



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

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

Διδακτορική Διατριβή

Ανάπτυξη τυποποιημένης μεθόδου οργανοληπτικής ανάλυσης οίνου και μεθόδου προσδιορισμού πτητικών ενώσεων σε οίνο με GC-MS/MS - Εφαρμογή της μεθοδολογίας στη μελέτη του αρώματος των οίνων της ποικιλίας Αγιωργίτικο

Ιωάννης Β. Λίγκας

Επιβλέπων Καθηγητής:

Γεώργιος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ

Τοιμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Γεώργιος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ

Πέτρος Ταραντίλης, Καθηγητής ΓΠΑ

Σταματίνα Καλλίθρακα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ



ΑΘΗΝΑ
2024

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

Διδακτορική Διατριβή

Ανάπτυξη τυποποιημένης μεθόδου οργανοληπτικής ανάλυσης οίνου και μεθόδου προσδιορισμού πτητικών ενώσεων σε οίνο με GC-MS/MS - Εφαρμογή της μεθοδολογίας στη μελέτη του αρώματος των οίνων της ποικιλίας Αγιωργίτικο

Development of a standardized method for sensory analysis of wine and a method for determining volatile compounds in wine using GC-MS/MS – Application of the methodology to the study of the aroma of Agiorgitiko wines

Ιωάννης Β. Λίγκας

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Γεώργιος Κοτσερίδης Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Πέτρος Ταραντίλης, Καθηγητής ΓΠΑ

Σταματίνα Καλλίθρακα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

Αθανάσιος Μαλλούχος, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

Νικόλαος Θωμαΐδης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Χαράλαμπος Προεστός, ΕΚΠΑ

Νίκος Κοντουδάκης, Επίκουρος Καθηγητής Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο

Ανάπτυξη τυποποιημένης μεθόδου οργανοληπτικής ανάλυσης οίνου και μεθόδου προσδιορισμού πτητικών ενώσεων σε οίνο με GC-MS/MS – Εφαρμογή της μεθοδολογίας στη μελέτη του αρώματος των οίνων της ποικιλίας Αγιωργίτικο

*Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Οινολογίας & Αλκοολούχων Ποτών*

Περίληψη

Ο οίνος διαθέτει σημαντικό μέγεθος στην παγκόσμια αγορά και το άρωμά του παραμένει κρίσιμο χαρακτηριστικό που συμβάλλει στην εμπορική του αξία. Ως εκ τούτου, η αγορά θα μπορούσε να ωφεληθεί σημαντικά αν αναπτυσσόταν μια απλή και φθηνή μέθοδος ανάλυσης του αρωματικού προφίλ του οίνου. Ένας πρώτος στόχος της παρούσας μελέτης είναι η ανάπτυξη μιας τέτοιας μεθόδου. Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μια πολύ-αναλυτική μέθοδος για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση τριάντα εννέα (39) πτητικών ενώσεων του αρώματος του οίνου, χρησιμοποιώντας εκχύλιση υγρού-υγρού και αεριοχρωματογραφία με διαδοχική φασματομετρία μάζας (GC-MS/MS). Η μέθοδος επικυρώθηκε για τη γραμμικότητα, την αναπαραγωγιμότητα, την ανάκτηση, το όριο ανίχνευσης και το όριο ποσοτικοποίησης και έδειξε εξαιρετικά αποτελέσματα για σχεδόν όλες τις ενώσεις.

Αντίστοιχα με τη μέθοδο ενόργανης ανάλυσης, και μια αποτελεσματική μέθοδος για την οργανοληπτική ανάλυση του οίνου κρίνεται απαραίτητη. Ο Διεθνής Οργανισμός Αμπέλου και Οίνου (OIV) έχει εκδώσει ένα έγγραφο ανασκόπησης για την οργανοληπτική ανάλυση του οίνου, αλλά η περαιτέρω εξειδίκευση και ανάπτυξή του παραμένουν απολύτως αναγκαίες. Υιοθετήθηκαν τυποποιημένες μεθοδολογίες από την οργανοληπτική αξιολόγηση του ελαιολάδου και την οργανοληπτική ανάλυση του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων, οι οποίες αποτέλεσαν τη βάση για τη δημιουργία μιας ακριβούς και επαναλαμβανόμενης μεθοδολογίας για την στρατολόγηση, επιλογή, εκπαίδευση και παρακολούθηση δοκιμαστών για την οργανοληπτική ανάλυση του οίνου. Κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης αναπτύχθηκε, επίσης, μια στατιστικά επικυρωμένη μέθοδος για την οργανοληπτική ανάλυση του οίνου.

Ταυτόχρονα, διεξήχθη συγκριτική μελέτη που περιλάμβανε δύο διαφορετικές ομάδες υποψήφιων δοκιμαστών, με τη μία ομάδα να έχει εκπαιδευτεί στην οργανοληπτική αξιολόγηση του ελαιολάδου και την άλλη να μην έχει εκπαιδευτεί σε αυτόν τον τομέα, με στόχο τη σύγκριση της αποτελεσματικότητας των μη εκπαιδευμένων και εκπαιδευμένων δοκιμαστών στην περαιτέρω εκπαίδευση για την οργανοληπτική ανάλυση οίνου.

Οι μέθοδοι ενόργανης ανάλυσης και οργανοληπτικής ανάλυσης, που αναπτύχθηκαν, εφαρμόστηκαν σε είκοσι πέντε (25) εμπορικούς οίνους Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) Νεμέα.

Σε πρώτο επίπεδο, για τους σκοπούς της αξιολόγησης της μεθόδου ενόργανης ανάλυσης, τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν και συσχετίστηκαν με τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής ανάλυσης από την εκπαιδευμένη ομάδα δοκιμαστών. Οι συσχετίσεις μεταξύ των παραμέτρων έδειξαν ότι η αναπτυχθείσα μέθοδος GC-MS/MS παράγει παρόμοια αποτελέσματα με τις ανθρώπινες αποκρίσεις.

Οι εμπορικοί οίνοι ΠΟΠ Νεμέα αξιοποιήθηκαν και για την αξιολόγηση της οργανοληπτικής μεθόδου. Βάσει των αποτελεσμάτων, φαίνεται ότι η προτεινόμενη μέθοδος για την στρατολόγηση, εκπαίδευση και επιλογή δοκιμαστών είναι αξιόπιστη και οδηγεί σε ομάδες οργανοληπτικής ανάλυσης με εξαιρετική αναπαραγωγιμότητα. Επιπλέον, διαπιστώνεται ότι οι δοκιμαστές από μια ομάδα οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να επιλεγούν ως δοκιμαστές για μια ομάδα οργανοληπτικής ανάλυσης οίνου.

Οι μέθοδοι ενόργανης και οργανοληπτικής ανάλυσης αξιοποιήθηκαν για να δημιουργηθεί το αρωματικό προφίλ των εμπορικών οίνων ΠΟΠ Νεμέα. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε στατιστική επεξεργασία των δεδομένων, ώστε να διερευνηθεί η επίδραση του αρώματος οίνου στον καθορισμό των τιμών λιανικής πώλησης των εμπορικών προϊόντων ΠΟΠ Νεμέα.

Επιπροσθέτως, εστιάζουμε σε κρασιά από την ποικιλία Αγιωργίτικο και εξετάζουμε την επίδραση της ωρίμασης με δρύινα κομμάτια ξύλου τόσο στην εξέλιξη των πτητικών ενώσεων του αρώματος, όσο και στο οργανοληπτικό τους προφίλ. Για το σκοπό αυτό, παράχθηκαν πειραματικοί οίνοι από Αγιωργίτικο. Προσδιορίζοντας πτητικές ενώσεις

του αρώματος οίνου, χρησιμοποιώντας GC-MS/MS και διεξάγοντας περιγραφική οργανοληπτική ανάλυση, διερευνούμε τις επιδράσεις τριών διαφορετικών επιπέδων καψίματος των ξυλοθραυσμάτων δρυός, τριών δοσολογιών και τριών περιόδων παλαίωσης.

Τα ευρήματα της παρούσης μελέτης αποκαλύπτουν ότι σχεδόν όλοι οι οίνοι που ωρίμασαν με δρύινα κομμάτια ξύλου παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις εστέρων σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Επιπλέον, τα ξυλοθραύσματα δρυός με υψηλό κάψιμο συμβάλλουν στην οργανοληπτική παράμετρο καπνιστό άρωμα, ενώ τα μεσαίου καψίματος κομμάτια ξύλου συνδέονται με την οργανοληπτική παράμετρο άρωμα βαρελιού. Τέλος, αυτή η μελέτη παρέχει πολύτιμα δεδομένα για τους οινοποιούς ώστε να καθορίσουν την πιο κατάλληλη εφαρμογή για το προϊόν τους.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: Αγιωργίτικο, Νεμέα, άρωμα, GC-MS/MS, οργανοληπτική, ωρίμαση, ξυλοθραύσματα

Development of a standardized method for sensory analysis of wine and a method for determining volatile compounds in wine using GC-MS/MS – Application of the methodology to the study of the aroma of Agiorgitiko wines

*Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Enology & Alcoholic Drinks*

Abstract

Wine exerts a fundamental influence on the global market, and its aroma remains a crucial characteristic contributing to its commercial value. Therefore, the market could benefit significantly if a simple and cheap method for analyzing the aromatic profile of wine were developed. A primary objective of this study is to develop such a method. A multi-analytical method was developed and validated for the identification and quantification of thirty-nine (39) volatile compounds of wine aroma, using liquid-liquid extraction and gas chromatography/tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). The method was validated for linearity, reproducibility, recovery, limit of detection, and limit of quantification, showing excellent results for almost all compounds.

Similarly to the GC-MS/MS analysis method, an effective method for the sensory analysis of wine is deemed necessary. The International Organization of Vine and Wine (OIV) has issued a review document on the sensory analysis of wine, but further specialization and development remain indispensable. Standardized methodologies from the organoleptic evaluation of olive oil and the sensory analysis of milk and dairy products were adopted, forming the basis for creating an accurate and repeatable methodology for the recruitment, selection, training, and monitoring of assessors for wine sensory analysis. During this study, a statistically validated method for the sensory analysis of wine was developed.

Simultaneously, a comparative study was conducted involving two different groups of candidate assessors, with one group trained in the organoleptic evaluation of olive oil and the other untrained in this area, aiming to compare the effectiveness of untrained and trained assessors in further training for wine sensory analysis.

The developed GC-MS/MS and sensory analysis methods were applied to twenty-five (25) commercial wines of Protected Designation of Origin (PDO) Nemea. Initially, for the purposes of evaluating the instrumental

analysis method, the results were compared and correlated with the sensory analysis results from the trained panel of assessors. The correlations among the parameters indicated that the developed GC-MS/MS method produces similar results to human responses.

The commercial PDO Nemea wines were also utilized for evaluating the sensory method. Based on the results, it appears that the proposed method for the recruitment, training, and selection of assessors is reliable and leads to sensory panels with excellent reproducibility. Furthermore, it is found that assessors from an olive oil organoleptic evaluation panel have a higher likelihood of being selected as assessors for a wine sensory analysis panel.

The instrumental and sensory analysis methods were utilized to create the aromatic profile of the commercial PDO Nemea wines. Additionally, statistical processing of the data was performed to investigate the impact of wine aroma on determining the retail prices of commercial PDO Nemea products.

Furthermore, we focus on wines from the Agiorgitiko variety and examine the effect of aging with oak wood chips on both the evolution of aromatic volatile compounds and their sensory profile. For this purpose, experimental wines from Agiorgitiko were produced. By analyzing compounds of wine aroma using GC-MS/MS and conducting descriptive sensory analysis, we investigate the effects of three different levels of oak chip toasting, three dosages, and three aging periods.

Our findings reveal that almost all wines aged with oak wood chips exhibit higher ester concentrations compared to the control. Additionally, heavy toasted oak chips contribute to the sensory attribute of smoky aroma, while medium toasted oak chips are associated with the sensory attribute of barrel aroma. Finally, this study provides valuable data for winemakers to determine the most suitable application for their product.

Scientific area: Oenology

Keywords: Agiorgitiko, Nemea, aroma, GC-MS/MS, sensory, ageing, chips

Δήλωση Έργου

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή αποτελεί προϊόν της αποκλειστικά προσωπικής μου έρευνας και συγγραφής, λαμβάνοντας υπόψη τις υποδείξεις του Επιβλέποντα.

Δηλώνω ότι η παρούσα Διδακτορική Διατριβή ή μέρος αυτής δεν έχει υποβληθεί και αποτελέσει αντικείμενο κρίσης στο ίδιο Τμήμα ή σε άλλο Τμήμα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών ή σε άλλο ίδρυμα.

Κατά τη συγγραφή της παρούσας, έχω λάβει ιδιαίτερη μέριμνα για τον σεβασμό των διατάξεων περί πνευματικής ιδιοκτησίας και έχω καταστήσει σαφείς τις πηγές άντλησης των πληροφοριών που χρησιμοποιήθηκαν, την έκταση τη χρήσης έργων ή έρευνας τρίτων. Ως εκ τούτου, δηλώνω ότι η παρούσα Διδακτορική Διατριβή δεν προσβάλλει τα δικαιώματα πνευματικής ιδιοκτησίας.

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.

Ιωάννης Β. Λίγκας

Χημικός, M.Sc. - Οινολόγος

Ευχαριστίες και Προεισαγωγική Σημείωση

Το να μοιράζεις απλόχερα ευχαριστίες είναι εύκολο. Το να αποτυπώνεις με ξεκάθαρο τρόπο τους λόγους των ευχαριστιών, όμως, δεν είναι εξίσου εύκολο.

Με αυτήν τη σκέψη, ξεκίνησα μία προσωπική ανασκόπηση της πορείας της συγκεκριμένης έρευνας. Το αρχικό θέμα της ήταν ξεκάθαρο: Αγιωργίτικο, φρουτώδες άρωμα, άρωμα δρυός. Το 2015, συμμετείχα ως συνεργάτης σε έρευνα σχετικά με τη διαφοροποίηση οίνων με χρήση ξυλοθραυσμάτων [1]. Σε εκείνη τη μελέτη, είχαμε προσδιορίσει πτητικές ενώσεις του αρώματος οίνου με χρήση αεριοχρωματογράφου και ανιχνευτή φασματογράφου μάζας (GC-MS), ενώ είχε αναπτυχθεί μία μέθοδος οργανοληπτικής αξιολόγησης των δειγμάτων. Τι πιο εύκολο, λοιπόν, από το να χρησιμοποιήσω τα ίδια αναλυτικά εργαλεία και να εστιάσω τη μελέτη μόνο στο άρωμα του Αγιωργίτικου; Όμως, η τεχνολογία και η επιστήμη εξελίχθηκαν τα τελευταία χρόνια.

Η τεχνολογία της αεριοχρωματογραφίας με διαδοχική φασματομετρία μάζας (GC-MS/MS) εξαπλώθηκε και έγινε κυρίαρχη σε Πανεπιστήμια, ερευνητικά κέντρα και στα εργαστήρια του ιδιωτικού τομέα. Το GC-MS/MS έχει αποτελέσει μία επανάσταση στην αναλυτική χημεία, αφού προσφέρει υψηλότερη βεβαιότητα ταυτοποίησης, χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης, ενώ παράλληλα επιτρέπει την ανάλυση περισσότερων δειγμάτων ανά ημέρα. Επομένως, η πρόκληση της ανάπτυξης μίας νέας μεθόδου προσδιορισμού πτητικών ενώσεων σε οίνο με GC-MS/MS δεν με άφησε ασυγκίνητο.

Η επιστημονική και επαγγελματική μου εμπειρία, ως επικεφαλής ενόργανης ανάλυσης σε ένα διαπιστευμένο εργαστήριο δοκιμών, με

οδηγεί πάντοτε στο ερώτημα: πώς μπορεί να αξιοποιηθεί το αποτέλεσμα μίας ανάλυσης; Με ακριβώς αυτή τη σκέψη, θέλησα να διερευνήσω ένα μοντέλο ομαδοποίησης των πτητικών ενώσεων αρώματος, ώστε τα αποτελέσματα της ανάλυσης με GC-MS/MS να είναι αξιοποιήσιμα από οινολόγους και οινοποιούς.

Αντίστοιχη ήταν και η προσέγγισή μου, στο πεδίο της οργανοληπτικής αξιολόγησης. Το 2015, ο Διεθνής Οργανισμός Οίνου και Αμπέλου εξέδωσε ένα έγγραφο ανασκόπησης για την οργανοληπτική ανάλυση οίνου. Μόλις το μελέτησα, μου ήταν σαφές ότι το έγγραφο είναι μία εξαιρετική βάση, αλλά χωρεί εξέλιξης και βελτίωσης. Σε αυτή την εκτίμηση, με βοήθησε η πολυετής πλέον εμπειρία μου, ως επικεφαλής διαπιστευμένης ομάδας οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου. Γνώριζα πολύ καλά ότι άλλοι χώροι τροφίμων βρίσκονται σε προχωρημένο στάδιο σε σχέση με τον οίνο. Ορίστε, λοιπόν, η δεύτερη μεγάλη πρόκληση: η ανάπτυξη μίας μεθόδου οργανοληπτικής ανάλυσης που θα περιλαμβάνει όλα τα στάδια, δηλαδή της στρατολόγησης, της επιλογής, της εκπαίδευσης και της παρακολούθησης της απόδοσης των δοκιμαστών. Στόχος μου ήταν να δημιουργήσω μία μέθοδο που θα επιτρέψει την οργανοληπτική εναρμόνιση διαφορετικών ομάδων δοκιμών σε διεθνές επίπεδο.

Αφού, όμως, δημιουργείς μία πρώτη ομάδα αναφοράς, πώς θα αποδείξεις ότι η προτεινόμενη μέθοδος είναι αποτελεσματική; Χρησιμοποιώντας ένα εργαλείο αρκετά διαδεδομένο στις έρευνες οργανοληπτικής αξιολόγησης οίνου, αρωμάτων ή τροφίμων: τη σύγκριση της απόδοσης διαφορετικών ομάδων δοκιμαστών. Με αυτό το ερευνητικό εργαλείο, υπήρξε η δυνατότητα μίας ακόμη διερεύνησης: μήπως

εκπαιδευμένοι δοκιμαστές από άλλους χώρους τροφίμων αποτελούν μία καλή «δεξαμενή» στρατολόγησης δοκιμαστών για τον οίνο; Και τι πιο αποδεδειγμένα εκπαιδευμένο, από ένα διαπιστευμένο πάνελ οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου;

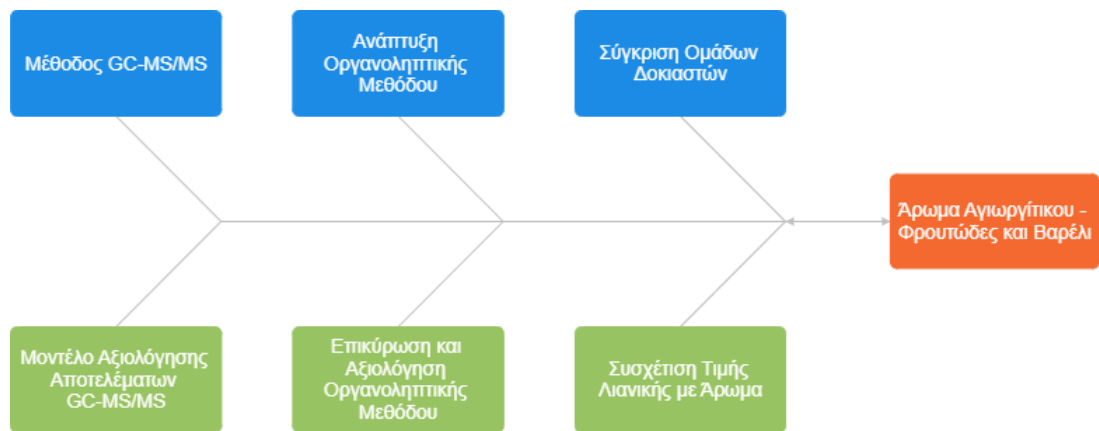
Για την μελέτη του αρώματος του Αγιωργίτικου αγοράστηκαν εμπορικά προϊόντα ΠΟΠ Νεμέα. Η επιλογή να αγοραστούν και όχι να ζητήσουμε να μας χορηγηθούν δωρεάν από ενδιαφερόμενα οινοποιεία, μας έδωσε μία χρήσιμη πληροφορία: την τιμή λιανικής πώλησης κάθε προϊόντος. Και το ερώτημα προέκυψε αβίαστα: μήπως η τιμή λιανικής πώλησης συνδέεται με κάποια οργανοληπτική παράμετρο; Μήπως το άρωμα του Αγιωργίτικου σχετίζεται, με κάποιον τρόπο, με την τιμολογιακή πολιτική των οινοποιείων;

Με αυτές τις σκέψεις και την επιστημονική φιλοδοξία, το αρχικό θέμα εμπλουτίστηκε και διευρύνθηκε. Πλέον, δεν είναι μόνο το Αγιωργίτικο στο επίκεντρο της έρευνας. Εξίσου σημαντική είναι και η ανάπτυξη των δύο μεθόδων: της οργανοληπτικής ανάλυσης και του προσδιορισμού των πτητικών ενώσεων του αρώματος με χρήση GC-MS/MS.

Όταν συνέλεξα όλα τα δεδομένα και ξεκίνησα τη συγγραφή, αναρωτήθηκα: μήπως τα πολλά παράλληλα ερευνητικά θέματα δυσκολέψουν τον αναγνώστη;

Απάντησα στο ερώτημα, αναλογιζόμενος το διάγραμμα ψαροκόκαλου (Fishbone Diagram) ή διάγραμμα Ishikawa, το οποίο αξιοποιούμε ευρέως στον υπολογισμό αβεβαιότητας μίας μεθόδου ανάλυσης. Για όποιον αναγνώστη δεν είναι εξοικειωμένος με αυτόν τον τύπο διαγράμματος, πρόκειται για ένα διάγραμμα, το οποίο διαθέτει έναν

οριζόντιο άξονα, που αντιστοιχεί σε μία διαδικασία παραγωγής ή σε μία μέθοδο ανάλυσης. Από τον οριζόντιο άξονα ξεκινούν διαγώνιοι άξονες που αντιστοιχούν σε μία διερεύνηση του συγκεκριμένου σταδίου της διαδικασίας. Το διάγραμμα ψαροκόκαλου για τη συγκεκριμένη διατριβή με τα παράπλευρα θέματά της φαίνεται ακολούθως στο Σχήμα 1.



Σχήμα 1. Διάγραμμα ψαροκόκαλου για τα παράπλευρα θέματα της διατριβής.

Επομένως, στο επίκεντρο της έρευνας είναι το Αγιοργίτικο, το φρουτώδες άρωμα και το άρωμα βαρελιού. Αξιοποιήθηκαν εμπορικά δείγματα ΠΟΠ Νεμέα, ενώ παράλληλα παράχθηκαν και πειραματικοί οίνοι από Αγιοργίτικο. Εκτιμώ, βέβαια, ότι τα ερευνητικά πεδία της ανάπτυξης των μεθόδων είναι εξίσου σημαντικά και μπορούν να αξιοποιηθούν πολύπλευρα σε μελλοντικές έρευνες.

Στον τίτλο της ενότητας αναγράφω και «ευχαριστίες». Μάλλον είναι το σημείο που πρέπει να τις αποδώσω. Και μάλλον, τα όσα προανέφερα θα αποδώσουν και τη διάσταση που τους αρμόζει.

Καταρχάς, επιθυμώ να ευχαριστήσω από καρδιάς τον επιβλέποντα καθηγητή Δρ. Γ. Κοτσερίδη. Πέραν της προφανούς επιστημονικής διδασκαλίας, μου προσέφερε πολλά. Σε σχέση με την οργανοληπτική

μέθοδο ανάλυσης, κατανόησε και ενστερνίστηκε το επιστημονικό μου φιλόδοξο όραμα. Εάν δεν με είχε παροτρύνει θερμά να το επιχειρήσω, εκτιμώ ότι μπορεί να μην το είχα προχωρήσει. Παράλληλα, ο πειραματικός σχεδιασμός της παραγωγής οίνων ωριμασμένων με κομμάτια δρυός που μου πρότεινε ήταν τόσο εξαιρετικός, που το συγκεκριμένο τμήμα της έρευνας ολοκληρώθηκε εύκολα και αποτελεσματικά. Και βέβαια, εάν απουσίαζε η καθοδήγησή του και η συνεισφορά του στις επιστημονικές δημοσιεύσεις, αυτές δεν θα είχαν υλοποιηθεί. Τέλος, νιώθω την ανάγκη να τον ευχαριστήσω, διότι αποδέχθηκε τον δύσκολο δρόμο που επέλεξα, δηλαδή της διεύρυνσης των θεμάτων της έρευνας, με αποτέλεσμα να απαιτηθούν παρατάσεις της φοίτησής μου. Και η υποστήριξή του, σε αυτό το θέμα, ήταν εξαιρετική, επιδεικνύοντας μεγάλη υπομονή και κατανόηση.

Σημαντικές ευχαριστίες οφείλω στον καθηγητή Δρ. Π. Ταραντίλη και στην αναπληρώτρια καθηγήτρια Δρ. Στ. Καλλίθρακα. Όποτε τους χρειαστήκαμε ήταν πάντοτε εκεί για εμάς. Η βοήθειά τους και η καθοδήγησή τους για την συγγραφή της παρούσας διατριβής ήταν πραγματικά πολύτιμη.

Η αδερφή μου Μαρία Λίγκα ήταν εξαιρετικά υποστηρικτική στην προσπάθειά μου και την ευχαριστώ για αυτό. Μόνο εγώ και αυτή γνωρίζουμε, μέχρι να καταλήξω στην τελική προτεινόμενη μέθοδο ενόργανης ανάλυσης, πόσες φορές έκαψα βαλβίδες του εισαγωγέα και έθεσα ένα όργανο GC-MS/MS εκτός λειτουργίας για εβδομάδες, όταν το όργανο ήταν απολύτως απαραίτητο για αναλύσεις ρουτίνας που διενεργεί!

Επιπλέον, επιθυμώ να ευχαριστήσω έναν από τους στενότερους συνεργάτες μου, τον οινολόγο κ. Φάνη Ματσούκα. Η συμπαράστασή του στις προσπάθειές μου, έστω και ως ακροατής των σκέψεών μου, ήταν απερίγραπτη.

Σε έναν κύκλο σπουδών που ολοκληρώνεται με αυτήν την Διδακτορική Διατριβή, δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τη μητέρα μου Σύλβια Λίγκα και τον πατέρα μου Βασίλη Λίγκα. Σε ηλικία 17 ετών, αγαπούσα ήδη την οινολογία και έθεσα το ερώτημα στον πατέρα μου, εάν πίστευε ότι έπρεπε να ακολουθήσω σπουδές Γεωπονικής. Με καθοδήγησε σωστά προς τη Χημεία, ένα πιο ταιριαστό για εμένα επιστημονικό πεδίο. Και ήρθε το πλήρωμα του χρόνου, να ολοκληρώσω τις σπουδές μου, στο Πανεπιστήμιο που αποφοίτησε ο ίδιος, στο Πανεπιστήμιο που διέπρεψε ο επιστημονικός του μέντορας Οδυσσέας Νταβίδης.

Για το τέλος, άφησα τις ευχαριστίες προς τη σύζυγό μου Άννα Μαρία Καλαντσάκη. Μία Διδακτορική Διατριβή έχει δύσκολες στιγμές. Για έναν υποψήφιο διδάκτορα που δεν έχει ως αποκλειστική δραστηριότητα τη φοίτηση, οι δύσκολες στιγμές είναι πολλές. Και εάν οι επιστημονικοί στόχοι είναι φιλόδοξοι, οι στιγμές γίνονται δυσκολότερες. Σε αυτή την πορεία, έφτασα, δυστυχώς, πολλές φορές στην απόφαση της παραίτησης. Κάθε φορά, η Άννα Μαρία με έπειθε να αναιρέσω την απόφασή μου.

Σε ευχαριστώ...

Επιστημονικές Δημοσιεύσεις

Οι επιστημονικές δημοσιεύσεις που σχετίζονται με την παρούσα Διδακτορική Διατριβή είναι οι ακόλουθες:

1. **Ligas, I.**; Goulioti, E.; Tarantilis, P.; Kotseridis, Y. A New Simple Method for the Determination of Complex Wine Aroma Compounds Using GC-MS/MS—The Case of the Greek Variety “Agiorgitiko”. *AppliedChem* **2024**, *4*, 122-139.
2. **Ligas, I.**; Kotseridis, Y. Introducing a Standardized Sensory Analysis Method for Wine: A Methodology for the Recruitment, Selection, Training, and Monitoring of Assessors—Implementation on the Greek Variety “Agiorgitiko”. *Beverages* **2024**, *10*, 63.
3. **Ligas, I.**; Kotseridis, Y. Impact of French Oak Chip Maturation on the Volatile Composition and Sensory Profile of Agiorgitiko Wine. *Beverages* **2024**, *10*, 121.

Άλλες δημοσιεύσεις με συμμετοχή του συγγραφέα είναι οι ακόλουθες:

1. Kyraleou, M.; Kallithraka, S.; Chira, K.; Tzanakouli, E.; **Ligas, I.**; Kotseridis, Y.. Differentiation of Wines Treated with Wood Chips Based on Their Phenolic Content, Volatile Composition, and Sensory Parameters. *J Food Sci.* **2015**, *80(12)*, C2701-10.
2. Kyraleou M.; Tzanakouli E; Kotseridis Y.; Chira K.; **Ligas I.**; Kallithraka S.; Teissedre P.L.. Addition of wood chips in red wine during and after alcoholic fermentation: differences in color parameters, phenolic content and volatile composition. *OENO One*, **2016**, *50 (4)*, 209-222.

Περιεχόμενα

Περίληψη	III
Abstract.....	VI
Δήλωση Έργου	VIII
Ευχαριστίες και Προεισαγωγική Σημείωση.....	IX
Επιστημονικές Δημοσιεύσεις	XV
Λίστα Πινάκων.....	XXI
Λίστα Σχημάτων.....	XXV
Μετάφραση Χημικών Ενώσεων.....	XXVI
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
1.1. Ο Οίνος ως Παγκόσμιο Εμπορικό Προϊόν	2
1.2. Η Σημασία του Αρώματος Οίνου στο Εμπόριο	3
1.3. Η Υπάρχουσα Κατάσταση Μεθόδων Προσδιορισμού Πτητικών Ενώσεων του Αρώματος.....	6
1.4. Οργανοληπτικές Δοκιμές σε Ερευνητικές Εργασίες.....	7
1.5. Έγγραφα του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) και του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (OIV) Σχετικά με τις Οργανοληπτικές Δοκιμές.....	10
1.6. Οργανοληπτικές Δοκιμές σε Ελαιόλαδο, Γάλα και Γαλακτοκομικά Προϊόντα.....	11
1.7. Έρευνες Σχετικά με Δημιουργία Παρόμοιων Πάνελ σε Οίνο.....	13
1.8. Ωρίμαση σε Βαρέλια και Σχετικές Έρευνες με Έμφαση στο Άρωμα Οίνου	14
1.9. Ωρίμαση με Χρήση Ξυλοθραυσμάτων Δρυός και Συγκριτικές Έρευνες με Παλαίωση σε Βαρέλια	15
1.10. Έρευνες με Χρήση Ξυλοθραυσμάτων Δρυός Σχετικά με το Άρωμα Οίνου	16
1.11. Έρευνες σε Αγιωργίτικο με Χρήση Ξυλοθραυσμάτων Δρυός.....	17
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	20
2.1. Ανάπτυξη Αναλυτικής Μεθόδου Προσδιορισμού Πτητικών Ενώσεων με GC-MS/MS	20

2.2. Δημιουργία μίας Τυποποιημένης Μεθόδου Οργανοληπτικής Ανάλυσης για τον Οίνο: Μεθοδολογία για Στρατολόγηση, Επιλογή, Εκπαίδευση και Παρακολούθηση των Δοκιμαστών.....	22
2.3. Ανάλυση Εμπορικών Προϊόντων ΠΟΠ Νεμέα: Προσδιορισμός Πτητικών Ενώσεων Αρώματος με Χρήση GC-MS/MS και Οργανοληπτική Ανάλυση Περιγραφικού Προφίλ.....	23
2.4. Ωρίμαση Οίνου από Αγιωργίτικο με Χρήση Ξυλοθραυσμάτων.....	24
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	28
3.1. Οίνοι ΠΟΠ Νεμέα.....	28
3.2. Χημικά και Αντιδραστήρια	28
3.3. Ανάπτυξη Μεθόδου Προσδιορισμού Πτητικών Ενώσεων με Χρήση GC-MS/MS.....	29
3.3.1. Μέθοδος Εκχύλισης.....	29
3.4. Καμπύλη Βαθμονόμησης.....	29
3.5. Συνθήκες Λειτουργίας του GC-MS/MS	30
3.5.1. Παράμετροι του MS – Μέθοδος Εύρεσης του Ζεύγους Θραυσμάτων.....	31
3.5.2. Επικύρωση Μεθόδου GC-MS/MS	32
3.5.2.1. Γραμμικότητα	32
3.5.2.2. Επαναληψιμότητα και Ανάκτηση.....	33
3.5.2.3. Αναπαραγωγικότητα.....	33
3.5.2.4. Όριο Ανίχνευσης και Όριο Ποσοτικοποίησης	33
3.5.3. Στατιστική ανάλυση – Ενεργή Τιμή Οσμής (OAV).....	34
3.6. Οργανοληπτική Ανάλυση.....	35
3.6.1. Οργανοληπτική Ανάλυση - Δείγματα Οίνου.....	35
3.6.2. Οργανοληπτική Ανάλυση – Αντιδραστήρια	35
3.6.3. Οργανοληπτική Ανάλυση – Εξοπλισμός και Λογισμικά	36
3.6.4. Οργανοληπτική Ανάλυση – Δοκιμαστές	37
3.6.5. Οργανοληπτική ανάλυση – Διαδικασία Εκπαίδευσης	38
3.6.5.1. Δοκιμές για Ανίχνευση Οργανοληπτικών Αδυναμιών	38
3.6.5.2. Κατώφλι Αντίληψης	40
3.6.5.3. Δοκιμές για Προσδιορισμό της Οργανοληπτικής Αντίληψης	40

3.6.5.3.1. Δοκιμές για Ανίχνευση Ενός Ερεθίσματος.....	40
3.6.5.3.2. Δοκιμές για Διάκριση Μεταξύ Επιπέδων Έντασης Ενός Ερεθίσματος – Δοκιμές Κατάταξης.....	42
3.6.5.4. Δοκιμές για Περιγραφή Αρωμάτων	44
3.6.5.5. Αξιολόγηση της Εκπαίδευσης – Επιλογή των Δοκιμαστών	45
3.6.5.5.1. Αξιολόγηση της Εκπαίδευσης – Επιλογή των Δοκιμαστών.....	45
3.6.5.5.2. Δοκιμές Κατάταξης.....	46
3.6.5.5.3. Αναγνώριση Αρωμάτων.....	47
3.6.5.5.4. Αξιολόγηση Βασικής Εκπαίδευσης.....	48
3.6.5.6. Εκπαίδευση και Ταυτοποίηση Ελαττωμάτων Οίνου με Χρήση Διαλυμάτων	48
3.6.5.7. Ταυτοποίηση Ελαττωμάτων Οίνου και Χαρακτηριστικών Οίνου με Χρήση Εμβολιασμένου Οίνου	49
3.6.5.8. Δοκιμή Διαφορετικών Τύπων Τανίνης.....	50
3.6.5.9. Κατάταξη Οίνων με Διαφορετική Ένταση Αρώματος Βαρελιού.....	51
3.6.5.10. Σύνοψη Βαθμολογίας και Κριτήρια Αποδοχής.....	51
3.6.5.11. Επιλογή Δοκιμαστών – Δημιουργία Νέων Ομάδων.....	52
3.6.6. Μέθοδος Οργανοληπτικής Ανάλυσης Οίνου.....	53
3.6.6.1. Γενικές Οδηγίες.....	53
3.6.6.2. Η Μεθοδολογία της Δοκιμής.....	54
3.6.6.3. Επεξεργασία Αποτελεσμάτων.....	55
3.6.6.4. Εκπαίδευση Δοκιμαστών στο Φύλλο Δοκιμαστή.....	56
3.6.7. Επικύρωση της Μεθόδου.....	57
3.6.7.1. Έλεγχος της Απόδοσης Κάθε Δοκιμαστή.....	57
3.6.7.1.1. Έλεγχος της Ακρίβειας του Δοκιμαστή.....	58
3.6.7.1.2. Έλεγχος Ορθότητας του Δοκιμαστή.....	58
3.6.7.1.3. Έλεγχος της Ακρίβειας της Ομάδας Δοκιμών.....	59
3.6.7.1.4. Υπολογισμός Αναπαραγωγιμότητας.....	61
3.6.8. Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα – Στατιστική ανάλυση	61
3.7. Μελέτη Παλαίωσης Αγιωργίτικου με Ξυλοθραύσματα Δρυός.....	61

3.7.1. Οίνοι	61
3.7.2. Ευλοθραύσματα Δρυός	62
3.7.3. Δημιουργία Δειγμάτων – Πειραματικός Σχεδιασμός	62
3.7.4. Φυσικοχημικές Αναλύσεις	63
3.7.5. Προσδιορισμός Πτητικών Ενώσεων του Αρώματος.....	65
3.7.6 . Οργανοληπτική Ανάλυση.....	65
3.7.7. Στατιστική Ανάλυση	66
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	70
4.1. Ανάπτυξη Μεθόδου σε GC-MS/MS – Ζεύγη Θραυσμάτων.....	70
4.2. GC-MS/MS – Επικύρωση Μεθόδου.....	71
4.2.1. Μεταπτώσεις Μαζών	71
4.2.2. Γραμμικότητα.....	74
4.2.3. Επαναληψιμότητα – Ανακτήσεις	76
4.2.4. Αναπαραγωγιμότητα.....	78
4.2.5. Όριο Ανίχνευσης και Όριο Ποσοτικοποίησης	80
4.3. GC-MS/MS - Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα	80
4.4. Οργανοληπτική Ανάλυση - Απόδοση δοκιμαστών κατά τη βασική εκπαίδευση.....	88
4.5. Οργανοληπτική Ανάλυση – Αξιολόγηση της Εκπαίδευσης.....	90
4.6. Οργανοληπτική Ανάλυση – Επικύρωση της Μεθόδου.....	93
4.6.1. Έλεγχος της Απόδοσης της Ομάδας Δοκιμαστών	93
4.6.2. Έλεγχος της Απόδοσης των Δοκιμαστών.....	96
4.7. Αναπαραγωγιμότητα.....	96
4.8. Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα.....	98
4.9. Ανάλυση Δεδομένων (Data Analysis).....	101
4.9.1.Συσχέτιση Ομάδων Πτητικών Ενώσεων με Οργανοληπτικές Παραμέτρους.....	101
4.9.2.Ανάλυση Δεδομένων για Οργανοληπτική Ανάλυση – Συσχέτιση Οργανοληπτικών Παραμέτρων με Τιμή Λιανικής ΠΟΠ Νεμέα.....	103
4.10. Αγιωργίτικο Ωριμασμένο με Ευλοθραύσματα Δρυός.....	105
4.10.1. Φυσικοχημικές Αναλύσεις	105

4.10.2. Προσδιορισμός Πτητικών Ενώσεων του Αρώματος με Χρήση GC-MS/MS	105
4.10.3. Ενεργή Τιμή Οσμής (Odor Active Value, OAV)	108
4.10.4. Οργανοληπτική Ανάλυση	111
4.10.5. Ανάλυση Δεδομένων.....	117
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	122
5.1. Ανάπτυξη Μεθόδου με GC-MS/MS.....	122
5.2. Ανάπτυξη Οργανοληπτικής Μεθόδου – Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα.....	125
5.3. Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα – Διασύνδεση Δεδομένων GC-MS/MS, Οργανοληπτικής Ανάλυσης και Λιανικής Τιμής	128
5.4. Οίνοι από Αγιωργίτικο Ωριμασμένοι με Ξυλοθραύσματα Δρυός	131
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	140
7. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ ΕΡΕΥΝΑΣ	146
8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	150
8.1. Πίνακες Αντιδραστηρίων.....	150
8.2. Φύλλο Δοκιμαστή	152
8.3. Έγγραφο Ανασκόπησης για την Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνου από τον ΟΙΥ.....	154
8.4. Μέθοδος Οργανοληπτικής Αξιολόγησης Παρθένου Ελαιολάδου.....	181
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	202

Λίστα Πινάκων

Πίνακας 1. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για τις δοκιμές αγευσίας και ανοσμίας.

Πίνακας 2. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για την ανίχνευση ερεθίσματος.

Πίνακας 3. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για την ανίχνευση ερεθίσματος.

Πίνακας 4. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για την ταυτοποίηση γεύσεων.

Πίνακας 5. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για τις δοκιμές διάκρισης μεταξύ διαφορετικών επιπέδων έντασης.

Πίνακας 6. Κλίμακα βαθμολόγησης για δοκιμές κατάταξης.

Πίνακας 7. Οσφρητικά υλικά για τη δοκιμή περιγραφής οσμής και το σύστημα βαθμολόγησης για την αναγνώριση αρωμάτων.

Πίνακας 8. Υλικά και συγκεντρώσεις για την αναγνώριση των βασικών γεύσεων.

Πίνακας 9. Κλίμακα βαθμολόγησης για την αναγνώριση γεύσης.

Πίνακας 10. Υλικά και συγκεντρώσεις για τις δοκιμές κατάταξης.

Πίνακας 11. Αρωματικά υλικά και σύστημα βαθμολόγησης για αναγνώριση αρωμάτων.

Πίνακας 12. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται και οι συγκεντρώσεις που αντιστοιχούν σε χαμηλές, μεσαίες και υψηλές εντάσεις για την εκπαίδευση και την αναγνώριση ελαττωμάτων του οίνου χρησιμοποιώντας υδατικά διαλύματα.

Πίνακας 13. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται και οι συγκεντρώσεις για την αναγνώριση ελαττωμάτων του οίνου και χαρακτηριστικών του οίνου χρησιμοποιώντας εμβολιασμένο οίνο.

Πίνακας 14. Μέγιστες βαθμολογίες δοκιμών για την αξιολόγηση της εκπαίδευσης και την επιλογή δοκιμαστών.

Πίνακας 15. Σύστημα βαθμολόγησης για την επιλογή δοκιμαστών.

Πίνακας 16. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται και οι συγκεντρώσεις για την εκπαίδευση με συνεχή κλίμακα.

Πίνακας 17. Η μοριακή μάζα (Mr), τα Mass Spectral Transitions για το πρώτο τετράπολο (Q1) και για το τρίτο τετράπολο (Q3), τα επιλεγμένα collision energies (CEs), and ο χρόνος κατακράτησης (retention time) για την ανάλυση των πτητικών ενώσεων. Το ζεύγος που χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση (με την μεγαλύτερη ένταση) εμφανίζεται με έντονη γραφή (**bold**) για κάθε ένωση.

Πίνακας 18. Στατιστικά στοιχεία της καμπύλης βαθμονόμησης για κάθε ένωση.

Πίνακας 19. Η μέση ανάκτηση (%Recovery), τυπική απόκλιση (s) και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD%) για κάθε ένωση, σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης.

Πίνακας 20. Η αβεβαιότητα συνδυασμένης αναπαραγωγιμότητας, η αβεβαιότητα για επίπεδο εμπιστοσύνης 95% (k=2), το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) και το όριο ανίχνευσης (LOD) για κάθε ένωση.

Πίνακας 21. Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών των ενώσεων 2-methoxy-4-vinylphenol, 2-phenylethanol, 2-phenethyl acetate, 4-vinylphenol, acetovanillone, ethyl 2-methylbutyrate και ethyl 3-hydroxybutyrate στους οίνους ΠΟΠ Νεμέα.

Πίνακας 21b. Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών των ενώσεων ethyl butyrate, ethyl caproate, ethyl caprylate, ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, 4-ethylguaiacol, ethyl isobutyrate και ethyl isovalerate στους οίνους ΠΟΠ Νεμέα.

Πίνακας 21c. Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών των ενώσεων 4-ethylphenol, isoamyl acetate, isobutyl acetate, vanillin, *cis*-whiskey lactone και *trans*-whiskey lactone στους οίνους ΠΟΠ Νεμέα.

Πίνακας 22. Οι πτητικές αρωματικές ενώσεις που ποσοτικοποιήθηκαν σε συγκέντρωση πάνω από το LOQ, η περιοχή συγκεντρώσεων για όλα τα εμπορικά προϊόντα ΠΟΠ Νεμέα, ο μέσος όρος συγκέντρωσης, το κατώφλι αντίληψης και οι περιγραφές οσμής κάθε ένωσης.

Πίνακας 23. Αποτελέσματα των συγκεντρώσεων ανά ομάδα ενώσεων και για την 2-phenyl-ethanol για κάθε δείγμα ΠΟΠ Νεμέα που αναλύθηκε.

Πίνακας 24. Οι Ενεργές Τιμές Οσμής (OAV) για κάθε ομάδα ενώσεων, το άθροισμα OAV-φρουτώδες, το άθροισμα OAV-βαρέλι, το συνολικό άθροισμα OAV, το ποσοστό OAV-φρουτώδες και το ποσοστό OAV-βαρέλι για κάθε δείγμα ΠΟΠ Νεμέα που αναλύθηκε.

Πίνακας 25. Το κατώφλι αντίληψης για κάθε ομάδα για τις πέντε βασικές γεύσεις.

Πίνακας 26. Η βαθμολογία των δοκιμαστών σε κάθε στάδιο της βασικής εκπαίδευσης, συνολική βαθμολογία, μέσος όρος για τις δύο ομάδες, αξιολόγηση για κάθε στάδιο εκπαίδευσης και συνολική βαθμολόγηση για κάθε δοκιμαστή.

Πίνακας 27. Οι τιμές των Normalized Error (Κανονικοποιημένο Σφάλμα) και Precision Number (Αριθμός Ακρίβειας) του κάθε πάνελ, για κάθε ανάλυση διπλότυπου, για τις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους.

Πίνακας 28. Απόδοση της ομάδας, όπως αποδίδεται από τον Precision Number (Αριθμός Ακρίβειας) και απόδοση των μεμονωμένων δοκιμαστών, όπως αποδίδεται από τον Precision Number (Αριθμός Ακρίβειας) και από τον Deviation Number (Αριθμός Απόκλισης), για τις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους.

Πίνακας 29. Διάμεση Τιμή για κάθε ανάλυση, Μέσος Όρος, Τυπική Απόκλιση (Standard Deviation) και Σχετική Τυπική Απόκλιση (Relative Standard Deviation) για κάθε Ομάδα και κάθε οργανοληπτική παράμετρο.

Πίνακας 30. Αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης για τις παραμέτρους ελαττώματος, για τις οπτικές παραμέτρους και για τις οσφρητικές παραμέτρους, καθώς και η τιμή λιανικής κάθε προϊόντος.

Πίνακας 30b. Αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης για τις γευστικές παραμέτρους.

Πίνακας 31. Τα ιδιοδιανύσματα (eigenvectors) για την Κύρια Συνιστώσα 1 (PC1) και την Κύρια Συνιστώσα 2 (PC2).

Πίνακας 32. Συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων ενόργανης ανάλυσης και οργανοληπτικής ανάλυσης που αφορούν στο άρωμα του οίνου.

Πίνακας 33. Συσχετίσεις μεταξύ Τιμής Λιανικής και Οργανοληπτικών Παραμέτρων.

Πίνακας 34. Οι συγκεντρώσεις των ενώσεων που ανήκουν στην ομάδα «ενώσεις δρυός» και προσδιορίστηκαν υψηλότερα από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου, με χρήση ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

Πίνακας 35. Οι συγκεντρώσεις της 2-phenylethanol και των ενώσεων που ανήκουν στην ομάδα «οξικών εστέρων» και προσδιορίστηκαν υψηλότερα από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου, με χρήση ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

Πίνακας 36. Οι συγκεντρώσεις των ενώσεων που ανήκουν στην ομάδα «υπόλοιπων εστέρων» και προσδιορίστηκαν υψηλότερα από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου, με χρήση ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

Πίνακας 37. Οι τιμές των Ενεργών Τιμών Οσμής (Odor Active Value) για το φρουτώδες (OAV-Φρουτώδες), για το βαρέλι (OAV-Βαρέλι) και το ποσοστό Ενεργούς Τιμής Οσμής για το βαρέλι (%OAV-Βαρέλι), για τα δείγματα με προσθήκη ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

Πίνακας 38. Αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης για τις παραμέτρους άρωμα βαρελιού, καπνιστό άρωμα, πολυπλοκότητα αρώματος, φρουτώδες άρωμα, άρωμα στόματος, για τα δείγματα με προσθήκη ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

Πίνακας 39. Αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης για τις παραμέτρους ξινό, γλυκό, πικρό, στυφό και διάρκεια επίγευσης, για τα δείγματα με προσθήκη ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

Πίνακας 40. Τα ιδιοδιανύσματα (eigen vectors) για την Κύρια Συνιστώσα 1 (PC1) και την Κύρια Συνιστώσα 2 (PC2), της ανάλυσης PCA για τους οίνους από Αγιωργίτικο παλαιωμένους με ξυλοθραύσματα δρυός.

Πίνακας 41. Λίστα προτύπων που χρησιμοποιήθηκαν στην ενόργανη ανάλυση, Chemical Abstracts Service Number (CAS Registry Number), μοριακός τύπος, μοριακή μάζα, καθαρότητα και εμπορικός οίκος.

Πίνακας 42. Λίστα προτύπων που χρησιμοποιήθηκαν στην αναπτυχθείσα οργανοληπτική ανάλυση κατά την εκπαίδευση των δοκιμαστών, Chemical Abstracts Service Number (CAS Registry Number), μοριακός τύπος, μοριακή μάζα, καθαρότητα και εμπορικός οίκος.

Λίστα Σχημάτων

Σχήμα 1. Διάγραμμα ψαροκόκαλου για τα παράπλευρα θέματα της διατριβής.

Σχήμα 2. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) για οξικούς εστέρες σύνολο (Total Acetates), υπόλοιπους εστέρες σύνολο (Total Esters), φαινόλες σύνολο (Phenol Sum) και ενώσεις δρυός σύνολο (“Oak” Compounds) προσδιορισμένα με χρήση GC-MS/MS, καθώς και για τις οργανοληπτικές παραμέτρους φρουτώδες άρωμα (Fruity Aroma), άρωμα βαρελιού (Barrel Aroma) και άρωμα στόματος (Flavour Intensity).

Σχήμα 3. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) για την Τιμή Λιανικής και για τις Οργανοληπτικές Παραμέτρους των οίνων ΠΟΠ Νεμέα.

Σχήμα 4. Οι τιμές Ενεργούς Τιμής Οσμής Βαρελιού (OAV-Βαρέλι), για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Σχήμα 5. Οι τιμές Ενεργούς Τιμής Οσμής Φρουτώδους (OAV-Φρουτώδες), για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Σχήμα 6. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Άρωμα Βαρελιού, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Σχήμα 7. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Καπνιστό Άρωμα, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Σχήμα 8. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Πολυπλοκότητα Αρώματος, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Σχήμα 9. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Πικρό, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Σχήμα 10. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Στυφό, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Σχήμα 11. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) για φρουτώδες άρωμα (Fruity Aroma), άρωμα βαρελιού (Barrel Aroma), καπνιστό άρωμα (Smoked Aroma), πολυπλοκότητα αρώματος (Aroma Complexity), άρωμα στόματος (Flavor Intensity), acetovanillone, 4-ethylguaiacol, guaiacol, vanillin, trans-whiskey lactone, cis-whiskey lactone, άθροισμα των Ενεργών Τιμών Οσμής Φρουτώδους (OAV-Esters) και των Ενεργών Τιμών Οσμής Βαρελιού (OAV “Oak” Compounds).

Σχήμα 12. Φύλλο δοκιμαστή για την μέθοδο οργανοληπτικής ανάλυσης οίνου.

Σχήμα 13. Φύλλο δοκιμαστή για την μέθοδο οργανοληπτικής ανάλυσης οίνου στην αγγλική γλώσσα

Μετάφραση Χημικών Ενώσεων

Στην παρούσα Διατριβή επέλεξα να χρησιμοποιήσω την αγγλική ονομασία των χημικών ενώσεων, εκτιμώντας ότι – με αυτόν τον τρόπο – είναι πιο εύκολη η κατανόηση από τον αναγνώστη, αφού είναι συχνά χρησιμοποιούμενες στη διεθνή βιβλιογραφία, με αποτέλεσμα να είναι πιο εξοικειωμένοι με την αγγλική τους ονομασία. Επιπλέον, οι μελλοντικοί ερευνητές θα έχουν λίγο πιο εύκολο έργο, για την αξιοποίηση της παρούσας μελέτης.

Όπου χρησιμοποίησα αγγλικές συντομογραφίες, στο κείμενο παραθέτω τους ελληνικούς όρους και σε παράθεση την αγγλική συντομογραφία.

- **2,4,6-Trichloroanisole (TCA):** 2,4,6-Τριχλωροανισόλη
- **2-Methoxy-4-methylphenol:** 2-Μεθοξυ-4-μεθυλοφαινόλη
- **2-Methoxy-4-vinylphenol:** 2-Μεθοξυ-4-βινυλοφαινόλη
- **2-Phenethyl acetate:** 2-Οξικός φαιναιθυλεστέρας
- **2-Phenylethanol:** 2-Φαινυλαιθανόλη
- **3-(Methylthio)propionaldehyde:** 3-(Μεθυλθειο)προπιοναλδεΐδη
- **4-Ethylguaiacol:** 4-Αιθυλγουαϊακόλη
- **4-Ethylphenol:** 4-Αιθυλφαινόλη
- **4-Vinylphenol:** 4-Βινυλοφαινόλη
- **Acetic acid:** Οξικό οξύ
- **Acetovanillone:** Ακετοβανιλόνη
- **Benzyl acetate:** Οξικός βενζυλεστέρας
- **Butyric acid:** Βουτυρικό οξύ
- **Caffeine:** Καφεΐνη
- **cis-3-Hexen-1-ol:** cis-3-Εξεν-1-όλη
- **Citral:** Κιτράλη
- **Citric acid:** Κιτρικό οξύ
- **Citronellol:** Κιτρονελλόλη
- **D(+)-Glucose:** D(+)-Γλυκόζη
- **Damascenone:** Δαμασκηνόνη
- **Decyl aldehyde:** Δεκυλαλδεΐδη
- **Ethanal:** Αιθανάλη
- **Ethyl 2-methylbutyrate:** 2-μεθυλοβουτυρικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl 3-hydroxybutyrate:** 3-υδροξυβουτυρικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl acetate:** Οξικός αιθυλεστέρας

- **Ethyl butyrate:** Βουτυρικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl caproate:** Καπροϊικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl caprylate:** Καπρυλικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl cinnamate:** Κινναμικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl decanoate:** Δεκανοϊικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl dodecanoate:** Δωδεκανοϊικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl isobutyrate:** Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl isovalerate:** Ισοβαλερικός αιθυλεστέρας
- **Ethyl vanillin:** Αιθυλοβανιλίνη
- **Eugenol:** Ευγενόλη
- **Geraniol:** Γερανιόλη
- **Guaiacol:** Γουαϊακόλη
- **Hexanal:** Εξανάλη
- **Hexylacetate:** Οξικός εξυλεστέρας
- **Isoamyl acetate:** Οξικός ισοαμυλεστέρας
- **Isobutyl acetate:** Οξικός ισοβουτυλεστέρας
- **Isoeugenol:** Ισοευγενόλη
- **Linalool:** Λιναλοόλη
- **Monosodium L-glutamate:** L-γλουταμινικό μονονάτριο
- **Potassium disulfite:** Δισουλφίδιο του καλίου
- **Sodium chloride:** Χλωριούχο νάτριο
- **Sucrose:** Σακχαρόζη
- **Tannic acid:** Ταννικό οξύ
- **Tartaric acid:** Τρυγικό οξύ
- **Thymol:** Θυμόλη
- **Vanillin:** Βανιλίνη
- **Whiskey lactone:** Ούισκι λακτόνη
- **β-ionone:** β-ιονόνη

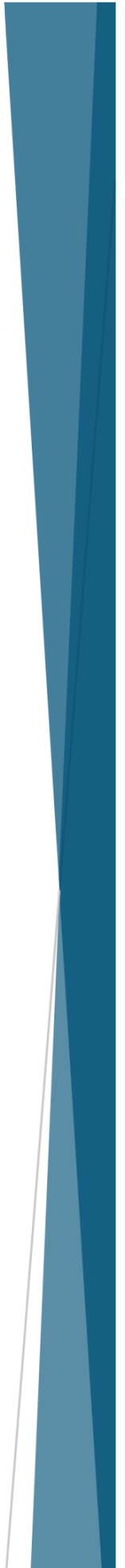
*Σε τρεις γενιές ανθρώπων της οικογένειάς μου,
στους γονείς μου,
στην αδερφή μου,
στη σύζυγό μου
και στην κόρη μου Αρχοντία*

Copyright © 2024 Ιωάννης Β. Λίγκας

Το ερευνητικό πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας της Έρευνας (Ε.Η.Δ.Ε.) του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, με αριθμό μητρώου 85/11.11.2024.

Η έγκριση της διδακτορική διατριβής από το Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής Ανθρώπου δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν 5343/32, αρ. 202, παρ. 2.)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ



1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Ο Οίνος ως Παγκόσμιο Εμπορικό Προϊόν

Ο οίνος έχει σημαντική εμπορική αξία σε παγκόσμια κλίμακα. Το διεθνές εμπόριο οίνου έχει εμφανίσει σαφή αυξητική τάση τα τελευταία είκοσι χρόνια. Συγκεκριμένα, η παγκόσμια αξία εξαγωγής οίνου έφτασε τα 36,0 δισεκατομμύρια ευρώ το 2023, η οποία αποτελεί τη δεύτερη υψηλότερη τιμή που έχει καταγραφεί ποτέ. Ο εμφιαλωμένος οίνος, σε φιάλη χωρητικότητας μικρότερη των δύο λίτρων, είναι το κύριο προϊόν, με σημαντικό μερίδιο στους όγκους και τις αξίες του εμπορίου (53% και 67%, αντίστοιχα, το 2023). Το 2023, οι πέντε κορυφαίες χώρες στην παραγωγή οίνου ήταν η Γαλλία, η Ιταλία, η Ισπανία, οι ΗΠΑ και η Χιλή, με ποσοστά παγκόσμιας παραγωγής οίνου να κυμαίνονται από 4,6% έως 20,2%. Η Ελλάδα παράγει μεταξύ 2,0 και 3,0 mhl ετησίως, περίπου το 1% της παγκόσμιας παραγωγής οίνου. Εξαίρεση αποτέλεσε η παραγωγή του 2023, όπου η ποσότητα ήταν η μικρότερη της τελευταίας επταετίας (2017-2023), με παραγωγή 1,4 mhl οίνου και ποσοστό 0,6% της παγκόσμιας παραγωγής [2].

