



**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

Μελέτη φυσικοχημικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών σε οίνους που προήλθαν από δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά

Αλεξάνδρα Β. Μπασπανέλου

Επιβλέπων καθηγητής:
Γεώργιος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2024**

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη φυσικοχημικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών σε οίνους που προήλθαν από δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά

Study of physicochemical and quality characteristics of wines derived from two biotypes of the Malagousia variety

Αλεξάνδρα Β. Μπασπανέλου

Εξεταστική Επιτροπή:

Γεώργιος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Στέφανος Κουνδουράς, Καθηγητής ΑΠΘ

Σταματίνα Καλλίθρακα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Μελέτη φυσικοχημικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών σε οίνους που προήλθαν από δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά

ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων Ι) Γαλακτοκομία ΙΙ) Οινολογία

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου

Εργαστήριο Οινολογίας & Αλκοολούχων Ποτών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκαν σε ποσοτικό και ποιοτικό επίπεδο τα πτητικά συστατικά οίνων, καθώς και οι υπόλοιπες παράμετροι χαρακτηρισμού (pH, ολική οξύτητα κοκ) γλεύκους και οίνων, που προήλθαν από τον standard βιότυπο της Μαλαγουζιάς και έναν βιότυπο της ποικιλίας με χαρακτηριστικό το μικρότερο μέγεθος της ράγας. Για την διεξαγωγή του πειράματος συλλέχθηκαν έξι δείγματα-βιολογικές επαναλήψεις σταφυλιών της εσοδείας 2022. Τα τρία δείγματα αντιπροσώπευαν βιολογικές επαναλήψεις του standard βιότυπου της Μαλαγουζιάς και προήλθαν από τρία διαφορετικά σημεία του ίδιου ενιαίου αμπελώνα όπου βρίσκονται οι φυτεύσεις της ποικιλίας στην Επανομή Θεσσαλονίκης, ενώ τα υπόλοιπα τρία ήταν βιολογικές επαναλήψεις του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας και προήλθαν επίσης από διαφορετικό σημείο του ίδιου αμπελώνα. Στα γλεύκη που προέκυψαν, πραγματοποιήθηκαν οι βασικές αναλύσεις γλεύκους (σακχαροπεριεκτικότητα, ολική και ενεργή οξύτητα, αφομοιώσιμο άζωτο, θολερότητας) και ακολούθησε εμβολιασμός με εμπορικό στέλεχος ζυμομύκητα ώστε να διεξαχθεί η αλκοολική ζύμωση. Στους παραγόμενους οίνους πραγματοποιήθηκαν οι βασικές αναλύσεις (αλκοολικός τίτλος, ολική οξύτητα, pH, πτητική οξύτητα, υπολειπόμενα σάκχαρα, ΔΦΟ, απορρόφηση στα 420nm). Το πτητικό κλάσμα των οίνων μελετήθηκε με εκχύλιση υγρού-υγρού και GC/MS ενώ παράλληλα έγινε και οργανοληπτική αξιολόγησή τους από εκπαιδευμένο πάνελ δοκιμαστών. Οι οίνοι των δύο βιότυπων δεν εμφάνισαν ιδιαίτερα σημαντική διαφοροποίηση από οινολογικής άποψης ως προς το pH, την ολική οξύτητα και την απορρόφηση στα 420nm. Σε σχέση με τα δείγματα του standard βιότυπου, εκείνα που προήλθαν από το μικρόραγο βιότυπο της ποικιλίας εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές σακχαροπεριεκτικότητας στα γλεύκη, και κατά συνέπεια αλκοολικού τίτλου, καθώς επίσης μικρότερες τιμές ΔΦΟ. Τα αποτελέσματα της μελέτης των πτητικών συστατικών έδειξαν ότι οι οίνοι που προήλθαν από τον μικρόραγο βιότυπο, παρουσιάζουν μια τάση να εμφανίζουν μεγαλύτερη αρωματική ένταση τόσο ποσοτικά όσο και οργανοληπτικά, ενώ επίσης εντοπίστηκαν και κάποιες πτητικές ενώσεις που δεν ανιχνεύθηκαν στους οίνους του standard βιότυπου της ποικιλίας. Τέλος λαμβάνοντας υπόψιν την συνολικότερη εικόνα των αποτελεσμάτων του standard βιότυπου, μπορούμε να πούμε ότι χαρακτηρίζεται επίσης πλούσιος σε πτητικές ενώσεις.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: Μαλαγουζιά, κλωνική επιλογή, βιότυπος, πτητικά συστατικά, οργανοληπτική αξιολόγηση, αέρια χρωματογραφία

Study of physicochemical and quality characteristics of wines derived from two biotypes of the Malagousia variety

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 thesis, both quantitative and qualitative analyses were conducted on the volatile components of wines, as well as on other characterization parameters (pH, total acidity, etc.) of must and wines derived from the standard biotype of the Malagousia variety and a biotype characterized by smaller berry size. For the experiment, six samples—biological replicates—of grapes from the 2022 harvest were collected. Three samples represented biological replicates of the standard Malagousia biotype and were sourced from three distinct locations within the same unified vineyard in Epanomi, Thessaloniki, where the variety is planted. The remaining three samples were biological replicates of the small-berry biotype of the variety and were also obtained from different points within the same vineyard. Basic must analyses (sugar content, total and active acidity, assimilable nitrogen, turbidity) were conducted on the resultant musts, followed by inoculation with a commercial yeast strain to carry out alcoholic fermentation. Basic analyses were performed on the produced wines (alcohol content, total acidity, pH, volatile acidity, residual sugars, phenolic index (PDI), absorption at 420 nm). The volatile fraction of the wines was analyzed using liquid-liquid extraction and GC/MS, and a sensory evaluation was conducted by a trained panel of tasters. The wines of the two biotypes did not exhibit significant oenological differentiation in terms of pH, total acidity, and absorption at 420 nm. Compared to the samples of the standard biotype, those derived from the small-berry biotype of the variety exhibited higher sugar content in the musts, and consequently higher alcohol content, as well as lower phenolic index (PDI). The results of the volatile component analysis indicated that the wines from the small-berry biotype tend to exhibit greater aromatic intensity both quantitatively and organoleptically. Furthermore, certain volatile compounds were identified which were not detected in the wines of the standard biotype. In conclusion, considering the overall results, the standard biotype can also be characterized as rich in volatile compounds.

Scientific area: Oenology

Keywords: Malagousia, clonal selection, biotype, volatile components, organoleptic evaluation, gas chromatography

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς το εργαστήριο Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, και πρώτο τον επιβλέποντα καθηγητή της μελέτης μου, κ. Γεώργιο Κοτσερίδη, για την όλη την πορεία μου ως εδώ, και την πολύτιμη οινολογική γνώση που έλαβα από εκείνον σε κάθε στάδιο αυτού του μεταπτυχιακού προγράμματος. Επίσης να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής της διπλωματικής μου εργασίας, κ. Σταματίνα Καλλίθρακα και κ. Στέφανο Κουνδουρά για την υποστηρικτική παρουσία τους στο τελευταίο βήμα αυτής της προσπάθειας. Προς τον κύριο κ. Στέφανο Κουνδουρά ένα ακόμη ευχαριστώ, για την παραχώρηση του εργαστηριακού εξοπλισμού του εργαστηρίου αμπελουργίας του Γεωπονικού Τμήματος ΑΠΘ. Σε αυτό το σημείο να απευθύνω και τις θερμές μου ευχαριστίες προς την κ. Νίκη Προξενιά για την πολύτιμη βοήθεια και άμεση ανταπόκριση της στην διεξαγωγή και ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου εργασίας και φυσικά την Χριστίνα Καραδήμου, υποψήφια διδάκτωρ, για την καθοδήγηση και την σημαντική υποστήριξη της καθ' όλη την διάρκεια εκπόνησης της μελέτης μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την οινολογική και γεωπονική ομάδα του Κτήματος Γεροβασιλείου, και ξεχωριστά τους οινολόγους, Αργύρη Γεροβασιλείου και Αλεξάνδρα Παπαδάκη, για την βοήθεια τους, την κάθε είδους στήριξη και την συνεχή πρόθυμη στάση τους. Τέλος ευχαριστώ θερμά την οικογένεια μου και το κοντινό φιλικό μου περιβάλλον για την συνεχή δύναμη που μου δίνουν και την βοήθεια τους σε κάθε μου βήμα.

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

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1. Η προέλευση της αμπέλου-Ιστορικά στοιχεία.....	9
1.1.1. Άμπελος και οίνος στον ελλαδικό χώρο - Ιστορικά στοιχεία της διάσωσης και διάδοσής τους	9
1.2. Σύσταση της ράγας του σταφυλιού	11
1.2.1. Δομή της ράγας	11
1.3. Χημική σύσταση του γλεύκους και των παραγόμενων οίνων	12
1.3.1. Σάκχαρα	12
1.3.2. Οργανικά Οξέα.....	13
1.3.3. Αζωτούχες ενώσεις	14
1.3.4. Φαινολικά συστατικά	15
1.4. Πτητικά συστατικά του αρώματος και η προέλευση τους	18
1.4.1. Κατηγοριοποίηση των αρωμάτων των οίνων ανάλογα με την προέλευση τους.....	18
1.4.2. Πτητικά συστατικά που διαμορφώνουν το πρωτογενές άρωμα των οίνων.....	19
1.4.3. Πτητικά συστατικά του αρώματος κατά την αλκοολική ζύμωση	22
1.5. Κλωνική επιλογή	23
1.6. Η ποικιλία Μαλαγουζιά.....	25
1.6.1. Ιστορική αναδρομή	25
1.6.2. Προέλευση και Πολλαπλασιασμός της ποικιλίας	25
1.6.3. Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά.....	26
1.6.4. Ιδιότητες	27
1.7. Χαρακτηριστικά της γεωγραφικής περιοχής καλλιέργειας	28
1.7.1. Ο ιδιόκτητος αμπελώνας καλλιέργειας της ποικιλίας	29
1.8. Αναλυτικές τεχνικές.....	29
1.8.1. Αέρια χρωματογραφία	29
1.8.2. Φασματοσκοπία Μάζας	32
1.8.3. GC-MS (Gas Chromatography - Mass Spectrometry)	33
1.9. Σκοπός της μελέτης	34
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	35
2.1. Πειραματικός σχεδιασμός - Κωδικοποίηση	35
2.2. Παρακολούθηση ωρίμανσης	35

2.2.1. Προσδιορισμός ημερομηνίας τρυγητού - Μέτρηση σακχάρων.....	35
2.3. Πρωτόκολλο οινοποίησης	36
2.4. Προζυμωτικές αναλύσεις σε δείγματα γλεύκους	37
2.4.1. Μέτρηση θολερότητας (Turbidity)	38
2.4.2. Μέτρηση αφομοιώσιμου Αζώτου	38
2.4.3. Μέτρηση ενεργού οξύτητας (pH)	39
2.4.4. Μέτρηση ολικής οξύτητας.....	39
2.5. Μεταζυμωτικές αναλύσεις σε δείγματα οίνων	40
2.5.1 Μέθοδος προσδιορισμού αναγόντων σακχάρων	40
2.5.2. Μέθοδος προσδιορισμού Αλκοολικού Τίτλου	41
2.5.3. Μέθοδος προσδιορισμού πτητικής οξύτητας σε δείγματα οίνου	42
2.5.4. Μέτρηση απορρόφησης στα 420nm	42
2.5.5. Δείκτης φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ).....	42
2.5.6. Υπολογισμός Ολικού και Ελεύθερου SO ₂	43
2.6. Πρωτεϊνική σταθεροποίηση	44
2.7. Προσδιορισμός πτητικών με GC/MS.....	45
2.8. Γευσιγνωσία	46
2.9. Στατιστική επεξεργασία	48
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ	49
3.1 Προζυμωτικές αναλύσεις στο γλεύκος	49
3.1.1 Περιεκτικότητα σε σάκχαρα	50
3.1.2 Ολική οξύτητα γλεύκους.....	51
3.1.3 Ενεργός οξύτητα-pH	52
3.1.4 Παρακολούθηση της αλκοολικής ζύμωσης.....	53
3.2 Βασικές αναλύσεις οίνων.....	54
3.2.1 Ολική οξύτητα.....	55
3.2.2 Ενεργός οξύτητα-pH	55
3.2.3 Πτητική οξύτητα	56
3.2.4 Ανάγοντα Σάκχαρα	57
3.2.5 Αλκοολικός τίτλος	58
3.2.6 Δείκτης φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ).....	59
3.2.7 Απορρόφηση στα 420nm	60
3.3 Ανάλυση πτητικών συστατικών των οίνων	61

3.3.1 Ανώτερες Αλκοόλες	61
3.3.2 Εστέρες	64
3.3.3 Πτητικά Οξέα	66
3.3.4 Τερπένια	68
3.3.5 Άλλες πτητικές ενώσεις	70
3.3.6 Αρώματα-Οσμές πτητικών ενώσεων που ανιχνεύθηκαν.....	71
3.4 Γευσιγνωσία	72
3.5 Ανάλυση κύριων συνιστωσών PCA	75
3.5.1 PCA βασικών αναλύσεων γλεύκους και οίνων	75
3.5.2 PCA πτητικών ενώσεων	76
3.5.3 PCA οργανοληπτικής αξιολόγησης.....	77
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	79
Μελλοντική έρευνα.....	85
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	86

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Η προέλευση της αμπέλου-Ιστορικά στοιχεία

Η άμπελος ανήκει στην οικογένεια των Αμπελίδων ή αλλιώς *Vitaceae* (αρχικά *Ampelidae* και *Ampelidiceae*). Το σημαντικότερο είδος του γένους *Vitis*, το οποίο ανήκει στην οικογένειας των *Vitaceae*, είναι το *Vitis Vinifera L.*, αλλιώς η «άμπελος η οиноφόρος» όπως αποκαλείται από πολλούς (Σταυρακάκης, 2010). Από αυτό το είδος προέρχεται το 90% της συνολικής παραγωγής σταφυλιών παγκοσμίως (Soleas, 1997). Το *Vitis vinifera L.* έχει βρεθεί πως εμφανίστηκε περίπου στα τέλη της τρίτης γεωλογικής περιόδου, πληροφορία που παίρνουμε από απολιθώματα που βρέθηκαν σε περιοχές του Ανατολικού τμήματος της Μεσογείου, της Ευρώπης και της Ασίας (Σταυρακάκης, 2013). Οι καρποί της οиноφόρου αμπέλου, αποτέλεσαν βασικό κομμάτι της διατροφής του προϊστορικού ανθρώπου-συλλέκτη και μάλιστα λέγεται ότι το φυτό εντοπίστηκε από τον άνθρωπο ως θαμνώδη αναρριχόμενο φυτό σε δασικές και παραποτάμιες εκτάσεις.

Η εμφάνιση της καλλιεργούμενης αμπέλου τοποθετείται χρονικά περίπου στο 6.000-5.000 π.Χ. και «έχει τις ρίζες της» στις ευρύτερες περιοχές του Καυκάσου που βρίσκονται γεωγραφικά εκεί που είναι σήμερα η Αρμενία, ενώ υπάρχουν αναφορές για ευρήματα και σε περιοχές πιο ανατολικά κοντά στο σημερινό Αφγανιστάν. Σύμφωνα με τον Gustaf de Lattin (1939), πανεπιστημιακό καθηγητή ζωολογίας και διευθυντή του Ινστιτούτου Έρευνας Αναπαραγωγής Αμπέλου (1942), υπάρχουν αναφορές για τρία υποείδη αμπέλου, εκ των οποίων η καλλιεργούμενη μορφή της προέρχεται από το υποείδος *Vitis vinifera caucasica VAVILON* (Καυκασιανή η οиноφόρος). Τα ονόματα των άλλων υποειδών είναι *Vitis vinifera sylvestris GMELIN* (Άμπελος άγρια η οиноφόρος), και *Vitis Vinifera sativa DE CADOLLE* (καλλιεργούμενη άμπελος). Από το 8.000-6.000 π.Χ. διανύουμε την περίοδο έναρξης της «εξημέρωσης» της άγριας αμπέλου (*Vitis vinifera sylvestris*), ενώ μετά το 6.000 π.Χ. έλαβε χώρα η πρώτη οργανωμένη καλλιέργεια της αμπέλου (*Vitis vinifera sativa*).

1.1.1. Άμπελος και οίνος στον ελλαδικό χώρο - Ιστορικά στοιχεία της διάσωσης και διάδοσής τους

Η άμπελος κατά την μυθολογία, και πιο συγκεκριμένα ο βλαστός της, συνδέθηκε συμβολικά με την ενσάρκωση του θεού Διονύσου, γιου του Δία και της Σεμέλης. Η καταγωγή της διονυσιακής λατρείας και των εθίμων της δεν έχει διευκρινιστεί με σαφήνεια λόγω πολλών αναφορών σε διαφορετικές περιοχές. Όμως, η περιοχή της Θράκης αποτελεί κομβικό σημείο αναφοράς για την διάσωση της διονυσιακής λατρείας και εκτενέστερα της αμπελοκαλλιέργειας και των οينوπαραγωγικών τεχνικών.

Περίπου το 3.000-2.800 π.Χ. η μινωική Κρήτη αποτέλεσε το πέρασμα για την μεταφορά του φυτού της αμπέλου από την Αίγυπτο προς τον ελλαδικό χώρο της

αρχαιότητας. Η ευημερία και η άνθιση του μινωικού πολιτισμού και κατ' επέκταση του νησιού της Κρήτης, αποδείχθηκε σημαντικός παράγοντας για την εξάπλωση της αμπέλου και σε άλλες περιοχές του ελλαδικού χάρτη, όπως τα νησιά των Κυκλάδων, η Πελοπόννησος και τέλος η Ηπειρωτική Ελλάδα. Η καλλιέργεια της απλώθηκε σε ολόκληρη την ελληνική χερσόνησο με αποτέλεσμα την βελτίωση των αμπελουργικών τεχνικών και της οινοποίησης στην αρχαία Ελλάδα. Στις χώρες της Δύσης διαδόθηκε αργότερα με πρώτες περιοχές υποδοχής της την νότια Ιταλία και την νότια Γαλλία (Σταυρακάκης, 2013).

Κομβικό ρόλο στην διάσωση του κρασιού έπαιξαν φυσικά και τα συμπόσια της αρχαιότητας, τα οποία αποτελούσαν βασικό κοινωνικό θεσμό, και θεωρούνταν μάλιστα και ιδιαίτερος σημαντικός για την συνοχή μιας κοινότητας. Ο συγκεκριμένος θεσμός σε μια πιο πρώιμη μορφή βέβαια, τοποθετείται χρονικά ήδη στα μυκηναϊκά χρόνια, ενώ υπάρχουν αρκετές αναφορές και για την μινωική εποχή. Να σημειωθεί σε αυτό το σημείο βέβαια ότι ιστορικά στοιχεία μας δίνουν σημαντικές ενδείξεις ότι μια εορταστική μορφή του συμποσίου με φαγητό και νερωμένο οίνο υπήρχε από τους Νεολιθικούς χρόνους και την πρώιμη Εποχή του Χαλκού, όχι όμως με την ίδια σημασία των μεταγενέστερων συμποσίων και με μικρότερη έμφαση στο κομμάτι του «πότου». Στα συμπόσια των ιστορικών χρόνων που λάμβαναν χώρα κυρίως σε σπίτια κυρίαρχο ρόλο είχε η «πόσις» σε σχέση με την «βρώσις» (Τιβέριος, 2020).

Κατά τα ομηρικά χρόνια, το κρασί επίσης καταναλώνονταν στα συμπόσια των πολεμιστών, ενώ μερικές φορές η τελετή των συμποσίων είχε και ένα ρόλο συζήτησης και λήψης αποφάσεων σε θέματα που αφορούσαν τον πόλεμο. Αυτές οι πληροφορίες προκύπτουν και από τις συνεχείς αναφορές του Ομήρου στις τελετές των συμποσίων της εποχής, στα δύο έπη του «Ιλιάδα» και «Οδύσσεια» (Τιβέριος, 2020). Μάλιστα είναι γνωστό πως ο αρχαίος Έλληνας ποιητής τραγουδούσε με μεγάλη θέρμη τα εγκώμια του οίνου και γι' αυτό ο Οράτιος τον ονόμασε «Vinosus Homerus» που ελεύθερα αποδίδεται ως «Όμηρος ο οινολόγος» (Κουράκου-Δραγώνα, 2013).

Στα βυζαντινά χρόνια στην αμπελοκαλλιέργεια και την οινοποίηση δραστηριοποιούνταν κυρίως μοναχοί και κληρικοί οι οποίοι χρειαζόντουσαν το κρασί για τελετουργικούς σκοπούς. Περίπου τον 16^ο αιώνα μ.Χ. ξεκινάει η ανάπτυξη του κρασιού στην Δύση, ενώ σιγά σιγά αρχίζει και η χρήση της γυάλινης φιάλης (Τσακίρης & Παπούλιας, 1996) η οποία αρχικά ήταν σφαιρική ή αλλιώς κρεμμυδόσχημη όπως αναφέρεται, και στην πορεία του χρόνου παίρνει το σχήμα το οποίο γνωρίζουμε σήμερα. Αυτή η αλλαγή έγινε για πρακτικούς λόγους κυρίως αποθήκευσης και μεταφοράς. Την ίδια περίοδο εφαρμόζεται και ο πωματισμός της φιάλης με φελλό ο οποίος επίσης αρχικά ήταν κωνικός και κοντός σχηματικά και με το πέρασμα του χρόνου έγινε πιο μακρύτερος και λεπτός για να μπει και να κλείσει καλά τον λαιμό της φιάλης για πιο ασφαλή πωματισμό. Στα τέλη του 19^{ου} αιώνα μ.Χ. σημειώνεται πλέον μια εμφανής πρόοδος στον τομέα της αμπελουργίας με την διαφοροποίηση και την κατάταξη των ποικιλιών σε κατηγορίες.

1.2. Σύσταση της ράγας του σταφυλιού

1.2.1. Δομή της ράγας

Ο καρπός του φυτού της αμπέλου είναι η ράγα του, όπου για τον σχηματισμό της έχουν συμμετάσχει οι ιστοί της ωοθήκης. Εξετάζοντας την ανατομική δομή της ώριμης ράγας κάνοντας μια κατά μήκος τομή, παρατηρούμε αρχικά πως στο μεγαλύτερο ποσοστό περιλαμβάνεται η σάρκα (74-87%, μεσοκάρπιο και ενδοκάρπιο), ο φλοιός (10-20%, περικάρπιο), τα γίγαρτα (3-6%) καθώς και το αγγειακό σύστημα (Κουράκου-Δραγώνα, 1998, Σουφλερός, 2000). Δεν είναι απαραίτητο πως όλες οι ποικιλίες περιέχουν γίγαρτα, υπάρχουν και οι αγίγαρτες ποικιλίες (Νικολάου, 2008).

Ο φλοιός της ράγας του σταφυλιού συντίθεται από πρωτεΐνες, κυτταρίνη και πηκτίνες, ενώ περιλαμβάνει και ένα μεγάλο ποσοστό οξέων υπό μορφή αλάτων. Στον φλοιό βρίσκονται επίσης οι ανθοκυάνες που είναι υπεύθυνες για το χρώμα των ερυθρών οίνων και οι ταννίνες που δημιουργούν το χαρακτηριστικό αίσθημα στυπτικότητας στο στόμα στους παραγόμενους οίνους.

Πιο συγκεκριμένα ο φλοιός της ράγας αποτελείται από την εφυμενίδα, την επιδερμίδα και το υπόδερμα. Η εφυμενίδα καλύπτει την επιδερμίδα εξωτερικά καθώς είναι ένα συνεχές στρώμα το οποίο απαρτίζεται από κηρώδεις ουσίες που συνιστούν την λεγόμενη κηρώδη ανθηρότητα της ράγας. Οι πρόδρομες αρωματικές ενώσεις και τα αρωματώδη έλαια που ευθύνονται για τον διαφορετικό αρωματικό χαρακτήρα της κάθε ποικιλίας βρίσκονται στην επιδερμίδα η οποία αποτελείται από 1-2 στιβάδες με λεπτά, πεπλατυσμένα κύτταρα (Νικολάου, 2008).

Η σάρκα βρίσκεται κάτω από τον φλοιό, περιλαμβάνοντας περίπου 20-25 στιβάδες κυττάρων και αποτελείται από το ενδοκάρπιο και το μεσοκάρπιο. Τα κύτταρα της σάρκας έχουν στρογγυλό σχήμα ενώ εμφανίζουν μεγάλα κυτταρικά κενά τα οποία αποτελούν αποθήκες σακχάρων, νερού, οργανικών οξέων και άλλων συστατικών κατά την ωρίμανση. Τα κυτταρικά τους τοιχώματα είναι λεπτά, ενώ κατά την περίοδο της ωρίμανσης παρατηρείται αύξηση τους 3-8 φορές. Στο κέντρο της σάρκας βρίσκεται το ενδοκάρπιο το οποίο είναι μια οριοθετημένη στιβάδα κυττάρων που περιβάλλει τα γίγαρτα (Νικολάου, 2008).

Τα γίγαρτα αποτελούν τους σπόρους της αμπέλου. Κάθε ράγα έχει κατά μέσο όρο έως και 4 σε αριθμό με εξαίρεση τις αγίγαρτες ποικιλίες που δεν περιέχουν καθόλου. Τα γίγαρτα αποτελούνται από τις εξής περιοχές: το κέλυφος που περιλαμβάνει δύο χιτώνες, τον εσωτερικό και τον εξωτερικό, και το ενδοσπέρμιο σπουσίου το εσωτερικό περιέχεται το έμβρυο. Μορφολογικά διακρίνονται από την χάλαζα, το ράμφος και την κοιλιακή πλευρά με τους αύλακες. Το νερό και οι υδατάνθρακες βρίσκονται σε μεγάλη περιεκτικότητα στα γίγαρτα καταλαμβάνοντας κατά προσέγγιση περίπου το 24-45% και το 35% αντίστοιχα. Οι ταννίνες (6%), οι

ελαιώδεις ουσίες (20%) οι αζωτούχες (5%) και οι ανόργανες ενώσεις (4%) καθώς και τα λιπαρά οξέα (1%) βρίσκονται σε μικρότερα ποσοστά (Νικολάου, 2008).

1.3. Χημική σύσταση του γλεύκους και των παραγόμενων οίνων

Το γλεύκος αποτελεί υδατικό σακχαρούχο διάλυμα και ορίζεται ως ένα μείγμα ανόργανων και οργανικών ενώσεων οι οποίες περιλαμβάνονται αρχικά στην πρώτη ύλη από την οποία προέρχεται, το σταφύλι. Συγκεκριμένα, η χημική σύστασή του αποτελείται από ενώσεις όπως υδατάνθρακες, οργανικά οξέα, αζωτούχες και πηκτινικές ουσίες, φαινολικά συστατικά (ανθοκυάνες, ταννίνες στην περίπτωση των ερυθρών σταφυλιών κατά κύριο λόγο), και ιχνοστοιχεία. Η συγκέντρωση και η αναλογία των παραπάνω ουσιών καθορίζουν στην συνέχεια το είδος του παραγόμενου οίνου καθώς και την ποιότητα του (Σταυρακάκης, 2013).

Η σύσταση και περιεκτικότητα του γλεύκους στα παραπάνω συστατικά καθορίζεται από πληθώρα παραγόντων, οι οποίοι παίζουν σημαντικό ρόλο αρχικά κατά την ωρίμανση του σταφυλιού. Έτσι λοιπόν κλιματικοί και εδαφολογικοί παράγοντες, οι τεχνικές και οι καλλιεργητικές μέθοδοι που εφαρμόζονται στον αμπελώνα, η λίπανση, η άρδευση, η ίδια η ποικιλία, η διαμόρφωση των πρέμνων και το κλάδεμα καθορίζουν την περιεκτικότητα των ραγών σε πρωτογενείς και κατ' επέκταση σε δευτερογενείς μεταβολίτες (Νικολάου, 2008). Συμπερασματικά λοιπόν ο οίνος -που αποτελεί το τελικό προϊόν- μπορεί να οριστεί αντίστοιχα ως ένα μείγμα ανόργανων και οργανικών συστατικών που προκύπτει από την μεταβολική διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης του γλεύκους σταφυλής (Σταυρακάκης, 2013). Η χημική του σύσταση είναι αποτέλεσμα των ποιοτικών παραγόντων που χαρακτηρίζουν ένα γλεύκος, ενώ επίσης λαμβάνονται υπόψη και οι τεχνικές οινοποίησης που έχουν εφαρμοστεί μετά την παραλαβή του γλεύκους.

1.3.1. Σάκχαρα

Η συγκέντρωση των σακχάρων αποτελεί καθοριστικό παράγοντα και δείκτη της ωριμότητας του σταφυλιού, και συνδυαστικά με άλλες παραμέτρους προσδιορίζει την σωστή στιγμή έναρξης του τρυγητού. Τα σάκχαρα του σταφυλιού και του γλεύκους συνεπώς, διακρίνονται σε αναγωγικά ή ανάγοντα -τα οποία διαχωρίζονται περαιτέρω σε ζυμώσιμα και μη- καθώς και σε μη αναγωγικά στα οποία περιλαμβάνεται η ομάδα των πολυσακχαριτών.

Ο σπουδαιότερος δισακχαρίτης του σταφυλιού είναι η σακχαρόζη (γλυκόζη+φρουκτόζη), η οποία βρίσκεται στα φύλλα του φυτού και είναι προϊόν της ενζυμικής σύνδεσης των δύο σημαντικότερων μονοσακχαριτών, φρουκτόζη και γλυκόζη, ενώσεις οι οποίες σχηματίστηκαν κατά την φωτοσύνθεση. Η σακχαρόζη στην συνέχεια από τα φύλλα μετακινείται προς τους καρπούς όπου και υδρολύεται στις δύο μονάδες της μέσω του ενζύμου ιμβερτάση. Στο γλεύκος η περιεκτικότητα της είναι χαμηλή, περίπου 2-5 g/L.

Στα ζυμώσιμα αναγωγικά σάκχαρα ανήκουν οι εξόζες με κυρίαρχες τις D-φρουκτόζη και D-γλυκόζη, ενώ σε μικρότερο ποσοστό βρίσκεται και η D-γαλακτόζη. Ο λόγος G/F των δύο κύριων εξοζών του γλεύκους (D-γλυκόζη και D-φρουκτόζη), μεταβάλλεται κατά την πορεία της ωρίμανσης των σταφυλιών, οπότε ενώ πριν τον περκασμό υπολογίζεται ότι ισούται περίπου με 1,5, την περίοδο της ωρίμανσης φτάνει σταδιακά να ισούται με 1. Μετά την διεξαγωγή της αλκοολικής ζύμωσης του γλεύκους η αναλογία G/F έχει μειωθεί αισθητά, ενώ το ποσοστό των αζύμων σακχάρων απαρτίζεται κυρίως από φρουκτόζη λόγω του ότι η γλυκόζη αφομοιώνεται κατά προτεραιότητα από τους ζυμομύκητες. Οι οίνοι με βάση την περιεκτικότητά τους σε αζύμωτα σάκχαρα διακρίνονται σε ξηρούς (<2 mg/L) , ημίξηρους (2-18 mg/L), ημίγλυκους (18-40 mg/L) και γλυκείς (>40 mg/L) (Νικολάου, 2008).

Στα μη ζυμώσιμα σάκχαρα ανήκουν οι πεντόζες, με σημαντικότερες αυτών στην σύσταση του γλεύκους να αποτελούν η L-αραβινόζη και η D-ξυλόζη. Σε πολύ μικρότερη αναλογία βρίσκονται επίσης η L-ριβόζη και η D-ξυλόζη. Οι πεντόζες δεν ζυμώνουν από τους ελλειψοειδείς ζυμομύκητες, ενώ επίσης να σημειωθεί πως δεν παρουσιάζουν σημαντική γλυκαντική ικανότητα (0,4 με βάση το 1).

Στα μη ανάγοντα σάκχαρα ανήκουν οι πολυσακχαρίτες οι οποίοι σχηματίζονται λόγω της διάσπασης των κυτταρικών τοιχωμάτων και των πηκτινικών ουσιών των φλοιών. Σε αυτή την ομάδα ενώσεων συμπεριλαμβάνονται οι πηκτίνες, τα κόμμεα και ενώσεις του πηκτινικού οξέος. Οι πηκτίνες είναι αλυσίδες που σχηματίζονται από γαλακτουρονικό οξύ του οποίου οι μονάδες έχουν εστεροποιηθεί, με βαθμό εστεροποίησης σε ποσοστό 70-80%. Τα κόμμεα χαρακτηρίζονται ως διαλυτοί πολυσακχαρίτες και εκτός από γαλακτουρονικό οξύ περιλαμβάνουν στην αλυσίδα τους και ουδέτερα σάκχαρα, κυρίως ραμνόζη, αραβινόζη και γαλακτόζη (Νικολάου, 2008).

1.3.2. Οργανικά Οξέα

Η οξύτητα του γλεύκους σταφυλής οφείλεται κυρίως σε οργανικά οξέα λαμβάνοντας υπόψιν ότι η συγκέντρωση των ανόργανων οξέων είναι ελάχιστη έως αμελητέα στο γλεύκος. Τα τρία κύρια οξέα τα οποία συμμετέχουν στην διαμόρφωση της οξύτητας του γλεύκους και του οίνου είναι με σειρά σημαντικότητας το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό οξύ (Νικολάου, 2008). Ποσοτικά, η συγκέντρωση των οργανικών οξέων στον οίνο παίζει κομβικό ρόλο όσον αφορά τις μικροβιολογικές και βακτηριακές προσβολές που θα οδηγήσουν στην ποιοτική υποβάθμιση του, καθώς οι υψηλότερες τιμές οξύτητας και συνεπώς οι χαμηλότερες τιμές pH λειτουργούν προστατευτικά σε τέτοιου είδους φαινόμενα μικροβιολογικών αλλοιώσεων (Κοτσερίδης, 2021).

Το κύριο οξύ της αμπέλου είναι το τρυγικό, το οποίο συντίθεται στα φύλλα και στις ράγες και αποτελεί προϊόν του δευτερογενούς μεταβολισμού των σακχάρων. Στην Ευρώπη αυτό το οργανικό οξύ σχηματίζεται κυρίως στο φυτό της αμπέλου, ενώ

στην διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται πολλές φορές και ως «Wine acid». Είναι το πιο ισχυρό σε σχέση με τα υπόλοιπα οξέα που περιέχονται στο γλεύκος και στον οίνο γι' αυτό παίζει και καθοριστικό ρόλο στην διαμόρφωση της ενεργού οξύτητας τους (pH). Η συγκέντρωση του στο γλεύκος σε βόρειες αμπελουργικές ζώνες μπορεί να φτάσει τα 6 g/L, ενώ σε πιο θερμές περιοχές κυμαίνεται από 2-3 g/L. Κυρίαρχο ρόλο ως προς τον σχηματισμό και την συγκέντρωση του στο σταφύλι, εκτός από τις κλιματικές παραμέτρους, παίζουν και άλλοι παράγοντες όπως είναι η ίδια η ποικιλία, το έδαφος και η συγκέντρωση των ανόργανων οξέων. Στον οίνο το συναντάμε σε χαμηλότερες ποσότητες περίπου 1,5-2,5 g/L (Νικολάου, 2008).

Το μηλικό οξύ σε αντίθεση με το τρυγικό απαντάται σε πολλούς ζωντανούς οργανισμούς ενώ αποτελεί κυρίαρχο οξύ του μήλου από όπου παίρνει και το όνομα του. Σχηματίζεται από τον μεταβολισμό των σακχάρων και είναι σημαντικό προϊόν του κύκλου του Krebs. Σε βόρειες χώρες τα επίπεδα του μηλικού οξέος είναι υψηλότερα, 4-6,5 g/L στο γλεύκος, ενώ σε νότιες αμπελουργικές περιοχές κυμαίνεται από 1 ως 2 g/L (Νικολάου, 2008). Στους οίνους προσφέρει φρουτώδη υπόσταση και αίσθημα φρεσκάδας. Κατά την μηλογαλακτική ζύμωση, η οποία συνηθίζεται να λαμβάνει χώρα μετά την αλκοολική ζύμωση, το μηλικό οξύ μετατρέπεται σε γαλακτικό μέσω των γαλακτικών βακτηρίων. Έτσι οι οίνοι μετά την μηλογαλακτική ζύμωση θα έχουν σαφώς μια μικρή μείωση της οξύτητας τους, ενώ θεωρούνται σταθεροποιημένοι σε μικροβιολογικό επίπεδο που είναι εξαιρετικά σημαντικό για τους οίνους που προορίζονται για παλαιώση. Τέλος αποκτούν επίσης μια γευστική πολυπλοκότητα λόγω της παραγωγής ενώσεων όπως το διακετύλιο που συμβάλουν θετικά στην γεύση και στο άρωμα του οίνου (Bartowsky, 2013).

Το κιτρικό οξύ απαντάται σε μεγάλο ποσοστό στα εσπεριδοειδή και κυρίως στα λεμόνια. Στην ράγα του σταφυλιού υπάρχει σε μικρότερη ποσότητα, με την συγκέντρωση του στο γλεύκος να κυμαίνεται από 0,5 έως και 1g/L. Αποτελεί επίσης όπως και το μηλικό σημαντικό προϊόν του κύκλου του Krebs (Νικολάου Ν.Α., 2008). Κατά την διεξαγωγή της μηλογαλακτικής ζύμωσης να σημειωθεί πως το κιτρικό μπορεί να μεταβολιστεί σε οξικό οξύ με κίνδυνο αύξησης της πτητικής οξύτητας των οίνων (Olguín et al., 2009).

1.3.3. Αζωτούχες ενώσεις

Το ολικό άζωτο στο γλεύκος ή τον οίνο αποτελείται από ένα ποσοστό ανόργανων μορφών του (κατιόντα αμμωνίου NH_4^+), καθώς και από ένα μεγαλύτερο οργανικών (αμινοξέα, πρωτεΐνες, νουκλεϊνικά οξέα). Ιδιαίτερα σημαντικοί παράγοντες για την συγκέντρωση του ολικού αζώτου στο σταφύλι αποτελεί η περιοχή καλλιέργειας της αμπέλου, καθώς και η ίδια η ποικιλία (Νικολάου, 2008).

Στο στάδιο της πράσινης ράγας το ανόργανο άζωτο υπό την μορφή αμμωνιακών αλάτων βρίσκεται κυρίως στην σάρκα του σταφυλιού και αποτελεί το 80% του ολικού αζώτου των καρπών (Νικολάου, 2008). Κατά τον περκασμό το

αμμωνιακό άζωτο συνεχίζει να υπερτερεί, ενώ κατά την έναρξη της ωρίμανσης παρατηρείται έντονη μείωση του, καθώς το NH_4^+ αποτελεί την βασική μονάδα για τον σχηματισμό οργανικών μορφών αζώτου (Σταυρακάκης, 2013). Κατά την έναρξη της ωρίμανσης το μεγαλύτερο ποσοστό ολικού αζώτου αποτελείται από αμινοξέα και πεπτίδια, ενώ στην πορεία της ωρίμανσης η συγκέντρωση τους μπορεί να εξακολουθεί να αυξάνει (Roubelakis-Angelakis, 1991). Στις ώριμες ράγες σταφυλής τα αμινοξέα αντιπροσωπεύουν έως και το 40% (Ribereau-Gayon, 2006). Σε μικρότερες συγκεντρώσεις περιλαμβάνονται πρωτεΐνες, αμμωνιακά καθώς και νιτρικά άλατα (Roubelakis-Angelakis, 1991).

Μεταξύ των ελεύθερων αμινοξέων η προλίνη και η αργινίνη κυριαρχούν ποσοτικά στο γλεύκος, με την αργινίνη να είναι περισσότερο αφομοιώσιμη από τους ζυμομύκητες (Bisson, 1991). Άλλα αμινοξέα που συναντώνται επίσης στο γλεύκος είναι η γλυκίνη, η αλανίνη και η σερίνη (Νικολάου, 2008).

Οι αζωτούχες ενώσεις του γλεύκους αποτελούν σημαντικούς μεταβολίτες των ζυμομυκήτων, οπότε και οι συγκεντρώσεις τους καθορίζουν σε σημαντικό επίπεδο τον πολλαπλασιασμό των ζυμών και συνεπώς την ταχύτητα έναρξης της αλκοολικής ζύμωσης, τον ρυθμό διεξαγωγής της καθώς και τα τελικά προϊόντα που θα παραχθούν (Νικολάου, 2008). Η πλέον αφομοιώσιμη μορφή αζώτου είναι το αμμωνιακό ιόν NH_4^+ , καθώς επίσης και άλλα αζωτούχα συστατικά όπως η αργινίνη, πράγμα που αναφέρθηκε και παραπάνω (Bisson, 1991).

