίνους είτε σε ελεύθερη μορφή είτε με τη μορφή αλάτων, είναι το οξικό οξύ. Γι' αυτό το λόγο και η πτητική οξύτητα εκφράζεται σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο (goξικού οξέος/ L). Στο γράφημα 6 απεικονίζεται η πτητική οξύτητα των 3 τελικών οίνων της

ποικιλίας Ασύρτικο. Κατ' αρχήν, οι τιμές σε όλους τους οίνους είναι σε φυσιολογικά επίπεδα (0,37-0,51 g/L), ένδειξη υγιούς αλκοολικής ζύμωσης. Στα αποτελέσματα μεταξύ των οίνων παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στην τιμή της πτητικής οξύτητας της 1ης ωρίμανσης σε σχέση με την 2η και την 3η όπου δίνουν μεγαλύτερη τιμή (0,51 g/L οξικού οξέος) από την 1η (0,37 g/L οξικού οξέος).

3.3.5 Ανάγοντα σάκχαρα

Το σύνολο των σακχάρων που διαθέτουν ελεύθερη κετονική ή αλδεϋδική ομάδα έχουν την ιδιότητα σε αλκαλικό περιβάλλον να ανάγουν τον δισθενή χαλκό σε μονοθενή και έτσι μπορεί να γίνει εφικτός ο προσδιορισμός τους με χημικές μεθόδους (ανάγοντα σάκχαρα). Μιας και η γλυκόζη και η φρουκτόζη διαθέτουν τέτοιου είδους ομάδες, αν προσδιοριστούν τα ανάγοντα σάκχαρα μπορεί κανείς να έχει εικόνα για το σύνολο των υπολειπόμενων ή αλλιώς ζυμώσιμων σακχάρων. Στο γράφημα 7 απεικονίζεται η τελική συγκέντρωση των αναγόντων σακχάρων στους 3 οίνους από τις διαφορετικές ωριμάνσεις της ποικιλίας Ασύρτικο. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών των τριών δειγμάτων στα ανάγοντα σάκχαρα, με την 1η ωρίμανση να έχει την χαμηλότερη τιμή (1,14 g/L) και την 3η την υψηλότερη τιμή (3,1 g/L).

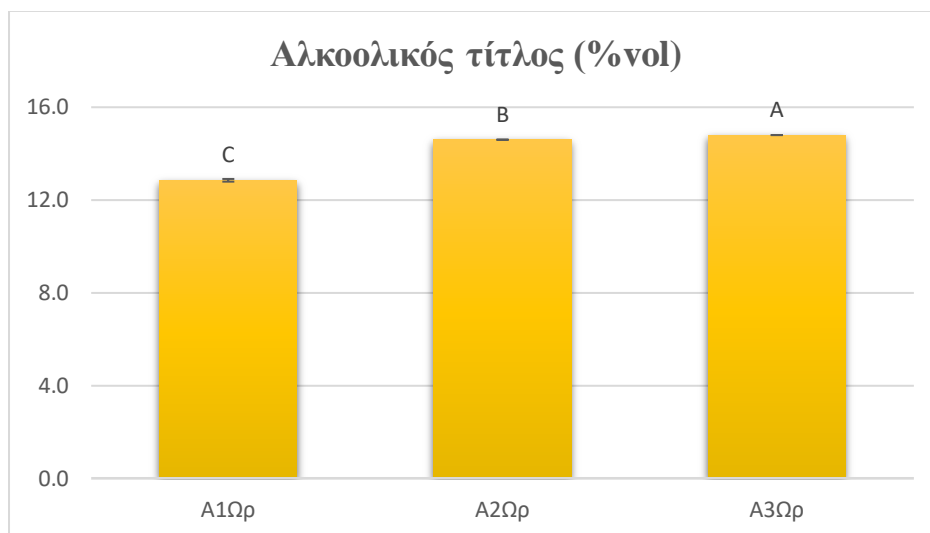


Γράφημα 7: Απεικόνιση της συγκέντρωσης υπολειπόμενων σακχάρων (g/L) των 3 οίνων που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων. Φαίνεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικής διαφοροποίησης. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tukey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

3.3.6 Αλκοολικός τίτλος

Κατά την αλκοολική ζύμωση των σακχάρων του γλεύκους παράγεται η αιθυλική αλκοόλη που βρίσκεται στους οίνους. Αυτή η αλκοόλη κατέχει το 9-15 % του όγκου και είναι το

σημαντικότερο συστατικό του οίνου μετά το νερό. Στο γράφημα 8 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του προσδιορισμού του αλκοολικού τίτλου. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις τιμές των τριών οίνων. Η χαμηλότερη τιμή παρουσιάζεται στην πρωιμότερη ωρίμανση στους 12,9 % vol, την μεσαία ωρίμανση στους 14,6 % vol και την οψιμότερη ωρίμανση στους 14,8 % vol. Στην παρακάτω περίπτωση τα αποτελέσματα δείχνουν να συμφωνούν με την πορεία ωρίμανσης και την συνακόλουθη αύξηση των σακχάρων, δηλαδή όσο η ωρίμανση προχωράει, οι αλκοολικοί βαθμοί να αυξάνονται.