Το διεθνές εμπόριο οίνου πραγματοποιείται ανάμεσα σε αναπτυγμένες οικονομίες. Πιο συγκεκριμένα, το 2023, οι πρώτες τρεις χώρες σε εξαγωγή οίνου, σε όγκους, ήταν η Ιταλία, η Ισπανία, η Γαλλία, ενώ σημαντικές εξαγωγές πραγματοποιούν και η Χιλή, η Αυστραλία, η Νότια Αφρική, η Γερμανία, η Πορτογαλία, ο Καναδάς, οι Η.Π.Α., η Αργεντινή και η Νέα Ζηλανδία. Παράλληλα, οι τρεις πρώτες χώρες σε εισαγωγή οίνου, σε όγκους, ήταν η Γερμανία, το Ηνωμένο Βασίλειο και οι Η.Π.Α., ενώ ακολουθούν η Γαλλία, η Ολλανδία, η Ρωσία, ο Καναδάς, το Βέλγιο, η Πορτογαλία, η Κίνα, η Ιαπωνία, η Ιταλία και η Σουηδία [2].

1.2. Η Σημασία του Αρώματος Οίνου στο Εμπόριο

Το άρωμα του οίνου είναι βασικός παράγοντας για την ποιότητά του και για την εμπορική του αξία. Ως εκ τούτου, πολλές μελέτες έχουν διερευνήσει τη συμπεριφορά των καταναλωτών και τις οργανοληπτικές τους προτιμήσεις σχετικά με τον οίνο [3,4,5]. Μελέτες έχουν επίσης αναφέρει διαφορές μεταξύ των φύλων σε σχέση με τον οίνο και τις γευστικές τους προτιμήσεις [6], παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες στα οινοποιεία για τις στρατηγικές προώθησης του οινικού προϊόντος. Επιπλέον, το άρωμα του οίνου έχει συνδεθεί με τα συναισθήματα των καταναλωτών, ένα θέμα ιδιαίτερου ενδιαφέροντος για την βιομηχανία του οίνου [7]. Το άρωμα του οίνου μπορεί να θεωρηθεί πολυδιάστατο. Διάφοροι παράγοντες όπως η ποικιλία σταφυλιών, ο τύπος του εδάφους και η φυτοπροστασία το επηρεάζουν [8], ενώ παράλληλα, οι ζυμομύκητες διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στον σχηματισμό του αρώματος του οίνου, καθώς παράγουν μεγάλο αριθμό πτητικών ενώσεων από πρόδρομες ενώσεις αρωμάτων που προέρχονται από το σταφύλι [9]. Επιπλέον, τα στελέχη των γαλακτικών βακτηρίων μπορούν να έχουν σημαντικό αντίκτυπο στο αρωματικό προφίλ του παραγόμενου οίνου [10,11]. Οι οινολογικές πρακτικές είναι επίσης σημαντικές για το σχηματισμό και τη διατήρηση του αρώματος του οίνου, όπως οι θερμοκρασίες αποθήκευσης, οι οποίες είναι κρίσιμες για τη διατήρηση του αρώματος του οίνου που έχει δημιουργηθεί. Η συμπλήρωση του γλεύκους με άζωτο είναι επίσης ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει το άρωμα [12]. Το άρωμα και η γεύση του οίνου είναι δυναμικά, καθώς εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από επεξεργασίες μετά τη ζύμωση, όπως το κολλάρισμα, το φιλτράρισμα και η ωρίμαση σε δεξαμενές, ξύλινα δοχεία ή μπουκάλια [13]. Πιο

συγκεκριμένα, κατά την ωρίμαση σε βαρέλια, μεταβάλλεται τόσο το φρουτώδες άρωμα όσο και το άρωμα προερχόμενο από το ξύλο. Επιπλέον, οι ενώσεις των οποίων η συγκέντρωση αλλάζει κατά τη διαδικασία ωρίμασης μπορούν να ταξινομηθούν σε κατηγορίες. Υπάρχουν ενώσεις που αυξάνουν τη συγκέντρωσή τους, όπως αυτές που προέρχονται από ξύλο ή άλλες που σχηματίζονται από πρόδρομες ουσίες σε μια διαδικασία που δεν επηρεάζεται από το ξύλο. Αντίθετα, υπάρχουν ενώσεις που μειώνουν τη συγκέντρωσή τους λόγω διεργασιών οξειδωσης ή διεργασιών προσρόφησης στο ξύλο [14]. Οι επιλογές του τύπου βαρελιού και οι θερμοκρασίες καψίματος του ξύλου είναι πολύ σημαντικές για το αρωματικό προφίλ του οίνου που έχει ωριμάσει σε δρύινα βαρέλια [15]. Τα βαρέλια υψηλού καψίματος απελευθερώνουν υψηλότερες συγκεντρώσεις πτητικών φαινολών και χαμηλότερες συγκεντρώσεις φουρανικών ενώσεων και φαινολικών αλδεϋδών [16].

Οι απάτες που σχετίζονται με το εμπόριο του οίνου αποτελούν μία αυξανόμενη ανησυχία στο παγκόσμιο εμπόριο [17], με μία από τις κύριες μορφές απάτης να αποτελεί το πλαστό κρασί, δηλαδή ένα προϊόν που προσομοιάζει με κάποιο άλλο. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι καταναλωτές οίνου επιλέγουν τις οινικές αγορές τους με βασικά κριτήρια την περιοχή και την ονομασία προέλευσης του προϊόντος. Επιπλέον, η φήμη του προϊόντος και ο οινοποιός επηρεάζουν σημαντικά την επιθυμία των καταναλωτών να αγοράσουν έναν οίνο. Ως εκ τούτου, ο έλεγχος ταυτότητας οίνου είναι μια επείγουσα ανάγκη της αγοράς. Ο έλεγχος ταυτότητας οίνου βασίζεται σε αναλυτικά δεδομένα που λαμβάνονται με τη χρήση συνδυασμού διαφορετικών τεχνικών, μαζί με την ανάπτυξη στατιστικών μοντέλων [18]. Αρκετές μελέτες που είχαν ως στόχο να

ταυτοποιήσουν την τυπικότητα των οίνων, έχουν προσπαθήσει να αξιοποιήσουν το αρωματικό προφίλ που χαρακτηρίζει τους οίνους από μία συγκεκριμένη ποικιλία και περιοχή. Για το σκοπό αυτό, έχουν χρησιμοποιηθεί αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούν αεριοχρωματογραφία σε συνδυασμό με οργανοληπτική ανάλυση [19,20]. Οι πτητικές ενώσεις του αρώματος και οι συγκεντρώσεις τους έχουν χρησιμοποιηθεί ως δείκτες για την τυπικότητα σε διάφορες ποικιλίες σταφυλιού [21,22], ενώ παράλληλα, το αρωματικό προφίλ έχει χρησιμοποιηθεί και ως απόδειξη για την αναγνώριση μιας γεωγραφικής περιοχής ως ιδιαίτερης και μοναδικής, για ορισμένες ποικιλίες [23]. Το αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη χρήση αεριοχρωματογραφίας, με σκοπό την επαλήθευση της γνησιότητας, είναι εμφανές από την εφαρμογή της και σε άλλα αλκοολούχα ποτά [24].

Επιπλέον, οι πτητικές ενώσεις του αρώματος οίνου έχουν καθιερωθεί ως ένα αναλυτικό εργαλείο για τη διαφοροποίηση των οίνων ανάλογα με την ποικιλία του σταφυλιού από την οποία έχουν προέρθει [25], ένα εργαλείο που μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση οίνων από διαφορετικές χώρες προέλευσης. Τα δεδομένα που παράγονται από τον προσδιορισμό του αρωματικού προφίλ των οίνων θεωρούνται αξιόπιστα για τον προσδιορισμό της προέλευσης των σταφυλιών του κάθε οίνου [26], ενώ μπορούν επίσης να χρησιμεύσουν ως αξιόπιστος δείκτης αναγνώρισης οίνων από διαφορετικές Προστατευόμενες Ονομασίες Προέλευσης [27]. Τα προαναφερθέντα αναλυτικά εργαλεία μπορούν να εφαρμοστούν σε λευκούς, ροζέ και ερυθρούς οίνους, γεγονός που αυξάνει το πεδίο εφαρμογής τους, άρα και τη σημασία τους.

1.3. Η Υπάρχουσα Κατάσταση Μεθόδων Προσδιορισμού Πτητικών Ενώσεων του Αρώματος

Έχουν αναπτυχθεί και επικυρωθεί αρκετές μέθοδοι για τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων του αρώματος του οίνου. Οι περισσότερες από τις μεθόδους εκχύλισης που αναπτύχθηκαν ήταν υγρού-υγρού (“liquid-liquid”) [28] ή με χρήση στηλών εκχύλισης στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction – SPE) [29]. Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αεριοχρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC-FID) [30], αεριοχρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS) [28,31] αεριοχρωματογραφία- διαδοχική φασματομετρία μάζας (GC-MS/MS) [29,32].

Οι ανεπτυγμένες μέθοδοι διαθέτουν αυξημένο κόστος για τα εργαστήρια. Πιο συγκεκριμένα, οι στήλες SPE αυξάνουν το κόστος της ανάλυσης, αφού αυξάνεται το κόστος αναλωσίμων, αλλά και το εργατικό κόστος του εργαστηρίου. Οι μέθοδοι εκχύλισης υγρού-υγρού χρησιμοποιούν μεγάλους όγκους αντιδραστηρίων που αυξάνουν επίσης το κόστος της ανάλυσης. Η χρήση δευτεριωμένων αναλόγων ως εσωτερικών προτύπων είναι μια περίπλοκη και δαπανηρή διαδικασία.

Άλλες δυσκολίες των μεθόδων σχετίζονται με την ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων και με τα όρια ποσοτικοποίησης. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούν GC-FID έχουν προβλήματα ταυτοποίησης των πτητικών ενώσεων, με αποτέλεσμα να συνδυάζονται με GC-MS για την αναγνώριση των πτητικών ενώσεων [30], γεγονός που αυξάνει το κόστος και την πολυπλοκότητα. Οι μέθοδοι GC-MS έχουν λύσει τη δυσκολία ταυτοποίησης, αλλά διαθέτουν σχετικά υψηλά όρια ανίχνευσης (LODs) και όρια ποσοτικοποίησης (LOQs) για αρκετές ενώσεις.

Οι υπάρχουσες μέθοδοι επικεντρώνονται σε συγκεκριμένες κατηγορίες πτητικών ενώσεων του αρώματος, όπως ενώσεις που σχετίζονται με τον φρουτώδη χαρακτήρα, με ελαττώματα του οίνου, εστέρες ή αρώματα προερχόμενα από το ξύλο. Οι αναπτυχθείσες μέθοδοι περιλαμβάνουν συνήθως έναν περιορισμένο αριθμό ενώσεων.

Οι μέθοδοι GC-MS/MS που αναπτύχθηκαν, αν και έχουν λύσει τα προβλήματα των ορίων ποσοτικοποίησης και της ταυτοποίησης των ενώσεων, περιλαμβάνουν – και αυτές – ένα μικρό αριθμό ενώσεων για προσδιορισμό. Ένα επιπλέον έλλειμμα στις υπάρχουσες μελέτες με GC-MS/MS είναι η έλλειψη λεπτομερούς περιγραφής για τη μεθοδολογία εύρεσης του ζεύγους θραυσμάτων που θα χρησιμοποιηθεί για κάθε ένωση, στο πρώτο και στο τρίτο τετράπολο. Η μεθοδολογία εύρεσης των θραυσμάτων είναι ιδιαίτερα κρίσιμη στην ανάπτυξη μίας αναλυτικής μεθόδου με χρήση GC-MS/MS, αφού δίνει τη δυνατότητα σε άλλους ερευνητές να επεκτείνουν και να εμπλουτίσουν μία υπάρχουσα μέθοδο.

1.4. Οργανοληπτικές Δοκιμές σε Ερευνητικές Εργασίες

Η σημασία του οίνου ως καταναλωτικό προϊόν διαφαίνεται και από την πληθώρα μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί στο πεδίο της έρευνας καταναλωτή [4,6,7]. Οι συγκεκριμένες έρευνες καταναλωτή συνδέονται με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, όπως έχουν αξιολογηθεί από έμπειρους δοκιμαστές [3]. Η διαδικασία σύγκρισης της οργανοληπτικής αξιολόγησης ενός προϊόντος μεταξύ καταναλωτών και εκπαιδευμένων δοκιμαστών βρίσκει εφαρμογή και σε άλλα προϊόντα πέραν του οίνου [33].

Η αξία της οργανοληπτικής αξιολόγησης ενός οίνου δεν περιορίζεται μόνο στην αγορά, αλλά παρουσιάζει σημαντικό ενδιαφέρον και για τη δημιουργία του. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός οίνου μπορούν να επηρεαστούν από την ποικιλία σταφυλιού [34], την περιοχή καλλιέργειας του σταφυλιού, την εσοδεία, τον τύπο του εδάφους και τις οινοποιητικές πρακτικές [35,36]. Ειδικότερα για τις οινοποιητικές πρακτικές, μελέτες έχουν διενεργηθεί για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά οίνων με διαφορετική σύνθεση προανθοκυανιδινών [37], με ωρίμαση με προσθήκη δρύινων ξυλοθραυσμάτων [1,38], όπως και κατά τη διάρκεια της παλαίωσης στη φιάλη [39]. Επιπλέον, μελέτες έχουν επιτύχει να κατηγοριοποιήσουν οίνους ανά περιοχή καλλιέργειας με κριτήριο τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους [39, 40]. Είναι σαφές, ότι η οργανοληπτική ανάλυση είναι χρήσιμη για τους οινολόγους και τους οινοποιούς, αφού οι οινοποιητικές πρακτικές [41,42], αλλά και οι περιοχές καλλιέργειας είναι σε θέση να επηρεάσουν σημαντικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Παράλληλα, μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο κατά τις τελικές αναμίξεις οίνων για την δημιουργία του τελικού προϊόντος.

Οι έρευνες σε οίνο διαφοροποιούνται σημαντικά σε σχέση με τη μέθοδο οργανοληπτικής δοκιμής που αξιοποιούν. Πιο συγκεκριμένα, έχουν χρησιμοποιηθεί τριγωνικές δοκιμές [42], δοκιμές κατάταξης [35], οργανοληπτικές δοκιμές περιγραφικού προφίλ με ασυνεχείς κλίμακες τριών σημείων, πέντε σημείων και επτά σημείων [1,39], μέθοδοι συχνότητας αναφοράς χαρακτηριστικών (frequency of attribute citation method) [34], οργανοληπτικές δοκιμές περιγραφικού προφίλ (sensory descriptive profile) με συνεχή κλίμακα 0-10 [37,43,44]. Στις έρευνες με

ασυνεχείς κλίμακες ή με συνεχή κλίμακα, ο μέσος όρος είναι η πιο διαδεδομένη μεθοδολογία για τον υπολογισμό της τιμής κάθε οργανοληπτικής παραμέτρου [1,37,39,43]. Στις μεθόδους χρησιμοποιούνται, ως επί το πλείστον, έμπειροι δοκιμαστές οίνου, οι οποίοι υπόκεινται σε περαιτέρω εκπαίδευση κατά την διαδικασία της έρευνας. Η μεθοδολογία εκπαίδευσης περιγράφεται σύντομα και συνήθως δεν δίνονται αναλυτικές λεπτομέρειες για αυτήν. Για τη στατιστική επικύρωση των περιγραφικών μεθόδων που έχουν αναπτυχθεί και βασίζονται στη συχνότητα αναφοράς (citation frequency-based descriptive methods) χρησιμοποιείται κυρίως ο δείκτης αναπαραγωγιμότητας (Reproducibility Index, Ri) [45,46,47,48]. Πρόκειται για έναν δείκτη που αξιοποιεί τον αριθμό των περιγραφικών παραμέτρων που επιλέγει ο δοκιμαστής σε δύο διαφορετικές δοκιμές του ίδιου δείγματος.

Η σύνθεση της ομάδας οργανοληπτικών δοκιμών είναι ιδιαίτερα κρίσιμη για την απόδοσή της. Για το λόγο αυτό, έχουν διενεργηθεί έρευνες σχετικά με τη σύγκριση διαφορετικών ομάδων δοκιμαστών. Πιο συγκεκριμένα, έχουν γίνει συγκρίσεις μεταξύ ομάδας επαγγελματιών οινοχόων και ομάδας αποτελούμενης από εκπαιδευμένους δοκιμαστές για περιγραφική ανάλυση [49]. Οι μελέτες για σύγκριση της απόδοσης διαφορετικών ομάδων οργανοληπτικών δοκιμών δεν περιορίζεται μόνο στον οίνο, αλλά έχει εφαρμοστεί και στον τομέα της οργανοληπτικής ανάλυσης σύνθετων αρωμάτων με σύγκριση εκπαιδευμένων και μη εκπαιδευμένων δοκιμαστών [50], καθώς και σε τρόφιμα με σύγκριση της απόδοσης ομάδας εκπαιδευμένων δοκιμαστών και καταναλωτών [33].

1.5. Έγγραφα του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) και του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (OIV) Σχετικά με τις Οργανοληπτικές Δοκιμές

Η μεγάλη σημασία της οργανοληπτικής ανάλυσης καταδεικνύεται από την πληθώρα των προτύπων που έχει εκδώσει ο Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης (International Organization for Standardization, ISO) σχετικά. Σε αυτά τα πρότυπα περιγράφονται γενικές κατευθύνσεις για την επιλογή των δοκιμαστών, με χρήση δοκιμών για οπτικές παραμέτρους, για αγευσία και για ανοσμία, αλλά και για την εκπαίδευση και την παρακολούθηση της απόδοσης των επιλεγμένων δοκιμαστών [51]. Επιπλέον, περιγράφονται οδηγίες για προσδιορισμό των κατωφλιών αντίληψης [52], για μεθόδους σχετικά με την διερεύνηση της ευαισθησίας γεύσης [53], για τη μεθοδολογία σχετικά με την εκπαίδευση των δοκιμαστών στην ανίχνευση και αναγνώριση αρωμάτων [54]. Παράλληλα, τα πρότυπα αναφέρονται και στα επόμενα στάδια μετά την εκπαίδευση, αφού περιγράφουν οδηγίες για την καθιέρωση ενός οργανοληπτικού προφίλ [55], καθώς και κατευθύνσεις για την παρακολούθηση της απόδοσης ενός οργανοληπτικού πάνελ ποσοτικού προσδιορισμού [56]. Τα πρότυπα αυτά έχουν αφομοιωθεί από άλλα πρότυπα, επίσημα έγγραφα ή κανονισμούς της Ευρωπαϊκής Ένωσης σχετικά με την οργανοληπτική ανάλυση συγκεκριμένων προϊόντων.

Ο Διεθνής Οργανισμός Αμπέλου και Οίνου (OIV) έχει δημιουργήσει έγγραφο ως ανασκόπηση στην οργανοληπτική ανάλυση οίνου (Review on sensory analysis of wine), στο οποίο έχουν αφομοιωθεί πολλά στοιχεία από τα πρότυπα ISO [57]. Το συγκεκριμένο έγγραφο αποτυπώνει τη συμφωνία στην οποία έφτασαν τα μέλη της ομάδας ειδικών της Υποεπιτροπής Μεθόδων Ανάλυσης του OIV και αποτελεί μία πρόταση για την επιλογή

και την εκπαίδευση δοκιμαστών για οργανοληπτική ανάλυση οίνου. Διαθέτει πολύ αναλυτικές και ακριβείς οδηγίες για μία σειρά από δοκιμές, όπως δοκιμές για προσδιορισμό ανικανοτήτων και για προσδιορισμό οργανοληπτικής αντίληψης. Το έγγραφο καλύπτει μία σειρά από θέματα, όπως η περιγραφή αρωμάτων, η ταυτοποίηση μειονεκτημάτων στον οίνο με χρήση διαλυμάτων, καθώς και η ανίχνευση των πιο κοινών ελαττωμάτων σε οίνο. Επιπλέον, περιλαμβάνει οδηγίες για την οργανοληπτική αξιολόγηση διαφορετικών τύπων τανίνης, αλλά και για τον έλεγχο της απόδοσης τόσο του μεμονωμένου δοκιμαστή, όσο και της ομάδας συνολικά. Στο συγκεκριμένο έγγραφο παρουσιάζεται μία λίστα των κύριων ελαττωμάτων των οίνων – οπτικών, οσφρητικών, αφής και γευστικών – προκειμένου να αξιοποιηθούν στην εκπαίδευση των δοκιμαστών. Παρόλο που το έγγραφο παρέχει λεπτομερείς οδηγίες σε ορισμένους τομείς, όπως η αρχική εκπαίδευση, σε ένα μεγάλο μέρος του παρέχει γενικές οδηγίες, οι οποίες απαιτούν εξειδίκευση και επέκτασή τους. Επιπλέον, συνδέει τη διαπίστευση για την οργανοληπτική ανάλυση οίνου με τις σχετικές εργασίες που έχουν πραγματοποιηθεί στο πεδίο του παρθένου ελαιολάδου.

1.6. Οργανοληπτικές Δοκιμές σε Ελαιόλαδο, Γάλα και Γαλακτοκομικά Προϊόντα

Το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (International Olive Council, IOC) έχει δημοσιεύσει σειρά προτύπων σχετικά με την οργανοληπτική ανάλυση ελαιολάδου. Αυτά τα πρότυπα περιγράφουν τη μέθοδο οργανοληπτικής δοκιμής παρθένου ελαιολάδου [58], και επιπλέον παρέχουν πολύ λεπτομερείς κατευθύνσεις για την επίτευξη των απαιτήσεων του προτύπου διαπίστευσης, ISO 17025, από τα εργαστήρια

οργανοληπτικών δοκιμών ελαιολάδου [59]. Ο ΙΟC έχει εκδώσει επίσης οδηγό για την επιλογή και εκπαίδευση δοκιμαστών, ο οποίος περιλαμβάνει αναλυτικές οδηγίες για την εκπαίδευσή τους, αλλά και συγκεκριμένους στόχους για την αποδοχή ή απόρριψη του υποψήφιου δοκιμαστή [60]. Επιπλέον, οι οδηγίες εσωτερικού ελέγχου ποιότητας για εργαστήρια οργανοληπτικών δοκιμών [61] περιλαμβάνουν λεπτομερείς οδηγίες και παραδείγματα, τόσο για τον έλεγχο της απόδοσης μεμονωμένων δοκιμαστών, όσο και της ομάδας δοκιμών στο σύνολό της. Αυτός ο έλεγχος περιλαμβάνει την χρήση διπλότυπων δειγμάτων και τους υπολογισμούς του Αριθμού Ακρίβειας (Precision Number) και του Αριθμού Απόκλισης (Deviation Number), με συγκεκριμένα κριτήρια αποδοχής για τις δύο στατιστικές παραμέτρους. Τα συνοδευτικά πρότυπα περιλαμβάνουν ένα γενικό βασικό λεξιλόγιο [62], καθώς και μία μέθοδο για την οργανοληπτική αξιολόγηση του εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου, η οποία εφαρμόζεται στα ελαιόλαδα ονομασίας προέλευσης [63].

Ιδιαίτερα ανεπτυγμένη είναι και η βιβλιογραφία για την οργανοληπτική ανάλυση στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Για την συγκεκριμένη κατηγορία προϊόντων, ο Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης (ISO) έχει εκδώσει τρία πρότυπα. Τα πρότυπα αυτά περιγράφουν γενικές κατευθύνσεις για την στρατολόγηση, επιλογή, εκπαίδευση και παρακολούθηση των δοκιμαστών [64]. Επιπλέον, συστήνουν μεθόδους για την οργανοληπτική αξιολόγηση κάθε κατηγορίας προϊόντος, προτείνοντας παραμέτρους για κάθε προϊόν [65]. Επιπροσθέτως, τα συγκεκριμένα πρότυπα ISO περιγράφουν κατευθύνσεις για μία μέθοδο αξιολόγησης της συμμόρφωσης ενός προϊόντος με συγκεκριμένες προδιαγραφές, συμπεριλαμβανομένων των

οδηγιών για τη δημιουργία μίας σχετικής έκθεσης ανάλυσης [66]. Πιο αναλυτικά, το πρότυπο για τους δοκιμαστές [64] περιγράφει με μεγάλη λεπτομέρεια δοκιμές για τη βασική αναγνώριση οσμής και γεύσης, καθώς και δοκιμές για εκπαίδευση και αξιολόγηση των δοκιμαστών σε διαφορετικές κατηγορίες προϊόντων. Παράλληλα, θέτει συγκεκριμένους στόχους βαθμολογίας για την επιλογή ή την απόρριψη κάθε δοκιμαστή. Οι δοκιμές αξιολόγησης των δοκιμαστών είναι τόσο οσφρητικές, όσο και γευστικές, περιλαμβάνουν θετικές παραμέτρους και ελαττώματα.

1.7. Έρευνες Σχετικά με Δημιουργία Παρόμοιων Πάνελ σε Οίνο

Και στον οίνο, πλέον, έχει αρχίσει να διατυπώνεται με σαφήνεια η ανάγκη για δημιουργία παρόμοιων ομάδων οργανοληπτικής ανάλυσης, με μεθοδολογική εναρμόνισή τους.

Η ανάγκη αυτή οδήγησε τους A. Gomis-Bellmunt και συνεργάτες σε μελέτη, που είχε ως σκοπό να παρέχει έναν λεπτομερή οδηγό για την επιλογή και εκπαίδευση των δοκιμαστών, με έμφαση στις γευστικές παραμέτρους οίνων Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης [44]. Η συγκεκριμένη μελέτη παρέχει λεπτομερείς οδηγίες για την εκπαίδευση υποψήφιων δοκιμαστών στη χρήση συνεχούς κλίμακας, με χρήση προτύπων, για ορισμένες γευστικές παραμέτρους, παρέχοντας τις σχετικές συγκεντρώσεις. Η μελέτη αυτή, όμως, δεν περιλαμβάνει οπτικές και οσφρητικές παραμέτρους. Επιπλέον, δεν ασχολείται με τον έλεγχο απόδοσης του μεμονωμένου δοκιμαστή και της ομάδας συνολικά.

1.8. Ωρίμαση σε Βαρέλια και Σχετικές Έρευνες με Έμφαση στο Άρωμα Οίνου

Η ωρίμαση των οίνων είναι μία πολύ σημαντική διαδικασία για την εξέλιξή τους και για τη βελτίωση της ποιότητάς τους. Ο πιο διαδεδομένος τρόπος ωρίμασης είναι η παραμονή του οίνου σε δρύινα βαρέλια, η οποία επηρεάζει σημαντικά την σύνθεσή του. Η σημασία της ωρίμασης σε δρύινα βαρέλια διαφαίνεται και από την πληθώρα των μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με αυτήν. Οι T. Garde-Cerdán και συνεργάτες μελέτησαν την επιρροή της σύνθεσης του οίνου, του χρόνου ωρίμασης, της γεωγραφικής προέλευσης και του τύπου δρύινου βαρελιού, στην συσσώρευση ενώσεων δρυός σε ερυθρούς οίνους που ωριμάζουν σε δρύινα βαρέλια [67]. Σε άλλη μελέτη, πραγματοποιήθηκε σύγκριση νέων βαρελιών και βαρελιών μίας χρήσης, σχετικά με την εκχύλιση και την εξέλιξη των πτητικών ενώσεων προερχόμενων από την δρυ [68]. Οι L. J. Perez-Prieto και συνεργάτες μελέτησαν την επίδραση της προέλευσης της δρυός, του όγκου και της ηλικίας του βαρελιού στην πτητική σύνθεση ενός ερυθρού οίνου μετά από έξι μήνες ωρίμασης [69]. Η προέλευση του ξύλου δρυός από το οποίο δημιουργήθηκε το βαρέλι [70] ή ο όγκος του βαρελιού αποτέλεσαν επίσης θέματα έρευνας [71]. Η πληθώρα μελετών σχετικά με την ωρίμαση σε βαρέλι γίνεται αντιληπτή και από σχετικές επιστημονικές ανασκοπήσεις [72].

Μία σειρά μελετών έχει ασχοληθεί με την κινητική της εκχύλισης των πτητικών ενώσεων που σχετίζονται με το δρύινο βαρέλι. Για παράδειγμα, οι P. J. Spillman και συνεργάτες μελέτησαν την εκχύλιση των πτητικών ενώσεων δρυός, χρησιμοποιώντας συνθετικό οίνο σε νέα δρύινα βαρέλια για μία περίοδο δύο ετών [73]. Αντίστοιχες μελέτες έχουν διενεργηθεί και με ωρίμαση οίνου σε δρύινα βαρέλια, ώστε να μελετηθεί

η κινητική της εκχύλισης των πτητικών ενώσεων δρυός και εστέρων [74], ή της ένωσης vanillin ειδικότερα [75]. Αρκετοί ερευνητές αναγνώρισαν την ανάγκη να αξιοποιηθούν τα δεδομένα της κινητικής εκχύλισης των πτητικών ενώσεων του αρώματος, ώστε να γίνει πρόβλεψη των αλλαγών στη σύνθεση του οίνου που παλαιώνει σε βαρέλια. Με αυτό το σκεπτικό, μελέτες έθεσαν στόχο τον προσδιορισμό της ύπαρξης μοτίβων [14] ή την ανάπτυξη ενός μοντέλου που θα εφαρμοστεί στη μελέτη της εκχύλισης των πτητικών ενώσεων [76].

1.9. Ωρίμαση με Χρήση Ξυλοθραυσμάτων Δρυός και Συγκριτικές Έρευνες με Παλαίωση σε Βαρέλια

Το κόστος της διαδικασίας ωρίμασης των οίνων σε δρύινα βαρέλια είναι υψηλό. Για το λόγο αυτό, αναπτύχθηκαν νέες τεχνικές ωρίμασης, όπως η ωρίμαση με χρήση ξυλοθραυσμάτων δρυός. Η συγκεκριμένη οινολογική πρακτική είναι εγκεκριμένη από τον ΟΙV. Πιο συγκεκριμένα, τα κομμάτια ξύλου (από είδη *Quercus*) θα πρέπει να έχουν κατάλληλο μέγεθος, μπορεί να είναι ψημένα ή καμένα αλλά όχι καρβουνιασμένα, ενώ η ποσότητα των κομματιών δρυός που θα χρησιμοποιηθεί στον οίνο δεν καθορίζεται αλλά είναι στη διακριτική ευχέρεια του οινοποιού [77]. Στην Ευρώπη, η χρήση κομματιών ξύλου δρυός, ως εγκεκριμένη οινολογική πρακτική, επιτράπηκε για πρώτη φορά το 2006, σύμφωνα με τον «Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2165/2005 του Συμβουλίου» [78]. Σήμερα ο ισχύον κανονισμός που ρυθμίζει την προσθήκη ξυλοθραυσμάτων στον οίνο είναι ο «Κατ' εξουσιοδότηση Κανονισμός (ΕΕ) 2019/934 της Επιτροπής» [79].

Η νέα τεχνολογία ωρίμασης με χρήση ξυλοθραυσμάτων ώθησε πολλούς ερευνητές να πραγματοποιήσουν συγκριτικές μελέτες για οίνους

ωριμασμένους σε βαρέλια σε σχέση με οίνους ωριμασμένους με προσθήκη κομματιών δρυός [80,81,82,83]. Οι συγκριτικές μελέτες δεν περιορίστηκαν όμως μόνο σε σχέση με την ωρίμαση σε βαρέλια, αλλά συμπεριλήφθηκαν και άλλες τεχνολογίες ωρίμασης, όπως δρύινες σανίδες [84], κληματόβεργες [85,86], μικρο-οξυγόνωση [87]. Οι Yang Tao και συνεργάτες αποτύπωσαν σε ανασκόπηση την πληθώρα των συγκριτικών μελετών που αφορούν σε διαφορετικές τεχνολογίες ωρίμασης οίνου [88].

1.10. Έρευνες με Χρήση Ξυλοθραυσμάτων Δρυός Σχετικά με το Άρωμα Οίνου

Πέραν από τις συγκριτικές δοκιμές μεταξύ των τεχνολογιών ωρίμασης, πολυάριθμες είναι και οι μελέτες που εστιάζονται αποκλειστικά στα ξυλοθραύσματα δρυός. Οι A.M. Martínez-Gil και συνεργάτες πραγματοποίησαν συγκριτικές δοκιμές για κομμάτια δρυός διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης [89], ενώ οι M. Tavares και συνεργάτες σύγκριναν την επίδραση στον οίνο ξυλοθραυσμάτων κερασιάς, ακακίας και δρυός [90].

Οι περισσότερες μελέτες για την ωρίμαση του οίνου με κομμάτια δρυός αφορούν στο χρόνο επαφής του ξύλου με τον οίνο, ο οποίος θεωρείται ιδιαίτερα κρίσιμος για την ποιότητα του παραγόμενου οίνου [91,92,93]. Η δοσολογία των ξυλοθραυσμάτων έχει επίσης αποτελέσει ιδιαίτερο σημείο ενδιαφέροντος για τους ερευνητές, αφού επηρεάζει σημαντικά τον χαρακτήρα του οίνου, όπως αποδεικνύεται από την έρευνα των B. Gordillo και συνεργατών [93]. Άλλη σημαντική παράμετρος είναι τα επίπεδα καψίματος. Οι B. Fernández de Simon και συνεργάτες συμπέραναν ότι η ένταση καψίματος στη σύνθεση των πτητικών ενώσεων είχε σημαντικότερη επιρροή από τον διαφορετικό τρόπο ωρίμασης του

ξύλου [84]. Οι D.I. Stegarus και συνεργάτες δήλωσαν ότι οι πτητικές ενώσεις που εκχυλίζονται από το ξύλο εξαρτώνται από το βαθμό καψίματος και τη διάρκεια επαφής με τον οίνο [81]. Η ανάγκη για βελτιστοποίηση της δόσης των ξυλοθραυσμάτων και του χρόνου εκχύλισης αποτυπώνεται στην έρευνα των B.Gordillo και συνεργατών, οι οποίοι εργάστηκαν με δύο διαφορετικές δόσεις κομματιών δρυός σε δύο διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης [93]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει και η σύγκριση πειραματικών οίνων με εμπορικά κρασιά ως προς το πτητικό και το οργανοληπτικό προφίλ τους [94].

Η ποικιλία σταφυλιού από την οποία προέρχεται ο οίνος είναι μία ακόμη κρίσιμη παράμετρος, όπως υπογραμμίζεται από τη μελέτη των A. Baiano και συνεργατών σχετικά με την επίδραση της επεξεργασίας δύο διαφορετικών ποικιλιών, των Aglianico και Montepulciano, με δρύινα ξυλοθραύσματα [95]. Παρόμοια συμπεράσματα προκύπτουν και από άλλη έρευνα, αφού οι J. Laqui-Estaña και συνεργάτες μελέτησαν την επίδραση της ποικιλίας στη φαινολική σύνθεση κατά την ωρίμαση και παρατήρησαν πολυάριθμες διαφορές ανάμεσα σε διαφορετικές ποικιλίες υπό τις ίδιες συνθήκες ωρίμασης [80]. Τα συμπεράσματα αυτά καταδεικνύουν την αναγκαιότητα μελέτης της κάθε ποικιλίας ενδιαφέροντος ξεχωριστά, αφού η προσπάθεια μεταφοράς αποτελεσμάτων αντίστοιχων ερευνών σε άλλες ποικιλίες ενέχει μεγάλη αβεβαιότητα.

1.11. Έρευνες σε Αγιωργίτικο με Χρήση Ξυλοθραυσμάτων Δρυός

Η ποικιλία Αγιωργίτικο είναι μία από τις πιο διαδεδομένες ποικιλίες οινοποιήσιμου σταφυλιού στην Ελλάδα, χαρακτηρίζεται ως πολυδυναμική και συνδέεται σημαντικά με τους οίνους Προστατευόμενης

Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) Νεμέα. Παρόλα αυτά, είναι λίγες οι μελέτες που έχουν ασχοληθεί με την διαδικασία ωρίμασης Αγιωργίτικου με την προσθήκη κομματιών δρυός. Μία τέτοια έρευνα διεξήχθη από τους Koussissi και συνεργάτες, οι οποίοι πραγματοποίησαν συγκριτική μελέτη εστιασμένη σε ερυθρό οίνο από Αγιωργίτικο. Στη συγκεκριμένη μελέτη, ο οίνος ωρίμασε σε ανοξείδωτες δεξαμενές, είτε χωρίς προσθήκη ξύλου, είτε με δρύινα κομμάτια σε τρία διαφορετικά επίπεδα καψίματος, ενώ στη συνέχεια συγκρίθηκε με οίνο ωριμασμένο σε αμερικάνικο δρύινο βαρέλι [38]. Η διαδικασία παλαίωσης διήρκεσε 32 ημέρες.

Σε σχέση με το Αγιωργίτικο, άλλη μελέτη που διεξήχθη από την Μ. Kyraleou και συνεργάτες, ερεύνησε τη διαφοροποίηση οίνων που έχουν υποστεί ωρίμαση με προσθήκη ξυλοθραυσμάτων [1]. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποίησαν πέντε διαφορετικούς τύπους ξυλοθραυσμάτων: αμερικανικά, γαλλικά, σλαβονικά, ακακίας και ένα μίγμα αμερικανικής και γαλλικής δρυός, τα οποία εφαρμόστηκαν για μία περίοδο τριών μηνών. Όλοι οι τύποι ξυλοθραυσμάτων ήταν ενός βαθμού καψίματος και η προσθήκη έγινε σε μία και μόνη δόση. Η μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η επίδραση των κομματιών ξύλου στον παραγόμενο οίνο εξαρτάται από τον τύπο του ξύλου, αλλά και από τον χρόνο επαφής με τον οίνο.

Οι υπάρχουσες έρευνες που αφορούν σε Αγιωργίτικο ωριμασμένο με χρήση ξυλοθραυσμάτων δεν έχουν μελετήσει την εξέλιξη του αρώματος του παραγόμενου οίνου σε μία διάρκεια τριών μηνών, διερευνώντας την επίδραση του διαφορετικού τύπου καψίματος ή της διαφορετικής δοσολογίας προσθήκης ξυλοθραυσμάτων.

ΣΚΟΠΟΣ

2. ΣΚΟΠΟΣ

2.1. Ανάπτυξη Αναλυτικής Μεθόδου Προσδιορισμού Πτητικών Ενώσεων με GC-MS/MS

Το αρωματικό προφίλ ενός οίνου μπορεί να αξιοποιηθεί από την αγορά για την αντιμετώπιση της οινικής απάτης, για την διαφοροποίηση οίνων από διαφορετικές ποικιλίες ή από διαφορετικές περιοχές, όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή. Επιπλέον, μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο για τους οιολόγους και τους οινοποιούς, αφού μπορεί να τους οδηγήσει σε αξιολόγηση των οιολογικών ή καλλιεργητικών πρακτικών, ώστε να δημιουργήσουν το επιθυμητό άρωμα στον παραγόμενο οίνο. Ακόμη, όμως, και να τους βοηθήσει στην ανάμιξη οίνων κατά τη δημιουργία του τελικού προϊόντος. Και βέβαια, το αρωματικό προφίλ του οίνου μπορεί να αξιοποιηθεί από την οινική βιομηχανία στην κατανόηση των προτιμήσεων του καταναλωτικού κοινού. Γίνεται, λοιπόν, σαφές ότι ο κόσμος του οίνου θα μπορούσε να επωφεληθεί σημαντικά, εάν αναπτυχθεί μία απλή και φθηνή σχετικά μέθοδος ανάλυσης για το αρωματικό προφίλ του οίνου.

Σκοπός, συνεπώς, της παρούσας μελέτης είναι να αναπτυχθεί και να επικυρωθεί μία νέα απλή μέθοδος για τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων του αρώματος του οίνου.

Στόχος είναι η νέα μέθοδος να χρησιμοποιεί μικρούς όγκους αντιδραστηρίων, χωρίς χρονοβόρα βήματα και να προσδιορίζει έναν σημαντικό αριθμό πτητικών ενώσεων σε μία και μόνη δοκιμή, χρησιμοποιώντας αεριοχρωματογραφία-διαδοχική φασματομετρία μάζας (GC-MS/MS). Τα όρια προσδιορισμού της κάθε ένωσης να είναι μικρότερα ή ίσα με προγενέστερες μεθόδους, ενώ παράλληλα ο χρόνος ολοκλήρωσης κάθε χρωματογραφικής ανάλυσης να είναι μικρότερος από

ό,τι σε άλλες μελέτες, αυξάνοντας την ημερήσια ικανότητα ανάλυσης δειγμάτων ενός εργαστηρίου. Επιπλέον, η διαμόρφωση των αναλυτικών οργάνων - όπως στήλες και εισαγωγείς - να είναι τέτοια, ώστε η μέθοδος να είναι συμβατή με άλλες μεθόδους, γεγονός που θα διευκολύνει τα εργαστήρια ανάλυσης να την εντάξουν στη ρουτίνα τους, με αποτέλεσμα να υπάρξει ευκολότερη και ευρύτερη διάδοσή της.

Ένας επιπλέον στόχος είναι η ανάπτυξη μίας μεθοδολογίας εύρεσης του ζεύγους θραυσμάτων κάθε ένωσης, η οποία να είναι αποτελεσματική, ενώ η περιγραφή της να είναι σαφής και εύκολα κατανοητή. Η συγκεκριμένη μεθοδολογία να δύναται να αναπαραχθεί από άλλους ερευνητές για περαιτέρω διεύρυνση της συγκεκριμένης μεθόδου ή για ανάπτυξη άλλων αναλυτικών μεθόδων με χρήση GC-MS/MS.

Κατά την ανάπτυξη της μεθόδου, στόχος είναι να αξιοποιηθούν τεχνικές της αναλυτικής χημείας, που θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως «τεχνολογίες αιχμής», οι οποίες χρησιμοποιούνται σε μεθόδους προσδιορισμού και άλλων προϊόντων, όπως για παράδειγμα σε προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων φρούτων και λαχανικών. Σκοπός είναι η αξιοποίηση αυτή να βελτιώσει την ακρίβεια και την αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου, χωρίς τη χρήση δευτεριωμένων αναλόγων, μίας πολύ δύσκολης, δύσχρηστης και δαπανηρής μεθόδου προσδιορισμού.

Τέλος, να δημιουργηθεί ένα μοντέλο ερμηνείας και αξιοποίησης των αποτελεσμάτων της αναλυτικής μεθόδου, με συσχετίσή τους με αποτελέσματα οργανοληπτικών δοκιμών, ώστε να προσομοιάζουν στην ανθρώπινη απόκριση.

2.2. Δημιουργία μίας Τυποποιημένης Μεθόδου Οργανοληπτικής Ανάλυσης για τον Οίνο: Μεθοδολογία για Στρατολόγηση, Επιλογή, Εκπαίδευση και Παρακολούθηση των Δοκιμαστών

Ο σκοπός του συγκεκριμένου τμήματος της παρούσας μελέτης είναι να αναπτύξει μία τυποποιημένη μέθοδο οργανοληπτικής ανάλυσης οίνου, για οπτικές, οσφρητικές και γευστικές παραμέτρους βασιζόμενη στις προτάσεις του ΟΙV. Η μελέτη θα πρέπει να εφαρμόζει και να εξειδικεύει τις συγκεκριμένες προτάσεις, αλλά επιπλέον, να τις επεκτείνει, αξιοποιώντας τα πρότυπα που υπάρχουν για το παρθένο ελαιόλαδο, του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων, καθώς και άλλες έρευνες στον τομέα του οίνου.

Με τον τρόπο αυτό, η παρούσα μελέτη στοχεύει να περιγράψει μία λεπτομερή διαδικασία εκπαίδευσης, επιλογής και αξιολόγησης των δοκιμαστών, μία λεπτομερή περιγραφή της μεθόδου ανάλυσης, καθώς και να παρουσιάσει μία λεπτομερή μεθοδολογία ελέγχου της απόδοσης τόσο της ομάδας όσο και του κάθε δοκιμαστή. Η λεπτομερής περιγραφή σε όλες τις προαναφερθείσες διαδικασίες να συνοδεύεται με αναλυτική περιγραφή των διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται, με καθορισμένο σύστημα βαθμολόγησης για την επιλογή των δοκιμαστών και με θέσπιση συγκεκριμένων κριτηρίων αποδοχής της απόδοσης. Κύριος σκοπός είναι να δημιουργηθεί μία τυποποιημένη μέθοδος, η οποία να είναι εύκολα εφαρμόσιμη και επαναλήψιμη από άλλες ομάδες οργανοληπτικής ανάλυσης.

Παράλληλα, η μελέτη σκοπεύει να διεξάγει σύγκριση δύο ομάδων δοκιμαστών με την χρήση της αναπτυχθείσας μεθόδου, μίας διαπιστευμένης ομάδας για οργανοληπτική αξιολόγηση παρθένου ελαιολάδου, η οποία δεν έχει λάβει εκπαίδευση για οργανοληπτική

ανάλυση οίνου και μίας μη εκπαιδευμένης ομάδας δοκιμαστών. Στόχος είναι να αξιολογηθεί εάν οι ομάδες που συμμετέχουν στην οργανοληπτική αξιολόγηση του παρθένου ελαιολάδου μπορούν να αξιοποιηθούν ως ομάδες υποψήφιων δοκιμαστών για την οργανοληπτική ανάλυση οίνου, αυξάνοντας - ενδεχομένως - τις πιθανότητες για την τελική τους επιλογή.

Συνοψίζοντας, κύριος σκοπός είναι η συγκεκριμένη μελέτη να προσφέρει μία μέθοδο οργανοληπτικής ανάλυσης, που θα είναι εύκολα εφαρμόσιμη και επαναλήψιμη. Στόχος είναι, η μέθοδος αυτή να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο στους οινολόγους και στους οινοποιούς κατά τη διαδικασία παραγωγής του οίνου, αλλά και στο διεθνές εμπόριο των προϊόντων αυτών.

2.3. Ανάλυση Εμπορικών Προϊόντων ΠΟΠ Νεμέα: Προσδιορισμός Πτητικών Ενώσεων Αρώματος με Χρήση GC-MS/MS και Οργανοληπτική Ανάλυση Περιγραφικού Προφίλ.

Η ανάλυση εμπορικών προϊόντων ΠΟΠ Νεμέα με χρήση GC-MS/MS έχει αρχικό στόχο τη διερεύνηση των συγκεντρώσεων των αρωματικών πτητικών ενώσεων των οίνων από Αγιωργίτικο. Ο προσδιορισμός θα βοηθήσει στην καταγραφή της περιοχής τιμών που βρίσκονται οι συγκεντρώσεις κάθε ένωσης, αλλά και στον υπολογισμό του μέσου όρου συγκέντρωσης της κάθε ένωσης.

Παράλληλα, η μελέτη σκοπεύει να χρησιμοποιήσει το μέγεθος Ενεργή Τιμή Οσμής (Odor Active Value, OAV), προκειμένου να διερευνηθεί η σχέση των αρωμάτων που συνδέονται με το φρούτο, όπως εστέρες, ανώτερες αλκοόλες, σε αντιδιαστολή με τα αρώματα προερχόμενα από το βαρέλι.

Η αναπτυχθείσα μέθοδος οργανοληπτικής ανάλυσης θα εφαρμοστεί στα εμπορικά προϊόντα ΠΟΠ Νεμέα, προκειμένου να διερευνηθεί το οργανοληπτικό προφίλ τους. Αντιστοίχως με την ανάλυση με GC-MS/MS, η οργανοληπτική ανάλυση θα βοηθήσει στην καταγραφή της περιοχής τιμών που βρίσκεται η κάθε οργανοληπτική παράμετρος, αλλά και στον υπολογισμό του μέσου όρου όλων των προϊόντων για κάθε οργανοληπτική παράμετρο. Επιπλέον, θα γίνει σύγκριση των τιμών των οσφρητικών παραμέτρων φρουτώδες και άρωμα βαρελιού.

Επιπροσθέτως, η παρούσα μελέτη θα διερευνήσει την πιθανή διασύνδεση της τιμής λιανικής των προϊόντων ΠΟΠ Νεμέα με συγκεκριμένες οργανοληπτικές παραμέτρους.

Πέραν όλων των ανωτέρω, τα εμπορικά προϊόντα και η ανάλυσή τους θα αξιοποιηθούν για στατιστικούς σκοπούς της μελέτης. Με τη χρήση των αποτελεσμάτων των συγκεντρώσεων των πτητικών ενώσεων θα διερευνηθεί εάν η αναπτυχθείσα μέθοδος με GC-MS/MS παράγει αποτελέσματα αντίστοιχα της ανθρώπινης απόκρισης.

Τα αποτελέσματα των οργανοληπτικών αναλύσεων των προϊόντων θα χρησιμοποιηθούν για την διερεύνηση της διακριτικής ικανότητας της αναπτυχθείσας τυποποιημένης οργανοληπτικής μεθόδου.

2.4. Ωρίμαση Οίνου από Αγιωργίτικο με Χρήση Ξυλοθραυσμάτων

Στο συγκεκριμένο τμήμα της παρούσας μελέτης, στόχος της έρευνας είναι να είναι να εξελίξει τις ήδη υπάρχουσες μελέτες σε Αγιωργίτικο, σχετικά με την ωρίμασή του με προσθήκη κομματιών ξύλου. Για το σκοπό αυτό, λήφθηκε υπόψη η διεθνής βιβλιογραφία και οι παράμετροι που έχουν μελετηθεί σε οίνους από άλλες ποικιλίες σταφυλιού.

Επιλέχθηκε ένας τύπος ξυλοθραυσμάτων, ο πλέον διαδεδομένος, από δρυ. Οι μεταβλητές του πειράματος είναι ο τύπος καψίματος, η δοσολογία και ο χρόνος επαφής. Θα χρησιμοποιηθούν τρεις τύποι καψίματος (χαμηλός, μεσαίος και υψηλός), τρεις δοσολογίες κομματιών δρυός, σε μία περίοδο τριών μηνών, όπου θα μελετηθεί η κινητική των πτητικών ενώσεων του αρώματος οίνου ανά μήνα. Οι πειραματικοί οίνοι θα υποβληθούν σε προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων με GC-MS/MS και σε οργανοληπτική ανάλυση, σύμφωνα με τις αναπτυχθείσες μεθόδους.

Σκοπός της έρευνας είναι να μελετήσει την ωρίμαση της ποικιλίας Αγιωργίτικο και να συγκρίνει τα αποτελέσματα με μελέτες σε οίνους από άλλες ποικιλίες σταφυλιού. Επιπλέον, να συγκρίνει τα αποτελέσματα των πειραματικών οίνων με τα εμπορικά προϊόντα ΠΟΠ Νεμέα.

Τέλος, να προσφέρει, από πρακτικής άποψης, χρήσιμες πληροφορίες προς τους οιολόγους και τους οινοποιούς, ώστε να αξιοποιηθούν κατάλληλα ανάλογα με τη στόχευση που έχουν για κάθε προϊόν τους.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. Οίνοι ΠΟΠ Νεμέα

Είκοσι πέντε (25) εμπορικοί οίνοι ΠΟΠ Νεμέα, οι οποίοι αγοράστηκαν από το Σύνδεσμο Οινοποιών Νεμέας (Σ.Ο.Ν.), χρησιμοποιήθηκαν για τους σκοπούς της έρευνας. Η τιμή των οίνων κυμαινόταν από πέντε ευρώ έως τριάντα ευρώ ανά φιάλη. Οι εσοδείες ήταν του 2015 και του 2016.

3.2. Χημικά και Αντιδραστήρια

Νερό (για UHPLC, supergradient) και dichloromethane (για pesticide analysis, 99,8%) αγοράστηκαν από τον οίκο PanReac AppliChem ITW Reagents (Barcelona, Spain). Ammonium sulfate ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), sodium sulfate Na_2SO_4 , και phenol ($\geq 99.5\%$) αγοράστηκαν από τον οίκο Penta Chemicals Unlimited (Prague, Czech Republic). Absolute ethanol ($\geq 99.8\%$) αγοράστηκε από τον οίκο Honeywell (Charlotte, NC, USA) και tartaric acid (99.5%) αγοράστηκε από τον οίκο Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Τριάντα εννέα (39) πρότυπες ενώσεις αγοράστηκαν από εμπορικές πηγές ως φαίνεται ακολούθως: citronellol, decyl aldehyde, ethyl 2-methylbutyrate, ethyl vanillin, 4-ethylphenol, eugenol, ethyl caproate, *trans*-ethyl cinnamate, geraniol, isoamyl acetate, linalool, και vanillin αγοράστηκαν από τον οίκο Acros Organics (Geel, Belgium)· ethyl butyrate, ethyl isobutyrate, ethyl isovalerate, hexyl acetate, isobutyl acetate, β -ionone, 2-phenethyl acetate, και rose oxide αγοράστηκαν από τον οίκο Honeywell Fluka (Charlotte NC, USA)· acetovanillone, damascenone natural, 4-ethylguaiacol, ethyl caprylate, ethyl 3-hydroxybutyrate, ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, guaiacol, hexanal, isoeugenol, 2-methoxy-4-vinylphenol,

2-methoxy-4-methylphenol, 3-(methylthio)propionaldehyde, 2-phenylethanol, benzyl acetate, citral, thymol, 4-vinylphenol solution, και whiskey lactone αγοράστηκαν από τον οίκο Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Η λίστα των προτύπων, τα Chemical Abstracts Service Number (CAS Registry Number), ο μοριακός τύπος, η καθαρότητα και ο εμπορικός οίκος εμφανίζονται στον Πίνακα 41, που παρατίθεται στο παράρτημα.

3.3. Ανάπτυξη Μεθόδου Προσδιορισμού Πτητικών Ενώσεων με Χρήση GC-MS/MS

3.3.1. Μέθοδος Εκχύλισης

Η εκχύλιση των πτητικών ενώσεων από τον οίνο πραγματοποιήθηκε με την ακόλουθη διαδικασία: 3 mL οίνου, 7 mL νερού, 4,5 g θειικού αμμωνίου (ammonium sulfate, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), 1,5 mL διχλωρομεθάνιο (dichloromethane, CH_2Cl_2), και 10 μL phenol (10 mg/L) ως εσωτερικό πρότυπο προστέθηκαν σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα, ενώ στη συνέχεια ο δοκιμαστικός σωλήνας ανακινήθηκε σε vortex για 60 s και φυγοκεντρήθηκε για 4 min στις 4000 rpm. Η ανώτερη φάση απορρίφθηκε και 0,5 mL της εναπομένουσας οργανικής φάσης μεταφέρθηκε σε φιαλίδιο που περιείχε 0,4 g θειικού νατρίου (sodium sulfate, Na_2SO_4), ανακινήθηκε, αφήθηκε σε ηρεμία για λίγα δευτερόλεπτα και μετά η υπερκείμενη φάση μεταφέρθηκε σε νέο φιαλίδιο. Όγκος 1 μL του τελικού εκχυλίσματος εγχύθηκε στο όργανο GC-MS/MS.

3.4. Καμπύλη Βαθμονόμησης

Η ακόλουθη διαδικασία ακολουθήθηκε για τη δημιουργία της καμπύλης βαθμονόμησης χρησιμοποιώντας, ως πρότυπα, εμβολιασμένα

και εκχυλισμένα δείγματα συνθετικού οίνου (μέθοδος «procedural standard»): καταρχάς, δημιουργήθηκε συνθετικός οίνος με προσθήκη τρυγικού οξέος (tartaric acid) 5,0 g/L σε υδατικό διάλυμα αιθανόλης (12,5% v/v) και ρύθμιση του pH σε τιμή 3,5 με διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH). Στη συνέχεια, δημιουργήθηκαν πέντε διαλύματα βαθμονόμησης με εμβολιασμό (“spiking”) του συνθετικού οίνου με γνωστές συγκεντρώσεις ενός μίγματος των πτητικών ενώσεων. Οι τελικές συγκεντρώσεις για κάθε ένωση κυμαίνονταν από 10 έως 2.000 µg/L, εκτός για την ένωση 2-phenyl ethanol, η οποία κυμαινόταν από 1 έως 200 mg/L.

Τα πρότυπα διαλύματα εκχυλίστηκαν και αναλύθηκαν με τη χρήση GC-MS/MS σύμφωνα με την μέθοδο που περιγράφηκε στην παράγραφο 3.3.1. .

Η εξίσωση της ποσοτικοποίησης είναι:

$$C_{\text{δείγματος}} = C_{\text{τελικού εκχυλίσματος}}$$

δηλαδή, χωρίς κάποιον συντελεστή συμπίκνωσης ή αραίωσης.

Η εξίσωση της καμπύλης βαθμονόμησης είναι

$$y = a + bx$$

όπου το y αναπαριστά την συγκέντρωση της ένωσης και το x αναπαριστά την επιφάνεια της ένωσης στο χρωματογράφημα.

3.5. Συνθήκες Λειτουργίας του GC-MS/MS

Ένας αεριοχρωματογράφος Quantum XLS (Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA) συνδυασμένος με διαδοχική φασματομετρία μαζών (GC-MS/MS) «Triple Quad Mass Spectrometer», (Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA) χρησιμοποιήθηκε για την αεριοχρωματογραφική ανάλυση. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν μία χρωματογραφική στήλη «TR-Pesticide II» (30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm film thickness, Thermo Scientific)

και ήλιο ως φέρον αέριο (1,0 mL/min). Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που εφαρμόστηκε ήταν το ακόλουθο: η αρχική θερμοκρασία 40 °C διατηρήθηκε για 5 min, αυξήθηκε με ρυθμό 7 °C/min έως τους 170 °C, μετά αυξήθηκε με ρυθμό 40 °C/min έως τους 290 °C, όπου διατηρήθηκε για διάστημα 3 min. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 210 °C και ο όγκος έγχυσης του δείγματος ήταν 2 μ L σε splitless mode.

Οι ρυθμίσεις του φασματομέτρου μαζών (MS/MS) ήταν οι ακόλουθες: τρόπος λειτουργίας SRM (selected reaction monitoring, παρακολούθηση επιλεγμένης αντίδρασης), πίεση αερίου σύγκρουσης (collision gas pressure) 1,5 mTorr, εύρος κορυφών τετραπόλου Q1 και Q3 0,70, χρόνος κύκλου σάρωσης (cycle time) 0,5 s, καθυστέρηση διαλύτη (solvent delay) για 7 min, ρεύμα εκπομπής (emission current) 50 μ A, θερμοκρασία πηγής ιόντων (source temperature) 200 °C, θερμοκρασία γραμμής μεταφοράς (transfer line temperature) 250 °C.