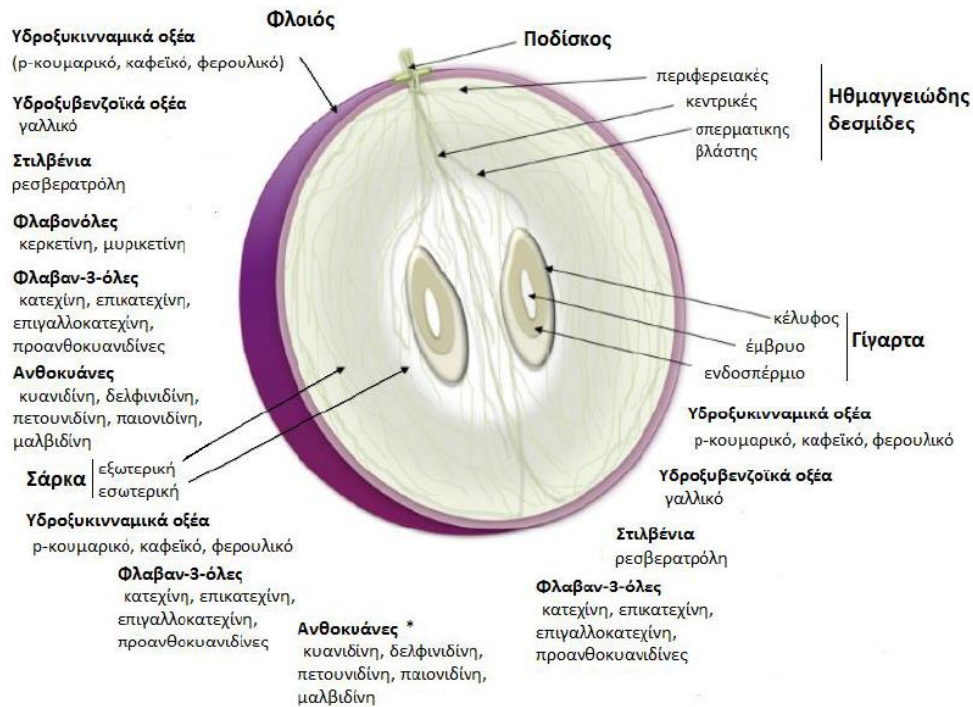
1.3.4. Φαινολικά συστατικά

Τα φαινολικά συστατικά αποτελούν σημαντική ομάδα ενώσεων των σταφυλιών και των οίνων καθώς σχετίζονται άμεσα με το χρώμα τους, τις οργανοληπτικές ιδιότητες τους, την αντιβακτηριακή και αντιοξειδωτική τους προστασία και σταθερότητα και συνεπώς σχετίζονται με την ικανότητα παλαίωσης τους. Βρίσκονται κυρίως στους φλοιούς των σταφυλιών, καθώς επίσης και στα γίγαρτα. Εν συνεχεία, εκχυλίζονται στο γλεύκος και διαμορφώνουν τον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων όσον αφορά την στυπτικότητα τους και το αίσθημα πικράδας, καθώς επίσης και την σταθεροποίηση του χρώματος τους (Chira, 2009, Kallithraka, 1998, Ribereau-Gayon, 1999, Sun, 2013). Η ποικιλία, η περιοχή όπου καλλιεργείται καθώς επίσης και η σοδειά παίζουν καθοριστικό ρόλο στην φαινολική σύσταση των σταφυλιών (Brossaud, 2001, Goldberg, 1998, Yokotsuka, 1999).

Οι φαινολικές ενώσεις διαθέτουν βενζολικό δακτύλιο στον οποίο βρίσκονται συνδεδεμένες μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες (Chira, 2009). Χωρίζονται σε δύο βασικές ομάδες:

- ο στα **μη φλαβονοειδή** στα οποία περιλαμβάνονται τα στιλβένια και τα φαινολικά οξέα,

- ο και στα **φλαβονοειδή** όπως είναι οι φλαβονόλες, οι φλαβόνες, οι φλαβανόνες οι φλαβανόλες και οι ανθοκυάνες (Cheynier, 2005, Teixeira, 2013).



Εικόνα 1: Φαινολικές ενώσεις που βρίσκονται στα διαφορετικά μέρη της ράγας του σταφυλιού. Με * συμβολίζονται μόνο αυτά που βρίσκονται σε βαθφικές ποικιλίες αμπέλου (Teixeira, 2013, Κυραλέου, 2016)

1.3.4.1. Μη φλαβονοειδείς ενώσεις

Στα μη φλαβονοειδή ανήκουν όπως προαναφέρθηκε τα **στιλβένια** καθώς επίσης και τα **φαινολικά οξέα**. Στα δεύτερα περιλαμβάνονται παράγωγα του κινναμωμικού και του βενζοϊκού οξέος, όπου βρίσκονται κυρίως στην σάρκα αλλά και σε όλα τα μέρη της ράγας αντίστοιχα. Η σύνθεση τους ξεκινάει κατά την περίοδο του περκασμού όπου βρίσκονται και σε μεγαλύτερη συγκέντρωση ενώ όσο προχωράμε προς την ωρίμανση και διόγκωση της ράγας το ποσοστό τους μειώνεται. (Adams, 2006, Teixeira, 2013). Τα **φαινολικά οξέα** είναι άχρωμα (Νικολάου Ν.Α., 2008), αλλά σε περίπτωση οξείδωσης των λευκών οίνων προκαλούν αμαύρωση (καφέτσιασμα) στο χρώμα τους, με χαρακτηριστικό παράδειγμα την οξείδωση των υδροξυκινναμωμικών οξέων (Castañeda-Ovando, 2009). Γενικότερα από οργανοληπτικής πλευράς δεν διαθέτουν ιδιαίτερη γεύση, ούτε αρωματικό χαρακτήρα (Νικολάου Ν.Α., 2008). Τα **στιλβένια** αποτελούν πιο σύνθετες δομικά φαινόλες που απαντώνται στις ράγες του σταφυλιού (Νικολάου Ν.Α., 2008) και πιο συγκεκριμένα στους φλοιούς τους. Διακρίνονται κυρίως για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες, χωρίς να προσφέρουν οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στους παραγόμενους οίνους (Gris, 2011).

1.3.4.2. Φλαβονοειδείς ενώσεις

Οι φλαβονοειδείς ενώσεις χωρίζονται σε υποκατηγορίες με βάση τον οξειδωτικό βαθμό του πυρανικού δακτυλίου του μορίου τους, με κυριότερες από

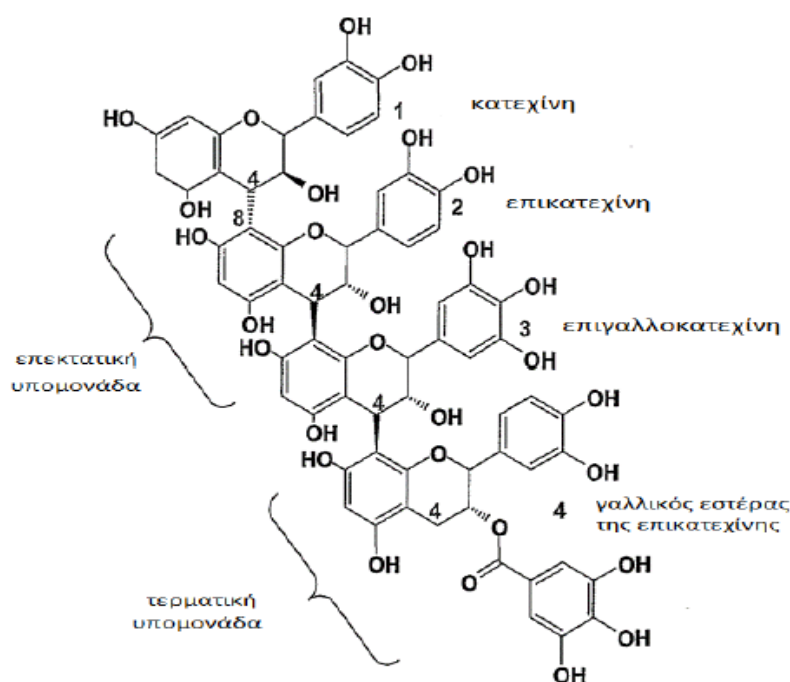
αυτές να αποτελούν οι **φλαβονόλες**, οι **φλαβονόνες**, οι **φλαβανόλες** και οι **ανθοκυάνες** (Ribereau-Gayon, 1999, Teixeira, 2013).

1.3.4.3. Φλαβονόλες και φλαβανόνες

Οι **φλαβονόλες** χαρακτηρίζονται από κίτρινο χρώμα και συνήθως συναντώνται στην γλυκοζυλιωμένη μορφή τους, με κυριότερες την κερκετίνη, την μυρικετίνη, την ισοραμνετόλη και την καμφερόλη (Downey, 2003). Είναι συστατικά της ράγας των σταφυλιών και ως επί το πλείστον βρίσκονται στην στιβάδα του υποδόριου των φλοιών, ενώ εντοπίζονται σε μικρότερο ποσοστό στην σάρκα της (Teixeira, 2013). Οι **φλαβανόνες** απαντώνται περισσότερο σε οίνους που έχουν παραμείνει για ωρίμανση σε βαρέλια δρυός καθώς τα παράγωγα των φλαβανονών αποτελούν βασικά φαινολικά συστατικά του ξύλου της δρυός (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

1.3.4.4. Φλαβανόλες

Η κατηγορία των φαινολικών ουσιών που βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στην ράγα του σταφυλιού είναι οι φλαβαν-3-όλες, οι οποίες διακρίνονται σε μονομερείς, ολιγομερείς και πολυμερείς. Κατά κύριο λόγο απαντώνται στα γίγαρτα, σε μικρότερη αναλογία στους φλοιούς, ενώ η παρουσία τους στην σάρκα είναι ελάχιστη (Chira, 2009, Sun, 2001, Κουράκου-Δραγώνα, 1998).



Εικόνα 2: Δομή των προανθοκυανιδίων (τερματική και επεκτατική μονάδα) (Downey, 2003).

Οι μονομερείς φλαβαν-3-όλες που συναντώνται σε μεγαλύτερη αναλογία είναι η κατεχίνη, η ισομερής ένωση της και η επικατεχίνη, οι οποίες χαρακτηρίζονται από πικρή γεύση στην μονομερή μορφή τους. Ακόμα, σε μικρότερες ποσότητες,

βρίσκονται και οι γαλλικοί εστέρες της επικατεχίνης και η επιγαλλοκατεχίνη (Chira, 2009, Āa Monagas, 2003).

Οι ολιγομερείς και πολυμερείς φλαβαν-3-όλες λέγονται διαφορετικά και προανθοκυανιδίνες καθώς με θέρμανση σε όξινο περιβάλλον απελευθερώνουν ανθοκυανιδίνες. Ουσιαστικά πρόκειται για τις **συμπυκνωμένες ταννίνες** των σταφυλιών που απαντώνται στους οίνους προερχόμενες από τις ράγες. Οι υπομονάδες τους είναι οι μονομερείς φλαβανόλες που αναφέρθηκαν και παραπάνω και ο βαθμός πολυμερισμού τους ποικίλει, καθώς μπορεί να αποτελούνται από δύο (διμερείς) έως και περισσότερες από 40 μονάδες (πολυμερείς φλαβανόλες) (Downey, 2003, Kennedy, 2001, Teixeira, 2013). Οι προανθοκυανιδίνες είναι υπεύθυνες για τον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων όσον αφορά την στυπτικότητα και το αίσθημα πικράδας τους.

1.3.4.5. Ανθοκυάνες

Είναι οι φαινολικές ενώσεις των σταφυλιών που είναι υπεύθυνες για το ερυθρό χρώμα των οίνων. Ως επί το πλείστον συναντώνται στους φλοιούς της ράγας των σταφυλιών και σε σπάνιες περιπτώσεις στην σάρκα, όπως είναι οι ποικιλίες έγχρωμης σάρκας. Η βιοσύνθεση τους ξεκινάει κατά τον περκασμό ενώ παρουσιάζει μέγιστο κατά την περίοδο της ωρίμανσης. Οι ανθοκυανιδίνες αποτελούν την βασική δομή των ανθοκυανών και είναι άγλυκα μόρια τα οποία παρουσιάζουν μικρότερη σταθερότητα σε σχέση με την γλυκοζυλιωμένη μορφή τους, τις ανθοκυάνες. Στα σταφύλια και τους οίνους έχουν παρατηρηθεί σε μεγαλύτερη αναλογία πέντε διαφορετικά μόρια ανθοκυανών, με την πιο σταθερή δομή από αυτές να έχει το μόριο της μαλβιδίνης, η οποία επίσης υπερτερεί στις περισσότερες ερυθρές ποικιλίες. Οι άλλες τέσσερις βασικές ενώσεις ανθοκυανών που απαντώνται στα σταφύλια και τους ερυθρούς οίνους είναι η δελφινιδίνη, η πετουινιδίνη, η πεονιδίνη και η κυανιδίνη (Νικολάου, 2008).

1.4. Πτητικά συστατικά του αρώματος και η προέλευση τους

1.4.1. Κατηγοριοποίηση των αρωμάτων των οίνων ανάλογα με την προέλευση τους

Το άρωμα των οίνων είναι πολλές φορές αρκετά πολύπλοκο ως προς την μελέτη του διότι οφείλεται σε πληθώρα παραγόντων που ξεκινούν από την πρώτη ύλη και μπορούν να φτάσουν ως και την υποκειμενική αντίληψη του εκάστοτε δοκιμαστή (Moreno-Arribas & Polo, 2009).

Όσον αφορά τα πτητικά συστατικά που συνθέτουν το αρωματικό προφίλ ενός οίνου, διαχωρίζονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την προέλευση των πτητικών ενώσεων:

- **Πρωτογενή ή ποικιλιακά αρώματα (primary aroma)**, στα οποία περιλαμβάνονται ενώσεις που βρίσκονται στον φλοιό και τη σάρκα του σταφυλιού, και κατόπιν ανιχνεύονται στους παραγόμενους οίνους μετά το πέρας της οινοποίησης. Τέτοιες ενώσεις είναι τα μονοτερπένια, τα νορισοπρεονοειδή, οι μεθοξυπυραζίνες, κάποιες αλειφατικές αλκοόλες, καθώς και διάφορες θειούχες ενώσεις.
- **Δευτερογενή αρώματα (secondary aroma)**, στα οποία ανήκουν πτητικές ενώσεις οι οποίες αναπτύσσονται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Τέτοιες ενώσεις είναι οι ανώτερες αλκοόλες, τα λιπαρά οξέα και οι εστέρες τους.
- **Τριτογενή αρώματα (tertiary aroma)**, τα οποία περιλαμβάνουν πτητικές ενώσεις που εμφανίζονται κατά την ωρίμαση-παλαίωση των οίνων τόσο στο βαρέλι όσο και στην φιάλη. Οι ενώσεις που διαμορφώνουν το τριτογενές άρωμα είναι οι λακτόνες, πολλές πτητικές φαινόλες κ.α. (Ebeler, 2001)

Το πρωτογενές άρωμα προσδιορίζει την ταυτότητα του εκάστοτε οίνου καθώς προέρχεται από την πρώτη ύλη, σε σχέση με το δευτερογενές και το τριτογενές που διαφοροποιούν τους οίνους μεταξύ τους καθώς σχετίζονται περισσότερο με τις οινολογικές πρακτικές που εφαρμόζονται κατά την παραγωγή και ωρίμανση των οίνων (Forde, 2011). Βέβαια και το πρωτογενές ποικιλιακό άρωμα μπορεί να παρουσιάσει μικρές διαφορές ανάλογα με τις καλλιεργητικές τεχνικές, τις εδαφοκλιματικές συνθήκες ή τον διαφορετικό κλώνο κάποιας ποικιλίας (Cabrita, 2006, Hellman, 2003, Rolle, 2015).

Αξίζει να σημειωθεί ότι πέραν από την ποιοτική και ποσοτική ανίχνευση των πτητικών ουσιών στους οίνους, πολύ σημαντικό ρόλο ως προς την αντίληψη τους παίζει και το κατώφλι οσφρητικής αντίληψης της κάθε ένωσης. Ως κατώφλι αντίληψης ορίζεται το ποσοτικό όριο το οποίο πρέπει να ξεπεράσει ποσοτικά η κάθε πτητική ένωση, ώστε να γίνεται οσφρητικά αντιληπτή. Το ποσοτικό αυτό όριο είναι διαφορετικό για την κάθε πτητική ουσία. Έτσι λοιπόν δεν αποκλείεται να δούμε συστατικά που ανιχνεύονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα στους οίνους, έχοντας όμως χαμηλό κατώφλι αντίληψης, να παίζουν πιο καθοριστικό ρόλο στην διαμόρφωση του αρωματικού προφίλ του οίνου από άλλα που βρίσκονται μεν σε μεγαλύτερη ποσότητα αλλά έχουν αρκετά υψηλό οσφρητικό κατώφλι (Grosch, 2001, Μετάφα, 2014).

1.4.2. Πτητικά συστατικά που διαμορφώνουν το πρωτογενές άρωμα των οίνων

Τα προερχόμενα από το σταφύλι πτητικά συστατικά, που αποτελούν χαρακτηριστικές ενώσεις της εκάστοτε ποικιλίας ανάλογα βέβαια με τις εδαφοκλιματικές συνθήκες, και άλλους παράγοντες όπως είναι οι διαφορετικοί κλώνοι της, παίζουν κυρίαρχο ρόλο στην ποιότητα και στην τυπικότητα των παραγόμενων οίνων. Αποτελούν ουσιαστικά το ποικιλιακό άρωμα των οίνων το οποίο

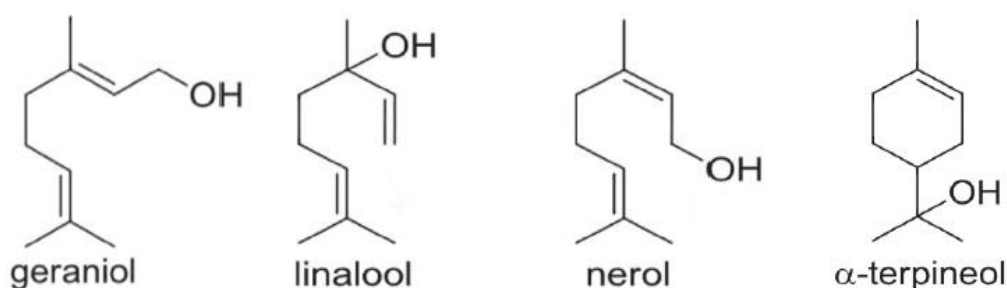
μπορεί να παρουσιάζει μικρές διαφορές, ποσοτικές ή ποιοτικές, ανάλογα και με τους παραπάνω παράγοντες (Cabrita, 2006).

Οι πτητικές ενώσεις, από ποικιλίες *Vitis vinifera*, που διαμορφώνουν συνολικά το ποικιλιακό άρωμα των οίνων ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες, με σημαντικότερες να αποτελούν: τα τερπένια, τα νορισοπρενοειδή, οι μεθοξυπυραζίνες, και κάποιες ορισμένες θειόλες και θειούχες ενώσεις. Αξίζει να σημειωθεί ότι το ποικιλιακό άρωμα μπορεί να είναι διαφορετικό από αυτό που συνθέτουν οι ενώσεις που βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή στο σταφύλι, λαμβάνοντας υπόψη επίσης τις πρόδρομες ενώσεις του σταφυλιού -άοσμες μορφές- διάφορων πτητικών ενώσεων που τελικά παίζουν σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση του τελικού ποικιλιακού αρώματος (Ribereau-Gayon, 2006).

Παρακάτω θα αναφερθούν εκτενέστερα κάποιες από τις χαρακτηριστικές ενώσεις του πρωτογενούς αρώματος των οίνων:

1.4.2.1. Τερπένια

Πρόκειται για ενώσεις που συμβάλλουν στο αρωματικό προφίλ ως επί τω πλείστον μοσχάτων ποικιλιών και άλλων ποικιλιών σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Ελεύθερες ή δεσμευμένες ενώσεις τους υπάρχουν τόσο στο γλεύκος όσο και στον οίνο (Νικολάου, 2008). Οι τερπενικές ενώσεις των σταφυλιών εμφανίζονται με την μορφή των μονοτερπενικών αλκοόλων ή των οξειδίων τους, καθώς επίσης πολλές φορές με την μορφή γλυκοζιτών (Schwab, 2013, Tholl, 2006). Μερικές τερπενικές αλκοόλες που χαρακτηρίζονται ως πιο αρωματικές είναι η λιναλόλη, η α-τερπινεόλη, η γερανιόλη, η κιτρονελόλη και η νερόλη (Νικολάου, 2008).

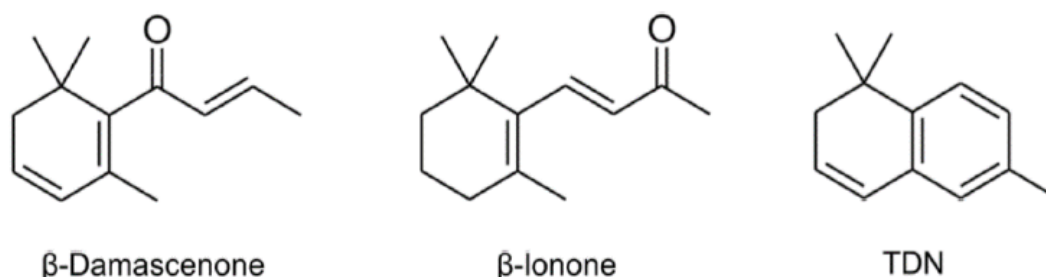


Εικόνα 3: Τερπενικές ενώσεις στο σταφύλι (Schwab, 2013)

1.4.2.2. Νορισοπρενοειδή

Πρόκειται για ενώσεις που σχηματίζονται λόγω της ενζυμικής και οξειδωτικής διάσπασης των καροτενοειδών ενώσεων του σταφυλιού με αποτέλεσμα την παραγωγή των C₁₃ Νορισοπρενοειδών. Απαντώνται υπό την μορφή γλυκοζιδιωμένων πρόδρομων ενώσεων. Δύο από τις πιο δημοφιλείς ενώσεις της κατηγορίας αυτής που συμβάλλουν στο πρωτογενές άρωμα του οίνου είναι οι β-δαμασκηνόνη, και β-ιονόνη. Αξίζει βέβαια να αναφερθεί ότι ενώσεις της ίδιας κατηγορίας όπως η ακτινιδόλη, το

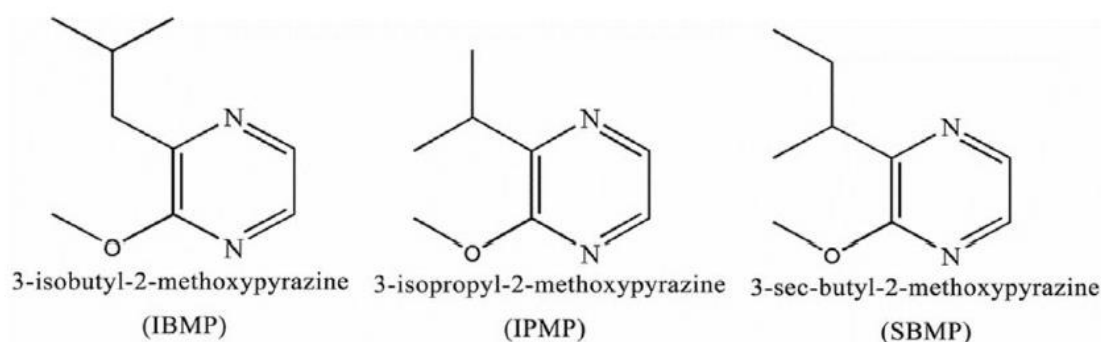
βιτισπιράνιο και το TDN (1,1,6- τριμέθυλο- 1,2 διυδ로나φθαλένιο) μπορούν να εμφανιστούν σε παλαιωμένους οίνους και κατά κύριο λόγο σε παλαιωμένους οίνους από την ποικιλία Riesling (Νικολάου, 2008).



Εικόνα 4: Νορ-ισοπρενοειδείς ενώσεις στο σταφύλι (Tarasov, 2021)

1.4.2.3. Μεθοξυπυραζίνες

Κατά την ανάπτυξη των καρπών εντοπίζονται κυρίως στους βλαστούς ενώ όσο προχωράει η ωρίμανση βρίσκονται περισσότερο στους φλοιούς και τα γίγαρτα. Η συγκέντρωση των πυραζινών στα πρώτα στάδια ωρίμανσης είναι υψηλότερη από ότι στην συνέχεια όπου παρατηρείται μείωση τους (Allen, 1991). Οι πυραζίνες είναι ετεροκυκλικές αζωτούχες ενώσεις και σχηματίζονται κατά τον μεταβολισμό των αμινοξέων. Από τις πιο δημοφιλείς ενώσεις που θυμίζουν φυτικά αρώματα πιπεριάς είναι οι 2-μέθοξυ-3-ισοβουτυλοπυραζίνη, 2-μέθοξυ-3-ισοπροπυλοπυραζίνη και η 2-μέθοξυ-ισοβουτυροπυραζίνη (Νικολάου, 2008).



Εικόνα 5: Μεθοξυπυραζίνες στο σταφύλι (Lei, 2018)

1.4.2.4. Θειούχες ενώσεις

Πρόκειται για μια μεγάλη ομάδα ενώσεων οι οποίες μπορεί να έχουν τόσο θετικό όσο και αρνητικό ρόλο στο άρωμα των οίνων. Σε αυτή την οικογένεια ενώσεων ανήκουν οι θειόλες, οι θειοεστέρες, οι θειοαιθέρες, τα σουλφίδια καθώς και κάποιες ετεροκυκλικές ενώσεις. Οι θειόλες αποτελούν ιδιαίτερως σημαντικές πτητικές ενώσεις και διαμορφώνουν το αρωματικό προφίλ των οίνων που παράγονται από ποικιλίες όπως το Sauvignon blanc, το Semillion, το Riesling και το Pinot gris. Δεν ανιχνεύονται απευθείας στο σταφύλι, αλλά απελευθερώνονται κατά την αλκοολική ζύμωση λόγω της ύπαρξης μη πτητικών άοσμων πρόδρομων ενώσεων. Κάποιες

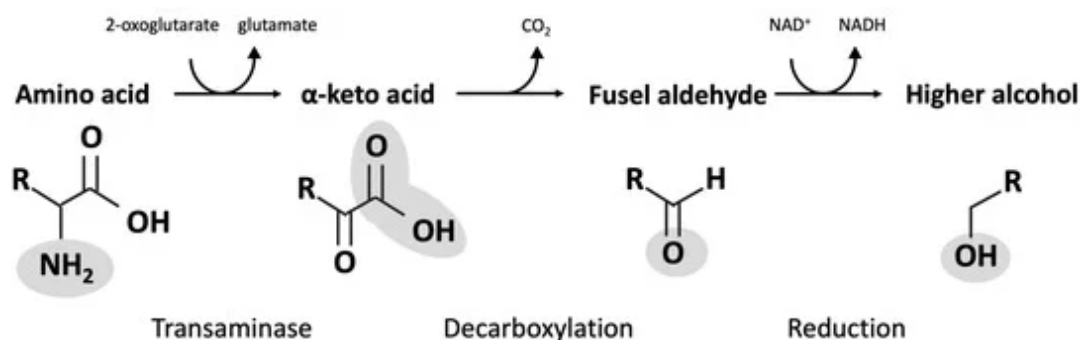
πρόδρομες ενώσεις των πτητικών θειολών όπως είναι η 3-μέρκαπτο-1-εξανόλη, 3SH (άρωμα grapefruit και passionfruit) και η 4μέρκαπτο- 4 μέθυλ-2 πεντανόνη, 4MSP (άρωμα που θυμίζει πυξό (box tree)) στο Sauvignon blanc, εντοπίζονται στο στάδιο τους ωρίμανσης του σταφυλιού και η συγκέντρωσή τους καθορίζεται τόσο από κλιματολογικούς όσο και από εδαφολογικούς παράγοντες (Helwi, 2016).

1.4.3. Πτητικά συστατικά του αρώματος κατά την αλκοολική ζύμωση

Τα δευτερογενή αρώματα (secondary aroma), αποτελούνται από πτητικές ενώσεις οι οποίες αναπτύσσονται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Τέτοιες ενώσεις είναι οι ανώτερες αλκοόλες, τα λιπαρά οξέα και οι εστέρες τους κ.α.

1.4.3.1. Ανώτερες αλκοόλες

Οι ανώτερες αλκοόλες ευθείας αλυσίδας σχηματίζονται κατά την διεξαγωγή της αλκοολικής ζύμωσης. Παράγονται από τις ζύμες, συνήθως από τα αμινοξέα των σταφυλιών μέσω της αντίδρασης Ehrlich (Berry, 2003, Κεχαγιά, 2019).



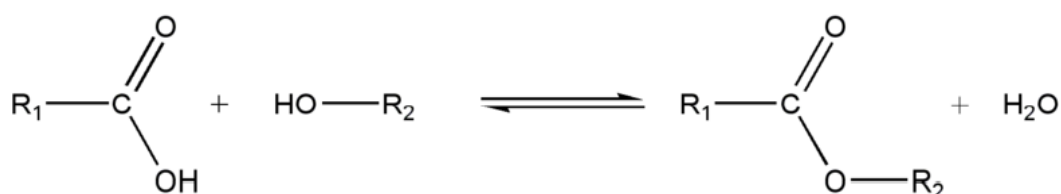
Εικόνα 6: Βιοσύνθεση ανώτερων αλκοολών σύμφωνα με την αντίδραση Ehrlich (Tse, 2021)

Σε οίνους συναντώνται συχνά πτητικές ενώσεις όπως 1-προπανόλη, η 1-βουτανόλη, η ισοβουτανόλη, η 2-μέθυλο-1-βουτανόλη και η 3-μέθυλο-1-βουτανόλη. Επίσης συχνά ανιχνεύονται αλκοόλες όπως η εξανόλη, η επτανόλη και η οκτανόλη, καθώς και η φαίνυλο-2-αιθανόλη. Οι ανώτερες αλκοόλες βρίσκονται συχνά σε αυξημένες συγκεντρώσεις στους οίνους προσδίδοντας ευχάριστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Όταν όμως η περιεκτικότητά τους ξεπεράσει τα 450 mg/L θεωρείται ότι πλέον προσδίδουν βαριά οσμή και τελικά μπορεί να γίνουν αρωματικά ανεπιθύμητες (Κεχαγιά, 2019).

1.4.3.2. Εστέρες

Οι εστέρες, στο μεγαλύτερο μέρος τους, σχηματίζονται κατά την πορεία της αλκοολικής ζύμωσης με την ένωση μιας αλκοόλης και ενός οξέος με ταυτόχρονη απώλεια ενός μορίου νερού. Η αντίδραση της εστεροποίησης είναι αντιστρεπτή. Στο σταφύλι μπορεί να βρεθεί πολύ μικρό ποσοστό τους, ενώ κατά την παλαίωση μπορεί να σχηματιστούν οξικοί εστέρες μέσω μιας αργής χημικής αντίδρασης εστεροποίησης. Οι τελευταίοι ονομάζονται αλλιώς και μη πτητικοί εστέρες. Οι ενώσεις εστέρων που συμβάλλουν περισσότερο στο άρωμα των παραγόμενων οίνων

είναι οι μονοκαρβοξυλικοί εστέρες. Σημαντικότεροι αυτών αποτελούν εκείνοι που προκύπτουν από την αντίδραση της αιθανόλης με κορεσμένα οξέα όπως για παράδειγμα εξανοϊκό, οκτανοϊκό και δεκανοϊκό, καθώς επίσης και οι εστέρες που παράγονται από την αντίδραση οξικού οξέος και ανώτερων αλκοολών, όπως η ισοβουτυλική και η ισοαμυλική αλκοόλη. Αξίζει να αναφέρουμε πως οι ενώσεις εστέρων μικρού μοριακού βάρους μπορούν να χαρακτηριστούν ως φρουτώδεις πτητικές ενώσεις των οίνων (Killiam, 1979).



Εικόνα 7: Αντίδραση Εστεροποίησης

1.4.3.3. Πτητικά οξέα

Πρόκειται για τα οξέα που ανιχνεύονται στους οίνους και μπορεί να διαθέτουν από 2-12 άτομα άνθρακα. Λιπαρά οξέα με 5 έως 12 άτομα άνθρακα εμφανίζουν ουδετερότητα ως προς το οσφρητικό τους αποτέλεσμα στους οίνους, όμως δίνουν ευχάριστους από αρωματικής άποψης εστέρες. Τα οξέα μεγαλύτερου μοριακού βάρους δεν προσφέρουν οργανοληπτικά στο αρωματικό προφίλ των οίνων. Γενικότερα, τα οξέα συγχέονται με δυσάρεστα αρώματα, ειδικά όταν εντοπίζονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, όμως σε μικρότερη ποσότητα συμβάλλουν θετικά στην οσφρητική ισορροπία και πολυπλοκότητα των οίνων. Μάλιστα, ακόμη και το οξικό οξύ, το οποίο ευθύνεται για την αύξηση της πτητικής οξύτητας όταν βρεθεί σε ποσότητα μεγαλύτερη από 0,8 g/L, σε περιπτώσεις ανίχνευσης του σε μικρότερες συγκεντρώσεις έχει παρατηρηθεί ότι συμβάλει στην πολυπλοκότητα του αρωματικού χαρακτήρα των οίνων (Κεχαγιά, 2019).

1.5. Κλωνική επιλογή

Από την απόφαση του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων τον Μάιο του 2016 «Κλωνική επιλογή είναι η διαδικασία επιλογής κλώνων ποικιλιών αμπέλου με βάση την γενετική τους ιδιαιτερότητα και σταθερότητα, με σκοπό την γενετική φυτουγειονομική βελτίωση των ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) καθώς και των ανθεκτικών στην ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας υποκειμένων για την παραγωγή επιλεγμένων και επίσημα αποδεκτών κλώνων αυτών, και καθορίζονται οι διαδικασίες επιλογής και πιστοποίησης. Η επιλογή υποψηφίου κλώνου εφαρμόζεται στις καλλιεργούμενες ποικιλίες αμπέλου της Χώρας (*Vitis vinifera* L.) και στα ανθεκτικά στη ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας υποκείμενα που είναι εγγεγραμμένα στον εθνικό κατάλογο ποικιλιών αμπέλου.»

Τα κύρια αντικείμενα της κλωνικής επιλογής είναι η παραγωγή κλώνων που στοχεύουν στην βελτίωση των ποσοτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών των ποικιλιών, άρα και των παραγόμενων οίνων τους εκτενέστερα, καθώς και η δημιουργία πληθυσμών που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε ιούς και που προέρχονται από υγιή μητρικά φυτά (Lacombe, 2004). Κατόπιν, κατά αυτόν τον τρόπο αυξάνεται επίσης η διάρκεια ζωής και βιωσιμότητα του αμπελώνα οπότε παρέχεται φαινομενικά εγγύηση στον αμπελουργό-χρήστη του φυτικού υλικού (Μπακασιέτας, 2022).

Όπως προαναφέρθηκε, εξ ορισμού οι τύποι της κλωνικής επιλογής είναι η φυτοϋγειονομική και η γενετική επιλογή. Όσον αφορά την φυτοϋγειονομική επιλογή, το φυτό της αμπέλου παρουσιάζει διαφοροποίηση (ανθεκτικότητα) ως προς τον αριθμό των ιώσεων που πιθανόν να προσβληθεί (Μπακασιέτας, 2022). Οπότε με την παραγωγή ενός υγιούς και ανθεκτικού πολλαπλασιαστικού υλικού επιτυγχάνουμε την διάσωση κλώνων γηγενών ποικιλιών με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, αυξάνεται ο μέσος όρος ζωής του αμπελώνα, καθώς επίσης μεγαλώνει η ανταγωνιστικότητα και το κέρδος των Ελλήνων οινοπαραγωγών λόγω της παραγωγής ελληνικών οίνων βέλτιστης ποιότητας (Σαββίδης, 2009).

Η γενετική επιλογή αναφέρεται στα φυτά που διαφοροποιούνται γενετικά, αγρονομικά ή τεχνολογικά, δηλαδή παρουσιάζουν παραλλακτικότητα στα χαρακτηριστικά (Μπακασιέτας, 2022):

1. του φύλλου (πυκνότητα χνοασμού, χρώμα ελάσματος φύλλου, αριθμός λοβών),
2. του βλαστού (χρώμα οφθαλμών, ευρωστία),
3. της ράγας (σχήμα, μέγεθος, φλοιός, κηρώδης χνοασμός),
4. του σταφυλιού (γονιμότητα, μέγεθος, πυκνότητα),

Καθώς επίσης:

5. στην φαινολογία (ημερομηνία ωρίμανσης),
6. στην ποιότητα (οξύτητα, χρώμα, φαινορικά συστατικά, αρωματική περιεκτικότητα).

Για παράδειγμα, έχει διαπιστωθεί ότι η διάμετρος των ραγών της κάθε ποικιλίας μπορεί να αποτελέσει βασικό ποιοτικό παράγοντα για την παρουσία και το ποσοστό των συστατικών της ράγας της. Το μέγεθος των ραγών αποτελεί σημαντικό παράγοντα ποιότητας των οινοποιησίμων ποικιλιών καθώς σχετίζεται με την αναλογία φλοιού προς σάρκα στην ράγα (Rolle, 2015). Πιο αναλυτικά, σύμφωνα με έρευνες, έχει παρατηρηθεί ότι οι μικρότερες ράγες έχουν βέλτιστο χρώμα, τανίνες και αρωματικές ενώσεις σε σχέση με ράγες μεγαλύτερης διαμέτρου, και αυτό γιατί μικρότερη σε μέγεθος ράγα του σταφυλιού σημαίνει ότι έχουμε μεγαλύτερο ποσοστό φλοιού στην συνολική της μάζα (Hellman, 2003). Γενικότερα, έχει διαπιστωθεί ότι οι

μικρότερου μεγέθους ράγες περιλαμβάνουν στους φλοιούς τους και μεγαλύτερη συγκέντρωση όλων αυτών των ποιοτικών ενώσεων. Τέλος το μέγεθος της ράγας θα μπορούσε ίσως να συμπεριληφθεί και ως παράγοντας ποιότητας και στις επιτραπέζιες ποικιλίες (Rolle, 2015).

1.6. Η ποικιλία Μαλαγουζιά

1.6.1. Ιστορική αναδρομή

Η Μαλαγουζιά αυτή την στιγμή αποτελεί μια από τις πιο δημοφιλείς ποικιλίες του ελληνικού αμπελώνα και αυτό λόγω πανεπιστημιακών καθηγητών, επιστημόνων στον χώρο του κρασιού, οινολόγων και οινοπαραγωγών που την ανέσुरαν από την λήθη. Η Μαλαγουζιά πριν από την δεκαετία του 1970 ήταν μια ποικιλία που βρισκόταν στην αφάνεια. Ελάχιστοι την γνώριζαν.

Πιο αναλυτικά, όλα ξεκίνησαν όταν την δεκαετία του 1970 ο καθηγητής Βασίλειος Λογοθέτης δέχθηκε να σχεδιάσει τον αμπελώνα και να εποπτεύσει τις φυτεύσεις των 4.500 στρεμμάτων του Γιάννη Καρρά στην Σιθωνία Χαλκιδικής. Σε συνεργασία με την Σταυρούλα Κουράκου, Διευθύντρια του Ινστιτούτου Οίνου, ξεκίνησαν να σχεδιάζουν τις ποικιλίες και τις φυτεύσεις στο Κτήμα Πόρτο Καρρά. Ανάμεσα σε άλλες ποικιλίες, ο Χαραλάμπος Κοτίνης Γεωπόνος τότε της Επιθεώρησης Γεωργίας Πατρών έστειλε κάποιες εμβολιοκληματίδες της ποικιλίας Μαλαγουζιά στο Ινστιτούτο Αμπέλου, αδελφό ίδρυμα του Ινστιτούτου Οίνου. Έτσι αποφασίστηκε να στείλουν ένα μέρος αυτών στον καθηγητή Λογοθέτη ώστε να φυτευτούν μαζί με άλλες ελληνικές ποικιλίες στον αμπελώνα Καρρά.

Το δυναμικό και την ποιότητα της Μαλαγουζιάς διαπίστωσε και επισήμανε ο Γεωπόνος-Οινολόγος του Κτήματος Καρρά Βαγγέλης Γεροβασιλείου, ο οποίος επί είκοσι ένα χρόνια είχε και την αποκλειστική ευθύνη παραγωγής των οίνων του Porto Carras. Λίγα χρόνια αργότερα, το 1981 ο ίδιος αποφάσισε να δημιουργήσει το δικό του εγχείρημα στον τόπο του την Επανομή, όπου και φύτευσε Μαλαγουζιά στο μεγαλύτερο μέρος του, αλλά και άλλες ελληνικές ποικιλίες όπως το Ασύρτικο. Τότε ξεκινάει να παράγει ποιοτικούς οίνους της ποικιλίας, αποσπώντας διεθνή βραβεία σε διαγωνισμούς οίνων με αποτέλεσμα η ποικιλία να αρχίσει να διαδίδεται ευρέως, φτάνοντας σήμερα να είναι μια από τις πιο δημοφιλείς και αγαπητές λευκές ποικιλίες της Ελλάδας (Κουράκου, 2016).

1.6.2. Προέλευση και Πολλαπλασιασμός της ποικιλίας

Άλλες ονομασίες που έχουν αποδοθεί στην ποικιλία Μαλαγουζιά είναι «Μελαουζιά» και «Μιλαγηζάς». Η ποικιλία καλλιεργούνταν κυρίως στον κάμπο της Αιτωλοακαρνανίας και πιο συγκεκριμένα στις πεδινές περιοχές στο Νεοχώρι Μεσολογγίου, στην δυτική Ναυπακτία καθώς επίσης κάποιες φυτεύσεις υπήρχαν και σε περιοχές της Αχαΐας. Αργότερα μετά την διάσωση της ποικιλίας από την παραλίγο ολοκληρωτική εξαφάνιση της, η Μαλαγουζιά παρουσιάζει αξιόλογα αποτελέσματα

στην χερσόνησο της Χαλκιδικής στην περιοχή Σιθωνία (Κτήμα Πόρτο Καρράς), στην Επανομή Θεσσαλονίκης (Κτήμα Γεροβασιλείου), καθώς και σε άλλες περιοχές της χώρας. Πλέον, σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία, οι περιοχές που συνιστάται η καλλιέργεια της ποικιλίας είναι οι αμπελουργικές ζώνες της Πελοποννήσου, της Θράκης, της Κεντρικής Μακεδονίας, των νησιών του Ιονίου, της Θεσσαλίας στις περιοχές των Τρικάλων και της Καρδίτσας, ενώ επίσης επιτρέπεται στους αμπελώνες του Αιγαίου, και πιο συγκεκριμένα στις Κυκλάδες και στα Δωδεκάνησα (Gerovassileiou, 2016, Σταύρακας, 2010).