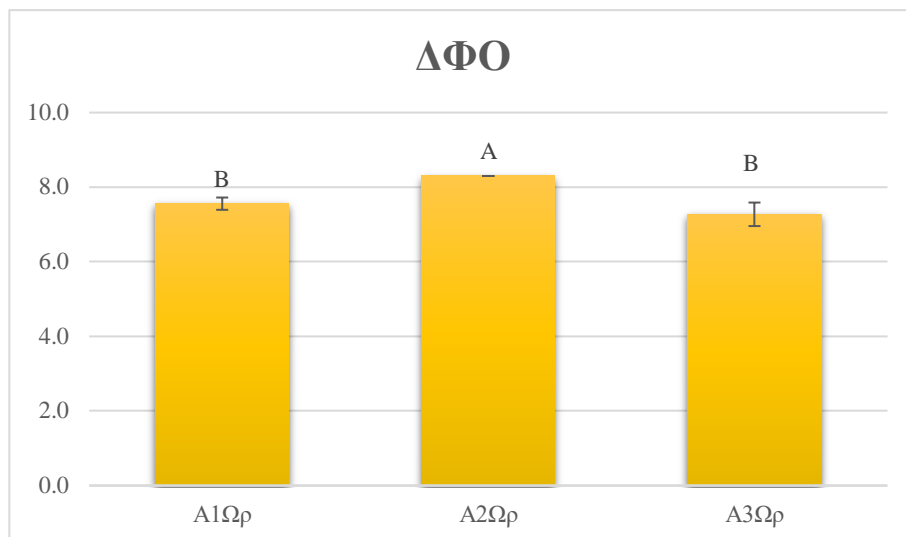


Γράφημα 8: Απεικόνιση του αλκοολικού τίτλου (%vol) των 3 οίνων που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων. Φαίνεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικές διαφοροποιήσεις. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tukey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

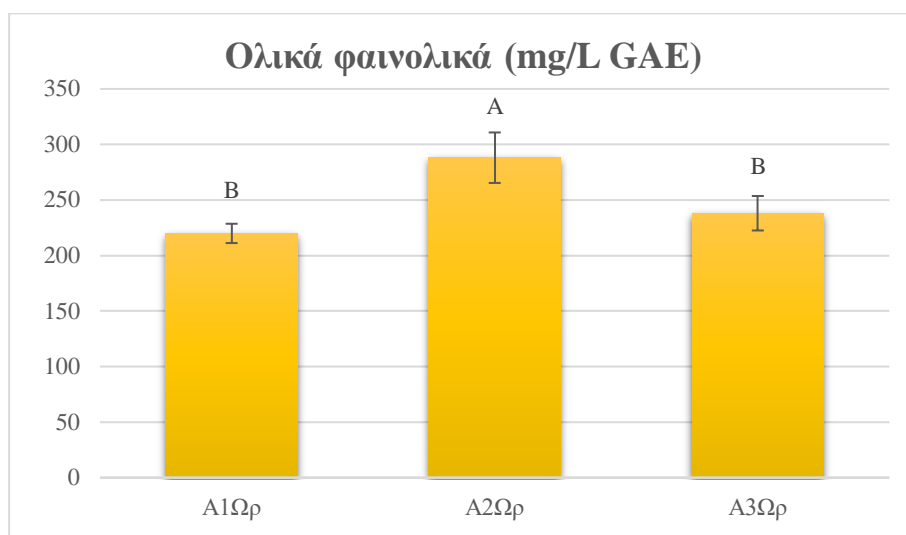
3.4 Φαινολικά συστατικά

3.4.1 Δείκτης φαινολικών ουσιών

Ο δείκτης αυτός, καθαρός αριθμός προερχόμενος από φωτομέτρηση στα 280 nm, δίνει μια εικόνα του φαινολικού φορτίου των οίνων. Στο γράφημα 9 παρουσιάζονται τα φαινολικά συστατικά των οίνων από τα τρία στάδια ωρίμανσης των σταφυλιών ως ΔΦΟ. Φαίνεται ότι ο οίνος από το 2^ο στάδιο ωρίμανσης έχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την 1^η και την 3^η. Συγκεκριμένα, την μεγαλύτερη τιμή παρουσιάζει η 2η ωρίμανση με 8,3 ενώ την μικρότερη η 3η ωρίμανση με 7,3. Και εδώ αυξάνεται η τιμή καθώς η ωρίμανση προχωρά από την 1η προς την 2η αλλά μετά ακολουθεί μια φθίνουσα πορεία. Βέβαια, πριν τον τρύγο της 3^{ης} ωρίμανσης προηγήθηκε βροχή και πιθανόν να επηρέασε την παρουσία των φαινολικών συστατικών.



Γράφημα 9: Απεικόνιση του ΔΦΟ των 3 οίνων που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων. Φαίνεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικής διαφοροποίησης. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tuckey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.



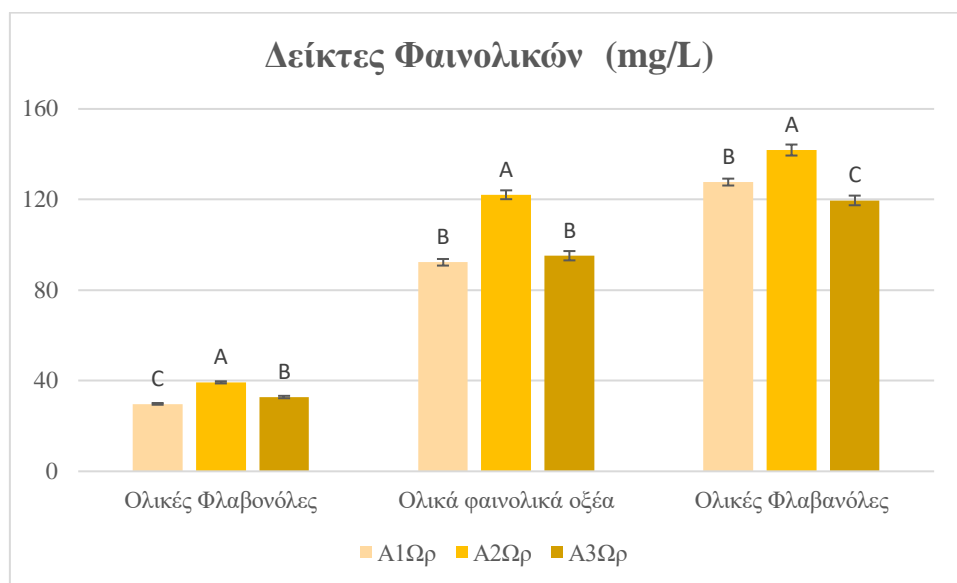
Γράφημα 10: Απεικόνιση των ολικών φαινολικών συστατικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu στους 3 οίνους που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων, εμφανίζεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικής διαφοροποίησης. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tuckey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

3.4.2 Ολικά φαινολικά (Folin)

Κατ' αντιστοιχία με τον ΔΦΟ, στα ολικά φαινολικά με την μέθοδο Folin (γράφημα 10) παρατηρείται η ίδια τάση, δηλαδή στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών της 2^{ης} ωρίμανσης σε σχέση με την 1^η και την 3^η. Μεγαλύτερη τιμή παρουσιάζει η 2η ωρίμανση με 288 και μικρότερη τιμή η 1^η ωρίμανση με 220 mg/L GAE.