3.5.1. Παράμετροι του MS – Μέθοδος Εύρεσης του Ζεύγους Θραυσμάτων

Κάθε πτητική ένωση εγχύθηκε στον αεριοχρωματογράφο σε συγκέντρωση 10 mg/L, και το φασματόμετρο μαζών (MS/MS) ρυθμίστηκε σε λειτουργία πλήρους σάρωσης (full scan). Το εύρος σάρωσης μαζών (m/z) για κάθε ένωση ξεκινούσε από το 50 Da έως τη μοριακή μάζα της ένωσης συν 10 Da. Οι χρωματογραφικές κορυφές ελέγχθηκαν χρησιμοποιώντας την ηλεκτρονική βιβλιοθήκη NIST, προκειμένου να συνδεθεί η σωστή κορυφή με την ένωση.

Η συγκεκριμένη διαδικασία προσδιόρισε το θραύσμα με την υψηλότερη ένταση (βασική κορυφή- base peak) στο πρώτο τετράπολο (Q1),

την ακριβή τιμή m/z για την ένωση (με ακρίβεια σε επίπεδο 0,01), και τον χρόνο κατακράτησης.

Κάθε ένωση εγχύθηκε ξανά στον αεριοχρωματογράφο σε συγκέντρωση 10 mg/L, ενώ το φασματόμετρο μαζών βρισκόταν σε λειτουργία σάρωσης θυγατρικών ιόντων (product ion scanning), δηλαδή το πρώτο τετράπολο (Q1) ρυθμίστηκε να σαρώνει το m/z της βασικής κορυφής (μητρικό ιόν-parent ion) και το τρίτο τετράπολο (Q3) ρυθμίστηκε σε λειτουργία πλήρους σάρωσης, με εύρος σάρωσης μαζών από 50 Da έως το m/z του μητρικού ιόντος συν 10 Da, προκειμένου να προσδιοριστούν τα δύο θραύσματα με την υψηλότερη ένταση.

Ακολούθησαν διαδοχικές εγχύσεις της κάθε ένωσης σε διαφορετικές τιμές ενέργειας σύγκρουσης (collision energy, CE) κάθε φορά, ώστε να προσδιοριστεί η βέλτιστη τιμή CE για κάθε ένωση, δηλαδή η ενέργεια που δημιουργεί την υψηλότερη ένταση για το ζεύγος μητρικό ιόν-θυγατρικό ιόν.

3.5.2. Επικύρωση Μεθόδου GC-MS/MS

3.5.2.1. Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα εκτιμήθηκε με μία σειρά πέντε σημείων, για τα οποία χρησιμοποιήθηκαν τα πρότυπα εμβολιασμένου συνθετικού οίνου, για κάθε ένωση. Η περιοχή συγκεντρώσεων ήταν μεταξύ 10 και 2.000 $\mu\text{g/L}$ (εκτός για την ένωση 2-phenyl ethanol, όπου η περιοχή τιμών των συγκεντρώσεων ήταν μεταξύ 1 και 200 mg/L).

Για την στατιστική εκτίμηση της γραμμικότητας, χρησιμοποιήθηκε εσωτερικό πρότυπο. Πιο συγκεκριμένα, η ονομαστική τιμή κάθε προτύπου τοποθετήθηκε στον άξονα- x , ενώ ο λόγος της επιφάνειας της κορυφής του

προτύπου προς την επιφάνεια της κορυφής του εσωτερικού προτύπου τοποθετήθηκε στον άξονα-ψ.

3.5.2.2. Επαναληψιμότητα και Ανάκτηση

Για την εκτίμηση της επαναληψιμότητας και της ανάκτησης, έξι πανομοιότυπα δείγματα αναλύθηκαν σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης, 10 και 500 µg/L. Κάθε δείγμα δημιουργήθηκε με εμβολιασμό του συνθετικού οίνου με ένα μίγμα όλων των ενώσεων. Η συγκέντρωση κάθε ένωσης σε κάθε δείγμα υπολογίστηκε με την χρήση της αντίστοιχης καμπύλης βαθμονόμησης.

3.5.2.3. Αναπαραγωγιμότητα

Για τον υπολογισμό της αναπαραγωγιμότητας, εφαρμόστηκε διαδικασία «προσθήκης προτύπου» (standard addition) σε ερυθρό οίνο. Η συγκέντρωση που επιλέχθηκε για την προσθήκη των πτητικών ενώσεων ήταν τα 500 µg/L.

Ακολουθώντας τη συγκεκριμένη διαδικασία, δημιουργήθηκαν έξι δείγματα για έξι διαδοχικές ημέρες, δηλαδή ένα για κάθε ημέρα. Κάθε δείγμα αναλύθηκε την ημέρα της δημιουργίας του. Όλα τα δείγματα που δημιουργήθηκαν με τη διαδικασία standard addition, όπως επίσης και ο αρχικός ερυθρός οίνος που χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα εμβολιασμού, αναλύθηκαν εις διπλούν.

3.5.2.4. Όριο Ανίχνευσης και Όριο Ποσοτικοποίησης

Ένα μίγμα όλων των ενώσεων εγχύθηκε σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, προκειμένου να υπολογιστεί το Όριο Ανίχνευσης (LOD),

και το Όριο Ποσοτικοποίησης (LOQ), για κάθε ένωση. Το LOD προσδιορίστηκε ως η συγκέντρωση όπου ο λόγος σήμα προς θόρυβο ήταν 3 (S/N:3), ενώ το LOQ ως η συγκέντρωση όπου ο λόγος σήμα προς θόρυβο ήταν 10 (S/N:10).

3.5.3. Στατιστική ανάλυση – Ενεργή Τιμή Οσμής (OAV)

Η αναπτυχθείσα μέθοδος εφαρμόστηκε, για ανάλυση των είκοσι πέντε (25) εμπορικών προϊόντων ΠΟΠ Νεμέα, ώστε να προσδιοριστεί το αρωματικό προφίλ των οίνων αυτών, μέσω του προσδιορισμού των πτητικών ενώσεων του αρώματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε εις τριπλούν και στη συνέχεια, υπολογίστηκε ο μέσος όρος της συγκέντρωσης για κάθε πτητική ένωση.

Για την καλύτερη κατανόηση και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, σχετικά με το αρωματικό προφίλ των εμπορικών οίνων από Αγιωργίτικο, υπολογίστηκε η Ενεργή Τιμή Οσμής (Odor Active Value, OAV). Το OAV υπολογίζεται αξιοποιώντας το κατώφλι αντίληψης κάθε ένωσης. Το κατώφλι αντίληψης είναι η ελάχιστη τιμή ενός οργανοληπτικού ερεθίσματος που μπορεί να γίνει αντιληπτό [96].

Το OAV υπολογίζεται ως

$$OAV = C/T,$$

όπου C είναι η συγκέντρωση της ένωσης και T είναι το κατώφλι αντίληψης αυτής της ένωσης [97].

Για τον υπολογισμό του OAV, χρησιμοποιήθηκαν τα κατώφλια αντίληψης που έχουν δημοσιευτεί σε άλλες μελέτες. Στις συγκεκριμένες μελέτες περιγράφεται και η αντίληψη του αρώματος κάθε ένωσης από το

πάνελ, γεγονός που βοηθά στον προσδιορισμό της συμβολής της στο αρωματικό προφίλ του οίνου [98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105].

Το OAV-βαρέλι (OAV-Barrel) υπολογίστηκε αθροίζοντας τα OAV των φαινολών και των ενώσεων δρυός. Το OAV-φρουτώδες (OAV Fruity) υπολογίστηκε αθροίζοντας τα OAV των οξικών εστέρων, των υπόλοιπων εστέρων και της 2-phenyl-ethanol. Υπολογίστηκαν επίσης τα ποσοστά OAV-βαρελιού και OAV-φρουτώδους.

3.6. Οργανοληπτική Ανάλυση

3.6.1. Οργανοληπτική Ανάλυση - Δείγματα Οίνου

Για τις δοκιμές αναπαραγωγιμότητας και ελέγχου της της απόδοσης των μεμονωμένων δοκιμαστών και της ομάδας συνολικά, επτά (7) προϊόντα οίνου αγοράστηκαν από την αγορά, τα οποία είχαν παραχθεί από ελληνικές ποικιλίες αμπέλου και πιο συγκεκριμένα, Μοσχοφίλερο, Ασύρτικο, Σαββατιανό, Μαλαγουζιά, Αγιωργίτικο και Ξινόμαυρο. Οι εσοδείες των προϊόντων ήταν 2017 και 2018.

Επιπλέον, στο τμήμα της έρευνας που αφορά στην οργανοληπτική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν και οι εμπορικοί οίνοι ΠΟΠ Νεμέα, οι οποίοι περιγράφονται στην παράγραφο 3.1..

3.6.2. Οργανοληπτική Ανάλυση – Αντιδραστήρια

Ένα σύνολο από είκοσι δύο (22) ενώσεις αγοράστηκαν από εμπορικές πηγές: vanillin, 4-ethylphenol, *cis*-3-hexen-1-ol, και isoamyl acetate αγοράστηκαν από τον οίκο Acros Organics (Geel, Belgium)· caffeine αγοράστηκε από Alfa Aesar (Ward Hill, MA, USA)· butyric acid, citric acid,

sodium chloride, και tannic acid αγοράστηκαν από τον οίκο Honeywell Fluka (Charlotte, NC, USA). 2,4,6-trichloroanisole (TCA) αγοράστηκε από τον οίκο HPC Standards (Borsdorf, Germany). potassium disulfite αγοράστηκε από τον οίκο Merck (Darmstadt, Germany). acetic acid και ethyl acetate αγοράστηκαν από τον οίκο Penta (Prague, Czech Republic). 2-phenyl-ethanol, 4-ethylguaiacol, benzyl acetate, citral, ethanal, monosodium L-glutamate, sucrose, και tartaric acid αγοράστηκαν από τον οίκο Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Grape tannin και "Qualitan Grape" αγοράστηκαν από τον οίκο Dolmar (La Rioja, Spain). D(+)-Glucose αγοράστηκε από τον οίκο Panreac Applichem (Barcelona, Spain). Η λίστα με τα πρότυπα, τα αντίστοιχα Chemical Abstracts Service Number (CAS Registry Number), ο μοριακός τύπος, η καθαρότητα και ο εμπορικός οίκος εμφανίζονται στον Πίνακα 42, που παρατίθεται στο παράρτημα. Να σημειωθεί ότι όλα τα ανωτέρω αντιδραστήρια είναι πανομοιότυπα με αυτά που προτείνονται στα τυποποιητικά έγγραφα, τα οποία παρουσιάζονται στη βιβλιογραφία, και είναι κατάλληλα για ανθρώπινη χρήση.

3.6.3. Οργανοληπτική Ανάλυση – Εξοπλισμός και Λογισμικά

Για τις οργανοληπτικές δοκιμές της παρούσας χρησιμοποιήθηκαν ποτήρια γευστικής δοκιμής οίνου, τα οποία συμμορφώνονται με τις απαιτήσεις του προτύπου ISO 3591 [106]. Κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης, σε όποιες δοκιμές κρίθηκε απαραίτητο, χρησιμοποιήθηκαν τα προαναφερθέντα ποτήρια σε μαύρο χρώμα, ώστε να αποκρύπτεται το χρώμα του δείγματος. Ύαλοι ωρολογίου χρησιμοποιήθηκαν για το κλείσιμο του στομίου κάθε ποτηριού.

Για την δημιουργία του φύλλου δοκιμαστή, της σειράς παρουσίασης των δειγμάτων και των τριψήφιων κωδικών κάθε δείγματος χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Fizz sensory “Acquisition”, v.2.47B (Biosystemes, Couternon, France). Μετά τις δοκιμές, η εισαγωγή των δεδομένων για περαιτέρω επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό Fizz Calculations, v.2.47B (Biosystemes, Couternon, France).

3.6.4. Οργανοληπτική Ανάλυση – Δοκιμαστές

Είκοσι (20) υποψήφιοι δοκιμαστές στρατολογήθηκαν για τη βασική εκπαίδευση στις οργανοληπτικές δοκιμές. Στόχος ήταν η δημιουργία μίας ομάδας δοκιμαστών με 10 μέλη. Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκε να γίνει στρατολόγηση διπλάσια από τον αριθμό των ατόμων που πραγματικά απαιτούνται για την τελική σύνθεση του πάνελ [51]. Η περιοχή τιμών της ηλικίας ήταν μεταξύ 25 και 80, ο μέσος όρος ηλικίας των είκοσι δοκιμαστών ήταν τα 41,4 έτη, οι 13 ήταν γυναίκες και οι 7 ήταν άντρες.

Οι υποψήφιοι δοκιμαστές χωρίστηκαν σε δύο ομάδες των δέκα ατόμων η κάθε μία. Η ομάδα Α αποτελείτο από δέκα δοκιμαστές, οι οποίοι – σε πρότερο χρόνο – είχαν λάβει εκπαίδευση για οργανοληπτική αξιολόγηση παρθένου ελαιολάδου και συμμετείχαν σε διαπιστευμένο πάνελ, από το Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης (Ε.ΣΥ.Δ.), για οργανοληπτική αξιολόγηση ελαιολάδου. Η ομάδα Β αποτελείτο από 10 δοκιμαστές, οι οποίοι δεν είχαν λάβει εκπαίδευση σε οργανοληπτική ανάλυση ελαιολάδου. Τόσο οι δοκιμαστές της ομάδας Α, όσο και οι δοκιμαστές της ομάδας Β δεν είχαν λάβει κατά το παρελθόν εκπαίδευση για οργανοληπτική ανάλυση οίνου.

Κατά τη διάρκεια επιλογής, οι υποψήφιοι συμπλήρωσαν ένα αρχικό ερωτηματολόγιο σχετικά με το ενδιαφέρον τους για οργανοληπτικές δοκιμές και τη διαθεσιμότητά τους. Ανάμεσα στα κριτήρια επιλογής των δοκιμαστών, λήφθηκε σοβαρά υπόψη εάν οι υποψήφιοι ενδιαφέρονται για τα προϊόντα αμπελουργικής προέλευσης [57]. Επιπλέον, παράγοντες όπως η διαθεσιμότητα, το κίνητρο, η ικανότητα επικοινωνίας, η καλή υγεία και η ικανότητα απομόνωσης από εξωτερικά ερεθίσματα λήφθηκαν υπόψη [51]. Τα στοιχεία ελήφθησαν από σχετικό ερωτηματολόγιο και προσωπικές συνεντεύξεις με κάθε υποψήφιο δοκιμαστή.

3.6.5. Οργανοληπτική Ανάλυση – Διαδικασία Εκπαίδευσης

Συνολικά, είκοσι οκτώ (28) συνεδρίες εκπαίδευσης πραγματοποιήθηκαν σε μία περίοδο έξι μηνών. Η εκπαίδευση ξεκίνησε με θεωρητική εκπαίδευση, η οποία βασίστηκε σε διεθνή πρότυπα [51].

3.6.5.1. Δοκιμές για Ανίχνευση Οργανοληπτικών Αδυναμιών

Οι υποψήφιοι δοκιμαστές ελέγχθηκαν για την ικανότητά τους να πραγματοποιούν οργανοληπτική ανάλυση με ακρίβεια, πραγματοποιώντας δοκιμή αγευσίας για τρεις βασικές γεύσεις και για το στυφό, καθώς και δοκιμή ανοσμίας με χρήση τεσσάρων ουσιών που συμμετέχουν στο άρωμα του οίνου [51], όπως παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για τις δοκιμές αγευσίας και ανοσμίας.

Γεύση ή οσμή	Material	Συγκέντρωση σε νερό σε θερμοκρασία δωματίου g/L	Συγκέντρωση σε αιθανόλη σε θερμοκρασία δωματίου mg/L
Γεύση			
Γλυκό	Sucrose	10	
Ξινό	Citric acid	0,3	
Πικρό	Caffeine	0,3	
Στυφό	Tannic acid	1	
Οσμή			
Λεμόνι, φρέσκο	Citral		1
Βανίλια	Vanillin		1
Άνθη	Benzyl acetate		1
Τροπικά φρούτα	Isoamyl acetate		1

Για αυτές τις ενώσεις και τις συγκεντρώσεις, είναι γενικά αποδεκτό, ότι υποψήφιοι που έχουν λιγότερο από 80% επιτυχή αποτελέσματα δεν θα πρέπει να επιλεγούν ως δοκιμαστές.

Ακολούθησαν δοκιμές για ανίχνευση ερεθίσματος [51], οι οποίες βασίστηκαν σε τριγωνικές δοκιμές [107], με χρήση τριών παραμέτρων γεύσης και μίας όσφρησης. Τα υλικά και οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για την ανίχνευση ερεθίσματος.

Ένωση	Γεύση	Συγκέντρωση σε νερό σε θερμοκρασία δωματίου
Caffeine	Πικρό	0,2 g/L
Citric acid	Ξινό	0,2 g/L
Sucrose	Γλυκό	1,3 g/L
cis-3-hexen-1-ol	Πράσινο, χορτάρι, ανώριμο	0,4 mL/L

Η ενότητα της επιλογής για ανίχνευση αδυναμιών σχετικά με τις οργανοληπτικές δοκιμές ολοκληρώθηκε με δοκιμή αχρωματοψίας, όπου ο κάθε δοκιμαστής υποβλήθηκε σε δοκιμή με τη μέθοδο Ishihara.

3.6.5.2. Κατώφλι Αντίληψης

Το κατώφλι αντίληψης του κάθε δοκιμαστή, αλλά και της ομάδας στο σύνολό της για τις τέσσερις βασικές γεύσεις, υπολογίστηκε με μέθοδο που βασίζεται σε διεθνή πρότυπα [52]. Πιο συγκεκριμένα, σε κάθε δοκιμαστή παρουσιάστηκαν τρία διαλύματα με τη μεθοδολογία του 3-AFC (a three alternative forced choice), δηλαδή ένα από τα τρία διαλύματα διαθέτει την προς εξέταση ουσία διαλυμένη σε νερό, ενώ τα άλλα δύο δείγματα είναι νερό. Ο δοκιμαστής κλήθηκε να επιλέξει το δείγμα στο οποίο αντιλαμβάνεται γεύση. Η διαδικασία επαναλήφθηκε για αυξανόμενες συγκεντρώσεις. Το κατώφλι αντίληψης για κάθε δοκιμαστή, αλλά και για την ομάδα στο σύνολό της, υπολογίστηκε ακολουθώντας τη «συντόμευση διαδικασίας χρησιμοποιώντας το καλύτερο εκτιμώμενο όριο» (Shortcut procedure using Best Estimate Threshold, BET). Το κατώφλι αντίληψης προσδιορίστηκε για τις πέντε βασικές γεύσεις, δηλαδή για γλυκό, ξινό, αλμυρό, γλυκό, ουμάμι.

3.6.5.3. Δοκιμές για Προσδιορισμό της Οργανοληπτικής Αντίληψης

3.6.5.3.1. Δοκιμές για Ανίχνευση Ενός Ερεθίσματος

Ακολούθησαν δοκιμές για προσδιορισμό της οργανοληπτικής αντίληψης. Στην διαδικασία ανίχνευσης των ερεθισμάτων γεύσης, ελέγχθηκαν οι πέντε βασικές γεύσεις (γλυκό, ξινό, αλμυρό, ουμάμι, πικρό), όπως επίσης και η στυπτικότητα. Οι δοκιμές πραγματοποιήθηκαν

σε υδατικά διαλύματα χαρακτηριστικών ουσιών για κάθε μία από τις έξι αυτές οργανοληπτικές παραμέτρους, με χρήση τριγωνικών δοκιμών [57]. Οι ουσίες για κάθε παράμετρο και η συγκέντρωσή τους εμφανίζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για την ανίχνευση ερεθίσματος.

Γεύση	Ένωση	Συγκέντρωση σε νερό σε θερμοκρασία δωματίου
Γλυκό	Sucrose	10 g/L
Ξινό	Tartaric acid	0,5 g/L
Αλμυρό	Sodium chloride	2 g/L
Πικρό	Caffeine	0,3 g/L
Ουμάμι	Monosodium L-glutamate	0,6 g/L
Στυφό	Tannic acid	1 g/L

Επιπλέον πραγματοποιήθηκε η διαδικασία ταυτοποίησης γεύσεων. Δημιουργήθηκαν διαλύματα για τις πέντε βασικές γεύσεις, με τις ουσίες και τις συγκεντρώσεις που περιγράφονται σε διεθνή πρότυπα [52], και εμφανίζονται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για την ταυτοποίηση γεύσεων.

Γεύση	Πρότυπο	Συγκέντρωση σε νερό σε θερμοκρασία δωματίου g/L
Ξινό	Citric acid	0,28
Πικρό	Caffeine	0,195
Αλμυρό	Sodium chloride	1,19
Γλυκό	Sucrose	5,76
Ουμάμι	Monosodium L-glutamate	0,29

Οι δοκιμαστές έλαβαν ένα δείγμα από κάθε τύπο και τους δόθηκε ο απαραίτητος χρόνος να εξοικειωθούν με αυτό. Στη συνέχεια τους παρουσιάστηκε μία σειρά από τα ίδια υλικά, στα οποία περιλαμβάνονταν

και ένα ή δύο ποτήρια που περιείχαν νερό. Πιο συγκεκριμένα, τους δόθηκαν δέκα ποτήρια που αντιστοιχούσαν σε κάποια από τις πέντε γεύσεις, καθώς και δύο ποτήρια νερού. Μετά από κάθε δοκιμή, οι δοκιμαστές έπρεπε να αναγνωρίσουν τη χαρακτηριστική γεύση του κάθε δείγματος.

3.6.5.3.2. Δοκιμές για Διάκριση Μεταξύ Επιπέδων Έντασης Ενός Ερεθίσματος – Δοκιμές Κατάταξης

Η επόμενη ενότητα εκπαίδευσης αφορούσε σε δοκιμές κατάταξης, με τις οποίες αξιολογήθηκε η διακριτική ικανότητα του κάθε δοκιμαστή. Οι δοκιμές εφαρμόστηκαν σε χρώμα, οσμή και γεύση [57]. Οι χρωματικές συντεταγμένες της CIELAB, οι ουσίες για τη διάκριση αρώματος, γεύσης και στυπτικότητας, καθώς και οι συγκεντρώσεις για κάθε επίπεδο, παρουσιάζονται στον Πίνακα 5. Τα δείγματα παρουσιάστηκαν στους δοκιμαστές με Σχεδιασμό Λατινικού Τετραγώνου (Latin Square Design).

Πίνακας 5. Λίστα με τα πρότυπα και τις συγκεντρώσεις για τις δοκιμές διάκρισης μεταξύ διαφορετικών επιπέδων έντασης.

	Επίπεδο 1	Επίπεδο 2	Επίπεδο 3	Επίπεδο 4
Χρωματική διάκριση για ερυθρούς οίνους				
Χρωματικές συντεταγμένες a:	30	40	50	60
Χρωματικές συντεταγμένες L:	60	50	40	30
Αρωματική διάκριση				
Acetic acid	0,10 g/L	0,30 g/L	0,50 g/L	0,70 g/L
2,4,6 trichloroanisoie (TCA)	1 ng/L	3 ng/L	5 ng/L	7 ng/L
Ethyl acetate	10 mg/L	40 mg/L	70 mg/L	100 mg/L
4-ethylphenol	0,05 mg/L	0,15 mg/L	0,30 mg/L	0,45 mg/L
Γευστική διάκριση				
Sucrose	2 g/L	6 g/L	10 g/L	14 g/L
Tartaric acid	0,25 g/L	0,50 g/L	0,75 g/L	1,00 g/L
Sodium chloride	0,5 g/L	2,0 g/L	3,5 g/L	5 g/L
Caffeine	0,05 g/L	0,20 g/L	0,40 g/L	0,60 g/L
Monosodium L-glutamate	0,05 g/L	0,30 g/L	0,60 g/L	0,90 g/L
Διάκριση στυπτικότητας				
Tannic acid	0,50 g/L	0,75 g/L	1,00 g/L	1,25 g/L

Η αξιολόγηση των δοκιμών κατάταξης έγινε με σύστημα βαθμολόγησης από 0 έως 4 βαθμούς [64], όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6. Κλίμακα βαθμολόγησης για δοκιμές κατάταξης.

Πόντοι	Αποτέλεσμα
4	Τέσσερα σωστά
3	Διπλανή αλλαγή
2	Δύο σωστά χωρίς διπλανή αλλαγή
1	Ένα σωστό
0	Κανένα σωστό

3.6.5.4. Δοκιμές για Περιγραφή Αρωμάτων

Μία σειρά από διαλύματα παρουσιάστηκαν στους υποψήφιους δοκιμαστές, τα οποία έχουν χαρακτηριστική οσμή πάνω από το κατώφλι αντίληψης. Οι επιλεγμένες οσμές συνδέονται με τα αρώματα των οίνων. Οι δοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε ποτήρια δοκιμών οίνου ISO 3591 από μαύρο γυαλί, με αποτέλεσμα να μην είναι ορατό το χρώμα του διαλύματος στον δοκιμαστή.

Τα δείγματα παρουσιάστηκαν ένα τη φορά και ο υποψήφιος κλήθηκε να καταγράψει το άρωμα που αντιλαμβανόταν. Μετά την αρχική αντίδραση του υποψήφιου, ο εκπαιδευτής είχε τη δυνατότητα να συζητήσει το δείγμα, προκειμένου να εξερευνήσει την ικανότητα του υποψήφιου να περιγράψει το ερέθισμα. Τα διαλύματα που επιλέχθηκαν και η βασική περιγραφή του αρώματος εμφανίζονται στον Πίνακα 7. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα επιλεγμένα αρώματα συναντώνται συχνά σε οίνους, συμπεριλαμβανομένων των αρωμάτων βανίλιας, καραμέλας και λεμονιού [57]. Ταυτόχρονα, για την επιλογή των ουσιών, λήφθηκαν υπόψη οι ενώσεις που περιγράφονται στην εκπαίδευση των δοκιμαστών για οργανοληπτικές αναλύσεις γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων, οι οποίες σχετίζονται επίσης με τον οίνο [64].

Οι συγκεντρώσεις για το διάλυμα κάθε ουσίας βασίστηκε σε διεθνή πρότυπα [54], ενώ για τις ουσίες που δεν υπήρχαν σχετικές αναφορές, επιλέχθηκε η δημιουργία ενός διαλύματος της ουσίας με συγκέντρωση από 10 έως 20 φορές μεγαλύτερη από το κατώφλι αντίληψης. Σε αυτή την περίπτωση, το διάλυμα και η ένταση της οσμής του αξιολογήθηκε από τον εκπαιδευτή και έγιναν οι απαραίτητες προσαρμογές.

Οι δοκιμαστές βαθμολογήθηκαν για την απόδοσή τους με τον ακόλουθο τρόπο: 3 πόντοι για τη σωστή ταυτοποίηση ή την περιγραφή της πιο συχνής συσχέτισης, 2 πόντοι, για μία περιγραφή με γενικούς όρους, 1 πόντος, για μία ταυτοποίηση ή περιγραφή μακρινής συσχέτισης, ενώ 0 πόντοι για μη απόκριση ή για τελείως λανθασμένη απάντηση. Παραδείγματα για τον τρόπο βαθμολόγησης, για τις ουσίες που επιλέχθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.

Πίνακας 7. Οσφρητικά υλικά για τη δοκιμή περιγραφής οσμής και το σύστημα βαθμολόγησης για την αναγνώριση αρωμάτων.

Ένωση	Χαρακτηριστική οσμή		
	3 πόντοι	2 πόντοι	1 πόντος
Isoamyl acetate	Μπανάνα	Τροπικά φρούτα	Φρούτα
2-Phenyl-ethanol	Τριαντάφυλλο	Γιασεμί	Άνθη
Caramel syrup	Καραμέλα	Βανίλια, βύνη	Γλυκό
cis-3-hexen-1-ol	Γρασίδι	Πράσινα φασόλια	Πράσινο λαχανικό
Butyric acid	Ταγγισμένο βούτυρο	Τυρί παρμεζάνα	Εμετός, ρέψιμο μωρού
Vanillin	Βανίλια	Κρέμα, επιδόρπιο	Γλυκά, καραμέλα
Citral	Λεμόνι	Πορτοκάλι	Εσπεριδοειδή, φρούτα
Ethyl caproate	Μήλο	Αχλάδι	Φρούτα
Fresh orange juice	Πορτοκάλι	Λεμόνι	Εσπεριδοειδή, φρούτα
Acetic acid	Οξικό οξύ	Ξύδι	"Ειδιασμένος" οίνος

3.6.5.5. Αξιολόγηση της Εκπαίδευσης – Επιλογή των Δοκιμαστών

Μετά τη βασική εκπαίδευση, οι δοκιμαστές αξιολογήθηκαν σε τρεις δοκιμές, στην αναγνώριση των βασικών γεύσεων, σε δοκιμές κατάταξης και σε αναγνώριση αρωμάτων.

3.6.5.5.1. Αξιολόγηση της Εκπαίδευσης – Επιλογή των Δοκιμαστών

Παρασκευάστηκαν πέντε διαλύματα των πέντε βασικών γεύσεων σε επιλεγμένες συγκεντρώσεις, όπως φαίνονται στον Πίνακα 8.

Πίνακας 8. Υλικά και συγκεντρώσεις για την αναγνώριση των βασικών γεύσεων.

Γεύση	Ένωση	Συγκέντρωση σε νερό σε θερμοκρασία δωματίου g/L
Γλυκό	Sucrose	10,0
Αλμυρό	Sodium chloride	2,0
Ξινό	Citric acid	0,3
Πικρό	Caffeine	0,3
Ουμάμι	Monosodium L-glutamate	0,6

Τα πέντε διαλύματα αυτά και ένα δείγμα νερού παρουσιάστηκαν στους δοκιμαστές με τριψήφιους τυχαίους κωδικούς, με τυχαία σειρά, αλλά σταθερή για όλους τους δοκιμαστές. Ο κάθε δοκιμαστής κλήθηκε να ταυτοποιήσει τη βασική γεύση που αντιπροσωπεύει κάθε διάλυμα. Οι υποψήφιοι βαθμολογήθηκαν σε μία κλίμακα από 1 έως 6 βαθμούς, όπως φαίνεται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9. Κλίμακα βαθμολόγησης για την αναγνώριση γεύσης.

Πόντοι	Αποτέλεσμα
6	Όλα σωστά
5	Τέσσερα σωστά
4	Τρία σωστά
3	Δύο σωστά
2	Ένα σωστό
1	Κανένα σωστό

3.6.5.5.2. Δοκιμές Κατάταξης

Στους δοκιμαστές παρουσιάστηκαν τέσσερις ομάδες διαλυμάτων. Η κάθε ομάδα αποτελείτο από τέσσερα διαλύματα μίας χαρακτηριστικής γεύσης ή αρώματος. Οι δοκιμαστές κλήθηκαν να κατατάξουν τα τέσσερα διαλύματα της κάθε ομάδας με σειρά αυξανόμενης έντασης. Τα διαλύματα παρουσιάστηκαν με τριψήφιους κωδικούς και Σχεδιασμό Λατινικού Τετραγώνου (Latin Square Design).

Οι ομάδες και η συγκέντρωση του κάθε διαλύματος εμφανίζονται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10. Υλικά και συγκεντρώσεις για τις δοκιμές κατάταξης.

Γεύση	Ένωση	Επίπεδο 1	Επίπεδο 2	Επίπεδο 3	Επίπεδο 4
Γλυκό	Sucrose	Νερό	5 g/L	10 g/L	15 g/L
Ξινό	Citric acid	Νερό	0,10 g/L	0,30 g/L	0,50 g/L
Αλμυρό	Sodium chloride	Νερό	1,0 g/L	1,5 g/L	2 g/L
Πικρό	Caffeine	Νερό	0,10 g/L	0,30 g/L	0,50 g/L

Οσμή					
Βαρέλι	Οίνος εμβολιασμένος με Vanillin και Whiskey lactone	Οίνος	0,25 mg/L	0,50 mg/L	0,75 mg/L

Η απόδοση των δοκιμαστών βαθμολογήθηκε από 0 έως 4 βαθμούς, σύμφωνα με τον Πίνακα 6.

3.6.5.5.3. Αναγνώριση Αρωμάτων

Μία σειρά από εννέα διαλύματα παρουσιάστηκαν στους υποψήφιους δοκιμαστές, τα οποία είχαν χαρακτηριστική οσμή, η οποία συνδέεται με το άρωμα οίνων, σε συγκέντρωση πάνω από το κατώφλι αντίληψης. Οι δοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε ποτήρια οίνου ISO 3591 από μαύρο γυαλί, με αποτέλεσμα να μην είναι ορατό το χρώμα του διαλύματος στον δοκιμαστή.

Τα διαλύματα που επιλέχθηκαν, η βασική περιγραφή του αρώματος, αλλά και ο τρόπος βαθμολόγησης για κάθε δοκιμαστή εμφανίζονται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11. Αρωματικά υλικά και σύστημα βαθμολόγησης για αναγνώριση αρωμάτων.

Ένωση	Χαρακτηριστική οσμή		
	3 πόντοι	2 πόντοι	1 πόντος
Citral	Λεμόνι	Πορτοκάλι	Εσπεριδοειδή, φρούτα
Ethyl caproate	Μήλο	Αχλάδι	Φρούτα
Fresh orange juice	Πορτοκάλι	Λεμόνι	Εσπεριδοειδή, φρούτα
Caramel syrup	Καραμέλα	Βανίλια, βύνη	Γλυκό
Butyric acid	Ταγγισμένο βούτυρο	Τυρί παρμεζάνα	Εμετός, ρέψιμο μωρού
Acetic acid	Οξικό οξύ	Ξύδι	"Ειδιασμένος" οίνος
cis-3-hexen-1-ol	Γρασίδι	Πράσινα φασόλια	Πράσινο λαχανικό
2,4,6 trichloroanisole (TCA)	Μουχλιασμένος	Οσμή φελλού	Χλώριο
Vanillin	Βανίλια	Κρέμα, επιδόρπιο	Γλυκά, καραμέλα

3.6.5.5.4. Αξιολόγηση Βασικής Εκπαίδευσης

Στις δοκιμές που περιγράφονται στην παράγραφο 3.4.5.5., ο μέγιστος αριθμός βαθμών που μπορεί να συγκεντρώσει ένας δοκιμαστής είναι 53. Επιτυχής θεωρείται η εκπαίδευση ενός δοκιμαστή, εάν η βαθμολογία που θα συγκεντρώσει είναι ανώτερη από το 65% (περισσότεροι από 35 βαθμοί).

Η κατάταξη της βαθμολογίας των δοκιμαστών λήφθηκε υπόψη κατά την τελική επιλογή τους.

3.6.5.6. Εκπαίδευση και Ταυτοποίηση Ελαττωμάτων Οίνου με Χρήση Διαλυμάτων

Για την εκπαίδευση των δοκιμαστών σε ελαττώματα οίνου δημιουργήθηκαν υδατικά διαλύματα. Τα διαλύματα παρουσιάστηκαν στους δοκιμαστές με επεξήγηση του κάθε αρώματος από τον εκπαιδευτή. Στη συνέχεια, δημιουργήθηκαν τρία διαλύματα για κάθε ελάττωμα, χαμηλής, μεσαίας και υψηλής έντασης. Οι δοκιμαστές κλήθηκαν να κατατάξουν τα δείγματα κάθε τριάδας με αυξανόμενη ένταση.

Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται και οι συγκεντρώσεις χαμηλής, μεσαίας, υψηλής έντασης εμφανίζονται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται και οι συγκεντρώσεις που αντιστοιχούν σε χαμηλές, μεσαίες και υψηλές εντάσεις για την εκπαίδευση και την αναγνώριση ελαττωμάτων του οίνου χρησιμοποιώντας υδατικά διαλύματα.

Παράμετροι	Παραδείγματα περιγραφικών όρων	Υλικό	Χαμηλή Ένταση	Μεσαία Ένταση	Υψηλή Ένταση
Θειώδες	Θειώδες	Potassium disulfite	0,2 g/L	0,4 g/L	0,6 g/L
Οξικό	Οξώδης (κόλλα, βερνίκι, διαλύτης)	Ethyl acetate	0,25 mg/L	0,50 mg/L	0,75 mg/L
Μουχλιασμένο/ Χωματίλα	Σκονισμένο, μουχλιασμένο, υγρό κελάρι	2,4,6 trichloroanisole (TCA)	5 ng/L	15 ng/L	25 ng/L
Οξειδωμένο	Μπαγιάτικο, ταγγό, υπερώριμο μήλο	Ethanal	0,1 g/L	0,2 g/L	0,3 g/L
Ζωικό	Δέρμα, στάβλος, ιδρώτας αλόγου	Mix 4-ethylphenol / 4-ethylguaiacol	0,5 mg/L	1,0 mg/L	1,5 mg/L

3.6.5.7. Ταυτοποίηση Ελαττωμάτων Οίνου και Χαρακτηριστικών Οίνου με Χρήση Εμβολιασμένου Οίνου

Επιλέχθηκαν πέντε διαφορετικά ελαττώματα οίνου και τρεις επιπλέον ομάδες, δείγματα διαφορετικής έντασης φρουτώδους, διαφορετικής έντασης τανίνης, παλαιωμένα σε βαρέλι ή όχι.

Για κάθε ομάδα δειγμάτων πραγματοποιήθηκε τριγωνική δοκιμή. Οι τριγωνικές δοκιμές πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν για να διαπιστωθεί εάν οι δοκιμαστές είναι ικανοί να επαναλάβουν το αποτέλεσμα τους.

Τα σετ δειγμάτων και ο τρόπος παρουσίασης βασίστηκε σε διεθνή πρότυπα [64], πραγματοποιώντας τις απαραίτητες προσαρμογές από προτάσεις του OIV [57], όπως φαίνεται στον Πίνακα 13.

Πίνακας 13. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται και οι συγκεντρώσεις για την αναγνώριση ελαττωμάτων του οίνου και χαρακτηριστικών του οίνου χρησιμοποιώντας εμβολιασμένο οίνο.

a/a	Χαρακτηρισμός Ομάδων	Παρτίδα 1	Παρτίδα 2	Διαφορετικό δείγμα από τα τρία
1	Φρέσκος οίνος - Οίνος με βαρέλι	Φρέσκος οίνος	Φρέσκος οίνος εμβολιασμένος με 500 mg/L vanillin	Παρτίδα 2
2	Οξειδωμένος οίνος	Φρέσκος οίνος	Οίνος εμβολιασμένος με 0,5 g/L ethanal	Παρτίδα 2
3	Διαφορετική ένταση φρουτώδους	Φρέσκος οίνος	Οίνος αραιωμένος με νερό (80% v/v)	Παρτίδα 2
4	Ελάττωμα ζωικό	Φρέσκος οίνος	Οίνος εμβολιασμένος με 700 mg/L 4-ethylphenol και 0,070 mg/L 4-ethylguaiacol	Παρτίδα 2
5	Οξικό	Φρέσκος οίνος	Οίνος εμβολιασμένος με 1,2 g/L acetic acid	Παρτίδα 2
6	Διαφορετικές τανίνες	Φρέσκος ερυθρός οίνος	Οίνος εμβολιασμένος με 1,5 g/L oak tannin	Παρτίδα 2
7	Θειώδες	Φρέσκος οίνος	Οίνος εμβολιασμένος με 200 mg/L potassium disulfite	Παρτίδα 2
8	TCA	Φρέσκος οίνος	Οίνος εμβολιασμένος με 15 ng/L TCA	Παρτίδα 2

Οι υποψήφιοι δοκιμαστές βαθμολογήθηκαν σύμφωνα με την ακόλουθη κλίμακα. Ο κάθε δοκιμαστής βαθμολογήθηκε με 6 βαθμούς εάν είχε σωστές απαντήσεις τόσο στην τριάδα δειγμάτων #1, όσο και στην τριάδα #2, με 4 βαθμούς εάν είχε σωστή απάντηση είτε στην τριάδα δειγμάτων #1 είτε στην τριάδα #2, με 0 βαθμούς εάν είχε λανθασμένες απαντήσεις τόσο στην τριάδα δειγμάτων #1, όσο και στην τριάδα #2, ενώ λάμβανε επιπλέον 0,5 βαθμούς εάν είχε σωστή περιγραφή της διαφοράς των δειγμάτων [64].

3.6.5.8. Δοκιμή Διαφορετικών Τύπων Τανίνης

Οι υποψήφιοι κλήθηκαν να δοκιμάσουν διαλύματα από ανθοκυανιδικές τανίνες (από φλοιό σταφυλιού), γαλλικές και ελλαγικές

τανίνες (από δρυ), συγκέντρωσης 0,1 g/L, να τα εκτιμήσουν και να γράψουν όλες τις περιγραφικές λέξεις που μπορούν να χαρακτηρίσουν τα δείγματα. Ο επικεφαλής της εκπαίδευσης έκρινε εάν οι περιγραφές είναι σωστές ή λανθασμένες. Οι απαντήσεις του δοκιμαστή αξιολογούνται από 0 έως 2 βαθμούς για κάθε τύπο τανίνης, οπότε η μέγιστη βαθμολογία που μπορεί να συγκεντρώσει ένας δοκιμαστής είναι 6.

3.6.5.9. Κατάταξη Οίνων με Διαφορετική Ένταση Αρώματος Βαρελιού

Οι δοκιμαστές κλήθηκαν να κατατάξουν τέσσερα διαλύματα οίνου, τα οποία είχαν εμβολιαστεί κατάλληλα, ώστε να δημιουργηθούν διαλύματα με διαφορετική ένταση αρώματος βαρελιού, τα οποία δημιουργήθηκαν εμβολιάζοντας δείγμα οίνου με μίγμα των ουσιών vanillin και whiskey lactone (50%-50% w/v). Οι τελικές συγκεντρώσεις των ουσιών αυτών στο τελικό δείγμα εμφανίζεται στον Πίνακα 10. Η βαθμολογία του κάθε δοκιμαστή ήταν από 0 έως 4 βαθμούς, σύμφωνα με τον Πίνακα 6.

3.6.5.10. Σύνοψη Βαθμολογίας και Κριτήρια Αποδοχής

Η μέγιστη βαθμολογία όλων των ανωτέρω δοκιμών κατά την εξέταση των δοκιμαστών φαίνονται στον Πίνακα 14.

Πίνακας 14. Μέγιστες βαθμολογίες δοκιμών για την αξιολόγηση της εκπαίδευσης και την επιλογή δοκιμαστών.

Δοκιμή No.	Παράγραφος	Τίτλος	Μέγιστη δυνατή βαθμολογία
1	3.4.5.5.3.	Αναγνώριση αρωμάτων	27
2	3.4.5.5.1.	Αναγνώριση βασικών γεύσεων	6
3	3.4.5.5.2.	Κατάταξη βασικών γεύσεων	16
4	3.4.5.9.	Κατάταξη αρώματος βαρελιού	4

5	3.4.5.7.	Τριγωνικές δοκιμές - γεύση και άρωμα	48
6	3.4.5.7.	Τριγωνικές δοκιμές - περιγραφή	4
7	3.4.5..8.	Διαφορετικοί τύποι τανίνης	6

Οι κατευθύνσεις για την επιλογή των δοκιμαστών σύμφωνα με τη σύνοψη της βαθμολογίας και τα κριτήρια αποδοχής εμφανίζονται στον Πίνακα 15 και τα κύρια σημεία είναι τα ακόλουθα:

(α) συνολική βαθμολογία μεγαλύτερη ή ίση του 65%, στο άθροισμα της βαθμολογίας για την αναγνώριση αρωμάτων, αναγνώριση της βασικής γεύσης, κατάταξη της βασικής γεύσης και κατάταξη του αρώματος βαρελιού.

(β) συνολική βαθμολογία μεγαλύτερη ή ίση του 50%, για τις περιγραφικές δοκιμές.

(γ) οι δοκιμαστές οφείλουν να διαθέτουν τουλάχιστον 65% σωστές απαντήσεις στις τριγωνικές δοκιμές.

(δ) υποψήφιοι, οι οποίοι διαθέτουν συνολική βαθμολογία μικρότερη του 65% (εκτός των περιγραφικών δοκιμών), κρίνονται ακατάλληλοι ως οργανοληπτικοί αξιολογητές και χρήζουν νέας εκπαίδευσης [64].

Πίνακας 15. Σύστημα βαθμολόγησης για την επιλογή δοκιμαστών.

Δοκιμή No.	Τίτλος	Μέγιστη δυνατή βαθμολογία	Προτεινόμενο ποσοστό επιτυχίας	Επιτυχής βαθμολογία
1+2+3+4	Αναγνώριση και δοκιμές κατάταξης	53	65%	≥35/53
7+8+9	Περιγραφικές δοκιμές	10	50%	≥5/6
7+8	Τριγωνικές δοκιμές - οίνος	48	65%	≥32/48

3.6.5.11.Επιλογή Δοκιμαστών – Δημιουργία Νέων Ομάδων

Αξιολογήθηκαν τα αποτελέσματα της βαθμολογίας των δοκιμαστών, προκειμένου να δημιουργηθούν δύο νέες ομάδες δοκιμής. Πραγματοποιήθηκε κατάταξη των δοκιμαστών με σειρά μειούμενης

βαθμολογίας. Στη συνέχεια δημιουργήθηκαν δύο νέες ομάδες, η C και η D. Η ομάδα C αποτελείτο από τους δέκα δοκιμαστές με την υψηλότερη βαθμολογία, ενώ η ομάδα D αποτελείτο από τους δέκα δοκιμαστές με την χαμηλότερη βαθμολογία.

3.6.6. Μέθοδος Οργανοληπτικής Ανάλυσης Οίνου

3.6.6.1. Γενικές Οδηγίες

Οι οδηγίες που δόθηκαν στους δοκιμαστές και οι γενικοί κανόνες που ακολουθήθηκαν εμφανίζονται στη συνέχεια.

Ιδανικότερη χρονική περίοδος για να πραγματοποιηθεί η οργανοληπτική ανάλυση είναι η 10η έως 12η πρωινή. Για την καλύτερη δυνατή απόδοση, ο δοκιμαστής δεν πρέπει να φορά αρώματα, να είναι σε καλή φυσική και ψυχολογική κατάσταση και να μην έχει καπνίσει τουλάχιστον για μισή ώρα πριν την δοκιμή.

Οι δοκιμές πραγματοποιούνται σε χώρο οργανοληπτικών δοκιμών, κατασκευασμένο σύμφωνα με τις προδιαγραφές που περιγράφονται στα σχετικά πρότυπα έγγραφα [108, 109]. Ο χώρος της διεξαγωγής των οργανοληπτικών δοκιμών είναι καλά αεριζόμενος και με κλιματισμό στους 20-25 °C.

Τα δείγματα παρουσιάζονται σε θερμοκρασία 15 °C. Το κάθε δείγμα διαθέτει τυχαίο τριψήφιο αριθμό. Για την δοκιμή χρησιμοποιούνται ποτήρια γευστική δοκιμής ISO 3591, τα οποία κλείνονται στο στόμιο με ύαλο ωρολογίου. Ως μέσο καθαρισμού του ουρανίσκου (palate cleanser) χρησιμοποιείται ανθρακούχο νερό. Ο μέγιστος αριθμός ανά συνεδρία είναι τέσσερα δείγματα, με ανώτατο όριο τις τρεις συνεδρίες ημερησίως.

3.6.6.2. Η Μεθοδολογία της Δοκιμής

Η μέθοδος οργανοληπτικής οίνου που αναπτύχθηκε περιλαμβάνει 3 αρνητικές ιδιότητες και 11 θετικές παραμέτρους.

Οι τρεις αρνητικές ιδιότητες είναι μειονέκτημα όψης, μειονέκτημα αρώματος, μειονέκτημα γεύσης. Στο μειονέκτημα όψης περιλαμβάνονται το μουντή, καφέ, ροζ εμφάνιση, (hazy appearance, browning, pinking effect, αντίστοιχα). Στο μειονέκτημα αρώματος και στο μειονέκτημα γεύσης περιλαμβάνονται τα Μουχλιασμένο/Χωματίλα, Οξικό, Αναγωγικό, Οξειδωμένο, Ζωικό, Γαλακτικό, TCA, άλλα (Mouldy/Earthy, Acetic, Reduced, Oxidized, Animal, Lactic, TCA, others αντίστοιχα).

Οι έντεκα θετικές ιδιότητες είναι θολότητα, χρώμα, απόχρωση, φρουτώδες άρωμα, άρωμα βαρελιού, άρωμα στόματος, ξινό, γλυκό, πικρό, στυφό, διάρκεια επίγευσης (turbidity, color, hue, fruity aroma, barrel aroma, flavor intensity, sour, sweet, bitter, astringent, aftertaste duration, αντίστοιχα).

Για κάθε παράμετρο χρησιμοποιείται φύλλο δοκιμαστή, όπου η κάθε ιδιότητα συνδέεται με συνεχή κλίμακα 0-10, 10 cm. Ο δοκιμαστής καλείται να σημειώσει ένα x ή μία κάθετη γραμμή επάνω στην αντίστοιχη για την ιδιότητα γραμμή, στο σημείο που αντιλαμβάνεται την ένταση της ιδιότητας. Το φύλλο του δοκιμαστή εμφανίζεται στο παράρτημα, Σχήματα 12 και 13.

Κάθε δοκιμαστής ξεκινά με μία παρατεταμένη οπτική παρατήρηση του δείγματος. Συμπληρώνει το φύλλο δοκιμαστή για τις οπτικές παραμέτρους, δηλαδή μειονέκτημα όψης, θολότητα, χρώμα, απόχρωση (turbidity, color, hue, αντίστοιχα). Στη συνέχεια, ο δοκιμαστής εισπνέει

χωρίς να περιστρέφει το ποτήρι, ενώ στη συνέχεια εισπνέει περιστρέφοντας το ποτήρι. Συμπληρώνει το φύλλο δοκιμαστή για τις οσφρητικές παραμέτρους, δηλαδή μειονέκτημα αρώματος, φρουτώδες άρωμα, άρωμα βαρελιού (fruity aroma, barrel aroma). Τέλος, αφού ο δοκιμαστής λάβει μία πρώτη γουλιά, ο οίνος αφήνεται να ζεσταθεί ενώ μετακινείται γύρω από όλο το στόμα, μετά εισπνέει από τη μύτη και εκπύει το δείγμα. Συμπληρώνει το φύλλο δοκιμαστή για τις γευστικές παραμέτρους, δηλαδή μειονέκτημα γεύσης, άρωμα στόματος, ξινό, γλυκό, πικρό, στυφό, διάρκεια επίγευσης (flavor intensity, sour, sweet, bitter, astringent, aftertaste duration, αντίστοιχα).

Για τις αρνητικές παραμέτρους, ο δοκιμαστής καταγράφει την ένταση του μεγαλύτερου μειονεκτήματος, σε περίπτωση ύπαρξης περισσότερου του ενός, και στη συνέχεια επιλέγει τον χαρακτηρισμό του ελαττώματος που περιγράφεται στο φύλλο δοκιμαστή. Εάν το ελάττωμα δεν περιγράφεται στο φύλλο, ο δοκιμαστής επιλέγει τον όρο «άλλο».

3.6.6.3. Επεξεργασία Αποτελεσμάτων

Ο επικεφαλής της ομάδας μετρά με ακρίβεια ενός δεκαδικού ψηφίου τις εντάσεις κάθε ιδιότητας και εισάγει τα δεδομένα σε πρόγραμμα πληροφορικής. Για κάθε δείγμα υπολογίζεται η διάμεση τιμή (Me) και ο ανθεκτικός συντελεστής διακύμανσης (CVR%). Η τιμή του ανθεκτικού συντελεστή διακύμανσης για ελάττωμα, φρουτώδες άρωμα και ξινό πρέπει να είναι μικρότερη ή ίση με 20,0%. Σε διαφορετική περίπτωση, ο επικεφαλής του πάνελ πρέπει να επαναλάβει την οργανοληπτική ανάλυση για το συγκεκριμένο δείγμα σε μία διαφορετική συνεδρία [58].

Για τη συγκεκριμένη μελέτη, η εισαγωγή των δεδομένων σε πρόγραμμα πληροφορικής, πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια εξειδικευμένου λογισμικού για οργανοληπτική ανάλυση (Fizz Calculations, Biosystemes, Couternon, France) . Για τους υπολογισμούς της διάμεσης τιμής και του ανθεκτικού συντελεστή διακύμανσης, αξιοποιήθηκε το πρόγραμμα υπολογισμών του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (IOC).

3.6.6.4. Εκπαίδευση Δοκιμαστών στο Φύλλο Δοκιμαστή

Ο επικεφαλής της εκπαίδευσης προχώρησε σε εκπαίδευση των δύο ομάδων δοκιμών C και D στη χρήση του φύλλου δοκιμών Πραγματοποιήθηκαν τέσσερις (4) συνεδρίες με ανάλυση δειγμάτων οίνου. Για την εκπαίδευση των δοκιμαστών στη χρήση της συνεχούς κλίμακας, για τις αρωματικές παραμέτρους, αξιοποιήθηκαν οδηγίες εκπαίδευσης για την οργανοληπτική αξιολόγηση ελαιολάδου [60]. Για την εκπαίδευση των δοκιμαστών για τη χρήση της συνεχούς κλίμακας, για τις γευστικές παραμέτρους (ξινό, γλυκό, στυφό) αξιοποιήθηκαν πρόσφατες μελέτες [44], ενώ προστέθηκαν και συγκεντρώσεις για το πικρό, όπως εμφανίζονται στον Πίνακα 16.

Πίνακας 16. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται και οι συγκεντρώσεις για την εκπαίδευση με συνεχή κλίμακα.

Συγκέντρωση σε νερό σε θερμοκρασία δωματίου g/L						
Γεύση	Υλικό	Επίπεδο 1	Επίπεδο 2	Επίπεδο 3	Επίπεδο 4	Επίπεδο 5
Γλυκό	D(+)-Glucose	15,6	46,9	78,1	109,3	156,3
Ξινό	Tartaric acid	4	5	6	7	8
Στυφό	Grape tannin	0,5	2,2	3,6	5	6
Πικρό	Caffeine	0,05	0,3	0,5	0,7	1

3.6.7. Επικύρωση της Μεθόδου

Για την επικύρωση της μεθόδου και για τον έλεγχο της απόδοσης του κάθε δοκιμαστή, αλλά και του κάθε πάνελ, επιλέχθηκαν ένα χαρακτηριστικό ελάττωμα (όπως το «ζωικό», animal defect, με τη χρήση της ουσίας 4-ethylphenol), μία οσφρητική παράμετρος (φρουτώδες, fruity) και μία γευστική παράμετρος (ξινό, sour). Κατά τους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκαν επτά προϊόντα οίνων, τα οποία είχαν δημιουργηθεί από ελληνικές ποικιλίες αμπέλου. Η διαδικασία ήταν η ακόλουθη: κάθε ημέρα παρουσιάζονταν στους δοκιμαστές μία ομάδα τεσσάρων (4) δειγμάτων, από τα οποία τα δύο ήταν όμοια μεταξύ τους (διπλότυπα, duplicate), το ένα δείγμα επαναλαμβανόταν κάθε ημέρα (για υπολογισμό της αναπαραγωγιμότητας) και το τέταρτο ήταν ένα τυχαίο δείγμα. Το κάθε δείγμα έφερε έναν τυχαίο τριψήφιο κωδικό και η παρουσίαση γινόταν σύμφωνα με Σχεδιασμό Λατινικών Τετραγώνων (Latin Square Design).

3.6.7.1. Έλεγχος της Απόδοσης Κάθε Δοκιμαστή

Για τον έλεγχο της απόδοσης του κάθε δοκιμαστή, αξιοποιήθηκε η μέθοδος της επαναληπτικής ανάλυσης (replicate analysis), στην οποία ένα δείγμα από αυτά που είναι προς ανάλυση παρουσιάζεται στους δοκιμαστές, δύο φορές, με διαφορετικούς τριψήφιους κωδικούς στην ίδια συνεδρία.

Η απόδοση του δοκιμαστή αποτελείται από δύο διαφορετικούς παράγοντες, και συγκεκριμένα:

- Απόκλιση από τον εαυτό του κατά την ανάλυση του ίδιου δείγματος σε δύο διαφορετικούς χρόνους.

- Απόκλιση από την ομάδα (πάνελ) κατά την ίδια συνεδρία.

Για τη μέτρηση αυτών των διαφορών, χρησιμοποιήθηκε ο Αριθμός Ακρίβειας (Precision Number, PN) και ο Αριθμός Απόκλισης (Deviation Number, DN).

3.6.7.1.1. Έλεγχος της Ακρίβειας του Δοκιμαστή

Η ακρίβεια (επαναληψιμότητα και ενδιάμεση ενδοεργαστηριακή ακρίβεια) όλων των δοκιμαστών προσδιορίστηκε με τη χρήση της επαναληπτικής ανάλυσης. Η επαναληψιμότητα του κάθε δοκιμαστή ελέγχθηκε συγκρίνοντας τη βαθμολογία των εντάσεων που έδωσε ο δοκιμαστής κατά την ανάλυση ενός δείγματος εις διπλούν.

Η ενδιάμεση ακρίβεια ελέγχθηκε με την πάροδο του χρόνου μέσω του PN, το οποίο λαμβάνει υπόψη τις εντάσεις που δίνει ο δοκιμαστής σε ένα σύνολο έξι διπλών δειγμάτων, σε διαφορετικές ημέρες.

Ο Αριθμός Ακρίβειας (Precision Number, PN) ορίζεται ως

$$PN = \frac{\sum_{i=1}^n (x_{i,1} - x_{i,2})^2}{n}$$

Όπου $x_{i,1}$ και $x_{i,2}$ είναι οι τιμές που δίνονται από τον δοκιμαστή στην πρώτη και δεύτερη ανάλυση ενός διπλού δείγματος και n είναι ο αριθμός των διαφορών ($x_{i,1} - x_{i,2}$), που αντιστοιχεί στον αριθμό των διπλών δειγμάτων που αναλύονται.

Τα κριτήρια αποδοχής του δοκιμαστή ήταν: $PN_t \leq 2,0$

3.6.7.1.2. Έλεγχος Ορθότητας του Δοκιμαστή

Ορθότητα είναι η εγγύτητα συμφωνίας μεταξύ της μέσης τιμής μιας μεγάλης σειράς μετρήσεων και της αποδεκτής τιμής αναφοράς ή της

«αληθινής τιμής». Επειδή στη συγκεκριμένη περίπτωση δεν υπάρχουν υλικά αναφοράς ή υλικά από διεργαστηριακές δοκιμές επάρκειας, ως αληθινή τιμή θεωρήσαμε την τιμή της διάμεσης τιμής του πάνελ για τη συγκεκριμένη οργανοληπτική παράμετρο.