Εικόνα 8: Η ποικιλία Μαλαγουζιά (Μπακασιέτας, 2022)

1.6.3. Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά

Τα αμπελογραφικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1: Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας Μαλαγουζιά, (Σταύρακας, 2010)

Μέρη φυτού	Χαρακτηριστικά
Κορυφή νέου βλαστού	Μέση έως ανοιχτή, έντονα χνουδωτή, λευκοπράσινου χρώματος με παρυφές ελαφρά ερυθρωπές.
Φύλλο αναπτυγμένο	Μέσου έως μεγάλου μεγέθους, σφηνοειδές και πεντάλοβο, με ανώτερους βαθείς πλάγιους κόλπους, ροπαλοειδούς σχήματος με επικαλυπτόμενα χείλη. Οι κατώτεροι είναι μέσου βάθους. Ο μισχικός κόλπος έχει σχήμα λύρας ή U κλειστού.

Έλασμα	Ελαφρώς κυματώδες, με χρώμα βαθυπράσινο, γυαλιστερό και λείο στην άνω επιφάνεια. Στην κάτω επιφάνεια έχει ανοιχτό πράσινο χρώμα, είναι ελαφρώς χνουδωτό. Εμφανίζει κύριες εξέχουσες νευρώσεις στην κάτω επιφάνεια με λευκοπράσινο χρώμα, ελαφρώς χνουδωτές, πλευρές σχεδόν κυρτές, μέσου μεγέθους.
Άνθη	Μορφολογικά και φυσιολογικά ερμαφρόδιτα.
Σταφυλή	Μεγάλη, κυλινδροκωνική και ενίοτε πτερυγική, με πυκνή διάταξη. Ο μίσχος είναι μέσου μήκους ξυλοποιημένος μέχρι ένα σημείο ή και ολόκληρος.
Ράγα	Ράγα μέσου έως μεγάλου μεγέθους με σχήμα σφαιρικό έως και ωσειδές (Σταύρακας, 2010). Σε χρώμα είναι πράσινοκιτρινή έως κιτρινοπράσινη χρυσίζουσα, και ο φλοιός της είναι μέσου πάχους. Η επιδερμίδα είναι διαφανή και παρουσιάζει λεπτή ανθηρότητα. Η σάρκα είναι μέτριας ανθεκτικότητας έως μαλακή και χυμώδης. Σε γεύση είναι γλυκιά και ευχάριστη με πλούσιο άρωμα.

1.6.4. Ιδιότητες

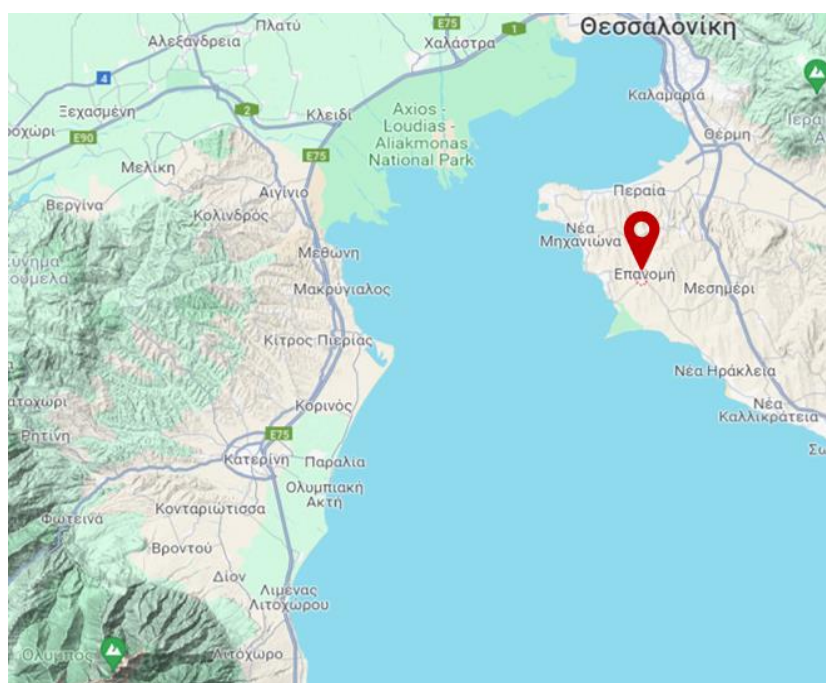
Η Μαλαγουζιά θεωρείται ζωντανή ποικιλία με σταθερή παραγωγή περίπου 2 σταφυλές ανά καρποφόρο βλαστό. Έχει παρατηρηθεί καλή απόδοση χωρίς προβλήματα συμβατότητας με τα υποκείμενα 110 R, 1.103 P, 140 Ru και 41B. Τα συστήματα διαμόρφωσης που επιλέγονται γενικότερα για την Μαλαγουζιά καθώς επίσης και στο Κτήμα Γεροβασιλείου όπου και διεξάγεται το πείραμα της μελέτης, είναι είτε το Guyot Double (Γραμμικό σχήμα με ανανεούμενες καρποφόρες μονάδες), είτε το Royat Double (Γραμμικό σχήμα με μόνιμες καρποφόρες μονάδες). Αντιστοίχως ανά περίπτωση γίνεται βραχύ κλάδεμα με 2-3 μάτια και μακρύ κλάδεμα με 5-7 μάτια (Σταύρακας, 2010).



Εικόνα 9: Τσαμπί και φύλλο Μαλαγουζιάς (Σειτανίδου, 2024).

Όσον αφορά τις παρατηρήσεις που έχουν γίνει ανά τα χρόνια στο Κτήμα Γεροβασιλείου καθώς επίσης και σύμφωνα με βιβλιογραφικές αναφορές, έχει διαπιστωθεί ότι η ποικιλία είναι περισσότερο ευαίσθητη σε ασθένειες όπως ο περονόσπορος, το ωίδιο και η φαιά σήψη (βοτρύτης) ενώ παρουσιάζει μεγάλη ανθεκτικότητα σε συνθήκες ξηρασίας. Επίσης σχετικά με τα στάδια ανάπτυξης της ποικιλίας κατά τον ετήσιο κύκλο της αμπέλου έχει παρατηρηθεί σύμφωνα με τα δεδομένα των τελευταίων χρόνων ότι η εκβλάστηση λαμβάνει χώρα περίπου το διάστημα 15-30 Μαρτίου, η άνθηση 15-25 Μαΐου, ο περκασμός μεταξύ 15-30 Ιουλίου και η τεχνολογική ωρίμανση περίπου 10-25 Αυγούστου. (Gerovassileiou, 2016, gerovassiliou.gr, Σταύρακας, 2010)

1.7. Χαρακτηριστικά της γεωγραφικής περιοχής καλλιέργειας



Εικόνα 10: Γεωγραφική περιοχή καλλιέργειας της ποικιλίας του πειράματος

Η αμπελουργική περιοχή της Επανομής, βρίσκεται νοτιοανατολικά της Θεσσαλονίκης και χαρακτηρίζεται από μεσογειακό κλίμα. Η μέση ετήσια θερμοκρασία φτάνει τους 16°C, ενώ η μέση ετήσια βροχόπτωση διαμορφώνεται περίπου στα 550mm. Κατά τις πρώτες πρωινές ώρες παρατηρείται μια έντονη δροσιά, η οποία ευνοεί την μικρότερη διαπνοή. Ο μέτριος ξηρός βόρειος άνεμος αποτρέπει την εξάπλωση της υγρασίας και μειώνει τον κίνδυνο ασθενειών. Το έδαφος της περιοχής είναι αμμοαργιλώδες-αργιλοπυλώδες με αλκαλικό pH. Η συγκέντρωση του ανθρακικού ασβεστίου είναι τέτοια που διευκολύνει την δομή του εδάφους και την αποστράγγιση του, ενώ παρατηρείται επίσης μεγάλη ποσότητα και αποθήκευση θρεπτικών συστατικών λόγω της υψηλής συγκέντρωσης σε άργιλο. Τέλος η συγκέντρωση των οργανικών ενώσεων κυμαίνεται σε μέτρια επίπεδα, συμβάλλοντας κατά αυτόν τον τρόπο στην καλή δομή και αποστράγγιση του εδάφους. Τα εδάφη

είναι επικλινή και οι κλίσεις του θεωρούνται μικρές έως μεσαίες. (Gerovassileiou, 2016).

1.7.1. Ο ιδιόκτητος αμπελώνας καλλιέργειας της ποικιλίας

Η καλλιέργεια της ποικιλίας Μαλαγουζιά η οποία έχει μελετηθεί στην παρούσα διπλωματική διατριβή, γίνεται στον ιδιόκτητο αμπελώνα του Κτήματος Γεροβασιλείου, ο οποίος βρίσκεται στην περιοχή της Επανομής. Το κλίμα της περιοχής όπως προαναφέρθηκε είναι μεσογειακό και χαρακτηρίζεται από ήπιους χειμώνες και θερμά καλοκαίρια, τα οποία μετριαζονται από τις δροσερές θαλασσινές αύρες. Ο αμπελώνας συνορεύει με την θάλασσα στις τρεις πλευρές του. Η απόσταση από την θάλασσα έκταση είναι περίπου τέσσερα χιλιόμετρα. Το έδαφος του αμπελώνα είναι κυρίως αμμώδες με κάποια πηλώδη υποστρώματα και ασβεστολιθικά πετρώματα, ενώ έχουν βρεθεί και θαλασσινά απολιθώματα λόγω του του σχηματισμού της λοφώδους έκτασης από προσχώσεις της θάλασσας.



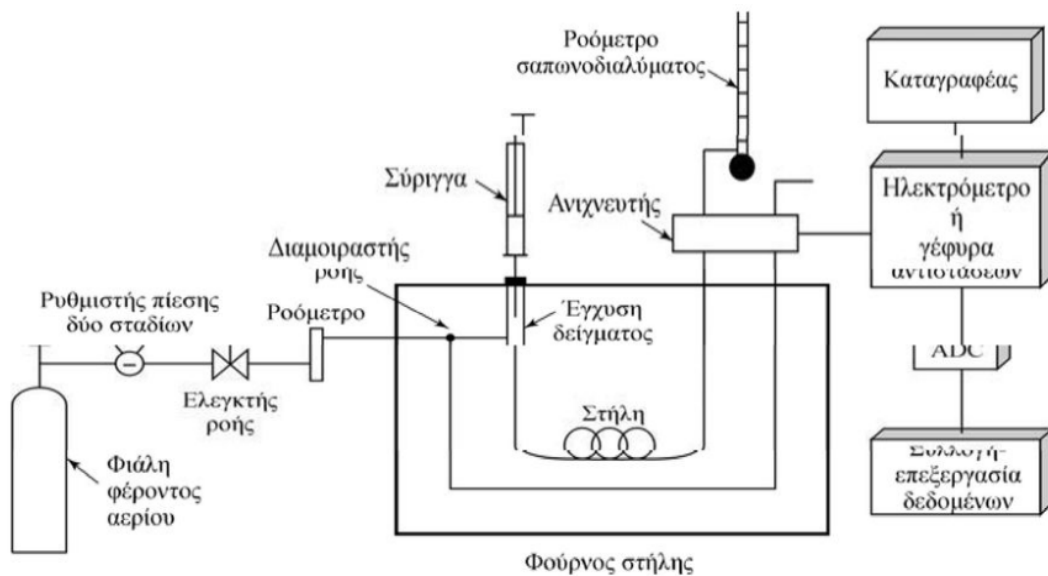
Εικόνα 11: Ο ιδιόκτητος αμπελώνας του Κτήματος Γεροβασιλείου, (Gerovassileiou, 2016)

Τέλος, ο αμπελώνας καλλιεργείται σύμφωνα με τα πρότυπα του Συστήματος της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης. Στόχος είναι η παραγωγή σταφυλιών προς οινοποίηση με διαδικασία πιστοποιημένη κατά AGRO 2.1-2.2., τηρώντας όλες τις προδιαγραφές ποιότητας και ασφάλειας (Gerovassileiou, 2016).

1.8. Αναλυτικές τεχνικές

1.8.1. Αέρια χρωματογραφία

Η αναλυτική τεχνική της αέριας χρωματογραφίας (Gas Chromatography – GC) χρησιμοποιείται για την ανάλυση πτητικών ενώσεων-συστατικών σε τρόφιμα, οίνους, φαρμακευτικά προϊόντα, στην βιομηχανία αρωματοποιίας, περιβαλλοντικά δείγματα κτλ. Ως τεχνική ανάλυσης είναι περισσότερο διαδεδομένη τα τελευταία τριάντα χρόνια.



Εικόνα 12: Διάταξη Αέριου Χρωματογράφου (GC)

Στα βασικά της σημεία, αρχικά από την φιάλη υψηλής πίεσης εξέρχεται το φέρον αέριο και οι ρυθμιστές παροχής το κατευθύνουν προς την στήλη. Με την βοήθεια μικροσύριγγας εισάγεται το δείγμα στην κορυφή της στήλης. Στην συνέχεια το φέρον αέριο συμπαρασύρει τα συστατικά του δείγματος μέσα στην στήλη και τελικά προκύπτει ο διαχωρισμός τους. Ο ανιχνευτής εντοπίζει τα διάφορα κλάσματα και το τελικό σύστημα ενίσχυσης και καταγραφής των δεδομένων καταγράφει απευθείας τα σήματα ανίχνευσης (Σαμανίδου, 2001).

Η κύρια οργανολογία της αέριας χρωματογραφίας (GC) περιλαμβάνει τα παρακάτω μέρη (πίνακας 2):

Πίνακας 2: Οργανολογία Αέριας Χρωματογραφίας, (Σαμανίδου, 2001)

Μέρη GC	Λειτουργία
Εγχυτής δείγματος/ Sample injection	Για την εισαγωγή του δείγματος στην κεφαλή της στήλης χρησιμοποιείται μια βαθμονομημένη μικροσύριγγα.
Φέρον αέριο/ Carrier Gas	Αέριο σε υπερκάθαρη κατάσταση όπως το άζωτο, το ήλιο, το αργό και το υδρογόνο.
Στήλη διαχωρισμού/ Separation Column	Το κύριο μέρος του χρωματογράφου, όπου γίνεται ο διαχωρισμός

Θάλαμος φούρνου ή θερμοστάτης στήλης/ Column oven or Thermostat chambers	<p>Ο θερμοστάτης φούρνου είναι εκεί για να ελέγχει τη θερμοκρασία της στήλης για τη διεξαγωγή των εργασιών με ακρίβεια, καθώς η ταχύτητα και η ικανότητα διαχωρισμού εξαρτάται από τον παράγοντα της θερμοκρασίας.</p>
Ανιχνευτές/ Detectors	<p>Ανιχνεύει τα διάφορα κλάσματα και παράγει σήματα ανίχνευσης. Είδη ανιχνευτών που χρησιμοποιούνται:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ ανιχνευτής ιονισμού φλόγας ○ ανιχνευτής συλλήψεως ηλεκτρονίων θερμιονικός ανιχνευτής ○ φλογοφωτομετρικός ανιχνευτής ○ ανιχνευτής φασματογραφίας μάζας ○ ανιχνευτής θερμική αγωγιμότητας
Σύστημα ενίσχυσης και εγγραφής/ Amplification & Recorder system	<p>Σκοπός του συστήματος είναι να ενισχύει καταγράφει τα σήματα που προέρχονται από τον ανιχνευτή.</p>

Ένας αέριος χρωματογράφος αποτελείται από δύο κύρια τμήματα:

- ✓ Το τμήμα διαχωρισμού όπου περιλαμβάνει το φέρον αέριο και την στήλη που είναι το κύριο μέρος του χρωματογράφου.
- ✓ Το τμήμα ανάλυσης: όπου περιέχει το σύστημα ανίχνευσης, καταγραφής και αποτίμησης του σήματος του προς ανάλυση δείγματος

Ως φέρον αέριο επιλέγουμε να χρησιμοποιήσουμε κάθε αέριο που βρίσκεται σε υπερκάθαρη κατάσταση και έχει την δυνατότητα να διαχωριστεί από τα υπόλοιπα συστατικά του μίγματος εν συνεχεία όταν φτάσει στον ανιχνευτή. Τα καταλληλότερα αέρια που πληρούν τις παραπάνω προϋποθέσεις είναι το ήλιο, το αργό, το άζωτο και το υδρογόνο. Επίσης η επιλογή του αερίου γίνεται και με βάση τον τύπο του ανιχνευτή που χρησιμοποιούμε.

Η στήλη αποτελεί το κύριο μέρος του χρωματογράφου, ενώ εκείνες που συνηθίζεται να χρησιμοποιούνται είναι οι γυάλινες ή οι χαλύβδινες. Οι στήλες αυτές ονομάζονται στήλες υλικού πλήρωσης και είναι γεμάτες με υλικά, η επιλογή των οποίων έχει να κάνει με το ποια συστατικά θέλουμε κάθε φορά να διαχωρίσουμε. Σήμερα γίνεται χρήση επίσης τριχοειδών στηλών με εσωτερική κάλυψη με διάφορα υλικά.

Οι διάφορες δυνάμεις συγκράτησης και έκλυσης που αναπτύσσονται μεταξύ των συστατικών του μίγματος, η ροή του φέροντος αερίου, το υλικό πλήρωσης της στήλης ή το υλικό που επικαλύπτει το εσωτερικό της, εξασφαλίζουν και παίζουν εξαιρετικά καθοριστικό ρόλο για τον επιτυχή διαχωρισμό των συστατικών του δείγματος. Τέλος ο ανιχνευτής ανιχνεύει τα συστατικά του εκάστοτε δείγματος και στέλνει ηλεκτρικά σήματα στο καταγραφικό σύστημα (Σαμανίδου, 2001).

1.8.2. Φασματοσκοπία Μάζας

Η αρχή λειτουργίας της φασματομετρίας μάζας (Mass Spectrometry - MS) στηρίζεται στην δημιουργία ιόντων (κατιόντων κυρίως) των ενώσεων, ενώ παρέχει πληροφορίες για τον λόγο μάζα προς φορτίο (m/z) με βάση τον οποίο γίνεται ο διαχωρισμός τους, και τελικά η καταγραφή τους. Έτσι προκύπτει ο προσδιορισμός του μοριακού βάρους των ενώσεων, και το πως οι διάφορες ομάδες της ίδιας ένωσης ενώνονται μεταξύ τους.

Τα βασικά στάδια λειτουργίας του φασματομέτρου μαζών είναι τα εξής:

1. Ο ιονισμός του προς ανάλυση δείγματος
2. Η επιτάχυνση των ιόντων μέσω ηλεκτρικού πεδίου
3. Ο διαχωρισμός των ιόντων με βάση τον λόγο m/z
4. Η ανίχνευση των ιόντων και η παραγωγή σημάτων προς το σύστημα καταγραφής (Σαμανίδου, 2001)

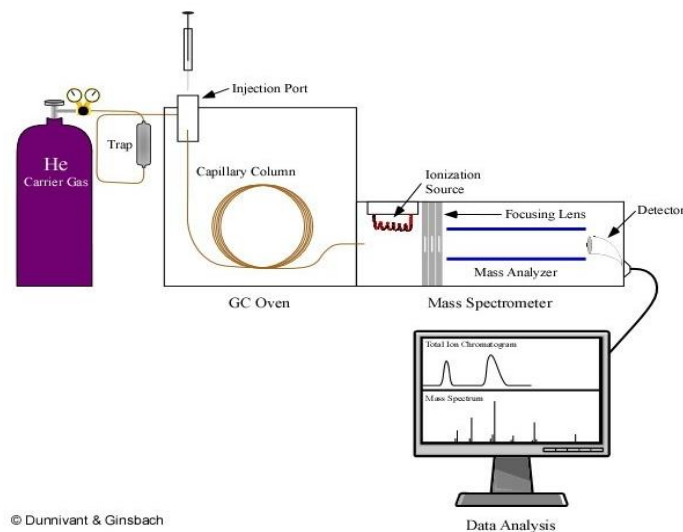
Η κύρια οργανολογία των φασματομέτρων μάζας (MS) περιλαμβάνει τα μέρη που αναφέρονται στον πίνακα 3:

Πίνακας 3: Οργανολογία φασματομέτρου μάζας MS (Σαμανίδου, 2001)

Μέρη MS	Λειτουργία
Θάλαμο-Πηγή ιονισμού	Εκεί γίνεται η παραγωγή των ιόντων και η επιτάχυνση τους προς τον αναλυτή μάζας
Αναλυτής μαζών	Γίνεται ο διαχωρισμός των ιόντων που παράχθηκαν σύμφωνα με τον λόγο μάζα προς φορτίο (m/z). Είδη αναλυτών μάζας: <ul style="list-style-type: none"> ○ Απλής εστίασης ○ Διπλής εστίασης ○ Χρόνου πτήσης (Time of Flight) ○ Τετραπολικοί αναλυτές ○ Παγίδας ιόντος (ion trap)

<p style="text-align: center;">Ανιχνευτής</p>	<p>Ανιχνεύει των ιόντων και παραγωγή σήματος προς το καταγραφικό σύστημα.</p> <p>Είδη ανιχνευτών:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Συλλέκτης Faraday Cup ○ Πολλαπλασιαστής ηλεκτρονίων ○ Φωτογραφική πλάκα ○ Διάταξη καναλικών πολλαπλασιαστών ηλεκτρονίων
<p style="text-align: center;">Καταγραφικό σύστημα</p>	<p>Καταγράφει τα σήματα του ανιχνευτή</p>

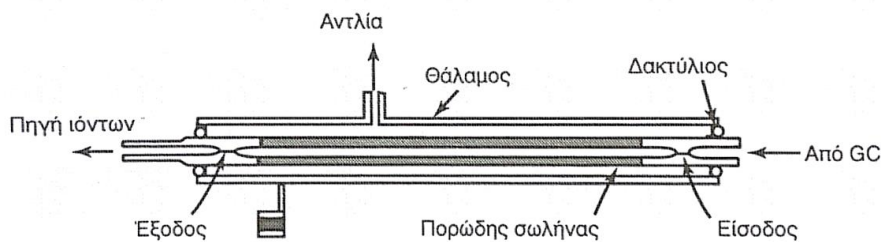
1.8.3. GC-MS (Gas Chromatography - Mass Spectrometry)



Εικόνα 13: Οργανολογία GC-MS, (Ένωση Ελλήνων Χημικών (Περιφερειακό Τμήμα Κρήτης)

Όπως αναφέρθηκε, η GC ανάλυση αποτελεί κυρίαρχη αναλυτική τεχνική στον τομέα της βιομηχανίας τροφίμων, και φυσικά στον διαχωρισμό πτητικών ενώσεων. Ως τεχνική διακρίνεται από ταχύτητα ανάλυσης, τον καλό διαχωρισμό, τα άριστα ποσοτικά αποτελέσματα καθώς επίσης και μέτριες δαπάνες. Όμως, δεν έχει την δυνατότητα να επιβεβαιώσει με ακρίβεια την ταυτότητα ή την δομή των κορυφών της, οπότε πολλές φορές συνδυάζεται με την φασματομετρία μάζας MS, η οποία παρουσιάζει μεγάλη ικανότητα ταυτοποίησης (Καψημάλη, 2008).

Όσο αφορά την σύζευξη των δύο συσκευών, χαρακτηρίζεται σχετικά απλή. Όμως αξίζει να αναφερθεί η διαφορά πίεσης που απαιτείται για την λειτουργία μεταξύ του GC και MS αναλυτή. Στην περίπτωση της GC ανάλυσης απαιτείται υψηλότερη πίεση (περίπου 10^5 Pa), ενώ η MS λειτουργεί σε συνθήκες υψηλού κενού (10^{-3} Pa για ιονισμό ηλεκτρονίων ή 10 Pa για χημικό ιονισμό). Επομένως πρέπει να διαχωριστεί το δείγμα από το φέρον αέριο κατά την εισαγωγή του από τον αέριο χρωματογράφο στο φασματόμετρο μάζας. Αυτό μπορεί να εξασφαλιστεί με διατάξεις σύζευξης οι οποίες βασίζονται στις φυσικές ιδιότητες των αερίων (Σαμανίδου, 2001).



Εικόνα 14: Παράδειγμα διάταξης σύζευξης αέριου χρωματογράφου με φασματοόμετρο μαζών (Σαμανίδου, 2001)

1.9. Σκοπός της μελέτης

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή θα γίνει μελέτη της ποικιλίας Μαλαγουζιά και μάλιστα σύγκριση του standard βιότυπου της Μαλαγουζιάς με πρώτη ύλη που προήλθε από έναν βιότυπο της ποικιλίας στον οποίο έχει παρατηρηθεί μικρότερο μέγεθος ράγας. Η σύγκριση αφορά γλεύκη και οίνους που προέκυψαν από πρέμνα τα οποία βρίσκονται σε διαφορετικά σημεία του ίδιου ενιαίου αμπελώνα όπου υπάρχουν οι φυτεύσεις της ποικιλίας Μαλαγουζιά στην Επανομή και για τις δύο περιπτώσεις βιότυπων. Τέλος η σύγκριση και η πιθανότητα διαφορών ή όχι θα διαπιστωθεί στα γλεύκη και στους οίνους με προσδιορισμό των χαρακτηριστικών τους παραμέτρων μέσω των βασικών αναλύσεων, αλλά και με μελέτη του πτητικού και οργανοληπτικού προφίλ των οίνων.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Πειραματικός σχεδιασμός - Κωδικοποίηση

Για την διεξαγωγή του πειράματος, κατά την αμπελουργική χρονιά 2022, έγινε μελέτη των σταδίων ωρίμανσης των σταφυλιών σε πρέμνα του αμπελώνα που επισημάνθηκαν να χρησιμοποιηθούν κατά την διάρκεια της μελέτης και που αφορούσαν δύο τύπους Μαλαγουζιάς, τον standard βιότυπο της ποικιλίας και ενός βιότυπου με κυριότερο φαινοτυπικό χαρακτηριστικό το μικρότερο μέγεθος της ράγας. Στην τεχνολογική ωρίμανση, συλλέχθηκαν δείγματα σταφυλιών από τα πρέμνα των περιπτώσεων των δύο βιότυπων (βιολογικές επαναλήψεις). Πιο αναλυτικά συλλέχθηκαν:

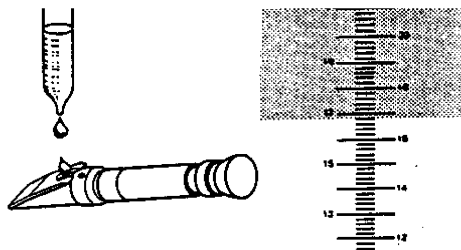
- ο τρία δείγματα του standard βιότυπου της Μαλαγουζιάς (με την μεγαλύτερη ράγα) τα οποία ονομάστηκαν ως Δ1, Δ2 και Δ3 και προήλθαν από τρία διαφορετικά σημεία του ίδιου ενιαίου αμπελώνα όπου βρίσκονται οι φυτεύσεις της ποικιλίας,
- ο τρία δείγματα του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας, τα οποία ονομάστηκαν δ1 ,δ2 και δ3, αντίστοιχα και προήλθαν από διαφορετικά σημεία του ίδιου τμήματος του ενιαίου αμπελώνα όπου βρίσκονται οι φυτεύσεις.

Από τα σταφύλια που συλλέχθηκαν, παράχθηκαν οίνοι που έφεραν την αντίστοιχη κωδικοποίηση.

2.2. Παρακολούθηση ωρίμανσης

2.2.1. Προσδιορισμός ημερομηνίας τρυγητού - Μέτρηση σακχάρων

Ο προσδιορισμός των σακχάρων στα σταφύλια κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των σταφυλιών έγινε με την βοήθεια διαθλασίμετρου χειρός με βαθμονόμηση στους 20 °C σε βαθμούς Brix. Σχεδόν το σύνολο των διαλυτών στερεών που υπάρχουν στο γλεύκος σταφυλής αποτελείται από σάκχαρα, οπότε και η μέτρηση που θα δώσει το διαθλασίμετρο σε δείγμα χυμού σταφυλής αντιστοιχίζεται κατευθείαν σε συγκέντρωση σακχάρων ($^{\circ}\text{Brix}$: $\frac{\text{g σακχάρου}}{100 \text{ g διαλύματος}}$). Από την συγκέντρωση των σακχάρων στον χυμό σταφυλής προσδιορίζεται ο χρόνος του τρυγητού και ο δυναμικός αλκοολικός τίτλος του γλεύκους.



Εικόνα 15: Μέτρηση των διαλυτών στερεών με διαθλασίμετρο, (Κοτσερίδης, 2020)

Αρχικά, έγινε δειγματοληψία από διάφορα σημεία του ενιαίου αμπελώνα που βρίσκονται οι φυτεύσεις της ποικιλίας Μαλαγουζιά, και που επισημάνθηκαν για να χρησιμοποιηθούν για τις μικροοινοποιήσεις του συγκεκριμένου πειράματος. Τα δείγματα των σταφυλιών που συλλέχθηκαν, πολτοποιήθηκαν ξεχωριστά και ο χυμός τους χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση της σακχαροπεριεκτικότητας.

Μερικές σταγόνες γλεύκους τοποθετήθηκαν στο πρίσμα του διαθλασίμετρου και λήφθηκαν μετρήσεις που αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις σακχάρων σε βαθμούς Brix. Παράλληλα πραγματοποιήθηκε μέτρηση της θερμοκρασίας του χυμού ώστε να γίνει η διόρθωση της παρατηρούμενης μέτρησης στην θερμοκρασία αναφοράς (20 °C). Ακολούθησε υπολογισμός του δυναμικού αλκοολικού τίτλου (ΔΑΤ) με την βοήθεια πίνακα (Κοτσερίδης, 2020). Στην τεχνολογική ωρίμανση ακολούθησε ο τρύγος των σταφυλιών στις ημερομηνίες που φαίνονται στον πίνακα 4. Ο τρύγος της ποικιλίας Μαλαγουζιά και συνεπώς η συλλογή των σταφυλιών για τα δείγματα του πειράματος ξεκίνησε στις 28/8/2022 και ολοκληρώθηκε 2/9/2022. Τα σταφύλια από τα διαφορετικά σημεία του ίδιου ενιαίου αμπελώνα όπου βρίσκεται η ποικιλία συλλέχθηκαν σε τελάρα και μεταφέρθηκαν απευθείας στο οινοποιείο.

Πίνακας 4: Ημερομηνίες Τρυγητού των δειγμάτων Μαλαγουζιάς

Ημερομηνίες Τρυγητού των δειγμάτων	
Τρύγος δείγματος Δ1	28/8/2022
Τρύγος δείγματος Δ2	29/8/2022
Τρύγος δείγματος Δ3	30/8/2022
Τρύγος δείγματος δ1	1/9/2022
Τρύγος δείγματος δ2	2/9/2022
Τρύγος δείγματος δ3	2/9/2022

2.3. Πρωτόκολλο οινοποίησης

Η πειραματική οινοποίηση των δειγμάτων έλαβε χώρα στο Κτήμα Γεροβασιλείου. Ο απορραγισμός έγινε με την χρήση εκραγιστηρίου στο οποίο τοποθετήθηκαν τα σταφύλια από κάθε διαφορετικό σημείο και συλλέχθηκε η σταφυλομάζα τους σε πλαστικές λεκάνες. Μετά τον απορραγισμό η έκθλιψη των σταφυλιών έγινε χειρωνακτικά. Τα στερεά μέρη του καρπού απομακρύνθηκαν καθώς το γλεύκος μεταγγίστηκε στα πλαστικά δοχεία οινοποίησης. Για κάθε διαφορετικό δείγμα που προήλθε από το καθένα διαφορετικό σημείο του ενιαίου αμπελώνα της Μαλαγουζιάς, έγινε μια ξεχωριστή μικροοινοποίηση σε πλαστικούς περιέκτες χωρητικότητας 20 L. Στον κάθε περιέκτη τοποθετήθηκαν περίπου 17 L γλεύκους. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε για κάθε δείγμα την ημερομηνία που έλαβε χώρα ο τρυγητός του. Στο σύνολο διεξάχθηκαν 6 μικροοινοποιήσεις, τρεις του standard

βιοτύπου της ποικιλίας ($\Delta 1, \Delta 2, \Delta 3$) και τρεις από τα δείγματα του μικρόραγου βιότυπου της ($\delta 1, \delta 2, \delta 3$). Αφού το δείγμα συλλέχθηκε στους πλαστικούς περιέκτες, αμέσως προστέθηκαν 5 g/hL SO_2 και πηκτινολυτικό ένζυμο 1mL/hL. Τα γλεύκη αφέθηκαν για στατική απολάσπωση έως την επόμενη ημέρα. Αφού μετρήθηκε η θολερότητα στα 6 δείγματα γλεύκους, έγινε προσεκτικά μετάγγιση τους σε ίδιους πλαστικούς περιέκτες χωρητικότητας 20 L, μετρώντας ταυτόχρονα και την θολερότητα των δειγμάτων με σκοπό να φτάσει τα 170 NTU για όλα τα δείγματα.

Αφού ολοκληρώθηκαν οι παραπάνω μετρήσεις σε κάθε πλαστικό δοχείο έγινε εμβολιασμός με το ίδιο εμπορικό στέλεχος ζυμομύκητα *S. cerevisiae*, ενώ ταυτόχρονα προστέθηκε και οργανική θρέψη. Η παρακολούθηση της αλκοολικής ζύμωσης των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με καθημερινές μετρήσεις της πυκνότητας και της θερμοκρασίας του γλεύκους με την βοήθεια αραιόμετρου και ενσωματωμένου σε αυτό θερμομέτρου ώστε να εξασφαλιστεί η ομαλή διεξαγωγή της σε κάθε δείγμα. Κατά την πορεία της αλκοολικής ζύμωσης αναμένεται πτώση της πυκνότητας του γλεύκους καθώς η συγκέντρωση των σακχάρων μειώνεται λόγω της αποικοδόμησης τους από τους ζυμομύκητες, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται και η αύξηση του ποσοστού της αλκοόλης. Οι τιμές της πυκνότητας και της θερμοκρασίας για το κάθε δείγμα καταγράφονταν καθημερινά με σκοπό την παρατήρηση τους και την λήψη αποφάσεων. Περίπου στο 1/3 της πορείας της -έχοντας ως κριτήριο την πυκνότητα του γλεύκους- προστέθηκε και ανόργανη θρέψη. Για να διαπιστωθεί το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης έγιναν μετρήσεις για τον προσδιορισμό της τελικής συγκέντρωσης των αναγόντων σακχάρων στους οίνους με την μέθοδο Luff.

Μετά το πέρας της ζύμωσης, ανά τακτά χρονικά διαστήματα τα δείγματα αναδεύονταν στους περιέκτες τους, ενώ μετά από 15 ημέρες έγινε μεταφορά τους σε μικρότερα γυάλινα δοχεία των 10 L με σκοπό την πλήρωση αυτών και την απουσία οξυγόνου. Εκεί έγινε άμεσα η θείωση τους με προσθήκη 0,1 L/hL υγρού SO_2 .

Στους οίνους πραγματοποιήθηκε επίσης πρωτεϊνική σταθεροποίηση μετά από δοκιμές για τον προσδιορισμό της κατάλληλης ποσότητας μπεντονίτη με Bentotest. Τα δείγματα έδωσαν ενδείξεις σταθερότητας με συγκέντρωση μπεντονίτη 0,6 g/L.

Τέλος, οι οίνοι αφέθηκαν σε ηρεμία για άλλες 15 ημέρες για απολάσπωση και ακολούθησε εμφιάλωση. Η εμφιάλωση τους έγινε χειρωνακτικά σε γυάλινες φιάλες των 750 mL, και ο πωματισμός των φιαλών με φελλό DIAM έγινε επίσης χειρωνακτικά με την βοήθεια ταπωτικής μηχανής.

2.4. Προζυμωτικές αναλύσεις σε δείγματα γλεύκους

Κατά την παραλαβή του γλεύκους σταφυλής, αμέσως πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες αναλύσεις για το κάθε δείγμα ξεχωριστά:

- ✓ Μέτρηση σακχαροπεριεκτικότητας και υπολογισμός ΔΑΤ,
- ✓ Μέτρηση θολερότητας,
- ✓ Μέτρηση αφομοιώσιμου αζώτου,
- ✓ Μέτρηση ολικής και ενεργού (pH) οξύτητας

Ο προσδιορισμός της σακχαροπεριεκτικότητας και ο υπολογισμός του δυναμικού αλκοολικού τίτλου (ΔΑΤ) περιγράφηκε κατά την παρακολούθηση της ωρίμανσης. Οι μέθοδοι για τις υπόλοιπες παραμέτρους (ολική οξύτητα, pH, αφομοιώσιμο άζωτο και θολερότητα) καταγράφονται στην συνέχεια.

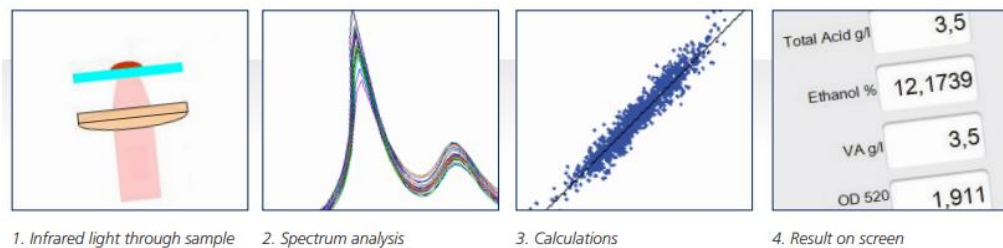
2.4.1. Μέτρηση θολερότητας (Turbidity)

Για την μέτρηση της θολερότητας στα δείγματα πριν την αλκοολική ζύμωση χρησιμοποιήθηκε νεφελόμετρο. Το νεφελόμετρο αποτελεί όργανο προσδιορισμού της έντασης των πλευρικά σκεδαζόμενων ακτινών ενός υγρού που φέρει αιωρούμενα σωματίδια. Έτσι υπολογίζεται η τιμή της θολερότητας του υγρού. Το όργανο διαθέτει θαλαμίσκο στον οποίο τοποθετείται το δείγμα μέσα σε γυάλινο φιαλίδιο. Στο εσωτερικό του θαλάμου εκπέμπεται δέσμη φωτός ώστε τα περιμετρικά φωτοκύτταρα του οργάνου να ανιχνεύσουν το ποσοστό του φωτός που σκεδάζεται. Μονάδα μέτρησης της θολερότητας είναι το NTU (Nephelometric Turbidity Unit). Για την βαθμονόμηση του οργάνου χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα.

Αρχικά λήφθηκε κατάλληλη ποσότητα δείγματος στο γυάλινο φιαλίδιο το οποίο σκουπίστηκε και στεγνώθηκε καλά εξωτερικά. Είναι σημαντικό η εξωτερική πλευρά του φιαλιδίου να είναι καθαρή ώστε να λαμβάνονται σωστές τιμές μετρήσεων. Το φιαλίδιο τοποθετήθηκε στον θαλαμίσκο του νεφελόμετρου ο οποίος έκλεισε. Μετά από λίγα δευτερόλεπτα εμφανίστηκε στην οθόνη της συσκευής η ένδειξη της τιμής της θολερότητας σε NTU.

2.4.2. Μέτρηση αφομοιώσιμου Αζώτου

Ο προσδιορισμός του αφομοιώσιμου αζώτου στα δείγματα γλεύκους έγινε με την βοήθεια αυτόματου αναλυτή OenoFoss™, ο οποίος ανταποκρίνεται σε αναλύσεις πολλαπλών παραμέτρων σε δείγματα γλεύκους ή οίνου. Η αρχή λειτουργίας της συσκευής βασίζεται στην φασματοσκοπία FTIR (Fourier Transform Infrared). Σύμφωνα με το εγχειρίδιο του αναλυτή, η αρχή της ανάλυσης FTIR περιλαμβάνει αρχικά υπέρυθη σάρωση των δειγμάτων γλεύκους ή οίνου, ενώ στην συνέχεια μέσω μαθηματικής μοντελοποίησης υπολογίζεται η περιεκτικότητα έως και δέκα διαφορετικών παραμέτρων των δειγμάτων μέσα σε χρονικό διάστημα 2 λεπτών.



Εικόνα 16: Διαδικασία ανάλυσης με αυτόματο αναλυτή Oenofoss (Εγχειρίδιο λειτουργίας Oenofoss)

Για την μέτρηση του αφομοιώσιμου αζώτου, μικρή ποσότητα του κάθε δείγματος τοποθετήθηκε ξεχωριστά με την βοήθεια πιπέτας στην υποδοχή του αναλυτή. Μετά από διάστημα περίπου 2 λεπτών δόθηκαν στην οθόνη του υπολογιστή οι τιμές που αντιστοιχούν στο αμμωνιακό άζωτο και στο άζωτο που βρίσκεται με την μορφή α-αμινοξέων στο προς μέτρηση δείγμα. Το άθροισμα των δύο μετρήσεων αποτέλεσε την τιμή του αφομοιώσιμου αζώτου στο γλεύκος.

2.4.3. Μέτρηση ενεργού οξύτητας (pH)

Η ενεργή οξύτητα ή pH εκφράζει το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και δίνουν κατιόντα H^+ . Η τιμή του pH εξαρτάται όχι μόνο από τη συγκέντρωση αλλά και από το είδος των οργανικών οξέων. Το pH των οίνων, μπορεί να βρίσκεται ανάμεσα σε τιμές που ξεκινούν περίπου από 2,8 και σε κάποιους οίνους φτάνουν έως και 4,2.

Για την μέτρηση του pH στα δείγματα γλεύκους ή οίνου χρησιμοποιήθηκε πεχάμετρο, αφού αρχικά έγινε βαθμονόμηση του οργάνου με δύο ρυθμιστικά διαλύματα γνωστού pH, και συγκεκριμένα $pH=4$ και $pH=7$.