3.4.3 Δείκτες φαινολικών συστατικών

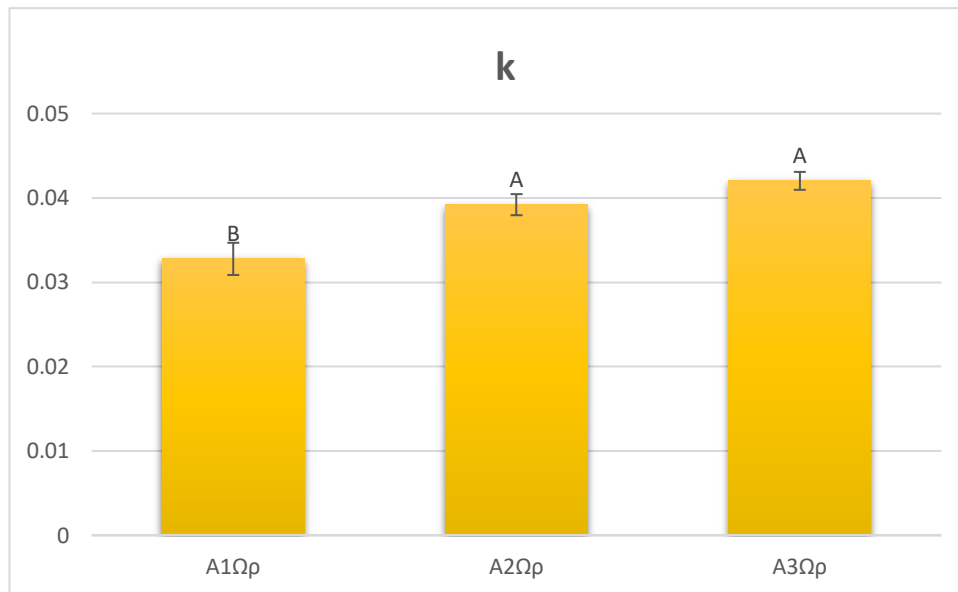
Στην προσπάθεια να προσδιοριστούν οι 3 μεγάλες ομάδες φαινολικών συστατικών (φλαβονόλες, φαινολικά οξέα και φλαβανόλες) χρησιμοποιήθηκε η απορρόφηση χαρακτηριστικών ομάδων τους σε συγκεκριμένα μήκη κύματος. Μετά και την βαθμονόμηση της μεθόδου με πρότυπα διαλύματα κερκετίνης, p-κουμαρικού οξέος και γαλλικού οξέος αντίστοιχα, στο γράφημα 11 φαίνονται τα αποτελέσματα των οίνων. Στα ολικά φαινολικά οξέα υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά της 2^{ης} με την 1^η και 3^η ωρίμανση, ενώ στις ολικές φλαβονόλες και φλαβανόλες όλες οι ωριμάνσεις διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.



Γράφημα 11: Απεικόνιση των δεικτών των φαινολικών συστατικών στους 3 οίνους που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων, εμφανίζεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτήρες στατιστικής διαφοροποίησης. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tuckey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

3.4.4 Έλεγχος οξειδωτικής σταθερότητας

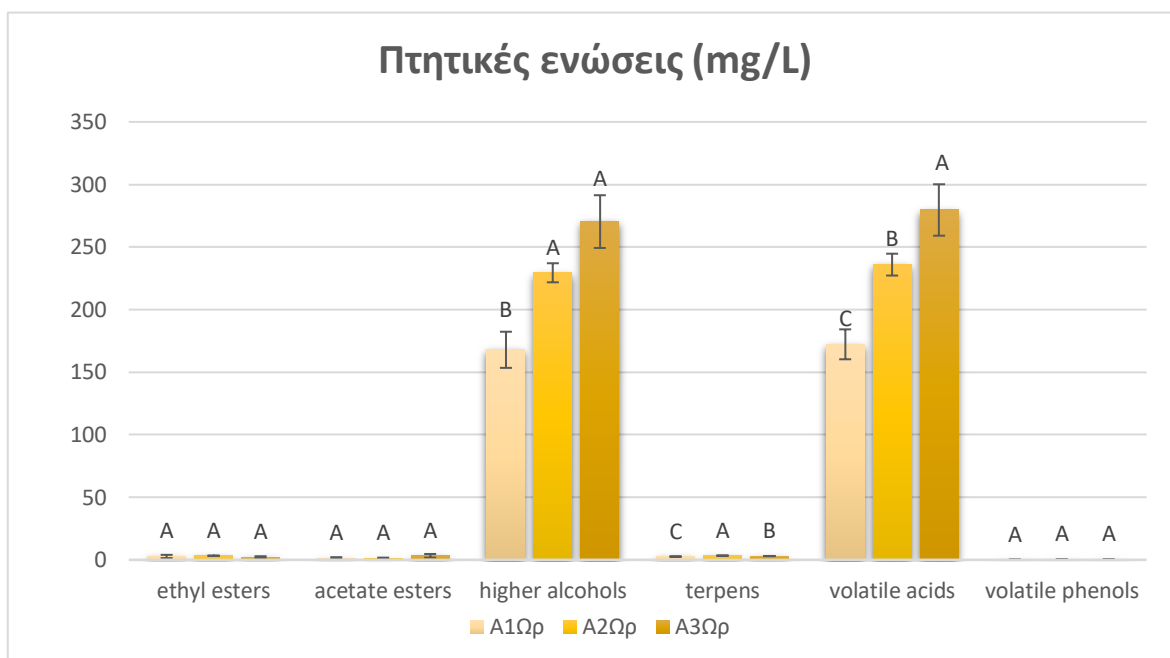
Τα αποτελέσματα της μελέτης οξειδωτικής σταθερότητας των οίνων με την μέθοδο της επιταχυνόμενης οξείδωσης φαίνονται στο παρακάτω γράφημα 13 όπου απεικονίζεται η ταχύτητα μεταβολής χρώματος των 3 οίνων ως συντελεστής k. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στην 1^η ωρίμανση σε σχέση με την 2^η και 3^η. Παρά το γεγονός ότι η 2^η με την 3^η ωρίμανση δεν έχουν στατιστική διαφορά σύμφωνα με το παρακάτω γράφημα η τελευταία ωρίμανση παρουσιάζει μία τάση αύξησης.