Για την εκτίμηση της ορθότητας, υπολογίστηκε ο Αριθμός Απόκλισης (Deviation Number, DN), μετά από ανάλυση έξι διπλών δειγμάτων σε διαφορετικές ημέρες.

Ο Αριθμός Απόκλισης (DN) ορίζεται ως

$$DNt = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - Me_i)^2}{n}$$

όπου DNt είναι ο Αριθμός Απόκλισης ενός δοκιμαστή για τη συγκεκριμένη οργανοληπτική παράμετρο, στο πρώτο από τα διπλότυπα δείγματα "I", x_i είναι ο βαθμός έντασης που δίνεται από τον δοκιμαστή για τη συγκεκριμένη παράμετρο, Me_i είναι η τιμή της διάμεσης τιμής του πάνελ για τη συγκεκριμένη παράμετρο, n είναι ο αριθμός των διαφορών που λαμβάνονται υπόψη για τον υπολογισμό ($n=6$ σε αυτόν τον υπολογισμό).

Τα κριτήρια αποδοχής του δοκιμαστή ήταν: $DNt \leq 2,0$

3.6.7.1.3. Έλεγχος της Ακρίβειας της Ομάδας Δοκιμών

Η επαναληψιμότητα του πάνελ αξιολογήθηκε συγκρίνοντας το ζεύγος των διάμεσων τιμών που λήφθηκαν με την ανάλυση ενός δείγματος εις διπλούν, με τον υπολογισμό του Κανονικοποιημένου Σφάλματος (Normalized Error, En).

Η ακρίβεια του πάνελ ελέγχθηκε συγκρίνοντας τα ζεύγη των διάμεσων τιμών που λήφθηκαν με την ανάλυση έξι διπλών δειγμάτων

(συνολικά δώδεκα δείγματα που αναλύθηκαν), με τον υπολογισμό του Αριθμού Ακρίβειας για το πάνελ (PNp).

Πιο συγκεκριμένα, το Κανονικοποιημένο Σφάλμα (Normalized Error, En) υπολογίστηκε σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$En_p = \frac{(|Me_1 - Me_2|)}{\sqrt{U_1^2 + U_2^2}}$$

όπου: En είναι το Κανονικοποιημένο Σφάλμα του πάνελ για τη συγκεκριμένη οργανοληπτική παράμετρο, Me₁ και Me₂ είναι οι διάμεσες τιμές, που λαμβάνονται από το πάνελ για τη συγκεκριμένη παράμετρο στην πρώτη και δεύτερη ανάλυση ενός δείγματος, αντίστοιχα, U₁ και U₂, είναι οι αντίστοιχες διευρυμένες αβεβαιότητες υπολογισμένες ως c*s₁ και c*s₂, με c=1,96 για 95% πιθανότητα, όντας s₁ και s₂ οι πειραματικές σταθερές τιμές τυπικής απόκλισης των διάμεσων τιμών Me₁ και Me₂, αντίστοιχα, για την παράμετρο.

Το κριτήριο αποδοχής για το πάνελ ήταν: En ≤ 1,0

Ο Αριθμός Ακρίβειας για το πάνελ (Precision Number, PNp) υπολογίστηκε σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$PNp = \frac{\sum_{i=1}^n (Me_{i,1} - Me_{i,2})^2}{n}$$

Όπου το PNp είναι ο δείκτης συνέπειας ενός πάνελ "p", για τη συγκεκριμένη οργανοληπτική παράμετρο, κατά την αξιολόγηση ενός δείγματος εις διπλούν, τα Me₁, Me₂ είναι οι διάμεσες τιμές του πάνελ για τη συγκεκριμένη παράμετρο στην πρώτη και δεύτερη αξιολόγηση του διπλότυπου δείγματος, αντίστοιχα, n είναι ο αριθμός των διπλών δειγμάτων που λαμβάνονται υπόψη (στην περίπτωση αυτή, έξι διπλά δείγματα, n=6).

Τα κριτήρια αποδοχής ήταν: PNp ≤ 2,0

3.6.7.1.4. Υπολογισμός Αναπαραγωγιμότητας

Για την εκτίμηση της αναπαραγωγιμότητας πραγματοποιήθηκαν έξι δοκιμές του ίδιου δείγματος οίνου, σε διαφορετικές ημέρες. Το δείγμα που δοκιμάστηκε ήταν ερυθρός ξηρός από την ποικιλία Αγιωργίτικο, το οποίο είχε υποστεί παλαίωση σε δρύινα βαρέλια. Από τα αποτελέσματα της ομάδας δοκιμής υπολογίστηκε η διάμεση τιμή, η τυπική απόκλιση και η σχετική τυπική απόκλιση.

3.6.8. Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα – Στατιστική Ανάλυση

Η αναπτυχθείσα μέθοδος εφαρμόστηκε, ώστε το πάνελ C να αναλύσει οργανοληπτικά τα είκοσι πέντε εμπορικά προϊόντα ΠΟΠ Νεμέα. Κάθε δείγμα αναλύθηκε εις διπλούν και υπολογίστηκε η διάμεση τιμή για κάθε οργανοληπτική παράμετρο. Στη συνέχεια, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των δύο τιμών για κάθε οργανοληπτική παράμετρο.

Επιπλέον, τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης κατά ένα κριτήριο (one-way analysis of variance, ANOVA) για τα προϊόντα, προκειμένου να αξιολογηθεί η διακριτική ικανότητα κάθε οργανοληπτικής παραμέτρου [51] και σε ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) με τη χρήση του λογισμικού JMP software 18.0.1. version (SAS, Campus Drive Cary, NC, USA).

3.7. Μελέτη Παλαίωσης Αγιωργίτικου με Ξυλοθραύσματα Δρυός

3.7.1. Οίνοι

Για την πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης, χρησιμοποιήθηκε ερυθρός οίνος από την ποικιλία Αγιωργίτικο (*Vitis vinifera* L.). Ο οίνος

παράχθηκε σε εμπορικό οινοποιείο κατά την εσοδεία του 2017. Για την παραγωγή του ακολουθήθηκε πρωτόκολλο ερυθρής οινοποίησης, ενώ μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης πραγματοποιήθηκε μηλογαλακτική ζύμωση.

3.7.2. Ξυλοθραύσματα Δρυός

Τα κομμάτια ξύλου που χρησιμοποιήθηκαν ήταν εμπορικά προϊόντα, από γαλλική δρυ (*Q. robur*), του οίκου Oak Add-Ins Nadalié (Ludon-Médoc, France). Πιο συγκεκριμένα, για την παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τρία εμπορικά προϊόντα, ξυλοθραύσματα γαλλικής δρυός, με τρεις διαφορετικούς τύπους καψίματος: χαμηλό κάψιμο (low toasted, LT), μεσαίο κάψιμο (medium toasted, MT), υψηλό κάψιμο (heavy toasted, HT). Τα κομμάτια ξύλου ήταν ακανόνιστου σχήματος, με διαστάσεις περίπου 1 cm x 1,5 cm x 0,2 cm. Το βάρος των ξυλοθραυσμάτων για κάθε βαθμό καψίματος υπολογίστηκε με την ακόλουθη μεθοδολογία. Το βάρος 100 τεμαχίων μετρήθηκε με χρήση διακριβωμένου ζυγού, εις τριπλούν. Τα βάρη μετρήθηκαν ως ακολούθως: Χαμηλό Κάψιμο (LT) 120±19 g/100 τεμάχια, Μεσαίο Κάψιμο (MT) 54±7 g/100 τεμάχια, Υψηλό Κάψιμο (HT) 33±6 g/100 τεμάχια.

3.7.3. Δημιουργία Δειγμάτων – Πειραματικός Σχεδιασμός

Ο αρχικός οίνος χωρίστηκε σε παρτίδες των 20 L περίπου. Δύο παρτίδες παρέμειναν χωρίς την προσθήκη ξυλοθραυσμάτων και χρησιμοποιήθηκαν ως (a) μάρτυρας (control). Στις υπόλοιπες παρτίδες προστέθηκαν:

(b) Χαμηλό Κάψιμο (Low Toasted) 1 g/L,

- (c) Χαμηλό Κάψιμο (Low Toasted) 2 g/L,
- (d) Χαμηλό Κάψιμο (Low Toasted) 4 g/L,
- (e) Μεσαίο Κάψιμο (Medium Toasted) 1 g/L,
- (f) Μεσαίο Κάψιμο (Medium Toasted) 2 g/L,
- (g) Μεσαίο Κάψιμο (Medium Toasted) 4 g/L,
- (h) Υψηλό Κάψιμο (Heavy Toasted) 1 g/L,
- (i) Υψηλό Κάψιμο (Heavy Toasted) 2 g/L,
- (k) Υψηλό Κάψιμο (Heavy Toasted) 4 g/L.

Η προσθήκη έγινε εις διπλούν και τα δείγματα κλείστηκαν σε συσκευασία ασκού (bag-in-box). Μετά την πάροδο 30 ημερών από κάθε υποπαρτίδα λήφθηκε ένα δείγμα περίπου 400 mL, ώστε να πραγματοποιηθούν οι απαραίτητες αναλύσεις εις διπλούν. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε μετά την πάροδο 60 ημερών και 90 ημερών. Να σημειωθεί ότι διαφορετικοί περιέκτες οίνου χρησιμοποιήθηκαν για τις τρεις περιόδους επαφής του ξύλου με τον οίνο.

3.7.4. Φυσικοχημικές Αναλύσεις

Ο αρχικός οίνος, ο οποίος χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας και ως υπόστρωμα για την προσθήκη των ξυλοθραυσμάτων δρυός, μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης υποβλήθηκε σε φυσικοχημικές αναλύσεις σύμφωνα με μεθόδους του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (OIV) [110] ή επικυρωμένες και διαπιστευμένες μεθόδους [111].

Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις εις διπλούν για αλκοολικό τίτλο με χρήση υδροστατικού ζυγού «Densimat and Alcomat» του οίκου Gibertini (Milan, Italy) σύμφωνα με την μέθοδο OIV-MA-AS312-01A, πυκνότητα στους 20 °C με χρήση υδροστατικού ζυγού «Densimat and Alcomat» του οίκου Gibertini (Milan, Italy) σύμφωνα με την μέθοδο OIV-MA-AS2-01A, pH με χρήση πεχαμέτρου «HI 255» του οίκου Hanna Instruments Hellas (Αθήνα, Ελλάδα) σύμφωνα με την μέθοδο OIV-MA-AS313-15, ολική οξύτητα σύμφωνα με την μέθοδο OIV-MA-AS313-01, πτητική οξύτητα με χρήση ηλεκτρονικού τιτλοδότη «Quick» του οίκου Gibertini (Milan, Italy) σύμφωνα με την μέθοδο OIV-MA-AS313-02, ανάγοντα σάκχαρα σύμφωνα με την μέθοδο OIV-MA-AS311-01A, ολικό ξηρό υπόλειμμα με χρήση υδροστατικού ζυγού «Densimat and Alcomat» του οίκου Gibertini (Milan, Italy) σύμφωνα με την μέθοδο OIV-MA-AS2-03B, ένταση χρώματος με χρήση φασματοφωτομέτρου «Helios A» του οίκου Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA) σύμφωνα με την μέθοδο OIV-MA-AS2-07B, απόχρωση με χρήση φασματοφωτομέτρου «Helios A» του οίκου Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA) σύμφωνα με την μέθοδο OIV-MA-AS2-07B, Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ, TPI, A₂₈₀) με χρήση φασματοφωτομέτρου «Helios A» του οίκου Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA), ολικό θειώδες με χρήση ηλεκτρονικού τιτλοδότη «Quick» του οίκου Gibertini (Milan, Italy) σύμφωνα με επικυρωμένη και διαπιστευμένη μέθοδο από το Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης (Ε.ΣΥ.Δ.) με κωδικό «O 1172 In house method», ελεύθερο θειώδες με χρήση ηλεκτρονικού τιτλοδότη «Quick» του οίκου Gibertini (Milan, Italy) σύμφωνα με επικυρωμένη και διαπιστευμένη μέθοδο από το Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης (Ε.ΣΥ.Δ.) με κωδικό «O 1171 In house method».

3.7.5. Προσδιορισμός Πτητικών Ενώσεων του Αρώματος

Για τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων του αρώματος, χρησιμοποιήθηκε η αναπτυχθείσα μέθοδος σε GC-MS/MS, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.3. της παρούσας.

3.7.6. Οργανοληπτική Ανάλυση

Η οργανοληπτική ανάλυση πραγματοποιήθηκε από ομάδα δέκα εκπαιδευμένων δοκιμαστών, με τη χρήση της αναπτυχθείσας μεθόδου οργανοληπτικής ανάλυσης που περιγράφεται στην ενότητα 3.4. της παρούσας.

Στη μέθοδο που έχει ήδη αναπτυχθεί, για τις ανάγκες της έρευνας σχετικά με την ωρίμαση Αγιωργίτικου με χρήση ξυλοθραυσμάτων δρυός, προστέθηκαν οι παράμετροι καπνιστού αρώματος (smoky aroma) και η πολυπλοκότητα αρώματος (aroma complexity).

Για την εκπαίδευση των δοκιμαστών, για το καπνιστό άρωμα χρησιμοποιήθηκε μίγμα ουσιών guaiacol και 4-ethylguaiacol, ενώ για την πολυπλοκότητα αρώματος χρησιμοποιήθηκε μίγμα ουσιών με ουσίες που συνεισφέρουν στο φρουτώδες άρωμα και ουσίες που συνεισφέρουν στο άρωμα βαρελιού, και πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν οι ουσίες ethyl caproate, ethyl caprylate, isoamyl acetate, vanillin και whiskey lactone. Για την κάθε παράμετρο, πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός συνθετικού οίνου ώστε να δημιουργηθούν δείγματα με συγκεντρώσεις περίπου δεκαπλάσιες (10x), εικοσαπλάσιες (20x) και πενήνταπλάσιες (50x) από το κατώφλι αντίληψης της κάθε ένωσης [98, 99, 100].

Πιο συγκεκριμένα για το καπνιστό άρωμα δημιουργήθηκαν τρία διαλύματα εμβολιασμένου συνθετικού οίνου (S1, S2, S3) με τελικές συγκεντρώσεις όπως φαίνεται ακολούθως:

- S1: guaiacol 100 µg/L, 4-ethylguaiacol 300 µg/L,
- S2: guaiacol 200 µg/L, 4-ethylguaiacol 600 µg/L,
- S3: guaiacol 500 µg/L, 4-ethylguaiacol 1000 µg/L.

Για την πολυπλοκότητα αρώματος δημιουργήθηκαν τρία διαλύματα εμβολιασμένου συνθετικού οίνου (C1, C2, C3) με τελικές συγκεντρώσεις όπως φαίνεται ακολούθως:

- C1: ethyl caproate 100 µg/L, ethyl caprylate 50 µg/L, isoamyl acetate 300 µg/L, vanillin 500 µg/L, whiskey lactone 500 µg/L.
- C2: ethyl caproate 300 µg/L, ethyl caprylate 100 µg/L, isoamyl acetate 600 µg/L, vanillin 800 µg/L, whiskey lactone 800 µg/L.
- C3: ethyl caproate 700 µg/L, ethyl caprylate 250 µg/L, isoamyl acetate 1,500 µg/L, vanillin 1,500 µg/L, whiskey lactone 1,500 µg/L.

Τα τρία διαλύματα εμβολιασμένου οίνου χρησιμοποιήθηκαν, ώστε να εκπαιδευτούν οι δοκιμαστές σε χρήση συνεχούς κλίμακας 0-10, 10 cm, για την κάθε παράμετρο.

3.7.7. Στατιστική Ανάλυση

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε τέσσερα δείγματα ανά παρτίδα, αφού ο μάρτυρας και η κάθε παρτίδα προσθήκης ξυλοθραυσμάτων χωρίστηκε σε δύο υποπαρτίδες και η κάθε υποπαρτίδα αναλύθηκε εις διπλούν. Μετά το πέρας των αναλύσεων, υπολογίστηκε ο

μέσος όρος των τεσσάρων δειγμάτων για κάθε παράμετρο και κάθε παρτίδα.

Επιπλέον, τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) με τη χρήση του λογισμικού JMP software 18.0.1. version (SAS, Campus Drive Cary, NC, USA), με σκοπό να διερευνηθεί η εμφανής διαφοροποίηση κάποιων παρτίδων από το σύνολο, καθώς και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που ενδεχομένως διαφοροποιούν τις συγκεκριμένες παραμέτρους. Για την PCA αξιοποιήθηκαν αποτελέσματα τόσο της οργανοληπτικής ανάλυσης, όσο και του προσδιορισμού πτητικών αρωματικών ενώσεων με χρήση GC-MS/MS.

Τέλος Κεφαλαίου 3 – Υλικά και Μέθοδοι

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. Ανάπτυξη Μεθόδου σε GC-MS/MS – Ζεύγη Θραυσμάτων

Για κάθε πτητική ένωση, επιλέχθηκαν τουλάχιστον δύο ζεύγη θραυσμάτων (για το πρώτο τετράπολο Q1 και για το τρίτο τετράπολο Q3). Το ζεύγος με την υψηλότερη ένταση χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση, ενώ το ζεύγος με την χαμηλότερη ένταση χρησιμοποιείται για ταυτοποίηση.

Για τις ενώσεις acetovanillone, isoeugenol, ethyl cinnamate, eugenol, και whiskey lactone, επιλέχθηκαν τρία ζεύγη θραυσμάτων, αφού το δεύτερο και το τρίτο ζεύγος θραυσμάτων είχαν παρόμοια ένταση.

Για κάθε ένωση, με εξαίρεση τις ενώσεις isobutyl acetate and whiskey lactone, το πρώτο θραύσμα (του πρώτου τετράπολου, Q1) είναι κοινό και για τα δύο ζεύγη, ενώ το δεύτερο θραύσμα (του τρίτου τετράπολου, Q3) είναι διαφορετικό. Οι ενώσεις isobutyl acetate και whiskey lactone έχουν διαφορετικό πρώτο θραύσμα σε κάθε ζεύγος.

Η βέλτιστη ενέργεια σύγκρουσης (CE) για κάθε ένωση κυμαίνεται από 5 έως 15 eV. Οι χρόνοι κατακράτησης κυμαίνονται από 7,8 έως 25,8 min.

Ορισμένες ενώσεις διαθέτουν το ίδιο ή πολύ κοντινό m/z στο πρώτο θραύσμα, οι οποίες θα μπορούσαν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις ομάδες. Πιο συγκεκριμένα, η Ομάδα 1 αποτελείται από τις ενώσεις ethyl caproate, ethyl caprylate, ethyl decanoate, και ethyl dodecanoate. Η Ομάδα 2 αποτελείται από τις ενώσεις ethyl-3-hydroxybutyrate και ethyl butyrate. Η Ομάδα 3 αποτελείται από τις ενώσεις geraniol και linalool. Η Ομάδα 4 αποτελείται από τις ενώσεις eugenol και isoeugenol. Κάθε μία ένωση, όμως, έχει σημαντικά διαφορετικό χρόνο κατακράτησης σε σύγκριση με

τις υπόλοιπες ενώσεις της ίδιας ομάδας. Ως αποτέλεσμα αυτού, κάθε ένωση δύναται να ποσοτικοποιηθεί και να ταυτοποιηθεί με υψηλή εμπιστοσύνη.

Οι ενώσεις *cis*-whiskey lactone και *trans*-whiskey lactone εμφανίζουν σημαντικά διαφορετικούς χρόνους κατακράτησης, με αποτέλεσμα να υπάρχει εξαιρετικός διαχωρισμός των αντίστοιχων χρωματογραφικών κορυφών. Για την ποσοτικοποίηση της ένωσης whiskey lactone, οι επιφάνειες των δύο κορυφών αθροίζονται και μία νέα καμπύλη βαθμονόμησης συγκέντρωσης-επιφάνειας δημιουργείται.

4.2. GC-MS/MS – Επικύρωση Μεθόδου

4.2.1. Μεταπτώσεις Μαζών

Τα λεπτομερή στοιχεία των παραμέτρων MRM (multiple reaction monitoring) εμφανίζονται στον Πίνακα 17. Στον πίνακα παρουσιάζονται τα δύο ή τρία ζεύγη θραυσμάτων που επιλέχθηκαν για κάθε ένωση, το επιλεγμένο ζεύγος θραυσμάτων για την ποσοτικοποίηση, η βέλτιστη ενέργεια σύγκρουσης (CE) για κάθε ζεύγος, όπως επίσης και ο χρόνος κατακράτησης για κάθε πτητική ένωση.

Πίνακας 17. Η σχετική μοριακή μάζα (Mr), τα Mass Spectral Transitions για το πρώτο τετράπολο (Q1) και για το τρίτο τετράπολο (Q3), τα επιλεγμένα collision energies (CEs), και ο χρόνος κατακράτησης (retention time) για την ανάλυση των πτητικών ενώσεων. Το ζεύγος που χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση (με την μεγαλύτερη ένταση) εμφανίζεται με έντονη γραφή (**bold**) για κάθε ένωση.

Ένωση	Mr	Q1	Q3	CE	tR
2-Methoxy-4-methylphenol	138,16	123,18	94,88	5	19,39
2-Methoxy-4-methylphenol	138,16	123,18	67,08	5	19,39
2-Methoxy-4-vinylphenol	150,17	135,24	77,1	15	21,94
2-Methoxy-4-vinylphenol	150,17	135,24	107,03	15	21,94
2-Phenethyl acetate	164,2	104,28	78,04	15	20,74
2-Phenethyl acetate	164,2	104,28	103,02	15	20,74
2-Phenylethanol	122,16	91,12	65,06	15	17,67
2-Phenylethanol	122,16	91,12	63,3	15	17,67
3-(Methylthio)propionaldehyde	104,17	76,08	61,12	5	12,32
3-(Methylthio)propionaldehyde	104,17	76,08	48,06	5	12,32
4-Ethylguaiacol	152,19	137,3	122,04	5	21,19
4-Ethylguaiacol	152,19	137,3	94,01	5	21,19
4-Ethylphenol	122,17	106,95	77	15	15,56
4-Ethylphenol	122,17	106,95	78,99	15	15,56
4-Vinylphenol	120,15	91,2	65,06	15	19,9
4-Vinylphenol	120,15	91,2	50,67	15	19,9
Acetovanillone	166	150,95	107,92	15	21,7
Acetovanillone	166	150,95	122,97	15	21,7
Acetovanillone	166	150,95	76,99	15	21,7
Benzyl acetate	150,17	108,18	107,09	5	18,76
Benzyl acetate	150,17	108,18	79,13	5	18,76
Citral	152,23	94,21	79,18	10	21
Citral	152,23	94,21	77,14	10	21
Citronelol	156,07	82,25	67,12	5	20,12
Citronelol	156,07	82,25	65,09	5	20,12
Damascenone	190,28	121,35	105,32	5	23,32
Damascenone	190,28	121,35	118,86	5	23,32
Decyl aldehyde	156,27	82,36	67,06	5	19,7
Decyl aldehyde	156,27	82,36	65,14	5	19,7
Ethyl 2-methylbutyrate	130,19	102,25	73,6	5	10,62
Ethyl 2-methylbutyrate	130,19	102,25	74,34	5	10,62
Ethyl 3-hydroxybutyrate	132,16	88,13	60,09	5	13,08
Ethyl 3-hydroxybutyrate	132,16	88,13	60,76	5	13,08

Ethyl butyrate	116,16	88,13	73,05	5	9,1
Ethyl butyrate	116,16	88,13	61,14	5	9,1
Ethyl caproate	144,21	87,94	60,05	5	11,66
Ethyl caproate	144,21	87,94	61,02	5	11,66
Ethyl caprylate	172,3	87,94	59,98	5	19,45
Ethyl caprylate	172,3	87,94	61,04	5	19,45
Ethyl cinnamate	176,2	130,98	102,95	5	21,36
Ethyl cinnamate	176,2	130,98	76,99	5	21,36
Ethyl cinnamate	176,2	130,98	90,95	5	21,36
Ethyl decanoate	200,3	87,94	59,97	5	23,42
Ethyl decanoate	200,3	87,94	61,05	5	23,42
Ethyl dodecanoate	228,4	87,94	60,01	5	25,77
Ethyl dodecanoate	228,4	87,94	60,98	5	25,77
Ethyl isobutyrate	116,16	116,16	73,08	5	7,8
Ethyl isobutyrate	116,16	116,16	88,24	5	7,8
Ethyl isovalerate	130,18	88,18	60,02	5	10,74
Ethyl isovalerate	130,18	88,18	55,01	5	10,74
Ethyl vanillin	166,2	136,91	108,93	5	21,15
Ethyl vanillin	166,2	136,91	80,97	5	21,15
Eugenol	164,2	164,01	148,98	5	19,24
Eugenol	164,2	164,01	130,97	5	19,24
Eugenol	164,2	164,01	120,96	5	19,24
Geraniol	154,25	93,22	72,25	5	20,63
Geraniol	154,25	93,22	91,07	5	20,63
Guaiacol	124,1	108,91	80,97	5	13,7
Guaiacol	124,1	108,91	53,03	5	13,7
Hexanal	100,16	56,07	41,15	5	9,08
Hexanal	100,16	56,07	39,29	5	9,08
Hexyl acetate	144,2	83,94	54,93	5	15,2
Hexyl acetate	144,2	83,94	56,15	5	15,2
Isoamyl acetate	130,19	70,02	55,05	5	8,61
Isoamyl acetate	130,19	70,02	53,06	5	8,61
Isobutyl acetate	116,16	73,15	43,15	5	8,27
Isobutyl acetate	116,16	56,09	41,24	5	8,27
Isoeugenol	164,2	164	148,98	5	21,03
Isoeugenol	164,2	164	130,94	5	21,03
Isoeugenol	164,2	164	120,95	5	21,03
Linalool	154,25	93,23	77,05	5	17,32

Linalool	154,25	93,23	91,03	5	17,32
Phenol	94,11	94,1	66,1	10	13,4
Rose oxide	154,25	69,11	41,23	5	18
Rose oxide	154,25	69,11	65,29	5	18
Thymol	150,22	135,34	91,03	15	21,45
Thymol	150,22	135,34	115,06	15	21,45
Vanillin	120,15	151,97	150,97	10	20,25
Vanillin	120,15	151,97	122,92	10	20,25
Whiskey lactone	156,22	99,03	71,06	5	18
Whiskey lactone	156,22	99,03	41,18	5	18
Whiskey lactone	156,22	114,16	71,06	5	18
β-Ionone	192,3	177,53	162,18	15	24,8
β -Ionone	192,3	177,53	147,16	15	24,8

4.2.2. Γραμμικότητα

Ο Πίνακας 18 παρουσιάζει τις παραμέτρους (κλίση, b και τεταγμένη, a) της καμπύλης βαθμονόμησης καθώς και τα στατιστικά δεδομένα της γραμμικότητας για κάθε ένωση. Το εύρος συγκεντρώσεων για κάθε ένωση αναφέρεται στην παράγραφο 3.4.2.1..

Πίνακας 18. Στατιστικά στοιχεία της καμπύλης βαθμονόμησης για κάθε ένωση.

a/a	Ένωση	a	b	s _a	s _b	r	R ²
1	2-Methoxy-4-methylphenol	0,81	23,127	0,655	0,907	0,9977	0,9954
2	2-Methoxy-4-vinylphenol	0,056	4,217	0,051	0,07	0,9996	0,9992
3	2-Phenylethanol	0,06	1,54	0,018	0,024	0,9996	0,9993
4	2-Phenethyl acetate	0,844	28,329	0,855	1,185	0,9974	0,9948
5	3-(Methylthio)propionaldehyde	0,034	2,46	0,022	0,03	0,9998	0,9996
6	4-Ethylguaiacol	0,371	18,422	0,358	0,496	0,9989	0,9978
7	4-Ethylphenol	2,094	95,626	2,187	3,029	0,9985	0,997
8	4-Vinylphenol	0,311	9,385	0,145	0,201	0,9993	0,9986
9	Acetovanillone	0,308	31,36	0,296	0,409	0,9997	0,9995
10	Benzyl acetate	0,11	21,067	0,139	0,193	0,9999	0,9997
11	Citral	-0,057	1,847	0,061	0,085	0,9968	0,9937
12	Citronelol	0,141	5,093	0,2	0,276	0,9956	0,9912
13	Damascenone	0	0,065	0,002	0,002	0,9981	0,9963
14	Decyl aldehyde	0,004	2,734	0,032	0,081	0,9987	0,9974
15	Ethyl 2-methylbutyrate	0,233	7,937	0,167	0,232	0,9987	0,9975
16	Ethyl 3-hydroxybutyrate	0,055	3,061	0,059	0,081	0,9989	0,9979
17	Ethyl butyrate	0,078	2,522	0,065	0,09	0,9981	0,9962
18	Ethyl caproate	0,419	12,717	0,414	0,574	0,997	0,9939
19	Ethyl caprylate	-0,158	15,923	0,198	0,491	0,9986	0,9972
20	Ethyl cinnamate	1,887	91,941	2,143	2,968	0,9984	0,9969
21	Ethyl decanoate	-0,16	11,489	0,283	0,704	0,9944	0,9889
22	Ethyl dodecanoate	0,119	2,588	0,055	0,084	0,9984	0,9968
23	Ethyl isobutyrate	-0,008	3,338	0,073	0,101	0,9986	0,9972
24	Ethyl isovalerate	0,116	2,35	0,101	0,14	0,9947	0,9895
25	Ethyl vanillin	0,334	49,455	0,626	0,866	0,9995	0,9991
26	Eugenol	0,092	24,876	0,111	0,154	0,9999	0,9999
27	Geraniol	0,067	1,586	0,053	0,074	0,9968	0,9936
28	Guaiacol	1,211	58,653	1,091	1,51	0,999	0,998
29	Hexanal	0,088	2,72	0,052	0,072	0,999	0,9979
30	Hexyl acetate	0,029	2,141	0,02	0,028	0,9998	0,9995
31	Isoamyl acetate	0,052	9,023	0,058	0,081	0,9999	0,9998
32	Isobutyl acetate	0,021	1,618	0,012	0,017	0,9998	0,9997
33	Isoeugenol	0,067	11,507	0,142	0,197	0,9996	0,9991
34	Linalool	0,147	8,802	0,126	0,175	0,9994	0,9988
35	Rose oxide	0,297	3,498	0,194	0,268	0,9913	0,9827
36	Thymol	1,242	38,62	0,91	1,26	0,9984	0,9968

37	<i>cis</i> -Whiskey lactone	0,182	9,869	0,141	0,195	0,9994	0,9988
38	<i>trans</i> -Whiskey lactone	0,284	6,485	0,251	0,347	0,9957	0,9915
39	Vanillin	-0,074	98,963	0,729	1,009	0,9998	0,9997
40	β -Ionone	0,001	0,213	0,01	0,013	0,9943	0,9885

Οι τιμές του συντελεστή προσδιορισμού (R^2) για όλες τις ενώσεις ήταν υψηλότερες από 0,98. Πιο συγκεκριμένα, οι τιμές του R^2 κυμάνθηκαν από 0,9827 έως 1,0000.

Τέσσερις ενώσεις είχαν τιμές R^2 μεταξύ 0,9827 και 0,9895· έξι ενώσεις είχαν τιμές R^2 μεταξύ 0,990 και 0,995· και τριάντα ενώσεις είχαν τιμές R^2 υψηλότερες από 0,995.

Δώδεκα από αυτές τις τριάντα ενώσεις είχαν τιμές R^2 υψηλότερες από 0,999.

4.2.3. Επαναληψιμότητα – Ανακτήσεις

Ο Πίνακας 19 δείχνει την μέση ανάκτηση, την τυπική απόκλιση (SD) και τη σχετική τυπική απόκλιση (RSD%) για κάθε ένωση, σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης: 10 και 500 $\mu\text{g/L}$.

Πίνακας 19. Η μέση ανάκτηση (%Recovery), τυπική απόκλιση (s) και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD%) για κάθε ένωση, σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης.

Επίπεδο Συγκέντρωσης Ένωση	10 $\mu\text{g/L}$			500 $\mu\text{g/L}$		
	% Recovery	s	RSD %	% Recovery	s	RSD %
2-Methoxy-4-methylphenol	87,8	10	11,3	109,4	14,4	13,2
2-Methoxy-4-vinylphenol	108	13,1	12,1	97,2	15,3	15,8
2-Phenethyl acetate	88,8	20	22,5	119,7	5,1	4,2
2-Phenylethanol	92,3	13,4	14,5	81,2	5,2	6,4
3 – (Methylthio)propionaldehyde	109,3	11,8	10,8	110,7	10,3	9,3
4-Ethylguaiacol	89,7	10,2	11,4	104,7	7,2	6,9
4-Ethylphenol	87,6	15,6	17,8	90,7	11,6	12,8
4-Vinylphenol	94,9	15,3	16,1	92,3	7,4	8

Acetovanillone	90,9	8,6	9,5	106,7	7,5	7
Benzyl acetate	94,3	13	13,8	111,2	9,7	8,7
Citral	92,8	13,3	14,3	94,1	8,2	8,7
Citronelol	95,3	12,6	13,2	102,7	10,3	10
Damascenone	96,8	17,4	18	112,7	11,1	9,8
Decyl aldehyde	92	18,7	20,3	96,3	8,6	9
Ethyl 2-methylbutyrate	1 12,7	13,6	12,1	114,8	9	7,9
Ethyl 3-hydroxybutyrate	115,9	5	4,3	110,8	9	8,2
Ethyl butyrate	1 13,4	5,2	4,6	111,3	7,7	6,9
Ethyl caproate	109,4	4,7	4,3	107,3	9,7	9
Ethyl caprylate	109,4	5,9	5,4	110,2	4,2	3,8
Ethyl cinnamate	89,2	10,2	11,5	106,3	13,1	12,4
Ethyl decanoate	1 11,3	7,1	6,4	115,9	4,1	3,5
Ethyl dodecanoate	88,6	15,8	17,8	110,9	7,3	6,6
Ethyl isobutyrate	1 14,0	9,3	8,2	115,7	5,7	5
Ethyl isovalerate	102,1	13	12,8	91,3	6,7	7,3
Ethyl vanillin	101,3	12,8	12,7	112,4	9,7	8,7
Eugenol	93,2	10	10,7	100,8	8,7	8,6
Geraniol	99,7	13,7	13,8	103	4,6	4,5
Guaiacol	98,9	10,3	10,4	111,8	4,2	3,8
Hexanal	94,2	18,4	19,5	112,1	8,7	7,8
Hexyl acetate	93,5	7,9	8,5	105,8	7,7	7,3
Isoamyl acetate	103,2	19,5	18,8	103,7	12,7	12,3
Isobutyl acetate	1 12,5	9,5	8,5	105,8	8,1	7,7
Isoeugenol	84,6	7,2	8,6	102,9	6,8	6,6
Linalool	93,4	13,1	14	111,5	8,2	7,3
Rose oxide	93,8	17	18,2	108,6	8,4	7,7
Thymol	86,9	17	19,5	110,9	10,3	9,3
<i>cis</i> -Whiskey lactone	98,8	19,4	19,7	102,8	12,1	11,8
<i>trans</i> -Whiskey lactone	95,2	15,6	16,4	108,1	5,2	4,8
Vanillin	94,6	18	19	102,8	13,1	12,8
β -Ionone	1 11,2	5,1	5,5	182,6	29,6	16,2

Στο επίπεδο των 10 $\mu\text{g/L}$, το εύρος ανάκτησης για όλες τις ενώσεις ήταν μεταξύ 84,6% και 116%. Η σχετική τυπική απόκλιση (RSD%) ήταν κάτω από 20% για όλες τις ενώσεις εκτός από τις decyl aldehyde (20,5%)

και 2-phenethyl acetate (22,5%). Η σχετική τυπική απόκλιση (RSD%) κυμάνθηκε από 4,3% έως 22,5%.

Στο επίπεδο των 500 μg/L, το εύρος ανάκτησης για όλες τις ενώσεις ήταν μεταξύ 81,2% και 120%, με εξαίρεση την β-ionone (183%). Η σχετική τυπική απόκλιση (RSD%) ήταν κάτω από 20% για όλες τις ενώσεις εκτός από τις decyl aldehyde (16%) και ethyl butyrate (16%). Η σχετική τυπική απόκλιση (RSD%) κυμάνθηκε από 3,5% έως 16%.

4.2.4. Αναπαραγωγικότητα

Η συγκέντρωση κάθε ένωσης υπολογίστηκε αφαιρώντας τη συγκέντρωση πριν την προσθήκη του προτύπου από τη συγκέντρωση μετά την προσθήκη του προτύπου. Η μέση ανάκτηση, η τυπική απόκλιση και η σχετική τυπική απόκλιση υπολογίστηκαν για κάθε ένωση βάσει των αναλύσεων των έξι δειγμάτων.

Η συνδυασμένη αβεβαιότητα αναπαραγωγικότητας ήταν μικρότερη από 20% για όλες τις ενώσεις (εκτός από την ένωση citral, η οποία είχε υψηλή συνδυασμένη αβεβαιότητα αναπαραγωγικότητας, 36,2%), και κυμαινόταν από 4,2% έως 17,0%, όπως φαίνεται στον Πίνακα 20. Η συνδυασμένη αβεβαιότητα, για επίπεδο εμπιστοσύνης 95%, ήταν μεταξύ 8,4% και 34,0% (εκτός από την ένωση citral, η οποία είχε τιμή 72,4%).

Πίνακας 20. Η συνδυασμένη αβεβαιότητα αναπαραγωγιμότητας, η αβεβαιότητα για επίπεδο εμπιστοσύνης 95% (k=2), το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) και το όριο ανίχνευσης (LOD) για κάθε ένωση.

Επίπεδο Συγκέντρωσης	500 µg/l				
Ένωση	Αβεβαιότητα Συνδυασμένης Αναπαραγωγιμότητας	Αβεβαιότητα για Επίπεδο Εμπιστοσύνης 95% (k=2)	LOQ (µg/L)	LOD (µg/L)	
2-Methoxy-4-methyl phenol	7,9	15,8	0,05	0,015	
2-Methoxy-4-vinylphenol	9,5	19	0,05	0,015	
2-phenylethanol	17	34	1	0,3	
2-phenylethyl acetate	16,3	32,6	0,05	0,015	
3-(Methylthio)propionaldehyde	8,7	17,4	0,5	0,15	
4-Ethylguaiacol	14,1	28,2	0,5	0,15	
4-Ethylphenol	6	12	0,1	0,03	
4-vinylphenol	8,4	16,8	5	1,5	
Acetovanillone	9,5	19	0,05	0,015	
Benzyl acetate	6,2	12,4	0,1	0,03	
Citral	36,2	72,4	5	1,5	
Citronelol	7,4	14,8	1	0,3	
Damascenone	5	10	5	1,5	
Decyl aldehyde	12,7	25,4	1	0,3	
Ethyl 2-methylbutyrate	7,5	15	0,05	0,015	
Ethyl 3-hydroxybutyrate	5,3	10,6	0,1	0,03	
Ethyl butyrate	6,3	12,6	0,5	0,15	
Ethyl caproate	5,3	10,6	0,05	0,015	
Ethyl caprylate	7,2	14,4	0,1	0,03	
Ethyl cinnamate	6,7	13,4	0,1	0,03	
Ethyl decanoate	12,9	25,8	0,05	0,015	
Ethyl dodecanoate	15,1	30,2	0,05	0,015	
Ethyl isobutyrate	14,2	28,4	1	0,3	
Ethyl isovalerate	6,7	13,4	1	0,3	
Ethyl vanillin	8,3	16,6	0,1	0,03	
Eugenol	7,6	15,2	0,5	0,15	
Geraniol	10,8	21,6	1	0,3	
Guaiacol	7,2	14,4	0,05	0,015	
Hexanal	9,3	18,6	1	0,3	
Hexyl acetate	4,8	9,6	1	0,3	
Isomyl acetate	9,7	19,4	1	0,3	

Isobutyl acetate	11,4	22,8	1	0,3
Isoeugenol	9,2	18,4	1	0,3
Linalool	4,2	8,4	1	0,3
Rose oxide	4,2	8,4	1	0,3
Thymol	5,3	10,6	0,1	0,03
<i>cis</i> -Whiskey lactone	13,1	26,2	0,5	0,15
<i>trans</i> -Whiskey lactone	14,2	28,4	0,5	0,15
Vanillin	10,4	20,8	0,1	0,03
β -Ionone	16,6	33,2	0,1	0,03

4.2.5. Όριο Ανίχνευσης και Όριο Ποσοτικοποίησης

Τα Όρια Ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD) και τα Όρια Ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification, LOQ), τα οποία προσδιορίστηκαν κατά την ανάπτυξη της μεθόδου, παρουσιάζονται στον Πίνακα 4. Τα Όρια Ανίχνευσης κυμαίνονται από 0,015 $\mu\text{g/L}$ έως 1,5 $\mu\text{g/L}$, ενώ τα Όρια Ποσοτικοποίησης κυμαίνονται από 0,05 $\mu\text{g/L}$ έως 5 $\mu\text{g/L}$.

4.3. GC-MS/MS - Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης εφαρμόστηκε για την ανάλυση τριάντα εννέα (39) πτητικών ενώσεων από εικοσιπέντε εμπορικούς οίνους ΠΟΠ Νεμέας. Κάθε δείγμα αναλύθηκε εις τριπλούν.

Οι ενώσεις που ανιχνεύθηκαν σε συγκέντρωση πάνω από το όριο ποσοτικοποίησης, σε τουλάχιστον ένα από τα εικοσιπέντε δείγματα, εμφανίζονται στον Πίνακα 21.

Πίνακας 21. Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών των ενώσεων 2-methoxy-4-vinylphenol, 2-phenylethanol, 2-phenethyl acetate, 4-vinylphenol, acetovanillone, ethyl 2-methylbutyrate και ethyl 3-hydroxybutyrate στους οίνους ΠΟΠ Νεμέα.

Code	2-Methoxy-4-vinylphenol	2-Phenylethanol	2-Phenethyl acetate	4-Vinylphenol	Acetovanillone	Ethyl 2-methylbutyrate	Ethyl 3-hydroxybutyrate
KK001	N.D.	71022±2523	56±1	N.D.	83±3	30±3	429±28
KK002	N.D.	87696±4331	36±5	225±10	65±1	54±2	316±14
KK003	55±10	59729±3133	29±7	80±2	84±7	11±0	501±10
KK004	42±2	94722±4251	68±10	1119±11	86±5	37±1	283±6
KK005	N.D.	75726±2084	55±5	198±7	69±2	14±1	485±5
KK006	N.D.	55261±4398	37±3	N.D.	51±5	11±0	323±19
KK007	N.D.	46832±2837	36±1	N.D.	34±2	11±0	326±21
KK008	N.D.	47277±869	125±11	N.D.	47±2	11±1	612±13
KK009	N.D.	77400±328	32±7	353±2	46±3	33±0	447±15
KK010	N.D.	83703±356	37±4	N.D.	65±4	12±1	378±13
KK011	66±1	27842±1088	10±1	530±50	74±1	N.D.	460±3
KK012	38±1	28431±743	10±1	N.D.	84±1	13±0	516±5
KK013	43±1	26394±1443	14±2	N.D.	71±2	12±1	417±4
KK014	37±3	27632±555	18±0	126±1	55±2	N.D.	299±3
KK015	34±1	22081±317	N.D.	394±8	62±2	N.D.	509±3
KK016	96±4	22605±443	12±2	92±3	63±1	N.D.	395±5
KK017	N.D.	21628±204	N.D.	N.D.	26±1	N.D.	230±4
KK018	N.D.	14684±1366	N.D.	42±2	50±2	N.D.	332±4
KK019	N.D.	21380±696	N.D.	58±2	56±1	N.D.	261±5
KK020	22±6	29143±1413	N.D.	N.D.	76±3	N.D.	397±5
KK021	87±3	21210±742	N.D.	184±68	79±8	46±3	530±3
KK022	67±3	17424±465	N.D.	314±7	71±4	N.D.	407±8
KK023	67±17	27088±732	51±24	N.D.	52±4	N.D.	550±72
KK024	39±1	8073±19	N.D.	41±7	61±2	N.D.	412±4
KK025	N.D.	11922±1220	N.D.	N.D.	30±7	N.D.	167±9

Πίνακας 21b. Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών των ενώσεων ethyl butyrate, ethyl caproate, ethyl caprylate, ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, 4-ethylguaiacol, ethyl isobutyrate και ethyl isovalerate στους οίνους ΠΟΠ Νεμέα.

Code	Ethyl butyrate	Ethyl caproate	Ethyl caprylate	Ethyl decanoate	Ethyl dodecanoate	4-Ethylguaiacol	Ethyl isobutyrate	Ethyl isovalerate
KK001	130±11	116±3	76±6	18±6	10±0	14±0	133±7	20±4
KK002	124±5	96±2	69±3	20±12	N.D.	47±0	265±17	51±1
KK003	200±10	215±15	186±14	32±4	10±1	N.D.	100±3	N.D.
KK004	132±6	156±2	135±11	29±2	N.D.	89±7	224±14	N.D.
KK005	166±4	147±11	108±7	27±1	N.D.	N.D.	119±3	13±1
KK006	101±5	86±5	81±3	9±2	N.D.	22±6	198±6	N.D.
KK007	190±7	155±3	124±7	15±1	N.D.	16±0	92±2	N.D.
KK008	324±4	342±16	276±15	80±2	9±1	N.D.	228±4	11±3
KK009	213±3	352±10	233±28	26±1	N.D.	16±5	344±23	49±6
KK010	92±2	94±12	99±4	13±1	10±0	N.D.	117±3	N.D.
KK011	78±6	106±2	108±3	N.D.	N.D.	75±3	108±3	26±1
KK012	264±4	193±3	166±2	23±2	N.D.	N.D.	184±3	74±1
KK013	124±3	178±2	137±2	N.D.	N.D.	N.D.	161±2	71±1
KK014	72±2	69±1	46±2	N.D.	N.D.	N.D.	68±2	24±1
KK015	147±2	169±14	114±7	N.D.	N.D.	55±3	115±4	34±0
KK016	123±2	163±3	167±4	44±2	N.D.	N.D.	75±2	16±0
KK017	54±2	108±13	167±5	N.D.	N.D.	N.D.	115±3	29±1
KK018	96±2	129±13	145±7	12±2	N.D.	N.D.	38±1	N.D.
KK019	74±1	95±2	74±2	N.D.	N.D.	N.D.	82±2	21±0
KK020	142±2	214±4	233±4	115±3	N.D.	N.D.	151±2	46±0
KK021	169±6	190±7	110±3	N.D.	N.D.	N.D.	185±4	114±7
KK022	122±7	106±8	70±7	N.D.	N.D.	31±4	139±5	35±2
KK023	98±3	215±23	254±7	50±8	N.D.	32±0	163±12	45±2
KK024	101±2	248±8	187±2	12±1	N.D.	N.D.	103±1	24±2
KK025	53±3	60±4	55±5	N.D.	N.D.	N.D.	38±3	N.D.

Πίνακας 21c. Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών των ενώσεων 4-ethylphenol, isoamyl acetate, isobutyl acetate, vanillin, *cis*-whiskey lactone και *trans*-whiskey lactone στους οίνους ΠΟΠ Νεμέα.

Code	4-Ethylphenol	Isoamyl acetate	Isobutyl acetate	Vanillin	<i>cis</i> -Whiskey lactone	<i>trans</i> -Whiskey lactone
KK001	21±1	353±10	36±4	81±1	65±3	148±8
KK002	40±2	201±3	49±6	165±6	176±13	723±13
KK003	23±5	405±4	41±1	276±4	51±2	26±1
KK004	221±18	365±14	40±2	69±6	54±3	331±16
KK005	N.D.	443±7	65±2	50±3	145±2	281±12
KK006	100±4	303±7	61±2	70±5	147±12	261±11
KK007	42±6	223±3	57±2	228±24	100±2	746±40
KK008	N.D.	1490±3	78±6	42±5	169±4	245±7
KK009	32±4	209±7	56±0	16±1	76±9	277±3
KK010	N.D.	238±13	41±5	65±3	48±5	101±5
KK011	228±36	265±5	27±1	131±4	40±1	206±7
KK012	N.D.	330±5	28±1	44±2	137±2	268±4
KK013	N.D.	337±3	36±1	36±1	82±2	130±2
KK014	49±2	370±4	35±2	86±1	31±1	116±2
KK015	210±3	268±3	32±1	100±4	69±1	672±16
KK016	23±1	384±1	26±1	32±3	63±1	152±2
KK017	N.D.	103±4	18±1	N.D.	N.D.	N.D.
KK018	N.D.	249±3	14±1	46±5	25±1	80±1
KK019	27±1	192±3	21±1	37±1	80±1	166±1
KK020	N.D.	533±4	46±1	32±1	76±1	107±2
KK021	N.D.	266±5	40±1	19±1	208±4	290±4
KK022	126±2	227±1	45±1	18±1	117±5	169±4
KK023	N.D.	639±18	54±1	142±3	128±10	92±8
KK024	N.D.	205±3	16±1	101±5	127±9	251±5
KK025	N.D.	297±14	30±1	53±5	20±1	21±3

Οι ενώσεις που προσδιορίστηκαν σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) κατηγοριοποιήθηκαν σε τέσσερις ομάδες: φαινόλες (total phenols: 2-methoxy-4-vinylphenol, 4-ethylphenol), οξικοί εστέρες (total acetates: 2-phenethyl acetate, isoamyl acetate, isobutyl acetate), υπόλοιποι εστέρες (total esters: ethyl 2-methyl-butyrate, ethyl 3-hydroxybutyrate, ethyl butyrate, ethyl caproate, ethyl caprylate, ethyl

decanoate, ethyl dodecanoate, ethyl isobutyrate, ethyl isovalerate) και ενώσεις δρυός (oak compounds: acetovanillone, 4-ethylguaiacol, vanillin, whiskey lactone). Οι φαινόλες και οι ενώσεις δρυός θεωρητικά σχετίζονται με το άρωμα του βαρελιού, ενώ οι οξικοί εστέρες και οι υπόλοιποι εστέρες θεωρητικά σχετίζονται με το φρουτώδες άρωμα. Η 2-phenylethanol και η 4-vinylphenol εξαιρέθηκαν από αυτή την κατηγοριοποίηση, επειδή έχουν άρωμα που μοιάζει με τριαντάφυλλο και ελαττωματικό άρωμα, αντίστοιχα. Το εύρος συγκέντρωσης και ο μέσος όρος για κάθε ένωση παρουσιάζονται στον Πίνακα 22. Επιπλέον, στον πίνακα εμφανίζονται και οι πιο συχνές αναφορές στην περιγραφή της οσμής κάθε ένωσης.

Τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων των τεσσάρων ομάδων ενώσεων και της 2-phenylethanol για κάθε δείγμα ΠΟΠ Νεμέα που αναλύθηκε εμφανίζεται στον Πίνακα 23. Το αποτέλεσμα κάθε ομάδας προκύπτει αθροίζοντας τις συγκεντρώσεις των ενώσεων που απαρτίζουν κάθε μία από αυτές.

Πίνακας 22. Οι πτητικές αρωματικές ενώσεις που ποσοτικοποιήθηκαν σε συγκέντρωση πάνω από το LOQ, η περιοχή συγκεντρώσεων για όλα τα εμπορικά προϊόντα ΠΟΠ Νεμέα, ο μέσος όρος συγκέντρωσης, το κατώφλι αντίληψης και οι περιγραφές οσμής κάθε ένωσης.

Ένωση	Περιοχή Συγκεντρώσεων (µg/L)	Μέσος Όρος (µg/L)	Κατώφλι Αντίληψης (µg/L)	Περιγραφή Οσμής
2-Phenylethanol	8.073–94.723	41.076	14.000	Τριαντάφυλλο
Οξικοί Εστέρες				
2-Phenethyl acetate	9,6–125	37,2	250	Άνθη, Τριαντάφυλλο
Isoamyl acetate	103–1.490	356	30	Μπανάνα
Isobutyl acetate	14,2–78,3	39,7	1,6	Μπανάνα, μήλο
<i>Οξικοί Εστέρες Σύνολο</i>	121–1,692	422		
Εστέρες (Υπόλοιποι)				
Ethyl 2-methylbutyrate	10,6–54,1	22,7	18	Κόκκινο μήλο, φράουλα
Ethyl 3-hydroxybutyrate	167–612	399	20	Ανανάς, μούρα
Ethyl butyrate	52,7–324	136	20	Φράουλα
Ethyl caproate	60,2–352	160	14	Κίτρινο μήλο
Ethyl caprylate	45,6–276	137	5	Αχλάδι
Ethyl decanoate	9,3–115	32,8	200	Μήλο, ανανάς
Ethyl dodecanoate	9,0–10,2	9,6	800	Καρούδα, μούρο
Ethyl isobutyrate	38–345	142	15	Άνθη, φράουλα
Ethyl isovalerate	11,1–114	39,1	3	Μήλο, ανανάς
<i>Εστέρες (Υπόλοιποι) Σύνολο</i>	372–1.892	1.036		
Ενώσεις Δρυός				
Acetovanillone	26,4–85,8	61,6	1	Βανίλια
4-Ethylguaiacol	14,1–89,4	39,8	33	Καπνιστό
Vanillin	16,2–276	80,8	200	Βανίλια
<i>trans</i> -Whiskey lactone	20,1–208	93,1	67	Καρούδα
<i>cis</i> -Whiskey lactone	20,8–746	244	790	Καρούδα
<i>Ενώσεις Δρυός Σύνολο</i>	26–1.176	479		
Φαινόλες				
2-Methoxy-4-vinylphenol	21,7–963	53,4	40	Γαρύφαλλο, βανίλια, μήλο
4-Vinylphenol	41,4–1.119	269	180	Άρωμα φαρμακείου
4-Ethylphenol	20,9–228	87,8	140	Δέρμα, άλογο, στάβλος
<i>Φαινόλες Σύνολο</i>	20,9–1.382	266		

Πίνακας 23. Αποτελέσματα των συγκεντρώσεων ανά ομάδα ενώσεων και για την 2-phenyl-ethanol για κάθε δείγμα ΠΟΠ Νεμέα που αναλύθηκε.

Δείγμα	Συγκέντρωση (μg/L)				
	2-Phenylethanol	Φαινόλες (σύνολο)	Οξικοί Εστέρες (σύνολο)	Εστέρες (Υπόλοιποι) (σύνολο)	Ενώσεις Δρυός (σύνολο)
ΚΚ001	7,1 x 10 ⁴	21	445	962	392
ΚΚ002	8,8 x 10 ⁴	265	286	995	1.176
ΚΚ003	6,0 x 10 ⁴	158	474	1.255	437
ΚΚ004	9,5 x 10 ⁴	1.382	473	995	629
ΚΚ005	7,6 x 10 ⁴	198	563	1.079	545
ΚΚ006	5,5 x 10 ⁴	100	402	809	551
ΚΚ007	4,7 x 10 ⁴	42	316	912	1.124
ΚΚ008	4,7 x 10 ⁴	ND	1.693	1.893	503
ΚΚ009	7,7 x 10 ⁴	385	297	1.699	432
ΚΚ010	8,4 x 10 ⁴	ND	315	816	279
ΚΚ011	2,8 x 10 ⁴	824	302	886	526
ΚΚ012	2,8 x 10 ⁴	38	368	1.434	533
ΚΚ013	2,6 x 10 ⁴	43	388	1.098	319
ΚΚ014	2,8 x 10 ⁴	212	423	577	287
ΚΚ015	2,2 x 10 ⁴	638	300	1.088	959
ΚΚ016	2,3 x 10 ⁴	212	422	984	310
ΚΚ017	2,2 x 10 ⁴	ND	121	703	26
ΚΚ018	1,5 x 10 ⁴	42	263	752	200
ΚΚ019	2,1 x 10 ⁴	85	214	606	338
ΚΚ020	2,9 x 10 ⁴	22	613	1.298	291
ΚΚ021	2,1 x 10 ⁴	271	316	1.344	596
ΚΚ022	1,7 x 10 ⁴	508	272	879	405
ΚΚ023	2,7 x 10 ⁴	67	744	1.374	445
ΚΚ024	8,1 x 10 ⁴	81	221	1.086	540
ΚΚ025	1,2 x 10 ⁴	ND	327	373	123

Τα αποτελέσματα των Ενεργών Τιμών Οσμής (OAV) των τεσσάρων ομάδων ενώσεων και της 2-phenylethanol για κάθε δείγμα ΠΟΠ Νεμέα που αναλύθηκε εμφανίζεται στον Πίνακα 24. Το αποτέλεσμα κάθε ομάδας προκύπτει αθροίζοντας τις τιμές OAV των ενώσεων που απαρτίζουν κάθε μία από αυτές. Στον Πίνακα 24, εμφανίζονται και τα αθροίσματα για τα OAV-φρουτώδες και OAV-βαρέλι του κάθε δείγματος. Το OAV-φρουτώδες προκύπτει αθροίζοντας τα OAV των ομάδων των

οξικών εστέρων, των υπόλοιπων εστέρων και της 2-phenylethanol. Το OAV-βαρέλι προκύπτει αθροίζοντας τα OAV των ομάδων των φαινόλων και των ενώσεων δρυός.

Πίνακας 24. Οι Ενεργές Τιμές Οσμής (OAV) για κάθε ομάδα ενώσεων, το άθροισμα OAV-φρουτώδες, το άθροισμα OAV-βαρέλι, το συνολικό άθροισμα OAV, το ποσοστό OAV-φρουτώδες και το ποσοστό OAV-βαρέλι για κάθε δείγμα ΠΟΠ Νεμέα που αναλύθηκε.