Σε ποτήρι ζέσεως τοποθετήθηκε μαγνήτης ανάδευσης και μια επαρκής ποσότητα γλεύκους ή οίνου θερμοκρασίας περίπου 20-22 °C, και εν συνεχεία το ηλεκτρόδιο εμβαπτίστηκε πλήρως στο δείγμα χωρίς όμως να ακουμπάει στα τοιχώματα του ποτηριού ή στον μαγνήτη. Όταν η τιμή του pH σταθεροποιήθηκε η μέτρηση καταγράφηκε. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε σε όλα τα δείγματα γλεύκους και των παραγόμενων οίνων τους (Κοτσερίδης & Προξενιά, 2020).

2.4.4. Μέτρηση ολικής οξύτητας

Ως ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα ορίζεται το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων στο γλεύκος ή στον οίνο, είτε σε μοριακή κατάσταση, είτε σε μορφή ανιόντων, και η τιμή της εξαρτάται από την περιεκτικότητα του γλεύκους ή του οίνου σε ελεύθερα οργανικά οξέα. Το είδος τους δεν επηρεάζει την διαμόρφωση της τιμής της.

Η «ολική οξύτητα» έχει οριστεί από την αρμόδια επιτροπή του ΟΙV ως: το σύνολο των όξινων ομάδων που τιτλοδοτούνται όταν το pH του οίνου φέρεται στην τιμή 7 με προσθήκη πρότυπου διαλύματος αλκάλειως. Να σημειωθεί ότι το CO_2 δεν λαμβάνεται υπόψιν στον υπολογισμό, ενώ για τον καθορισμό του τέλους της

τιτλοδότησης χρησιμοποιείται είτε δείκτης κυανού της βρωμοθυμόλης που έχει περιοχή αλλαγής χρώματος το $pH=7$, είτε πεχάμετρο για την παρακολούθηση μεταβολής του pH .

Για την μέτρηση της ολικής οξύτητας, το δείγμα τιτλοδοτήθηκε με πρότυπο διάλυμα $NaOH$ 0,1 M. Αρχικά σε μια κωνική φιάλη τοποθετήθηκαν 10 mL δείγματος γλεύκους ή οίνου, λίγες σταγόνες του δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης και 30 mL απεσταγμένου νερού. Η τιτλοδότηση με το πρότυπο διάλυμα $NaOH$ 0,1 M ξεκίνησε με συνεχή ανάδευση του προς μέτρηση δείγματος έως ότου παρατηρηθεί αλλαγή του χρώματος του (κυανοπράσινη χροιά) που σημαίνει και το τέλος της αντίδρασης. Έστω «n» η τιμή των καταναλωθέντων mL (Κοτσερίδης, 2020). Πολλαπλασιαζόμενα με τον συντελεστή 0,75 λαμβάνεται η ολική οξύτητα σε g/L.

2.5. Μεταζυμωτικές αναλύσεις σε δείγματα οίνων

Η επιβεβαίωση της ολοκλήρωσης της αλκοολικής ζύμωσης έγινε με την μέθοδο προσδιορισμού αναγόντων σακχάρων Luff. Μετά την αλκοολική ζύμωση πραγματοποιήθηκαν στους παραγόμενους οίνους οι βασικές οινολογικές αναλύσεις με τις συνήθεις ή επίσημες μεθόδους του ΟΙV όπως περιγράφονται παρακάτω. Οι οίνοι σταθεροποιήθηκαν πρωτεϊνικά με χρήση κατάλληλης ποσότητας μπεντονίτη.

Πραγματοποιήθηκαν οι εξής αναλύσεις:

- ✓ Προσδιορισμός αναγόντων σακχάρων
- ✓ Υπολογισμός Αλκοολικού Τίτλου
- ✓ Μέτρηση ολικής και ενεργού (pH) οξύτητας
- ✓ Μέτρηση πτητικής οξύτητας
- ✓ Μέτρηση A_{420}
- ✓ Μέτρηση ΔFO
- ✓ Υπολογισμός ολικού και ελεύθερου SO_2

Παρακάτω αναπτύσσονται οι αναλυτικές μέθοδοι που ακολουθήθηκαν εκτός από κάποιες, που έχουν ήδη αναφερθεί στις προζυμωτικές αναλύσεις του γλεύκους.

2.5.1 Μέθοδος προσδιορισμού αναγόντων σακχάρων

Προσδιορίζοντας την περιεκτικότητα των αναγόντων σακχάρων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σε δείγματα οίνων μπορούμε να αποκτήσουμε μια καλή εικόνα των ζυμώσιμων σακχάρων. Έτσι λοιπόν τα σάκχαρα που διαθέτουν ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα, σε αλκαλικό περιβάλλον εμφανίζουν την ικανότητα αναγωγής του δισθενούς χαλκού σε μονοσθενή, με αποτέλεσμα να είναι δυνατός ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης αυτών (ανάγοντα σάκχαρα) με εφαρμογή κατάλληλης εργαστηριακής μεθόδου. Ξηροί (sec) χαρακτηρίζονται οι οίνοι με περιεκτικότητα σε σάκχαρα έως 4g/L με βάση την ελληνική νομοθεσία, ημίξηροι (demi sec) και ημίγλυκοι (demi doux) είναι οι οίνοι με περιεκτικότητα μέχρι 2-18g/L και 18-40g/L αντίστοιχα,

ενώ στους γλυκούς (doux) συγκαταλέγονται οι οίνοι με συγκέντρωση σακχάρων πάνω από 40g/L. Ο προσδιορισμός των αναγόντων σακχάρων έγινε με την μέθοδο Luff.

Αρχικά προστέθηκε ποσότητα λεπτόκοκκου ενεργού άνθρακα με σκοπό την διαύγαση του δείγματος. Στην συνέχεια σε εσφυρισμένη κωνική φιάλη των 300mL, μεταφέρθηκε ποσότητα 25mL διαυγασμένου οίνου (θεωρήθηκε πως ο οίνος είναι ξηρός με συγκέντρωση σακχάρων < 2g/L) και 25mL αλκαλικού διαλύματος χαλκού. Η εσφυρισμένη φιάλη συνδέθηκε σε κάθετο ψυκτήρα και η θέρμανση ξεκίνησε. Πραγματοποιήθηκε βρασμός για 10min, και στην συνέχεια το δείγμα κρύωσε απευθείας με τρεχούμενο νερό. Στην φιάλη προστέθηκαν 10 mL KI 30% w/v και 25mL θειικού οξέος 25%. Τέλος έγινε τιτλοδότηση με θειοθειικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1 N με δείκτη άμυλο. Έστω n mL η ποσότητα που καταναλώθηκε κατά την ογκομέτρηση. Η ίδια ποσότητα είχε γίνει αρχικά με 25mL νερού αντί για οίνο με σκοπό τον προσδιορισμό της κατανάλωσης του τυφλού δείγματος. Έστω n' τα mL που καταναλώθηκαν για το τυφλό δείγμα. Από την διαφορά των δύο καταναλώσεων και με την χρήση κατάλληλου πίνακα υπολογίστηκε τελικά η συγκέντρωση των αναγόντων σακχάρων στα δείγματα οίνου (Κοτσερίδης, 2020).

2.5.2. Μέθοδος προσδιορισμού Αλκοολικού Τίτλου

Κατά τον ΟΙV ο όρος «αλκοολικός βαθμός» έχει αντικατασταθεί πλέον ο όρος «αλκοολικός τίτλος κατ' όγκο». Έτσι λοιπόν ως «αλκοολικός τίτλος κατ' όγκο» ενός οινικού προϊόντος ορίζεται ο αριθμός των λίτρων άνυδρης αιθανόλης που περιέχεται σε 100 λίτρα του προϊόντος αυτού, όταν οι δύο όγκοι μετριοούνται σε θερμοκρασία 20 °C και συμβολίζεται ως «% vol».

Ο υπολογισμός του αλκοολικού τίτλου σε δείγματα οίνου γίνεται αρχικά με απόσταξη της αλκοόλης του οίνου και στην συνέχεια με μέτρηση του παραληφθέντος δείγματος απόσταξης με αραιομετρία. Αρχικά 200 mL οίνου τοποθετούνται σε ογκομετρική φιάλη και εν συνεχεία μετριέται η θερμοκρασία του. Ακολουθεί μετάγγιση του δείγματος στην σφαιρική φιάλη της αποστακτικής συσκευής ενώ η ογκομετρική ξεπλένεται 4-5 φορές με περίπου 5mL νερό, τα οποία προστίθεται και αυτά στην σφαιρική φιάλη. Για να γίνει αλκαλικό το περιβάλλον του δείγματος χρησιμοποιούνται 10mL εναιωρήματος $\text{Ca}(\text{OH})_2$ και για τον έλεγχο της έντασης του βρασμού τεμαχίδια ελαφρόπετρας. Το απόσταγμα συλλέγεται σε ογκομετρική των 200mL μέχρι περίπου με τα $\frac{3}{4}$ της αρχικής ποσότητας οίνου, ενώ στο τέλος γίνεται συμπλήρωση με απεσταγμένο νερό, σε θερμοκρασιακό εύρος ± 2 °C από την αρχική θερμοκρασία του δείγματος, έως ότου φτάσει στα 200 mL όγκο. Το τελικό απόσταγμα μεταγγίζεται σε ογκομετρικό κύλινδρο και γίνεται απευθείας μέτρηση με την χρήση αραιομέτρου και θερμομέτρου. Αφού επέλθει ισορροπία του αλκοολομέτρου αμέσως μετά λαμβάνεται η ένδειξη η οποία υποδεικνύει τον φαινομενικό αλκοολικό τίτλο. Η θερμοκρασία δεν θα πρέπει να αποκλίνει από την θερμοκρασία

περιβάλλοντος πάνω από 5 °C. Η τιμή που μετρήθηκε και αντιστοιχεί στον φαινομενικό αλκοολικό τίτλο διορθώνεται με την βοήθεια πίνακα (Κοτσερίδης, 2020).

Επίσης επαλήθευση της τιμής του αλκοολικού τίτλου (% vol) έγινε και με την χρήση αυτόματου αναλυτή FTIR (Oenofoss) που βρίσκεται στο εργαστήριο του Κτήματος Γεροβασιλείου.

2.5.3. Μέθοδος προσδιορισμού πτητικής οξύτητας σε δείγματα οίνου

Ως πτητική οξύτητα ορίζεται το σύνολο των οξέων της σειράς του οξικού οξέος που υπάρχουν στους οίνους ελεύθερα ή με την μορφή αλάτων. Με βάση την νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης το ανώτατο όριο στους λευκούς οίνους είναι 1,08g οξικού οξέος/L.

Για να μετρηθεί η πτητική οξύτητα του δείγματος οίνου πρέπει να απομακρυνθεί το CO₂ από το προς μέτρηση δείγμα, οπότε αρχικά τοποθετήθηκαν περίπου 50mL οίνου σε φιάλη κενού. Πραγματοποιήθηκε συστηματική ανάδευση της φιάλης ενώ ταυτόχρονα δημιουργήθηκε κενό με την βοήθεια αντλίας. Αφού αφαιρέθηκε το CO₂, 20mL του δείγματος μεταφέρθηκαν στον υποδοχέα της αποστακτικής συσκευής, ενώ προστέθηκαν επίσης 0,5g τρυγικού οξέος, και ξεκίνησε η απόσταξη και η παραλαβή του αποστάγματος. Τελικά συλλέχθηκαν 250mL αποστάγματος.

Το απόσταγμα που παραλήφθηκε ογκομετρήθηκε με διάλυμα NaOH 0,1 M με δείκτη διάλυμα φαινολοφθαλεΐνης (3-4 σταγόνες). Μόλις διαπιστώθηκε η αλλαγή χρώματος (ρόδινη χροιά), τότε καταγράφηκε ο αριθμός των η καταναλωθέντων mL. Αφού προστέθηκαν σταγόνες αραιού HCl οξέος και σταγόνες διαλύματος αμύλου έλαβε χώρα δεύτερη ογκομέτρηση με διάλυμα 0,005 M ιωδίου. Καταγράφηκε και η δεύτερη κατανάλωση η' και στην συνέχεια έγινε ο υπολογισμός της πτητικής οξύτητας με βάση τις δύο καταναλώσεις των ογκομετρήσεων (Κοτσερίδης, 2020).

2.5.4. Μέτρηση απορρόφησης στα 420nm

Η πιο σημαντική μέτρηση για την εκτίμηση τους χρώματος σε λευκούς οίνους είναι η απορρόφηση στα 420nm (κίτρινο), η οποία επίσης δείχνει και τον βαθμό οξειδωσης. Όσο μεγαλύτερη οξείδωση παρουσιάζει ένας οίνος τόσο μεγαλύτερη είναι η τιμή απορρόφησης στα 420nm.

Για την μέτρηση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο UV-Vis. Τα δείγματα αρχικά φυγοκεντρήθηκαν και στην συνέχεια τοποθετήθηκαν σε κυψελίδα ώστε να γίνει η μέτρηση στα 420nm. Για τον μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιήθηκε ως «τυφλό» δείγμα απιονισμένο νερό.

2.5.5. Δείκτης φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ)

Οι βενζολικοί δακτύλιοι των φαινολικών ενώσεων στο υπεριώδες φως παρουσιάζουν ισχυρή απορρόφηση με μέγιστο το οποίο έχει παρατηρηθεί στα

280nm. Εκεί βασίζεται και ο προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων, δηλαδή η συγκέντρωση των φλαβονοειδών φαινολών (ανθοκυάνες, ταννίνες), των μη φλαβονοειδών (φαινολικά οξέα), καθώς επίσης και κάποιων μη φαινολικών ενώσεων που απορροφούν στο φάσμα αυτό των 280 nm.

Τα δείγματα των λευκών οίνων αρχικά φυγοκεντρήθηκαν ενώ έγινε αραίωση τους με απιονισμένο νερό (1:100) με χρήση ογκομετρικής φιάλης των 100mL. Στην συνέχεια το δείγμα μεταφέρθηκε σε κυψελίδα και τοποθετήθηκε στο φασματοφωτόμετρο UV ώστε να μετρηθεί στα 280nm. Για τον μηδενισμό του οργάνου ως «τυφλό» δείγμα χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό.

2.5.6. Υπολογισμός Ολικού και Ελεύθερου SO₂

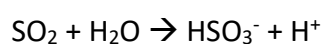
Η χρήση του θειώδη ανυδρίτη σαν οινολογική πρακτική προστασίας του γλεύκους και του οίνου, εντοπίζεται εδώ και 300 χρόνια περίπου, όμως η ορθολογική χρήση του και ελεγχόμενη ποσότητα του στους οίνους απασχολεί τον οινολογικό κλάδο περισσότερο τα τελευταία χρόνια. Οι δόσεις του, κατά τα διάφορα στάδια της οινοποίησης και παραγωγικής διαδικασίας, καθορίζονται από πληθώρα παραγόντων όπως οι συνθήκες οινοποίησης, η πρώτη ύλη, το στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας, ενώ φυσικά στόχος είναι ο οινοποιός να επωφεληθεί από τις ιδιότητες του αλλά με την προσθήκη όσο δυνατόν μικρότερης ποσότητας.

Η δράση των διαφόρων μορφών του επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως είναι το pH, η θερμοκρασία, το ποσοστό της αλκοόλης κτλ. Ο θειώδης ανυδρίτης έχει άμεση και έμμεση αντιοξειδωτική δράση, καθώς στην πρώτη περίπτωση οξειδώνεται ο ίδιος αποτρέποντας οξειδώσεις άλλων συστατικών του οίνου όπως π.χ. φαινολικές ενώσεις, ενώ στην δεύτερη περίπτωση αποτρέπει για παράδειγμα την δράση οξειδασών που καταλύουν ενζυμικές αντιδράσεις στα γλεύκη και στους οίνους. Η δράση του μπορεί να χαρακτηριστεί ως αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, καθώς επίσης και κατά περιπτώσεις ως διαυγαστική.

Σύμφωνα με τον κανονισμό 822/87 της Ε.Ε. τα όρια της επιτρεπόμενης περιεκτικότητας του ολικού θειώδη ανυδρίτη για οίνους που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση είναι 150 mg/L για ερυθρούς οίνους και 200 mg/L για λευκούς και ροζέ οίνους

Σε συγκεκριμένες περιπτώσεις, όπως όταν η περιεκτικότητα του οίνου σε ανάγοντα σάκχαρα είναι μεγαλύτερη από 5 mg/L, οι ερυθροί οίνοι επιτρέπεται να έχουν ολικό θειώδη ανυδρίτη έως και 210 mg/L, ενώ οι ροζέ και οι λευκοί έως 260 mg/L.

Στους οίνους προσδιορίζουμε συνήθως τον ελεύθερο και τον ολικό θειώδη ανυδρίτη. Η αντίδραση διάστασης του στον οίνο είναι η εξής:



Όπου SO_2 , είναι ο θειώδης ανυδρίτης που παραμένει διαλυμένος ως μοριακός και HSO_3^- , τα ανιόντα του εξουδετερωμένου θειώδους οξέος. Το άθροισμα του μοριακού και εξουδετερωμένου αποτελεί την τιμή του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη.

Ο δεσμευμένος θειώδης ανυδρίτης είναι η μορφή η οποία βρίσκεται δεσμευμένη σε ενώσεις του οίνου που διαθέτουν καρβονυλομάδες, κετονομάδες, ή αλδεϋδομάδες, καθώς ο θειώδης ανυδρίτης έχει την ιδιότητα να αλληλεπιδρά με τέτοιου είδους συστατικά προς σχηματισμό ασταθών ή σταθερών ενώσεων. Πολλές φορές οι ενώσεις αυτές λειτουργούν και ως αποθήκη SO_2 στους οίνους, όπως είναι οι περιπτώσεις ένωσης του με ελεύθερες ανθοκυάνες ή σάκχαρα (π.χ. γλυκόζη). Ως ολικός θειώδης ανυδρίτης προσδιορίζεται η συνολική ποσότητα των δύο μορφών, ελεύθερου και δεσμευμένου.

Στο εργαστήριο υπολογίστηκε η μέτρηση του ελεύθερου και του ολικού θειώδη ανυδρίτη των δειγμάτων οίνου στα διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας (Κοτσερίδης, 2020).

2.5.6.1. Μέτρηση ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη

Ο προσδιορισμός του πρέπει να γίνεται άμεσα μετά την λήψη του δείγματος καθώς οξειδώνεται από το οξυγόνο. Σε μια κωνική φιάλη των 250 mL, τοποθετήθηκαν 25 mL γλεύκος ή οίνου σε θερμοκρασία 20 °C, 2,5 mL διαλύματος H_2SO_4 25 % και 0,5mL δείκτης αμύλου. Ακολουθεί τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα I_2 0,02 N. Η μέτρηση ολοκληρώνεται όταν παρατηρηθεί σκουρόχρωμη μπλε χροιά η οποία παραμένει σταθερή και ορατή για 20-30 sec. Η κατανάλωση του I_2 καταγράφεται και στη συνέχεια γίνεται ο υπολογισμός της τιμής του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη (Κοτσερίδης, 2020).

2.5.6.2. Μέτρηση ολικού θειώδη ανυδρίτη

Σε κωνική φιάλη των 250 mL τοποθετήθηκαν 25 mL δείγματος και 25 mL διαλύματος KOH 1N. Το δείγμα ανακινήθηκε ελαφρώς και αφέθηκε σε ηρεμία για 10 λεπτά. Στην συνέχεια προστέθηκαν 5 mL H_2SO_4 25% και δείκτης 0,5mL αμύλου. Ακολουθεί τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα I_2 0,02 N. Η μέτρηση ολοκληρώνεται όταν παρατηρηθεί σκουρόχρωμη μπλε χροιά η οποία παραμένει σταθερή και ορατή για 20-30 sec. Η κατανάλωση του I_2 καταγράφεται εν συνεχεία γίνεται ο υπολογισμός της τιμής του ολικού θειώδη ανυδρίτη (Κοτσερίδης, 2020).

2.6. Πρωτεϊνική σταθεροποίηση

Η συγκέντρωση των πρωτεϊνών και η φύση τους στους διάφορους οίνους εξαρτώνται από ένα σύνολο παραγόντων, όπως είναι η ποικιλία, οι συνθήκες του περιβάλλοντος που είναι φυτεμένη, και καθώς επίσης και οι συνθήκες οινοποίησης. Η δημιουργία θολώματος ή ιζήματος σε έναν οίνο σχετίζεται με την μετουσίωση των πρωτεϊνών, όταν βρεθεί σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας. Η πρωτεϊνική αστάθεια

αποτελεί κυρίως πρόβλημα των λευκών και των ροζέ οίνων, καθώς στους ερυθρούς κατά την διάρκεια της αλκοολική ζύμωση και της ωρίμανσης, συμβαίνει αντίδραση των τανινών με τα μόρια των πρωτεϊνών, όπου τελικά καθιζάνουν.

Στα δείγματα οίνων από την ποικιλία Μαλαγουζιά της παρούσας εργασίας θεωρήθηκε απαραίτητο να πραγματοποιηθεί πρωτεϊνική σταθεροποίηση. Οι δοκιμές για τον προσδιορισμό της κατάλληλης ποσότητας μπεντονίτη έγινε με Bentotest. Για το κάθε δείγμα έγιναν 2 διαδοχικοί πειραματισμοί για την εύρεση της κατάλληλης ποσότητας μπεντονίτη που θα προσθέσουμε, με συγκεντρώσεις 0,6 g/L και 0,8 g/L. Τα δείγματα έδωσαν ενδείξεις σταθερότητας με συγκέντρωση μπεντονίτη 0,6 g/L.

Αρχικά ποσότητα οίνου μεταφέρθηκε σε φυγόκεντρο όπου φυγοκεντρήθηκε στις 5.000 rpm για 15-30 λεπτά. Το δείγμα με προσοχή φιλτραρίστηκε μέσω μιας μεμβράνης-φίλτρου. Το διηθημένο κρασί μεταγγίστηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα κατάλληλου μεγέθους, έτσι ώστε να υπάρχει αρκετός χώρος να διογκωθεί κατά την διάρκεια της θέρμανσης του. Ο σωλήνας έκλεισε με κατάλληλο πώμα, και στην συνέχεια έγινε η πρώτη μέτρηση θολερότητας (T1) με θολερόμετρο. Η μέτρηση καταγράφηκε και ο σωλήνας θερμάνθηκε σε υδατόλουτρο για περίπου 1,5 ώρα στους 90°C. Μετά το πέρας του χρόνου, το δείγμα ψύχθηκε έως ότου έφτασε τελικά σε θερμοκρασία δωματίου (περίπου 20°C). Ακολούθησε μεταφορά του στην κυψελίδα του θολερόμετρου και η καταγραφή της ένδειξη της θολερότητας (T2) μετά την θέρμανση.

Πρωτεϊνικά ασταθής θεωρείται ένας οίνο όταν η διαφορά των δύο μετρήσεων θολερότητας (T1 και T2), πριν και μετά την θέρμανση είναι μεγαλύτερη από 2 NTU. Να σημειωθεί ότι τα κριτήρια σταθερότητας του κάθε οινοποιού μέσα από την εμπειρία του μπορεί να διαφέρουν οπότε μπορεί να αρκεί 1 ή 1,5 NTU για να διαπιστωθεί πρωτεϊνική αστάθεια (Κοτσερίδης, 2017).

Αφού η παραπάνω διαδικασία διεξάχθηκε για όλα τα δείγματα στις δύο συγκεντρώσεις μπεντονίτη, προστέθηκε στο καθένα ποσότητα 0,6 g/L όπου οι οίνοι έδειξαν ενδείξεις σταθερότητας.

2.7. Προσδιορισμός πτητικών με GC/MS

Για το συγκεκριμένο πείραμα συλλέχθηκαν δείγματα από τους παραγόμενους προς μελέτη οίνους και ο διαχωρισμός των πτητικών ενώσεων τους έγινε με την χρήση αναλυτή GC/MS. Τα δείγματα έκχυσης τα οποία προέκυψαν μετά από προκατεργασία (εκχύλιση και συμπύκνωση), μεταφέρθηκαν στο GC/MS ώστε να γίνει ταυτοποίηση και ανάλυση των πτητικών συστατικών τους. Πιο συγκεκριμένα, η ανάλυση των πτητικών συστατικών έγινε σε αέριο χρωματογράφο GC (Model Trace), το οποίο ήταν συνδεδεμένο με ένα GCQ ion trap (Quadrupole ion trap-τετραπολική παγίδα ιόντων) φασματόμετρο μάζας (Finnigan, Austin, TX, USA).

Ο διαχωρισμός των συστατικών πραγματοποιήθηκε σε πολική τριχοειδή στήλη DB-Wax. Το μήκος της ήταν 60m, η εσωτερική διάμετρος 0,32mm, και το πάχος υμενίου στατικής φάσης 0,25 μ m. Το φέρον αέριο ήταν He, και η ροή του ήταν 1,2 mL/min, ενώ η θερμοκρασία της διάταξης εισαγωγής του αεριοχρωματογράφου ήταν 250°C. Στην συνέχεια ακολούθησε η έγχυση 1 μ L δείγματος στην στήλη και η εισαγωγή του σε διάταξη τύπου splitless/split. Η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς (transfer line) ήταν 280 °C, καθώς επίσης η θερμοκρασία του θαλάμου ιονισμού ήταν 230°C και του αναλυτή μάζας 150°C. Μετά τον διαχωρισμό τους, πραγματοποιήθηκε ο ιονισμός των πτητικών συστατικών του κάθε δείγματος με πρόσπτωση δέσμης ηλεκτρονίων ενέργειας 70eV.

Ο διαχωρισμός των πτητικών συστατικών του κάθε υπό μελέτη δείγματος έγινε αρχικά ισόθερμα για 1 min στους 40 °C, εν συνεχεία με θερμοκρασιακή αύξηση με ρυθμό 3 °C/min στους 280 °C, και στο τέλος ισόθερμα για 10 min στους 280 °C. Για κάθε δείγμα η ανάλυση πραγματοποιήθηκε 2 φορές.

Αφού πραγματοποιήθηκε η ανάλυση, τα χρωματογραφήματα, τα οποία περιλάμβαναν τις κορυφές των πτητικών ενώσεων για κάθε δείγμα οίνου ξεχωριστά, καταγράφηκαν σε υπολογιστή. Κατόπιν έγινε ημι-ποσοτικός προσδιορισμός των ενώσεων με χρήση του εμβαδού των κορυφών τους σε συσχέτιση με το εμβαδόν κορυφής της πρότυπης ουσίας, 3-Octanol. Η ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε με βάση τους δείκτες συγκράτησης Kovats (RI_{exp}), με σύγκριση των τιμών τους με βιβλιογραφικά δεδομένα (RI_{lit}), και επίσης τα φάσματα μαζών που πήραμε μετά τον διαχωρισμό και τον ιονισμό τους στον ανιχνευτή μάζας συγκρίθηκαν με εκείνα της NIST Mass Spectral database.

2.8. Γευσιγνωσία

Στο τέλος της διαδικασίας, και μετά την εμφιάλωση των παραγόμενων οίνων σε φιάλες των 750 mL, πραγματοποιήθηκε τυφλή γευσιγνωσία των 6 δειγμάτων με σκοπό την οργανοληπτική αξιολόγηση τους, τόσο σε αρωματικό επίπεδο στην μύτη, όσο και σε γευστικό επίπεδο στο στόμα. Για την ακρίβεια πραγματοποιήθηκαν δύο τυφλές γευστικές δοκιμές με διαφορά λίγων ημερών. Η πρώτη οργανοληπτική αξιολόγηση των οίνων έλαβε χώρα στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών και η ομάδα αξιολόγησης των οίνων απαρτίστηκε από έμπειρους γευσιγνώστες ηλικίας 25-60 ετών. Η ίδια ακριβώς διαδικασία διεξάχθηκε και στο Κτήμα Γεροβασιλείου με εξίσου έμπειρο πάνελ δοκιμαστών εύρους ηλικίας και πάλι 25-60 ετών. Οι 6 οίνοι επισημάνθηκαν με τυχαίους τριψήφιους κωδικούς και σερβιρίστηκαν σε γυάλινα ποτήρια INAO σε σχήμα τουλίπας με καπάκι για περαιτέρω προστασία.

Οι δοκιμαστές κλήθηκαν να συμπληρώσουν το φύλλο γευσιγνωσίας που τους δόθηκε με σκοπό την εκτίμηση του χρώματος, της αρωματικής έντασης και την κατηγοριοποίηση των αρωμάτων του κάθε βιότυπου (ώστε κατ' επέκτασιν να

δημιουργηθεί και ένα συμπέρασμα ως προς την πολυπλοκότητα της οσφρητικής και γευστικής παλέτας). Επίσης αξιολόγησαν τους οίνους ως προς την «οξύτητα» και το «σώμα». Στο τέλος ζητήθηκε και η συνολική εντύπωση για τον κάθε οίνο.

Δοκιμαστής:						
	Κλίμακα βαθμονόμησης: 1-5					
Δείγματα						
<u>Οπτική αξιολόγηση</u>						
Χρώμα (καφετί-λεμονοπράσινο)						
<u>Οσφρητική αξιολόγηση</u>						
Ένταση αρώματος (άτονο-μέτριο-έντονο)						
Πυρηνόκαρπα (λίγο-μέτριο-πολύ)						
Τροπικά φρούτα (λίγο-μέτριο-πολύ)						
Εσπεριδοειδή (λίγο-μέτριο-πολύ)						
Λευκά άνθη (λίγο-μέτριο-πολύ)						
Βοτανικό (λίγο-μέτριο-πολύ)						
<u>Γευστική αξιολόγηση</u>						
Οξύτητα (χαμηλή-μέτρια-υψηλή)						
Σώμα (χαμηλό-μέτριο-υψηλό)						
Συνολική εκτίμηση (χαμηλή-μέτρια-υψηλή)						

Εικόνα 17: Φύλλο γευστικής αξιολόγησης των παραγόμενων οίνων Μαλαγουζιάς

Πιο αναλυτικά τα χαρακτηριστικά των οίνων αξιολογήθηκαν με κλίμακα βαθμονόμησης από 1-5, με το «1» να αντιστοιχεί στο «λίγο», και στις αρνητικές παραμέτρους όπως «άτονο», «χαμηλό», ενώ το «5» στο «πολύ» και τις θετικές παραμέτρους, για παράδειγμα «έντονο», «υψηλό». Το χρώμα αξιολογήθηκε από καφετί (1) έως λεμονοπράσινο (5) και η αρωματική ένταση των οίνων διακρίθηκε σε «άτονο(1)-μέτριο-έντονο(5)». Το είδος των αρωμάτων αξιολογήθηκε σε κατηγορίες όπως τροπικά φρούτα, εσπεριδοειδή, λευκά άνθη και βοτανικότητα. Η κάθε επιμέρους κατηγορία αξιολογήθηκε και πάλι με κλίμακα από 1(λίγο)-5(πολύ), με βάση την ποσοτική ανίχνευση και ένταση των κατηγοριών αυτών στο εκάστοτε δείγμα οίνου. Τέλος ο κάθε δοκιμαστής απέδωσε μια τελική βαθμολογία στην ίδια κλίμακα 1-5, με βάση την συνολική εκτίμηση του για το κάθε ένα δείγμα οίνου. Σκοπός της γευσιγνωσίας αυτής όπως και του πειράματος είναι να διακριθούν οι διαφορές των πτητικών χαρακτηριστικών μεταξύ των οίνων που έδωσε ο standard βιότυπος της ποικιλίας Μαλαγουζιάς και ο μικρόραγος βιότυπος της.

2.9. Στατιστική επεξεργασία

Τα δεδομένα από τις διάφορες αναλύσεις συλλέχθηκαν κι επεξεργάστηκαν μαθηματικά. Για την δημιουργία των πινάκων και των διαγραμμάτων χρησιμοποιήθηκε το Microsoft Excel. Όταν τα αποτελέσματα απεικονίζονται σε γράφημα, παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των επαναλήψεων (ως μπάρες) και η τυπική απόκλιση των επαναλήψεων.

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 τεστ για την σύγκριση των μέσων και για τον εντοπισμό των συγκεκριμένων ζευγών που εμφανίζουν στατιστικές διαφορές. Με A, B, C κ.ο.κ. χαρακτηρίζεται η στατιστική διαφορά των δειγμάτων (σε επίπεδο 0.05%). Δείγματα με ίδιο γράμμα δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Με το ίδιο λογισμικό έγινε η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών μέσω της πολυπαραγοντικής ανάλυσης των μέσων όρων των μετρήσεων.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν κατά την διάρκεια της μελέτης συγκεντρώθηκαν κι επεξεργάστηκαν. Για την κάθε μία παράμετρο που προσδιορίστηκε έγιναν δύο αναλυτικές επαναλήψεις ενώ υπήρχαν ήδη 2 βιολογικές για κάθε δείγμα οίνου και γλεύκους. Έγινε μαθηματική επεξεργασία των αποτελεσμάτων των μετρήσεων με υπολογισμό αρχικά του Μέσου Όρου και της Τυπικής απόκλισης όλων των επαναλήψεων για την κάθε ανάλυση. Ακολούθησε στατιστική επεξεργασία ώστε να εξακριβωθεί η ύπαρξη ή όχι στατιστικών διαφορών. Παρακάτω απεικονίζονται διαγράμματα για την κάθε μία παράμετρο που προσδιορίστηκε. Οι χαρακτήρες a,b,c που φαίνονται στα διαγράμματα προσδιορίζουν το αν υπάρχουν ή όχι στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τη τεστ Tukey HSD σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 5\%$. Η απεικόνιση ίδιων χαρακτήρων δείχνουν πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά, ενώ οι διαφορετικοί χαρακτήρες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

Να σημειωθεί ότι στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων διατηρήθηκαν οι βιολογικές επαναλήψεις ως ξεχωριστά δείγματα, για να υπάρχει η εικόνα του εύρους των ιδιοτήτων των δύο βιότυπων της ποικιλίας αλλά επίσης παρουσιάζεται και ο γενικός μέσος όρος βιολογικών και αναλυτικών επαναλήψεων ως η συνολική εικόνα για τα επιμέρους χαρακτηριστικά του μεγάλωραγου (standard) ή του μικρόραγου τύπου της ποικιλίας.

3.1 Προζυμωτικές αναλύσεις στο γλεύκος

Κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των σταφυλιών έγιναν παρατηρήσεις και μετρήσεις σακχαροπεριεκτικότητας. Στον πίνακα 5, με χρονολογική κατάταξη, φαίνονται τα διάφορα στάδια ωρίμανσης των σταφυλών.

Πίνακας 5: Ημερομηνίες σταδίων ανάπτυξης της αμπέλου εσοδείας 2022, από Κτήμα Γεροθασσιλείου-Δελτίου Τρύγου 2022 (gerovassiliou.gr)

Ημερομηνίες σταδίων ανάπτυξης της αμπέλου εσοδείας 2022	
Έκπτυξη οφθαλμών	Τελευταία εβδομάδα Μαρτίου
Άνθιση	Μέσα Μαΐου
Περκασμός	Μέσα Ιουλίου
Ωρίμανση	Τέλος Ιουλίου-Αρχές Αυγούστου
Τρύγος Μαλαγουζιάς	28/8/2022

Μετά τον τρυγητό, τα σταφύλια μεταφέρθηκαν στο οινοποιείο. Μετά την έκθλιψη, την παραλαβή και την απολάσπωση του γλεύκους των δειγμάτων των δύο βιότυπων της ποικιλίας Μαλαγουζιά, μεγάλωραγος ($\Delta 1, \Delta 2, \Delta 3$) και μικρόραγος βιότυπος ($\delta 1, \delta 2, \delta 3$), πραγματοποιήθηκαν οι βασικές αναλύσεις γλεύκους ώστε να

γίνει ο προσδιορισμός των παραμέτρων που αποτελούν τα κύρια χαρακτηριστικά τους πριν τον εμβολιασμό και την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης. Συγκεκριμένα, έγιναν: προσδιορισμός της σακχαροπεριεκτικότητας (Brix), της ολικής (g/L) και ενεργού οξύτητας, του αφομοιώσιμου αζώτου (mg/L) και μετρήσεις θολρότητας (NTU). Οι τιμές φαίνονται στον πίνακα 6.

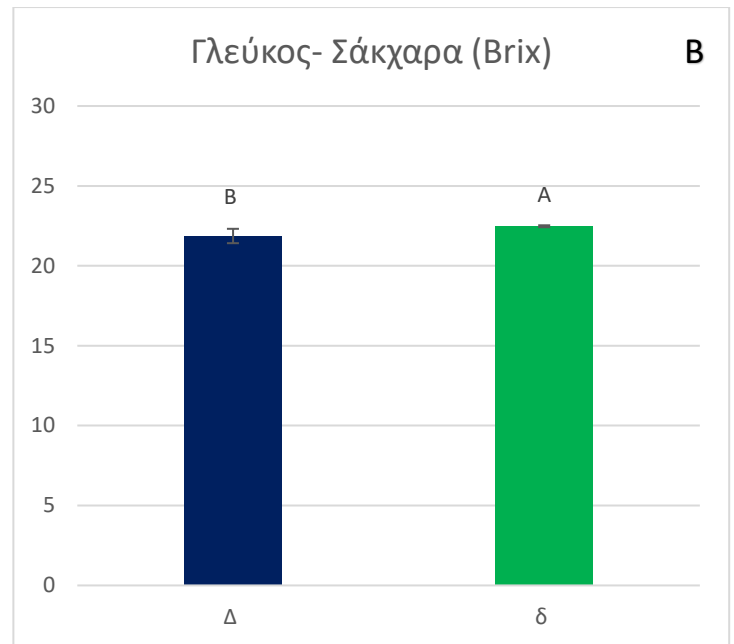
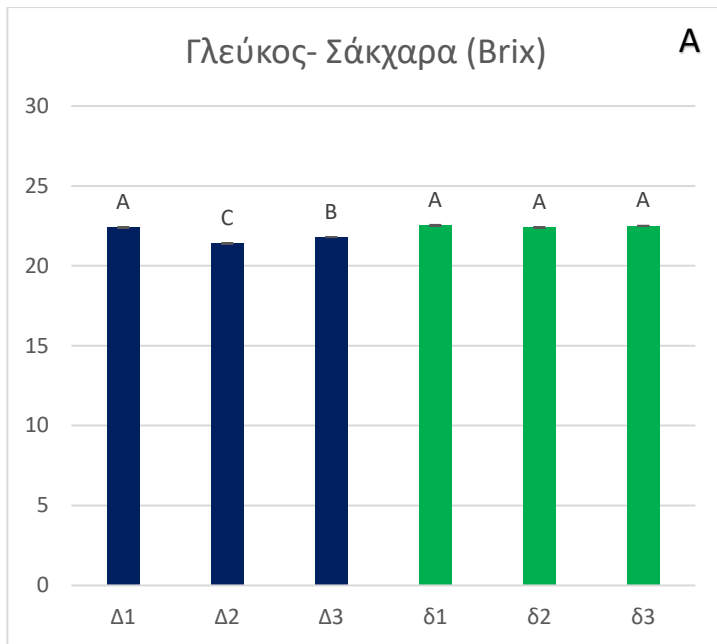
Πίνακας 6: Μέσοι όροι επαναλήψεων των βασικών αναλύσεων για τα δείγματα γλεύκους που έχουν προκύψει από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά.

Δείγματα	Brix	Ογκ. Οξύτητα (g/L)	pH	Αφομοιώσιμο Άζωτο	Θολότητα (NTU)
Δ1	22,4 ± 0,00	6,25 ± 0,04	3,39 ± 0,00	201,20 ± 0,00	161 ± 1,41
Δ2	21,25 ± 0,00	6,30 ± 0,00	3,40 ± 0,00	267 ± 0,00	169 ± 0,00
Δ3	21,80 ± 0,00	6,22 ± 0,00	3,49 ± 0,01	200,4 ± 0,00	170,5 ± 0,71
δ1	22,55 ± 0,04	6,15 ± 0,00	3,49 ± 0,00	190,85 ± 0,21	176 ± 1,41
δ2	22,4 ± 0,00	6,14 ± 0,01	3,46 ± 0,01	190 ± 0,00	182 ± 0,00
δ3	22,5 ± 0,00	6,12 ± 0,00	3,49 ± 0,01	205,10 ± 0,14	169,5 ± 0,71

3.1.1 Περιεκτικότητα σε σάκχαρα

Στο χυμό σταφυλιού, σχεδόν το μεγαλύτερο ποσοστό των διαλυτών στερεών είναι τα σάκχαρα οπότε η τιμή της μέτρησης που παίρνουμε μετρώντας με διαθλασίμετρο αντιστοιχίζεται σε συγκέντρωση σακχάρων ($^{\circ}\text{Brix}$: $\frac{\text{g}_{\text{σακχάρου}}}{100\text{g}_{\text{διαλύματος}}}$) (Κοτσερίδης, 2020).