Γράφημα 13: Απεικόνιση του ρυθμού μεταβολής χρώματος k στους 3 οίνους που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων, εμφανίζεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικής διαφοροποίησης. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tukey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

3.5 Πτητικά συστατικά των οίνων

Οι οίνοι εκχυλίστηκαν με οργανικό διαλύτη σύμφωνα με το πρωτόκολλο που αναφέρεται στο Μέθοδοι-Υλικά και αναλύθηκαν με Αέρια χρωματογραφία. Η ανίχνευση των κορυφών έγινε με φασματογράφο μάζας. Η βαθμονόμηση της μεθόδου έγινε με πρότυπα διαλύματα των επιμέρους συστατικών και με την βοήθεια της μαθηματικής επεξεργασίας τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο γράφημα 14 αφού συγκεντρώθηκαν σε έξι χημικές ομάδες. Κατόπιν στατιστικής επεξεργασίας φαίνεται ότι δεν σημειώνονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των αιθυλεστέρων, των οξικών εστέρων καθώς και στις πτητικές φαινόλες. Στις ανώτερες αλκοόλες δεν διακρίνεται στατιστικά σημαντική διαφορά στην 2^η και 3^η ωρίμανση. Τα τερπένια δείχνουν να έχουν και οι 3 ωριμάνσεις στατιστικά σημαντικές διαφορές, με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να έχει η 2^η ωρίμανση, το ίδιο και τα πτητικά οξέα όπου την μεγαλύτερη συγκέντρωση έχει η 3^η ωρίμανση.



Γράφημα 14: Απεικόνιση της συγκέντρωσης των πτητικών συστατικών χημικών ομάδων στους 3 οίνους που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης. Οι μπάρες αποτελούν ΜΟ δύο επαναλήψεων, εμφανίζεται η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικές διαφοροποίησης. Τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Tukey's HSD test, για επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

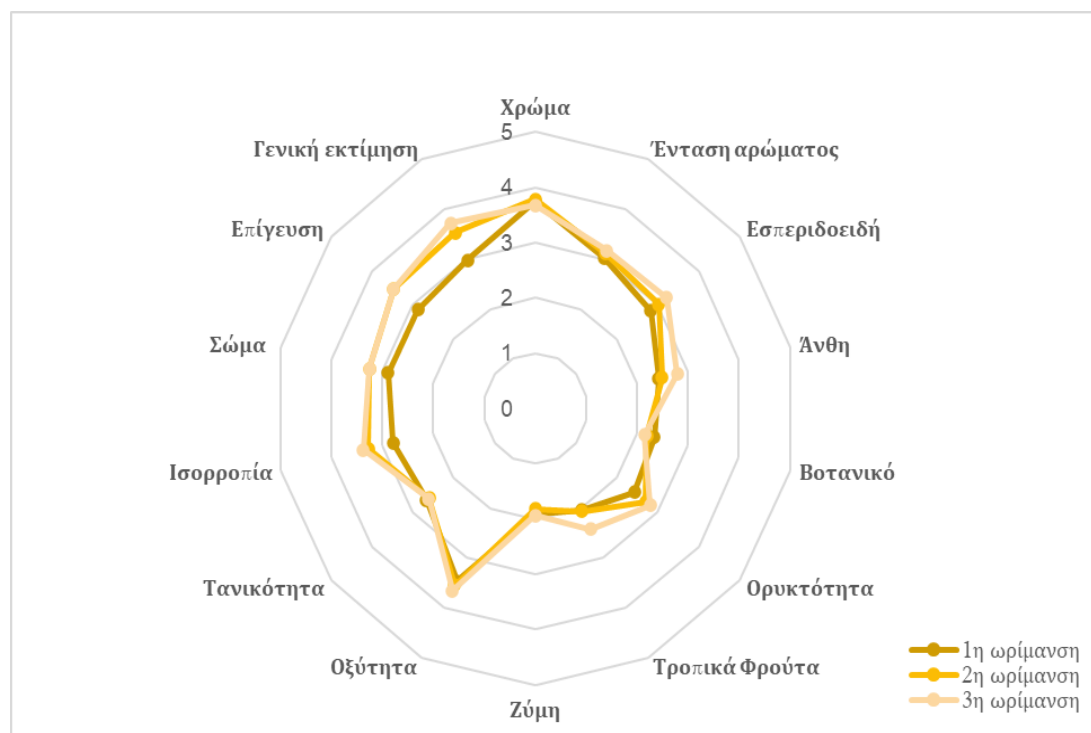
Πίνακας 5: Ομαδοποίηση πτητικών ενώσεων

Αιθυλεστέρες	Οξικοί εστέρες	Ανώτερες αλκοόλες
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	Ισομυλικός εστέρας	Βουτανόλη
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	Οξικός διμεθυλοβουτυλεστέρας	Ισοαμυλική αλκοόλη
Δεκανοϊκός αιθυλεστέρας	2-φαινυλ-αιθυλεστέρας	1- εξανόλη
Βουτυρικός αιθυλεστέρας		Φαινυλαιθανόλη
2 μέθυλο-βουτυρικός αιθυλεστέρας		
3 μέθυλο-βουτυρικός αιθυλεστέρας		
Τερπένια	Πτητικά οξέα	Πτητικές φαινόλες
Λιναλόλη	Ισοβαλερικό οξύ	3-μέθυλο-θειο-προπανόλης
Νερόλη	Εξανοϊκό οξύ	
	Ισοβουτυρικό οξύ	
	Βουτυρικό οξύ	