Δείγμα	OAV					OAV Άθροισμα			% OAV	
	2-Phenylethanol	Φαινόλες (σύνολο)	Οξικοί Εστέρες (σύνολο)	Εστέρες (Υπόλοιποι) (σύνολο)	Ενώσεις Δρυός (σύνολο)	Φρουτώδες	Βαρελιού	Σύνολο	% Φρουτώδες	% Βαρέλι
KK001	5,1	12,0	47,3	0,1	2,1	64,4	2,2	66,6	96,7	3,3
KK002	6,3	6,9	64,8	1,5	5,9	77,9	7,4	85,3	91,3	8,7
KK003	4,3	13,6	70,0	2,0	2,3	87,9	4,2	92,1	95,4	4,6
KK004	6,8	12,5	61,9	8,8	4,4	81,1	13,2	94,3	86	14
KK005	5,4	15,0	53,6	1,1	2,8	74,1	3,9	78	95	5
KK006	3,9	10,3	41,3	0,7	3,6	55,6	4,3	59,9	92,8	7,2
KK007	3,3	7,6	52,1	0,3	4,1	63,1	4,4	67,5	93,5	6,5
KK008	3,4	50,2	115,7	0,0	3,1	169,3	3,1	172,4	98,2	1,8
KK009	5,5	7,1	123,9	2,2	2,1	136,5	4,3	140,8	96,9	3,1
KK010	6,0	8,1	39,6	0,0	1,2	53,7	1,2	55	97,8	2,2
KK011	2,0	8,9	48,9	6,2	3,9	59,8	10,1	69,9	85,6	14,4
KK012	2,0	11,1	98,2	1,0	2,7	111,3	3,6	114,9	96,8	3,2
KK013	1,9	11,3	81,1	1,1	1,6	94,4	2,7	97,1	97,2	2,8
KK014	2,0	12,4	30,2	2,0	1,1	44,6	3,1	47,6	93,6	6,4
KK015	1,6	8,9	61,1	4,5	4,1	71,6	8,7	80,2	89,2	10,8
KK016	1,6	12,9	61,9	3,1	1,4	76,4	4,4	80,9	94,5	5,5
KK017	1,5	3,4	61,3	0,0	0,0	66,2	0,0	66,3	100	0
KK018	1,0	8,3	45,6	0,2	0,8	55,0	1	56	98,2	1,8
KK019	1,5	6,4	37,6	0,5	1,6	45,6	2,2	47,7	95,5	4,5
KK020	2,1	17,9	94,9	0,5	1,5	115,0	2	117	98,2	1,8
KK021	1,5	8,9	96,9	3,2	3,6	107,3	6,8	114,1	94	6,0
KK022	1,2	7,6	48,6	4,3	3,0	57,5	7,4	64,9	88,6	11,4
KK023	1,9	21,5	97,1	1,7	3,7	120,5	5,4	126	95,7	4,3
KK024	0,6	6,8	75,1	1,2	2,8	82,5	4	86,5	95,4	4,6
KK025	0,9	9,9	20,5	0,0	0,6	31,2	0,6	31,9	98,1	1,9

Το ΟΑΥ-φρουτώδες κινήθηκε σε μία περιοχή τιμών μεταξύ 31,2 και 169,3. Αντίστοιχα, το ΟΑΥ-βαρέλι κινήθηκε σε μία περιοχή τιμών μεταξύ 0,0 και 13,2. Το ποσοστό ΟΑΥ-βαρέλι κυμάνθηκε από 0,0% έως 14,4%.

4.4. Οργανοληπτική Ανάλυση - Απόδοση δοκιμαστών κατά τη βασική εκπαίδευση

Για τις δοκιμές αγευσίας, όλοι οι δοκιμαστές της ομάδας Α είχαν ποσοστό επιτυχίας από 80% έως 100%. Ο μέσος όρος επιτυχημένων απαντήσεων της ομάδας Α ήταν 90%. Οι δοκιμαστές της ομάδας Β είχαν ποσοστό επιτυχίας από 60% έως 90%. Πιο συγκεκριμένα, δύο δοκιμαστές είχαν ποσοστό μικρότερο από 80%. Ο μέσος όρος επιτυχημένων απαντήσεων της ομάδας Β ήταν 78%. Για τους δύο δοκιμαστές που είχαν ποσοστό μικρότερο από 80% πραγματοποιήθηκε επανάληψη της δοκιμής, στην οποία είχαν ποσοστό επιτυχημένων απαντήσεων μεγαλύτερο ή ίσο από 80%.

Για τις δοκιμές ανοσμίας, οι δοκιμαστές της ομάδας Α είχαν ποσοστό επιτυχίας από 63% έως 100%. Ο μέσος όρος επιτυχημένων απαντήσεων της ομάδας Α ήταν 93%. Οι δοκιμαστές της ομάδας Β είχαν ποσοστό επιτυχίας από 38% έως 100%. Πιο συγκεκριμένα, δύο δοκιμαστές της ομάδας Α και 6 της ομάδας Β είχαν ποσοστό μικρότερο από 80%. Ο μέσος όρος επιτυχημένων απαντήσεων της ομάδας Β ήταν 75%. Για τους δοκιμαστές που είχαν ποσοστό μικρότερο από 80% πραγματοποιήθηκε επανάληψη της δοκιμής με μία σύντομη εκπαίδευση από τον επικεφαλής της ομάδας, μετά το πέρας της οποίας, οι συγκεκριμένοι δοκιμαστές είχαν ποσοστό επιτυχημένων απαντήσεων μεγαλύτερο ή ίσο από 80%.

Στο Isihara test οι δύο ομάδες είχαν ακριβώς ίδια αποτελέσματα. Όλοι οι υποψήφιοι είχαν 100% επιτυχημένα αποτελέσματα, εκτός από δύο, έναν της ομάδας A και έναν της ομάδας B, οι οποίοι είχαν 94% επιτυχημένα αποτελέσματα, δηλαδή 17 στις 18 σωστές απαντήσεις.

Η ομάδα A είχε χαμηλότερο κατώφλι αντίληψης από την ομάδα B και στις πέντε βασικές γεύσεις, όπως φαίνεται στον Πίνακα 25.

Πίνακας 25. Το κατώφλι αντίληψης για κάθε ομάδα για τις πέντε βασικές γεύσεις.

Γεύση	Ένωση	Ομάδα A	Ομάδα B
		Κατώφλι Αντίληψης g/L	Κατώφλι Αντίληψης g/L
Ξινό	Citric acid	0,12	0,15
Πικρό	Caffeine	0,061	0,15
Αλμυρό	Sodium chloride	0,034	0,073
Γλυκό	Sucrose	0,28	0,30
Ουμάμι	Monosodium L-glutamate	0,081	0,13

Στις δοκιμές για προσδιορισμό της οργανοληπτικής αντίληψης, στην διαδικασία ανίχνευσης των ερεθισμάτων γεύσης με χρήση τριγωνικών δοκιμών, οι δοκιμαστές της ομάδας A είχαν όλοι επιτυχή αποτελέσματα εκτός ενός δοκιμαστή, και οι συνολικές σωστές απαντήσεις ήταν 59 στις 60. Οι δοκιμαστές της ομάδας B είχαν όλοι επιτυχή αποτελέσματα εκτός δύο δοκιμαστών, και οι συνολικές σωστές απαντήσεις ήταν 55 στις 60.

Στις δοκιμές για την ταυτοποίηση των γεύσεων, ο κάθε δοκιμαστής είχε 10 διαλύματα με γεύση, όπου καλούταν να τα αναγνωρίσει. Για την κάθε σωστή αναγνώριση, ο δοκιμαστής λάμβανε έναν πόντο. Επομένως, η μέγιστη βαθμολογία για τον κάθε δοκιμαστή ήταν 10 βαθμοί. Η ομάδα A συγκέντρωσε 87 βαθμούς, ενώ η ομάδα B 78 βαθμούς.

Κατά τις δοκιμές κατάταξης, στον έλεγχο για το χρώμα των ερυθρών οίνων, όλοι οι δοκιμαστές είχαν επιτυχή αποτελέσματα. Επομένως, η απόδοση των ομάδων Α και Β ήταν ακριβώς ίδια.

Για τη διάκριση αρωμάτων, δηλαδή για τις τέσσερις αρωματικές ουσίες acetic acid, TCA, ethyl acetate, 4-ethylphenol, οι διαθέσιμοι βαθμοί για κάθε δοκιμαστή είναι 16. Η ομάδα Α είχε τέσσερις δοκιμαστές με απόλυτη επιτυχία (16/16) και μέσο όρο βαθμών 14,6. Η ομάδα Β δεν είχε κανέναν δοκιμαστή με απόλυτη επιτυχία και μέσο όρο βαθμών 12,4.

Για τη διάκριση γεύσης και στυπτικότητας, δηλαδή για τις πέντε βασικές γεύσεις και το στυφό, οι διαθέσιμοι βαθμοί για κάθε δοκιμαστή είναι 24. Η ομάδα Α είχε τέσσερις δοκιμαστές με απόλυτη επιτυχία (24/24) και μέσο όρο βαθμών 22,8. Η ομάδα Β είχε τέσσερις δοκιμαστές με απόλυτη επιτυχία (24/24) και μέσο όρο βαθμών 22,1.

Κατά τις δοκιμές για περιγραφή αρωμάτων, οι διαθέσιμοι βαθμοί για κάθε δοκιμαστή ήταν 30 (10 αρώματα με μέγιστη βαθμολογία 3 βαθμοί ανά άρωμα). Η ομάδα Α κυμάνθηκε από 12 έως 30 βαθμούς, με μέσο όρο 19,2. Η ομάδα Β κυμάνθηκε από 9 έως 19 βαθμούς, με μέσο όρο 14,0.

4.5. Οργανοληπτική Ανάλυση – Αξιολόγηση της Εκπαίδευσης

Στην αξιολόγηση της βασικής εκπαίδευσης («αναγνώριση και δοκιμές κατάταξης») οι διαθέσιμοι βαθμοί είναι 53. Επιτυχής εκπαίδευση θεωρείται ποσοστό μεγαλύτερο ή ίσο του 65%, δηλαδή 35 βαθμοί. Όλοι οι δοκιμαστές της ομάδας Α είχαν επιτυχή αποτελέσματα. Η ελάχιστη βαθμολογία ήταν 35 (65%) και μέγιστο 53 (100%), ενώ ο Μέσος Όρος ήταν

44,8 βαθμοί (84%). Η ομάδα Β είχε πέντε δοκιμαστές με επιτυχή αποτελέσματα, ενώ οι υπόλοιποι πέντε είχαν ανεπιτυχή αποτελέσματα. Η ελάχιστη βαθμολογία ήταν 24 (45%) και μέγιστο 38 (72%), ενώ ο Μέσος Όρος ήταν 33,5 βαθμοί (63%). Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον Πίνακα 26.

Πίνακας 26. Η βαθμολογία των δοκιμαστών σε κάθε στάδιο της βασικής εκπαίδευσης, συνολική βαθμολογία, μέσος όρος για τις δύο ομάδες, αξιολόγηση για κάθε στάδιο εκπαίδευσης και συνολική βαθμολογηση για κάθε δοκιμαστή.

Κωδικός Δοκιμαστή	Αξιολόγηση Βαθμολόγησης				Βαθμολογία			
	Συνολική Αξιολόγηση	Αναγνώριση και δοκιμές κατάταξης	Τριγωνικές δοκιμές - οίνος	Περιγραφικές δοκιμές	Συνολική Βαθμολογία	Αναγνώριση και δοκιμές κατάταξης	Τριγωνικές δοκιμές - οίνος	Περιγραφικές δοκιμές
Ομάδα Α								
CA01	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	110	52	48	10
CA02	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	94	42	42	10
CA03	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	103	45	48	10
CA04	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	109	53	48	8
CA05	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	100	44	46	10
CA06	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	108	53	46	9
CA07	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	100	46	46	8
CA08	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	77	40	32	5
CA09	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	84	38	36	10
CA10	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	79	35	38	6
Μέσος Όρος					96,3	44,8	43,0	8,5
Ομάδα Β								
CB01	Ανεπιτυχές	Ανεπιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	76	30	40	6
CB02	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	88	38	40	10
CB03	Ανεπιτυχές	Επιτυχές	Ανεπιτυχές	Επιτυχές	70	35	28	7
CB04	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	83	38	36	9
CB05	Ανεπιτυχές	Ανεπιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	80	34	40	6
CB06	Ανεπιτυχές	Ανεπιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	72	24	42	6
CB07	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	81	36	38	7
CB08	Ανεπιτυχές	Ανεπιτυχές	Ανεπιτυχές	Ανεπιτυχές	64	33	28	3
CB09	Ανεπιτυχές	Ανεπιτυχές	Επιτυχές	Επιτυχές	83	32	46	5
CB10	Ανεπιτυχές	Επιτυχές	Ανεπιτυχές	Ανεπιτυχές	66	35	26	5
Μέσος Όρος					76	33,5	36,4	6,1

Κατά την ταυτοποίηση ελαττωμάτων οίνου και χαρακτηριστικών οίνου με χρήση εμβολιασμένου οίνου οι διαθέσιμοι βαθμοί για κάθε δοκιμαστή είναι 48, με ελάχιστη βαθμολογία για επιτυχή αποτελέσματα τους 32 βαθμούς. Όλοι οι δοκιμαστές της ομάδας Α είχαν επιτυχή αποτελέσματα. Ο μέσος όρος της ομάδας Α ήταν 43,0 βαθμοί, με χαμηλότερη βαθμολογία δοκιμαστή 32 βαθμούς και υψηλότερη 48 βαθμούς. Στην ομάδα Β, επτά δοκιμαστές είχαν επιτυχή αποτελέσματα ενώ οι υπόλοιποι τρεις ανεπιτυχή. Ο μέσος όρος της ομάδας Β ήταν 36,4 βαθμοί, με ελάχιστη βαθμολογία δοκιμαστή 26 βαθμούς και υψηλότερη 46 βαθμούς, όπως φαίνεται στον Πίνακα 26.

Στις περιγραφικές δοκιμές, που αφορούσαν στην ορθή αναγνώριση αρωμάτων οίνου θετικών χαρακτηριστικών ή μειονεκτημάτων, καθώς και στην περιγραφή διαφορετικών τανινών, το μέγιστο της βαθμολογίας είναι 10 βαθμοί και επιτυχή κρίνονται τα αποτελέσματα μεγαλύτερα ή ίσα των 5 βαθμών. Στην ομάδα Α, όλοι οι δοκιμαστές είχαν επιτυχή αποτελέσματα με μέσο όρο 8,5 βαθμούς. Στην ομάδα Β, οι οκτώ είχαν επιτυχή αποτελέσματα ενώ οι δύο ανεπιτυχή και μέσο όρο 6,1 βαθμούς, όπως φαίνεται στον Πίνακα 26.

Στην συνολική αξιολόγηση εκπαίδευσης του κάθε υποψήφιου δοκιμαστή, η εκπαίδευση θεωρήθηκε επιτυχής, εάν ο υποψήφιος είχε επιτυχή αποτελέσματα και στους τρεις τομείς, δηλαδή στην αναγνώριση και δοκιμές κατάταξης, στις τριγωνικές δοκιμές για οίνο, καθώς και στις περιγραφικές δοκιμές. Με αυτό το κριτήριο, και οι δέκα υποψήφιοι δοκιμαστές της ομάδας Α είχαν επιτυχή αποτελέσματα, ενώ μόνο τρεις υποψήφιοι δοκιμαστές της ομάδας Β είχαν επιτυχή αποτελέσματα.

Με σειρά μειούμενης τιμής πραγματοποιήθηκε κατάταξη της συνολικής βαθμολογίας για τους δεκατρείς υποψήφιους δοκιμαστές με επιτυχή αποτελέσματα, ώστε να γίνει η τελική επιλογή δοκιμαστών. Οι δέκα πρώτοι δημιούργησαν την Ομάδα C, το οποίο αποτελείται από οκτώ δοκιμαστές της ομάδας A και δύο δοκιμαστές της ομάδας B. Οι υπόλοιποι δημιούργησαν την Ομάδα D, η οποία αξιοποιήθηκε για τους ερευνητικούς σκοπούς της παρούσας μελέτης.

4.6. Οργανοληπτική Ανάλυση – Επικύρωση της Μεθόδου

4.6.1. Έλεγχος της Απόδοσης της Ομάδας Δοκιμαστών

Το πάνελ C είχε επιτυχή αποτελέσματα σε όλες τις διπλές μετρήσεις δειγμάτων, τόσο για το Κανονικοποιημένο Σφάλμα (Normalized Error) όσο και για τον Αριθμό Ακρίβειας (Precision Number), και στις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους που εξετάστηκαν.

Το πάνελ D είχε ανεπιτυχή αποτελέσματα του Αριθμού Ακρίβειας (Precision Number) σε τρεις διπλές μετρήσεις για την παράμετρο Ελάττωμα (Ζωικό, Animal). Όλες οι υπόλοιπες διπλές μετρήσεις ήταν επιτυχημένες, τόσο για το Κανονικοποιημένο Σφάλμα (Normalized Error), όσο και για τον Αριθμό Ακρίβειας (Precision Number) για τις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους, όπως φαίνεται στον Πίνακα 27.

Πίνακας 27. Οι τιμές των Normalized Error (Κανονικοποιημένο Σφάλμα) και Precision Number (Αριθμός Ακρίβειας) του κάθε πάνελ, για κάθε ανάλυση διπλότυπου, για τις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους.

Παράμετρος	Φρουτώδες		Ελάττωμα (Ζωικό)		Ξινό	
Κωδικός διπλότυπων δειγμάτων	Normalized Error Φρουτώδες (En≤1,0)	Precision Number Φρουτώδες (≤2,00)	Normalized Error Ελάττωμα (En≤1,0)	Precision Number Ελάττωμα (≤2,00)	Normalized Error Ξινό (En≤1,0)	Precision Number Ξινό (≤2,00)
Ομάδα C						
ΔΠ_1-2	0,95	0,41	0,00	0,00	0,38	0,16
ΔΠ_3-4	0,30	0,25	0,96	1,00	0,28	0,16
ΔΠ_5-6	0,36	0,16	0,27	0,25	0,26	0,04
ΔΠ_7-8	0,08	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
ΔΠ_9-10	0,27	0,09	0,00	0,00	0,38	0,04
ΔΠ_11-12	0,45	0,16	0,00	0,00	0,23	0,01
Ομάδα D						
ΔΠ_1-2	0,40	0,64	0,74	2,56	0,04	0,01
ΔΠ_3-4	0,50	0,25	0,69	2,89	0,16	0,09
ΔΠ_5-6	0,27	0,16	0,33	0,81	0,19	0,16
ΔΠ_7-8	0,23	0,16	0,25	0,64	0,41	0,49
ΔΠ_9-10	0,03	0,01	0,65	5,29	0,37	1,00
ΔΠ_11-12	0,23	0,09	0,53	1,69	0,55	1,96

Η συνολική απόδοση του πάνελ αποτυπώνεται κατά τον υπολογισμό του Αριθμού Ακρίβειας (Precision Number, PNp). Η ομάδα C είχε επιτυχή αποτελέσματα (PNp≤2,00) και για τις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους. Η ομάδα D είχε ανεπιτυχές αποτέλεσμα για τον προσδιορισμό του ελαττώματος, ενώ για τις άλλες δύο οργανοληπτικές παραμέτρους, τα αποτελέσματα ήταν επιτυχή. Ο Αριθμός Ακρίβειας (Precision Number) της ομάδας C ήταν μικρότερος του Αριθμού Ακρίβειας της ομάδας D και στις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους, όπως φαίνεται στον Πίνακα 28.

Πίνακας 28. Απόδοση της ομάδας, όπως αποδίδεται από τον Precision Number (Αριθμός Ακρίβειας) και απόδοση των μεμονωμένων δοκιμαστών, όπως αποδίδεται από τον Precision Number (Αριθμός Ακρίβειας) και από τον Deviation Number (Αριθμός Απόκλισης), για τις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους.

Παράμετρος	Φρουτώδες		Ελάττωμα (Ζωικό)		Ξινό	
	Precision Number	Deviation Number	Precision Number	Deviation Number	Precision Number	Deviation Number
Απόδοση Πάνελ						
Ομάδα C	0,18		0,21		0,07	
Ομάδα D	0,22		2,31		0,62	
Απόδοση Δοκιμαστή						
Ομάδα C						
CC01	1,09	0,09	0,73	0,44	0,28	0,51
CC02	0,49	0,50	0,33	1,29	0,65	0,24
CC03	0,50	0,26	0,85	0,52	0,33	0,23
CC04	0,53	0,27	1,16	1,58	0,17	0,85
CC05	0,25	1,44	1,99	1,26	0,39	0,21
CC06	2,00	1,74	0,92	0,80	0,71	0,72
CC07	0,83	1,45	1,31	0,57	0,43	0,11
CC08	0,24	1,13	0,02	0,63	0,34	1,26
CC09	0,33	1,88	0,41	0,47	1,79	0,89
CC10	0,31	1,00	0,19	0,10	0,25	0,53
Ομάδα D						
CD01	2,06	3,62	1,83	3,87	0,59	1,84
CD02	6,82	2,53	3,03	11,89	1,82	7,06
CD03	5,89	4,64	0,34	8,27	0,68	1,08
CD04	7,52	2,36	3,43	2,09	0,29	5,05
CD05	0,54	1,20	27,67	3,46	2,64	1,15
CD06	2,70	3,03	0,56	0,20	3,67	1,66
CD07	14,09	6,72	0,20	6,76	0,38	1,57
CD08	1,88	2,60	4,51	4,17	1,34	1,84
CD09	18,33	2,95	16,81	1,44	15,28	3,33
CD10	0,98	0,32	4,97	0,45	0,89	1,41

4.6.2. Έλεγχος της Απόδοσης των Δοκιμαστών

Οι δέκα δοκιμαστές της ομάδας C είχαν επιτυχή αποτελέσματα και για τις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους, αφού ο Αριθμός Ακρίβειας (Precision Number) ήταν μικρότερος ή ίσος του 2,00 και ο Αριθμός Απόκλισης (Deviation Number) ήταν μικρότερος ή ίσος από το 2,00, όπως φαίνεται στον Πίνακα 28.

Από τους δέκα δοκιμαστές της ομάδας D, κανένας δεν είχε επιτυχή αποτελέσματα και στις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους. Για το φρουτώδες, επτά δοκιμαστές είχαν ανεπιτυχές αποτέλεσμα για τον Αριθμό Ακρίβειας (Precision Number) και οκτώ δοκιμαστές είχαν ανεπιτυχές αποτέλεσμα για τον Αριθμό Απόκλισης (Deviation Number). Για το ελάττωμα, το οποίο ήταν ζωικό, έξι δοκιμαστές είχαν ανεπιτυχές αποτέλεσμα για τον Αριθμό Ακρίβειας (Precision Number) και επτά δοκιμαστές είχαν ανεπιτυχές αποτέλεσμα για τον Αριθμό Απόκλισης (Deviation Number). Για το ξινό, τρεις δοκιμαστές είχαν ανεπιτυχές αποτέλεσμα για τον Αριθμό Ακρίβειας (Precision Number) και τρεις δοκιμαστές είχαν ανεπιτυχές αποτέλεσμα για τον Αριθμό Απόκλισης (Deviation Number), όπως αποτυπώνεται στον Πίνακα 28.

4.7. Αναπαραγωμότητα

Η ομάδα C είχε Σχετική Τυπική Απόκλιση (Relative Standard Deviation) σημαντικά κάτω από 10%, η οποία κυμάνθηκε από 3,6% έως 5,8%, για τις τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους που ελέγχθηκαν.

Η ομάδα D είχε Σχετική Τυπική Απόκλιση (Relative Standard Deviation) περί το 20%, η οποία κυμάνθηκε από 18,4% έως 24,5%, για τις

τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους που ελέγχθηκαν, όπως φαίνεται στον Πίνακα 29.

Πίνακας 29. Διάμεση Τιμή για κάθε ανάλυση, Μέσος Όρος, Τυπική Απόκλιση (Standard Deviation) και Σχετική Τυπική Απόκλιση (Relative Standard Deviation) για κάθε Ομάδα και κάθε οργανοληπτική παράμετρο.

	Ελάττωμα Αρώματος (Διάμεση Τιμή)	Φρουτώδες Αρώμα (Διάμεση Τιμή)	Ξινό (Διάμεση Τιμή)
Ομάδα Α			
Επαν-1	2,2	5,1	4,8
Επαν-2	2,4	5,3	4,9
Επαν-3	2,3	5,4	4,9
Επαν-4	2,6	4,9	5,2
Επαν-5	2,3	5,1	4,7
Επαν-6	2,4	5	5,1
Μέσος Όρος	2,37	5,13	4,93
Standard Deviation	0,14	0,19	0,19
Relative Standard Deviation	5,8%	3,6%	3,8%
Ομάδα Β			
Επαν-1	4	5,5	4,5
Επαν-2	4,7	5,7	4,7
Επαν-3	5,4	5,5	5,1
Επαν-4	4,5	4,9	4,8
Επαν-5	3	3,1	3
Επαν-6	4,4	3,4	3,5
Μέσος Όρος	4,33	4,68	4,27
Standard Deviation	0,8	1,15	0,83
Relative Standard Deviation	18,4%	24,5%	19,4%

4.8. Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα

Οι εικοσιπέντε εμπορικοί οίνοι ΠΟΠ Νεμέα αναλύθηκαν οργανοληπτικά από την ομάδα C. Τα αποτελέσματα των διάμεσων τιμών για κάθε οργανοληπτική παράμετρο, καθώς και η τιμή λιανικής εμφανίζονται στον Πίνακα 30.

Πίνακας 30. Αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης για τις παραμέτρους ελαττώματος, για τις οπτικές παραμέτρους και για τις οσφρητικές παραμέτρους, καθώς και η τιμή λιανικής κάθε προϊόντος.

Κωδικός Δείγματος	Τιμή	Ελάττωμα Όψης	Ελάττωμα Αρώματος	Ελάττωμα Γεύσης	Θολότητα	Χρώμα	Απόχρωση	Φρουτώδες	Αρώμα
	Λιανικής (€)							Αρώμα	Βαρελιού
ΚΚ001	8.9	0,0	0,0	0,00	8.1±0.01	7.2±0.05	6.0±0.01	5.0±0.06	1.8±0.12
ΚΚ002	10.5	0,0	1.6±0.01	0,00	8.0±0.21	7.1±0.16	5.8±0.12	5.2±0.05	3.4±0.06
ΚΚ003	8.1	0,0	0,0	0,00	8.2±0.02	5.4±0.05	3.6±0.04	4.2±0.11	3.3±0.04
ΚΚ004	8.9	0,0	3.2±0.13	0,00	8.1±0.13	7.2±0.04	6.0±0.04	3.3±0.03	1.4±0.01
ΚΚ005	12.1	0,0	0,0	0,00	8.1±0.14	8.1±0.10	7.3±0.09	3.2±0.02	4.6±0.01
ΚΚ006	8.1	0,0	0,0	0,00	8.1±0.11	7.0±0.07	6.4±0.18	3.7±0.06	4.9±0.02
ΚΚ007	7.3	0,0	0,0	0,00	8.0±0.04	6.6±0.06	4.2±0.08	4.8±0.05	3.9±0.04
ΚΚ008	12.1	0,0	0,0	0,00	8.4±0.01	8.2±0.10	7.6±0.02	6.0±0.02	2.6±0.03
ΚΚ009	18.6	0.0	0.0	0.0	7.9±0.03	6.8±0.09	3.2±0.08	4.6±0.09	2.6±0.15
ΚΚ010	5.7	0.0	0.0	0.0	8.0±0.03	4.8±0.02	3.4±0.08	4.1±0.00	2.0±0.03
ΚΚ011	8.9	0.0	0.0	0.0	8.4±0.07	6.5±0.01	4.9±0.11	5.5±0.08	2.4±0.04
ΚΚ012	17.7	0.0	0.0	0.0	8.7±0.07	6.7±0.13	5.5±0.09	3.6±0.04	4.8±0.01
ΚΚ013	12.9	0.0	0.0	0.0	8.5±0.06	6.5±0.05	4.1±0.02	4.4±0.02	4.8±0.08
ΚΚ014	9.7	0.0	0.0	0.0	8.4±0.13	7.3±0.01	4.9±0.03	3.8±0.05	4±0.06
ΚΚ015	10.5	0.0	0.0	0.0	8.1±0.08	6.4±0.06	1.8±0.11	4.8±0.07	3.2±0.07
ΚΚ016	12.1	0.0	0.0	0.0	8.3±0.06	7.3±0.05	5.9±0.09	5.5±0.05	3.4±0.03
ΚΚ017	7.3	0.0	1.5±0.00	0.0	8.7±0.04	3.9±0.06	5.0±0.02	3.7±0.03	0.0±0.00
ΚΚ018	11.3	0.0	0.0	0.0	8.2±0.01	7.1±0.04	6.0±0.13	4.3±0.02	3.2±0.03
ΚΚ019	8.9	0.0	0.0	0.0	8.2±0.17	7.4±0.08	6.1±0.05	4.7±0.12	3.3±0.03
ΚΚ020	7.3	0.0	0.0	0.0	8.3±0.17	6.8±0.06	5.6±0.00	5.4±0.01	3.3±0.14
ΚΚ021	28.2	0,0	1.6±0.01	0,00	7.9±0.08	6.0±0.09	2.4±0.06	3.3±0.05	3.7±0.06
ΚΚ022	28.2	0,0	1.1±0.03	0,00	8.3±0.11	6.4±0.06	2.5±0.06	3.8±0.01	4.5±0.04
ΚΚ023	8.9	0,0	0,0	0,00	8.0±0.02	8.3±0.12	6.9±0.03	4.6±0.05	4.0±0.10
ΚΚ024	14.5	0,0	0,0	0,00	8.1±0.18	6.8±0.12	5.3±0.12	4.9±0.07	3.6±0.03
ΚΚ025	8.1	0,0	0,0	0,00	8.1±0.21	6.8±0.01	5.8±0.04	5.0±0.12	2.6±0.03

Πίνακας 30b. Αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης για τις γευστικές παραμέτρους.

Κωδικός Δείγματος	Άρωμα Στόματος	Ξινό	Γλυκό	Πικρό	Στυφό	Διάρκεια Επίγευσης
ΚΚ001	4.2 ± 0.00	4.0 ± 0.06	0.9 ± 0.04	0.8 ± 0.08	3.1 ± 0.15	4.6 ± 0.13
ΚΚ002	4.3 ± 0.05	4.1 ± 0.00	0.6 ± 0.01	1.1 ± 0.05	3.6 ± 0.01	5.1 ± 0.09
ΚΚ003	4.4 ± 0.10	4.4 ± 0.04	0.9 ± 0.10	1.9 ± 0.05	2.9 ± 0.02	4.5 ± 0.01
ΚΚ004	2.6 ± 0.02	3.6 ± 0.15	0.9 ± 0.03	1.1 ± 0.00	3.4 ± 0.14	4.4 ± 0.04
ΚΚ005	4.0 ± 0.10	3.8 ± 0.07	1.6 ± 0.06	1.1 ± 0.00	4.1 ± 0.02	5.0 ± 0.03
ΚΚ006	4.0 ± 0.02	4.0 ± 0.07	0.9 ± 0.02	0.9 ± 0.01	3.8 ± 0.03	4.6 ± 0.06
ΚΚ007	4.1 ± 0.13	4.1 ± 0.08	1.1 ± 0.09	0.9 ± 0.00	3.3 ± 0.11	4.6 ± 0.06
ΚΚ008	4.1 ± 0.04	4.4 ± 0.18	0.8 ± 0.07	0.9 ± 0.08	3.3 ± 0.16	4.8 ± 0.03
ΚΚ009	3.7 ± 0.05	3.6 ± 0.05	0.7 ± 0.06	0.9 ± 0.01	2.9 ± 0.09	4.0 ± 0.01
ΚΚ010	3.2 ± 0.14	3.8 ± 0.11	0.5 ± 0.11	1.2 ± 0.04	3.2 ± 0.16	4.3 ± 0.11
ΚΚ011	4.2 ± 0.10	4.1 ± 0.06	0.4 ± 0.02	1.2 ± 0.06	3.6 ± 0.01	4.7 ± 0.06
ΚΚ012	4.3 ± 0.08	3.9 ± 0.10	0.9 ± 0.07	0.9 ± 0.1	3.1 ± 0.11	4.8 ± 0.04
ΚΚ013	3.9 ± 0.18	4.5 ± 0.09	0.8 ± 0.07	1.0 ± 0.12	3.2 ± 0.11	4.7 ± 0.03
ΚΚ014	3.6 ± 0.08	3.9 ± 0.02	0.7 ± 0.06	1.1 ± 0.07	3.7 ± 0.09	4.8 ± 0.04
ΚΚ015	3.6 ± 0.09	4.0 ± 0.13	1.0 ± 0.05	0.8 ± 0.04	3.2 ± 0.05	4.4 ± 0.01
ΚΚ016	4.1 ± 0.00	4.3 ± 0.11	0.7 ± 0.15	1.0 ± 0.09	3.6 ± 0.04	4.6 ± 0.03
ΚΚ017	3.3 ± 0.08	3.7 ± 0.02	0.6 ± 0.03	1.0 ± 0.00	2.8 ± 0.03	3.7 ± 0.01
ΚΚ018	4.3 ± 0.09	3.7 ± 0.12	2.0 ± 0.03	0.6 ± 0.06	2.8 ± 0.11	4.0 ± 0.03
ΚΚ019	4.1 ± 0.15	4.3 ± 0.11	0.5 ± 0.02	0.7 ± 0.07	3.4 ± 0.04	4.9 ± 0.16
ΚΚ020	4.8 ± 0.09	4.0 ± 0.11	1.3 ± 0.05	0.6 ± 0.11	2.9 ± 0.03	4.4 ± 0.03
ΚΚ021	3.5 ± 0.10	3.7 ± 0.16	1.0 ± 0.05	0.5 ± 0.01	3.1 ± 0.09	4.1 ± 0.05
ΚΚ022	3.7 ± 0.11	4.0 ± 0.07	0.9 ± 0.00	0.7 ± 0.02	3.1 ± 0.04	4.4 ± 0.06
ΚΚ023	3.7 ± 0.05	4.3 ± 0.15	1.1 ± 0.03	0.8 ± 0.09	3.9 ± 0.10	5.1 ± 0.02
ΚΚ024	4.2 ± 0.05	5.0 ± 0.1	0.6 ± 0.00	0.8 ± 0.02	3.2 ± 0.03	4.6 ± 0.06
ΚΚ025	4.1 ± 0.01	4.0 ± 0.02	1.6 ± 0.07	0.7 ± 0.03	3.5 ± 0.02	5.1 ± 0.05

Πέντε οίνοι εμφάνισαν οργανοληπτικό ελάττωμα αρώματος σε χαμηλή ένταση. Τα οργανοληπτικά ελαττώματα κυμάνθηκαν μεταξύ 1,1 και 3,2. Οι δοκιμαστές χαρακτήρισαν δύο ελαττώματα ως ζωικό, δύο ως οξειδωμένα και ένα ως αναγωγικό.

Τα δύο δείγματα που εμφάνισαν ελάττωμα ζωικό, κατά την ανάλυση προσδιορισμού πτητικών ενώσεων με χρήση GC-MS/MS, παρουσίασαν τις ενώσεις 4-vinylphenol, 4-ethylphenol και 4-ethylguaiacol

σε τιμές πάνω από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου. Πιο συγκεκριμένα, στο πρώτο δείγμα, με οργανοληπτικό ελάττωμα έντασης 3,2, προσδιορίστηκε 4-vinylphenol 1.119 µg/L, 4-ethylphenol 223 µg/L και 4-ethylguaiacol 90 µg/L. Στο δεύτερο δείγμα, με οργανοληπτικό ελάττωμα έντασης 1,1, προσδιορίστηκε 4-vinylphenol 314 µg/L, 4-ethylphenol 127 µg/L και 4-ethylguaiacol 31 µg/L, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 21.

Στις οπτικές οργανοληπτικές παραμέτρους, τόσο το χρώμα όσο και η απόχρωση εμφάνισαν μεγάλη διακύμανση. Πιο συγκεκριμένα, το χρώμα κυμάνθηκε μεταξύ 3,9 και 8,3 με μέση τιμή 6,8, ενώ η απόχρωση από 1,8 έως 7,6 με μέση τιμή 5,0.

Το φρουτώδες άρωμα κυμάνθηκε μεταξύ 3,2 και 6,0 με μέση τιμή 4,5, το άρωμα βαρελιού κυμάνθηκε μεταξύ 0,0 και 4,9 με μέση τιμή το 3,3, ενώ το άρωμα στόματος κυμάνθηκε μεταξύ 2,6 και 4,8 με μέση τιμή το 3,9. Επτά δείγματα εμφάνισαν άρωμα βαρελιού με υψηλότερη ένταση από το φρουτώδες άρωμα.

Το ξινό κυμάνθηκε μεταξύ 3,6 και 5,0 με μέση τιμή 4,1, το γλυκό μεταξύ 0,4 και 2,0 με μέση τιμή 0,9, ενώ το πικρό εμφάνισε παρόμοιες τιμές με το γλυκό, αφού κυμάνθηκε μεταξύ 0,5 και 1,9 με μέση τιμή 0,9. Το στυφό κυμάνθηκε μεταξύ 2,8 και 4,1 με μέση τιμή το 3,3, ενώ η διάρκεια επίγευσης είχε ανάλογη διακύμανση από 3,7 έως 5,1 με μέση τιμή το 4,6.

4.9. Ανάλυση Δεδομένων (Data Analysis)

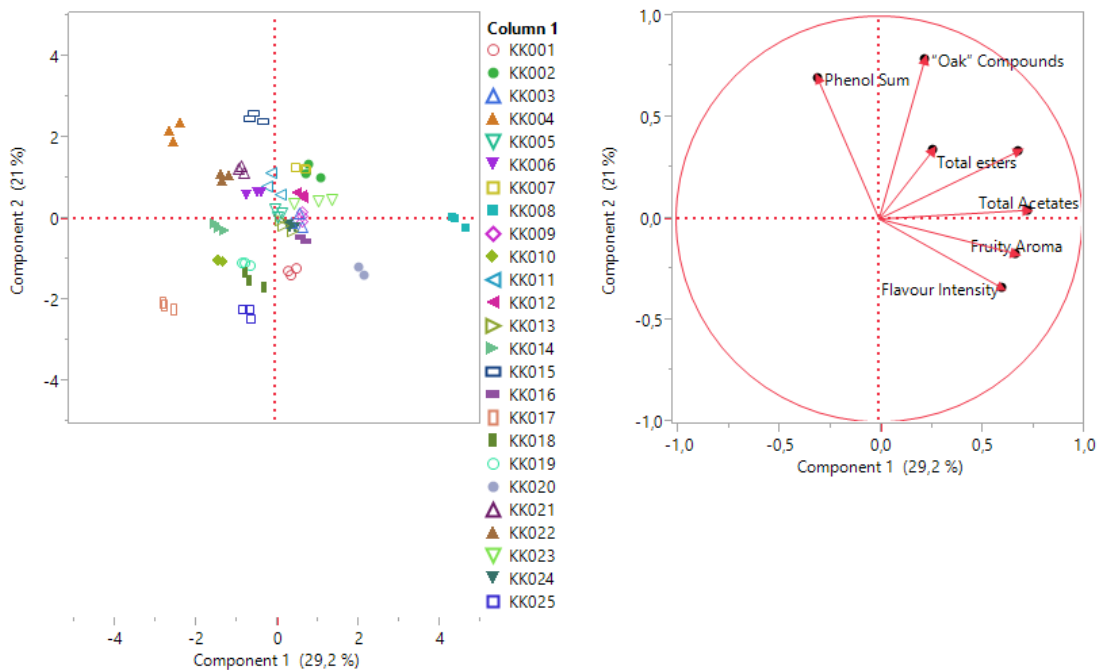
4.9.1. Συσχέτιση Ομάδων Πτητικών Ενώσεων με Οργανοληπτικές Παραμέτρους

Τα αποτελέσματα ανάλυσης των δειγμάτων ΠΟΠ Νεμέα, για τις παραμέτρους που σχετίζονται αποκλειστικά με το άρωμα, τόσο ενόργανης ανάλυσης όσο και οργανοληπτικής ανάλυσης, υποβλήθηκαν σε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Components Analysis, PCA), ώστε να διερευνηθούν οι μεταξύ τους συσχετίσεις. Πιο συγκεκριμένα η PCA χρησιμοποιήθηκε για τις ομάδες ενώσεων οξικοί εστέρες (σύνολο), υπόλοιποι εστέρες (σύνολο), φαινόλες (σύνολο) και ενώσεις δρυός (σύνολο), οι οποίες προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας GC-MS/MS, καθώς και τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής ανάλυσης των ίδιων δειγμάτων για το φρουτώδες άρωμα, το άρωμα βαρελιού και το άρωμα στόματος. Το διπλό διάγραμμα (biplot) κατασκευάστηκε με τις δύο πρώτες Κύριες Συνιστώσες (PCs), οι οποίες εξήγησαν το 50,2% της συνολικής διακύμανσης.

Τα ιδιοδιανύσματα (eigenvectors) καταδεικνύουν ότι η Κύρια Συνιστώσα 1 (Principal Component 1) εξαρτάται από τους οξικούς εστέρες (σύνολο), τους υπόλοιπους εστέρες (σύνολο), τις οργανοληπτικές παραμέτρους φρουτώδες άρωμα και άρωμα στόματος, όπως φαίνεται στον Πίνακα 31. Από την άλλη πλευρά, η Κύρια Συνιστώσα 2 εξαρτάται από τις φαινόλες (σύνολο), τις ενώσεις δρυός (σύνολο) και τις οργανοληπτικές παραμέτρους του αρώματος βαρελιού, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 2.

Πίνακας 31. Τα ιδιοδιανύσματα (eigenvectors) για την Κύρια Συνιστώσα 1 (PC1) και την Κύρια Συνιστώσα 2 (PC2).

	Κύρια Συνιστώσα 1	Κύρια Συνιστώσα 2
Φαινόλες (σύνολο)	-0,21102	0,56998
Οξικοί Εστέρες (σύνολο)	0,51338	0,03573
Υπόλοιποι Εστέρες (σύνολο)	0,48203	0,27627
Ενώσεις δρυός (σύνολο)	0,15779	0,64906
Φρουτώδες Άρωμα	0,46956	-0,14097
Άρωμα Βαρελιού	0,18523	0,27852
Άρωμα Στόματος	0,4241	-0,2807



Σχήμα 2. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) για οξικούς εστέρες σύνολο (Total Acetates), υπόλοιπους εστέρες σύνολο (Total Esters), φαινόλες σύνολο (Phenol Sum) και ενώσεις δρυός σύνολο ("Oak" Compounds) προσδιορισμένα με χρήση GC-MS/MS, καθώς και για τις οργανοληπτικές παραμέτρους φρουτώδες άρωμα (Fruity Aroma), άρωμα βαρελιού (Barrel Aroma) και άρωμα στόματος (Flavour Intensity).

Οι συσχετίσεις μεταξύ των παραμέτρων που χρησιμοποιήθηκαν στην PCA, καταδεικνύουν ακόμη περισσότερα όσα έδειξαν οι δύο Κύριες Συνιστώσες. Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται ξεκάθαρα ότι οι οξικοί εστέρες (σύνολο) και οι υπόλοιποι εστέρες (σύνολο) συσχετίζονται ισχυρά με την

οργανοληπτική παράμετρο του φρουτώδους αρώματος, ενώ οι ενώσεις δρυός συσχετίζονται ισχυρά με την οργανοληπτική παράμετρο του αρώματος βαρελιού, όπως φαίνεται στον Πίνακα 32.

Πίνακας 32. Συσχετίσεις μεταξύ παραμέτρων ενόργανης ανάλυσης και οργανοληπτικής ανάλυσης που αφορούν στο άρωμα του οίνου.

	Φαινόλες (σύνολο)	Οξικοί Εστέρες (σύνολο)	Υπόλοιποι Εστέρες (σύνολο)	Ενώσεις δρυός (σύνολο)	Φρουτώδες Άρωμα	Άρωμα Βαρελιού	Άρωμα Στόματος
Φαινόλες (σύνολο)	1	-0,1507	-0,0656	0,3032	-0,0409	-0,0114	-0,3239
Οξικοί Εστέρες (σύνολο)	-0,1507	1	0,6042	0,0138	0,3627	0,0097	0,0884
Υπόλοιποι Εστέρες (σύνολο)	-0,0656	0,6042	1	0,2399	0,2023	0,1194	0,0547
Ενώσεις δρυός (σύνολο)	0,3032	0,0138	0,2399	1	0,1123	0,2869	-0,0006
Φρουτώδες Άρωμα	-0,0409	0,3627	0,2023	0,1123	1	-0,1643	0,494
Άρωμα Βαρελιού	-0,0114	0,0097	0,1194	0,2869	-0,1643	1	0,3771
Άρωμα Στόματος	-0,3239	0,0884	0,0547	-0,0006	0,494	0,3771	1

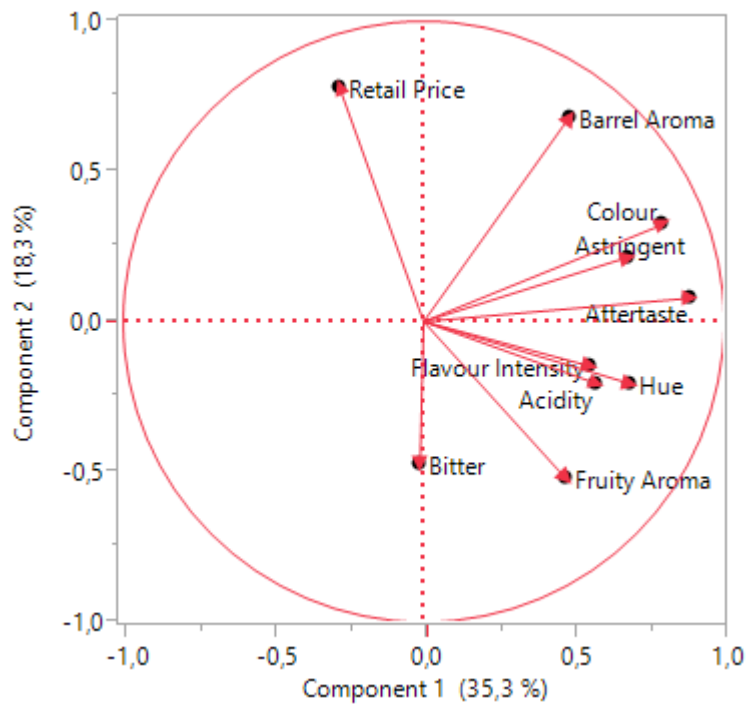
4.9.2. Ανάλυση Δεδομένων για Οργανοληπτική Ανάλυση – Συσχέτιση Οργανοληπτικών Παραμέτρων με Τιμή Λιανικής ΠΟΠ Νεμέα

Η ανάλυση διακύμανσης κατά ένα κριτήριο (One-way ANOVA) έδειξε ότι και οι έντεκα οργανοληπτικές παράμετροι ήταν στατιστικά σημαντικές (significant) σε επίπεδο $P < 0,0001$ στις διαφοροποιήσεις των προϊόντων.

Πραγματοποιήθηκε Ανάλυση Κύριων Συνιστωστών (PCA) για τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής ανάλυσης, για όλες τις παραμέτρους, των οίνων ΠΟΠ Νεμέα, καθώς και για την τιμή λιανικής τους. Η ανάλυση PCA εμφάνισε μία ισχυρή θετική συσχέτιση της τιμής λιανικής με την οργανοληπτική παράμετρο άρωμα βαρελιού, όπως φαίνεται στον Πίνακα 33. Παράλληλα, η τιμή λιανικής εμφάνισε αρνητική συσχέτιση με τις παραμέτρους πικρό και φρουτώδες άρωμα. Τα ανωτέρω αποτυπώνονται και στο Σχήμα 3.

Πίνακας 33. Συσχετίσεις μεταξύ Τιμής Λιανικής και Οργανοληπτικών Παραμέτρων.

Παράμετρος	Τιμή Λιανικής
Τιμής Λιανικής	1
Χρώμα	0,0179
Απόχρωση	-0,4391
Φρουτώδες Άρωμα	-0,3055
Άρωμα Βαρελιού	0,3617
Άρωμα Στόματος	-0,1005
Ξινό	-0,1053
Πικρό	-0,3727
Στυφό	-0,2127
Διάρκεια Επίγευσης	-0,2222



Σχήμα 3. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) για την Τιμή Λιανικής και για τις Οργανοληπτικές Παραμέτρους των οίνων ΠΟΠ Νεμέα.

4.10. Αγιωργίτικο Ωριμασμένο με Ξυλοθραύσματα Δρυός

4.10.1. Φυσικοχημικές Αναλύσεις

Τα αποτελέσματα των φυσικοχημικών αναλύσεων του οίνου που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας παρουσιάζονται ακολούθως. Αξίζει να σημειωθεί ότι αναφέρεται ο μέσος όρος των δύο μετρήσεων. Αλκοολικός Τίτλος 13,73 %v/v, Πυκνότητα στους 20 °C 0,9907 g/mL, pH 3,48, Ολική Οξύτητα 6,15 g τρυγικού οξέος/L, Πτητική Οξύτητα 0,15 g οξικού οξέος/L, Ανάγοντα Σάκχαρα 1,9 g/L, Ολικό Ξηρό Υπόλειμμα 26,7 g/L, Ένταση Χρώματος 7,78 A, Απόχρωση 0,58, Δείκτης Φαινολικών Ουσιών 51 A, Ολικό Θειώδες 56 mg/L, Ελεύθερο Θειώδες 16 mg/L.

4.10.2. Προσδιορισμός Πτητικών Ενώσεων του Αρώματος με Χρήση GC-MS/MS

Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε ανάλυση για προσδιορισμό τριάντα εννέα (39) πτητικών ενώσεων του αρώματος, όπως αναφέρονται στην παράγραφο 3.2. της παρούσης.

Ακολούθως εμφανίζονται τα αποτελέσματα μόνο για τις ενώσεις, των οποίων οι συγκεντρώσεις προσδιορίστηκαν σε τιμές πάνω από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου.

Οι πτητικές ενώσεις που προέρχονται από την επαφή των Ξυλοθραυσμάτων δρυός με τον οίνο και προσδιορίστηκαν σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου εμφανίζονται στον Πίνακα 34.

Πίνακας 34. Οι συγκεντρώσεις των ενώσεων που ανήκουν στην ομάδα «ενώσεις δρυός» και προσδιορίστηκαν υψηλότερα από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου, με χρήση ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

	Acetovanillone (μg/L)			4-Ethylguaiacol (μg/L)			Guaiacol (μg/L)			Vanillin (μg/L)			<i>trans</i> -Whiskey lactone (μg/L)			<i>cis</i> -Whiskey lactone (μg/L)		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Αριθμός Ημερών	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Μάρτυρας	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
LT_1g	ND	27 ± 10	86 ± 27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	11 ± 1	27 ± 10	82 ± 29	ND	ND	ND	19 ± 2	24 ± 3	27 ± 6
LT_2g	12 ± 2	45 ± 2	146 ± 69	ND	ND	ND	ND	ND	ND	13 ± 1	44 ± 3	142 ± 76	ND	20 ± 12	19 ± 7	38 ± 8	62 ± 6	57 ± 16
LT_4g	21 ± 10	73 ± 28	246 ± 96	ND	ND	ND	ND	ND	ND	23 ± 7	70 ± 24	242 ± 117	21 ± 13	42 ± 23	41 ± 12	80 ± 4	117 ± 29	122 ± 11
MT_1g	13 ± 3	28 ± 8	148 ± 5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15 ± 4	25 ± 8	139 ± 13	ND	ND	22 ± 1	13 ± 4	19 ± 7	22 ± 4
MT_2g	22 ± 1	132 ± 28	296 ± 8	ND	ND	ND	ND	10 ± 0	10 ± 2	25 ± 1	126 ± 35	278 ± 26	ND	22 ± 3	33 ± 1	29 ± 4	46 ± 10	44 ± 10
MT_4g	86 ± 20	289 ± 71	600 ± 34	ND	ND	ND	14 ± 2	17 ± 1	20 ± 5	86 ± 14	278 ± 96	550 ± 23	24 ± 7	40 ± 9	52 ± 20	57 ± 8	72 ± 15	85 ± 7
HT_1g	ND	33 ± 5	108 ± 23	ND	ND	5 ± 1	10 ± 0	15 ± 3	15 ± 1	9 ± 2	31 ± 2	100 ± 30	ND	ND	ND	ND	ND	ND
HT_2g	ND	50 ± 17	217 ± 50	ND	7 ± 2	11 ± 1	21 ± 2	27 ± 4	29 ± 2	14 ± 2	49 ± 19	211 ± 68	ND	ND	ND	7 ± 0.4	11 ± 6	11 ± 0.1
HT_4g	21 ± 2	154 ± 43	325 ± 21	ND	15 ± 4	20 ± 3	32 ± 3	48 ± 8	52 ± 2	23 ± 1	143 ± 53	310 ± 52	ND	ND	ND	6 ± 2	15 ± 4	20 ± 3

Η vanillin ήταν η μόνη πτητική ουσία αρώματος που προέρχεται από τα κομμάτια δρυός και προσδιορίστηκε σε συγκεντρώσεις πάνω από το όριο αναφοράς της μεθόδου σε όλα τα δείγματα εκτός του μάρτυρα. Πιο συγκεκριμένα, η vanillin προσδιορίστηκε σε συγκεντρώσεις από 9 μg/L έως 86 μg/L και μέσο όρο 24 μg/L στις 30 ημέρες, από 25 μg/L έως 278 μg/L και μέσο όρο 88 μg/L στις 60 ημέρες και από 56 μg/L έως 555 μg/L και μέσο όρο 225 μg/L στις 90 ημέρες.

Οι ουσίες που ευθύνονται για το καπνιστό άρωμα του οίνου 4-ethylguaiacol και guaiacol εμφανίζονται μόνο στα δείγματα με μεσαίο και υψηλό κάψιμο. Πιο συγκεκριμένα, η 4-ethylguaiacol προσδιορίστηκε σε συγκέντρωση πάνω από το όριο ποσοτικοποίησης μόνο στα δείγματα

υψηλού καψίματος με δόσεις 2 g/L (HT_2g) και 4 g/L (HT_4g) στις 60 ημέρες και σε όλα τα δείγματα υψηλού καψίματος στις 90 ημέρες. Η guaiacol προσδιορίστηκε σε συγκεντρώση πάνω από το όριο ποσοτικοποίησης στα μεσαίου καψίματος 4 g/L (MT_4g), υψηλού καψίματος 1 g/L (HT_1g), 2 g/L (HT_2g) και 4 g/L (HT_4g) τόσο στις 30 ημέρες, όσο και στις 60 και 90 ημέρες, ενώ στα μεσαίου καψίματος 2 g/L (MT_2g) μόνο στις 60 και 90 ημέρες.

Τα αποτελέσματα της 2-phenylethanol και των οξικών εστέρων, των οποίων οι συγκεντρώσεις προσδιορίστηκαν πάνω από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου εμφανίζονται στον Πίνακα 35.

Πίνακας 35. Οι συγκεντρώσεις της 2-phenylethanol και των ενώσεων που ανήκουν στην ομάδα «οξικών εστέρων» και προσδιορίστηκαν υψηλότερα από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου, με χρήση ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

Αριθμός Ημερών	2-Phenylethanol (µg/L)			2-Phenethyl acetate (µg/L)			Isoamyl acetate (µg/L)			Isobutyl acetate (µg/L)		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Μάρτυρας	40995±701	43589±4841	35453±733	63±3	68±3	66±6	1188±172	1014±100	948±108	69±13	62±10	66±16
LT_1g	40161±1390	42612±4912	39249±1558	65±5	69±4	72±9	1156±108	1019±93	980±88	86±5	75±4	57±7
LT_2g	38844±1055	40146±625	40190±3076	59±2	73±3	69±5	1367±100	1139±69	1028±110	80±8	70±6	49±18
LT_4g	39979±1283	42804±3676	38847±2570	62±8	72±2	67±1	1269±76	1130±119	1035±29	78±5	72±5	58±5
MT_1g	37357±1526	39779±8604	39405±1815	70±4	73±2	68±3	1256±49	1091±47	1041±75	80±5	73±2	62±8
MT_2g	38968±1525	41140±2616	38432±1305	68±3	69±2	65±6	1365±31	1147±52	1009±96	78±8	70±6	60±4
MT_4g	38129±1641	36062±5340	38573±527	70±6	67±2	67±3	1254±56	1001±42	960±9	85±9	69±7	60±6
HT_1g	37698±1387	42281±5985	36877±1913	71±4	69±8	65±4	1303±73	1110±59	1006±130	78±7	69±6	65±10
HT_2g	39471±5611	40409±5212	38650±1349	68±2	67±6	67±5	1189±57	1037±40	1009±44	84±7	72±5	65±3
HT_4g	32599±1558	35313±3267	34954±913	66±1	61±3	57±8	1278±116	1056±106	944±46	83±8	72±7	63±4

Τα αποτελέσματα των υπόλοιπων εστέρων, των οποίων οι συγκεντρώσεις προσδιορίστηκαν σε συγκεντρώσεις πάνω από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου εμφανίζονται στον Πίνακα 36.

Πίνακας 36. Οι συγκεντρώσεις των ενώσεων που ανήκουν στην ομάδα «υπόλοιπων εστέρων» και προσδιορίστηκαν υψηλότερα από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου, με χρήση ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

Αριθμός Ημερών	Ethyl 3-hydroxybutyrate (μg/L)			Ethyl butyrate (μg/L)			Ethyl caproate (μg/L)			Ethyl caprylate (μg/L)			Ethyl isobutyrate (μg/L)		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Μάρτυρας	972±73	813±57	783±59	255±10	261±19	249±21	68±8	56±3	52±3	67±3	71±6	64±6	64±4	61±4	62±5
LT_1g	967±30	801±81	810±32	260±19	248±14	230±8	66±8	58±4	57±2	71±11	68±7	67±6	70±6	65±3	65±5
LT_2g	947±32	787±20	844±85	266±3	247±23	225±16	69±11	60±4	59±4	77±10	76±3	73±7	64±5	61±4	64±4
LT_4g	983±48	1041±351	827±18	262±15	267±17	232±5	75±16	69±7	61±2	82±14	74±6	67±3	71±8	68±7	68±4
MT_1g	919±48	1707±1516	884±45	257±22	252±19	260±46	81±9	70±1	62±3	83±6	77±8	72±3	71±8	70±3	73±4
MT_2g	959±37	817±38	854±34	236±6	260±9	235±7	81±8	66±4	56±3	81±8	80±4	69±3	61±4	60±5	68±5
MT_4g	906±26	802±82	839±42	263±20	253±3	234±14	71±13	63±8	57±2	78±9	73±5	70±6	70±7	66±3	66±5
HT_1g	936±26	795±38	831±75	260±17	256±13	230±16	75±10	62±2	55±7	82±9	78±4	71±4	75±9	68±6	70±5
HT_2g	964±105	731±44	848±24	257±10	255±10	242±9	68±4	55±5	54±2	63±6	68±5	63±3	70±5	65±1	68±6
HT_4g	843±41	684±21	763±43	265±15	244±8	219±10	63±4	57±2	52±3	68±4	67±4	63±2	69±5	65±4	64±2

4.10.3. Ενεργή Τιμής Οσμής (Odor Active Value, OAV)

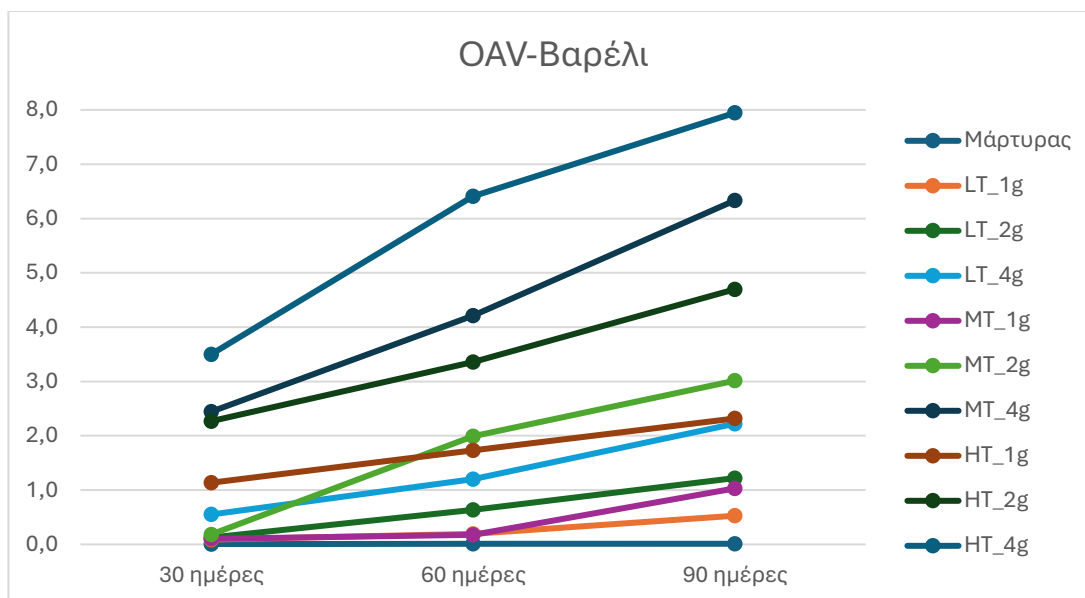
Για την καλύτερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων και τη διασύνδεσή τους με την οργανοληπτική ανάλυση υπολογίστηκε η Ενεργή Τιμή Οσμής (Odor Active Value, OAV) για κάθε ένωση, η οποία προσδιορίστηκε σε συγκέντρωση πάνω από το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου.