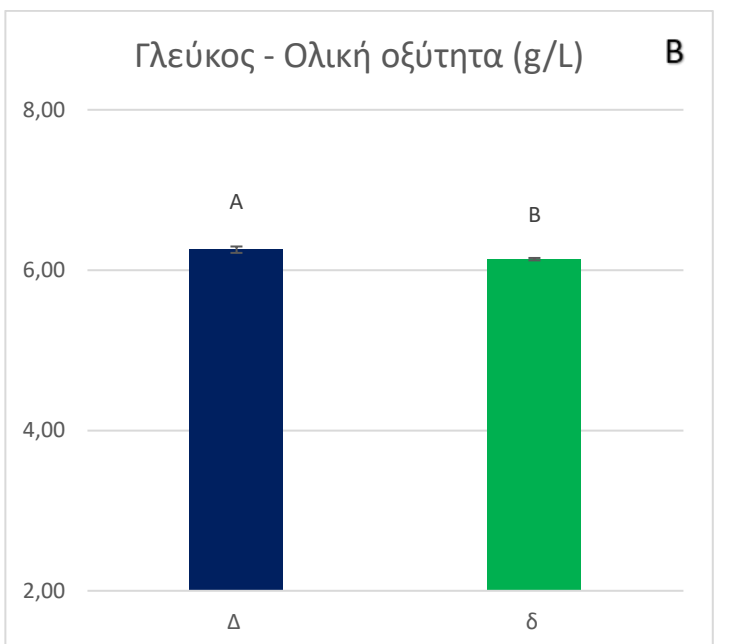
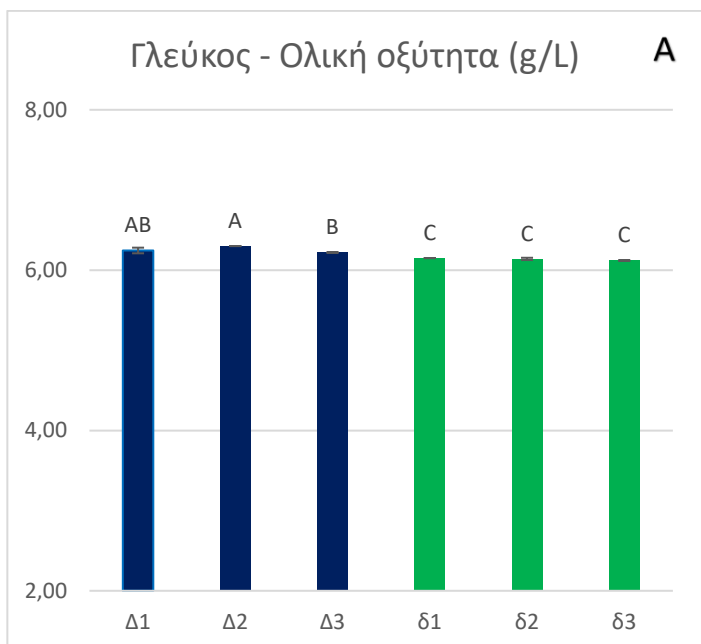
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων από τις βιολογικές επαναλήψεις αλλά και τους ΜΟ όλων των επαναλήψεων φαίνονται στα σχήματα 1-A και 1-B αντίστοιχα. Οι διαφορές ανάμεσα στους βιότυπους δεν είναι μεγάλες, όμως επιβεβαιώνονται από την στατιστική επεξεργασία ότι τα γλεύκη του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας (δ) παρουσιάζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σάκχαρα σε σχέση με τα γλεύκη του standard βιότυπου (Δ). Σε ότι αφορά την διακύμανση ανάμεσα στις βιολογικές επαναλήψεις, παρατηρείται ότι το γλεύκος Δ1 έχει υψηλότερα Brix από τις υπόλοιπες επαναλήψεις Δ2 και Δ3, ενώ και οι τρεις έχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Οι επαναλήψεις του μικρόραγου βιότυπου έχουν μεγαλύτερη ομοιομορφία και δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.



Σχήμα 1: Απεικόνιση της περιεκτικότητας σε σάκχαρα (Brix) σε γλεύκη που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ μετρήσεων για κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

3.1.2 Ολική οξύτητα γλεύκους

Ως ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα ορίζεται το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων στο γλεύκος ή στον οίνο, είτε σε μοριακή κατάσταση, είτε σε μορφή ανιόντων, και η τιμή της εξαρτάται από την περιεκτικότητα του γλεύκους ή του οίνου σε ελεύθερα οργανικά οξέα. Το είδος τους δεν επηρεάζει την διαμόρφωση της τιμής της.



Σχήμα 2: Απεικόνιση της ολικής οξύτητας (g/L τρυγικού οξέος) σε γλεύκη που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ μετρήσεων για κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

Στο Σχήμα 2Α φαίνεται η αναλυτική εικόνα των μετρήσεων της ολικής οξύτητας σε g/L τρυγικού οξέος, στα γλεύκη των βιολογικών επαναλήψεων των δύο βιότυπων ξεχωριστά. Οι τιμές ολικής οξύτητας των δειγμάτων της ομάδας «Δ» (Δ1, Δ2, Δ3) του standard βιότυπου της Μαλαγουζιάς (με την μεγαλύτερη ράγα), φαίνεται να είναι ελαφρώς υψηλότερες σε σχέση με αυτές των δειγμάτων της ομάδας «δ» (δ1, δ2, δ3) που αντιστοιχούν στον βιότυπο με την μικρότερη ράγα. Επίσης προκύπτει ότι υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των βιολογικών επαναλήψεων στις τιμές της ολικής οξύτητας των δύο βιότυπων, χωρίς αυτό όμως να έχει ιδιαίτερη φυσιολογική σημασία καθώς το εύρος των τιμών της ολικής οξύτητας μεταξύ των δειγμάτων είναι ιδιαίτερα μικρό και από οινολογικής πλευράς οι διαφορές θα θεωρούνταν ίσως και αμελητέες.

Στο Σχήμα 2Β φαίνεται η συγκεντρωτική εικόνα της ολικής οξύτητας στα δείγματα γλεύκους των δύο βιότυπων της ποικιλίας, καθώς απεικονίζονται οι μέσοι όροι των μετρήσεων για τα δείγματα του κάθε βιότυπου ξεχωριστά (Δ και δ). Έτσι προκύπτει ότι υπάρχει η τάση τα δείγματα των βιολογικών επαναλήψεων της ομάδας «Δ» να έχουν ελαφρώς μεγαλύτερη ολική οξύτητα σε σχέση με τα δείγματα «δ». Τέλος φαίνεται στατιστική διαφορά στους μέσους όρους των τιμών της ολικής οξύτητας μεταξύ των δειγμάτων «δ» και «Δ», συμπέρασμα όμως που δεν έχει ιδιαίτερη φυσιολογική σημασία όπως επεξηγήθηκε και παραπάνω.

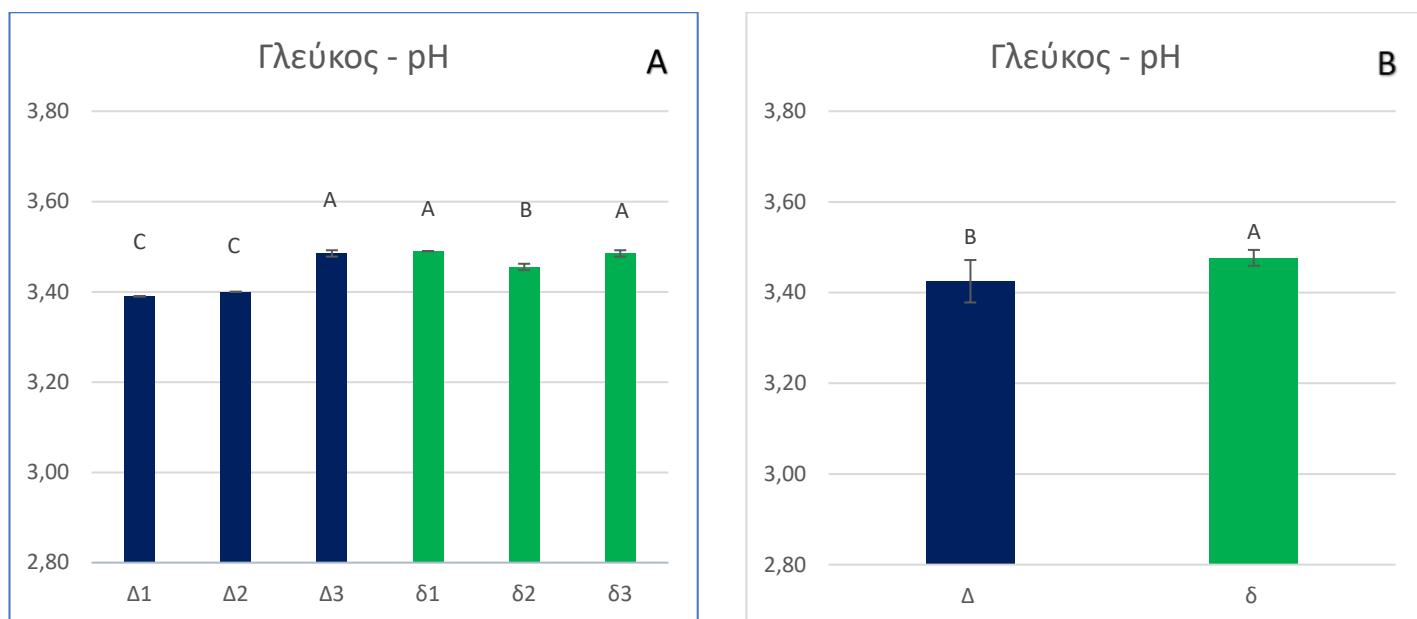
3.1.3 Ενεργός οξύτητα-pH

Η ενεργή οξύτητα ή pH εκφράζει το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση δίνοντας κατιόντα H^+ και είναι ο αρνητικός δεκαδικός λογάριθμος ($pH = -\log[H^+]$) της συγκέντρωσης των κατιόντων υδροξωνίου σε ένα διάλυμα. Η τιμή της ενεργού οξύτητας εξαρτάται όχι μόνο από τη συγκέντρωση αλλά και από το είδος των οργανικών οξέων.

Στο Σχήμα 3Α φαίνεται η αναλυτική εικόνα των μετρήσεων pH στα γλεύκη των 6 βιολογικών επαναλήψεων των δύο βιότυπων ξεχωριστά. Έτσι λοιπόν οι τιμές pH των δειγμάτων της ομάδας «δ» (δ1, δ2, δ3), φαίνεται να είναι ελαφρώς υψηλότερες σε σχέση με τα δείγματα «Δ» (Δ1, Δ2, Δ3). Επίσης προκύπτει ότι υπάρχει στατιστική διαφοροποίηση μεταξύ των βιολογικών επαναλήψεων ως προς τις τιμές pH των δύο βιότυπων (με εύρος 3,39 έως 3,49), αν και οι τιμές χαρακτηρίζονται ως φυσιολογικές τιμές pH για γλεύκος.

Στο Σχήμα 3Β φαίνεται η συγκεντρωτική εικόνα των τιμών pH στα γλεύκη των δύο βιότυπων της ποικιλίας, καθώς απεικονίζονται οι μέσοι όροι των μετρήσεων των βιολογικών επαναλήψεων για τον κάθε βιότυπο ξεχωριστά (Δ και δ). Έτσι συγκεντρωτικά προκύπτει ότι υπάρχει η τάση τα δείγματα των βιολογικών επαναλήψεων της ομάδας «δ» να έχουν ελαφρώς μεγαλύτερο pH από τα δείγματα της ομάδας «Δ». Τέλος παρουσιάζεται στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων

«δ» και «Δ» ως προς τους μέσους όρους των τιμών pH τους, πράγμα που όπως προαναφέρθηκε δεν ιδιαίτερης φυσιολογική σημασίας.

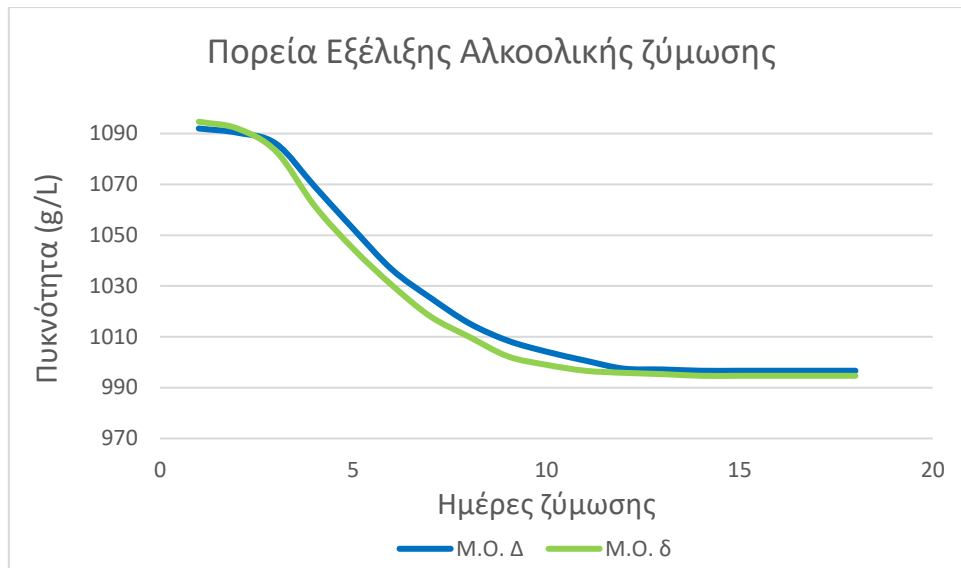


Σχήμα 3: : Απεικόνιση της ενεργού οξύτητας (pH) σε γλεύκη που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτήρες διαφοροποίησης. (Α) ΜΟ μετρήσεων για κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

3.1.4 Παρακολούθηση της αλκοολικής ζύμωσης

Τα γλεύκη που παραλήφθηκαν εμβολιάστηκαν με εμπορικό στέλεχος ζυμομύκητα και ακολούθησε η αλκοολική ζύμωση, η πορεία της οποίας καταγράφηκε μέσα από καθημερινές μετρήσεις της πυκνότητας για το κάθε δείγμα ξεχωριστά. Η εξέλιξη της ζύμωσης απεικονίζεται στο παραπάνω γράφημα. Το γράφημα προέκυψε από τους μέσους όρους των τιμών των καθημερινών μετρήσεων πυκνότητας των έξι βιολογικών επαναλήψεων των δύο βιότυπων της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Οι μέσοι όροι που υπολογίστηκαν αφορούν ξεχωριστά την κάθε περίπτωση βιότυπου.

Έτσι βλέπουμε συνολικά την εικόνα της πορείας των αλκοολικών ζυμώσεων για τα δείγματα Μαλαγουζιάς του standard βιότυπου (ΜΟ Δ) και για τα δείγματα του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας (ΜΟ δ). Η πορεία των αλκοολικών ζυμώσεων φαίνεται ομαλή. Και οι 6 ζυμώσεις εξελίχθηκαν χωρίς προβλήματα και ολοκληρώθηκαν σε χρονικό διάστημα 13-18 ημερών. Μετά την σταθεροποίηση της πυκνότητας σε μια χαμηλή τιμή, ακολούθησε η παρακολούθηση των δειγμάτων με μέτρηση των αναγόντων σακχάρων ώστε να διαπιστωθεί το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης με ακρίβεια. Οι οίνοι που παράχθηκαν ήταν ξηροί με σάκχαρα όπως προβλέπεται από την νομοθεσία < 4g/L.



Σχήμα 4: Συγκεντρωτική απεικόνιση της πορείας των αλκοολικών ζυμώσεων για τα δείγματα των δύο βιότυπων της ποικιλίας Μαλαγουζιά (ΜΟ Δ και ΜΟ δ)

3.2 Βασικές αναλύσεις οίνων

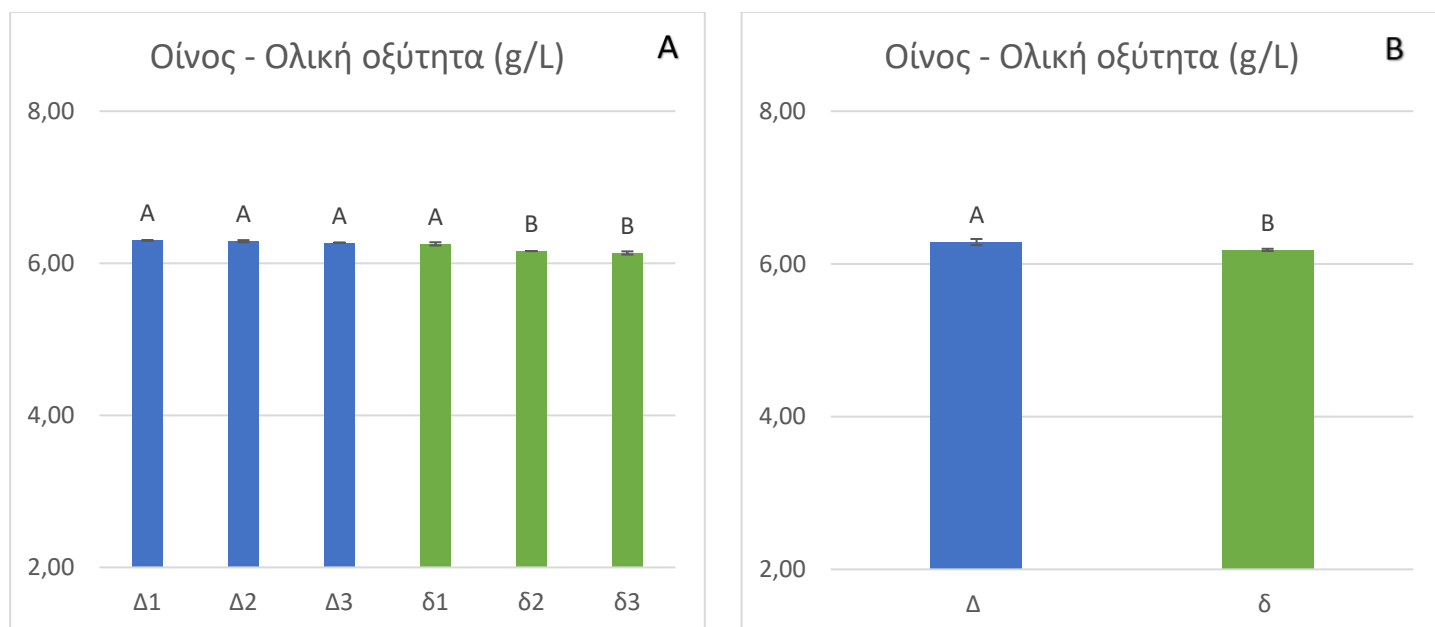
Μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης έγιναν οι βασικές αναλύσεις οίνου ώστε να γίνει ο προσδιορισμός των παραμέτρων που αποτελούν τα κύρια χαρακτηριστικά τους. Για την κάθε μία παράμετρο έγιναν και πάλι δύο μετρήσεις σε κάθε δείγμα οίνου. Ακολούθησε μαθηματική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με υπολογισμό των Μέσων Όρων και των Τυπικών αποκλίσεων των επαναλήψεων για την κάθε περίπτωση και κατόπιν στατιστική ανάλυση με το στατιστικό λογισμικό JMP-11 που έδωσε τους χαρακτήρες στατιστικής διαφοροποίησης ζευγών σύμφωνα με το Tukey HSD τεστ σε τιμή επίπεδου σημαντικότητας $p < 0,05$. Η απεικόνιση ίδιων χαρακτήρων δείχνουν πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά, ενώ οι διαφορετικοί χαρακτήρες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά. Στον παρακάτω πίνακα 7 καταγράφονται τα αποτελέσματα από τις βασικές αναλύσεις που έγιναν στους οίνους.

Πίνακας 7: Μέσοι όροι επαναλήψεων των βασικών αναλύσεων για τα δείγματα οίνου που έχουν προκύψει από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιάς.

	Αλκοολικός τίτλος (%vol)	Ολική Οξύτητα (g/L)	pH	Πτητική Οξύτητα (g/L)	Υπ. Σάκχαρα (g/L)	ΔΦΟ	420nm
Δ1	12,90 ± 0,00	6,30 ± 0,00	3,36 ± 0,01	0,25 ± 0,00	3,30 ± 0,00	9,50 ± 0,00	0,052 ± 0,001
Δ2	12,15 ± 0,07	6,29 ± 0,01	3,35 ± 0,01	0,23 ± 0,01	2,06 ± 0,04	10,25 ± 0,07	0,053 ± 0,000
Δ3	12,50 ± 0,00	6,27 ± 0,00	3,37 ± 0,01	0,39 ± 0,01	1,84 ± 0,00	9,40 ± 0,14	0,054 ± 0,000
δ1	13,05 ± 0,07	6,26 ± 0,02	3,45 ± 0,01	0,32 ± 0,00	1,44 ± 0,01	6,50 ± 0,00	0,051 ± 0,000
δ2	12,90 ± 0,00	6,16 ± 0,00	3,45 ± 0,01	0,28 ± 0,01	1,34 ± 0,01	8,75 ± 0,07	0,053 ± 0,001
δ3	13,00 ± 0,00	6,14 ± 0,02	3,47 ± 0,02	0,30 ± 0,00	1,43 ± 0,00	8,60 ± 0,00	0,056 ± 0,001

3.2.1 Ολική οξύτητα

Η ολική οξύτητα των οίνων, για τις βιολογικές επαναλήψεις και για το ΜΟ των δύο τύπων της ποικιλίας, παρουσιάζεται στα σχήματα 5Α και 5Β αντίστοιχα. Και από τα δύο σχήματα φαίνεται ότι διατηρείται η τάση που έδειξαν τα γλεύκη ως προς τις τιμές της ολικής οξύτητας, δηλαδή στα δείγματα της ομάδας «Δ» (Δ1, Δ2, Δ3) να συναντάμε ελαφρώς υψηλότερες τιμές σε σχέση με τις αυτές των βιολογικών επαναλήψεων της ομάδας «δ» (δ1, δ2, δ3). Παρατηρείται επίσης ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βιολογικών επαναλήψεων ως προς τις τιμές της ολικής οξύτητας τους, ενώ το ίδιο ισχύει και για τις τιμές των ΜΟ των μετρήσεων ολικής οξύτητας που αφορούν τις βιολογικές επαναλήψεις του κάθε βιότυπου ξεχωριστά. Αυτή η στατιστική τους διαφορά φαίνεται να μην έχει ιδιαίτερη φυσιολογική σημασία καθώς και πάλι το εύρος των τιμών της ολικής οξύτητας μεταξύ των δειγμάτων είναι ιδιαίτερα μικρό και οι διαφορές από οινολογικής άποψης θα θεωρούνταν ίσως και αμελητέες.

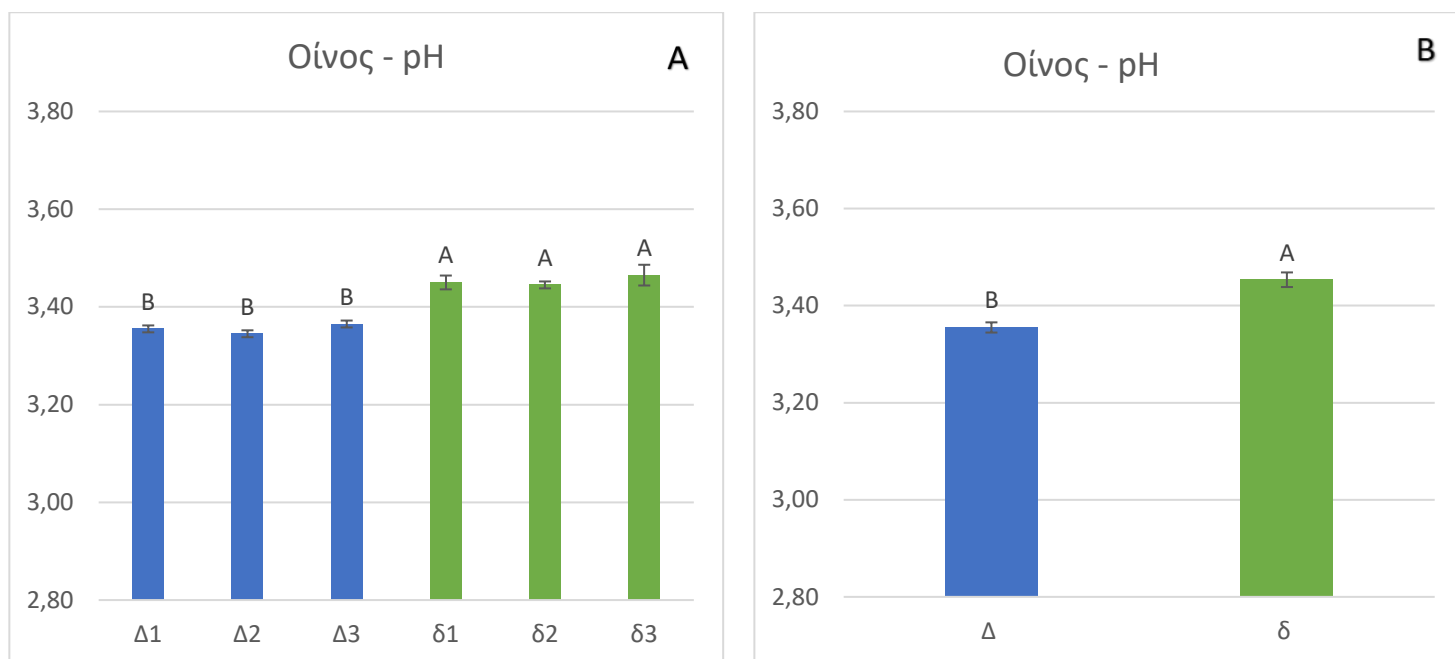


Σχήμα 5: Απεικόνιση της ολικής οξύτητας (g/L τρυγικού οξέος) σε γλεύκη που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ μετρήσεων για βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

3.2.2 Ενεργός οξύτητα-pH

Το pH των οίνων που παράχθηκαν από τα σταφύλια των δύο τύπων της ποικιλίας παρουσιάζονται στα σχήματα 6Α και 6Β. Από τα δύο σχήματα φαίνεται ότι υπάρχει η τάση των τιμών των βιολογικών επαναλήψεων της ομάδας «δ» (δ1, δ2, δ3) να είναι ελαφρώς υψηλότερες σε σχέση με τις τιμές των βιολογικών επαναλήψεων της ομάδας «Δ» (Δ1, Δ2, Δ3) και κατ' αντιστοιχία με τις τιμές της ολικής οξύτητας (αντίστροφη σχέση ως προς τις τιμές του pH). Να σημειωθεί ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βιολογικών επαναλήψεων στις τιμές της ενεργού οξύτητας τους (Σχήμα 6Α), ενώ το ίδιο ισχύει και για τις τιμές των ΜΟ των μετρήσεων

pH που αφορούν τις βιολογικές επαναλήψεις του κάθε βιότυπου ξεχωριστά (Σχήμα 6B). Μπορεί η διαφορά να μην είναι ιδιαίτερα μεγάλη αλλά καταγράφηκε και ανιχνεύτηκε και στατιστικά.

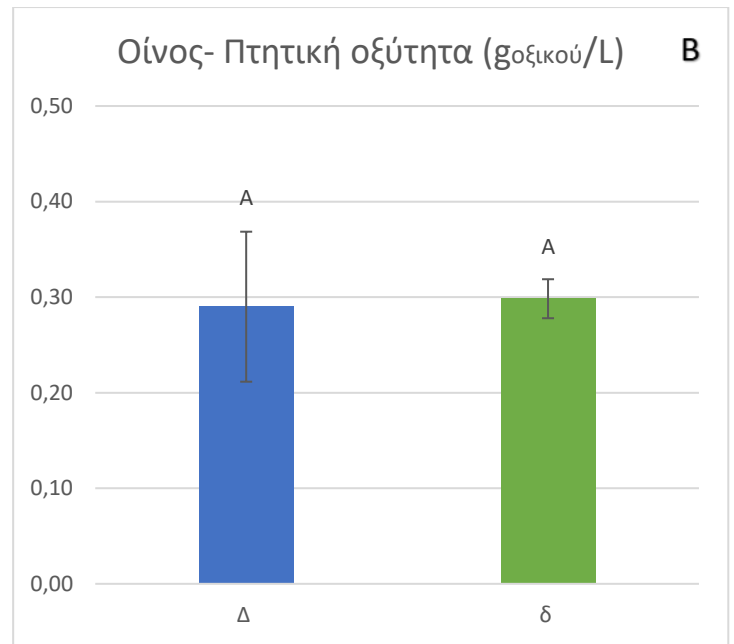
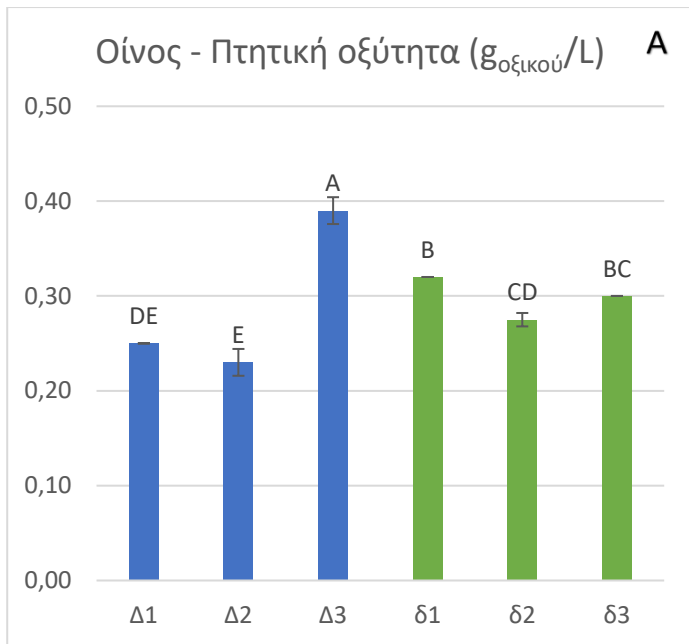


Σχήμα 6: Απεικόνιση της ενεργού οξύτητας (pH) σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ μετρήσεων για κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

3.2.3 Πτητική οξύτητα

Ως πτητική οξύτητα ορίζεται το σύνολο των οξέων της σειράς του οξικού οξέος που υπάρχουν στους οίνους ελεύθερα ή με την μορφή αλάτων. Η πτητική οξύτητα εκφράζεται συνήθως σε g/L οξικού οξέος. Με βάση την νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης το ανώτατο όριο στους λευκούς οίνους είναι 1,08g οξικού οξέος/L.

Τα αποτελέσματα και η επεξεργασία τους φαίνονται στα σχήματα 7A και 7B. Κατ' αρχήν, όλοι οι παραγόμενοι οίνοι προήλθαν από υγιείς αλκοολικές ζυμώσεις καθότι οι πτητικές τους οξύτητες είναι $\leq 0,4$ g/L, και πιο συγκεκριμένα οι τιμές τους κυμαίνονται από 0,23 έως 0,39 g/L. Στα αποτελέσματα μεταξύ των δειγμάτων οίνου φαίνεται ότι οι οίνοι «δ» που έχουν προέλθει από τον μικρόραγο βιότυπο της ποικιλίας παρουσιάζουν μια ελαφριά τάση υψηλότερων τιμών πτητικής οξύτητας αν αξιολογήσουμε τις έξι ζυμώσεις μεμονωμένα. Παρόλα αυτά την μεγαλύτερη πτητική οξύτητα παρουσιάζει οίνος της ομάδας «Δ» και συγκεκριμένα ο οίνος Δ3. Να σημειωθεί ότι παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών πτητικής οξύτητας των βιολογικών επαναλήψεων. Λαμβάνοντας υπόψιν και το Σχήμα 7B στο οποίο απεικονίζεται μια πιο συνολική εικόνα των βιολογικών επαναλήψεων, «Δ» και «δ», μέσα από τους ΜΟ των μετρήσεων πτητικής οξύτητας για τους δύο βιότυπους ξεχωριστά, παρατηρείται επί της ουσίας ελάχιστη διαφορά μεταξύ των τιμών των μέσων όρων, χωρίς να υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

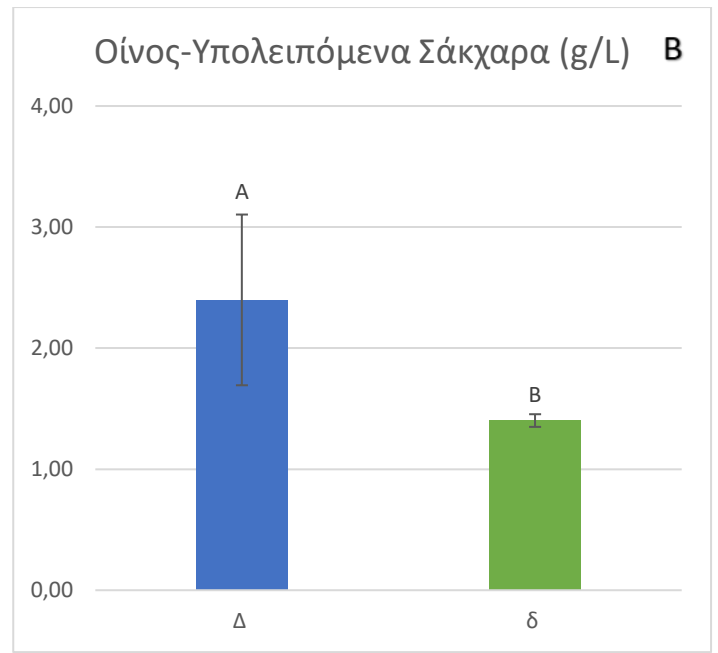
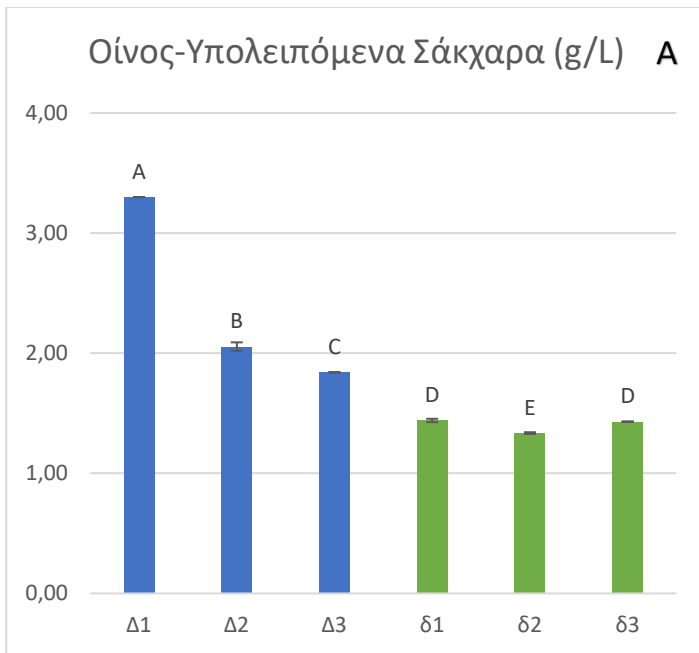


Σχήμα 7: Απεικόνιση της πτητικής οξύτητας σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ μετρήσεων για κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

3.2.4 Ανάγοντα Σάκχαρα

Ως ανάγοντα σάκχαρα χαρακτηρίζονται τα σάκχαρα που διαθέτουν ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα και σε αλκαλικό περιβάλλον εμφανίζουν την ικανότητα αναγωγής του δισθενή χαλκού σε μονοσθενή, με αποτέλεσμα να είναι δυνατός ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης τους με εφαρμογή κατάλληλης μεθόδου. Με βάση την ελληνική νομοθεσία υπενθυμίζεται ότι ξηροί θεωρούνται οι οίνοι με συγκέντρωση σακχάρων έως 4 g/L, ημίξηροι και ημίγλυκοι οι οίνοι με περιεκτικότητα 2-18 g/L και 18-40 g/L αντίστοιχα, και γλυκείς με συγκέντρωση πάνω από 40 g/L. Δεδομένου ότι, ουσιαστικά, ο όρος αναφέρεται στα σάκχαρα που μένουν στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης καλούνται και υπολειπόμενα σάκχαρα.

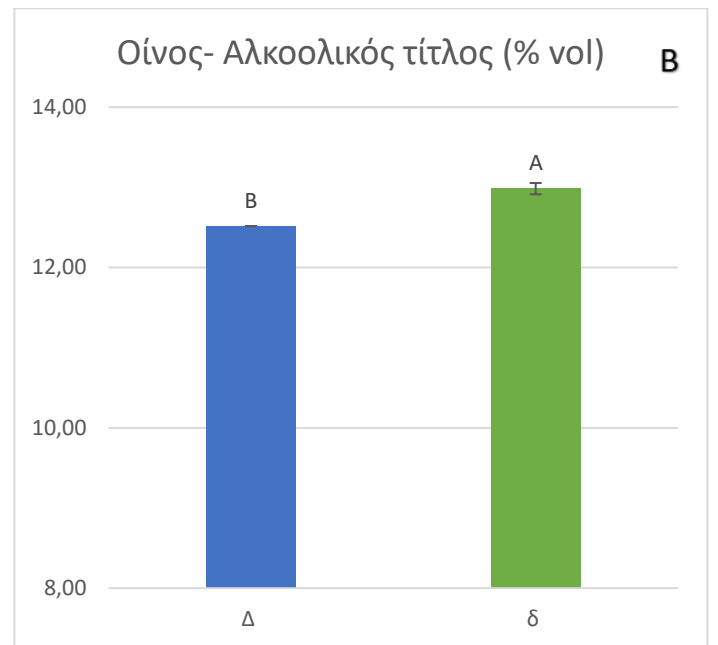
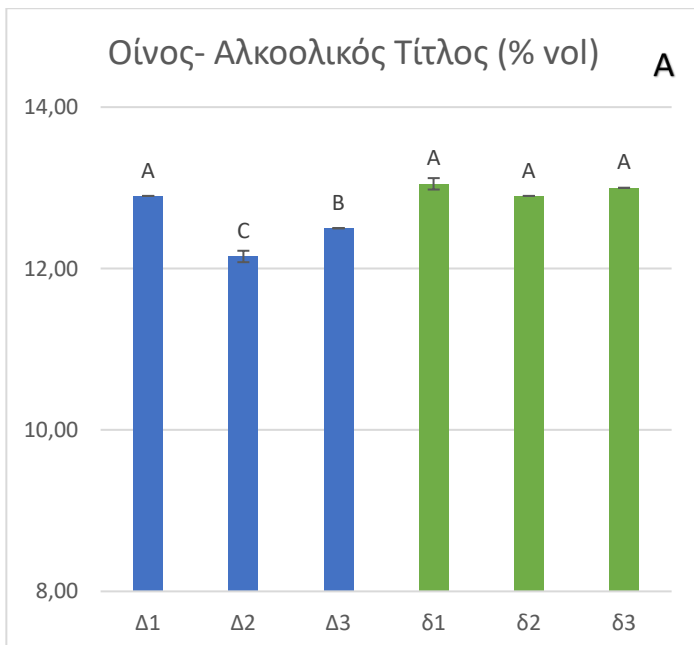
Οι συγκεντρώσεις αυτών των σακχάρων στους πειραματικούς οίνους παρουσιάζονται στα σχήματα 8Α και 8Β. Και στα δύο σχήματα είναι εμφανές ότι οι αλκοολικές ζυμώσεις έδωσαν ξηρούς οίνους, με το δείγμα «Δ1» να έχει την υψηλότερη συγκέντρωση υπολειπόμενων σακχάρων ανάμεσα τους. Φαίνεται επίσης και στα δύο διαγράμματα ότι οι οίνοι της ομάδας «δ» (δ1, δ2, δ3) παρουσιάζουν μικρότερες συγκεντρώσεις σε υπολειπόμενα σάκχαρα σε σχέση με τα δείγματα της ομάδας «Δ» (Δ1, Δ2, Δ3). Επίσης παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών περιεκτικότητας σε σάκχαρα ανάμεσα στις 6 βιολογικές επαναλήψεις των δύο βιότυπων, αλλά και των ΜΟ των ομάδων τους, «Δ» και «δ», βλέποντας την πιο συγκεντρωτική εικόνα.



Σχήμα 8: Απεικόνιση της συγκέντρωσης των υπολειπόμενων σακχάρων σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ μετρήσεων για κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

3.2.5 Αλκοολικός τίτλος

Ο Αλκοολικός τίτλος κατ' όγκο ενός οίνου ορίζεται ως ο αριθμός των λίτρων άνυδρης αιθανόλης που περιέχεται σε 100 λίτρα του προϊόντος αυτού (οίνου), όταν οι δύο όγκοι μετριοούνται σε θερμοκρασία 20 °C και συμβολίζεται ως «% vol».