3.6 Οργανοληπτική αξιολόγηση

Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής αξιολόγησης για τις 3 διαφορετικές ωριμάνσεις της ποικιλίας Ασύρτικο παρουσιάζονται στο γράφημα 15. Στο διάγραμμα απεικονίζονται οι μεταξύ τους διαφορές σε επίπεδο οπτικής, οσφρητικής και γευστικής αξιολόγησης, όπως αξιολογήθηκαν και βαθμολογήθηκαν από το πάνελ των εκπαιδευμένων δοκιμαστών του εργαστηρίου Οινολογίας καθώς και από οιολόγους/οινοποιούς της Σαντορίνης. Ο αριθμός των γευσιγνωστών ήταν στο σύνολο 24. Ο οίνος της 2ης ωρίμανσης χαρακτηρίζεται από ελάχιστα πιο μεγάλη ένταση χρώματος και ακολουθεί η 1η και 3η ωρίμανση. Επιπρόσθετα, την μεγαλύτερη ένταση αρώματος φαίνεται να έχει η 3η ωρίμανση με τα εσπεριδοειδή, τα άνθη, την ορυκτότητα και τα τροπικά φρούτα να κυριαρχούν. Από την άλλη μεριά μεγαλύτερη βοτανικότητα παρουσιάζει η 1η ωρίμανση. Ακόμη, ο οίνος της 3ης ωρίμανσης βαθμολογήθηκε να έχει την μεγαλύτερη οξύτητα και την καλύτερη ισορροπία.

Το σώμα και η επίγευση βαθμολογήθηκαν με τον ίδιο ακριβώς βαθμό για την 2η και 3η ωρίμανση. Να αναφερθεί ότι η τανικότητα είχε την μεγαλύτερη τιμή στον οίνο της 1ης ωρίμανσης. Τέλος, στη γενική εκτίμηση την μεγαλύτερη βαθμολογία συγκέντρωσε ο οίνος της 3ης ωρίμανσης.



Γράφημα 15: Οργανοληπτική αξιολόγηση στους 3 οίνους που παράχθηκαν από σταφύλια σε τρία στάδια ωρίμανσης.

Κεφάλαιο 4 Αποτελέσματα - Συμπεράσματα

Στα σταφύλια των διαφορετικών ποικιλιών της αμπέλου καθώς και στα παραγόμενα κρασιά τους, βασικό ρόλο στην φαινολική ωρίμανση των σταφυλιών και στην αρωματική σύνθεση των κρασιών, παίζει η ωριμότητα των σταφυλιών (Bindo 2014, Casassa, 2013). Συνεπώς, ο οινοποιός συνήθως καθορίζει πότε θα γινεί η συγκομιδή με βάση έναν πολύπλοκο συνδυασμό παραγόντων που περιλαμβάνει την πρόγνωση καιρού, την παρουσία παθογόνων στο αμπελοτεμάχιο καθώς και τις αναλύσεις στο γλεύκος των σταφυλιών (όπως του Brix, του pH και της τιτλοδοτούμενης οξύτητας) αλλά και της φαινολικής σύστασης (συμπεριλαμβανομένων ανθοκυανινών και τανινών) (Ayestaran 2004, Parenti 2004, Timberlake 1976, Morel-Salmi 2006, Sacchi 2005, Kovac 1992, Llaudy 2008, Ribereau-Gayon 2006). Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει ένα συνεχές ενδιαφέρον με σκοπό να προσδιοριστεί η χημική προέλευση των αρωμάτων των σταφυλιών.

Τα αποτελέσματα αυτά θα μπορούσαν να βοηθήσουν τους αμπελοκαλλιεργητές και τους οινοπαραγωγούς να καθορίσουν μία πιο στοχευμένη ημερομηνία συγκομιδής, με βάση τα επιθυμητά αρώματα των σταφυλιών. Επιπλέον, θα βοηθούσε σημαντικά στην αξιολόγηση του τρόπου με τον οποίο διάφορες πρακτικές οινοποίησης επηρεάζουν το άρωμα του οίνου, έναν σημαντικό παράγοντα της ποιότητας του κρασιού, και θα μπορούσαν να βελτιώσουν την επιλογή ποικιλιών που εμφανίζουν ορισμένα αρωματικά χαρακτηριστικά.

Το Ασύρτικο είναι μία λευκή ποικιλία, γνωστή παγκοσμίως και μία από τις σπουδαιότερες ποικιλίες που απαντώνται στη λεκάνη της Μεσογείου. Προέρχεται από τη Σαντορίνη, αλλά εξαπλώθηκε σε όλη την Ελλάδα και έγινε, από άποψη ποιότητας, μία από τις πιο σημαντικές γηγενείς ποικιλίες. Η μελέτη που πραγματοποιήθηκε, είχε ως σκοπό να μελετηθούν τα φυσικοχημικά και αρωματικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας σε ένα αμπελοτεμάχιο στη περιοχή της Οίας μέσα από 3 διαφορετικές ωριμότητες.

Αρχικά, για την επίτευξη του συγκεκριμένου πειράματος έγιναν τρεις διαφορετικοί τρύγοι σε διάστημα που απείχε 1 εβδομάδα. Επιπλέον, οι τρεις συγκομιδές σταφυλιών έγιναν από ένα συγκεκριμένο αμπελοτεμάχιο στην περιοχή Μπαξές Οίας στο βορειοδυτικό κομμάτι του νησιού. Τα σταφύλια συλλέχθηκαν διαδοχικά με στόχο να απέχουν χρονικό διάστημα μίας εβδομάδας ώστε να αντιληφθούμε πως μεταβάλλονται τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Να σημειωθεί ότι μεταξύ της δεύτερης και τρίτης ωρίμανσης σημειώθηκε βροχόπτωση. Η βροχή κατά τη περίοδο του τρύγου είναι ένα σπάνιο φαινόμενο για τη Σαντορίνη. Βροχή κατά τη διάρκεια του τρύγου δεν είχε σημειωθεί τα τελευταία 20 χρόνια.