Το OAV-Βαρελιού υπολογίστηκε αθροίζοντας τα OAV των ενώσεων του Πίνακα 34. Το OAV-Φρουτώδους υπολογίστηκε αθροίζοντας τα OAV των ενώσεων των Πινάκων 35 και 36. Τα αποτελέσματα των OAV και το ποσοστό OAV-Βαρελιού του κάθε δείγματος εμφανίζεται στον Πίνακα 37.

Πίνακας 37. Οι τιμές των Ενεργών Τιμών Οσμής (Odor Active Value) για το φρουτώδες (OAV-Φρουτώδες), για το βαρέλι (OAV-Βαρέλι) και το ποσοστό Ενεργούς Τιμής Οσμής για το βαρέλι (%OAV-Βαρέλι), για τα δείγματα με προσθήκη ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

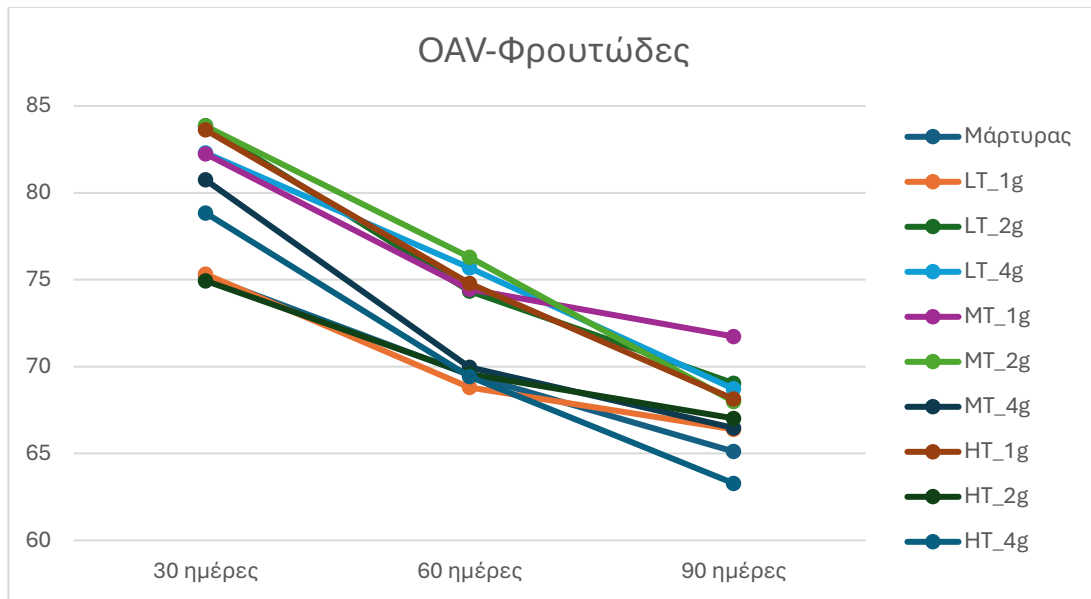
Αριθμός Ημερών	OAV-Φρουτώδες			OAV-Βαρέλι			%OAV-Βαρέλι		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Μάρτυρας	75,2 ± 5	69,5 ± 2,4	65,1 ± 3	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,0%	0,0%	0,0%
LT_1g	75,3 ± 4,4	68,8 ± 4,1	66,4 ± 3,2	0,1 ± 0,01	0,2 ± 0,06	0,5 ± 0,17	0,1%	0,3%	0,8%
LT_2g	83,9 ± 5,6	74,3 ± 2,5	69 ± 3,7	0,1 ± 0,01	0,6 ± 0,17	1,2 ± 0,54	0,2%	0,8%	1,7%
LT_4g	82,3 ± 6,7	75,7 ± 6,2	68,7 ± 1,4	0,6 ± 0,24	1,2 ± 0,5	2,2 ± 0,84	0,7%	1,6%	3,1%
MT_1g	82,2 ± 4,2	74,5 ± 2,9	71,7 ± 3,1	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,05	1 ± 0,11	0,1%	0,2%	1,4%
MT_2g	83,8 ± 3,2	76,3 ± 2,2	68 ± 3,3	0,2 ± 0,01	2 ± 0,39	3 ± 0,33	0,2%	2,5%	4,2%
MT_4g	80,7 ± 4	70 ± 1,8	66,5 ± 1,2	2,4 ± 0,45	4,2 ± 0,81	6,3 ± 0,76	2,9%	5,7%	8,7%
HT_1g	83,6 ± 4,3	74,8 ± 2,4	68,1 ± 6,4	1,1 ± 0,05	1,7 ± 0,32	2,3 ± 0,07	1,3%	2,3%	3,3%
HT_2g	74,9 ± 1,6	69,6 ± 2,6	67 ± 1,5	2,3 ± 0,18	3,4 ± 0,37	4,7 ± 0,45	2,9%	4,6%	6,5%
HT_4g	78,8 ± 3,2	69,4 ± 3,2	63,3 ± 1,4	3,5 ± 0,29	6,4 ± 0,63	7,9 ± 0,11	4,3%	8,5%	11,2%

Σε σύγκριση των δειγμάτων για την παράμετρο Ενεργή Τιμή Οσμής Βαρέλι (OAV-βαρέλι), το δείγμα υψηλού καψίματος 4 g/L (HT_4g) είχε τις υψηλότερες τιμές, τόσο στις 30 ημέρες, όσο και στις 60 και 90 ημέρες, με μεγάλη διαφορά από τα υπόλοιπα δείγματα. Στη συνέχεια, ακολουθούσε το δείγμα μεσαίου καψίματος 4 g/L (MT_4g) και έπειτα το δείγμα υψηλού καψίματος 2 g/L (HT_2g). Τα δύο τελευταία δείγματα, αν και είχαν παρόμοιες τιμές στις 30 ημέρες, η διαφορά στις τιμές τους αυξανόταν στις 60 και 90 ημέρες, όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.



Σχήμα 4. Οι τιμές Ενεργούς Τιμής Οσμής Βαρελιού (OAV-Βαρέλι), για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Σχεδόν όλα τα δείγματα παρουσίασαν τιμή ίση ή μεγαλύτερη από τον μάρτυρα για την Ενεργή Τιμή Οσμής Φρουτώδους (OAV-Φρουτώδες), με πολύ λίγες εξαιρέσεις: στις 30 ημέρες το δείγμα με υψηλό κάψιμο 2 g/L (HT_2g), στις 60 ημέρες το δείγμα με χαμηλό κάψιμο 2 g/L (LT_2g), και στις 90 ημέρες το δείγμα με υψηλό κάψιμο 4 g/L (HT_4g). Τα ανωτέρω απεικονίζονται στο Σχήμα 5.



Σχήμα 5. Οι τιμές Ενεργούς Τιμής Οσμής Φρουτώδους (OAV-Φρουτώδες), για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

4.10.4. Οργανοληπτική Ανάλυση

Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής ανάλυσης για τις οσφρητικές παραμέτρους άρωμα βαρελιού (barrel aroma), καπνιστό άρωμα (smoky aroma), πολυπλοκότητα αρώματος (aroma complexity), φρουτώδες άρωμα (fruity aroma), καθώς και το άρωμα στόματος (flavor intensity) για κάθε παρτίδα προσθήκης κομματιών δρυός και του μάρτυρα για τις 30, 60 και 90 ημέρες εμφανίζονται στον Πίνακα 38.

Πίνακας 38. Αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης για τις παραμέτρους άρωμα βαρελιού, καπνιστό άρωμα, πολυπλοκότητα αρώματος, φρουτώδες άρωμα, άρωμα στόματος, για τα δείγματα με προσθήκη ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

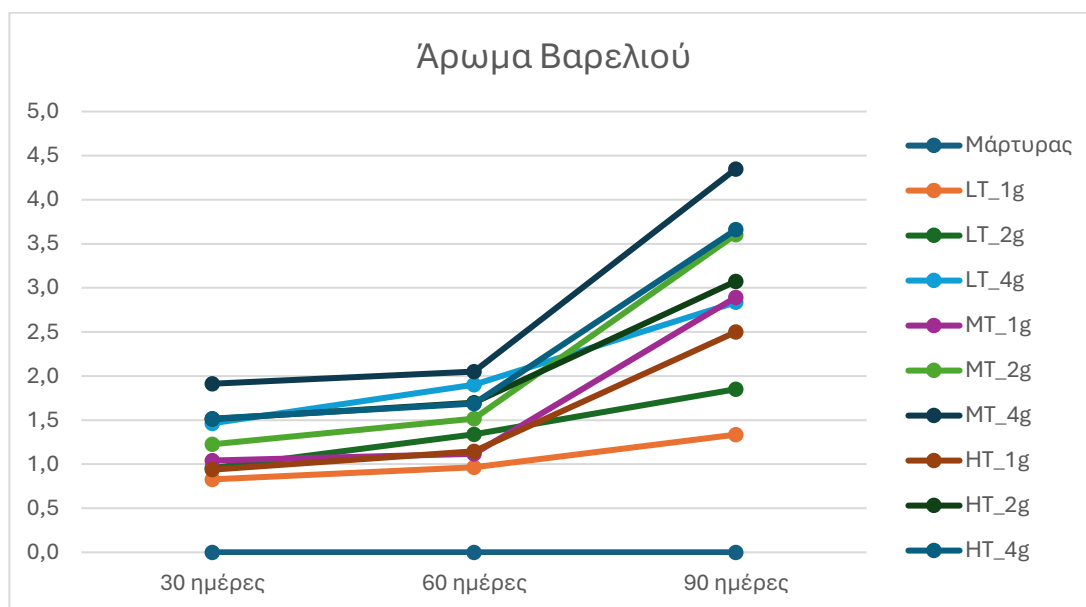
Αριθμός Ημερών	Άρωμα Βαρελιού			Καπνιστό Άρωμα			Πολυπλοκότητα Αρώματος			Φρουτώδες Άρωμα			Άρωμα Στόματος		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Μάρτυρας	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	1,3±0,1	1,5±0,1	2,6±0,2	5,8±0,3	6,4±0,1	6,5±0,0	4,4±0,1	4,5±0,1	4,4±0,1
LT_1g	0,8±0,1	1,0±0,1	1,3±0,1	0,2±0	0,4±0,1	0,7±0,1	2,3±0,1	2,6±0,1	3,4±0,1	6,0±0,1	6,2±0,1	6,3±0,1	4,5±0,2	4,5±0,1	4,4±0,2
LT_2g	1±0,1	1,3±0,1	1,9±0,1	0,5±0	0,6±0,1	0,9±0,2	2,3±0,1	2,8±0,2	4,3±0,1	5,7±0,3	6,0±0,2	6,1±0,2	4,5±0,3	4,5±0,2	4,6±0,1
LT_4g	1,5±0,2	1,9±0,2	2,8±0,4	0,6±0,1	0,8±0,1	1,4±0,4	2,7±0,1	3,3±0,4	4,7±0,3	6,1±0,2	6,1±0,1	6,2±0,2	4,3±0,3	4,5±0	4,6±0,1
MT_1g	1±0,1	1,1±0,1	2,9±0,1	0,5±0,1	0,7±0,1	1,4±0,1	2,4±0,1	3,2±0,1	4,5±0,3	6,2±0,1	6,2±0,2	6,4±0,2	4,4±0,2	4,7±0,2	4,8±0,2
MT_2g	1,2±0,2	1,5±0,1	3,6±0,2	0,5±0,1	0,9±0,1	2,6±0,2	2,7±0,1	3,3±0,1	4,9±0,2	5,9±0,5	6,1±0,2	6,1±0,1	4,3±0,1	4,8±0,2	4,7±0,1
MT_4g	1,9±0,3	2,1±0,2	4,3±0,1	0,9±0,1	1,3±0,2	2,6±0,3	2,9±0,1	3,6±0,1	5,2±0,2	5,8±0,3	6,1±0,1	6,1±0,3	4,3±0,2	4,8±0,1	4,5±0,1
HT_1g	0,9±0,1	1,1±0,1	2,5±0,2	0,8±0,1	1,0±0,1	2,1±0,4	2,4±0,1	3,6±0,2	4,8±0,4	5,8±0,3	6,2±0,2	6,1±0,2	4,1±0,1	4,6±0,1	4,3±0,2
HT_2g	1,5±0,1	1,7±0,2	3,1±0,5	1,0±0,1	1,4±0,1	2,7±0,1	2,7±0,2	3,8±0,5	5,4±0,2	5,7±0,3	6,3±0,2	6,2±0,3	4,3±0,2	4,4±0,1	4,8±0,1
HT_4g	1,5±0,1	1,7±0,3	3,7±0,7	1,3±0,1	1,8±0,1	2,7±0,1	3,3±0,3	4,3±0,3	6,1±0	5,8±0,3	6,3±0,1	6,2±0,2	4,4±0,2	4,5±0,1	5,1±0,1

Αντιστοίχως, τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής ανάλυσης για τις γευστικές παραμέτρους εμφανίζονται ακολούθως, στον Πίνακα 39.

Πίνακας 39. Αποτελέσματα οργανοληπτικής ανάλυσης για τις παραμέτρους ξινό, γλυκό, πικρό, στυφό και διάρκεια επίγευσης, για τα δείγματα με προσθήκη ξυλοθραυσμάτων δρυός χαμηλού καψίματος (LT), μεσαίου καψίματος (MT), υψηλού καψίματος (HT), σε δόσεις 1 g/L, 2 g/L και 4g/L, σε 30, 60 και 90 ημέρες επαφής του ξύλου με τον οίνο.

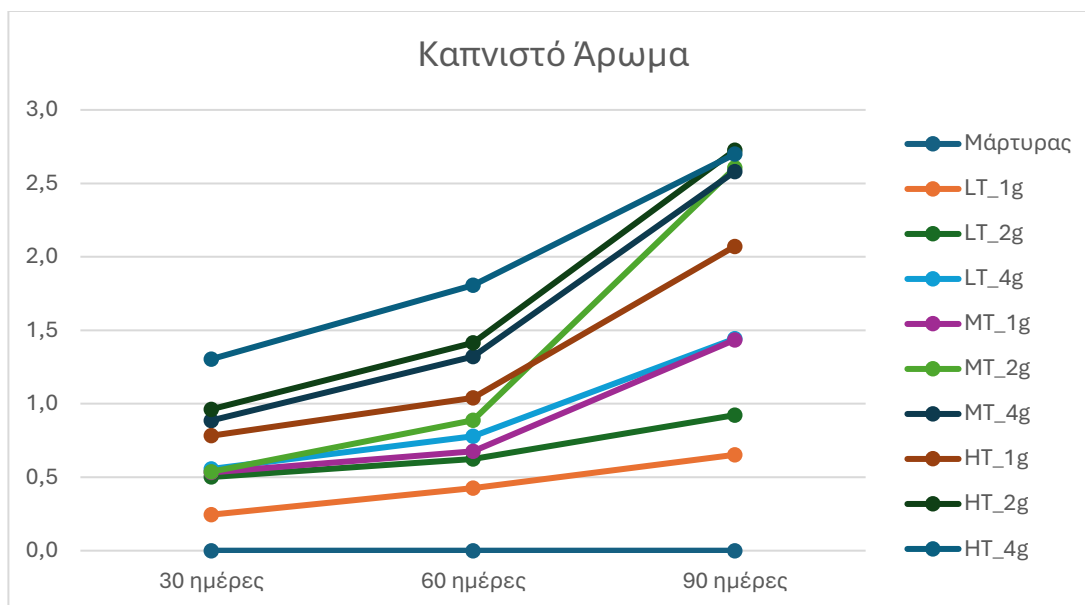
Αριθμός Ημερών	Ξινό			Γλυκό			Πικρό			Στυφό			Διάρκεια Επίγευσης		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Μάρτυρας	4,4±0,1	4,9±0,1	4,6±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1	0,5±0	2,9±0,8	2,3±0,2	3,0±0,3	4,3±0,2	4,1±0,3	4,4±0,1
LT_1g	4,4±0	4,6±0,1	4,7±0,1	0,8±0,2	0,8±0,1	0,8±0,1	0,5±0,2	0,5±0	0,6±0,1	2,8±0,1	2,6±0,1	2,9±0,2	4,2±0,1	4,5±0,2	4,3±0,1
LT_2g	4,4±0,1	4,6±0,2	4,7±0,1	0,8±0,1	1,0±0,1	1,0±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	2,9±0,2	2,9±0,2	3,4±0,2	4,1±0,2	4,3±0,1	4,5±0,2
LT_4g	4,3±0,1	4,3±0,1	4,6±0,1	1,2±0,1	0,8±0,1	0,8±0,1	0,5±0,1	0,5±0	0,5±0	3,0±0,1	2,7±0,1	3,4±0,1	4,2±0,2	4,5±0,1	4,7±0,2
MT_1g	4,3±0,1	4,5±0,1	4,5±0,1	1,0±0,1	0,7±0,1	1,0±0,1	0,4±0,1	0,5±0,1	0,6±0,1	2,8±0,2	3,0±0,2	3,3±0,1	4,2±0,1	4,5±0,1	4,6±0,1
MT_2g	4,3±0,1	4,8±0,1	4,6±0,1	0,9±0	0,9±0,1	0,8±0	0,5±0,1	0,5±0,1	0,6±0	2,7±0,2	3,0±0,1	3,2±0,2	4,0±0,1	4,4±0,1	4,5±0,1
MT_4g	4,2±0,2	4,7±0,2	4,6±0,1	1,1±0,1	1,0±0,1	1,0±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,8±0,1	2,8±0,3	3,2±0,1	3,7±0,4	4,1±0,2	4,3±0,1	4,5±0,1
HT_1g	4,2±0,1	4,4±0,1	4,6±0,1	0,9±0,2	0,9±0,1	0,8±0	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	2,9±0,3	3,2±0,1	3,7±0,2	4,1±0,1	4,5±0,1	4,5±0,1
HT_2g	4,3±0,1	4,4±0,1	4,6±0,1	1,0±0,1	0,9±0,1	0,8±0,1	0,5±0,1	0,6±0,1	0,7±0,1	2,8±0,1	3,3±0,1	3,5±0,1	4,2±0,1	4,5±0,1	4,8±0,1
HT_4g	4,3±0,1	4,5±0,2	4,8±0,1	1,1±0,2	0,9±0	0,9±0	0,5±0,1	0,6±0,1	0,8±0,1	2,8±0,1	3,1±0,1	3,5±0,1	4,2±0,1	4,6±0,1	4,9±0,1

Οργανοληπτικά το άρωμα βαρελιού ήταν πιο έντονα αντιληπτό στο μεσαίο κάψιμο 4 g/L (MT_4g) και στις τρεις περιόδους ανάλυσης. Τη δεύτερη υψηλότερη τιμή, στις 30 ημέρες είχαν τα δείγματα χαμηλού καψίματος 4 g/L (LT_4g), υψηλού καψίματος 2 g/L (HT_2g) και 4 g/L (HT_4g), στις 60 ημέρες το δείγμα χαμηλού καψίματος 4 g/L (LT_4g), ενώ στις 90 ημέρες το δείγμα υψηλού καψίματος 4 g/L (HT_4g), όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.



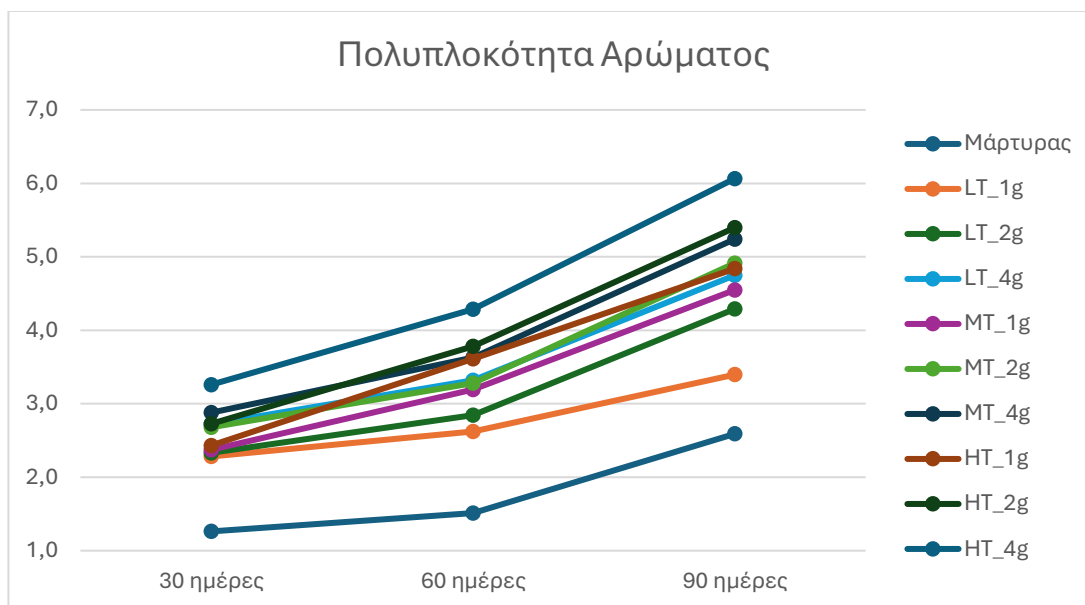
Σχήμα 6. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Άρωμα Βαρελιού, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Σε σύγκριση των δειγμάτων για την οργανοληπτική παράμετρο καπνιστό άρωμα (smoky aroma), την υψηλότερη τιμή είχε το δείγμα υψηλού καψίματος 4 g/L (HT_4g), ενώ το δείγμα υψηλού καψίματος 2 g/L (HT_2g) είχε τη δεύτερη υψηλότερη τιμή, στις 30 και 60 ημέρες. Τα δύο συγκεκριμένα δείγματα είχαν την ίδια τιμή στις 90 ημέρες, όπως φαίνεται στο Σχήμα 7.



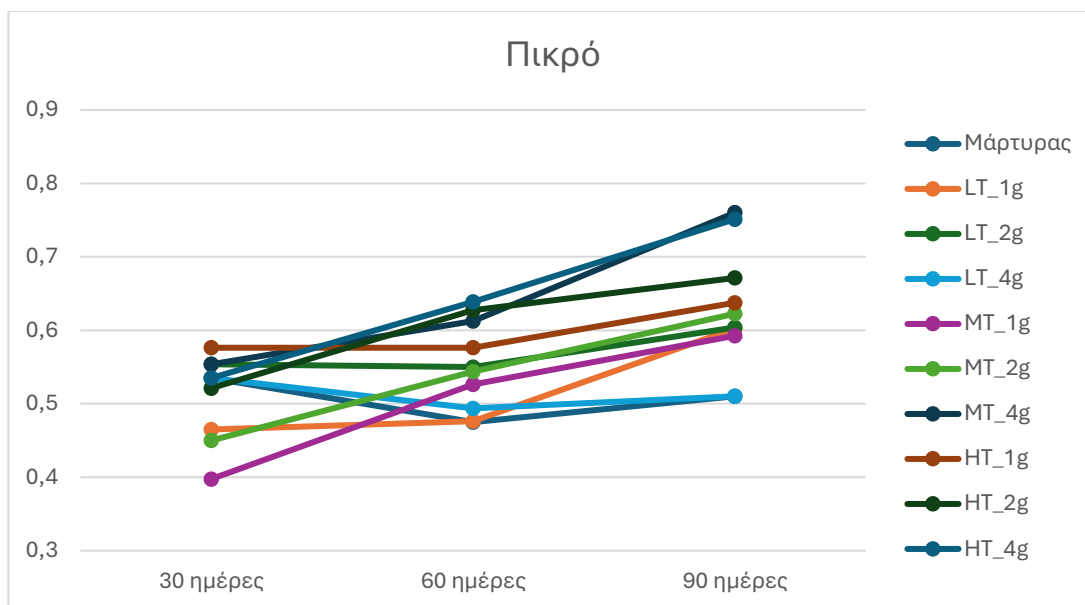
Σχήμα 7. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Καπνιστό Άρωμα, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Όλα τα ανωτέρω οργανοληπτικά αποτελέσματα επιβεβαιώνονται και από την οργανοληπτική παράμετρο πολυπλοκότητα αρώματος (aroma complexity), για την οποία το δείγμα υψηλού καψίματος 4 g/L (HT_4g) είχε την υψηλότερη τιμή σε όλες τις χρονικές περιόδους της έρευνας. Τη δεύτερη υψηλότερη τιμή, στις 30 ημέρες εμφάνισε το δείγμα μεσαίου καψίματος 4 g/L (MT_4g), ενώ στις 60 και 90 ημέρες το δείγμα υψηλού καψίματος 2 g/L (HT_2g), όπως φαίνεται και στο Σχήμα 8.



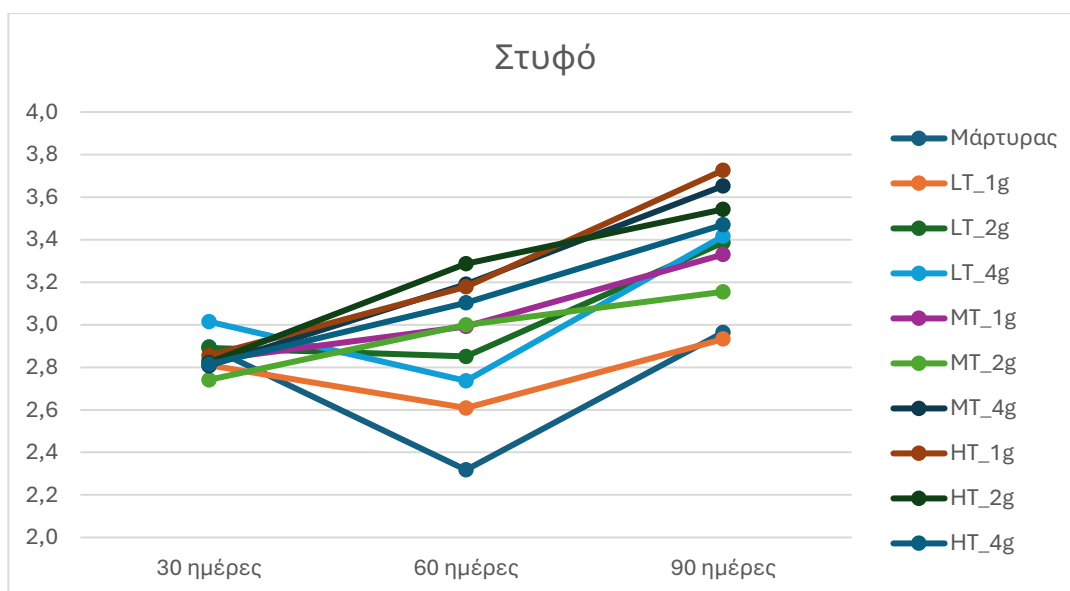
Σχήμα 8. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Πολυπλοκότητα Αρώματος, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Στις γευστικές οργανοληπτικές παραμέτρους, στο πικρό τα δείγματα είχαν παραπλήσιες τιμές στις 30 και 60 ημέρες. Αντιθέτως, στις 90 ημέρες εμφανίστηκαν τρία δείγματα με αυξημένες τιμές σε σχέση με τα υπόλοιπα και πιο συγκεκριμένα τα δείγματα μεσαίου καψίματος 4 g/L (MT_4g), υψηλού καψίματος 2 g/L (HT_2g) και 4 g/L (HT_4g), όπως αποτυπώνεται και στο Σχήμα 9.



Σχήμα 9. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Πικρό, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

Παρομοίως, στην οργανοληπτική παράμετρο στυφό εμφανίστηκαν τέσσερα δείγματα με αυξημένες τιμές στις 90 ημέρες, το μεσαίου καψίματος 4 g/L (MT_4g) και όλα τα δείγματα υψηλού καψίματος (HT_1g, HT_2g, HT_4g), όπως φαίνεται και στο Σχήμα 10.

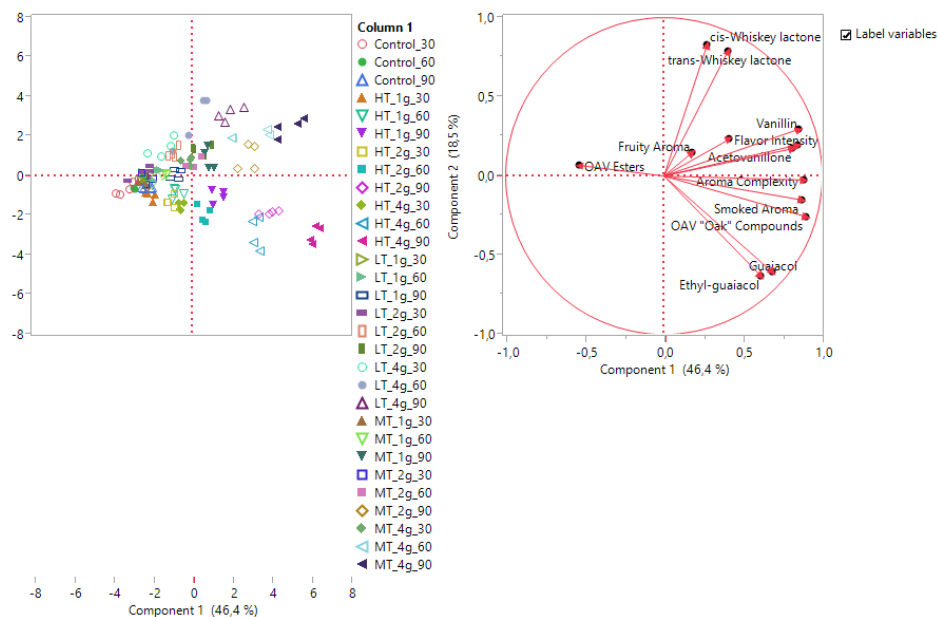


Σχήμα 10. Οι τιμές της οργανοληπτικής παραμέτρου Στυφό, για όλα τα δείγματα στις 30, 60 και 90 ημέρες.

4.10.5. Ανάλυση Δεδομένων

Για την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principle Component Analysis, PCA) αξιοποιήθηκαν τα αποτελέσματα των παραμέτρων που αφορούσαν το άρωμα με ιδιαίτερη εστίαση στο άρωμα που οφείλεται στα ξυλοθραύσματα δρυός. Πιο συγκεκριμένα, συμπεριλήφθηκαν οι οργανοληπτικές παράμετροι φρουτώδες άρωμα, άρωμα βαρελιού, καπνιστό άρωμα, πολυπλοκότητα αρώματος, άρωμα στόματος, οι ενώσεις που προσδιορίστηκαν με χρήση GC-MS/MS, acetovanillone, 4-ethylguaiacol, guaiacol, vanillin, *trans*-whiskey lactone, *cis*-whiskey lactone, καθώς και το άθροισμα των Ενεργών Τιμών Οσμής Φρουτώδους (Odor Active Values Fruity, OAV-Φρουτώδες) και των Ενεργών Τιμών Οσμής Βαρελιού (Odor Active Values Barrel, OAV "Oak" Compounds).

Τα αποτελέσματα της PCA εμφανίζονται στο Σχήμα 11 που ακολουθεί.



Σχήμα 11. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) για φρουτώδες άρωμα (Fruity Aroma), άρωμα βαρελιού (Barrel Aroma), καπνιστό άρωμα (Smoked Aroma), πολυπλοκότητα αρώματος (Aroma Complexity), άρωμα στόματος (Flavor Intensity), acetovanillone, 4-ethylguaiacol, guaiacol, vanillin, *trans*-whiskey lactone, *cis*-whiskey lactone, άθροισμα των Ενεργών Τιμών Οσμής Φρουτώδους (OAV-Esters) και των Ενεργών Τιμών Οσμής Βαρελιού (OAV "Oak" Compounds).

Τα ιδιοδιανύσματα (eigenvectors) υποδεικνύουν ότι η Κύρια Συνιστώσα 1 εξαρτάται από τις παραμέτρους Ενεργή Τιμή Οσμής Βαρελιού (OAV-Barrel), το καπνιστό άρωμα, την πολυπλοκότητα του αρώματος, καθώς και τις ενώσεις acetovanillone και vanillin. Η Κύρια Συνιστώσα 2 εξαρτάται από τις ενώσεις *trans*-whiskey lactone, *cis*-whiskey lactone, guaiacol και 4-ethylguaiacol. Τα δεδομένα των ιδιοδιανυσμάτων εμφανίζονται στον Πίνακα 40.

Πίνακας 40. Τα ιδιοδιανύσματα (eigenvectors) για την Κύρια Συνιστώσα 1 (PC1) και την Κύρια Συνιστώσα 2 (PC2), της ανάλυσης PCA για τους οίνους από Αγιωργίτικο ωριμασμένους με ξυλοθραύσματα δρυός.

	Κύρια Συνιστώσα 1	Κύρια Συνιστώσα 2
ΟΑV-Φρουτώδες	-0,21661	0,04312
ΟΑV-Βαρέλι	0,36676	-0,16566
Φρουτώδες Άρωμα	0,07324	0,09631
Άρωμα Βαρελιού	0,344	0,12663
Καπνιστό Άρωμα	0,35498	-0,09741
Πολυπλοκότητα Αρώματος	0,36122	-0,01598
Άρωμα Στόματος	0,1674	0,14881
Acetovanillone	0,33064	0,11128
4-ethyl-guaiacol	0,2499	-0,40741
Guaiacol	0,27982	-0,39231
Vanillin	0,34739	0,19066
<i>trans</i> -Whiskey lactone	0,16482	0,50871
<i>cis</i> -Whiskey lactone	0,1115	0,53487

Τέλος Κεφαλαίου 4 - Αποτελέσματα

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1. Ανάπτυξη Μεθόδου με GC-MS/MS

Η αναπτυχθείσα μέθοδος προσδιορίζει διαφορετικές κατηγορίες πτητικών ενώσεων του αρώματος, ενώ παράλληλα η επιλογή δύο ή τριών ζευγών θραυσμάτων για κάθε ένωση εξασφαλίζει υψηλή εμπιστοσύνη για την ποσοτικοποίηση και την ταυτοποίηση. Στις λίγες περιπτώσεις όπου ενώσεις έχουν παρόμοια ζεύγη θραυσμάτων, ο χρόνος κατακράτησης τις διαφοροποιεί.

Η γραμμικότητα της γραφικής παράστασης συγκέντρωσης έναντι του λόγου χρωματογραφικών επιφανειών της ένωσης προς το εσωτερικό πρότυπο ήταν ικανοποιητική για όλες τις ενώσεις. Οι ανακτήσεις κυμαίνονταν μεταξύ 70% και 120% για 38 από τις 39 ενώσεις. Η μόνη εξαίρεση ήταν η β-ιονone, η οποία παρουσίασε αυξημένη ανάκτηση στο υψηλό επίπεδο ελέγχου των 500 µg/L. Η αναπαραγωγικότητα έδειξε εξαιρετικά αποτελέσματα για 38 από τις 39 ενώσεις. Η μόνη εξαίρεση ήταν η ένωση citral, η οποία παρουσίασε αυξημένη συνδυασμένη αβεβαιότητα αναπαραγωγικότητας.

Τα όρια ανίχνευσης (LODs) και τα όρια ποσοτικοποίησης (LOQs) καθορίστηκαν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, παρόμοιες ή χαμηλότερες από αυτές που αναφέρονται σε άλλες μελέτες. Πιο συγκεκριμένα, τα όρια ποσοτικοποίησης (LOQs), όταν συγκρίνονται με άλλες μεθόδους για τον προσδιορισμό πτητικών ενώσεων του αρώματος οίνου χρησιμοποιώντας GC-MS/MS, παρουσίασαν παρόμοιες τιμές. Για παράδειγμα, το όριο ποσοτικοποίησης για την ένωση eugenol ήταν παρόμοιο με αυτά που προέκυψαν από αντίστοιχες μεθόδους [29] ή ελαφρώς χαμηλότερο, κυμαινόμενο από 2 έως 66 φορές χαμηλότερο [32].

Ωστόσο, όταν συγκρίνονται με μεθόδους που χρησιμοποιούν GC-FID, τα όρια ποσοτικοποίησης ήταν σημαντικά χαμηλότερα, κυμαινόμενα από 5 έως 560 φορές πιο χαμηλά [30]. Ομοίως, σε σύγκριση με μεθόδους που χρησιμοποιούν GC-MS, τα όρια ποσοτικοποίησης ήταν επίσης χαμηλότερα, κυμαινόμενα από 7 έως 500 φορές πιο χαμηλά [28, 31].

Η προτεινόμενη μεθοδολογία εύρεσης των θραυσμάτων κρίνεται επιτυχής και αποτελεσματική, κάτι που αποδεικνύεται από τα εξαιρετικά αποτελέσματα γραμμικότητας, ανάκτησης, ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης όλων των ενώσεων.

Ο χρόνος χρωματογραφικής ανάλυσης είναι λιγότερο από 30 λεπτά, που είναι εξαιρετικά σύντομος, παρόμοιος με αυτόν σε άλλες μελέτες που χρησιμοποίησαν GC-MS ή GC-MS/MS [28,29,31,32]. Επιπλέον, είναι σημαντικά μικρότερος από τον χρόνο που απαιτείται για μεθόδους που χρησιμοποιούν GC-FID [30], ενισχύοντας έτσι την αναλυτική χωρητικότητα ενός εργαστηρίου και επιτρέποντας την καθημερινή αξιολόγηση πολλών δειγμάτων.

Οι περισσότερες από τις ήδη αναπτυγμένες μεθόδους χρησιμοποιούν χρωματογραφικές στήλες τύπου "Wax", οι οποίες έχουν περιορισμένο εύρος εφαρμογών σε ένα αναλυτικό εργαστήριο. Ο δεύτερος πιο συχνά χρησιμοποιούμενος τύπος στήλης είναι πολικότητας "type-5". Δεδομένου ότι τα όργανα GC-MS/MS χρησιμοποιούνται συχνά για την ανάλυση υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων (ΦΠΠ) σε εργαστήρια του ιδιωτικού τομέα, η παρούσα μελέτη χρησιμοποίησε μια στήλη ειδική για την ανάλυση ΦΠΠ, ώστε η ίδια διαμόρφωση GC-MS/MS να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διαφορετικούς τύπους αναλύσεων χωρίς αλλαγή στηλών ή ρυθμίσεων. Ο όγκος έγχυσης του δείγματος είναι

μικρός, με αποτέλεσμα να προστατεύονται τα αναλώσιμα του GC-MS/MS και να παρατείνεται η διάρκεια ζωής τους.

Προηγούμενες μελέτες για τον προσδιορισμό πτητικών συστατικών του αρώματος σε οίνους έχουν επικεντρωθεί σε συγκεκριμένες κατηγορίες πτητικών συστατικών, όπως ενώσεις που σχετίζονται με τον φρουτώδη χαρακτήρα, με ελαττώματα του οίνου, με εστέρες ή με καπνιστά αρώματα [28,29,30,31,32]. Ωστόσο, αυτές οι έρευνες συχνά εξέταζαν ένα περιορισμένο αριθμό ενώσεων. Σε αυτή τη μελέτη, παρουσιάζουμε μια νέα μέθοδο που περιλαμβάνει ένα ευρύτερο φάσμα πτητικών ενώσεων του αρώματος, καλύπτοντας όλες τις προαναφερθείσες κατηγορίες. Ιδιαίτερης σημασίας είναι ότι η μέθοδος που αναπτύχθηκε μπορεί να ταυτοποιήσει τριάντα εννέα (39) ενώσεις, υπερβαίνοντας σημαντικά το εύρος των προηγούμενων μελετών.

Η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) που πραγματοποιήθηκε είχε ως στόχο να εντοπίσει συσχετίσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων για τις κατηγορίες οξικών εστέρων (σύνολο), υπόλοιπων εστέρων (σύνολο), φαινολών (σύνολο) και ενώσεων δρυός, όπως αυτές προσδιορίζονται με χρήση GC-MS/MS, και τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής ανάλυσης για το φρουτώδες άρωμα, το άρωμα βαρελιού και το άρωμα στόματος. Η PCA απέδωσε αξιοσημείωτα αποτελέσματα, αφού – όπως προαναφέρθηκε – τα ιδιοδιανύσματα υποδεικνύουν ότι η Κύρια Συνιστώσα 1 διαμορφώνεται από τους οξικούς εστέρες, υπόλοιπους εστέρες και τις οργανοληπτικές παραμέτρους του φρουτώδους αρώματος και του αρώματος στόματος. Από την άλλη πλευρά, η Κύρια Συνιστώσα 2 διαμορφώνεται από τις φαινόλες, τις ενώσεις δρυός και την οργανοληπτική παράμετρο άρωμα βαρελιού, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 1. Αυτές οι συσχετίσεις παρέχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η αναλυτική

μέθοδος που χρησιμοποιεί την οργανολογία GC-MS/MS παράγει αποτελέσματα αντίστοιχα με τις ανθρώπινες αποκρίσεις, όπως αυτές εκφράστηκαν κατά την οργανοληπτική ανάλυση, καθώς οι οξικοί εστέρες και οι υπόλοιποι εστέρες συνδέονται με το φρουτώδες άρωμα και οι ενώσεις δρυός με το άρωμα βαρελιού, σύμφωνα με εκτενή προγενέστερη βιβλιογραφία.

Αυτό κρίνεται ιδιαίτερης σημασίας, διότι η προτεινόμενη ομαδοποίηση των ενώσεων της παρούσης (οξικοί εστέρες, υπόλοιποι εστέρες, φαινόλες, ενώσεις δρυός) μπορεί να αποτελέσει ένα μοντέλο αξιολόγησης των αποτελεσμάτων της ενόργανης ανάλυσης, το οποίο να προσομοιάζει στην ανθρώπινη απόκριση. Το συγκεκριμένο μοντέλο αξιολόγησης δύναται να καταστεί ιδιαίτερα χρήσιμο, σε περιπτώσεις που η ενόργανη ανάλυση δεν μπορεί να συνδυαστεί με οργανοληπτική ανάλυση και να αποτελέσει ένα αξιοποιήσιμο εργαλείο, τόσο για τους αναλυτές, όσο και για τους οινοποιούς και τους οινολόγους.

5.2. Ανάπτυξη Οργανοληπτικής Μεθόδου – Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα

Στο βασικό στάδιο της εκπαίδευσης, στις οπτικές παραμέτρους, δηλαδή στο Isihara test και στη δοκιμή κατάταξης για χρώμα ερυθρών οίνων, οι δύο ομάδες υποψήφιων δοκιμαστών (Α και Β) είχαν ακριβώς την ίδια απόδοση. Στις οσφρητικές παραμέτρους, όμως, η διαφορά των δύο ομάδων ήταν μεγάλη, με την ομάδα Α να έχει καλύτερες επιδόσεις. Στις γευστικές παραμέτρους, η ομάδα Α είχε καλύτερες επιδόσεις, χωρίς όμως μεγάλες διαφορές από την Β.

Αντίστοιχα ήταν τα αποτελέσματα και κατά την αξιολόγηση της εκπαίδευσης. Η ομάδα Α είχε πολύ καλύτερα αποτελέσματα από την

ομάδα Β. Στις οσφρητικές παραμέτρους, η διαφορά στην απόδοση των δύο ομάδων ήταν σημαντικά μεγαλύτερη, σε σύγκριση με τη διαφορά τους στις γευστικές παραμέτρους.

Τα αποτελέσματα των δοκιμών της βασικής εκπαίδευσης και της αξιολόγησης της εκπαίδευσης αποδεικνύουν ότι – σε γενικές γραμμές – υποψήφιοι δοκιμαστές που συμμετέχουν σε διαπιστευμένη ομάδα οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου έχουν καλύτερη απόδοση από υποψήφιους δοκιμαστές που δεν συμμετέχουν σε τέτοια ομάδα οργανοληπτικών δοκιμών. Το γεγονός αυτό, μπορεί να ερμηνευθεί από το ότι οι δοκιμαστές που έχουν συμμετοχή σε διαπιστευμένη ομάδα οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου έχουν περάσει από μία διαδικασία επιλογής σε σχέση με άλλους υποψήφιους δοκιμαστές, ακόμη και αν η διαδικασία επιλογής στην οργανοληπτική ελαιολάδου είναι τελείως διαφορετική [60]. Πιθανόν, το αποτέλεσμα αυτό να μπορεί να ερμηνευθεί από την ικανότητά τους να συγκεντρώνονται πνευματικά στη δοκιμή καλύτερα από καινούργιους υποψήφιους δοκιμαστές.

Η όμοια επίδοση των ομάδων Α και Β στις οπτικές παραμέτρους έχει εξήγηση, αφού στην μέθοδο οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου δεν περιλαμβάνεται κάποια οπτική παράμετρος [58] και μάλιστα, προκειμένου να μην υπάρχει ψυχολογικός επηρεασμός από την εμφάνιση του δείγματος χρησιμοποιείται ποτήρι που αποκρύπτει το χρώμα του ελαιολάδου [112]. Αντιθέτως, η μέθοδος οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου είναι εστιασμένη στις οσφρητικές παραμέτρους, κάτι που εξηγεί την μεγάλη διαφορά στην απόδοση των δοκιμαστών της ομάδας Α από τους δοκιμαστές της ομάδας Β, στις οσφρητικές παραμέτρους.

Αν και οι υποψήφιοι δοκιμαστές που προέρχονται από διαπιστευμένο πάνελ είχαν γενικά καλύτερη απόδοση, υπήρχαν υποψήφιοι δοκιμαστές από την ομάδα Β, που είχαν καλύτερη επίδοση στην αξιολόγηση της εκπαίδευσης από κάποιους δοκιμαστές της ομάδας Α. Πιο συγκεκριμένα, δύο δοκιμαστές της ομάδας Β είχαν καλύτερη επίδοση από δύο δοκιμαστές της ομάδας Α. Με τον τρόπο αυτό, η επιλογή της ομάδας για τις οργανοληπτικές δοκιμές οίνου (ομάδα C) έγινε με οκτώ δοκιμαστές της ομάδας Α και δύο δοκιμαστές της ομάδας Β. Οι μη επιλεγμένοι δοκιμαστές δημιούργησαν την ομάδα D και συνέχισαν τις δοκιμές, ώστε να αξιολογηθούν τα αποτελέσματά της και να αξιοποιηθούν στη διερεύνηση της αξιοπιστίας της μεθόδου επιλογής των δοκιμαστών.

Η διαδικασία ελέγχου της απόδοσης της ομάδας και της απόδοσης του κάθε δοκιμαστή βασίστηκε σε τρεις οργανοληπτικές παραμέτρους: ενός ελαττώματος, μίας οσφρητικής και μίας γευστικής. Η επιλογή των παραμέτρων έγινε με αντίστοιχη φιλοσοφία της οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου, όπου προτείνεται η παρακολούθηση της απόδοσης να γίνεται με μία παράμετρο ελαττώματος και της παραμέτρου φρουτώδους [61].

Τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ξεκάθαρα ότι η επιλογή των δοκιμαστών ήταν σωστή, αφού η απόδοση της ομάδας C ήταν καλύτερη από την απόδοση της ομάδας D, με πολύ μεγάλη διαφορά. Η ομάδα D, αν και είχε πολλά αποτελέσματα εκτός των κριτηρίων αποδοχής, παρουσίασε ελαφρώς καλύτερη απόδοση στις γευστικές παραμέτρους σε σύγκριση με τις οσφρητικές παραμέτρους. Η ομάδα C είχε πολύ χαμηλή τιμή Σχετικής Τυπικής Απόκλισης (Relative Standard Deviation) σε

σύγκριση με άλλες μελέτες, όπου γίνεται σύγκριση της απόδοσης εκπαιδευμένων και μη εκπαιδευμένων πάνελ [50], γεγονός που αποτελεί ένα επιπλέον στοιχείο απόδειξης για την αποτελεσματική διαδικασία εκπαίδευσης, αξιολόγησης της εκπαίδευσης και της τελικής επιλογής.

Από την ανάλυση διακύμανσης κατά ένα κριτήριο (one-way analysis of variance, ANOVA) των οργανοληπτικών περιγραφικών δεδομένων για τους είκοσι πέντε οίνους, βρέθηκε ότι και οι έντεκα οργανοληπτικές παράμετροι διέφεραν σημαντικά μεταξύ των οινικών προϊόντων ($P \leq 0,0001$). Το αποτέλεσμα αυτό αποδεικνύει ότι έχει πραγματοποιηθεί σωστή επιλογή των οργανοληπτικών παραμέτρων και ότι η ομάδα δοκιμής έχει εκπαιδευθεί σωστά για αυτές. Σε αυτό συνετέλεσε και η επιλογή μόνο δύο οσφρητικών παραμέτρων, δηλαδή του φρουτώδους και του αρώματος βαρελιού. Η επιλογή αυτή είναι σύμφωνη με προγενέστερες μελέτες, σύμφωνα με τις οποίες οι άνθρωποι δεν έχουν απεριόριστη ικανότητα να κρίνουν εντάσεις διαφορετικών οσμών σε πολύπλοκες συνθέσεις αρωμάτων [50, 113]. Για το λόγο αυτό, το 1992, το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (IOC) αναθεώρησε τη μέθοδο για τη βελτίωση της έλλειψης ομοιογένειας στις αξιολογήσεις που δίνονταν από τα πάνελ, και περιορίσε τον αριθμό των οσφρητικών παραμέτρων στο φρουτώδες και στα ελαττώματα αρώματος [114].

5.3. Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνων ΠΟΠ Νεμέα – Διασύνδεση Δεδομένων GC-MS/MS, Οργανοληπτικής Ανάλυσης και Λιανικής Τιμής

Η οργανοληπτική ανάλυση των δειγμάτων ΠΟΠ Νεμέα εμφάνισε πέντε δείγματα με μειονέκτημα αρώματος. Και τα πέντε αποτελέσματα κρίνονται ως χαμηλής έντασης, αφού είχαν τιμή μικρότερη από 3,5 [58].

Τα δύο δείγματα εμφάνισαν ελάττωμα που χαρακτηρίστηκε από τους δοκιμαστές ως οξειδωμένο (oxidized). Το συγκεκριμένο ελάττωμα θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα χημικής γήρανσης (chemical ageing) ή των συνθηκών αποθήκευσης του προϊόντος.

Ένα δείγμα εμφάνισε ελάττωμα που χαρακτηρίστηκε αναγωγικό, κάτι που θα μπορούσε να είναι τυχαίο σφάλμα, το οποίο εμφανίζεται σε μία φιάλη ή σε μία παρτίδα εμφιάλωσης.

Τα δύο δείγματα εμφάνισαν ελάττωμα αρώματος ζωικό, το οποίο επιβεβαιώθηκε με ανάλυση με χρήση GC-MS/MS, αφού ανιχνεύθηκαν και στα δύο δείγματα οι ουσίες 4-vinylphenol, 4-ethylphenol και 4-ethylguaiacol. Προηγούμενη έρευνα έχει δείξει ότι η παρουσία 4-vinylphenol, 4-ethylphenol και 4-ethylguaiacol συμβάλλει στην οσμή του οίνου που προσομοιάζει σε άρωμα ζωικό και στάβλου [115]. Η ταυτόχρονη ανίχνευση και των τριών ενώσεων, στις συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν, υποδεικνύουν ενδεχόμενη ανάπτυξη *Brettanomyces* (*Brettanomyces*). Πιο αναλυτικά, ο *Brettanomyces bruxellensis* μπορεί να παράγει 4-ethylguaiacol από ferulic acid, καθώς επίσης και τις ενώσεις 4-ethylphenol, 4-vinylphenol από p-coumaric acid [116]. Επιπλέον, η επιβεβαίωση του οργανοληπτικού ελαττώματος που εντόπισε η ομάδα οργανοληπτικών δοκιμών, από τα αποτελέσματα ανάλυσης των δειγμάτων με τη χρήση GC-MS/MS αποδεικνύουν την αποτελεσματική εκπαίδευση της ομάδας στο συγκεκριμένο ελάττωμα.

Επτά δείγματα οίνου εμφάνισαν άρωμα βαρελιού υψηλότερης έντασης από φρουτώδες άρωμα. Ενώ ο μέσος όρος λιανικής τιμής όλων των προϊόντων που συμμετείχαν στην έρευνα ήταν 11,8 €, ο μέσος όρος

λιανικής των επτά συγκεκριμένων προϊόντων ήταν 16,7 €, δηλαδή αυξημένος κατά 42%.

Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA), κατά τη συσχέτιση ομάδων πτητικών ενώσεων με οργανοληπτικές παραμέτρους (παράγραφος 4.8.1.), παρείχε σημαντικές πληροφορίες για τη σχέση μεταξύ της τιμής των οίνων λιανικής και των αρωμάτων φρουτώδους και βαρελιού, όπως αυτές αποτυπώνονται στο Σχήμα 2. Συγκεκριμένα, μεταξύ των εικοσιπέντε οίνων που αναλύθηκαν, τέσσερα δείγματα βρέθηκαν στην περιοχή +PC1, +PC2 (άνω δεξιό τεταρτημόριο στην PCA). Αυτό υποδεικνύει υψηλότερο άρωμα φρουτώδους και υψηλότερο άρωμα βαρελιού από τον μέσο όρο. Η μέση τιμή λιανικής αυτών των προϊόντων ήταν 11,1 €. Πέντε δείγματα βρέθηκαν στην περιοχή +PC1, -PC2 (κάτω δεξιό τεταρτημόριο στην PCA). Αυτό υποδεικνύει υψηλότερο άρωμα φρουτώδους και χαμηλότερο άρωμα βαρελιού από τον μέσο όρο. Η μέση τιμή λιανικής αυτών των προϊόντων ήταν 10,6 €. Πέντε δείγματα βρέθηκαν στην περιοχή -PC1, +PC2 (άνω αριστερό τεταρτημόριο στην PCA). Αυτό υποδεικνύει χαμηλότερο άρωμα φρουτώδους και υψηλότερο άρωμα βαρελιού από τον μέσο όρο. Η μέση τιμή λιανικής αυτών των προϊόντων ήταν 14,7 €. Έξι δείγματα βρέθηκαν στην περιοχή -PC1, -PC2 (κάτω αριστερό τεταρτημόριο στην PCA). Αυτό υποδεικνύει χαμηλότερο άρωμα φρουτώδους και χαμηλότερο άρωμα βαρελιού από τον μέσο όρο. Η μέση τιμή λιανικής αυτών των προϊόντων ήταν 8,5 €. Τα υπόλοιπα πέντε δείγματα δεν τοποθετήθηκαν διακριτά σε κανένα από τα τέσσερα τεταρτημόρια της PCA. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι τα οινοποιεία στην περιοχή της Νεμέας τιμολογούν τους οίνους που χαρακτηρίζονται από πτητικές ουσίες δρυός ως πιο ακριβούς από τους

άλλους οίνους, πιθανώς επειδή αυτά τα κρασιά ωρίμασαν σε νέα δρύινα βαρέλια και, επομένως, το κόστος παραγωγής ήταν υψηλότερο.

Η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA), κατά τη συσχέτιση οργανοληπτικών παραμέτρων με την τιμή λιανικής των οίνων ΠΟΠ Νεμέα, έδειξε ότι το άρωμα βαρελιού είναι η μοναδική θετική ισχυρή συσχέτιση με την τιμή λιανικής, όπως αποτυπώνεται και στο Σχήμα 3. Παράλληλα, το άρωμα φρουτώδους και το πικρό εμφάνισαν αρνητική συσχέτιση με την τιμή λιανικής. Η ερμηνεία της συγκεκριμένης συσχέτισης αφορά στην ωρίμαση των οίνων σε δρύινα βαρέλια. Προφανώς, η συγκεκριμένη διαδικασία οδηγεί σε αύξηση του αρώματος βαρελιού, στη μείωση του φρουτώδους αρώματος και στη μείωση του πικρού, λόγω πολυμερισμού των τανινών. Η συγκεκριμένη πολιτική καθορισμού της λιανικής τιμής έχει εξήγηση, αφού η χρήση βαρελιών οδηγεί σε μία αύξηση του κόστους παραγωγής, που συνεπάγεται και μία μετακύλιση του κόστους στον καταναλωτή, μέσω της αύξησης της τιμής λιανικής. Παρόλα αυτά, εμφανίζεται μία μικρή διαφοροποίηση σε σχέση με άλλες έρευνες που έχουν διεξαχθεί σε άλλες χώρες, όπου οι οίνοι με υψηλότερα τα χαρακτηριστικά στυπτικότητα, άρωμα βαρελιού, αλλά και φρουτώδες άρωμα ήταν τα πιο ακριβά προϊόντα [3]. Η διαφοροποίηση συνίσταται, στο ότι – στην παρούσα μελέτη – τα ακριβότερα προϊόντα δεν έχουν υψηλότερα το φρουτώδες άρωμα σε σχέση με το μέσο όρο.