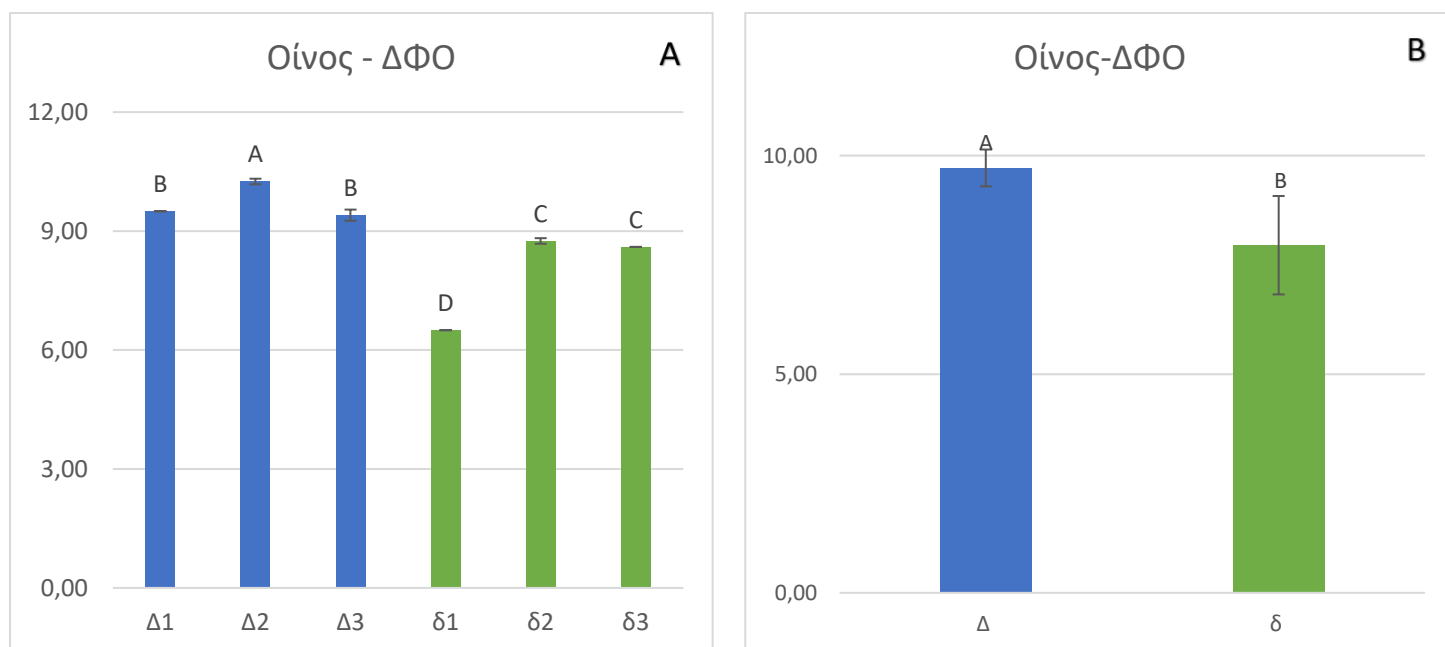


Σχήμα 9: Απεικόνιση του Αλκοολικού τίτλου (% vol) σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ μετρήσεων για κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

Από το Σχήμα 9Α φαίνεται ότι οι οίνοι της ομάδας «δ» που προήλθαν από τον μικρόραγο βιότυπο της ποικιλίας Μαλαγουζιά παρουσιάζουν ελαφρώς υψηλότερο αλκοολικό τίτλο σε σχέση με τους οίνους της ομάδας «Δ». Επίσης παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βιολογικών επαναλήψεων των δύο βιότυπων της ποικιλίας στις τιμές του αλκοολικού τίτλου των παραγόμενων οίνων τους. Τα αποτελέσματα του Σχήματος 9B παρουσιάζουν το παραπάνω αποτέλεσμα σε μια συνολικότερη εικόνα. Και οι τιμές των ΜΟ των αλκοολικών τίτλων για τους οίνους των δύο βιότυπων ξεχωριστά εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Να σημειωθεί ότι η παραπάνω τάση μεταξύ των δειγμάτων επαληθεύεται και από τις τιμές των αρχικών μετρήσεων σε Brix (σακχαροπεριεκτικότητα) πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης.

3.2.6 Δείκτης φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ)

Οι βενζολικοί δακτύλιοι των φαινολικών ενώσεων παρουσιάζουν ισχυρή απορρόφηση στο υπεριώδες φως με μέγιστο το οποίο έχει παρατηρηθεί στα 280nm. Εκεί βασίζεται και ο προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων, δηλαδή η συγκέντρωση των φλαβονοειδών φαινολών (ανθοκυάνες, ταννίνες), των μη φλαβονοειδών (φαινολικά οξέα), καθώς επίσης και κάποιων μη φαινολικών ενώσεων που απορροφούν στο φάσμα αυτό των 280 nm. Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι η απλούστερη, η γρηγορότερη και δίνει επαναληψιμότητα στα αποτελέσματα προσδιορίζοντας βέβαια τα φαινολικά συστατικά στο σύνολο τους, χωρίς να δίνει πληροφορίες για κάθε συγκεκριμένη κατηγορία φαινολικών ενώσεων.



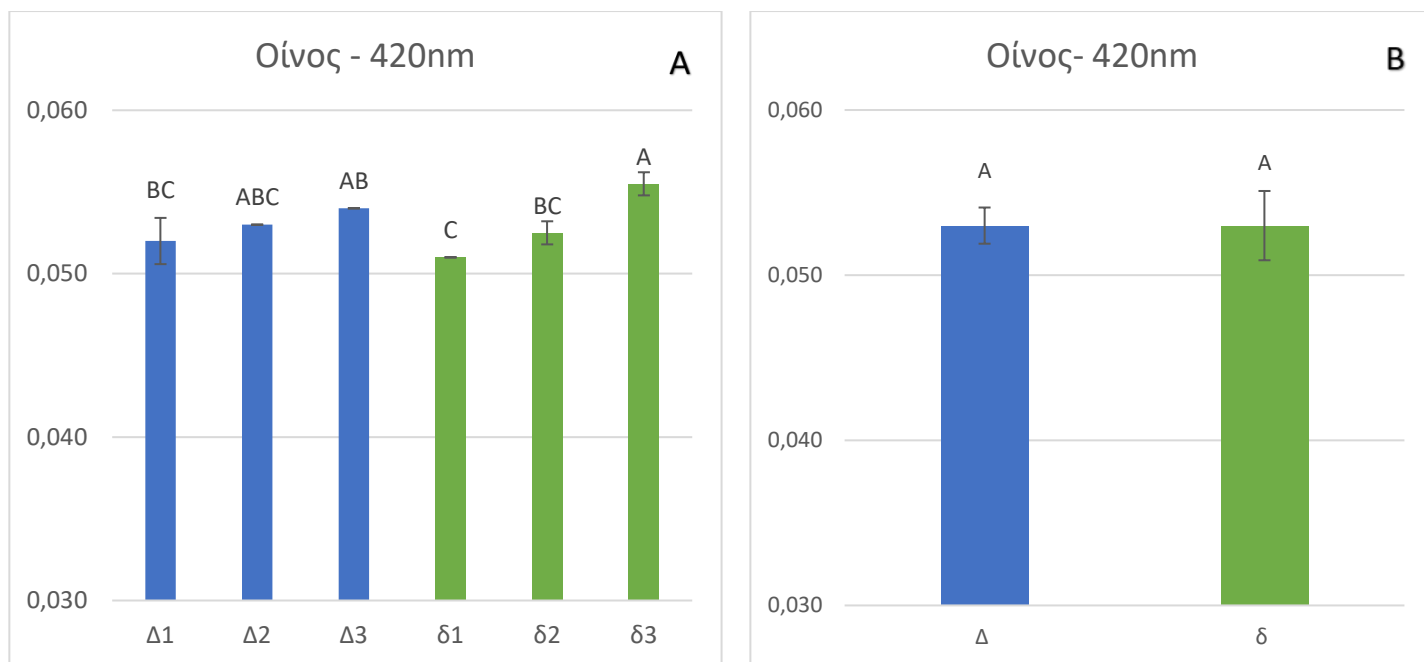
Σχήμα 10: Απεικόνιση του δείκτη φαινολικών ουσιών σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ μετρήσεων για κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

Ο ΔΦΟ των οίνων που παράχθηκαν από τα σταφύλια των δύο βιότυπων Μαλαγουζιάς φαίνεται στα σχήματα 10Α και 10Β, όπου παρουσιάζεται η τάση των βιολογικών επαναλήψεων της ομάδας οίνων «Δ» να εμφανίζουν υψηλότερο δείκτη φαινολικών ουσιών σε σχέση με τις βιολογικές επαναλήψεις των οίνων της ομάδας «δ» του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας. Και στα δύο σχήματα παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βιολογικών επαναλήψεων στους δείκτες φαινολικών ουσιών τους, τόσο μεταξύ τους, όσο και μεταξύ των ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων κατά περίπτωση («Δ» και «δ»).

Βέβαια δεν επιβεβαιώνεται ο ισχυρισμός πως στις ποικιλίες με μικρότερη ράγα τα φαινολικά συστατικά υπερτερούν σε συγκέντρωση (Gil, 2015) αλλά υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που πιθανόν να υπεισέρχονται και να επηρεάζουν τον δείκτη. Καθώς μελετώνται οίνοι και όχι σταφύλια των δύο βιότυπων, θα ήταν δόκιμο να γίνει μελέτη και να διερευνηθούν τα φαινολικά συστατικά στα σταφύλια του κάθε βιότυπου. Από την μια πλευρά ναι μεν η αναλογία επιφάνειας επαφής μούστου και φλοιών θεωρείται μεγαλύτερη στις μικρόραγες ποικιλίες, καθώς επίσης και η συγκέντρωση φαινολικών συνήθως παρουσιάζεται υψηλότερη στις μικρότερες ράγες, από την άλλη δε σημαντικό ρόλο παίζει και το είδος των φαινολικών συστατικών, το πάχος του φλοιού, ακόμα και η ικανότητα εκχύλισης τους στην κάθε περίπτωση. Οι τελευταίοι αποτελούν παράγοντες που θα μπορούσαν να διερευνηθούν σε μια μελλοντική μελέτη.

3.2.7 Απορρόφηση στα 420nm

Η αναλυτική απεικόνιση του χρώματος στους λευκούς οίνους γίνεται με την λήψη της απορρόφησης στα 420 nm. Τα δεδομένα παρουσιάζονται στα σχήματα 11Α και 11Β. Από το Σχήμα 11Α, η στατιστική επεξεργασία έδειξε μεν κάποιες διαφορές στις απορροφήσεις μεταξύ των βιολογικών επαναλήψεων των οίνων, όμως αντικειμενικά η διαφορά ως προς τις πραγματικές τιμές τους είναι μικρή και δεν αξιολογείται. Βλέποντας τους ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων που αφορούν τα δείγματα του κάθε βιότυπου ξεχωριστά, «Δ» και «δ», παρατηρούμε ότι οι διαφορές δεν φαίνεται να επιβεβαιώνονται από την στατιστική επεξεργασία. Συνοπτικά, λαμβάνοντας υπόψιν το μικρό εύρος διακύμανσης των απορροφήσεων των βιολογικών επαναλήψεων (0,051 έως 0,056), και τις τιμές των ΜΟ για την κάθε περίπτωση βιότυπου ξεχωριστά (0,053 και για τους δύο τύπους της ποικιλίας), καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι οι οίνοι των δύο βιότυπων επί της ουσίας δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερες διαφορές ως προς την απορρόφηση τους στα 420nm.



Σχήμα 11: Απεικόνιση της απορρόφησης στα 420nm σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των μετρήσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτήρες διαφοροποίησης. (Α) ΜΟ μετρήσεων για κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ των βιολογικών επαναλήψεων.

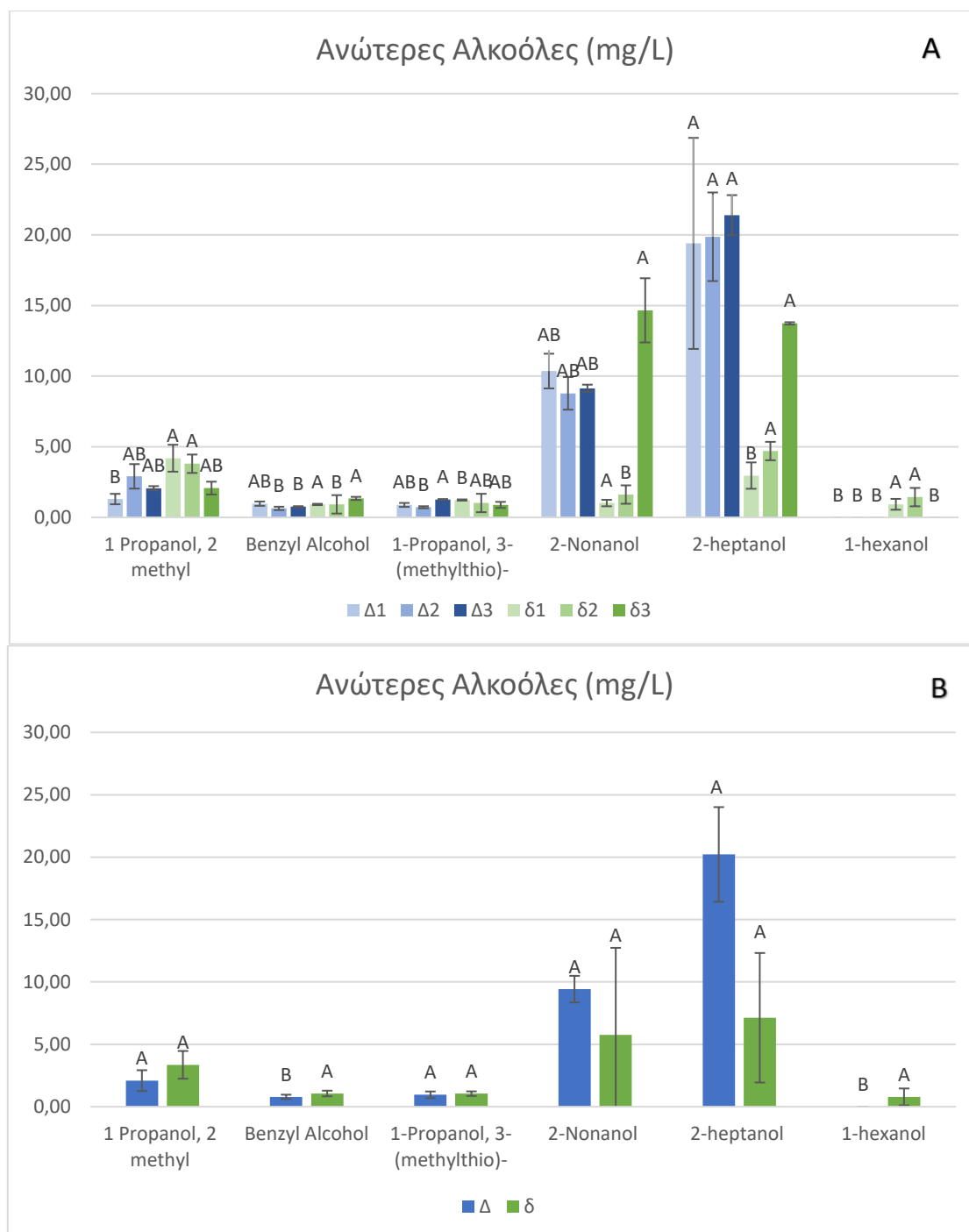
3.3 Ανάλυση πτητικών συστατικών των οίνων

Στην παρούσα ενότητα παρουσιάζεται η ποιοτική και ποσοτική μελέτη των πτητικών ενώσεων ανάμεσα στους οίνους που προέκυψαν από βιολογικές επαναλήψεις των δυο βιότυπων Μαλαγουζιάς. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών διεξάχθηκε με αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (GC-MS). Εν συνεχεία έγινε η ανίχνευση, η ταυτοποίηση και η ταξινόμηση των πτητικών ενώσεων σε επιμέρους κατηγορίες και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στα σχήματα που ακολουθούν.

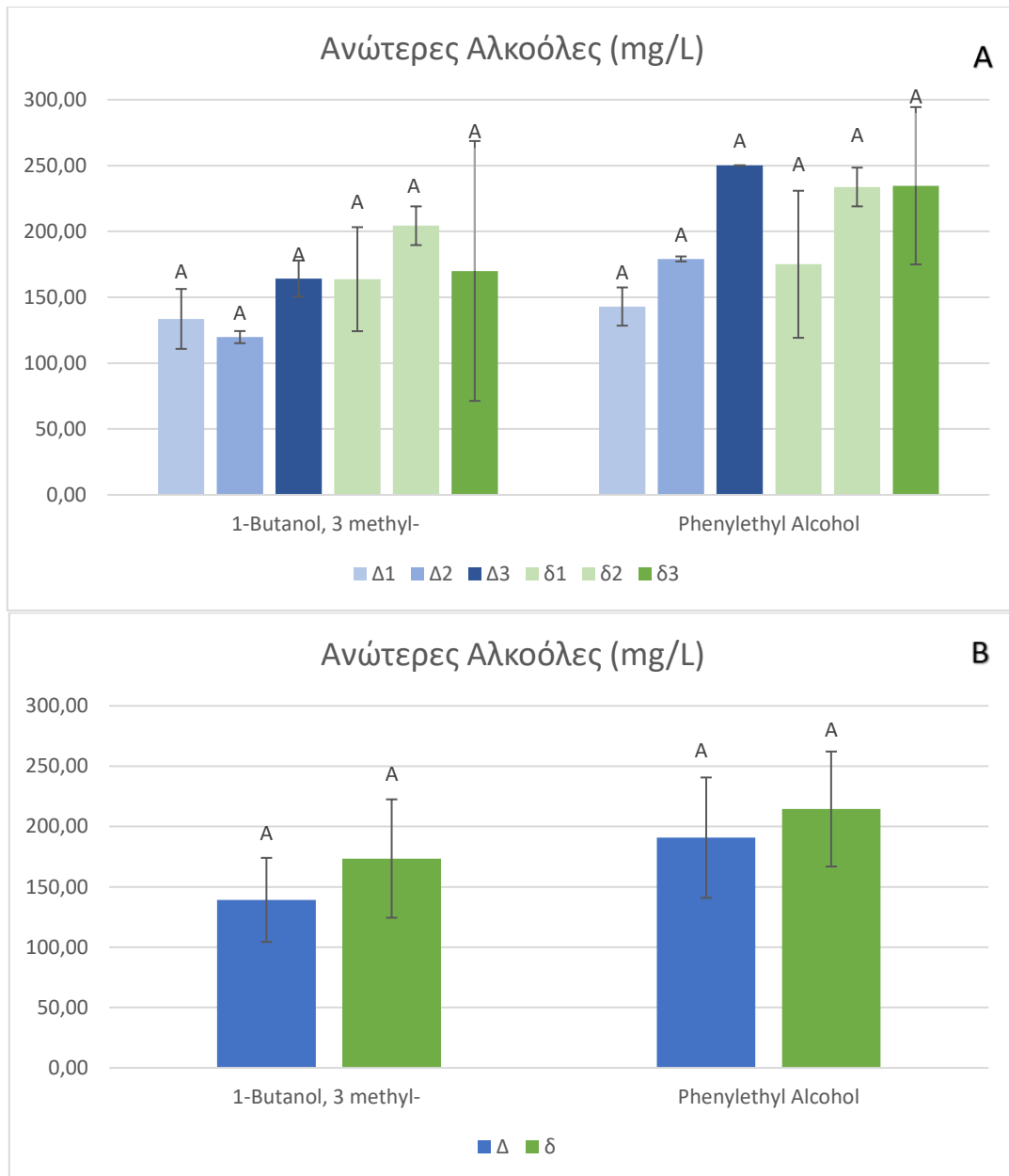
3.3.1 Ανώτερες Αλκοόλες

Η σημαντικότερη κατηγορία πτητικών ενώσεων οι οποίες παράγονται κατά την διεξαγωγή της αλκοολικής ζύμωσης είναι οι ανώτερες αλκοόλες με περισσότερους από 2 άνθρακες. Η βιοσύνθεση των αλκοολών αυτών γίνεται από τους ζυμομύκητες από τα αμινοξέα των σταφυλιών μέσω της αντίδρασης Ehrlich. Συχνά τις συναντάμε σε αυξημένες συγκεντρώσεις στους οίνους προσδίδοντας ευχάριστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Σε περιπτώσεις βέβαια που η περιεκτικότητά τους είναι μεγαλύτερη από 450 mg/L, θεωρείται ότι πλέον προσδίδουν βαριά οσμή, οπότε σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις είναι ανεπιθύμητες (Κεχαγιά, 2019). Όταν ανιχνεύονται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, ενισχύεται το άρωμα των ανθέων και των φρούτων καθώς και η πολυπλοκότητα του μπουκέτου, οπότε μπορούν να θεωρηθούν ως ποιοτική ένδειξη των οίνων.

Στις βιολογικές επαναλήψεις των οίνων που προήλθαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά ανιχνεύθηκαν οι εξής αλκοόλες: 1-propanol-2-methyl, Isoamyl alcohol (1-Butanol, 3-methyl), 1-propanol- 3-methylthio, 1-hexanol, phenylethylalcohol, benzyl alcohol, 2-nonanol και 2-heptanol. Οι συγκεντρώσεις τους παρουσιάζονται σε δύο σχήματα, 12 και 13, λόγω της μεγάλης διαφοράς της παρουσίας τους στους οίνους.



Σχήμα 12: Συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών (mg/L) σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο θιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των πτητικών ενώσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ πτητικών ενώσεων σε κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ πτητικών ενώσεων των βιολογικών επαναλήψεων για τον κάθε βιότυπο ξεχωριστά.



Σχήμα 13: Συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών (mg/L) σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των πτητικών ενώσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ πτητικών ενώσεων σε κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ πτητικών ενώσεων των βιολογικών επαναλήψεων για τον κάθε βιότυπο ξεχωριστά.

Όπως φαίνεται συνολικά από τα σχήματα 12 και 13 σε μεγαλύτερη συγκέντρωση βρίσκονται αρχικά η *Phenylethyl Alcohol*, και μετά ακολουθεί η *1-Butanol, 3-methyl (Isoamyl alcohol)*, με αυξητική τάση και στις δύο περιπτώσεις να εμφανίζεται στους οίνους της ομάδας «δ» που προήλθαν από τον μικρόραγο βιότυπο της ποικιλίας Μαλαγουζιά (φαίνεται πολύ ξεκάθαρα στο Σχήμα 13B). Οι τιμές των συγκεντρώσεων των πτητικών αλκοολών στο Σχήμα 13 φαίνεται να μην παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Από τα Σχήματα 12Α και 12B φαίνεται να βρίσκονται σε μεγαλύτερη ποσότητα οι ενώσεις *2-heptanol* και *2-Nonanol*, οι οποίες εντοπίζονται περισσότερο στις βιολογικές επαναλήψεις της ομάδας «Δ». Οι υπόλοιπες αλκοόλες που ανιχνεύονται

στις βιολογικές επαναλήψεις, *1-propanol-2-methyl*, *1-propanol-3-methylthio*, *1-hexanol* και *benzyl alcohol* -αναγράφονται σε φθίνουσα σειρά ως προς την περιεκτικότητά τους- φαίνεται να εμφανίζουν αυξητική τάση και πάλι στις βιολογικές επαναλήψεις της ομάδας «δ». Να σημειωθεί ότι στους οίνους της ομάδας «Δ» δεν βρέθηκε καθόλου *1-hexanol*. Οι τιμές των συγκεντρώσεων των πτητικών αλκοολών εμφανίζουν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ των βιολογικών επαναλήψεων, αλλά παρατηρώντας τους ΜΟ των πτητικών συστατικών στο Σχήμα 12B, οι τιμές των ΜΟ επί της ουσίας δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

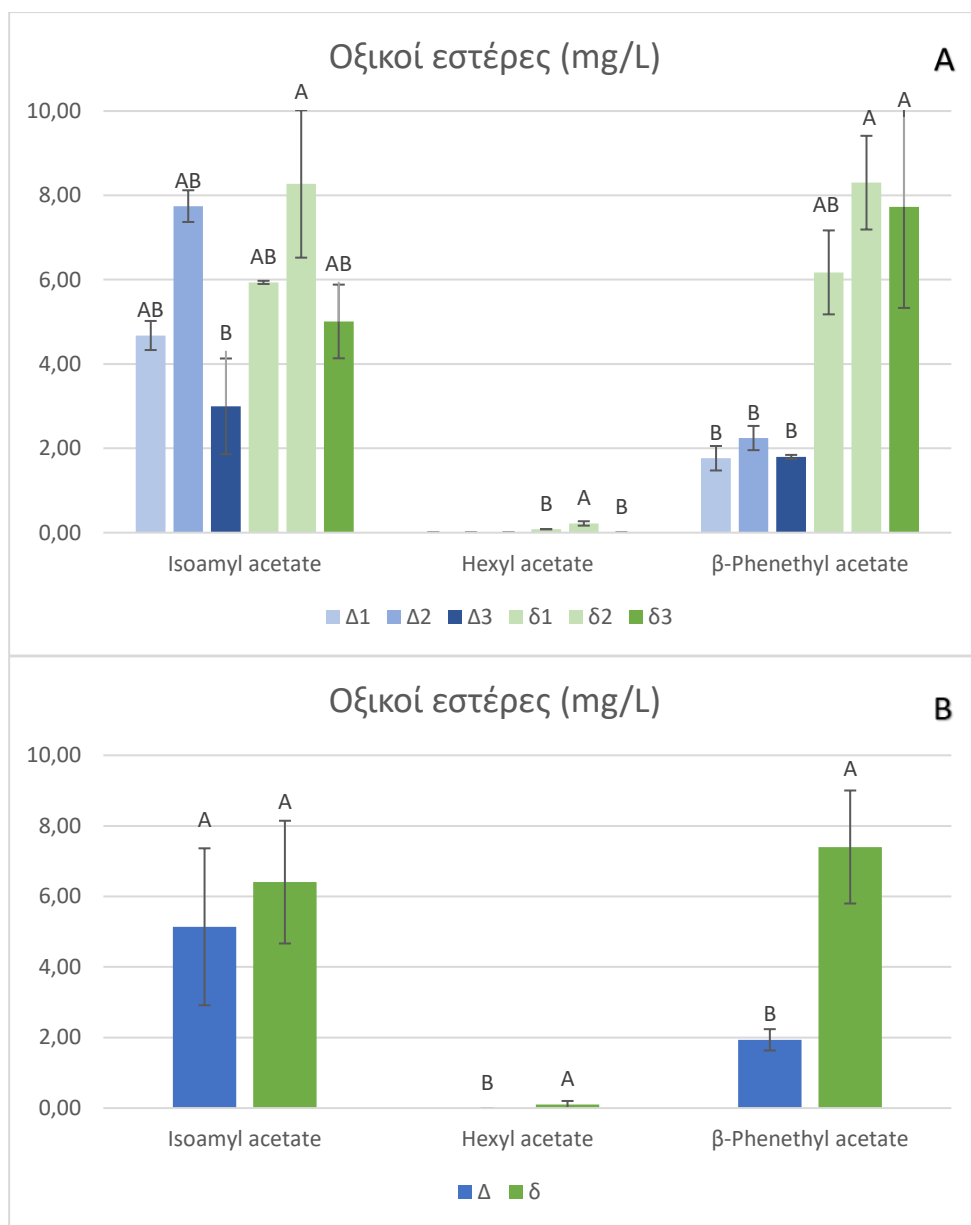
3.3.2 Εστέρες

Οι εστέρες αποτελούν μια ακόμη από τις βασικότερες κατηγορίες που προσδίδουν ευχάριστο άρωμα στους οίνους. Παράγονται επίσης κατά την αλκοολική ζύμωση και συμβάλλουν στο φρουτώδες αρωματικό προφίλ των οίνων. Μπορούν να διαχωριστούν όπως φαίνεται και παρακάτω σε δύο βασικές κατηγορίες, τους οξικούς και τους αιθυλικούς εστέρες.

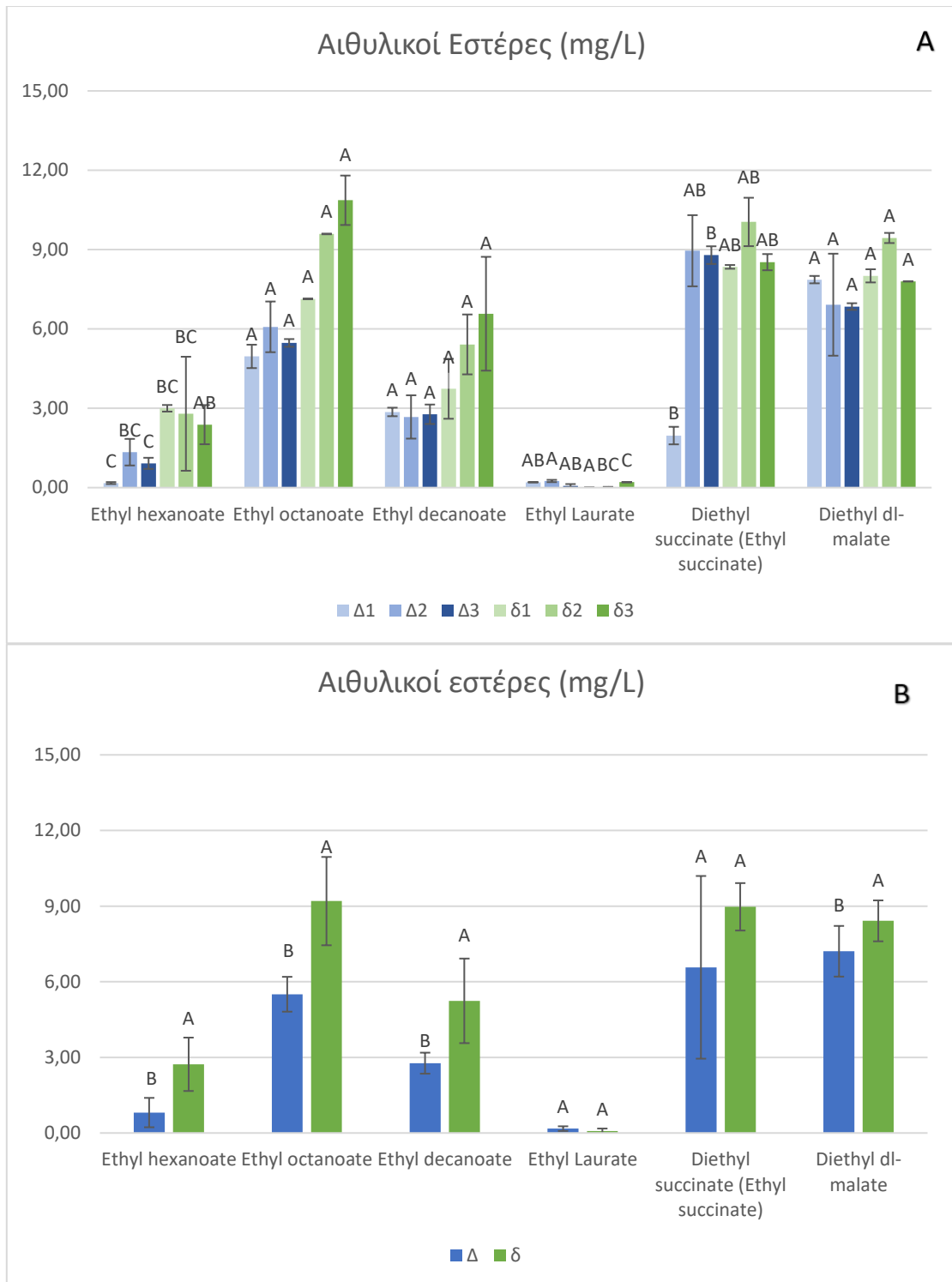
Στις βιολογικές επαναλήψεις του εν λόγω πειράματος ανιχνεύθηκαν οι εξής οξικοί εστέρες: *isoamyl acetate*, *hexyl acetate* και *β-phenyl acetate*. Οι συγκεντρώσεις που ποσοτικοποιήθηκαν φαίνονται στα σχήματα 14A και 14B. Γίνεται αντιληπτό ότι υψηλότερη περιεκτικότητα σε οξικούς εστέρες έχουν οι βιολογικές επαναλήψεις των οίνων της ομάδας «δ» που προήλθαν από τον βιότυπο της Μαλαγουζιάς με κύριο φαινοτυπικό χαρακτηριστικό το μικρότερο μέγεθος ράγας. Πιο συγκεκριμένα, σε μεγαλύτερη συγκέντρωση συνολικά βρίσκουμε την ένωση *β-phenyl acetate*, όπως γίνεται ξεκάθαρο και από το Σχήμα 14B, ενώ στην συνέχεια ακολουθούν ποσοτικά η *isoamyl acetate* και η *hexyl acetate*. Η *isoamyl acetate* εμφανίζεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στα δείγματα «Δ» αναλογικά με τις υπόλοιπες ενώσεις. Να σημειωθεί πως στις βιολογικές επαναλήψεις των οίνων «Δ» (Δ1, Δ2, Δ3) δεν ανιχνεύεται καθόλου η *hexyl acetate*. Οι τιμές των συγκεντρώσεων των οξικών εστέρων εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές τόσο μεταξύ τους στο Σχήμα 14A, όσο και στις τιμές των ΜΟ των πτητικών οξικών εστέρων που παρουσιάζονται στο Σχήμα 14B.

Οι αιθυλικοί εστέρες που ανιχνεύονται στους οίνους είναι οι εξής: *ethyl hexanoate*, *ethyl octanoate*, *ethyl decanoate*, *ethyl laurate*, *ethyl succinate*, *ethyl dlmalate* και οι συγκεντρώσεις τους παρουσιάζονται στα σχήματα 15A και 15B. Πιο αναλυτικά, από τα Σχήματα 15A και Β, φαίνεται πως οι βιολογικές επαναλήψεις της ομάδας «δ» εμφανίζουν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε αιθυλικούς εστέρες. Κατά σειρά μεγαλύτερη συγκέντρωση έχει η ένωση *ethyl octanoate*, ακολουθεί η *ethyl succinate*, η *ethyl dlmalate*, και μετά η *ethyl decanoate*, η *ethyl hexanoate*, και η *ethyl laurate* που εμφανίζεται σε μικρότερη ποσότητα αναλογικά με τις υπόλοιπες. Επίσης βλέπουμε συνδυαστικά και από τα δύο σχήματα ότι οι οίνοι κρατούν την ίδια ποσοτική τάση σχεδόν σε όλες τις βιολογικές επαναλήψεις, εκτός από την ένωση *ethyl laurate*, που παρουσιάζει μείωση στα δείγματα «δ» και πιο συγκεκριμένα στους

οίνους δ1 και δ2 δεν ανιχνεύεται είτε καθόλου, είτε ανιχνεύεται σε ελάχιστη ποσότητα αντίστοιχα. Τέλος οι τιμές των συγκεντρώσεων παρουσιάζουν σημαντικά στατιστικές διαφορές και στα δύο σχήματα, είτε πρόκειται για την αναλυτική εικόνα τους στο Σχήμα 15Α, είτε στους μέσους όρους των συγκεντρώσεων ανά βιότυπο στο Σχήμα 15Β.



Σχήμα 14: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων των οξικών εστέρων (mg/L) σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των πτητικών ενώσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστικές διαφοροποιήσεις. (Α) ΜΟ πτητικών ενώσεων σε κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ πτητικών ενώσεων των βιολογικών επαναλήψεων για τον κάθε βιότυπο ξεχωριστά.



Σχήμα 15: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων των αιθυλικών εστέρων (mg/L) σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των πτητικών ενώσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτήρες διαφοροποίησης. (Α) ΜΟ πτητικών ενώσεων σε κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ πτητικών ενώσεων των βιολογικών επαναλήψεων για τον κάθε βιότυπο ξεχωριστά.

3.3.3 Πτητικά Οξέα

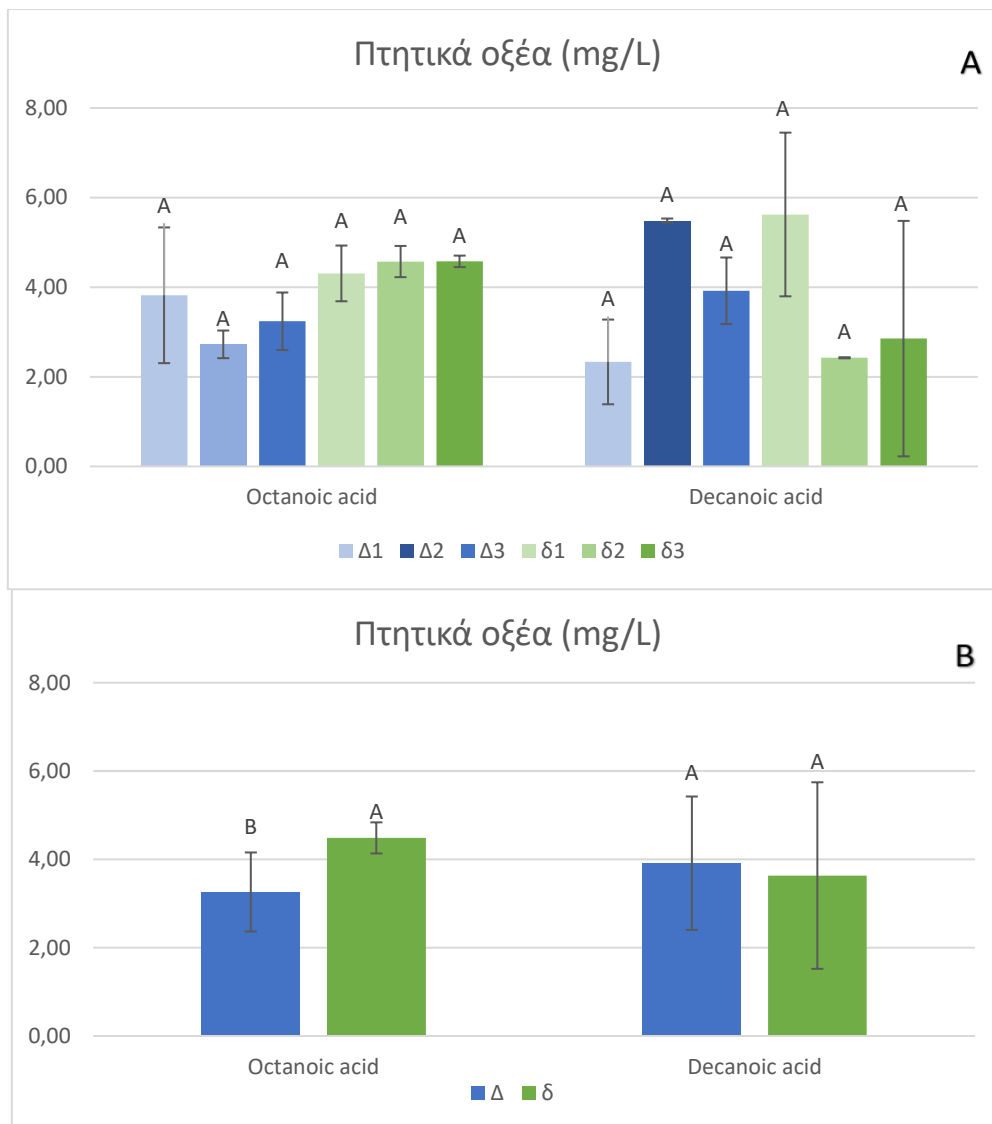
Τα πτητικά οξέα των οίνων συνήθως διαθέτουν από 2-12 άτομα άνθρακα, ενώ τα μεγαλύτερα σε μοριακό βάρος οξέα δεν συνεισφέρουν στο αρωματικό προφίλ των οίνων. Τα οξέα διαμορφώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, το άρωμα των

οίνων και την οξύτητα του. Αξίζει να αναφερθεί ότι το κυριότερο πτητικό οξύ των οίνων, το οξικό οξύ, διαμορφώνει την πτητική τους οξύτητα, και όταν ανιχνευθεί σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από 0,8 g/L, εμφανίζονται ελαττώματα στο άρωμα του οίνου καθώς προσδίδει οσμή ξυδιού. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις του συνδέονται με προσβολή από οξικά και γαλακτικά βακτήρια. Η ανίχνευση του σε μικρότερες συγκεντρώσεις ευνοεί την αρωματική πολυπλοκότητα και την γεύση του οίνου (Κεχαγιά, 2019).

Η συγκέντρωση των οξέων που δημιουργούνται κατά την διεξαγωγή της αλκοολικής ζύμωσης εξαρτάται ως ένα βαθμό από το στέλεχος του ζυμομύκητα, τις συνθήκες της ζύμωσης, καθώς επίσης και από την σύνθεση του μέσου. Οι οσμές που προσδίδουν τα συγκεκριμένα οξέα στον οίνο όταν βρεθούν σε πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις είναι το άρωμα ταγγισμένου βουτύρου, τυριού καθώς και πικάντικες οσμές (Larnbrechts & Pretorius, 2000).

Τα πτητικά οξέα που ανιχνεύθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν δύο στο σύνολο: *Octanoic acid*, *Decanoic acid*. Σε αυτό το σημείο να σημειωθεί ότι, όπως έχει παρατηρηθεί, η στήλη που χρησιμοποιήθηκε δεν παρουσιάζει μεγάλη εκλεκτικότητα ως προς τα οξέα.

Οι συγκεντρώσεις των οξέων φαίνονται στα σχήματα 16A και B, όπου παρατηρείται ότι οι συγκεντρώσεις τους στις βιολογικές επαναλήψεις κινούνται σε κοντινό εύρος, ενώ από το Σχήμα 16B παρατηρείται ότι το *octanoic acid* βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ομάδα οίνων «δ». Από την άλλη στους οίνους της ομάδας «Δ», φαίνεται να έχουμε ελάχιστα μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε *decanoic acid*. Συνολικά δεν φαίνεται να υπάρχει σαφής τάση των οίνων ως προς την περιεκτικότητα σε πτητικά οξέα. Στο Σχήμα 16A δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συγκεντρώσεων στις βιολογικές επαναλήψεις των δύο βιότυπων, ενώ στο Σχήμα 16B παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των MO συγκεντρώσεων του *octanoic acid* στους οίνους της ομάδας «Δ».