Τα σταφύλια πατηθήκαν σε κάθετη χειροκίνητη στροφιλιά. Στη συνέχεια, ακολουθήθηκε κλασική λευκή οινοποίηση, μετά το πέρας της ζύμωσης και αφού οι οίνοι έμειναν σε ηρεμία σφραγισμένοι για διάστημα 6 εβδομάδων εμφιαλώθηκαν. Στη συνέχεια, μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Οινολογίας και Αλκοολούχων ποτών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου εκεί έγιναν όλες οι κλασικές αναλύσεις σύμφωνα με μεθόδους του ΟΙΥ.

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν ότι και οι τρεις διαφορετικοί οίνοι δεν είχαν κάποιο ελάττωμα ως προς την πτητική οξύτητα καθώς η τιμή τους ήταν σε φυσιολογικά επίπεδα. Αναλυτικότερα, για την πτητική οξύτητα στη 1^η ωρίμανση ήταν 0,36 g οξικού οξέος/ l και στις άλλες δύο ήταν στα 0,5 g/l. Επιπλέον, και οι τρεις οίνοι ανήκουν στην κατηγορία των ξηρών οίνων αφού κανένας οίνος δεν περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα από 4 g/L σάκχαρα.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, καθώς προχωράμε προς την ωρίμανση η ολική οξύτητα μειώνεται το ίδιο παρατηρείται και σε άλλη παλαιότερη έρευνα για το Ασύρτικο (Alatsas, 2021). Στη συγκεκριμένη μελέτη, η ολική οξύτητα όντως μειώθηκε από την 1^η στη 2^η ωρίμανση όμως στην 3^η αυξήθηκε. Αυτό ίσως οφείλεται στη βροχή που συνέβη από την 2^η στη 3^η ωριμότητα. Σύμφωνα με (Alatsas 2021, Esteban, 1999) το αρδευόμενο Ασύρτικο είχε μεγαλύτερη οξύτητα από το μη αρδευόμενο. Στην ενεργό οξύτητα (pH) φάνηκε να μην υπάρχουν μεγάλες διαφορές μεταξύ των 3 σταδίων.

Στην περίπτωση των αλκοολικών βαθμών παρατηρήθηκε πως οι τιμές ήταν ανάλογες των ωριμάνσεων. Δηλαδή, την μικρότερη τιμή είχε η 1^η ωρίμανση και την μεγαλύτερη η 3^η ωρίμανση, φαινόμενο το οποίο είναι και αυτό φυσιολογικό αφού πρόκειται για τρεις διαφορετικούς τρύγους οι οποίοι εξελίσσονται σε διαφορετικό χρονικό διάστημα. Να τονιστεί ότι η βροχή δεν επηρέασε τη συγκέντρωση των σακχάρων ώστε να εμποδίσει το φυτό να συσσωρεύσει περισσότερα σάκχαρα. Σε άλλες μελέτες (Garcia 1994, Diego 2009) έχει βρεθεί ότι το πότισμα μετά τον περκασμό αύξησε την ποσότητα των σακχάρων σε σχέση με φυτά τα οποία δεν είχαν δεχτεί κάποιου είδους πότισμα.

Το μηλικό οξύ καθώς προχωρούσαμε από την 1^η προς την 3^η ωρίμανση μειώθηκε από το 1,5g/l στο 1g/l, φαινόμενο φυσιολογικό αφού το μηλικό οξύ αποικοδομείται μέσω της αναπνοής καθώς πλησιάζουμε από την ωρίμανση στην υπερωρίμανση. Από την άλλη, το τρυγικό οξύ όπως και η ολική οξύτητα μειώθηκε από την 1^η προς την 2^η ωρίμανση και στη 3^η αυξήθηκε.

Τα φαινορικά συστατικά τα οποία απεικονίζονται στον δείκτη φαινολικών ουσιών καθώς και στο Folin – Ciocalteu έδειξαν να αγγίζουν την μέγιστη τιμή στην 2η ωρίμανση και μετά είχαν μια πτώση στην τελευταία ωρίμανση. Το ίδιο φαινόμενο συνέβη και στην περίπτωση των φαινολικών οξέων. Άρα, μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι μετά από το στάδιο της δεύτερης ωρίμανσης υπάρχει κάποιος κορεσμός.

Το τεστ επιταχυνόμενης οξειδωσης έδειξε πως η ταχύτητα μεταβολής χρώματος αυξάνεται και αυτή από τον πρώτο τρύγο μέχρι και τον τελευταίο στο ίδιο αμπελοτεμάχιο.

Όσον αφορά την αέρια χρωματογραφία, στους 3 οίνους στην 3^η ωρίμανση ανιχνεύτηκαν σε μεγαλύτερο ποσοστό οι ανώτερες αλκοόλες, τα πτητικά οξέα και οι οξικοί εστέρες. Αξίζει να αναφερθεί ότι στη 2^η ωρίμανση η 1-εξανόλη που ανήκει στην ομάδα των ανώτερων αλκοολών δεν ανιχνεύτηκε καθόλου, ενώ στην 3^η ωρίμανση είχε αρκετά μεγάλη τιμή. Από την άλλη, οι αιθυλεστέρες, τα τερπένια και οι πτητικές φαινόλες την μεγαλύτερη τιμή την είχαν στη 2^η ωρίμανση. Οι ίδιες ενώσεις έχουν ανιχνευτεί σε κοντινές τιμές σε παλαιότερη μελέτη για τα αρωματικά του Ασύρτικου Σαντορίνης (Kechagia, 2008) με τη μόνη διαφορά ότι τότε ανιχνεύτηκε και η γερανιόλη κάτι το οποίο δε βρέθηκε στο συγκεκριμένο πείραμα. Επίσης, άλλη μία διαφορά ήταν η ανίχνευση λιναλόλης, νερόλης και δεκανοϊκού αιθυλεστερά που βρέθηκε σε αυτή τη μελέτη κάτι το οποίο δεν ανιχνεύτηκε τότε.