5.4. Οίνοι από Αγιωργίτικο Ωριμασμένοι με Ξυλοθραύσματα Δρύος

Από τα αποτελέσματα της παρούσης, είναι σαφές, ότι για την Ενεργή Τιμή Οσμής Βαρελιού (OAV-Βαρέλι) το σημαντικότερο κριτήριο αυξημένων τιμών είναι η δοσολογία, όπου η δόση των 4 g/L οδηγεί σε μεγαλύτερη εκχύλιση των ενώσεων που σχετίζονται με τη δρυ, ενώ ως

δευτερεύων κριτήριο είναι η ένταση καψίματος των ξυλοθραυσμάτων, όπου τα κομμάτια με υψηλό κάψιμο οδηγούν σε υψηλότερη εκχύλιση από τα αντίστοιχα μεσαίου καψίματος. Επιπλέον, τα αποτελέσματα της παρούσας είναι σε συμφωνία με άλλη έρευνα των B. Fernandez de Simón και συνεργατών, σύμφωνα με την οποία η μεγαλύτερη εξέλιξη των πτητικών ενώσεων του αρώματος οίνου, όταν οίνοι ωριμάζουν με ξυλοθραύσματα, εμφανίζεται μεταξύ των 60 και 90 ημερών [84].

Το εύρημα της συγκεκριμένης μελέτης, σύμφωνα με το οποίο τα περισσότερα δείγματα εμφάνισαν Ενεργή Τιμή Οσμής Φρουτώδους (OAV-Φρουτώδες) υψηλότερη από την τιμή του μάρτυρα, δεν είναι άμεσα εξηγήσιμο, αλλά είναι σε συμφωνία με άλλες έρευνες. Πιο συγκεκριμένα, οι A. Baiano και συνεργάτες μελέτησαν την συμπεριφορά οίνων με κομμάτια ξύλου και συμπέραναν ότι η παραγωγή οξικών εστέρων και υπόλοιπων εστέρων ήταν υψηλότερη στο γλεύκος με τα ξυλοθραύσματα, σε σχέση με τον μάρτυρα [91]. Παράλληλα, οι D. I. Stegarus και συνεργάτες μελέτησαν την επιρροή των ξυλοθραυσμάτων δρυός σε λευκό οίνο και συμπέραναν ότι οι περισσότεροι από τους εστέρες είχαν αυξημένες συγκεντρώσεις στους οίνους που είχαν παλαιώσει με χρήση κομματιών ξύλου σε σύγκριση με τον οίνο μάρτυρα [81].

Τα ευρήματα της συγκεκριμένης μελέτης, σε σχέση με τις οργανοληπτικές παραμέτρους πικρό και στυφό είναι σε συμφωνία με προγενέστερες μελέτες. Οι Tao και συνεργάτες δήλωσαν ότι τα ξυλοθραύσματα δρυός υψηλού καψίματος έδωσαν οίνους πιο στυφούς και πικρούς [88]. Οι Koussissi και συνεργάτες, σε μελέτη που έκαναν σε Αγιωργίτικο, στο οποίο προσέθεσαν κομμάτια δρυός κατά τη διάρκεια της

ζύμωσης, συμπέραναν ότι τα μεσαίου και υψηλού καψίματος ξυλοθραύσματα παρήγαγαν οίνους πιο πικρούς και στυφούς [38].

Εάν μελετήσουμε τα αποτελέσματα των προσδιορισμών σε GC-MS/MS, θα διαπιστώσουμε ότι οι ενώσεις «κλειδιά» οι οποίες συνδέονται με την δρυ είναι κυρίως η *vanillin* και δευτερευόντως οι ενώσεις *cis-whiskey lactone*, *trans-whiskey lactone*, *guaiacol* και *4-ethylguaiacol*. Η διαπίστωση αυτή είναι σύμφωνη με προγενέστερη μελέτη των A.B. Bautista-Ortín και συνεργατών, οι οποίοι μελέτησαν την παλαίωση οίνου με κομμάτια δρυός [82], αλλά και με μελέτη των P. Delgado de la Torre και συνεργατών [85]. Εάν μελετήσουμε λίγο πιο εις βάθος τα αποτελέσματα της παρούσης για αυτές τις ενώσεις «κλειδιά» θα παρατηρήσουμε τα ακόλουθα.

Η *trans-whiskey lactone* δείχνει να εκχυλίζεται τις πρώτες 30 ημέρες στα δείγματα μεσαίου καψίματος 4 g/L (MT_4g) και σε όλα τα δείγματα υψηλού καψίματος (HT-1g, HT_2g, HT_4g), και μετά να παραμένει στα ίδια επίπεδα. Η *cis-whiskey lactone* εκχυλίζεται στις πρώτες 30 ημέρες, η συγκέντρωσή της αυξάνεται στις 60 ημέρες και παραμένει σε αυτά τα επίπεδα στις 90 ημέρες. Οι P. Rubio-Bretón και συνεργάτες συμπέραναν ότι σε οίνους που έχουν υποστεί ωρίμαση με ξυλοθραύσματα δρυός, η μέγιστη εκχύλιση για τα δύο ισομερή της *whiskey lactone* συνέβη κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα επαφής του οίνου με το ξύλο [92]. Στη δική μας μελέτη, το γεγονός αυτό ισχύει για την *trans-whiskey lactone*, ενώ η *cis-whiskey lactone* εκχυλίζεται κυρίως μεταξύ 30 και 60 ημερών. Και τα δύο ισομερή φτάνουν στη μέγιστη συγκέντρωσή τους στις 90 ημέρες, κάτι που αναφέρεται σε προγενέστερη μελέτη των A.B. Bautista-Ortín και συνεργατών [82]. Στην μόλις προαναφερθείσα μελέτη η *trans-whiskey*

lactone βρέθηκε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με το ισομερές *cis*-whiskey lactone, κάτι που συνέβη και στην παρούσα μελέτη.

Η vanillin ξεκινά την εκχύλισή της από τις 30 ημέρες, εμφανίζει μία διακριτή αύξηση στη συγκέντρωσή της στις 60 ημέρες, ενώ εμφανίζει μία σημαντική αύξηση συγκέντρωσης στις 90 ημέρες. Υπάρχουν διάφορα ευρήματα, ελαφρώς διαφοροποιημένα μεταξύ τους, σχετικά με την κινητική της εκχύλισης vanillin σε οίνους που παλαιώνουν με ξυλοθραύσματα δρυός. Οι P. Rubio-Bretón και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι η μέγιστη συγκέντρωση vanillin επιτυγχάνεται κατά την διάρκεια του πρώτου μήνα [92], ενώ οι A.B. Bautista-Ortín και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι οι υψηλότερες ποσότητες vanillin ανιχνεύθηκαν στους οίνους μετά από τρεις μήνες παλαίωσης [82], όπως ακριβώς συνέβη και στην παρούσα μελέτη. Η ένωση acetovanillone παρουσιάζει παρόμοια συμπεριφορά εκχύλισης με τη vanillin. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από τη σχέση τους ως προϊόντα οξείδωσης της λιγνίνης [117]. Στην πραγματικότητα, η acetovanillone είναι ένα ενδιάμεσο στάδιο στη δημιουργία της vanillin.

Οι ουσίες που ευθύνονται για το καπνιστό άρωμα, guaiacol και 4-ethylguaiacol εκχυλίζονται στις 60 ημέρες στα δείγματα με κομμάτια ξύλου υψηλού καψίματος και παραμένουν σε αυτά τα επίπεδα στις 90 ημέρες. Στα δείγματα με ξυλοθραύσματα μεσαίου καψίματος, η εκχύλιση της guaiacol πραγματοποιείται στις 60 ημέρες και παραμένει σε αυτά τα επίπεδα στις 90 ημέρες, στις δοσολογίες 2 g/L και 4 g/L (MT_2g, MT_4g). Τα δείγματα υψηλού καψίματος διατηρούν υψηλότερες συγκεντρώσεις των δύο ενώσεων από τα μεσαίου καψίματος, εάν συγκρίνουμε την ίδια χρονική περίοδο και τις αντίστοιχες δόσεις προσθήκης. Η παρατήρηση

αυτή εξηγείται αφού πρόκειται για ενώσεις οι οποίες σχηματίζονται σε υψηλές θερμοκρασίες καψίματος του ξύλου [92].

Από την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA), των δειγμάτων που παλαιώσαν με ξυλοθραύσματα δρυός (παράγραφος 4.9.5) επτά παρτίδες δείχνουν να διαφοροποιούνται από τις υπόλοιπες. Πιο συγκεκριμένα, στις 60 ημέρες διαφοροποιούνται τα μεσαίου καψίματος με προσθήκη 4 g/L (MT_4g) και τα υψηλού καψίματος 4 g/L (HT_4g). Στις 90 ημέρες διαφοροποιούνται τα χαμηλού καψίματος 4 g/L (LT_4g), τα μεσαίου καψίματος 2 g/L (MT_2g) και 4 g/L (MT_4g), καθώς και τα υψηλού καψίματος 2 g/L (HT_2g) και 4 g/L (HT_4g). Αξιοσημείωτο είναι ότι τα χαμηλού καψίματος και μεσαίου καψίματος είναι τοποθετημένα στο πάνω δεξιά τεταρτημόριο της PCA, όπου σχετίζεται με αυξημένες συγκεντρώσεις vanillin και whiskey lactone, ενώ τα υψηλού καψίματος είναι τοποθετημένα στο κάτω δεξιά τεταρτημόριο της PCA, όπου σχετίζεται με το καπνιστό άρωμα και τις αυξημένες συγκεντρώσεις guaiacol και 4-ethylguaiacol.

Συνοψίζοντας, σχετικά με τα επτά δείγματα που διαφέρουν από τα υπόλοιπα κατά την PCA, παρατηρούμε τα ακόλουθα. Το δείγμα υψηλού καψίματος 4 g/L (HT_4g) διαφοροποιείται τόσο στις 60 ημέρες όσο και στις 90 ημέρες, αφού εμφάνισε τις υψηλότερες τιμές Ενεργής Τιμής Οσμής Βαρελιού (OAV-Βαρέλι), οφειλόμενο κυρίως στην εκχύλιση των ενώσεων guaiacol και 4-ethylguaiacol, καθώς επίσης και της ένωσης vanillin. Ταυτόχρονα, η εκχύλιση guaiacol και 4-ethylguaiacol οδήγησε σε αυξημένες τιμές των οργανοληπτικών παραμέτρων καπνιστό άρωμα (smoky aroma) και πολυπλοκότητα αρώματος (aroma complexity).

Παράλληλα, όμως, στις 90 ημέρες παρουσίασε αυξημένες τιμές πικρού και στυφού.

Το δείγμα υψηλού καψίματος 2 g/L (HT_2g) διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα μόνο στις 90 ημέρες, όταν και παρουσίασε σχετικά αυξημένες τιμές Ενεργής Τιμής Οσμής Βαρελιού (OAV-Βαρέλι), αυξημένες τιμές στις οργανοληπτικές παραμέτρους αρώματος, καπνιστό (smoky) και πολυπλοκότητα (complexity), καθώς και στις οργανοληπτικές παραμέτρους γεύσης πικρό (bitter) και στυφό (astringent). Παρόλα αυτά, οι τιμές στις προαναφερθείσες παραμέτρους ήταν μικρότερες από αυτές στο δείγμα υψηλού καψίματος 4 g/L (HT_4g).

Το δείγμα μεσαίου καψίματος 4 g/L (MT_4g) διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα τόσο στις 60 ημέρες όσο και στις 90 ημέρες. Το συγκεκριμένο δείγμα είχε τη δεύτερη υψηλότερη τιμή Ενεργής Τιμής Οσμής Βαρελιού (OAV-Βαρέλι), αλλά είχε την υψηλότερη τιμή στην οργανοληπτική παράμετρο άρωμα βαρελιού (barrel aroma), το οποίο ενδεχομένως οφείλεται στις σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις της ένωσης vanillin σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Στις γευστικές οργανοληπτικές παραμέτρους, το συγκεκριμένο δείγμα εμφάνισε υψηλότερες τιμές πικρού (bitter) και στυφού (astringent) σε σχέση με τα περισσότερα δείγματα.

Το δείγμα μεσαίου καψίματος 2 g/L (MT_2g) διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα μόνο στις 90 ημέρες, όπου και παρουσίασε υψηλές τιμές στην οργανοληπτική παράμετρο άρωμα βαρελιού και υψηλές συγκεντρώσεις της ένωσης vanillin, αλλά σε χαμηλότερες τιμές από τη δόση των 4 g/L του ίδιου τύπου καψίματος.

Η δόση των 4 g/L διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα δείγματα, στις 90 ημέρες, και στο δείγμα χαμηλού καψίματος (LT_4g). Το συγκεκριμένο δείγμα είχε την τέταρτη υψηλότερη συγκέντρωση της ένωσης vanillin, ενώ ταυτόχρονα είχε υψηλότερες τιμές Ενεργής Τιμής Οσμής Φρουτώδους (OAV-Φρουτώδες) σε σύγκριση με το δείγμα μάρτυρα.

Σε σύγκριση των αποτελεσμάτων των πειραματικών οίνων παλαιωμένων με ξυλοθραύσματα δρυός, σε σχέση με τα αντίστοιχα αποτελέσματα των εμπορικών οίνων ΠΟΠ Νεμέα εξάγονται χρήσιμα στοιχεία.

Σε κανένα δείγμα των πειραματικών οίνων της παρούσας μελέτης δεν είχαμε, στην οργανοληπτική ανάλυση, τιμή αρώματος βαρελιού (barrel aroma) υψηλότερη από φρουτώδες άρωμα (fruity), ενώ στα προϊόντα ΠΟΠ Νεμέα το 28% των δειγμάτων εμφάνισαν υψηλότερες τιμές αρώματος βαρελιού από φρουτώδες.

Στα προϊόντα ΠΟΠ Νεμέα, ο μέσος όρος της Ενεργής Τιμής Οσμής Βαρελιού (OAV-Βαρέλι) ήταν 4,4. Υψηλότερες τιμές από αυτήν εμφάνισαν το δείγμα υψηλού καψίματος 4 g/L (HT_4g) στις 60 και στις 90 ημέρες, καθώς και τα δείγματα μεσαίου καψίματος 4 g/L (MT_4g) και υψηλού καψίματος 2 g/L (HT_2g) στις 90 ημέρες.

Στην οργανοληπτική παράμετρο άρωμα βαρελιού, ο μέσος όρος των προϊόντων ΠΟΠ Νεμέα ήταν 3,2. Υψηλότερες τιμές για το άρωμα βαρελιού εμφάνισαν τα δείγματα στις 90 ημέρες, μεσαίου καψίματος 2 g/L (MT_2g) και 4 g/L (MT_4g), καθώς και το υψηλού καψίματος 4 g/L (HT_4g), ενώ το υψηλού καψίματος 2 g/L (HT_2g) εμφάνισε τιμές πολύ κοντά στον μέσο όρο.

Από τα δεδομένα αυτά και τη συγκεκριμένη σύγκριση, προκύπτει ότι η ωρίμαση με προσθήκη ξυλοθραυσμάτων δρυός είναι μία μέθοδος που, σε γενικές γραμμές, παράγει προϊόντα με χαμηλότερη την αίσθηση του ξύλου σε σύγκριση με την κλασική μέθοδο παλαίωσης σε βαρέλια.

Τέλος Κεφαλαίου 5 - Συζήτηση

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε αυτή τη μελέτη, αναπτύξαμε και επικυρώσαμε μια νέα απλή μέθοδο για τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων του αρώματος του οίνου. Αυτή η αναλυτική μέθοδος χρησιμοποιεί προετοιμασία δείγματος μέσω υγρής-υγρής εκχύλισης με διχλωρομεθάνιο (dichloromethane) και χρήση της ένωσης phenol ως εσωτερικό πρότυπο. Η μέθοδος χρησιμοποιεί αέρια χρωματογραφία-διαδοχική φασματομετρία μάζας (GC-MS/MS) για την ποσοτικοποίηση και ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων. Η αναπτυχθείσα μέθοδος επικυρώθηκε για τριάντα εννέα (39) πτητικές ενώσεις του αρώματος.

Η διαδικασία επικύρωσης χρησιμοποίησε κριτήρια όπως η γραμμικότητα, η επαναληψιμότητα, η αναπαραγωγιμότητα, η ανάκτηση, το όριο ανίχνευσης και το όριο ποσοτικοποίησης. Η επικύρωση έδειξε ότι η αναπτυχθείσα μέθοδος είναι γραμμική, επαναλήψιμη, αναπαραγώγιμη, ακριβής και ευαίσθητη.

Η μέθοδος εφαρμόστηκε, στη συνέχεια, για τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων σε εικοσιπέντε εμπορικούς οίνους της ποικιλίας Αγιωργίτικο. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της ενόργανης ανάλυσης δημιουργήθηκε ένα μοντέλο ομαδοποίησης των πτητικών ενώσεων. Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των πτητικών ενώσεων με GC-MS/MS – με την προτεινόμενη ομαδοποίηση ενώσεων – και της οργανοληπτικής ανάλυσης των οίνων ΠΟΠ Νεμέα, συσχετίστηκαν μέσω Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA). Οι συσχετίσεις μεταξύ των παραμέτρων έδειξαν ότι η νέα αναπτυχθείσα μέθοδος με χρήση GC-MS/MS παράγει παρόμοια αποτελέσματα με την ανθρώπινη απόκριση. Επομένως και το προτεινόμενο μοντέλο

αξιολόγησης των δεδομένων από την ενόργανη ανάλυση κρίνεται αποτελεσματικό.

Επιπροσθέτως, προτείναμε και αναπτύξαμε μία μέθοδο οργανοληπτικής δοκιμής που αποτελείται από τέσσερα κύρια πεδία:

- a. την εκπαίδευση των δοκιμαστών,
- b. την επιλογή των δοκιμαστών,
- c. τη μέθοδο οργανοληπτικής ανάλυσης, καθώς και
- d. την μέθοδο ελέγχου της απόδοσης των δοκιμαστών και της ομάδας δοκιμής.

Η μέθοδος επιλογής είναι αποτελεσματική και οδηγεί σε εξαιρετικά ικανοποιητικά αποτελέσματα επικύρωσης της μεθόδου, με πολύ χαμηλή Σχετική Τυπική Απόκλιση (Relative Standard Deviation), ενώ καλύπτει απολύτως τα κριτήρια για τον Αριθμό Ακρίβειας (Precision Number) και τον Αριθμό Διακύμανσης (Deviation Number).

Η μέθοδος ανάλυσης αποτελείται από παραμέτρους, οι οποίες διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, όπως απέδειξε η ανάλυση διακύμανσης κατά ένα κριτήριο (one-way analysis of variance, ANOVA).

Επιπλέον, αποδείξαμε ότι οι υποψήφιοι δοκιμαστές που συμμετέχουν σε ένα διαπιστευμένο πάνελ οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου έχουν καλύτερη απόδοση κατά τη διαδικασία της εκπαίδευσης και σημαντικά υψηλότερες πιθανότητες να επιλεγούν για την τελική ομάδα οργανοληπτικής ανάλυσης, σε σχέση με υποψήφιους δοκιμαστές που δεν συμμετέχουν σε ομάδα οργανοληπτικής αξιολόγησης ελαιολάδου.

Παράλληλα, αποδείξαμε μία ισχυρή θετική συσχέτιση της τιμής λιανικής των προϊόντων οίνου ΠΟΠ Νεμέα με την οργανοληπτική παράμετρο άρωμα βαρελιού, καθώς και μία αρνητική συσχέτιση με τις οργανοληπτικές παραμέτρους πικρό και φρουτώδες άρωμα.

Κατά τη μελέτη των πειραματικών οίνων που δημιουργήθηκαν για την παρούσα, διαπιστώσαμε ότι η ωρίμαση με χρήση ξυλοθραυσμάτων δρυός εξελίσσει σημαντικά το αρωματικό προφίλ των οίνων από την ποικιλία Αγιωργίτικο. Πιο συγκεκριμένα, σχεδόν όλα τα δείγματα που έχουν ωριμάσει με κομμάτια δρυός εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις εστέρων, όπως αυτό αποτυπώνεται από την Ενεργή Τιμή Οσμής Φρουτώδους (OAV-Φρουτώδες), σε σύγκριση με τον μάρτυρα.

Τα δείγματα που ωρίμασαν με ξυλοθραύσματα υψηλού καψίματος εμφανίζουν γενικά μία υψηλότερη τιμή της οργανοληπτικής παραμέτρου καπνιστό άρωμα, σχετιζόμενων με τις ουσίες guaiacol και 4-ethylguaiacol, ενώ τα δείγματα μεσαίου καψίματος εμφανίζουν μία υψηλότερη τιμή της οργανοληπτικής παραμέτρου άρωμα βαρελιού, σχετιζόμενων κυρίως με τις ουσίες vanillin και whiskey lactone. Η οργανοληπτική παράμετρος πολυπλοκότητα αρώματος συνδέεται κυρίως με τη δοσολογία της προσθήκης και λιγότερο με το βαθμό καψίματος. Στις οργανοληπτικές παραμέτρους πικρό και στυφό, ξεχώρισαν ορισμένα δείγματα μόνο στις 90 ημέρες παλαίωσης.

Σε σχέση με τις πτητικές ενώσεις που συνδέονται με την δρυ, η vanillin ξεκινά την εκχύλισή της από τις 30 ημέρες και συνεχίζει να εκχυλίζεται μέχρι τις 90 ημέρες, η *trans*-whiskey lactone δείχνει να εκχυλίζεται τις πρώτες 30 ημέρες, και μετά να παραμένει στα ίδια επίπεδα, η *cis*-whiskey lactone εκχυλίζεται στις πρώτες 30 ημέρες,

αυξάνεται στις 60 ημέρες και παραμένει σε αυτά τα επίπεδα στις 90 ημέρες, ενώ οι ουσίες guaiacol και 4-ethylguaiacol εκχυλίζονται στις 60 ημέρες στα δείγματα υψηλού καψίματος και παραμένουν σε αυτά τα επίπεδα στις 90 ημέρες.

Σε σύγκριση των αποτελεσμάτων των οίνων που δημιουργήθηκαν κατά τη συγκεκριμένη μελέτη με τα αποτελέσματα των εμπορικών προϊόντων ΠΟΠ Νεμέα, οι υψηλές δόσεις (4 g/L) των ξυλοθραυσμάτων μεσαίου και υψηλού καψίματος εμφάνισαν τιμές υψηλότερες από το μέσο όρο των εμπορικών δειγμάτων, τόσο για την Ενεργή Τιμή Οσμής Βαρελιού (OAV-Βαρέλι) όσο και την οργανοληπτική παράμετρο άρωμα βαρελιού, στις 90 ημέρες.

Από τη σύγκριση των δεδομένων των πειραματικών οίνων και των εμπορικών δειγμάτων ΠΟΠ Νεμέα, γίνεται αντιληπτό ότι η ωρίμαση του Αγιωργίτικου με χρήση ξυλοθραυσμάτων οδηγεί σε προϊόντα με λιγότερη αίσθηση ξύλου, σε σχέση με την κλασική μέθοδο παλαίωσης σε βαρέλια.

Τέλος, η μελέτη προσφέρει ένα μεγάλο πλήθος δεδομένων, τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν από τον χώρο της παραγωγής οίνου. Οι οινολόγοι και οι οινοποιοί, που παράγουν οίνους από την ποικιλία Αγιωργίτικο, μπορούν να επιλέξουν το βαθμό καψίματος των ξυλοθραυσμάτων, τη δοσολογία και τον χρόνο ωρίμασης που κρίνουν κατάλληλο και ταιριαστό με τον οίνο που επιθυμούν να παλαιώσουν, αλλά και με το προϊόν που στοχεύουν να δημιουργήσουν κάνοντας τις σχετικές προβλέψεις.

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ ΕΡΕΥΝΑΣ

7. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ ΕΡΕΥΝΑΣ

Σε σχέση με την αναπτυχθείσα μέθοδο προσδιορισμού πτητικών αρωματικών ενώσεων στον οίνο με χρήση GC-MS/MS, κρίνεται ως θέμα υψηλού ενδιαφέροντος ο εμπλουτισμός της με επιπλέον πτητικές ενώσεις του αρώματος οίνου, όπως για παράδειγμα της ομάδας πυραδιζινών, ενώσεις που έχουν ιδιαίτερη βαρύτητα για διεθνείς ποικιλίες σταφυλιού. Σε αυτή τη μελλοντική μελέτη, η προτεινόμενη μεθοδολογία εύρεσης του ζεύγους θραυσμάτων κάθε ένωσης θα αποτελέσει σημαντικό εργαλείο.

Παράλληλα, η συγκεκριμένη μέθοδος προσδιορισμού δύναται να αξιοποιηθεί ευρέως σε μελέτες διερεύνησης του αρωματικού προφίλ οίνων από άλλες ποικιλίες σταφυλιού – πέραν του Αγιωργίτικου – ελληνικές ή διεθνείς.

Για την μέθοδο οργανοληπτικής ανάλυσης, κύριος μελλοντικός στόχος είναι η εξάπλωσή της σε περισσότερες ομάδες δοκιμών, ώστε να υπάρξει οργανοληπτική εναρμόνιση των πάνελ. Εάν και όταν επιτευχθεί ο συγκεκριμένος στόχος, θα είναι δυνατή η διοργάνωση διεργαστηριακών συγκρίσεων επάρκειας, γεγονός που θα επιτρέψει ώστε η επικύρωση της μεθόδου να εμπλουτιστεί από διεργαστηριακά δεδομένα ορθότητας.

Η μέθοδος οργανοληπτικής ανάλυσης δύναται να συνδυαστεί με έρευνες καταναλωτή, κάτι που θα προσφέρει σημαντικά δεδομένα για το προφίλ των οίνων και τη διασύνδεσή τους με τις προτιμήσεις των καταναλωτών. Προς αυτή την κατεύθυνση, η μέθοδος οργανοληπτικής ανάλυσης μπορεί να συνδυαστεί και με «μεθόδους συχνότητας αναφορών» (“frequency citation method”).

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως για την μέθοδο προσδιορισμού πτητικών ενώσεων του αρώματος με GC-MS/MS, και η μέθοδος οργανοληπτικής δοκιμής δύναται να αποτελέσει ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για μελλοντικές έρευνες, οι οποίες θα έχουν ως στόχο τη διερεύνηση του αρωματικού προφίλ οίνων από ελληνικές ή διεθνείς ποικιλίες.

Η μεθοδολογία σύγκρισης των δύο διαφορετικών ομάδων υποψήφιων δοκιμαστών μπορεί να βρει εφαρμογή σε σύγκριση και άλλων επαγγελματικών ομάδων που σχετίζονται με τον οίνο, όπως για παράδειγμα οινολόγων, οινοποιών, οινοχόων. Ενδεχομένως, οι συγκρίσεις να οδηγήσουν σε χρήσιμα συμπεράσματα σε σχέση με τις οργανοληπτικές δεξιότητες συγκεκριμένων ομάδων, αλλά και με τον προσδιορισμό των εκπαιδευτικών τους αναγκών, στο πεδίο των οργανοληπτικών δοκιμών.

Αξιοποιώντας τη μελέτη της ωρίμασης οίνων με ξυλοθραύσματα δρυός, κρίνεται ως ενδιαφέρον να διεξαχθεί σύγκριση πειραματικών οίνων από Αγιωργίτικο, διαφορετικού τρόπου ωρίμασης, δηλαδή με χρήση κομματιών ξύλου, αλλά και με χρήση δρυίνων βαρελιών.

Επιπλέον, η μεθοδολογία της παρούσης – συμπεριλαμβανομένων της μεθόδου προσδιορισμού με GC-MS/MS, της μεθόδου οργανοληπτικής δοκιμής, αλλά και του πειραματικού σχεδιασμού της ωρίμασης – μπορούν να εφαρμοστούν σε οίνους από Αγιωργίτικο που ωριμάζουν σε βαρέλι, ώστε να μελετηθεί η κινητική της εξέλιξης του αρώματος φρουτώδους και του αρώματος βαρελιού.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

8.1. Πίνακες Αντιδραστηρίων

Πίνακας 41. Λίστα προτύπων που χρησιμοποιήθηκαν στην ενόργανη ανάλυση, Chemical Abstracts Service Number (CAS Registry Number), μοριακός τύπος, μοριακή μάζα, καθαρότητα και εμπορικός οίκος.

Όνομα	CAS Registry Number	Μοριακός Τύπος	Mr	Καθαρότητα	Εμπορικός Οίκος
2-Methoxy-4-methylphenol	93-51-6	C ₈ H ₁₀ O ₂	138,16	99,6%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
2-Methoxy-4-vinylphenol	7786-61-0	C ₉ H ₁₀ O ₂	150,17	99,6%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
2-Phenethyl acetate	103-45-7	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164,2	99,5%	Honeywell Fluka (Charlotte NC, USA)
2-Phenylethanol	60-12-8	C ₈ H ₁₀ O	122,16	99,3%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
3-(Methylthio)propionaldehyde	3268-49-3	C ₄ H ₈ SO	104,17	97,2%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
4-Ethylguaiaicol	2785-89-9	C ₉ H ₁₂ O ₂	152,19	98,0%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
4-Ethylphenol	123-07-9	C ₈ H ₁₀ O	122,17	99,2%	Acros Organics (Geel, Belgium)
4-Vinylphenol solution 10 wt, %	2628-17-3	C ₈ H ₈ O	120,15	96,0%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Acetovanillone	498-02-2	C ₉ H ₁₀ O ₃	166,17	98,0%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
β-ionone	79-77-6	C ₁₃ H ₂₀ O	192,3	97,1%	Honeywell Fluka (Charlotte NC, USA)
Benzyl acetate	140-11-4	C ₉ H ₁₀ O ₂	150,17	99,9%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Citral	5392-40-5	C ₁₀ H ₁₆ O	152,23	96,0%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Citronellol	106-22-9	C ₁₀ H ₂₀ O	156,27	95,0%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Damascenone natural	23696-85-7	C ₁₃ H ₁₈ O	190,28	1,1-1,4wt%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Decyl aldehyde	112-31-2	C ₁₀ H ₂₀ O	156,27	98,5%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Ethyl 2-methylbutyrate	7452-79-1	C ₇ H ₁₄ O ₂	130,19	99,3%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Ethyl 3-hydroxybutyrate	5405-41-4	C ₆ H ₁₂ O ₃	132,16	99,6%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Ethyl butyrate	105-54-4	C ₆ H ₁₂ O ₂	116,16	≥ 98,0%	Honeywell Fluka (Charlotte NC, USA)
Ethyl caproate	123-66-0	C ₈ H ₁₆ O ₂	144,21	99,7%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Ethyl caprylate	106-32-1	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172,26	99,2%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Ethyl cinnamate trans	103-36-6	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	176,21	99,7%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Ethyl decanoate	110-38-3	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200,32	99,7%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Ethyl dodecanoate	106-33-2	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228,37	99,7%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Ethyl isobutyrate	97-62-1	C ₆ H ₁₂ O ₂	116,16	99,3%	Honeywell Fluka (Charlotte NC, USA)
Ethyl isovalerate	108-64-5	C ₇ H ₁₄ O ₂	130,18	99,7%	Honeywell Fluka (Charlotte NC, USA)
Ethyl vanillin	121-32-4	C ₉ H ₁₀ O ₃	166,17	97,0%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Eugenol	97-53-0	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164,2	99,9%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Geraniol	106-24-1	C ₁₀ H ₁₈ O	154,25	99,0%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Guaiaicol	90-05-1	C ₇ H ₈ O ₂	124,14	99,5%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Hexanal	66-25-1	C ₆ H ₁₂ O	100,16	≥97,5%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Hexylacetate	142-92-7	C ₈ H ₁₆ O ₂	144,21	≥98,5%	Honeywell Fluka (Charlotte NC, USA)
Isoamyl acetate	123-92-2	C ₇ H ₁₄ O ₂	130,19	≥99,0%	Acros Organics (Geel, Belgium)

Isobutyl acetate	110-19-0	C ₆ H ₁₂ O ₂	116,16	≥98,5%	Honeywell Fluka (Charlotte NC, USA)
Isoeugenol	97-54-1	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164,2	99,3%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Linalool	78-70-6	C ₁₀ H ₁₈ O	154,25	98,5%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Rose oxide	16409-43-1	C ₁₀ H ₁₈ O	154,25	99,9%	Honeywell Fluka (Charlotte NC, USA)
Thymol	89-83-8	C ₁₀ H ₁₄ O	150,22	99,9%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Vanillin	121-33-5	C ₈ H ₈ O ₃	152,15	99,5%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Whiskey lactone	39212-23-2	C ₉ H ₁₆ O ₂	156,22	99,4%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)

Πίνακας 42. Λίστα προτύπων που χρησιμοποιήθηκαν στην αναπτυχθείσα οργανοληπτική ανάλυση κατά την εκπαίδευση των δοκιμαστών, Chemical Abstracts Service Number (CAS Registry Number), μοριακός τύπος, μοριακή μάζα, καθαρότητα και εμπορικός οίκος.

Όνομα	CAS Registry Number	Μοριακός Τύπος	Mr	Καθαρότητα	Εμπορικός Οίκος
2,4,6 Trichloroanisole (TCA)	87-40-1	C ₇ H ₅ Cl ₃ O	211,47	99,5%	HPC Standards (Borsdorf, Germany)
2-Phenylethanol	60-12-8	C ₈ H ₁₂ O	122,16	99,3%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
4-Ethylguaiacol	2785-89-9	C ₉ H ₁₂ O ₂	152,19	98,0%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
4-Ethylphenol	123-07-9	C ₈ H ₁₀ O	122,17	99,2%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Acetic acid	64-19-7	C ₂ H ₄ O ₂	60,05	99,8%	Penta (Prague, Czech Republic)
Benzyl acetate	140-11-4	C ₉ H ₁₀ O ₂	150,17	99,9%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Butyric acid	107-92-6	C ₄ H ₈ O ₂	88,11	99,9%	Honeywell Fluka (Charlotte, NC, USA)
Caffeine	58-08-2	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194,19	99,7%	Alfa Aesar (Ward Hill, MA, USA)
cis-3-hexen-1-ol	928-96-1	C ₆ H ₁₂ O	100,16	98,6%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Citral	5392-40-5	C ₁₀ H ₁₆ O	152,23	96,0%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Citric acid	77-92-9	C ₆ H ₈ O ₇	192,12	98,0%	Honeywell Fluka (Charlotte, NC, USA)
D(+)-Glucose	50-99-7	C ₆ H ₁₂ O ₆	180,16	99,0%	Panreac Applichem (Barcelona, Spain)
Ethanal	64-17-5	C ₂ H ₄ O	44,05	99,0%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Ethyl acetate	141-78-6	C ₄ H ₈ O ₂	88,11	99,7%	Penta (Prague, Czech Republic)
Ethyl caproate	123-66-0	C ₈ H ₁₆ O ₂	144,21	99,7%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Isoamyl acetate	123-92-2	C ₇ H ₁₄ O ₂	130,19	99,0%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Monosodium L-glutamate	142-47-2	C ₅ H ₈ N ₀ Na	187,13	98,0%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Sodium chloride	7647-14-5	NaCl	58,44	99,5%	Honeywell Fluka (Charlotte, NC, USA)
Sucrose	57-50-1	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342,3	99,5%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Potassium disulfite	16731-55-8	K ₂ S ₂ O ₅	222,33	99,0%	Merck (Darmstadt, Germany)
Tannic acid	1401-55-4	C ₇₆ H ₅₂ O ₄₆	1701,2	99,0%	Honeywell Fluka (Charlotte, NC, USA)
Tartaric acid	87-69-4	C ₄ H ₆ O ₆	150,09	99,5%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)
Vanillin	121-33-5	C ₈ H ₈ O ₃	152,15	99,5%	Acros Organics (Geel, Belgium)
Whiskey lactone	39212-23-2	C ₉ H ₁₆ O ₂	156,22	99,4%	Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)

8.2. Φύλλο Δοκιμαστή

ΦΥΛΛΟ ΔΟΚΙΜΑΣΤΗ ΓΙΑ ΟΙΝΟ

ΕΝΤΑΣΗ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ ΕΛΑΤΩΜΑΤΩΝ

Μειονέκτημα Όψης _____

Μειονέκτημα Αρώματος _____

Μειονέκτημα Γεύσης _____

Μουντή Καφέ Ροζ

Περιγραφή: Μουχλιασμένο Οξικό Αναγωγικό

Other Ζωικό Γαλακτικό TCA

ΕΝΤΑΣΗ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Χρώμα _____

Απόχρωση _____

Φρουτώδες Άρωμα _____

Άρωμα Βαρελιού _____

Άρωμα Στόματος _____

Ξινό _____

Γλυκό _____

Πικρό _____

Στυφό _____

Διάρκεια Επίγευσης _____

Όνομα Δοκιμαστή:

Κωδικός Δοκιμαστή:

Κωδικός Δείγματος:

Υπογραφή:

Ημερομηνία:

Σχόλια:

Σχήμα 12. Φύλλο δοκιμαστή για την μέθοδο οργανοληπτικής ανάλυσης οίνου.

Figure 1

PROFILE SHEET FOR WINE

INTENSITY OF PERCEPTION OF DEFECTS

Appearance Defect _____

Aroma Defect _____

Taste Defect _____

	Hazy	<input type="checkbox"/>	Browning	<input type="checkbox"/>	Pinking	<input type="checkbox"/>
Descriptor:	Mouldy/Earthy	<input type="checkbox"/>	Acetic	<input type="checkbox"/>	Reduced	<input type="checkbox"/>
	Other	<input type="checkbox"/>	Animal	<input type="checkbox"/>	Lactic	<input type="checkbox"/>
					TCA	<input type="checkbox"/>

INTENSITY OF PERCEPTION OF POSITIVE ATTRIBUTES

Colour _____

Hue _____

Fruity Aroma _____

Barrel Aroma _____

Flavour Intensity _____

Sour _____

Sweet _____

Bitter _____

Astringent _____

Aftertaste Duration _____

Name of taster:

Taster code:

Sample code:

Signature:

Date:

Comments:

Σχήμα 13. Φύλλο δοκιμαστή για την μέθοδο οργανοληπτικής ανάλυσης οίνου στην αγγλική γλώσσα.

8.3. Έγγραφο Ανασκόπησης για την Οργανοληπτική Ανάλυση Οίνου από τον OIV.



Review document on sensory analysis of wine

Month : April

Year : 2015

Warning

This document has not been submitted to the step Procedure for Examining Resolutions and cannot in any way be treated as an OIV resolution. Only resolutions adopted by the Member States of the OIV have an official statute.

This document represents the consensus reached by the members of the group of experts Sub commission Methods of Analysis of the OIV. This document, drafted and developed on the initiative of the OIV, is a collective experts' report.

OIV.INT ©

Considering that musts, wines and other beverages of vitivincultural origin can be sensory evaluated for other goals different from the sensory analysis, and, for example, wine competitions are excluded from the scope of this resolution

This document gather three parts concerning:

- **PART I- GENERAL CONDITIONS FOR PERFORMING SENSORY ANALYSIS TESTS**

- **PART II- PROPOSALS FOR ACCREDITATION FOR THE SENSORY ANALYSIS OF WINE**

- **PART III – SELECTION AND TRAINING OF A TASTING PANEL FOR EVALUATION OF A VISUAL, OLFACTIVE AND/OR TASTE ALTERATION IN WINE CHARACTER**

This proposal is not a reference document, but can be used in different ways to select and train a panel of tasters. The specific vocabulary can be adapted, especially depending on the type of wine (dry wine, fortified wine, ...), the colour of the wine (red, white, rosé) and any known characteristics of the wine.

PART I- GENERAL CONDITIONS FOR PERFORMING SENSORY ANALYSIS TESTS

1. Subject

This proposal suggests the general conditions for performing sensory analysis tests.

2. Scope

Musts, wines and other beverages of vitivincultural origin.

This proposal does not create any obligation; it consists of some elements that can be freely used by each Member States according to their needs and purposes.

3. Tasting room, environmental conditions and equipment

3.1 Tasting room: The tasting room should be designed to conduct sensory analyses in known and controlled conditions as described in the ISO 8589 (1) standard.

Access must be controlled and floors easy to clean. The walls, ceiling and tasting booths must be light and neutral in colour.

There must be air-conditioning, humidity control and air exchange in the room. Temperature and humidity monitoring and the maintenance programme must be formalised; notes are made by the sensory analysis technician at the start of each tasting session.

There are standard dimensions for the booths and each is fitted with a light producing natural day light, a spittoon/sink and a frontal shelf allowing distribution of the wines to be tasted. They may also have an IT system used to automatically input the results.

IT equipment may be replaced by a tasting sheet and a pen

3.2 Sample preparation and storage facilities

These should be fitted with temperature-controlled rooms to store, preserve and temper the wines before sensory analysis (12 and 20 °C for example).

Evaluating temperature: in any event, it is essential that all same product types, in the same session, must be evaluated at the same temperature.

The organiser is free to choose the temperature range that he deems suitable for the best results. For example, some defects are more easily detected at a temperature higher than that recommended.

There may be a bench with a sink, scales and fume cupboard for the preparation of solutions or “test” wines needed for training and monitoring assessors, as well as cupboards for chemical products and the small equipment required for tapping, capping, reconditioning and labelling samples.

3.3 Tasting glasses

The tasting glasses must comply with the requirements of the ISO 3591 (2) standard. They are washed by hand or using a glass washer kept for this sole purpose along with an odourless detergent. They are rinsed with pure water (ultra-filtered and deionised).

The glasses are subject to an olfactory examination before use (by sampling).

These indications are recommended but they became mandatory in the case of accreditation.

However, specific glasses, such as “flutes” for example, may be used for sparkling wines.

3.4 Software

The use of an IT system with appropriate software is recommended in order to avoid human errors and provide faster results. This suggestion is more important when there are frequent sensory analyses.

Depending on the diversity and complexity of the sensory analyses, the laboratory may use a bespoke in-house software package or existing off-the-shelf solutions. The first option is recommended for taster groups who always perform the same type of analyses. The second is suggested for laboratories who conduct varied and standard sensory analyses.

4. Organisation of the sensory sessions

Sensory sessions should preferably take place in the morning. The samples must be presented to the panel blind, coded and with the least amount of information possible but with sufficient elements so that they can make a proper assessment of the beverage. **(SEE POINT 3.2)**

Sensory sheet: There may be a wide range of sensory sheets; each taster group should develop one that is best suited to its problem. Generally, for the evaluation of wines and spirituous beverages, three groups of sensory attributes should be assessed, namely the appearance, the odour and the flavour (=complex combination of the olfactory, gustatory and trigeminal sensations perceived during tasting). An overall verdict can also be provided.

5. Selection procedures for assessors

The panel is comprised of people recruited from members of the laboratory, body or external tasting specialists. Candidates who volunteer to become part of this panel are subject to a selection procedure, the selected candidates then form the panel of qualified assessors. They are subject to training, coaching and regular monitoring.

The panel leader is responsible for selecting, training and monitoring the assessors (in accordance with the standards ISO 8586-1 and/or 8586-2) (3, 4). He will also select the sensory tests to be conducted, the statistical calculation to be implemented and give guidance regarding the procedure for the sensory sessions.

In the case of accreditation: (see Part II "PROPOSAL FOR ACCREDITATION FOR THE SENSORY ANALYSIS OF WINE") the sensory analysis technical manager is the responsible and the assessors' individual performances are recorded. The frequency of training courses is decided by the technical manager in view of each assessor's performance and the sensory analysis requirements of the laboratory or body.

Among the selection criteria for assessors, it is very important to select the candidates in relation to the aim of the sensory test.

In some cases it is necessary to have "expert" interested in products of vitivincultural origin, and who can demonstrate experience in sensory evaluation activities.

In other cases this knowledge can often bias a panelist and cause him/her to record a result that they think should be present, rather than one they can actually perceive.

When selecting an assessor, his availability, motivation and ability to concentrate by shutting out external factors should be taken always into account.

Candidates must have basic theory training on the fundamental concepts related to tasting. If a candidate has unquestionable experience in sensory evaluation, he can be excused from the basic training.

After the initial theory training, different tests must be conducted so as to make the most appropriate selection possible. The final selection can only be made after the training and completion of the planned tasks. Candidates with the highest success rates will be assumed to be the most effective. The following items are suggested:

- a) Tests to detect inabilities
- b) Tests to determine sensory awareness
- c) participation in inter-laboratory tests

a) Tests to detect inabilities

Candidates should be in general good health.

Candidates should be tested to assess whether they are able to perform an accurate sensory analysis (ISO 3972 (5); ISO 5496 (6).

Colour vision can be checked using an ISHIHARA test (7) for example.

Research into the average threshold of each individual and group may be interesting at this level (ISO 13301(8)), particularly in terms of basic tastes and the most significant defects in wines and other beverages of vitivincultural origin.

There are several types of test that can be used to establish these thresholds, such as the triangle test ISO 4120 (9) or duo-trio test ISO 10399 (10) or ranking ISO 8587 (11), for example.

b) Tests to determine sensory awareness

- Tests to detect a stimulus

In the detection of flavour stimuli, it is important to test the five basic tastes (sweet, sour, salty, umami and bitter) as well as the astringency. These tests can be performed on aqueous solutions of different substances representing these six tastes (table 1). During a triangle test ISO 4120 (9) or a duo-trio test ISO 10399 (10) one substance at a time is assessed in comparison to a sample of water or a neutral medium. The concentration of the tested product is based on the suprathreshold level (table 2). It is recommended that candidates get all of the answers correct.

As the aim of the sensory training is to improve people's sensibility and the sensibility of the assessors are different, the proposed concentrations of the solutions in all tables should be considered as an example.

Table 1 - Indicative concentrations of solutions used to detect a stimulus

Sucrose SWEET	10 g/L
Tartaric acid ACID	0.5 g/L
Sodium chloride SALTY	2 g/L
Quinine sulphate BITTER	6 mg/L
Monosodium L-glutamate UMAMI	0,6 g/L
Tannic acid ASTRINGENCY	1.0 g/L

Alternative concentrations (ISO 3972) Test solution for the identification of taste
 The recommended concentrations were detected and recognized by 50% of novice assessors.

Sucrose SWEET	5,76 g/L
Citric acid ACID	0.43 g/L
Sodium chloride SALTY	1,19 g/L
Caffeine BITTER	0,195 mg/L
Monosodium L-glutamate UMAMI	0,595 g/L
Iron (II)sulphate heptahydrate METALLIC	0,00475 g/L

- Tests to discriminate between intensity levels of a stimulus

For each stimulus , ranking ISO 8587 (11) can be applied to 4 samples with differing intensities for a considered criteria. These samples are presented randomly to the candidates who must rank them in increasing order of intensity.

The tests are conducted using stimuli for colour, odour, flavour (table 2). It is recommended that candidates get most or all of the answers correct.

Table 2 - Examples of solutions to be used for tests to discriminate between intensity levels of a stimulus:

Colour discrimination	
Indicative chromatic coordinates for red wines	Chromatic coordinates a: 30, 40, 50, 60 Chromatic coordinates L: 60, 50, 40, 30
Odour discrimination	
Acetic acid solution	(0.10g/L; 0.30g/L; 0.50g/L; 0,70g/L)
2,4,6 trichloroanisole (TCA) solution	(1 ng/L; 3 ng/L; 5 ng/L; 7 ng/L)
Ethyl acetate solution	(10 mg/L; 40 mg/L; 70 mg/L; 100 mg/L)
4 Ethylphenol solution	(0.05 mg/L; 0.15 mg/L; 0.30 mg/L; 0.45 mg/L)
Taste discrimination	
Sucrose solution	(2g/L; 6g/L; 10g/L; 14g/L)
Tartaric acid solution	(0.25g/L; 0.5g/L; 0.75g/L; 1g/L)
Sodium chloride solution	(0.5g/L; 2g/L; 3.5 g/L; 5 g/L)
Quinine sulphate solution	(0.5 mg/L; 2.5 mg/L; 4.5 mg/L; 6,5 mg/L)
Monosodium L-glutamate	(0.05 g/L; 0.3 g/L; 0.6 g/L; 0.9 g/L)
Astringency discrimination	
Tannic acid	(0.5 g/L, 0.75 g/L, 1g/L, 1.25 g/L)

Note: These tests are preferably conducted in tasteless water
 In alternative, following the concentrations indicated in ISO 3972 for taste and ISO 5496 for odours.
 The concentrations should be modified if the tests are conducted in wine.

c) Participation in inter-laboratory tests

Wherever possible, participation in inter-laboratory tests can provide precious information about the performance of assessors.

6. Training the assessors

Once the assessors have been selected and formed a panel, they should undergo training and continuous development. One of the objectives is to optimise the technical knowledge of experts by training them and developing their sensory potential.

Checking assessors' performance:

In accordance with the ISO 8586 1 and ISO 8586-2 standard (3-4), the assessor group's performances are assessed so as to verify that their evaluations are repeatable, reproducible and discriminatory.

For example, each assessor can be monitored as follows:

- Repeatability is monitored by the introduction of 3 identical samples within a series of at least 6 samples (intrasession measurement)
 - Reproducibility is verified from the results obtained on the same "test" wine over several sensory sessions (intrasession measurement)
 - Discriminatory power is checked for example by performing 3 different triangle tests on control wines and wines with defects during a sensory session (intrasession measurement). Candidates passing at least 2 out of 3 tests are considered to have a satisfactory discriminatory power.
- All of these observations must be subject to an annual report on checking assessors.

Monitoring assessors' performance:

In each test series, a "Test" wine is anonymously placed in the series of wines to be tasted. If an assessor fails to respond correctly to this "test" wine, the other results he has provided during the same session are discounted., the assessor has to be demonstrably informed about the error in performance

If an assessor fails to respond correctly to 3 consecutive "test" tests, he must be subject to a new training course followed by a check.

There are various different tests that can be performed to provide training in beverages (defects for example), solutions or odour stimuli which help to consolidate assessors' olfactory memory. For example, the following items are suggested:

- a) Description of the odour
- b) Identification of defects in wine using solutions
- c) Identification of the most common defects in wine
- d) Sensory evaluation of different types of tannins

a) Odour description tests

The odour stimuli are presented to the candidates. These are preferably chosen in relation to the product(s) that will subsequently be assessed.

Between 5 and 10 odour stimuli are given to the candidates. The selected odours should be connected or normally appearing in wines or other beverages: raspberry, strawberry, cherry, vanilla, hazelnut, caramel, honey, lemon, etc. (12). After the sessions, the results should be discussed with the candidates who should review the odours that they found most difficult to identify.

b) Identification of defects in wine using solutions

The standards solutions to be used and the molecules used are described in the third part of the document: **SELECTION AND TRAINING OF A TASTING PANEL FOR EVALUATION OF A VISUAL, OLFACTIVE AND/OR TASTE ALTERATION IN WINE CHARACTER**

c) Identification of the most common defects in wine

Select at least five wines presenting distinct defects. For this training session, the use of black glasses is recommended. The defects to be identified must not be indicated to the assessors. The results are discussed with the panel at the end of the session. If some assessors do not correctly identify the defects, repeat the test, the following day if possible, or as soon as possible. The most common alterations in wines that should be tested are described in the third part of the document: **SELECTION AND TRAINING OF A TASTING PANEL FOR EVALUATION OF A VISUAL, OLFACTIVE AND/OR TASTE ALTERATION IN WINE CHARACTER**

d) Sensory evaluation of different types of tannins

It is important that the assessors undergo training on aspects related to alcohol content and astringency. It is possible to observe differences in alcohol content and astringency between the grape and wood tannins that are found in wines. Consequently, tests of solutions prepared with different types of tannins (grapes and wood) are proposed. For this, it is recommended that solutions of the same concentration (for example 0.1 g/L) are prepared for anthocyanidic tannins (grape), gallic tannins and ellagic tannins (from oak).

PART II- PROPOSALS FOR ACCREDITATION FOR THE SENSORY ANALYSIS OF WINES

1 - Preamble

This proposal is aimed at laboratories or bodies working in the field of wine who already have a quality management system (quality policy statement, quality manual, quality manager, controlled documentation and non-compliance tests, management reviews and internal audits) and who wish to incorporate a sensory analysis process into their quality system.

2 - Introduction

Authorised accreditation bodies only accredit objective sensory tests which are properly documented and validated.

A sensory analysis laboratory for wines must show that it is supervised and that within set limits it obtains the same result. As far as possible, it should also demonstrate that its results are the same as those obtained by other laboratories or bodies.

This proposal is inspired by works conducted in the field of olive oil (14) and is divided into two sections. The first is dedicated to the organisation of the sensory analysis process, while the second part is specifically interested in the sensory evaluation of wine, interpreted within the framework of the ISO/ IEC 17025 (15) standard.

3 - Subject and scope

This proposal does not create any obligation; it consists of some elements that can be freely used by each Member States according to their needs and purposes.

This proposal presents the methods for satisfying the conditions required by the ISO/ IEC 17025 (2) standard with a view to accrediting the sensory analysis of wine in particular, as part of the international accreditation system for test laboratories.

This proposal is intended to be a consultation tool for laboratories interested in the accreditation of sensory analysis and a guidance tool for appraisers responsible for auditing the sensory analysis of wine

This proposal refers to the standards to be applied, particularly with regards documentation, equipment, resources, premises and tests.

4 - Terms and definitions

Sensory analysis or evaluation: tasting

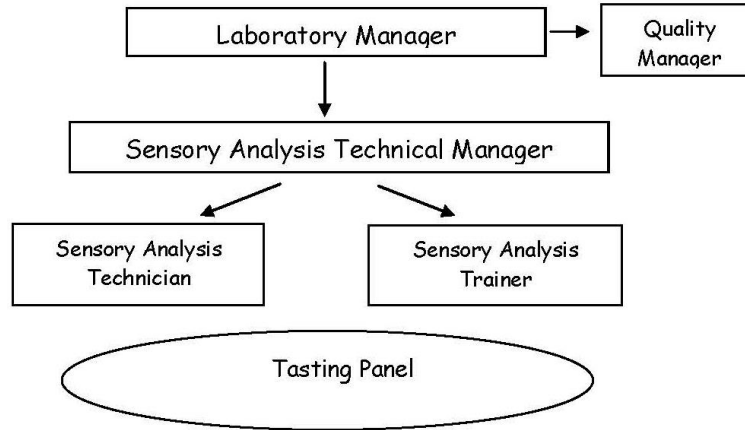
Qualified assessor: assessor educated and trained in the sensory analysis of wines

Organoleptic: sensory

Test: tasting test

5 - Personnel and structure

In a sensory analysis laboratory, the personnel can be represented on the organisation chart below:



Personnel involved directly with sensory analysis can be classified in two groups, namely technical personnel who ensure the functionality of the method, prepare the equipment necessary for its application and process the results, and members of the sensory evaluation panel for wines who form the analytical mechanism through which the test is performed. Two or more functions could be assumed by the same person

5.1 *Technical personnel*

The roles of the various people are as follows:

Sensory analysis technical manager:

- Carries out technical and management tasks related to sensory analysis along with administrative preparations for the tests (session planning, selection of tests to be implemented, selection of reference samples depending on the samples to be analysed, creation of an appropriate panel, supervision of the agents involved in organising sessions)
- Records and examines the results
- Manages data regarding monitoring of assessors
- Records the results and performs statistical calculations
- Interprets the results and drafts test reports
- Manages the quality assurance of the sensory analysis operation (drafting and updating of quality documents for sensory analysis, verifying that equipment is in working order (maintenance, calibration, verification))
- Sets up and monitors the quality control of the sensory analysis tests (reference materials and intercomparison tests)
- Monitors regulations and standards relating to sensory analysis

Sensory analysis technician:

- Checks the test samples on reception (identification, external appearance, content, potential leaks...)
- Ensures the cleanliness of the premises and equipment (checking the tasting room before the session, tidying the tasting room and cleaning the glasses after the session)
- Prepares the samples submitted for sensory evaluation (coding, presentation, order)
- Distributes samples and recording sheets for results during tasting sessions
- Notes the ambient conditions (tasting room temperature and humidity, temperature of tasted samples)

Sensory analysis trainer:

- Organises and runs initial and/or further training sessions in oenology (general wine knowledge) and sensory analysis of wine for members of the tasting panel, (needs to have teaching abilities as well as a solid background in oenology and sensory analysis)
- Selects wine likely to become reference samples

5.2 The tasting panel (see point 5 part I)

6 - Facilities and ambient conditions: (see point 3 part I)

7 - Testing methods

The testing methods used may consist in a strict application of general sensory analysis standards such as the triangle test (9) or duo-trio test (10) or ranking (11) for example. Internal methods specific to a laboratory, a requirement or wine type may also be developed as is the case for example, in the odour and taste evaluation of wine defects .

In all cases, these result in the drafting of an operating method appropriate to the laboratory.

7.1 The samples

The wines to be tasted are temporarily stored in conditions that preserve their intrinsic properties, so as to group a series of samples and convene the panel.

The same applies to the “test” wines which are either internal reference wines (or certified if they exist) recognised to be of average quality and without defect, or reference wines to which substances are added which are able to bring about particular qualities, defects or organoleptic character, and which are used to train assessors and monitor their performance.

7.2 Measurement traceability

Each panel member writes their results on a tasting sheet containing the date and the assessor's identification. The sheets are collected by the sensory analysis technical manager who processes the results using the statistical test associated with the type of test carried out and enters the final result and his interpretation on the test report.

The tasting sheets and the results processing sheets are collected and filed in chronological order by panel meeting and archived.

7.3 Results checking

Internal quality control:

The assessors' performances are checked using the “test” wines tasted during training or test sessions, the results are recorded on a sheet for each of the assessors.

External quality control:

The laboratory or body should participate (if possible) in intercomparison tests. It will use this external quality control to detect potential systematic errors and verify the validity of its quality system.

8 - Document management

The organisation of the sensory analysis process is described in a procedure which is regularly updated (change in personnel, evaluation methods or extension of accreditations). Instructions are changed if the accreditation programme is revised, if the standards change or if there are personnel, premises or equipment changes with regards sensory analysis. The different versions of these documents are archived. The same applies for the recording documents used in tasting sessions (tasting sheets, results processing sheets...).

9 - Test report

Once a wine has been subject to a sensory evaluation conducted under accreditation, the information relating to the tasting must appear on the analysis report, noting in particular the description of the sample, the jury, the evaluation protocol and the results interpretation.