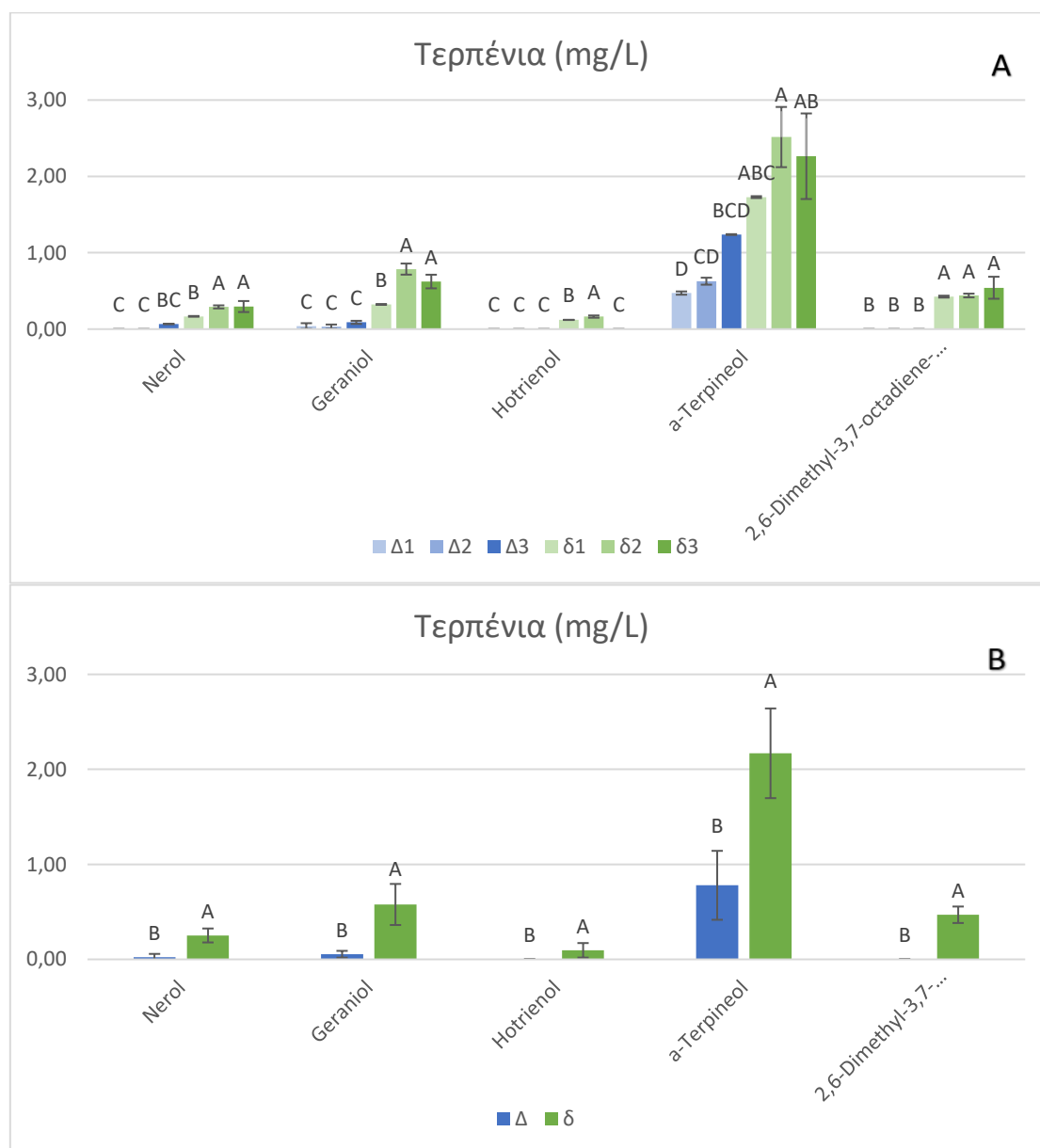
Σχήμα 16: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων των πτητικών οξέων (mg/L) σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των πτητικών ενώσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστές διαφοροποίησης. (Α) ΜΟ πτητικών ενώσεων σε κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ πτητικών ενώσεων των βιολογικών επαναλήψεων για τον κάθε βιότυπο ξεχωριστά.

3.3.4 Τερπένια

Μια από τις κυριότερες κατηγορίες που διαμορφώνει το πρωτογενές άρωμα των οίνων είναι τα τερπένια. Η σημαντικότερη κατηγορία τους στο κρασί είναι τα μονοτερπένια, ενώ τις περισσότερες φορές εμφανίζονται με την μορφή αλκοολών, τις μονοτερπενόλες. Οι πιο έντονες αρωματικά είναι κυρίως η nerol, η geraniol, η α-terpineol, η linalool με οσμές που θυμίζουν κυρίως ανθικά αλλά και φρουτώδη αρώματα. Αυτές οι ενώσεις είναι χαρακτηριστικές σε ποικιλίες όπως το Μοσχάτο και το Gewürztraminer, ενώ αποτελούν χαρακτηριστική κατηγορία διαμόρφωσης του αρωματικού προφίλ της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Επίσης ενώ σε τέτοιες αρωματικές ποικιλίες μεγάλο ποσοστό αυτών των ενώσεων βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή, υπάρχουν επίσης δεσμευμένες ενώσεις οι οποίες απελευθερώνονται με όξινη υδρόλυση όπως είναι η Ho-trienol και η cis-rose oxide. Η συγκέντρωση των

τερπενοειδών στα σταφύλια μπορεί να επηρεαστεί από τις καλλιεργητικές τεχνικές, τις κλιματολογικές και εδαφικές συνθήκες καθώς και από τον βαθμό ωρίμανσης. Επίσης έχει παρατηρηθεί μείωση των τερπενικών ενώσεων και των χαρακτηριστικών ποικιλιακών αρωμάτων τους κατά την παλαίωση των οίνων (Gerovassileiou, 2016).

Στους οίνους της ποικιλίας Μαλαγουζιά βρέθηκαν οι εξής ενώσεις αυτής της κατηγορίας: *nerol*, *geraniol*, *ho-trienol*, *α-terpineol*, *2,6 dimethyl- 3,7-octadiene-2,6-diol* και οι συγκεντρώσεις τους φαίνονται στα σχήματα 17A και B.



Σχήμα 17: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων των τερπενολών (mg/L) σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι ΜΟ των πτητικών ενώσεων, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστές διαφοροποίησης. (Α) ΜΟ πτητικών ενώσεων σε κάθε βιολογική επανάληψη, (Β) ΜΟ πτητικών ενώσεων των βιολογικών επαναλήψεων για τον κάθε βιότυπο ξεχωριστά.

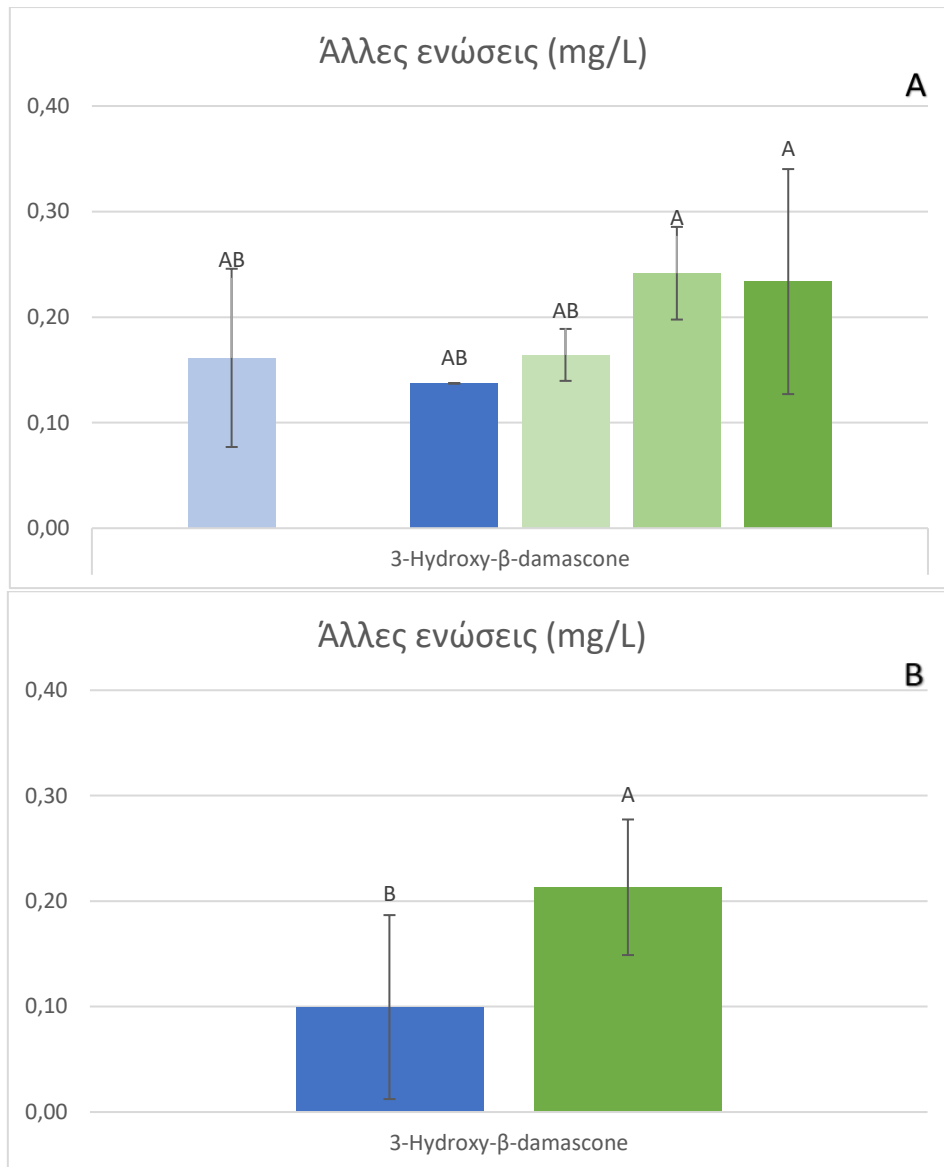
Στο Σχήμα 17 παρατηρούμε ότι σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανιχνεύεται η *α-terpineol*, μετά ακολουθούν η *geraniol*, η *nerol*, η *2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-*

diol και τέλος η *hotrienol*. Επίσης είναι φανερή η αυξητική τάση των συγκεντρώσεων που υπάρχει στους οίνους της ομάδας «δ» που προέρχονται από τις βιολογικές επαναλήψεις του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας, ενώ επίσης φαίνεται ότι σε αυτούς τους οίνους ανιχνεύονται ενώσεις όπως η *hotrienol*, η *2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol*, που δεν ανιχνεύονται καθόλου στα δείγματα της ομάδας «Δ». Τέλος παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις των τερπενολών στους οίνους των δύο βιότυπων της ποικιλίας.

3.3.5 Άλλες πτητικές ενώσεις

Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε επίσης ένωση που ανήκει στην κατηγορία των Νορισοπρενοειδών. Πρόκειται για ενώσεις που σχηματίζονται λόγω της ενζυματικής και οξειδωτικής διάσπασης των καρτενοειδών ενώσεων του σταφυλιού με αποτέλεσμα την παραγωγή των C₁₃ Νορισοπρενοειδών. Δύο από τις πιο δημοφιλείς ενώσεις της κατηγορίας αυτής που συμβάλλουν στο πρωτογενές άρωμα του οίνου είναι η β-δαμασκηνόνη, και η β-ιονόνη. Σχεδόν σε όλα τα δείγματα οίνου βρέθηκε η ένωση *3-Hydroxy-β-damascene*, η οποία σύμφωνα με άρθρο της βιβλιογραφίας χαρακτηρίζεται από άρωμα τριαντάφυλλου (Skouroumounis, 1991), σύμφωνα με άλλο άρθρο της βιβλιογραφίας θεωρείται ότι εκλείπει σε οσμή (Naiker, 2001), ενώ σύμφωνα με τον (Schneider, 2001) κατά την ωρίμανση του οίνου οι ενώσεις όπως η *3-Hydroxy-β-damascene* δίνουν οσμές παρόμοιες της *β-damascenone*. Από το Σχήμα 18 είναι ξεκάθαρη η τάση της ένωσης να βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους οίνους «δ», καθώς μάλιστα στο δείγμα Δ2 φαίνεται να μην ανιχνεύθηκε καθόλου. Επίσης οι βιολογικές επαναλήψεις φαίνεται να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την συγκέντρωση της συγκεκριμένης ένωσης όπως είναι εμφανές και από τα γραφήματα.

Σύμφωνα και πάλι με την βιβλιογραφία, σε pH=3 (όξινο pH) και θερμοκρασία δωματίου, η αντίδραση βιοσύνθεσης της *β-damascenone* η οποία διεξάγεται πριν την συγκομιδή θα δώσει ένα μικρό ποσοστό *β-damascenone* (1), ένα μεγαλύτερο ποσοστό της *3-Hydroxy-β-damascene* (2) που μπορεί να φτάσει σε αναλογία 1:10, καθώς και ένα ακόμη ελάχιστο ποσοστό της *acetylenic diol* (3) η οποία σε όξινες συνθήκες μετά την οινοποίηση και κατά την ωρίμανση του οίνου μπορεί να μετατραπεί στις ενώσεις (1) και (2). Η *3-hydroxy-β-damascene* σε όξινες συνθήκες δεν μετατρέπεται σε *β-damascenone* (Naiker, 2001; Skouroumounis, 1991). Σε αυτή την μελέτη δεν έχει ανιχνευθεί στους οίνους η *β-damascenone*, παρά μόνο η *3-hydroxy-β-damascene* η οποία μπορεί να βρίσκεται σε μεγαλύτερα επίπεδα σύμφωνα και με την βιβλιογραφία. Να σημειωθεί ότι σε παλαιότερη έρευνα σύμφωνα με τον Gerovassileiou (2016) έχει ανιχνευθεί *β-damascenone*, σε δείγματα οίνων Μαλαγουζιάς. Έτσι συνδυαστικά δημιουργείται το ενδιαφέρον, αν σε βάθος χρόνου θα μπορούσε να ανιχνευθεί η συγκεκριμένη ένωση κατά την ωρίμανση οίνων Μαλαγουζιάς στη φιάλη, καθώς σε αυτή την περίπτωση εντοπίζεται ένωση που ανήκει στο ίδιο βιοσυνθετικό μονοπάτι.



Σχήμα 18: Συγκέντρωση άλλης πτητικής ένωσης (mg/L) που βρέθηκε σε οίνους που προέκυψαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Στο διάγραμμα φαίνονται οι MO της πτητικής ένωσης, η τυπική απόκλιση και οι χαρακτηριστές διαφοροποίησης. (A) MO της πτητικής ένωσης σε κάθε βιολογική επανάληψη, (B) MO πτητικής ένωσης των βιολογικών επαναλήψεων για τον κάθε βιότυπο ξεχωριστά.

3.3.6 Αρώματα-Οσμές πτητικών ενώσεων που ανιχνεύθηκαν

Παρακάτω παρατίθεται πίνακας στον οποίο αναφέρονται τα χαρακτηριστικά αρώματα-οσμές που αντιστοιχούν στην κάθε πτητική ένωση που ανιχνεύθηκε στους δύο βιότυπους Μαλαγουζιάς.

Πίνακας 8: Αρώματα των πτητικών ενώσεων που ανιχνεύθηκαν στους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά, (Barbera, 2013, Gerovassileiou, 2016, Welke, 2014)

Volatile Compounds	Odor	Volatile compounds	Odor
ALCOHOLS		Ethyl hexanoate	<i>Fruity, green apple</i>
Phenylethyl alcohol	<i>Floral, rose</i>	Ethyl octanoate	<i>Sweet, fruity, pear</i>

1-Butanol, 3-methyl	<i>Solvent, alcoholic, pungent, fruity</i>	Ethyl decanoate	<i>Fruity, grape</i>
2-heptanol	<i>Lemon, orange</i>	Ethyl laurate	<i>Sweet, floral, fruity cream</i>
2-Nonanol	<i>Fruity, green</i>	ACIDS	
1-propanol-2-methyl	<i>Wine, Solvent</i>	Octanoic acid	<i>Fatty, rancid</i>
1-propanol-3-methylthio	<i>Sweet, soup, meat-like</i>	Decanoic acid	<i>Fatty rancid</i>
1-hexanol	<i>Herbaceous, grass</i>	TERPENES	
Benzyl alcohol	<i>Sweet, fruity, floral</i>	a-Terpineol	<i>Floral, camphre, sweet</i>
ESTERS		Geraniol	<i>Rose, Geranium</i>
β-phenyl acetate	<i>Rose, honey, fruity, flowery</i>	Nerol	<i>Rose, lime</i>
Isoamyl acetate	<i>Banana, fruity, sweet</i>	Hotrienol	<i>Hyacinth</i>
Hexyl acetate	<i>Apple, cherry, pear, floral</i>	2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol	<i>Floral</i>
Ethyl succinate	<i>Fruity, Wine</i>	OTHERS	
Ethyl dimalate	<i>Over-ripe, peach, cut grass</i>	3-Hydroxy-β-damascone	<i>Tasteless or floral</i>

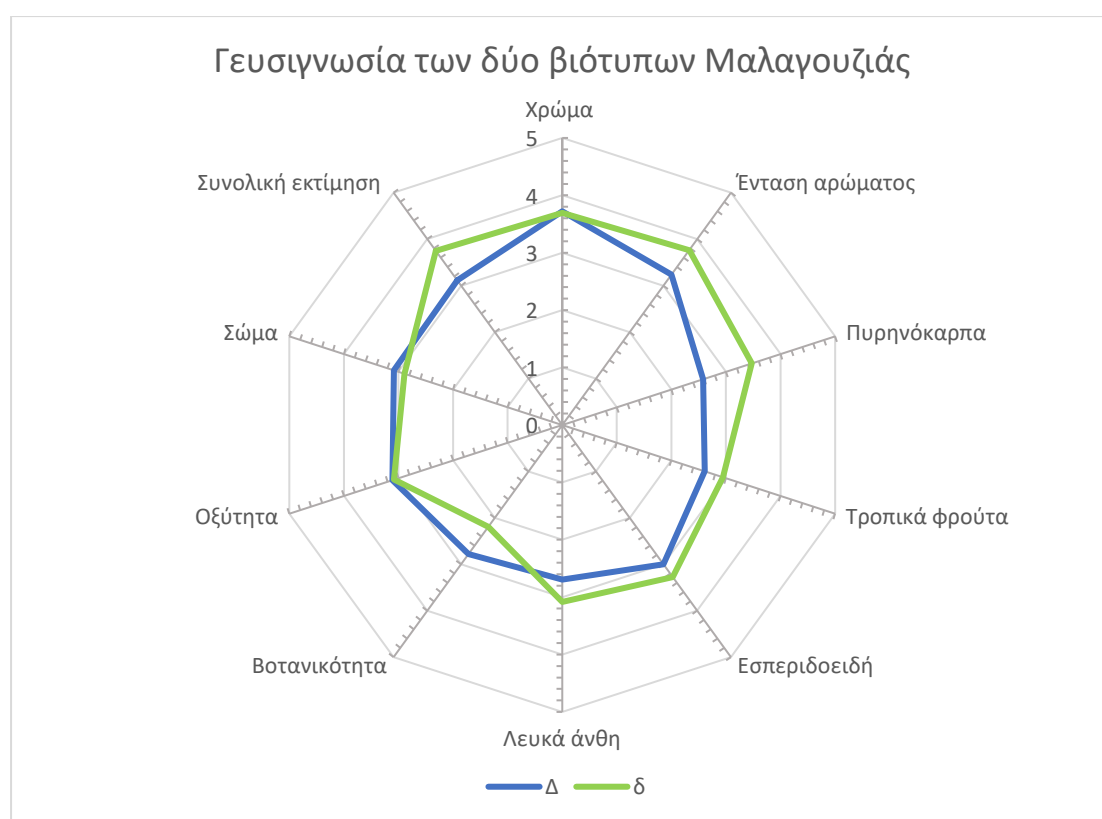
3.4 Γευσιγνωσία

Η οργανοληπτική αξιολόγηση των οίνων που προέκυψαν από βιολογικές επαναλήψεις των δύο βιότυπων της ποικιλίας Μαλαγουζιά, πραγματοποιήθηκε με τυφλή γευσιγνωσία των 6 οίνων. Σκοπός της γευσιγνωσίας ήταν η αξιολόγηση τους σε αρωματικό και γευστικό επίπεδο. Πραγματοποιήθηκαν δύο τυφλές γευστικές δοκιμές, στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών και στην συνέχεια στο Κτήμα Γεροβασιλείου, με διαφορά λίγων ημερών. Οι ομάδες αξιολόγησης των οίνων απαρτίστηκαν και στις δύο περιπτώσεις από έμπειρους γευσιγνώστες ηλικίας 25-60 ετών. Συνολικά οι δοκιμαστές ήταν 12 σε αριθμό. Οι 6 οίνοι επισημάνθηκαν με τυχαίους τριψήφιους κωδικούς και σερβιρίστηκαν σε γυάλινα ποτήρια INAO σε σχήμα τουλίπας με καπάκι για περαιτέρω προστασία.

Οι δοκιμαστές κλήθηκαν να συμπληρώσουν το φύλλο γευσιγνωσίας που τους δόθηκε και να βαθμολογήσουν με κλίμακα από 1 έως 5 με σκοπό την εκτίμηση του χρώματος, της αρωματικής έντασης, καθώς και την κατηγοριοποίηση-αξιολόγηση των αρωμάτων ώστε κατ' επέκτασιν να δημιουργηθεί και ένα συμπέρασμα ως προς την πολυπλοκότητα της οσφρητικής και γευστικής παλέτας των οίνων των δύο βιότυπων. Επίσης βαθμολόγησαν στο τέλος τον κάθε οίνο ως προς την συνολική εκτίμηση. Τα

αποτελέσματα αυτής της γευσιγνωσίας έρχονται να πλαισιώσουν τα αποτελέσματα όλων των μετρήσεων που έγιναν σε ερευνητικό και εργαστηριακό επίπεδο και να δείξουν και πάλι την διαφοροποίηση του αρωματικού προφίλ των βιολογικών επαναλήψεων μεταξύ των δύο βιότυπων της ποικιλίας Μαλαγουζιά.

Στο παρακάτω γράφημα τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ομαδοποιημένα, για τις βιολογικές επαναλήψεις που αφορούν τους οίνους της ομάδας «δ», οι οποίοι προήλθαν από τον μικρόραγο βιότυπο της ποικιλίας Μαλαγουζιά, και τους οίνους της ομάδας «Δ» που προήλθαν από τον standard βιότυπο της ποικιλίας. Συγκεκριμένα, στο αραχνόγραμμα (Σχήμα 19) εμφανίζονται οι ΜΟ των αποτελεσμάτων που έδωσαν οι δοκιμαστές για τους οίνους των δύο βιότυπων, ώστε να αντιληφθούμε και πάλι την διαφοροποίηση μεταξύ των παραγόμενων οίνων τους.



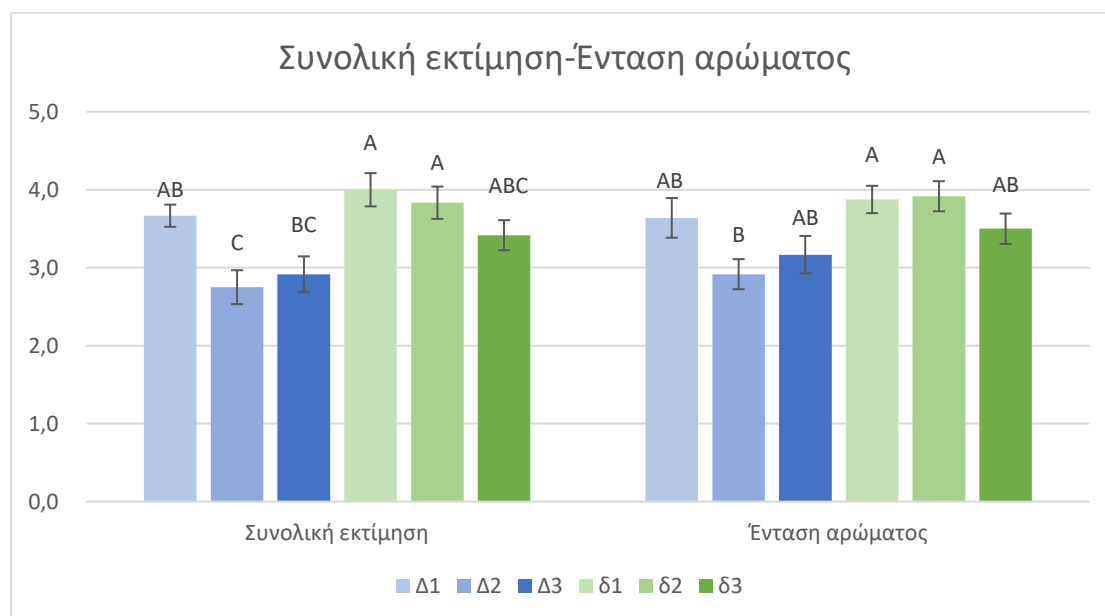
Σχήμα 19: Αποτελέσματα γευσιγνωσίας των οίνων που προήλθαν από τους δύο βιότυπους Μαλαγουζιάς. Στο γράφημα φαίνονται οι Μ.Ο. των αποτελεσμάτων των δοκιμαστών για τις βιολογικές επαναλήψεις του κάθε βιότυπου («Δ» και «δ»).

Όπως προκύπτει από το ιστόγραμμα οι οίνοι της ομάδας «δ» που προέκυψαν από τις βιολογικές επαναλήψεις του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας Μαλαγουζιά υπερτερούν ως προς την ένταση αρώματος, πράγμα που φαίνεται στην συνέχεια από την κάθε επιμέρους αρωματική κατηγορία, εκτός από την παράμετρο της «βοτανικότητας». Βέβαια να σημειωθεί ότι οι οίνοι της ομάδας «Δ», σε γενικότερο πλαίσιο, φαίνεται να παρουσιάζουν επίσης αξιολογα «σκορ» ως προς τις κατηγορίες που αξιολογήθηκαν.

Αναλυτικά, το πιο έντονο άρωμα στους οίνους της ομάδας «δ» φαίνεται να είναι τα αρώματα των πυρηνόκαρπων φρούτων, ενώ επίσης παρατηρούνται έντονα αρώματα εσπεριδοειδών, λευκών ανθέων και τροπικών φρούτων διαδοχικά. Επίσης ο βοτανικός χαρακτήρας φαίνεται να είναι λιγότερο έντονος στους οίνους της ομάδας «δ», και αποτελεί τον μοναδικό παράγοντα όπου αρωματικά είναι πιο έντονοι οι οίνοι της ομάδας «Δ» κατά τους δοκιμαστές. Όσον αφορά λοιπόν τους οίνους «Δ», εμφανίζουν ένταση σε αρώματα εσπεριδοειδών και βοτανικότητας σε σχέση με τις υπόλοιπες κατηγορίες, ενώ σε συνολικό επίπεδο είναι πιο χαμηλής αρωματικής έντασης.

Για την οξύτητα και το χρώμα των οίνων οι δοκιμαστές αξιολόγησαν πως και οι δύο ομάδες οίνων φαίνεται να μην εμφανίζουν διαφορές, πράγμα που επίσης διαπιστώνεται και επί της ουσίας από τις αναλύσεις τους σε προηγούμενες ενότητες. Σε σώμα υπερτερούν οι οίνοι της ομάδας «Δ», αλλά με μικρή διαφοροποίηση. Τέλος φαίνεται η προτίμηση των δοκιμαστών αξιολογώντας τους οίνους των δύο βιότυπων ως προς την συνολική εκτίμηση. Έτσι λοιπόν διαπιστώθηκε ότι προτιμούν τους οίνους της ομάδας «δ» του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας, αποδίδοντας όμως αξιολογικές βαθμολογίες και στους οίνους του standard γενετικού υλικού.

Δίνοντας περισσότερο βάρος στην γενική εκτίμηση των οίνων, στο Σχήμα 20 παρουσιάζονται τα σκορ ως προς την «συνολική εκτίμηση» και την «ένταση αρώματος» που έλαβαν οι οίνοι που προήλθαν από τις βιολογικές επαναλήψεις των σταφυλιών των δύο περιπτώσεων της Μαλαγουζιάς.



Σχήμα 20: Απεικόνιση της αξιολόγησης των δοκιμαστών ως προς την συνολική εκτίμηση και την αρωματική ένταση των οίνων των δύο βιότυπων.

Αρχικά από το Σχήμα 20 φαίνεται ότι υπάρχει μια τάση η προτίμηση των δοκιμαστών να συμβαδίζει με την αρωματική ένταση των οίνων.

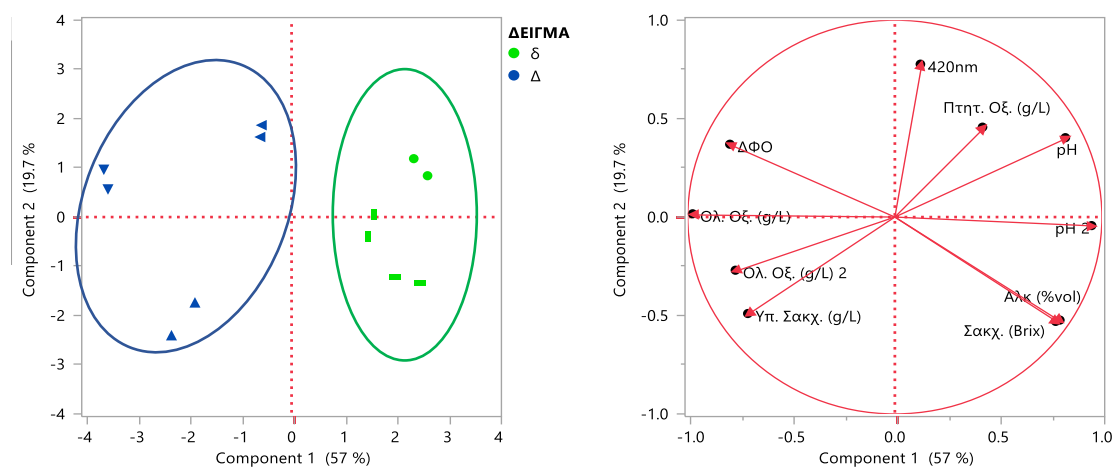
Ως προς το κριτήριο «αρωματική ένταση», οι οίνοι του μικρόραγου βιότυπου «δ», έλαβαν υψηλότερες βαθμολογίες από τους δοκιμαστές. Βέβαια, με την βοήθεια της στατιστικής επεξεργασίας, οι οίνοι «δ» του μικρόραγου βιότυπου δεν φαίνεται να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές με τους οίνους του «Δ» του standard βιότυπου. Παρ' όλα αυτά, η τάση του μικρόραγου βιότυπου να δίνει πιο αρωματικούς οίνους επιβεβαιώνεται και από την γευσίγνωσία.

Όσον αφορά την «συνολική εκτίμηση» φαίνεται να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα «σκορ» των δοκιμαστών ως προς το κριτήριο αυτό, ίσως όχι σε όλο το εύρος των επαναλήψεων, αλλά διαπιστώνεται σε συνολικό επίπεδο ότι υπάρχει η τάση οι οίνοι του μικρόραγου βιότυπου «δ» να είναι ψηλότερα στην «συνολική εκτίμηση» των δοκιμαστών. Να σημειωθεί βέβαια ότι σε μια γενικότερη εικόνα τα «σκορ» των οίνων του standard βιότυπου της Μαλαγουζιάς παρουσιάζουν στην πραγματικότητα ικανοποιητικές βαθμολογίες ως προς την προτίμηση των γευσίγνωστών.

3.5 Ανάλυση κύριων συνιστωσών PCA

3.5.1 PCA βασικών αναλύσεων γλεύκους και οίνων

Για την συνολικότερη εικόνα και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων που λήφθηκαν από τις βασικές αναλύσεις που διεξάχθηκαν στα γλεύκη και στους παραγόμενους οίνους, πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση με ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) και παρουσιάζεται στο Σχήμα 21. Οι μεταβλητές που προσδιορίστηκαν διαμόρφωσαν τις δύο κύριες συνιστώσες, πράγμα που προέκυψε μέσα από μαθηματικές εξισώσεις. Παρατηρείται ότι ο άξονας 1 περιλαμβάνει το 57% της πληροφορίας ενώ ο άξονας 2 το 19,7%.

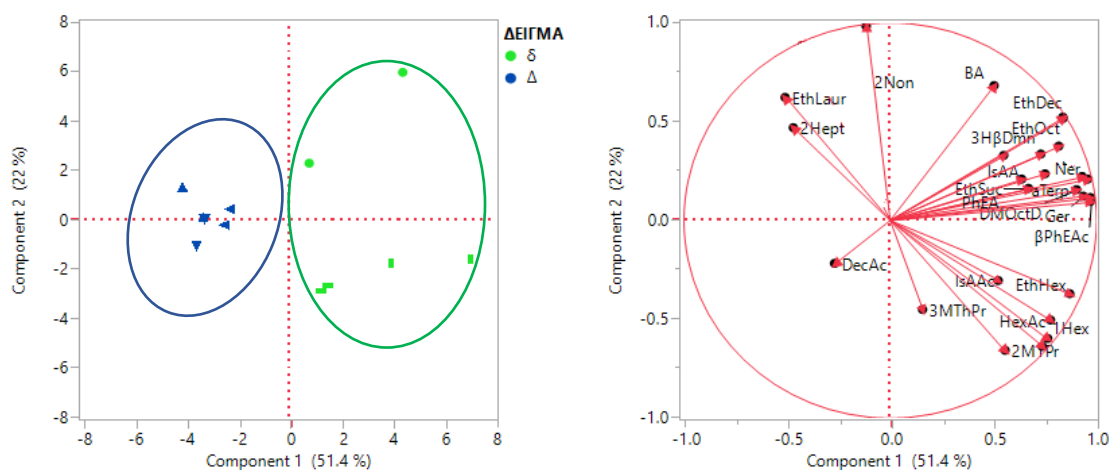


Σχήμα 21: Ανάλυση κύριων συνιστωσών βασικών αναλύσεων σε γλεύκη και οίνους που προήλθαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά.

Οι βιολογικές επαναλήψεις των δύο βιότυπων ομαδοποιούνται και διαχωρίζονται ως προς την κύρια συνιστώσα (άξονας 1). Τα δείγματα «δ» που προήλθαν από τον μικρόραγο βιότυπο της Μαλαγουζιάς εμφανίζουν θετική συσχέτιση με το pH(2) του οίνου, το pH του γλεύκους, την πτητική οξύτητα, την A420nm, τον αλκοολικό βαθμό και τα Brix, και παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές σε αυτές τις παραμέτρους. Έτσι λοιπόν εμφανίζουν αρνητική συνάρτηση με τις υπόλοιπες παραμέτρους, ΔΦΟ, ολική οξύτητα γλεύκους και οίνου, και υπολειπόμενα σάκχαρα, και άρα χαρακτηρίζονται από μικρότερες περιεκτικότητες σε αυτά τα μεγέθη. Από την άλλη, οι οίνοι «Δ» του standard βιότυπου παρουσιάζουν θετική συσχέτιση με τις τιμές των ΔΦΟ, της ολικής οξύτητας γλεύκους και οίνου, και τα υπολειπόμενα σάκχαρα, και αρνητική συσχέτιση με τα υπόλοιπα μεγέθη.

3.5.2 PCA πτητικών ενώσεων

Για την συνολικότερη εικόνα και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων που λήφθηκαν από τις αναλύσεις των πτητικών συστατικών των βιολογικών επαναλήψεων των δύο βιότυπων της ποικιλίας Μαλαγουζιά, πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση με ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Σχήμα 22. Οι μεταβλητές που προσδιορίστηκαν διαμόρφωσαν τις δύο κύριες συνιστώσες, πράγμα που προέκυψε μέσα από μαθηματικές εξισώσεις. Παρατηρείται ότι ο άξονας 1 περιλαμβάνει το 51,4% της πληροφορίας ενώ ο άξονας 2 το 22%.



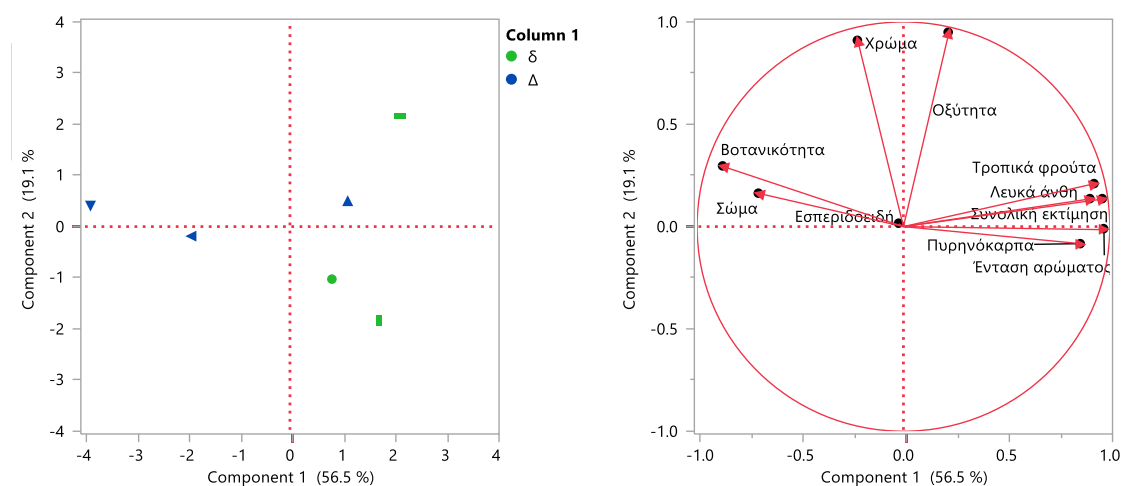
Σχήμα 22: Ανάλυση κύριων συνιστωσών των πτητικών συστατικών σε οίνους που προήλθαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά

Οι βιολογικές επαναλήψεις των δύο βιότυπων, παρατηρούμε και πάλι ότι διαχωρίζονται ως προς την κύρια συνιστώσα (άξονας 1). Οι οίνοι «Δ» που προήλθαν από τον standard βιότυπο της ποικιλίας εμφανίζουν θετική συσχέτιση με τις πτητικές ενώσεις ethyl laurate, 2-heptanol, 2-nonanol και decanoic acid καθώς παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές σε αυτές τις παραμέτρους. Αντίστοιχα εμφανίζουν αρνητική συσχέτιση με τις υπόλοιπες παραμέτρους που δεν αναφέρθηκαν και απεικονίζονται στο Σχήμα 22. Από την άλλη οι οίνοι «δ» εμφανίζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα και

άρα θετική συσχέτιση με τις υπόλοιπες πτητικές ενώσεις όπως είναι ενδεικτικά η *α-terpineol*, *nerol*, *geraniol*, *1-hexanol*, *hexyl acetate*, *ethyl octanoate*, *ethyl hexanoate*, *ethyl succinate*, *isoamyl alcohol*, *phenylthyl alcohol* κτλ, ενώ εμφανίζουν αρνητική συσχέτιση με τις *ethyl laurate*, *2-heptanol*, *2-nonanol* και *decanoic acid*, που όπως προαναφέρθηκε είναι χαρακτηριστικές ενώσεις των οίνων «Δ».

3.5.3 PCA οργανοληπτικής αξιολόγησης

Για την συνολικότερη εικόνα και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων που λήφθηκαν από την οργανοληπτική δοκιμή που διεξάχθηκε στους παραγόμενους οίνους, πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση με ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Σχήμα 23. Οι μεταβλητές που προσδιορίστηκαν διαμόρφωσαν τις δύο κύριες συνιστώσες, πράγμα που προέκυψε μέσα από μαθηματικές εξισώσεις. Παρατηρείται ότι ο άξονας 1 περιλαμβάνει το 56,5% της πληροφορίας ενώ ο άξονας 2 το 19,1%.



Σχήμα 23: Ανάλυση κύριων συνιστωσών των περιγραφικών όρων της οργανοληπτικής αξιολόγησης σε οίνους που προήλθαν από τους δύο βιότυπους της ποικιλίας Μαλαγουζιά

Από το σχήμα παρατηρούμε ότι ενώ οι βιολογικές επαναλήψεις «δ» διαχωρίζονται από τις «Δ» ως προς τον άξονα 1, το δείγμα Δ1 φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερη συσχέτιση με τα δείγματα «δ» καθώς ομαδοποιείται μαζί τους. Πιο αναλυτικά, οι βιολογικές επαναλήψεις «δ» και ο οίνος Δ1 παρουσιάζουν θετική συσχέτιση ως προς την ένταση αρώματος, την συνολική εκτίμηση, τα αρώματα λευκών ανθέων, τροπικών, πυρηνόκαρπων φρούτων και την οξύτητα, καθώς παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές ως προς αυτές τις παραμέτρους. Αρνητική συσχέτιση παρουσιάζουν με τις υπόλοιπες παραμέτρους όπως το σώμα, το χρώμα και τα αρώματα βοτανικότητας. Αντίστοιχα οι βιολογικές επαναλήψεις «Δ» (Δ2, Δ3) παρουσιάζουν θετική συσχέτιση ως προς την οσμή βοτανικότητας και το σώμα και αρνητική συσχέτιση με τις υπόλοιπες παραμέτρους.

Σύμφωνα με τα παραπάνω συμπεράσματα μπορούμε να πούμε αρχικά ότι φαίνεται να επιβεβαιώνονται όσα παρατηρήθηκαν παραπάνω στα Σχήματα 19 και 20.

Επίσης το ότι ο οίνος «Δ1» εμφανίζει μεγαλύτερη συσχέτιση με οίνους της ομάδας «δ» επαληθεύεται και στατιστικά από το Σχήμα 20 που φαίνονται τα «σκορ» των δοκιμαστών ως προς την «ένταση αρώματος» και την «συνολική εκτίμηση». Σε γενικότερο πλαίσιο μπορεί να διαπιστωθεί ότι ναι μεν οι οίνοι «δ» που προέρχονται από τον μικρόραγο βιότυπο, εμφανίζουν μεγαλύτερη αρωματική ένταση και προτιμήθηκαν από τους δοκιμαστές, αλλά επίσης ο standard βιότυπος της ποικιλίας μπορεί να δώσει αξιόλογους οίνους με διαφορετικά χαρακτηριστικά στοιχεία και ποικιλιακό χαρακτήρα.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκαν σε ποσοτικό και ποιοτικό επίπεδο τα πτητικά συστατικά οίνων, καθώς και τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά (pH, ολική οξύτητα, ΔΦΟ) γλεύκους και οίνων, που προήλθαν από τον standard βιότυπο της ποικιλίας Μαλαγουζιά και ενός βιότυπου της ποικιλίας στον οποίο έχει παρατηρηθεί μικρότερο μέγεθος στην ράγα.