Στην οργανοληπτική αξιολόγηση των οίνων, οι δοκιμαστές έδειξαν πως ο οίνος της 2^{ης} ωρίμανσης χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ένταση χρώματος. Τη μεγαλύτερη ένταση αρώματος φάνηκε να έχει ο οίνος της 3^{ης} ωρίμανσης, ο οποίος αναδείχθηκε πως είχε την καλύτερη ισορροπία στο στόμα και τη μεγαλύτερη οξύτητα. Όμως, όσο αφορά την οξύτητα σύμφωνα με τις αναλύσεις μεγαλύτερη οξύτητα είχε ο οίνος της 1^{ης} ωρίμανσης. Το σώμα για τους οίνους της 2^{ης} και 3^{ης} ωρίμανσης φάνηκε να αρέσει εξίσου. Το τελικό συμπέρασμα ήταν ότι ο οίνος της 3^{ης} ωρίμανσης με μικρή διαφορά από την 2^η άρεσε περισσότερο στους δοκιμαστές. Να μη ξεχαστεί να αναφερθεί ότι και οι 3 ωριμάνσεις ήταν οργανοληπτικά αποδεκτές και καμία από τις 3 δεν παρουσίασε κάποιο ελάττωμα που να ανιχνεύεται οπτικά, οσφρητικά ή ακόμα και γευστικά.

Κλείνοντας να τονιστεί πως σημαντική διαφορά σε γευστικό επίπεδο δεν παρατηρήθηκε. Βέβαια, αυτό δεν αναιρεί το γεγονός ότι οι 3 οίνοι θα παλαιώσουν και οξειδωτικά και αναγωγικά κι αυτό ίσως αλλάξει τον χαρακτήρα τους περαιτέρω και κατά τρόπο που ίσως δεν φαίνεται ξεκάθαρα αυτή τη στιγμή.

Να αναφερθεί ότι λόγω της κλιματικής αλλαγής και των διάφορων βροχοπτώσεων που σημειώνονται σε περιόδους μη επιθυμητές για τη συγκομιδή των σταφυλιών (πχ. βροχή κατά τη διάρκεια του τρύγου) θα ήταν καλό να διεξαχθούν περισσότερες μελέτες ώστε να γίνουν γνωστές οι επιπτώσεις της βροχής στους παραγόμενους οίνους σε ένα ξηροθερμικό περιβάλλον όπως αυτό της Σαντορίνης.

ΠΗΓΕΣ

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

- <https://www.strassnostress.com/2021/05/22/%CE%B7-%CF%84%CE%B5%CF%87%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CE%AE-%CF%84%CE%B7%CF%82-%CE%BA%CE%BF%CF%85%CE%BB%CE%BF%CF%8D%CF%81%CE%B1%CF%82/>
- Beris, (2020), Volcanic soil of Santorini. Retrieved from:<https://estateargyros.com/news/article/1/volcanic-soil-santorini-cursed-desert-or-blessed-treasure/>
- Καφούρος (2012), https://www.keosoe.gr/pdf/sinedrio_ampeli/29.pdf
- <https://winesofgreece.org/el/varieties> %CE%B1%CF%83%CF%8D%CF%81%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%BF/

Ελληνική βιβλιογραφία

- («ΠΟΙΚΙΛΙΑΚΟΣ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΜΠΕΛΩΝΩΝ ΝΗΣΩΝ ΑΙΓΑΙΟΥ» «Ο ΑΜΠΕΛΩΝΑΣ ΤΗΣ ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ» ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ : Μάρκος Εμμ. Καφούρος Γεωπόνος Ε.Α.Σ. Σαντορίνης)
- Σουφλερός Ε. (2015) – ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ: Επιστήμη και Τεχνολογία, Θεσσαλονίκη
- Ντουρτόγλου Ε. (2020) – Σημειώσεις μαθήματος: «ΧΗΜΕΙΑ ΟΙΝΩΝ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ, ΠΥΡΡΟΙΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΕΛΑΤΤΩΜΑΤΑ», Αρωματικές ενώσεις
- Τσακίρης Α. (2017) – Από το σταφύλι στο κρασί, Εκδόσεις: Ψυχάλου
- Μαλλούχου Α. (2003) – Μελέτη δευτερογενούς αρώματος με GC/MS Οίνων που παράγονται με ακινητοποιημένα κύτταρα, Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Χημείας - Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα. Ελλάδα

Διεθνής βιβλιογραφία

- Alatzas Anastasios, Theocharis Serafeim , Miliordos Dimitrios-Evangelos , Leontaridou Konstantina, Kanellis Angelos, Kotseridis Yorgos , Hatzopoulos Polydefkis , Koundouras Stefanos . (2021) The Effect of Water Deficit on Two Greek Vitis vinifera L. Cultivars: Physiology, Grape Composition and Gene Expression during Berry Development
- Álvaro Sánchez-Ferrer, José Neptuno Rodríguez-López, Francisco García-Cánovas, Francisco García-Carmona (1995) Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism

- Aurelie Roland, Remi Schneider, Alain Razungles, and Florine Cavelier (2011) Varietal Thiols in Wine: Discovery, Analysis and Applications
- Barberan Tomas, Clifford MN. (2000) Flavanones, chalcones and dihydrochalcones— nature, occurrence and dietary burden, *Sci Food Agric*.
- Botezatu Andreea , Kotseridis Yorgos , Inglis Debbie and Gary J. (2015) A survey of methoxypyrazines in wine
- Cassidy A, Hansley B, Lamuela-Raventos RM. (2000) Isoflavones, lignans and stilbenes— origins, metabolism and potential importance to human health. *J Sci Food Agric*. 80:1044–1062
- Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., & HermosínGutiérrez, I. (2007). Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 992–1002.
- Cieślik, E., Gręda, A., & Adamus, W. (2006). Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food Chemistry*, 94(1), 135–142
- Clifford MN. Anthocyanins—nature, occurrence and dietary burden. *J Food Sci Agric*. (2000) 80:1063–1072
- Decendit, A., Waffo-Teguo, P., Richard, T., Krisa, S., Vercauteren, J., Monti, J. -P., et al. (2002). Galloylated catechins and stilbene diglucosides in *Vitis vinifera* cell suspensions cultures. *Phytochemistry*, 60(8), 795–798.
- Diego S. Intrigliolo & Juan Ramo'n Castel (2009). Response of grapevine cv. 'Tempranillo' to timing and amount of irrigation: water relations, vine growth, yield and berry and wine composition
- Dirninger, N., Duc, D., Schneider, C., Dumas, V., Asselin, C., & Schaeffer, A. (1998). Wine quality and terroirs: Influence of environmental characteristics on the Gewurztraminer flavor profile. *Sciences des Aliments*, 18, 193–209.
- Du-Plessis, C. S. (1984). Optimum maturity and quality parameters in grapes: A review. *South Africa Journal of Enology and Viticulture*, 5, 35–42
- Esteban Ma A. , Villanueva Ma J. , Lissarrague J. R. (1999). Effect of Irrigation on Changes in Berry Composition of Tempranillo During Maturation. Sugars, Organic Acids, and Mineral Elements
- Falque´, E., Ferna´ndez, E., & Dubourdieu, D. (2001). Differentiation of white wines by their aromatic index. *Talanta*, 54, 271–281
- Fang, F., Li, J. -M., Zhang, P., Tang, K., Wang, W., Pan, Q. -H., et al. (2008). Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. *Food Research International*, 41(1), 53–60.
- Ferguson LR (2001). Role of plant polyphenols in genomic stability.
- Garcia-Escudero E, Mart´nez-Bujanda F, Lissarrague JR, Sote´s V (1994) Influencia del momento de aplicaci´on del riego sobre la producci´on y la calidad del mosto. *Vitivinicultura* 94:49–54
- H. Li, A. Guo, H. Wang (2008), Mechanisms of oxidative browning of wine, *Food Chemistry*

- Hsu, Y. L., Liang, H. L., Hung, C. H., & Kuo, P. L. (2009). Syringetin, a flavonoid derivative in grape and wine, induces human osteoblast differentiation through bone morphogenetic protein-2/extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(11), 1452–1461.
- Jackson, D. I., & Lombard, P. B. (1993). Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality – A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 409–430.
- Jandera, P., Škeříková, V., Řehová, L., Hájek, T., Baldriánová, L., Škopová, G., et al. (2005). RP-HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids in beverages and plant extracts using a CoulArray detector. *Journal of Separation Science*, 28(9–10), 1005–1022.
- Jeffery, D. W., Parker, M., & Smith, P. A. (2008). Flavonol composition of Australian red and white wines determined by high-performance liquid chromatography. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(3), 153–161.
- Jing, P., Bomser, J. A., Schwartz, S. J., He, J., Magnuson, B. A., & Giusti, M. M. (2008). Structure–function relationships of anthocyanins from various anthocyanin-rich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(20), 9391–9398.
- Jones, G. V., & Davis, R. E. (2000). Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51, 249–261.
- Kechagia Despina, Paraskevopoulos Yiannis, Symeou Eleni, Galiotou-Panayotou Maria, Kotseridis Yorgos (2008) Influence of Prefermentative Treatments to the Major Volatile Compounds of Assyrtiko Wines
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* (2004) 79:727-747.
- Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M., & Velasco, R. (2006). Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7692–7702.
- Oliveira Carla Maria, Silva Ferreira António César, Victor De Freitas, Silva Artur (2011) Oxidation mechanisms occurring in wines
- P. Fernández-Zurbano,* V. Ferreira, C. Peña, A. Escudero, F. Serrano, and J. Cacho Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain, (1995) Prediction of Oxidative Browning in White Wines as a Function of Their Chemical Composition
- Perez-Magarino, S., & González-San José, M. L. (2006). Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade. *Food Chemistry*, 96, 197–208.
- Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006). *Handbook of Enology Volume 2 : The Chemistry of wine stabilization and treatments.*
- Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006). *Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of wine Stabilization and Treatments.* England: John Wiley & Sons Ltd.

- Ribereau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubordieu, D. Chapter 6: Phenolic compounds. In Handbook of Enology. The Chemistry of Wine Stabilisation and Treatments; Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubordieu, D., Eds.; Wiley: Chichester, U.K., 2006; Vol. 2, pp 141–203
- Roland A., Schneider P., Razungles A., Cavelier F. (2011). Varietal Thiols in Wine: Discovery, Analysis and Applications. Chemical Reviews (111): 7355-7376
- Sabon, I., de Revel, G., Kotseridis, Y., & Bertrand, A. (2002). Determination of volatile compounds in Grenache wines in relation with different terroirs in the Rhone Valley. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 6341–6345.
- Salgues M, Cheyner V, Gunata Z., Wylde R., (1986) Oxidation of Grape Juice 2-S-Glutathionyl Caffeoyl Tartaric Acid by Botrytis cinerea Laccase and Characterization of a New Substance: 2,5-di-S-Glutathionyl Caffeoyl Tartaric Acid
- Sayed, H. (1992). Vineyard site suitability in Ontario. Ontario Grape and Wine adjustment Program, OMAFRA and Agriculture Canada. Publication N.10.92, Ministry of Agriculture and Food, Agriculture, Canada.
- Sgouros Georgios, Mallouchos Athanasios, Dourou Dimitra, Banilas Georgios, Chalvantzi Ioanna, Kourkoutas Yiannis and Nisiotou Aspasia (2023). Torulaspora delbrueckii May Help Manage Total and Volatile Acidity of Santorini-Assyrtiko Wine in View of Global Warming.
- Swiegers J. H., Pretorius I.S. (2007). Modulation of volatile sulfur compounds by wine yeast. Appl Microbiol Biotechnol 74:954–960
- Voltea Sofia, Karabagias Ioannis, Roussis Ioannis (2022) Use of Fe (II) and H₂O₂ along with Heating for the Estimation of the Browning Susceptibility of White Wine
- Xyrafis Efstratios Guillaume , Deloire Alain, Petoumenou Despoina, Paraskevopoulos Ioannis, Biniari Katerina (2021) The unique and extreme vineyards of Santorini Island (Cyclades)