Αρχικά για την διεξαγωγή του εν λόγω πειράματος συλλέχθηκαν τρία δείγματα-βιολογικές επαναλήψεις σταφυλιών για κάθε μία από τις δύο περιπτώσεις ώστε να γίνει αντιληπτό το εύρος των δυνατοτήτων των δύο βιότυπων και η διακύμανση των χαρακτηριστικών τους. Τα δείγματα σταφυλιών που συλλέχθηκαν οινοποιήθηκαν και οι οίνοι που προέκυψαν μελετήθηκαν ως προς τα βασικά χαρακτηριστικά τους (ολική και ενεργός οξύτητα, ΔΦΟ κτλ), τα πτητικά τους συστατικά και ως προς το οργανοληπτικό τους προφίλ με σκοπό την σύγκριση και την διαπίστωση των ποσοτικών και ποιοτικών διαφορών. Σκοπός ήταν η δημιουργία ενός αντιπροσωπευτικού αρωματικού και ποιοτικού προφίλ μέσω των παραγόμενων οίνων που προήλθαν από τις βιολογικές επαναλήψεις των δύο βιότυπων.

Το πείραμα διεξάχθηκε στην σοδειά του 2022. Οι οίνοι που παράχθηκαν από τις βιολογικές επαναλήψεις του standard βιότυπου της Μαλαγουζιάς προήλθαν από σταφύλια τριών διαφορετικών σημείων του ίδιου ενιαίου αμπελώνα στην Επανομή όπου βρίσκονται οι φυτεύσεις της ποικιλίας και κωδικοποιήθηκαν ως Δ1, Δ2 και Δ3. Οι υπόλοιποι τρεις οίνοι ήταν βιολογικές επαναλήψεις του μικρόραγου βιότυπου, και προήλθαν από σταφύλια επίσης του ίδιου ενιαίου αμπελώνα από τις αντίστοιχες φυτεύσεις, ενώ αυτές κωδικοποιήθηκαν ως δ1, δ2 και δ3. Να σημειωθεί ότι όταν στα αποτελέσματα χρησιμοποιούνται οι γενικοί μέσοι όροι των δύο βιότυπων ξεχωριστά, οι κωδικοί είναι αντίστοιχα Δ και δ.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε στατική απολάσπωση και στην συνέχεια έγιναν για το κάθε δείγμα ξεχωριστά οι απαραίτητες χημικές αναλύσεις στο γλεύκος. Εν συνεχεία, τα έξι δείγματα εμβολιάστηκαν με στέλεχος ζυμομύκητα *S. cerevisiae* ώστε να διεξαχθεί αλκοολική ζύμωση, ενώ ταυτόχρονα προστέθηκε και οργανική θρέψη. Η παρακολούθηση της αλκοολικής ζύμωσης των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με καθημερινές μετρήσεις της πυκνότητας και της θερμοκρασίας του γλεύκους και στο 1/3 της πορείας της -έχοντας ως κριτήριο την πυκνότητα του γλεύκους- προστέθηκε και ανόργανη θρέψη. Το τέλος των ζυμώσεων προσδιορίστηκε με μέτρηση των σακχάρων με την μέθοδο Luff. Στους πρωτεϊνικά σταθεροποιημένους οίνους πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο οι βασικές αναλύσεις οίνων.

Συνοψίζοντας, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στα γλεύκη και τους οίνους των δύο βιότυπων της Μαλαγουζιάς, προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα.

- ο Για τις αναλύσεις που διεξάχθηκαν στα γλεύκη των βιολογικών επαναλήψεων:

Τα γλεύκη «δ» του βιότυπου της ποικιλίας με την μικρότερη ράγα παρουσιάζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σάκχαρα σε σχέση με τα γλεύκη «Δ», τάση που θα διαπιστωθεί και στην συνέχεια και στις τιμές των αλκοολικών τίτλων των οίνων.

Οι τιμές της ολικής οξύτητας των δειγμάτων της ομάδας «Δ» του standard βιότυπου της Μαλαγουζιάς, φαίνεται να είναι ελαφρώς υψηλότερες σε σχέση με αυτές των δειγμάτων της ομάδας «δ» που αντιστοιχούν στον μικρόραγο βιότυπο της ποικιλίας. Βέβαια η μικρή διαφορά που εντοπίζεται μεταξύ των τιμών της ολικής οξύτητας από οινολογικής πλευράς δεν είναι ιδιαίτερα σημαντική ώστε να ληφθεί υπόψιν ως χαρακτηριστικό συμπέρασμα. Από τις μετρήσεις της ενεργού οξύτητας-pH που έγιναν στα γλεύκη των βιολογικών επαναλήψεων των δύο βιότυπων προέκυψε ότι οι οίνοι της ομάδας «δ» εμφανίζουν ελαφρώς υψηλότερες τιμές pH σε σχέση με τα δείγματα «Δ», συμπέρασμα λογικό λαμβάνοντας υπόψιν τα αποτελέσματα της οξύτητας. Και σε αυτή την περίπτωση να σημειωθεί ότι οι διαφοροποιήσεις που σημειώθηκαν στις τιμές pH ανάμεσα στα γλεύκη των δύο βιότυπων δεν αξιολογούνται ως οινολογικής σημασίας.

- ο Όσον αφορά τις αναλύσεις που έγιναν μετά την αλκοολική ζύμωση στους οίνους:

Αρχικά προέκυψε ότι οι οίνοι των δύο βιότυπων διατηρούν την ίδια τάση με τα γλεύκη ως προς τις τιμές της ολικής οξύτητας. Πιο αναλυτικά οι τιμές της ολικής οξύτητας των οίνων της ομάδας «Δ» είναι ελαφρώς υψηλότερες σε σχέση με τις τιμές των οίνων της ομάδας «δ», πράγμα που γίνεται σαφές και σε συνολικό επίπεδο από τους ΜΟ των μετρήσεων ολικής οξύτητας που αφορούν τις βιολογικές επαναλήψεις του κάθε βιότυπου ξεχωριστά. Βέβαια οι διαφορές αυτές στις μετρήσεις της ολικής οξύτητας στους οίνους των δύο βιότυπων της ποικιλίας δεν μπορούμε να πούμε πως είναι ουσιαστικής σημασίας, καθώς παρουσιάζεται μικρό εύρος ανάμεσα στις τιμές τους.

Ως προς τις τιμές της ενεργού οξύτητας-pH των οίνων, παρατηρήθηκε και πάλι η ίδια τάση που είχε παρατηρηθεί αντίστοιχα στα γλεύκη τους. Συγκεκριμένα οι τιμές pH των βιολογικών επαναλήψεων της ομάδας «δ» είναι ελαφρώς υψηλότερες σε σχέση με τις τιμές των βιολογικών επαναλήψεων της ομάδας «Δ», γεγονός που επαληθεύεται και συνολικά από τις τιμές των ΜΟ των μετρήσεων pH που αφορούν τις βιολογικές επαναλήψεις του κάθε βιότυπου ξεχωριστά. Και πάλι αξίζει να τονιστεί πως το εύρος διακύμανσης των μετρήσεων ανάμεσα στους οίνους των δύο βιότυπων δεν ήταν μεγάλο, οπότε πρόκειται για ένα συμπέρασμα χωρίς ιδιαίτερη οινολογική σημασία.

Όλοι οι παραγόμενοι οίνοι προήλθαν από υγιείς αλκοολικές ζυμώσεις καθότι οι πτητικές τους οξύτητες είναι $\leq 0,4$ g/L και αποδεκτές. Οι οίνοι «δ» φαίνεται να

παρουσιάζουν μια ελαφριά τάση υψηλότερων τιμών πτητικής οξύτητας αν αξιολογήσουμε τις έξι ζυμώσεις μεμονωμένα. Βέβαια η μεγαλύτερη πτητική οξύτητα παρουσιάζεται από οίνο της ομάδας «Δ» και συγκεκριμένα ανήκει στον οίνο Δ3. Λαμβάνοντας υπόψιν την συνολική εικόνα των βιολογικών επαναλήψεων, «Δ» και «δ», μέσα από τους Μ.Ο. των μετρήσεων πτητικής οξύτητας για τους δύο βιότυπους ξεχωριστά, παρατηρείται επί της ουσίας ελάχιστη διαφορά μεταξύ των τιμών των μέσων όρων.

Όσον αφορά τα υπολειπόμενα σάκχαρα είναι εμφανές ότι οι αλκοολικές ζυμώσεις έδωσαν ξηρούς οίνους με το δείγμα «Δ1» να έχει την υψηλότερη συγκέντρωση υπολειπόμενων σακχάρων ανάμεσα τους. Από τις μετρήσεις διαπιστώθηκε ότι οι οίνοι της ομάδας «δ» παρουσιάζουν μικρότερες συγκεντρώσεις σε υπολειπόμενα σάκχαρα σε σχέση με τα δείγματα της ομάδας «Δ».

Ως προς τον αλκοολικό τίτλο των παραγόμενων οίνων διαπιστώνεται ότι οι οίνοι της ομάδας «δ» παρουσιάζουν ελαφρώς υψηλότερο αλκοολικό τίτλο σε σχέση με τους οίνους της ομάδας «Δ». Να σημειωθεί ότι η παραπάνω τάση μεταξύ των βιολογικών επαναλήψεων επαληθεύεται και από τις τιμές των αρχικών μετρήσεων σε Brix πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, όπου τα γλεύκη των δειγμάτων «δ» του μικρόραγου βιότυπου εμφάνιζαν ελαφρώς μεγαλύτερη σακχαροπεριεκτικότητα σε σχέση με εκείνα της ομάδας «Δ» του standard βιότυπου.

Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη έγινε προσδιορισμός του δείκτη φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ) στους παραγόμενους οίνους. Έτσι λοιπόν διαπιστώθηκε η τάση των βιολογικών επαναλήψεων της ομάδας οίνων «Δ» να εμφανίζουν υψηλότερο δείκτη φαινολικών ουσιών σε σχέση με τις βιολογικές επαναλήψεις των οίνων της ομάδας «δ» του βιότυπου της ποικιλίας με χαρακτηριστικό του την παρατήρηση μικρότερης ράγας. Σε αυτή την περίπτωση βέβαια δεν επιβεβαιώνεται ο ισχυρισμός πως στις ποικιλίες με μικρότερη ράγα τα φαινολικά συστατικά υπερτερούν σε συγκέντρωση (Gil, 2015). Εδώ θα πρέπει να σημειωθεί ότι θα ήταν δόκιμο να μελετηθούν και σταφύλια των δύο βιότυπων ώστε να γίνει μελέτη ως προς το σύνολο των φαινολικών συστατικών τους, το είδος τους, το πάχος του φλοιού, ακόμα και την ικανότητα εκχύλισης τους στην κάθε επιμέρους περίπτωση βιότυπου.

Η απορρόφηση στα 420nm έδωσε σχετικά μικρό εύρος διακύμανσης τιμών για τους οίνους των βιολογικών επαναλήψεων πράγμα που επαληθεύεται και από τους ΜΟ των μετρήσεων για τις δύο ομάδες οίνων ξεχωριστά. Έτσι φτάνουμε στο συμπέρασμα ότι οι οίνοι των δύο βιότυπων δεν παρουσιάζουν ουσιαστικές διαφορές ως προς την απορρόφηση τους στα 420nm.

Στην συνέχεια έγινε προσδιορισμός των πτητικών συστατικών των παραγόμενων οίνων ώστε να διαπιστωθεί αν υπάρχουν διαφορές τόσο ανάμεσα στις βιολογικές επαναλήψεις αλλά κυρίως μεταξύ των δύο βιότυπων της ποικιλίας. Σκοπός ήταν η δημιουργία ενός αντιπροσωπευτικού προφίλ των οίνων και η επαλήθευση

μέσα από τις βιολογικές επαναλήψεις και τις διακυμάνσεις των αποτελεσμάτων ότι οι ΜΟ των πτητικών συστατικών δεν κρύβουν σημαντικής σημασίας αποτελέσματα.

Ο προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων έγινε με αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (GC-MS), και τα αποτελέσματα των βιολογικών επαναλήψεων φάνηκαν σε γενικές γραμμές να εμφανίζουν στατιστικές διαφορές. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι ναι μεν πρόκειται για βιολογικές επαναλήψεις που προήλθαν από τον ίδιο αμπελώνα με παρόμοιες εδαφοκλιματικές συνθήκες, όμως τα δείγματα του standard βιότυπου συλλέχθηκαν από πιο μακρινά σημεία μιας και οι φυτεύσεις είναι περισσότερες και καλύπτουν πολύ μεγαλύτερη έκταση. Όσον αφορά τα σταφύλια του βιότυπου Μαλαγουζιάς που χαρακτηρίζεται από το μικρότερο μέγεθος ράγας, η καλλιέργεια τους δεν εκτείνεται σε μεγάλο κομμάτι του αμπελώνα λόγω λιγότερων φυτεύσεων, οπότε ίσως αυτό να παίζει ρόλο στην μικρότερη διακύμανση των αποτελεσμάτων τους.

Στις βιολογικές επαναλήψεις των δύο βιότυπων ανιχνεύτηκαν ίδιες κατηγορίες ενώσεων όπως: πτητικές αλκοόλες, αιθυλικοί και οξικοί εστέρες, πτητικά οξέα και τερπενόλες, όπου μάλιστα όπως έχει διαπιστωθεί σε πολλές μελέτες διαμορφώνουν την κύρια έκφραση του αρωματικού προφίλ οίνων της ποικιλίας Μαλαγουζιάς (Geronassileiou, 2016; Marinaki, 2023; Σειτανίδου, 2024). Επίσης στους οίνους εντοπίστηκε και μια ένωση που ανήκει στην κατηγορία των νορισοπρενοειδών. Σε γενικότερο πλαίσιο μεγαλύτερη περιεκτικότητα στις πτητικές ενώσεις, εμφάνισαν οι βιολογικές επαναλήψεις του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας (δ1, δ2, δ3), όμως διαπιστώνεται ότι οι οίνοι του standard βιότυπου φαίνεται να είναι επίσης πλούσιοι σε πτητικές ενώσεις. Αξίζει να αναφερθεί ότι βρέθηκε και μικρό ποσοστό ενώσεων στους οίνους δ1, δ2, δ3 που δεν ανιχνεύθηκαν στις βιολογικές επαναλήψεις των οίνων Δ1, Δ2, Δ3.

Πιο αναλυτικά, στους οίνους ανιχνεύθηκαν πτητικές αλκοόλες ανάμεσα στις οποίες μεγαλύτερη ποσότητα είχε η Phenylethyl Alcohol, ενώ ποσοτικά ακολούθησε η 1-Butanol, 3-methyl (Isoamyl alcohol), με αυξητική τάση και στις δύο περιπτώσεις να εμφανίζεται στους οίνους της ομάδας «δ». Σύμφωνα με τα παραπάνω συμπεράσματα οι οίνοι είναι πλούσιοι σε αρώματα ανθέων και γλυκών φρούτων. Ακολουθούν οι ενώσεις 2-heptanol και η 2-Nonanol, οι οποίες εντοπίζονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις βιολογικές επαναλήψεις της ομάδας «Δ», ενώ όλες οι υπόλοιπες αλκοόλες 1-propanol-2-methyl, 1-propanol- 3-methylthio, 1-hexanol και benzyl alcohol, εμφανίζουν αυξητική τάση ως προς την συγκέντρωσή τους στους οίνους «δ». Να σημειωθεί ότι η 1-hexanol αποτέλεσε χαρακτηριστικό μόνο των οίνων του μικρόραγου βιότυπου Μαλαγουζιάς, καθώς στους οίνους «Δ» δεν ανιχνεύθηκε καθόλου. Γενικότερα, μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε αλκοόλες βρέθηκε στους οίνους «δ».

Στις βιολογικές επαναλήψεις του εν λόγω πειράματος ανιχνεύθηκαν οι οξικοί εστέρες *β-phenyl acetate, isoamyl acetate, hexyl acetate* οι οποίοι αναγράφονται κατά φθίνουσα σειρά ως προς την περιεκτικότητά τους στους παραγόμενους οίνους. Η ένωση *hexyl acetate* αποτέλεσε χαρακτηριστικό μόνο των οίνων του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας Μαλαγουζιά. Όσον αφορά τους αιθυλικούς εστέρες, πρώτη σε περιεκτικότητα βρέθηκε η ένωση *ethyl octanoate*, και ποσοτικά ακολούθησαν η *ethyl succinate*, η *ethyl dlmalate*, η *ethyl decanoate*, η *ethyl hexanoate*, και η *ethyl laurate* η οποία εμφανίζεται σε μικρότερη ποσότητα αναλογικά με τις υπόλοιπες. Οι οίνοι κρατούν την ίδια ποσοτική τάση σχεδόν σε όλες τις βιολογικές επαναλήψεις, με τους οίνους «δ» να υπερτερούν αρωματικά και για τους οξικούς και για τους αιθυλικούς εστέρες, εκτός από την ένωση *ethyl laurate*, που παρουσιάζει μείωση στα δείγματα «δ» και είναι πιο χαρακτηριστική του standard βιότυπου.

Τα πτητικά οξέα που ανιχνεύθηκαν ήταν το *octanoic acid* και το *decanoic acid*, με το πρώτο να βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ομάδα οίνων «δ». Να σημειωθεί ότι οι οίνοι δεν παρουσιάζουν σαφή τάση ως προς την περιεκτικότητα των πτητικών οξέων. Οι οίνοι της ομάδας «Δ», φαίνεται να είχαν ελάχιστα μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε *decanoic acid*. Σε αυτό το σημείο να αναφερθεί ότι η στήλη που χρησιμοποιήθηκε σε αυτό το πείραμα στην ανάλυση της αέριας χρωματογραφίας, σε σχέση και με άλλες μελέτες που έχουν γίνει στο ίδιο εργαστήριο, παρουσιάζει σχετικά μικρή εκλεκτικότητα στην κατηγορία των οξέων.

Οι τερπενόλες οι οποίες αποτελούν βασική κατηγορία στην διαμόρφωση του ποικιλιακού αρώματος της Μαλαγουζιάς (Gerovassileiou, 2016), ανιχνεύτηκαν σε όλες τις βιολογικές επαναλήψεις με μεγαλύτερη περιεκτικότητα φανερά να έχουν οι οίνοι «δ». Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανιχνεύεται η *α-terpineol*, μετά ακολουθούν η *geraniol*, η *nerol*, η *2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol* και τέλος η *hotrienol*. Αξίζει να αναφερθεί ότι η *hotrienol* και η *2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol*, ανιχνεύονται μόνο στους οίνους της ομάδας «δ».

Τέλος σε όλα τα δείγματα οίνου βρέθηκε επίσης η ένωση *3-Hydroxy-β-damascone*, με χαρακτηριστική τάση να βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους οίνους «δ». Σύμφωνα με ένα άρθρο της βιβλιογραφίας η ένωση χαρακτηρίζεται από άρωμα τριαντάφυλλου (Skouroumounis, 1991), σύμφωνα με άλλο άρθρο θεωρείται ότι εκλείπει σε οσμή (Naiker, 2001), ενώ σύμφωνα με τον (Schneider, 2001), κατά την ωρίμανση του οίνου, ενώσεις όπως η *3-Hydroxy-β-damascone* δίνουν οσμές παρόμοιες της *β-damasconone*. Σε pH=3 (όξινο pH κρασιού) και θερμοκρασία δωματίου, η αντίδραση βιοσύνθεσης της *β-damasconone* παράγει μικρότερο ποσοστό της *β-damasconone*, και μεγαλύτερο ποσοστό της *3-Hydroxy-β-damascone*. Η *3-hydroxy-β-damascone* σε όξινες συνθήκες δεν μετατρέπεται σε *β-damasconone*. (Naiker, 2001; Skouroumounis, 1991). Να σημειωθεί ότι σύμφωνα με παλαιότερη έρευνα του (Gerovassileiou, 2016) έχει ανιχνευθεί *β-damasconone*, σε δείγματα οίνων Μαλαγουζιάς. Έτσι δημιουργείται το ενδιαφέρον αν σε βάθος χρόνου θα μπορούσε

να ανιχνευθεί στην Μαλαγουζιά η συγκεκριμένη ένωση κατά την ωρίμαση στην φιάλη, καθώς στην δική μας περίπτωση εντοπίζεται η *3-Hydroxy-β-damascone* που ανήκει στο ίδιο βιοσυνθετικό μονοπάτι. Έτσι, ίσως λόγω ύπαρξης και άλλων παραπροϊόντων, στην συνέχεια παραχθεί περισσότερη ποσότητα *β-damascenone* και *3-Hydroxy-β-damascone* σύμφωνα με τον (Naiker, 2001).

Ο οργανοληπτικός έλεγχος με πάνελ έμπειρων δοκιμαστών επαλήθευσε πολλά από τα παραπάνω αποτελέσματα. Αρχικά διαπιστώθηκε ότι οι οίνοι της ομάδας «δ» που προέκυψαν από τις βιολογικές επαναλήψεις του μικρόραγου βιότυπου της Μαλαγουζιάς υπερτερούν ως προς την ένταση αρώματος, πράγμα που φαίνεται στην συνέχεια και σχεδόν σε κάθε επιμέρους αρωματική κατηγορία. Τα αρώματα που επικρατούν στους οίνους «δ» είναι κατά σειρά αυτά των πυρηνόκαρπων φρούτων, των εσπεριδοειδών, των λευκών ανθέων και των τροπικών φρούτων. Ο βοτανικός χαρακτήρας αποτέλεσε βασικότερο χαρακτηριστικό των οίνων της ομάδας «Δ» κατά τους δοκιμαστές. Όσον αφορά την οξύτητα και το χρώμα των οίνων οι δύο ομάδες οίνων φαίνεται να μην εμφανίζουν διαφορές, ενώ σε σώμα υπερτερούν οι οίνοι της ομάδας «Δ», αλλά με μικρή διαφοροποίηση. Τέλος η αξιολόγηση των δοκιμαστών για τους οίνους ως προς την συνολική εκτίμηση, έδειξε να προτιμούν τους οίνους της ομάδας «δ» του μικρόραγου βιότυπου της ποικιλίας. Βέβαια, σε μια συνολική εικόνα όσων μελετήθηκαν, να σημειωθεί ότι και οι οίνοι της ομάδας «Δ» παρουσιάζουν στην πραγματικότητα επίσης αξιόλογα «σκορ» ως προς τις κατηγορίες που αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά, με οίνους που χαρακτηρίζονται από διαφορετικά κυρίαρχα χαρακτηριστικά και εμφανή ποικιλιακό χαρακτήρα.

Συμπερασματικά, από την παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι:

- ✓ Οι οίνοι των δύο βιότυπων δεν εμφάνισαν ιδιαίτερες διαφορές ως προς το pH, την ολική οξύτητα και την απορρόφηση στα 420nm, ενώ ο αλκοολικός τίτλος, και η αρχική σακχαροπεριεκτικότητα σε Brix εντοπίστηκαν ελαφρώς μεγαλύτερα στους οίνους «δ».
- ✓ Ο δείκτης φαινολικών ουσιών στους οίνους «Δ» διαπιστώθηκε μεγαλύτερος, πράγμα που θα μπορούσε να διερευνηθεί περισσότερο και με έμφαση στα σταφύλια των δύο βιότυπων.
- ✓ Σε οίνους της ομάδας «δ» εντοπίστηκαν κάποιες πτητικές ενώσεις που δεν ανιχνεύθηκαν σε οίνους που προήλθαν από τον standard βιότυπο της ποικιλίας.
- ✓ Φάνηκε ότι οι οίνοι «δ» που προήλθαν από τον μικρόραγο βιότυπο της Μαλαγουζιάς παρουσιάζουν μια τάση να εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα πτητικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν, ενώ επίσης στην πραγματικότητα ο standard βιότυπος της ποικιλίας φαίνεται να είναι επίσης πλούσιος σε πτητικές ενώσεις.
- ✓ Γενικότερα, η ποικιλία Μαλαγουζιά χαρακτηρίζεται, και ως προς τους δύο βιότυπους που μελετήθηκαν, αρωματικά πλούσια σε όλες τις βασικές

κατηγορίες πτητικών συστατικών καθώς και σε τερπένια που αποτελούν την βασική κατηγορία του ποικιλιακού της αρώματος.

- ✓ Οργανοληπτικά οι οίνοι της ομάδας «δ» εμφανίζουν μια τάση μεγαλύτερης αρωματικής έντασης σχεδόν σε όλες τις κατηγορίες, εκτός του παράγοντα της «βοτανικότητας», που αποτελεί χαρακτηριστικό των οίνων «Δ» κατά τους δοκιμαστές.
- ✓ Οι οίνοι «δ» εμφάνισαν υψηλότερα «σκορ» στο κριτήριο της «συνολικής εκτίμησης» των δοκιμαστών, όμως στην πραγματικότητα και οι οίνοι του standard βιότυπου φαίνεται να απέδωσαν αξιόλογα «σκορ» σε γενικότερο πλαίσιο.

Τέλος, φάνηκε ότι οι οίνοι «δ» που προήλθαν από τον μικρόραγο βιότυπο της Μαλαγουζιάς παρουσιάζουν ιδιαιτερότητες ως προς τα πτητικά τους χαρακτηριστικά. Αυτό καταλήγει να φαίνεται και στην μεγαλύτερη ένταση αρώματος η οποία ανιχνεύθηκε και οργανοληπτικά εν συνεχεία από το πάνελ των γευσιγνωστών, ενώ επίσης επιβεβαιώνεται και στατιστικά από τα «σκορ» που έλαβαν οι οίνοι «δ» στο κριτήριο «συνολική εκτίμηση». Βέβαια η έντονη διαφοροποίηση των βιολογικών επαναλήψεων καθιστά τον standard βιότυπο της Μαλαγουζιάς εξίσου πλούσιο σε πτητικά συστατικά και σχετικά ψηλά στις προτιμήσεις των γευσιγνωστών.

Μελλοντική έρευνα

Η παρούσα μελέτη φυσικά και παρέχει κάποια εμφανή αποτελέσματα, αλλά σε οποιαδήποτε περίπτωση αποτελεί πείραμα που διεξάχθηκε μόνο σε μια σοδειά ενώ χρειάζεται επανάληψη σε 3 αμπελουργικές χρονιές για να έχουμε πιο σταθερά αποτελέσματα. Τα συμπεράσματα που προκύπτουν αποτελούν την βάση για ενδεχόμενες έρευνες σε βάθος χρόνου.

Σίγουρα λοιπόν αξίζει να διερευνηθεί στα σταφύλια το συνολικό φαινολικό προφίλ των δύο βιότυπων εκτός από τον ΔΦΟ, να γίνει μελέτη ως προς το είδος και ως προς την ποσότητα των φαινολικών, να μελετηθούν παράγοντες όπως το πάχος του φλοιού, καθώς ακόμα και η ικανότητα εκχύλισης των φαινολικών συστατικών στην κάθε περίπτωση βιότυπου.

Επίσης θα ήταν σκόπιμο να μελετηθούν τα σταφύλια των δύο βιότυπων ως προς τις πρόδρομες αρωματικές ενώσεις τους και τα πρωτογενή χαρακτηριστικά τους και τέλος θα μπορούσε να διερευνηθεί και η μεταβολή των χαρακτηριστικών της ποικιλίας (αρωματικών και ποιοτικών) σε βάθος χρόνου.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Åa Monagas, M., Go, C., Mez-Cordove Ä S, Ä., Begon~a, †, Begon~a Bartolome Ä, B., Laureano, O., Ricardo, J. M., & Silva, D. A. (2003). *Monomeric, Oligomeric, and Polymeric Flavan-3-ol Composition of Wines and Grapes from Vitis vinifera L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon*.
<https://doi.org/10.1021/jf030325>
- Douglas, A. O. (2006). *Phenolics and Ripening in Grape Berries*. *American Journal of Enology and Viticulture* 2006 57:249-256 ; **DOI:** 10.5344/ajev.2006.57.3.249
- Allen, M. S., Lacey, M. J., Harris, R. L. N., & Brown, W. V. (1991). Contribution of Methoxy-pyrazines to Sauvignon blanc Wine Aroma. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(2), 109–112.
<https://doi.org/10.5344/ajev.1991.42.2.109>
- Barbera, D., Avellone, G., Filizzola, F., Monte, L. G., Catanzaro, P., & Agozzino, P. (2013). Determination of terpene alcohols in Sicilian Muscat wines by HS-SPME-GC-MS. *Natural Product Research*, 27(6), 541–547.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2012.676553>
- Bartowsky, E. J., & Fleet, G. H. (2013). “Malolactic Fermentation”, Australian Wine Making. *Trivinum Press, Adelaide*. www.trivinumpress.com.au
- Berry, D. R., & Slaughter, J. C. (2003). Alcoholic Beverage Fermentations. In A. G. H. Lea & G. R. Piggot (Eds.), *Fermented Beverage Production* (2nd ed., pp. 25–39). Springer, Boston, M.A.
- Bisson, L. F. (1991). Influence of nitrogen on yeast and fermentation of grapes. In A. American Society for Enology and Viticulture (Ed.), *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine : Seattle, Washington, Usa 18-19 june 1991*.
- Brossaud, F., Cheynier, V., & Noble, A. C. (2001). Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(1), 33–39. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2001.tb00191.x>
- Cabrita, M. J., Costa Freitas, A. M., Laureano, O., & Di Stefano, R. (2006). Glycosidic aroma compounds of some Portuguese grape cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(6), 922–931. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2439>
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. In *Food Chemistry* (Vol. 113, Issue 4, pp. 859–871).
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*.

- Chira, K., Schmauch, G., Saucier, C., Fabre, S., & Teissedre, P. L. (2009). Grape variety effect on proanthocyanidin composition and sensory perception of skin and seed tannin extracts from Bordeaux wine grapes (cabernet Sauvignon and merlot) for two consecutive vintages (2006 and 2007). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(2), 545–553. <https://doi.org/10.1021/jf802301g>
- Downey, M. O., Harvey, J. S., & Robinson, S. P. (2003). Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *9*(1), 15–27. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2003.tb00228.x>
- Ebeler, S. E. (2001). Analytical chemistry: Unlocking the secrets of wine flavor. *Food Reviews International*, *17*(1), 45–64. <https://doi.org/10.1081/FRI-100000517>
- Gerovassileiou, A. (2016). *Etude de la typicité aromatique des vins de Malagousia*. Université de Bordeaux.
- Gil, M., Pascual, O., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Hermosín-Gutiérrez, I., Zamora, F., & Canals, J. M. (2015). Influence of berry size on red wine colour and composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *21*(2), 200–212. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12123>
- GOLDBERG, D. M., KARUMANCHIRI, A., TSANG, E., & SOLEAS, G. T. (1998). Catechin and Epicatechin concentrations of red wines: regional and cultivar-related differences. *Am J Enol Viticult*, 23–33.
- Gris, E. F., Mattivi, F., Ferreira, E. A., Vrhovsek, U., Filho, D. W., Pedrosa, R. C., & Bordignon-Luiz, M. T. (2011). Stilbenes and tyrosol as target compounds in the assessment of antioxidant and hypolipidemic activity of vitis vinifera red wines from Southern Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(14), 7954–7961. <https://doi.org/10.1021/jf2008056>
- Grosch, W. (2001). *Evaluation of the Key Odorants of Foods by Dilution Experiments, Aroma Models and Omission*.
- Hellman, E. W. (2003). Grapevine Structure and Function. Oregon Viticulture. *Oregon State University Press*, 5–19.
- Helwi, P., Guillaumie, S., Thibon, C., Keime, C., Habran, A., Hilbert, G., Gomes, E., Darriet, P., Delrot, S., & van Leeuwen, C. (2016). Vine nitrogen status and volatile thiols and their precursors from plot to transcriptome level. *BMC Plant Biology*, *16*(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0836-y>
- Kallithraka, S., Barker, J., & Clifford, M. N. (1998). Evidence that salivary proteins are involved in astringency. *Journal of Sensory Studies*, *13*(1), 29–43. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.1998.tb00073.x>
- Kennedy, J. A., & Jones, G. P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 1740–1746.
<https://doi.org/10.1021/jf001030o>
- Killiam, E., & Ough, C. S. (1979). Fermentation Esters — Formation and Retention as Affected by Fermentation Temperature. *American Journal of Enology and Viticulture*, 301–305.
- Lacombe, T., Boursiquot, J. M., & Audeguin, L. (2004). Prospection, conservation et évaluation des clones de vigne en France. *Bulletin de l'OIV*, Vol. 77, No. 885/886, 799-809 Ref. 10.
- Larnbrechts, M. G., & Pretorius, I. S. (2000). Yeast and its Importance to Wine Aroma- A Review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 21.
- Lei, Y., Xie, S., Guan, X., Song, C., Zhang, Z., & Meng, J. (2018). Methoxypyrazines biosynthesis and metabolism in grape: A review. In *Food Chemistry* (Vol. 245, pp. 1141–1147). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.056>
- Marinaki, M., Sampsonidis, I., Lioupi, A., Arapitsas, P., Thomaidis, N., Zinoviadou, K., & Theodoridis, G. (2023). Development of two-level Design of Experiments for the optimization of a HS-SPME-GC-MS method to study Greek monovarietal PDO and PGI wines. *Talanta*, 253.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123987>
- Moreno-Arribas, V., & Polo, M. C. (2009). *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer Science and Business Media.
- Naiker, M. (2001). “*β-Damascenone-yielding precursor(s) from Cabernet Sauvignon grapes*”, Department of Chemistry, University of South Pacific, Suva, Fiji Islands.
- Olguín, N., Bordons, A., & Reguant, C. (2009). Influence of ethanol and pH on the gene expression of the citrate pathway in *Oenococcus oeni*. *Food Microbiology*, 26(2), 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.09.004>
- Ribereau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., & Lonvaud A. (2006). *Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications* (2nd ed.). John Wiley & Sons, Ltd.
- Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (1999). *Handbook of Enology, Volume 2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. John Wiley and sons, Ltd, Chichester.
- Rolle, L., Torchio, F., Giacosa, S., & Río Segade, S. (2015). Berry density and size as factors related to the physicochemical characteristics of Muscat Hamburg table grapes (*Vitis vinifera* L.). *Food Chemistry*, 173, 105–113.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.033>
- Roubelakis-Angelakis, A. K. (1991). Amino acid and protein metabolism in *Vitis* ssp. In *International symposium on nitrogen in grapes and wine* (Am. Soc.Enol.Vitic., pp. 52–61).

- Schneider, R., Razungles, A., Augier, C., & Baumes, R. (2001). Monoterpenic and norisoprenoidic glycoconjugates of *Vitis vinifera* L. cv. Melon B. as precursors of odorants in Muscadet wines. In *Journal of Chromatography A*.
www.elsevier.com/locate/chroma
- Schwab, W., Fuchs, C., & Huang, F. C. (2013). Transformation of terpenes into fine chemicals. In *European Journal of Lipid Science and Technology* (Vol. 115, Issue 1, pp. 3–8). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201200157>
- Skouroumounis, G. K. (1991). “*p-Damascenone Precursors in Grapes and Wines*”. University of Adelaide.
- Soleas, G. J., Diamandis, E. P., & Goldberg, D. M. (1997). Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention. In *Journal of Clinical Laboratory Analysis* (Vol. 11, Issue 5, pp. 287–313).
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2825\(1997\)11:5<287:AID-JCLA6>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2825(1997)11:5<287:AID-JCLA6>3.0.CO;2-4)
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, M. I. (2001). Quantification of catechins and proanthocyanidins in several portuguese grapevine varieties and red wines. *Ciência e Técnica Vitivinícola*.
- Sun, B., Sá, M. De, Leandro, C., Caldeira, I., Duarte, F. L., & Spranger, I. (2013). Reactivity of polymeric proanthocyanidins toward salivary proteins and their contribution to young red wine astringency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(4), 939–946. <https://doi.org/10.1021/jf303704u>
- Tarasov, A., Garzelli, F., Schuessler, C., Fritsch, S., Loisel, C., Pons, A., Patz, C. D., Rauhut, D., & Jung, R. (2021). Wine storage at cellar vs. Room conditions: Changes in the aroma composition of riesling wine. *Molecules*, 26(20).
<https://doi.org/10.3390/molecules26206256>
- Teixeira, A., Eiras-Dias, J., Castellarin, S. D., & Gerós, H. (2013). Berry phenolics of grapevine under challenging environments. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 14, Issue 9, pp. 18711–18739).
<https://doi.org/10.3390/ijms140918711>
- Tholl, D. (2006). Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 9, Issue 3, pp. 297–304). <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.014>
- Tse, T. J., Wiens, D. J., Chicilo, F., Purdy, S. K., & Reaney, M. J. T. (2021). Value-added products from ethanol fermentation—A review. In *Fermentation* (Vol. 7, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/fermentation7040267>
- Welke, J. E., Zanús, M., Lazzarotto, M., & Alcaraz Zini, C. (2014). Quantitative analysis of headspace volatile compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography and their contribution to the aroma of Chardonnay wine. *Food Research International*, 59, 85–99.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.002>

- Yokotsuka, K., Nagao, A., Nakazawa, K., & Sato, M. (1999). Changes in Anthocyanins in Berry Skins of Merlot and Cabernet Sauvignon Grapes Grown in Two Soils Modified With Limestone or Oyster Shell Versus a Native Soil Over Two Years. *Am J Enol Vitic.* <https://doi.org/10.5344/ajev.1999.50.1.1>
- Καψημάλη, Δ. (2008). *ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΜΟΡΦΟΕΙΔΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΜΟΝΟΜΕΘΥΛΟ-ΚΑΙ ΑΝΟΡΓΑΝΟΥ ΥΔΡΑΡΓΥΡΟΥ ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ ΜΕ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΗΣ ΦΑΣΗΣ ΑΠΟ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΗ ΑΕΡΙΑ ΦΑΣΗ (HS-SPME) ΚΑΙ ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΕ ΣΥΖΕΥΞΗ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΟ ΜΑΖΑΣ (GC-MS)*. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
- Κεχαγιά, Δ. (2019). *ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ, ΘΕΜΑ : ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΛΕΥΚΩΝ ΟΙΝΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΩΝ ΑΥΤΩΝ, ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΣΥΡΤΙΚΟ ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ. STUDY OF THE ORGANOLEPTIC CHARACTERISTICS OF WHITE WINES AND THEIR DISTILLATES, FROM THE VARIETY OF ASYRTIKO FROM SANTORINI*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Κοτσερίδης, Γ. (2021). *Πανεπιστημιακές σημειώσεις “Τεχνολογία Οίνου”. Τμήμα Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, ΠΜΣ Οινολογίας*.
- Κοτσερίδης, Γ., Καλλίθρακα, Σ., & Προξενιά, Ν. (2017). *Οινολογία II, Εργαστηριακές ασκήσεις*, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Κοτσερίδης, Γ., & Προξενιά, Ν. (2020). *Οινολογία I-Εργαστηριακές Ασκήσεις*, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Κουράκου, Σ. (2016). *Μαλαγουζιά, Η σταχτοπούτα των Ελληνικών κρασοστάφυλων*. Εκδόσεις του Φοίνικα.
- Κουράκου-Δραγώνα, Σ. (1998). *Θέματα Οινολογίας: Επιστήμη και τεχνολογία στον τομέα της οινοποιητικής τεχνικής*. Εκδόσεις Τροχαλία.
- Κουράκου-Δραγώνα, Σ. (2013). *Άμπελος και οίνος στον Αρχαίο Ελληνικό κόσμο*. Εκδόσεις του Φοίνικα.
- Κυραλέου, Μ. Σ. (2016). *Διδακτορική διατριβή-Επίδραση αμπελουργικών τεχνικών στα συστατικά που διαμορφώνουν τον οργανοληπτικό χαρακτήρα των ερυθρών οίνων*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών .
- Μετάφα, Μ. (2014). *Ανάπτυξη και εφαρμογές μεθολογιών προσδιορισμού συστατικών πρωτογενούς αρώματος σε λευκούς οίνους με αεριοχρωματογραφία-φασματομετρία μαζών*. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Μπακασιέτιας, Κ. (2022). *Ελληνικές ποικιλίες και γενετική παραλλακτικότητα-Σημειώσεις Αμπελουργίας, “ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων- Οινολογία.”*
- Νικολάου Ν.Α. (2008). *Αμπελουργία* (Κ. Γ. Σ. Α. Νικολάου Ν.Α., Ed.). Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία.

- Σαββίδης, Σ. (2009). Κλωνική Επιλογή Αμπέλου. *Αγρότης*, 55–57.
- Σαμανίδου, Β. Φ., & Παπαδογιάννης, Ι. Ν. (2001). *Ενόργανη Χημική Ανάλυση* (2η έκδοση). Εκδόσεις ΠΗΓΑΣΟΣ 2000.
- Σειτανίδου, Ε. (2024). *Συγκριτική μελέτη αρωματικού προφίλ οίνων της γηγενής ποικιλίας Μαλαγουζιά με οίνους της ποικιλίας Sauvignon Blanc-Προπτυχιακή Διατριβή*. Αριστοτέλιο Πανεπιστήμιο Αθηνών- .
- Σουφλερός, Ε. Η. (2000). *Οινολογία: Επιστήμη και Τεχνογνωσία*.
- Σταυρακάκης, Μ. Ν. (2010). *Αμπελογραφία*. Εκδόσεις Τροπή.
- Σταυρακάκης, Μ. Ν. (2013). *Αμπελουργία*. Εκδόσεις Τροπή.
- Σταύρακας, Δ. Ε. (2010). *Αμπελογραφία*. Εκδόσεις ΖΗΤΗ.
- Τιβέριος, Μ. Α. (2020). *Συμπόσιο*. Κτήμα Γεροβασιλείου Εκδόσεις.
- Τσακίρης, Α. , & Παπούλιας, Θ. (1996). *Οινολογία: Από το σταφύλι στο κρασί*.

Ιστοσελίδες:

Κτήμα Γεροβασιλείου, www.gerovassiliou.gr/el.

Ένωση Ελλήνων Χημικών (Περιφερειακό Τμήμα Κρήτης). https://Ex-Crete.Blogspot.Com/2013/03/Blog-Post_19.Html.