Bibliography

- 1- ISO 8589: 2010 Sensory Analysis - General guidance for the design of test rooms
- 2 - ISO 3591:1977 - Sensory Analysis - Apparatus - Wine-tasting glass

- 3 - ISO 8586-1: 1993 – General guidance for the selection, training and monitoring of assessors (selected assessors)
- 4 - ISO 8586-2: 2008 – General guidance for the selection, training and monitoring of assessors (expert sensory assessors)

- 5 - ISO 3972: 2005 - Sensory Analysis - Methodology - Method of investigating sensitivity of taste
- 6 - ISO 5496:2006 Sensory analysis -- Methodology -- Initiation and training of assessors in the detection and recognition of odours

- 7 - Ishihara test - <http://colorvisiontesting.com/ishihara.htm> (accessed in October 2013)
- 8 - ISO 13301: 2002 - Sensory Analysis - Methodology - General guidance for measuring odour, flavour and taste detection thresholds by a three-alternative forced-choice (3-AFC) procedure

- 9 - ISO 4120: 2007 - Sensory Analysis - Methodology - Triangle test

- 10 - ISO 10399:2004 Sensory analysis -- Methodology -- Duo-trio test

- 11 - ISO 8587: 2007 - Sensory Analysis - Methodology – Ranking

- 12 - Peynaud, É., Blouin J., (1996). Le goût du vin – Le grand livre de la dégustation. Dunot. Paris. Le Nez du Vin © - Accueil – Editions Jean Lenoir

- 14 - Guidelines for the accreditation of sensory analysis laboratories with particular reference to virgin olive oil in accordance with standard ISO/IEC 17025 2005, September 2007 – COI / T.28 / DOC No.1.

- 15 - Standard ISO/ IEC 17025 – General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

PART III - SELECTION AND TRAINING OF A TASTING PANEL FOR EVALUATION OF A VISUAL, OLFACTIVE AND/OR TASTE ALTERATION IN WINE CHARACTER

This document is established for selection and training of a tasting panel for evaluation of a visual, olfactive and/or taste alteration in wine character, including an example for the evaluation of a specific defect.

This proposal is not a reference document, but can be used in different ways by each Member State to select and train a panel of tasters. The specific vocabulary can be adapted, especially depending on the type of wine (dry wine, fortified wine, ...), the colour of the wine (red, white, rosé) and any known characteristics of the wine.

CONTENTS

- 1. Purpose**
- 2. Scope of application**
- 3. Example of a list of visual alterations, smell and / or taste associated with a technical accident or to a known molecule - Specific vocabulary**
- 4. Applicable standards**
- 5. Selection and training of assessors in wine olfactory, tactile and taste alterations' evaluation**
- 6. Procedure for the evaluation of wine olfactory, tactile and taste alterations**
- 7. Example of a tasting sheet and the graphic representation of the results**
- 8. Example of an evaluation of a specific defect: 2,4,6-trichloroanisole (smell of mould)**
- 9. Bibliography**

1. Purpose

The purpose of this document is to establish a list of the main visual, olfactory, tactile and taste altered characteristics of wines and to propose a selection and training procedure for an assessor panel in order to arrive at a good understanding of certain particular characteristics, after defining and distinguishing (sometimes using the same “term” or a similar term), what may be considered as a “glaring defect or alteration” and what must be considered as the result of “established expertise” or the typicality of a grape variety.

2. Scope of application

The alterations described, which are subject to agreement, are applicable to still red, white and rosé wines. This type of evaluation is intended for a group of selected and trained assessors forming a panel. The olfactory, tactile and taste assessment of wine alterations is a specific evaluation.

3. Example of a list of visual alterations, smell and / or taste associated with a technical accident or to a known molecule

The main negative attributes of still wines can be classified in olfactory categories (vegetable, mouldy, acetic, reduced, oxidised, animal, lactic), taste categories (acidic, bitter) or tactile (astringent). These are presented in **Tables 2 and 3**.

Some molecules related with alterations in wines are known, as is their origin; they are quantifiable by chromatographic analyses. Certain olfactory alterations only appear when the molecules responsible are present in excessive concentrations.

If a wine has a combination of several olfactory alterations, these alterations must be evaluated individually.

Table 1: Main visual alterations in wine

Type of wine	Visual appearance	Possible Causes
	Hazy appearance	Yeast and bacteria, proteins, tannins
White	Browning	Oxidation of polyphenols and phenolic acids
	Pinking effect	Polyphenols and excess of sulphites
Red	Browning	Oxidative casse, oxidation of polyphenols
	Hazy appearance	Yeast and bacteria
	Lack of colour	Lack of pigments and excess of sulphites
	Premature brick-red colour	Insufficient tannin-anthocyanin combination

Table 2: Examples of Wine olfactory alterations

Attributes	Descriptor examples	Examples of molecules involved
Vegetable	Herbaceous, green bell pepper, ivy	C6 (1-Hexanol, Cis-3-hexen-1-ol) ¹ IBMP (Isobutyl-methoxy-pyrazine) ²
Mouldy/Earthy	Wet earth, mould, mushroom	Geosmin
	Dusty, musty, damp cellar	Trichloroanisole (TCA) Tetrachloroanisole 2,4,6-Tribromoanisole (TBA)
Acetic	Sour (sharpness, odour of vinegar)	Acetic acid
	Acescent (glue, nail, polish, solvent)	Ethyl acetate

¹ The 1-hexanol and cis-3-hexen-1-ol compounds (herbaceous, cut grass) are compounds produced during fermentation and they are always found in wines; they are not considered as olfactory alterations if they are present in limited quantities.

² Pyrazines are naturally present in grape varieties such as Cabernet Sauvignon, Merlot and Sauvignon Blanc and contribute to the distinctive attributes of wines made from those varieties. Pyrazines should only be considered a defect when they appear excessive and indicative of the use of unripe grapes taking into account the grape variety(ies) and wine style.

Attributes	Descriptor examples	Examples of molecules involved
Reduced	Rotted egg, gas, garlic, cabbages	Ethanethiol Mercaptan H ₂ S
Oxidised ³	Stale, rancid, overripe apple	Ethanal Sotolon
Animal	Phenol, leather, stable, horse sweat	Mix 4-ethylphenol/ 4-ethylgaicol ⁴
	Foxy	O-aminoacetophenone or Methyl anthranilate ⁵
Lactic	Buttered, Butyric	Diacetyl ⁶
Others	Geranium, odour specific to geranium	2-Ethoxy-hexa-3,5-diene
	Baked beans, odours of baked beans or of <i>fritillaria meleagris</i> bulbs or snake's head fritillary	Ethyl 2-sulfanylacetate
	Hydrocarbons, specific odour evocative of petrol and its derivatives ⁷	Generally 1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN)
	Plastic, odour of epoxy resin	Styrene
	Rubber, odour characteristic of rubber or burnt rubber	Benzothiazole
	Pharmaceutical, medicinal odour, gouache, odour of fresh gouache paint	Vinyl-4-phenol and vinyl-4-guaiacol ⁸
	Bitter almond, bug, specific unpleasant odour	Benzaldehyde
	Other specific olfactory alterations, can be treated globally under the heading "other alterations" accompanied by a comment, or individually using a specially developed sheet. Further olfactory alterations and their descriptors are given as an example: <ul style="list-style-type: none"> - Premature aging attribute (wax, nuts, honey, prunes, madeirised) - Excessive wood attribute (plank of wood) - Other: see table below 	

³ The oxidised character is not considered a defect in certain wines but is the result of ageing (for example, sotolon is present in wood-aged Port and Madeira and Xerez/Sherry is high in ethanal; for the same wines, when aged for a long time in wood, they are high in volatile acidity.)

Table 3: Examples of Wine tactile and taste alterations

Attributes	Descriptor examples	Examples of molecules involved or standard molecules (ST)
Acid	Unripe grape, lemon	Tartaric acid Malic acid Citric acid(ST)
Bitter	Raw chicory, cocoa (unsweetened), green tea, quinine	Wine tannins or grape tannins Quinine sulphate (ST) Caffeine (ST)
Astringent (tactile alteration)	Artichoke leaves, aubergine (feeling of dryness and roughness in the mouth)	Wine tannins or Grape tannins Tannic acid Hydrated potassium aluminium sulfate (potassium alum)(ST)
Others	Mousiness, Odour reminiscent of mouse and acetamide ⁹	Acetyl-tetrahydropyridine
	Soapiness, Taste of varying intensity of soap	Caproate and ethyl caprate
	The attributes "acid", "bitter" and "astringent" are considered defects only when occurs excessive imbalance in the wine structure.	

⁴ Some individuals express a preference for wines containing limited quantities of the "animal" characters often resulting from contamination. They consider such wines to have increased "complexity".

⁵ The "foxy" character must not be considered one defect in the wines made from *vitis labrusca* grape varieties and hybrids, but a typical characteristic of this wines

⁶ Many consumers express preference for wines exhibiting a buttery character resulting from the production of diacetyl during a malolactic fermentation. The presence of diacetyl in wine does not inevitably have negative or undesirable consequences.

⁷ In some cases it is typical of a grape variety, as for example Riesling

⁸ These compounds are produced during alcoholic fermentation by yeasts, and they are considered an alteration if only present in high concentrations in wines.

⁹ This alteration is perceived especially in mouth, when you drink the wine, because the acetyl-tetrahydropyridine it is not volatile at the wine pH

4. Applicable standards

General and methodology standards:

- Sensory Analysis – General guidance – ISO 6658:2005
- Sensory Analysis – General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors – ISO 8586:2012
- Sensory Analysis – Methodology -- Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel – ISO 11132:2009
- Sensory Analysis – General guidance for the design of test rooms – ISO 8589 : 2010
- Sensory Analysis – Apparatus – Wine-tasting glass – ISO 3591:1977
- Sensory Analysis – Vocabulary - ISO 5492:2008
- Sensory Analysis – Method of investigating sensitivity of taste – ISO 3972:2011
- Sensory Analysis – Initiation and training of assessors in the detection and recognition of odours – ISO 5496:2006
- Sensory Analysis – Magnitude estimation method – ISO 11056:1999
- Sensory Analysis – Paired comparison test – ISO 5495:2005
- Sensory Analysis – Triangle test – ISO 4120:2007
- Sensory Analysis – Guidelines for the use of quantitative response scales – ISO 4121:2003
- Sensory Analysis – Ranking – ISO 8587:2006
- Sensory analysis – Duo-trio test - ISO 10399:2004
- Sensory Analysis – General guidance for measuring odour, flavour, and taste detection thresholds by a three alternative forced choice (3-AFC) – ISO 13301:2002
- Sensory Analysis – General guidance for establishing a sensory profile – ISO 13299:2003

5. Selection and training of assessors in wine olfactory, tactile and taste alterations evaluation

The general rules for selecting and training a panel are described in part I of the document. Exercises specific to the search for wine olfactory, tactile and taste alterations are set out below.

5.1. Sensitising

In order to sensitise people, initiation tests will be carried out to make them familiar with the various odours of wine by emphasising organoleptic alterations. These sensory tests must be accompanied by explanations, possibly even general training on wine and more specific training on the various alterations. These data on the reality of olfactory training must not be neglected.

All the relevant molecules in water with concentrations higher than average thresholds will be presented to ensure that all the assessors understand the olfactory image.

Searching for the average threshold of the group can be interesting at this stage; this threshold will still be unreliable, but nonetheless interesting for the organiser and the trainees. Paired comparison tests may be performed with 5 pairs of samples per assessor and per molecule. The various concentrations are prepared by successive dilutions then presented at random. After each tasting, the assessors must be asked whether they believe that the two samples are identical or different. The average threshold of the group will be determined corresponding to 75% of correct answers.

5.2. Establishing the detection thresholds

A thorough search for the threshold for the main wine olfactory, tactile and taste alterations (approximately 10 molecules) will be carried out in order to provide information about the group's sensitivity, and to use data on people's hypersensitivity or specific hyposmia (ISO 13301 standard).

The selection of the molecules that are to be studied must take into account the specificities of the wines that the assessors will have to analyse (white or red wines, dry or sweet wines, young or old wines, etc.).

5.3. Training

Training in the detection of wine olfactory, tactile and taste alterations can consist of several tests. The main focus is on frequent contact with the odour of molecules, in association with oenological information, molecule names, their standard descriptor, and comparing these data with the individually observed profile.

Successive dilutions will therefore be performed with contents higher than the threshold in wines and different matrices. Paired comparison tests or duo-trio tests will help compare wines with standards. Classification tests performed during additions (4 concentrations) of certain molecules responsible for wine olfactory, tactile and taste alterations will help the training on quantitative references.

More specific training on the profile of altered wines will complete the training process. The eventual aim is to achieve a Quantitative Descriptive Analysis (QDA). The quantitative scale presentation is essential in order to get to grips with this relatively complex test. The ISO 4121 standard presents the guidelines for the use of quantitative response scales. A continuous scale is recommended if the use of direct or scanned data input is possible; otherwise, a scale of 8 is recommended.

Finally, many exercises containing observations using QDA datasheets will be carried out in order to become familiar with this sensory evaluation practice. Defect-free wines must be presented at each training or familiarisation session.

Wine sensitivity tests will be conducted periodically to observe people's performance and to define long-term profiles. They can take place during work or training sessions, or during testing sessions. The ISO 11132 standard presents the guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel.

6. Procedure for the evaluation of wine olfactory, tactile and taste alterations

In practice, the responses from each assessor are entered in a spreadsheet or a specific sensory analysis software programme.

Each assessor belonging to the panel must carry out an analytical examination of the wine, starting with a more or less prolonged visual

observation, before inhaling without swirling the glass, then after swirling the glass, so as to concentrate the volatile substances in the headspace. Finally after taking a first mouthful, the wine is allowed to warm for a few seconds while being moved all around the mouth, then inhaling through the nose and spitting. The assessors will write down their impressions on the finish and on any possible bad "taste".

Then they must then enter on the tasting sheet (or computer screen) the intensity at which they can perceive an altered characteristic (negative descriptor). If the assessors consider the wine or the solution unbearable or possibly if the operation involves a health hazard for them, the assessors will have to stop and state the exceptional circumstance on the sheet. An example of a sensory analysis sheet used by the assessor to characterise wine olfactory, tactile and taste alterations is given in paragraph 7.

7. Example of tasting sheet and graphic representation of the results

The olfactory, tactile and taste alterations taken into consideration on this sheet (figure 1) concern both aroma and taste. If the wine is accepted by the taster (test accepted/refused at top of sheet), the lower part of the sheet corresponding to the alterations should not be completed. However, if the wine is refused, all boxes must be completed, each taster expresses the intensity with which they experience each defect on a scale of 0 to 5; by convention, an unchecked intensity is equal to 0 (zero). A numerical value within the scale should be established to refuse the wine. If non-listed negative attributes are perceived, they must be written in the "other alterations" descriptor, including the intensity perceived, by using the term(s) that best describe the assessor's impression.

TASTING SHEET							
WINE OLFACTORY, TACTILE AND TASTE ALTERATIONS CHARACTERISATION							
	DATE	<input style="width: 90%;" type="text"/>	TEST	<input style="width: 90%;" type="text"/>			
	TASTER NAME	NAME :	Booth n°:	Glass n°:			
TEST – ACCEPTANCE REFUSAL							
Do you accept this wine ? YES NO							
<i>If NO, please complete the table below</i>							
TEST – CHARACTERISATION OF OLFACTORY, TACTILE AND TASTE ALTERATIONS							
<i>Intensity of the perception (*)</i>							
ODOUR	Vegetable	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
	Mouldy	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
	Acetic	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
	Reduced	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
	Oxidised	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
	Animal	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
	Lactic	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
TASTE, TACTILE	Acid	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
	Bitter	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
	Astringent	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
	Other alterations	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>
COMMENTS							
<i>(*) 0: total absence; 1: hardly perceptible; 2: light; 3: average; 4: strong; 5: extreme</i>							

Figure 1: Example of a wine olfactory, tactile and taste alterations characterisation sheet
The results of the Acceptance/Refusal test are governed by **binomial distribution** with a probability $p = \frac{1}{2}$.

To evaluate the olfactory, tactile and taste alterations, it is possible to refer to the standard ISO 11056 “Magnitude estimation method (data analysis section)” or use the works carried out by the International Olive Council on “the sensory evaluation of virgin olive oil”. In practice, the responses from each assessor are entered onto a specific sensory analysis software programme. The processing of the results is based on the following principle: for a given wine and for each defect reviewed, the median of the level of intensity revealed by all the assessors is calculated. An value strictly higher than zero for a given defect is an indication of the defect identified by the assessors. The results of the test may be presented in the form of a graph (figure 2).

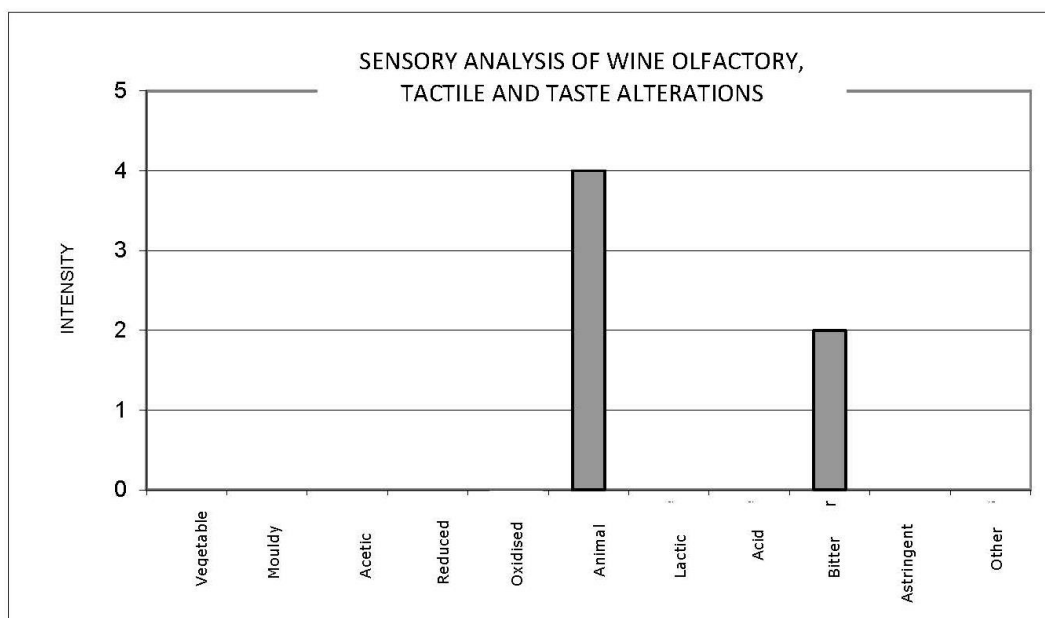


Figure 2: Example of presentation of wine olfactory, tactile and taste alterations characterisation results

8. Example of the evaluation of a specific defect: 2,4,6-trichloroanisole (TCA) in wines (smell of mould)

8.1. Scope of application

Identification of TCA (2,4,6-trichloroanisole) in wine by means of sensory evaluation.

8.2. Principle

This mould defect appears in the mouldy/earthy category. Commonly used descriptors are mould, earthy, mushroom, humus, dust and cardboard. The olfactory identification of TCA can be difficult due to the influence of the matrix, the difference in sensitisation of the panel, the level of qualification and training of the panel and finally the rapid saturation of sensory receptors. Use of an easily applicable method is proposed, comprising just olfactory tests, in view of the expertise or lack thereof of the panel only ask for an examination of this type of potentially contaminated products.

8.3. Equipment required

- Tasting room which has the features set out in the ISO 8589 standard,
- laboratory glassware,
- 100 mL graduated volumetric flasks,
- 2 mL HPLC vials,

- 50 mL graduated cylinders,
- 1, 10, 20, 25, 30 and 50 mL glass pipettes,
- 0.1mL micropipette,
- thermostatic bath (20°C),
- analytical balance,
- ISO 3591 tasting glasses.

8.4. Reagents and products

- Mineral water with minimal mineral content (referred to as water in the method),
- non-aromatic dry white wine, of the most recent vintages, produced and stored without using wood, with an alcohol content of between 10-12% vol.,
- non-aromatic dry red wine, of the most recent vintages, produced and stored without using wood, with an alcohol content of between 10-12% vol.,
- TCA, TBA, TeCA and geosmin concentrations must be lower than their detection limit (DL) in the test wines,
- absolute ethanol,
- TCA standard (purity 99.9%)
- stock solution A - 10 mg/L: 1 mg of the TCA standard is weighed out into a stoppered flask (to avoid dissipation of TCA, which is extremely volatile in the environment) and transferred into a 100 mL volumetric flask with absolute ethanol. This solution must be prepared 24 hours before tasting and kept in a refrigerator at 4°C for no more than 5 days,
- intermediate solution B - 0.10 mg/L: 1 mL of stock solution A is transferred into a 100 ml volumetric flask in a 50% solution of absolute ethanol and water,
- intermediate solution C - 0.001 mg/L: 1 mL of intermediate solution B is transferred into 100 mL of water or dry white wine or dry red wine, depending on the type of test which is to be prepared,
- intermediate solution D - 100 ng/L: 20 ml of intermediate solution C is transferred into 200 mL of water or dry white wine or dry red wine, depending on the type of test which is to be prepared,
- intermediate solution D is used to prepare the following solutions: 1.0-2.0-3.0-4.0-8.0-16.0 ng/L in water or dry white wine or dry red wine, depending on the type of test which is to be prepared,
- intermediate solution E - 10 ng/L: 10 ml of intermediate solution D in 100 ml of water or dry white wine or dry red wine, depending on the type of test which is to be prepared.
- the 0.25 ng/L and 0.5 ng/L solutions in water or dry white wine or dry red wine, depending on the type of test which is to be prepared, are prepared from intermediate solution E,
- all the intermediate and final solutions must be prepared 24 hours in advance,
- the intermediate solutions are used only once for preparing the final solutions,
- the final solutions are placed in crown-capped bottles and kept in a refrigerator at approx. 4°C, advisably for no more than 48 hours, and it is recommended not to reuse them once they have been opened.

8.5. Tasting group (Panel) composed of a minimal number of persons to be able to achieve the statistic evaluation, if possible both men and women, who are specifically trained and selected. If the assessors are not experts in perceiving TCA odour, they are specifically trained with this odour.

8.6. Selection of assessors

1st STAGE - Tests of the recognition of the odour of TCA are carried out.

- Test I with water
- Test II with dry white wine
- Test III with dry red wine

Each test must be carried out with three repetitions, if possible on three different days. Ten glasses are presented in sequence, the first is water (reference) and the following ones may also contain pure water, pure wine, or water and wine with identical or increasing concentrations of TCA, the solutions to be used being: 0-0.25-0.5-1.0-2.0-3.0-4.0-8.0-16.0 ng/L. Each beaker contains the same quantity of liquid (30 mL), measured with a cylinder, at a temperature of 20-22°C.

The card presented to the assessors is worded as follows:

*Test for identifying the **detection threshold** and the **recognition threshold** for an odour. Answer YES if the sample is perceived to be identical to water, NO if it is different.
State the perceived odour for each glass and rate the intensity of the recognised odour on a rising scale (from 1 upwards).*

On the basis of the results, the recognition threshold of each assessor is calculated and those assessors who find it difficult to recognise TCA are excluded.

In particular, assessors whose recognition threshold exceeds 16 ng/L in water, white wine and red wine, are excluded.

At least the minimal number of assessors to be able to achieve the statistic evaluation should remain. The recognition threshold is deemed to be the quantity of TCA which allows the assessor to recognise the odour of mould or damp cardboard.

8.7. Determination of the recognition threshold of the panel

2nd STAGE – Discrimination tests (for example DUO-TRIO) are carried out to determine the recognition threshold of the *panel*, in two repetitions.

Three test series are performed:

- Test series I with water
- Series II with dry white wine
- Series III with dry red wine

The **recognition threshold of the panel** is deemed to be the quantity of substance which is recognised by 50% of the assessors.

Each beaker contains the same quantity of liquid (30 mL), measured with a cylinder, at a temperature of 20-22°C.

The following solutions with TCA are submitted to the assessor for comparison with the test (absence of TCA):

- water: 2.0 - 3.0 - 4.0 - 5.0 - 6.0 ng/L
- dry white wine: 3.0 - 4.0 - 5.0 - 6.0 - 7.0 ng/L
- dry red wine: 4.0 - 5.0 - 6.0 - 7.0 - 8.0 ng/L

Two repetitions are performed for each test series, the samples being presented in a different order for tasting, and carried out on the same day with a gap of at least one hour between one series and the next.

The duo-trio tests are processed depending on the number of assessors ($p < 95\%$) using the tables from duo-trio ISO standard.

8.8. Application to wines

The following procedures must be observed:

- Provide the samples, except for the control wine, with a randomly assigned 3-digit code clearly identifiable by the assessors to prevent bias (Lawless and Heymann 2010).
- Maximum number of samples to be evaluated per session: 8-10 samples.
- Each series of tastings should allow for the possibility of having an uncontaminated control wine, clearly indicated to the assessor as such, but also repeated between the potentially contaminated samples as a control without informing the assessor (for example: control, 4 potentially contaminated bottles, control, another 3 potentially contaminated bottles).
- An interval of at least 2 minutes should be allowed between one sample and the next.
- If, for practical reasons, it is not possible to carry out just one evaluation session of 8-10 samples per day, several tasting series may be carried out on the same day, but allowing an interval of at least 30 minutes between one sequence of samples and the next.
- The card must be designed such that it requires the assessor to identify any possible extraneous odours present in the samples provided, relative to the control wine: earthy, mushroom, fungus, mould, dusty, mud, damp cardboard, other.

WINE:	DATE	TASTER			
THE TASTER SHOULD INDICATE WHICH ODOUR HE/SHE CAN IDENTIFY FROM AMONG THOSE LISTED BELOW					
SAMPLE N°	312	457	674	129	281
LIST OF ODOURS					
MOULD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
EARTHY	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MUSHROOM	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MUD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
DAMP CARDBOARD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
DUSTY	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
OTHERS:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I CANNOT SMELL ANY OF THESE ODOURS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Figure 3: Reproduction of a card provided for identifying any possible TCA anomalous odours in the wines.

It is considered that a wine has a TCA smell if at least 50% of the trained assessors noted the presence of that defect in the examined sample.

9. Bibliography

Amaral, B., Cravero, M.C., Médina, B. de Revel, G., Tusseau, D. (2010) "Evaluation olfactive et gustative des défauts du vin". FV 1344.

Bertrand A (1998) Les principales altérations du vin in *œnologie, Fondements scientifiques et technologiques*. Flanzly C., Tech & Doc Ed.

Conseil Oléicole International. 2007 « Méthode d'évaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge » COI/T.20/Doc. n° 15/Rév. 2.

Cravero MC, Pazo Alvarez MC, Bonello F, Tsolakis Ch, Ubigli, Borsa.D (2008) Metodo per la valutazione sensoriale dell'odore di tappo nei vini. FV 1271

Cravero M.C., Bonello F., Pazo Alvarez M.C., Tsolakis C., Borsa D., 2015 The Sensory evaluation of the 2,4,6-Trichloroanisole (TCA) in wines. *J.Inst. Brew.*, 121, 3: in press.

Lima Ferreira, M Amaral B, Salagoity MH, Lagrèze C, De Revel G et Médina B. (2010.) Conditions générales pour la réalisation de tests d'analyse sensorielle.FV 1356.

Martin N., de Revel G. (1999) Evaluation sensorielle : bases scientifiques et applications œnologiques.in *La Dégustation* pp 85-98. Vigne et Vin Publication Internationale Ed.

Meilgaard,M., Civille, G., Carr, T. Sensory Evaluation Techniques, Fourth Edition. CRC PressINC, 2007, 448 pages.

O'Mahony, M. (1986). Sensory Evaluation of Food: Statistical Methods and Procedure. Marcel Dekker, 487 pages.

Ribereau-Gayon, P.; Boidron, J. N.; Terrier A. (1975) Aroma of Muscat grape varieties. *J. Agric. Food Chem.* 23, 1042-1047.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2004) *Traité d'œnologie*, vol. 2, 5ème édition. Dunod Ed.

Sicard G., Doublet S., Koenig O., Perello M.C., de Revel G. (2006) Effect of wine-tasting course on odorant identification ability. *ECRO 2006, 7th conference of the European Chemoreception Research Organisation*, Granada.

8.4. Μέθοδος Οργανοληπτικής Αξιολόγησης Παρθένου Ελαιολάδου



**INTERNATIONAL
OLIVE
COUNCIL**

COI/T.20/Doc. No 15/Rev. 10
2018

ENGLISH
Original: FRENCH

Príncipe de Vergara, 154 – 28002 Madrid – España. Telet: +34 915 903 638 Fax: +34 915 631 263 - e-mail: isoc@internationaloliveoil.org - <http://www.internationaloliveoil.org/>

SENSORY ANALYSIS OF OLIVE OIL

METHOD FOR THE ORGANOLEPTIC ASSESSMENT OF VIRGIN OLIVE OIL

1. PURPOSE

The purpose of this international method is to determine the procedure for assessing the organoleptic characteristics of virgin olive oil and to establish the method for its classification on the basis of those characteristics.

2. FIELD OF APPLICATION

The method described is only applicable to virgin olive oils and to the classification of such oils according to the intensity of the defects perceived and of the fruitiness, as determined by a group of tasters selected, trained and monitored as a panel.

It also provides indications for optional labelling.

3. GENERAL BASIC VOCABULARY FOR SENSORY ANALYSIS

Refer to the standard COI/T.20/Doc. no. 4 "Sensory Analysis: General Basic Vocabulary".

4. SPECIFIC VOCABULARY FOR VIRGIN OLIVE OIL

4.1. Negative attributes

Fusty/muddy

sediment Characteristic flavour of oil obtained from olives piled or stored in such conditions as to have undergone an advanced stage of anaerobic fermentation, or of oil which has been left in contact with the sediment that settles in underground tanks and vats and which has also undergone a process of anaerobic fermentation.

Musty-humid-

earthy Characteristic flavour of oils obtained from fruit in which large numbers of fungi and yeasts have developed as a result of its being stored in humid conditions for several days or of oil obtained from olives that have been collected with earth or mud on them and which have not been washed.

Winey-
vinegary Characteristic flavour of certain oils reminiscent of wine or vinegar.

Acid-sour This flavour is mainly due to a process of aerobic fermentation in the olives or in olive paste left on pressing mats which have not been properly cleaned and leads to the formation of acetic acid, ethyl acetate and ethanol.

Rancid Flavour of oils which have undergone an intense process of oxidation.

Frostbitten olives

(wet wood) Characteristic flavour of oils extracted from olives which have been injured by frost while on the tree.

4.2. Other negative attributes

Heated or burnt Characteristic flavour of oils caused by excessive and/or prolonged heating during processing, particularly when the paste is thermally mixed, if this is done under unsuitable thermal conditions.

Hay-wood Characteristic flavour of certain oils produced from olives that have dried out.

Rough Thick, pasty mouthfeel sensation produced by certain old oils.

Greasy Flavour of oil reminiscent of that of diesel oil, grease or mineral oil.

Vegetable water Flavour acquired by the oil as a result of prolonged contact with vegetable water which has undergone fermentation processes.

Brine Flavour of oil extracted from olives which have been preserved in brine.

Metallic Flavour that is reminiscent of metals. It is characteristic of oil which has been in prolonged contact with metallic surfaces during crushing, mixing, pressing or storage.

Esparto Characteristic flavour of oil obtained from olives pressed in new esparto mats. The flavour may differ depending on whether the mats are made of green esparto or dried esparto.

Grubby Flavour of oil obtained from olives which have been heavily attacked by the grubs of the olive fly (*Bactrocera oleae*).

Cucumber Flavour produced when an oil is hermetically packed for too long, particularly in tin containers, and which is attributed to the formation of 2,6-nonadienal.

4.3. Positive attributes

<u>Fruity</u>	Set of olfactory sensations characteristic of the oil which depends on the variety and comes from sound, fresh olives, either ripe or unripe. It is perceived directly and/or through the back of the nose.
<u>Bitter</u>	Characteristic primary taste of oil obtained from green olives or olives turning colour. It is perceived in the circumvallate papillae on the “V” region of the tongue.
<u>Pungent</u>	Biting tactile sensation characteristic of oils produced at the start of the crop year, primarily from olives that are still unripe. It can be perceived throughout the whole of the mouth cavity, particularly in the throat.

4.4. OPTIONAL TERMINOLOGY FOR LABELLING PURPOSES

Upon request, the panel leader may certify that the oils which have been assessed comply with the definitions and ranges corresponding solely to the following expressions according to the intensity and perception of the attributes.

Positive attributes (fruity, bitter and pungent): According to the intensity of perception:

- **Robust**, when the median of the attribute is more than 6.0;
- **Medium**, when the median of the attribute is between 3.0 and 6.0;
- **Delicate**, when the median of the attribute is less than 3.0.

Fruitiness Set of olfactory sensations characteristic of the oil which depends on the variety of olive and comes from sound, fresh olives in which neither green nor ripe fruitiness predominates. It is perceived directly and/or through the back of the nose.

Green fruitiness Set of olfactory sensations characteristic of the oil which is reminiscent of green fruit, depends on the variety of olive and comes from green, sound, fresh olives. It is perceived directly and/or through the back of the nose.

Ripe fruitiness Set of olfactory sensations characteristic of the oil which is reminiscent of ripe fruit, depends on the variety of olive and comes from sound, fresh olives. It is perceived directly and/or through the back of the nose.

Well balanced Oil which does not display a lack of balance, by which is meant the olfactory–gustatory and tactile sensation where the median of the bitter and/or pungent attributes is two points higher than the median of the fruitiness.

Mild oil Oil for which the median of the bitter and pungent attributes is 2.0 or less.

List of expressions according to the intensity of perception:

Expressions subject to production of an organoleptic test certificate	Median of the attribute (Me)
Fruitiness	-
Ripe fruitiness	-
Green fruitiness	-
Delicate fruitiness	≤ 3.0
Medium fruitiness	$3.0 < Me \leq 6.0$
Robust fruitiness	> 6.0
Delicate ripe fruitiness	≤ 3.0
Medium ripe fruitiness	$3.0 < Me \leq 6.0$
Robust ripe fruitiness	> 6.0
Delicate green fruitiness	≤ 3.0
Medium green fruitiness	$3.0 < Me \leq 6.0$
Robust green fruitiness	> 6.0
Delicate bitterness	≤ 3.0
Medium bitterness	$3.0 < Me \leq 6.0$
Robust bitterness	> 6.0
Delicate pungency	≤ 3.0
Medium pungency	$3.0 < Me \leq 6.0$
Robust pungency	> 6.0
Well balanced oil	The median of the bitter attribute and the median of the pungent attribute are not more than 2.0 points above the median of the fruitiness.
Mild oil	The median of the bitter attribute and the median of the pungent attribute are 2.0 or less.

5. GLASS FOR OIL TASTING

Refer to the standard COI/T.20/Doc. no. 5, "Glass for Oil Tasting".

6. TEST ROOM

Refer to the standard COI/T.20/Doc. no. 6, "Guide for the Installation of a Test Room".

7. ACCESSORIES

The following accessories, which are required by tasters to perform their task properly, shall be supplied in each booth and shall be within easy reach:

- glasses (standardised) containing the samples, code numbered, covered with a watch-glass and kept at $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$;
- profile sheet (see Figure 1) on hard copy, or on soft copy provided that the conditions of the profile sheet are met, together with the instructions for its use if necessary;
- pen or indelible ink;
- trays with slices of apple and/or water, carbonated water and/or rusks;
- glass of water at ambient temperature;
- sheet recalling the general rules listed in sections 9.4 and 10.1.1;
- spittoons.

8. PANEL LEADER AND TASTERS

8.1. Panel leader

The panel leader must be a suitably trained person with an expert knowledge of the kinds of oils which he or she will come across in the course of their work. They are the key figure in the panel and responsible for its organisation and running.

The work of the panel leader calls for basic training in the tools of sensory analysis, sensory skill, meticulousness in the preparation, organisation and performance of the tests and skill and patience to plan and execute the tests in a scientific manner.

They are the sole person responsible for selecting, training and monitoring the tasters in order to ascertain their level of aptitude. They are thus responsible for the appraisal of the tasters, which must always be objective and for which they must develop specific procedures based on tests and solid acceptance and rejection criteria. See standard COI/T.20/Doc. no. 14, "Guide for the selection, training and monitoring of skilled virgin olive oil tasters".

Panel leaders are responsible for the performance of the panel and hence for its evaluation, of which they must give reliable, objective proof. In any case, they must demonstrate at all times that the method and tasters are under control. Periodic calibration of the panel is recommended (COI/T.20/Doc. 14/Rev 4, § 5).

They hold ultimate responsibility for keeping the records of the panel. These records must always be traceable. They must comply with the assurance and quality requirements laid down in international sensory analysis standards and ensure the anonymity of the samples at all times.

They shall be responsible for inventorying and ensuring that the apparatus and equipment needed to comply with the specifications of this method is properly cleaned and maintained and shall keep written proof thereof, as well as of the compliance with the test conditions.

They shall be in charge of the reception and storage of the samples upon their arrival at the laboratory as well as of their storage after being tested. When doing so, they shall ensure at all times that the samples remain anonymous and are properly stored, for which purpose they must develop written procedures in order to ensure that the entire process is traceable and affords guarantees.

In addition, they are responsible for preparing, coding and presenting the samples to the tasters according to an appropriate experimental design in line with pre-established protocols, as well as for assembling and statistically processing the data obtained by the tasters.

They shall be in charge of developing and drafting any other procedures that might be necessary to complement this standard and to ensure that the panel functions properly.

They must seek ways of comparing the results of the panel with those obtained by other panels undertaking the analysis of virgin olive oil in order to ascertain whether the panel is working properly.

It is the duty of the panel leader to motivate the panel members by encouraging interest, curiosity and a competitive spirit among them. To do so, they are strongly recommended to ensure a smooth two-way flow of information with the panel members by keeping them informed about all the tasks they carry out and the results obtained. In addition, they shall ensure that their opinion is not known and shall prevent possible leaders from asserting their criteria over the other tasters.

They shall summon the tasters sufficiently in advance and shall answer any queries regarding the performance of the tests, but shall refrain from suggesting any opinion to them on the sample.

8.1.1 Deputy panel leader

The panel leader may, on justified grounds, be replaced by a deputy panel leader who may stand in for duties regarding the performance of the tests. This substitute must have all the necessary skills required of a panel leader.

8.2. Tasters

The people acting as tasters in organoleptic tests carried out on olive oils must do so voluntarily. It is therefore advisable for candidates to submit an application in writing. Candidates shall be selected, trained and monitored by the panel leader in accordance with their skills in distinguishing between similar samples; it should be borne in mind that their accuracy will improve with training.

Tasters must act like real sensory observers, setting aside their personal tastes and solely reporting the sensations they perceive. To do so, they must always work in silence, in a relaxed, unhurried manner, paying the fullest possible sensory attention to the sample they are tasting.

Between 8 and 12 tasters are required for each test, although it is wise to keep some extra tasters in reserve to cover possible absences.

9. TEST CONDITIONS

9.1. Presentation of the sample

The oil sample for analysis shall be presented in standardised tasting glasses conforming to the standard COI/T.20/Doc. No 5 "Glass for oil tasting".

The glass shall contain 14–16 ml of oil, or between 12.8 and 14.6 g if the samples are to be weighed, and shall be covered with a watch-glass.

Each glass shall be marked with a code made up of digits or a combination of letters and digits chosen at random. The code will be marked by means of an odourfree system.

9.2. Test and sample temperature

The oil samples intended for tasting shall be kept in the glasses at $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ throughout the test. This temperature has been chosen because it makes it easier to observe organoleptic differences than at ambient temperature and because at lower temperatures the aromatic compounds peculiar to these oils volatilise poorly while higher temperatures lead to the formation of volatile compounds peculiar to heated oils. See the standard COI/T.20/Doc. No 5 "Glass for Oil Tasting" for the method which has to be used for heating the samples when in the glass.

The test room must be at a temperature between 20° and 25°C (see COI/T.20/Doc. No 6).

9.3. Test times

The morning is the best time for tasting oils. It has been proved that there are optimum perception periods as regards taste and smell during the day. Meals are preceded by a period in which olfactory–gustatory sensitivity increases, whereas afterwards this perception decreases.

However, this criterion should not be taken to the extreme where hunger may distract the tasters, thus decreasing their discriminatory capacity; therefore, it is recommended to hold the tasting sessions between 10.00 in the morning and 12.00 noon.

9.4. Tasters: general rules of conduct

The following recommendations apply to the conduct of the tasters during their work.

When called by the panel leader to participate in an organoleptic test, tasters should be able to attend at the time set beforehand and shall observe the following:

- They shall not smoke or drink coffee at least 30 minutes before the time set for the test.
- They must not have used any fragrance, cosmetic or soap whose smell could linger until the time of the test. They must use an unperfumed soap to wash their hands which they shall then rinse and dry as often as necessary to eliminate any smell.
- They shall fast at least one hour before the tasting is carried out.
- Should they feel physically unwell, and in particular if their sense of smell or taste is affected, or if they are under any psychological effect that prevents them from concentrating on their work, the tasters shall refrain from tasting and shall inform the panel leader accordingly.
- When they have complied with the above, the tasters shall take up their place in the booth allotted to them in an orderly, quiet manner.
- They shall carefully read the instructions given on the profile sheet and shall not begin to examine the sample until fully prepared for the task they have to perform (relaxed and unhurried). If any doubts should arise, they should consult the panel leader in private.
- They must remain silent while performing their tasks.
- They must keep their mobile phone switched off at all times to avoid interfering with the concentration and work of their colleagues.

10. PROCEDURE FOR THE ORGANOLEPTIC ASSESSMENT AND CLASSIFICATION OF VIRGIN OLIVE OIL

10.1. Tasting technique

- 10.1.1. The tasters shall pick up the glass, keeping it covered with the watch-glass, and shall bend it gently; they shall then rotate the glass fully in this position so as to wet the inside as much as possible. Once this stage is completed, they shall remove the watch-glass and smell the sample, taking slow deep breaths to evaluate the oil. Smelling should not exceed 30 s. If no conclusion has been reached during this time, they shall take a short rest before trying again.

When the olfactory test has been performed, the tasters shall then evaluate the buccal sensations (overall retronasal olfactory, gustatory and tactile sensations). To do so, they shall take a small sip of approximately 3 ml of oil. It is very important to distribute the oil throughout the whole of the mouth cavity, from the front part of the mouth and tongue along the sides to the back part and to the palate support and throat, since it is a known fact that the perception of tastes and tactile sensations varies in intensity depending on the area of the tongue, palate and throat.

It should be stressed that it is essential for a sufficient amount of the oil to be spread very slowly over the back of the tongue towards the palate support and throat while the taster concentrates on the order in which the bitter and pungent stimuli appear. If this is not done, both of these stimuli may escape notice in some oils or else the bitter stimulus may be obscured by the pungent stimulus.

Taking short, successive breaths, drawing in air through the mouth, enables the taster not only to spread the sample extensively over the whole of the mouth but also to perceive the volatile aromatic compounds via the back of the nose by forcing the use of this channel.

N.B. When the tasters do not perceive fruitiness in a sample and the intensity of the classifying negative attribute is 3.5 or less the panel leader may decide to arrange for the tasters to analyse the sample again at ambient temperature (COI/T.20/Doc. No 6/Rev. 1, September 2007, section 3 – General specifications for installation) while specifying the context and concept of ambient temperature. When the sample reaches room temperature, the tasters should re-assess it to check solely whether fruitiness is perceived. If it is, they should mark the intensity on the scale.

The tactile sensation of pungency should be taken into consideration. For this purpose it is advisable to ingest the oil.

10.1.2. When organoleptically assessing a virgin olive oil, it is recommended that FOUR SAMPLES at the most be evaluated in each session with a maximum of three sessions per day, to avoid the contrast effect that could be produced by immediately tasting other samples.

As successive tastings produce fatigue or loss of sensitivity caused by the preceding samples, it is necessary to use a product that can eliminate the remains of the oil from the preceding tasting from the mouth.

The use of a small slice of apple is recommended which, after being chewed, can be disposed of in the spittoon. Then rinse out the mouth with a little water at ambient temperature. At least 15 minutes shall lapse between the end of one session and the start of the next.

10.2. Use of the profile sheet by tasters

The profile sheet intended for use by tasters is detailed in Figure 1 of this method.

Each taster on the panel shall smell and then taste ^{1/} the oil under consideration. They shall then enter the intensity with which they perceive each of the negative and positive attributes on the 10-cm scale shown in the profile sheet provided.

Should the tasters perceive any negative attributes not listed in section 4, they shall record them under the "others" heading, using the term or terms that most accurately describes the attributes.

10.3. Use of the data by the panel leaders

The panel leader shall collect the profile sheets completed by each taster and shall review the intensities assigned to the different attributes. Should they find any anomaly, they shall invite the taster to revise his or her profile sheet and, if necessary, to repeat the test.

The panel leader shall enter the assessment data of each panel member in a computer program like that appended to this method with a view to statistically calculating the results of the analysis, based on the calculation of their median. See sections 10.4 and Annex 1 of this method. The data for a given sample shall be entered with the aid of a matrix comprising 9 columns representing the 9 sensory attributes and n lines representing the n panel members used.

When a defect is perceived and entered under the "others" heading by at least 50% of the panel, the panel leader shall calculate the median of the defect and shall arrive at the corresponding classification.

The value of the robust coefficient of variation which defines classification (defect with the strongest intensity and fruity attribute) must be no greater than 20.0%.

If the opposite is the case, the panel leader must repeat the evaluation of the specific sample in another tasting session.

If this situation arises often, the panel leader is recommended to give the tasters specific additional training (COI/T.20/Doc. No 14/Rev. 4, November 2012, § 5) and to use the repeatability index and deviation index to check taster performance (COI/T.20/Doc. No 14/Rev. 4, November 2012, § 6).

A method of calculation is illustrated in an example in the annex hereto.

1/ They may refrain from tasting an oil when they notice any extremely intense negative attribute by direct olfactory means, in which case they shall record this exceptional circumstance in the profile sheet.

10.4. Classification of the oil

The oil is graded as follows in line with the median of the defects and the median for the fruity attribute. The median of the defects is defined as the median of the defect perceived with the greatest intensity. The *median* of the defects and the median of the fruity attribute are expressed to one decimal place.

The oil is graded by comparing the median value of the defects and the median for the fruity attribute with the reference ranges given below. The error of the method has been taken into account when establishing the limits of these ranges, which are therefore considered to be absolute. The software packages allow the grading to be displayed as a table of statistics or a graph.

- (a) Extra virgin olive oil: the median of the defects is 0.0 and the median of the fruity attribute is above 0.0;
- (b) Virgin olive oil: the median of the defects is above 0.0 but not more than 3.5 and the median of the fruity attribute is above 0.0;
- (c) Ordinary virgin olive oil: the median of the defects is above 3.5 but not more than 6.0, or the median of the defects is not more than 3.5 and the median of the fruity attribute is 0.0;
- (d) Lampante virgin olive oil: the median of the defects is above 6.0.

Note 1: When the median of the bitter and/or pungent attribute is more than 5.0, the panel leader shall state so on the test certificate.

For assessments intended to monitor compliance, one test shall be carried out. In the case of counter assessments, the analysis must be carried out in duplicate in different tasting sessions. The results of the duplicate analysis must be statistically homogenous. (See section 10.5). If not, the sample must be reanalysed twice again. The final value of the median of the classification attributes will be calculated using the average of both medians.

10.5 Criteria for the acceptance and rejection of duplicates

The normalised error, defined below, shall be used to determine whether the two results of a duplicate analysis are homogenous or statistically acceptable:

$$En = \frac{|x_1 - x_2|}{\sqrt{U_1^2 + U_2^2}}$$

where x_1 and x_2 are the two values of the duplicate and U_1 and U_2 are the expanded uncertainties obtained for the two values, calculated as follows as specified in Annex I:

$$U_1 = c \times s^* \text{ and } s^* = \frac{CV_r \times M_{e1}}{100}$$

For the expanded uncertainty, $c = 1.96$; hence:

$$U_1 = 0.0196 \times CV_r \times M_{e1}$$

where CV_r is the robust coefficient of variation and M_{e1} is the median of the first analysis.

For it to be stated that the two values obtained are not statistically different, E_n must be equal to or less than 1.0.

10.6 Verification of the declared category

The organoleptic characteristics of an oil shall be deemed consistent with the declared category if a panel recognized by the IOC or approved by the competent authorities at national level confirms it.

Should the panel not confirm the declared category as regards the organoleptic characteristics, the interested party may request the national authorities or their representatives to have carried out without any delay two independent counter-assessments by two other panels recognised by the IOC or approved by the competent authorities at national level. The characteristics concerned shall be deemed consistent with the characteristics declared if both counter-assessments confirm the declared category. If that is not the case, the interested party shall be responsible for the cost of the two counter-assessments.

Figure 1

**PROFILE SHEET FOR VIRGIN OLIVE OIL
INTENSITY OF PERCEPTION OF DEFECTS**

Fusty/muddy sediment _____

Musty/humid/earthy _____

**Winey/vinegary
acid/sour** _____

**Frostbitten olives
(wet wood)** _____

Rancid _____

**Other negative
attributes:** _____

Descriptor: **Metallic** **Dry hay** **Grubby** **Rough**

Brine **Heated or burnt** **Vegetable water**

Esparto **Cucumber** **Greasy**

INTENSITY OF PERCEPTION OF POSITIVE ATTRIBUTES

Fruity _____
 Green **Ripe**

Bitter _____

Pungent _____

Name of taster:

Taster code:

Sample code:

Signature:

Date:

Comments:

Annex 1

METHOD FOR CALCULATING THE MEDIAN AND THE CONFIDENCE INTERVALS

Median

$$Me = [p (X < x_m) \leq 1/2 \wedge p (X \leq x_m) \geq 1/2]$$

The median is defined as the real number x_m characterised by the fact that the probability (p) that the distribution values (X) are below this number (x_m), is less than and equal to 0.5 and that simultaneously the probability (p) that the distribution values (X) are below or equal to x_m is greater than and equal to 0.5. A more practical definition is that the median is the 50th percentile of a distribution of numbers arranged in increasing order. In simpler terms, it is the midpoint of an ordered set of odd numbers, or the mean of two midpoints of an ordered set of even numbers.

Robust standard deviation

In order to arrive at a reliable estimate of the variability around the mean it is necessary to refer to the robust standard deviation as estimated according to Stuart and Kendall (4). The formula gives the asymptotic robust standard deviation, i.e. the robust estimate of the variability of the data considered where N is the number of observations and IQR is the interquartile range which encompasses exactly 50% of the cases of a given probability distribution:

$$s^* = \frac{1.25 \times \text{IQR}}{1.35 \times \sqrt{N}}$$

The interquartile range is calculated by calculating the magnitude of the difference between the 75th and 25th percentile.

$$\text{IQR} = 75\text{th percentile} - 25\text{th percentile}$$

Where the percentile is the value x_{pc} characterised by the fact that the probability (p) that the distribution values are less than x_{pc} is less than and equal to a specific hundredth and that simultaneously the probability (p) that the distribution values are less than or equal to x_{pc} is greater than and equal to that specific hundredth. The hundredth indicates the distribution fractile chosen. In the case of the median it is equal to 50/100.

$$\text{percentile} = [p (X < x_{pc}) \leq \frac{n}{100} \wedge p (X \leq x_{pc}) \geq \frac{n}{100}]$$

For practical purposes, the percentile is the distribution value corresponding to a specific area subtended from the distribution or density curve. To give an example, the 25th percentile represents the distribution value corresponding to an area equal to 0.25 or 25/100.

In this method percentiles are computed on the basis of the real values which appear in the data matrix (percentiles computing procedure).

Robust coefficient of variation (%)

The $CV_r\%$ represents a pure number which indicates the percentage variability of the set of numbers analysed. For this reason it is very useful for checking the reliability of the panel assessors.

$$CV_r = \frac{s^*}{Me} 100$$

Confidence intervals of the median at 95%

The confidence intervals at 95% (value of the error of the first kind equal to 0.05 or 5%) represent the interval within which the value of the median could vary if it were possible to repeat an experiment an infinite number of times. In practice, it indicates the interval of variability of the test in the operating conditions adopted starting from the assumption that it is possible to repeat it many times. As with the $CV_r\%$, the interval helps to assess the reliability of the test.

$$C.I._{upper} = Me + (c \times s^*)$$

$$C.I._{lower} = Me - (c \times s^*)$$

where $C = 1.96$ for the confidence interval at the 95% level.

Explanation on the type of algorithm to compute the 25th and 75th percentiles

*IOC uses a unique algorithm (xxx-algorithm), presented below, for the computation of the 25th and 75th percentiles.
It is possible to calculate the statistics either manually or through any data acquisition system but the algorithm MUST BE the following.*

The IOC provides an MS Excel worksheet in which the algorithm is applied successfully and monitors panel performance.

Percentiles computing procedure

There are several ways of calculating a percentile but let's describe and use the following algorithm, also implemented in a function {PERCENTILE*(array;k) k:0.25 and 0.75 or QUARTILE(array;q) q:1 and 3} in MS-Excel.
[*in French version of MS-Excel CENTILE(array;k) or QUARTIL(array;q)]

Step 1 - Sort the list of numbers into ascending order and score these numbers from 1 to n

Step 2 - Use the following formula to calculate the corresponding **ranking** (*split* into an **integer** and a **decimal**).

$$R=1+(P(n-1)/100)=I+D \quad \text{{ranks computation}}$$

where:

- P: percentile wanted
- n: total number of values
- I: integer part of ranking
- D: decimal part of ranking

Step 3 - Use the following formula to **interpolate** between the necessary two numbers.

$$p=Y_i+D(Y_{i+1}-Y_i) \quad \text{{interpolation}}$$

Example (EVEN NUMBER OF TASTERS)

Computation of percentiles

Raw data
1.3
2.1
1.5
1.2
1.6
2.4
2.3
1.9

Ordered data

1.2
1.3
1.5
1.6
1.9
2.1
2.3
2.4

Median=1.8

Computing ranking

$$r=1+(P(n-1)/100) \quad \{\text{ranks computation}\}$$

P: percentile (25 or 75)
n: number of cases

I: integer part of ranking
D: decimal part of ranking

$$1+((25*(8-1))/100)=2.75$$

I=2 (integer)
D=0.75 (decimal)

$$1+((75*(8-1))/100)=6.25$$

I=6 (integer)
D=0.25 (decimal)

Interpolating

$$p=Y_i + D(Y_{i+1} - Y_i) \quad \{\text{interpolation}\}$$

$$1.3+0.75*(1.5-1.3)=\mathbf{1.45 \text{ (25}^{\text{th}} \text{ percentile)}}$$

$$2.1+0.25*(2.3-2.1)=\mathbf{2.15 \text{ (75}^{\text{th}} \text{ percentile)}}$$

From excel {PERCENTILE(A2:A9;0.25 or 0.75)}

25th percentile=1.45

75th percentile=2.15

Computation of IQR

IQR= 75th percentile – 25th percentile

$$\mathbf{IQR=2.15-1.45=0.7}$$

Computations of s*

s*= Coefficient * IQR / Square root (Number of Judges)

$$\mathbf{s*=0.925*0.7/2.828=0.23}$$

$$CVr\% = (s^* / Median) * 100$$

$$CVr\%=(0.23/1.75)=13.1\%$$

The classification is reliable

Example (ODD NUMBER OF TASTERS)

Computation of percentiles

Raw data

1.3
2.1
1.5
1.2
1.6
2.4
2.3
1.9
1.6
1.8
2.7

Ordered data

1.2
1.3
1.5
1.6
1.6
1.8
1.9
2.1
2.3
2.4
2.7

Median=1.8

Computing ranking

$$r=1+(P(n-1)/100)$$

P: percentile (25 or 75)

n: number of cases

I: integer part of ranking

D: decimal part of ranking

$$1+((25*(11-1))/100)=3.5$$

I=3 (integer)

D=0.5 (decimal)

$$1+((75*(11-1))/100)=8.5$$

I=8 (integer)

D=0.5 (decimal)

Interpolating

$$p = Y_1 + D(Y_{i+1} - Y_i)$$

$$1.5 + 0.5 * (1.6 - 1.5) = \mathbf{1.55 \text{ (25}^{\text{th}} \text{ percentile)}}$$

$$2.1 + 0.5 * (2.3 - 2.1) = \mathbf{2.20 \text{ (75}^{\text{th}} \text{ percentile)}}$$

From Excel {PERCENTILE(A2:A9;0.25 or 0.75)}

25th percentile=1.55

75th percentile=2.20

Computation of IQR

IQR= 75th percentile – 25th percentile

$$\mathbf{IQR=2.20-1.55=0.65}$$

Computations of s*

s* = Coefficient * IQR / Square root (Number of Judges)

$$\mathbf{s^*=0.925*0.65/3.317=0.18}$$

CVr% = (s* / Median) * 100

$$\mathbf{CVr\%=(0.18/1.80)=10.0\%}$$

The classification is reliable

Function PERCENTILE in different languages

Language	Function "PERCENTILE"
Czechoslovak	PERCENTIL
Danish	FRAKTIL
Finnish	PROSENTTIPISTE
French	CENTILE
Norwegian	PERSENTIL
Dutch	PERCENTIEL
Polish	PERCENTYL
Portuguese	PERCENTIL
Russian	ПЕРСЕНТИЛЬ
Spanish	PERCENTIL
Swedish	PERCENTIL
German	QUANTIL
Turkish	YÜZDEBİRLİK
Hungarian	PERCENTILIS

Bibliography

- (1) Wilkinson, L. 1990. Systat: The system for statistics. Evanston, IL.SYSTAT Inc.
- (2) Cicchitelli, G. 1984. Probabilità e Statistica. Maggioli Editore, Rimini.
- (3) Massart, D.L.; Vandeginste, B.G.M.; Deming, Y.; Michotte, L. 1988. Chemometrics. A textbook. Elsevier. Amsterdam.
- (4) Kendall, M.G.; Stuart, A. 1967. The advanced theory of statistics. Vol. 1. Hafner Publishing Co.
- (5) McGill, R.; Tukey, J.W.; Larsen, W.A. 1978. Variation of Box Plots. The American Statistician, 32, (2), 12-16.
- (6) COI/T.28/Doc. No 1 September 2007 "Guidelines for the accreditation of sensory testing laboratories with particular reference to virgin olive oil according to standard ISO/IEC 17025:2005"
- (7) COI/T.20/Doc. No 14 Rev.3 November 2011
- (8) ISO/IEC 17025:05

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Οι βιβλιογραφικές αναφορές της παρούσης εμφανίζονται με τη μορφή της American Chemical Society («ACS Style»).

1. Kyraleou, M.; Kallithraka, S.; Chira, K.; Tzanakouli, E.; Ligas, I.; Kotseridis, Y.. Differentiation of Wines Treated with Wood Chips Based on Their Phenolic Content, Volatile Composition, and Sensory Parameters. *J Food Sci.* **2015**, *80*(12), C2701-10.
2. International Organisation of Vine and Wine. State of the World Vitivinicultural Sector in 2023. Available online: https://www.oiv.int/sites/default/files/2024-04/OIV_STATE_OF_THE_WORLD_VINE_AND_WINE_SECTOR_IN_2023.pdf (accessed on April 2024).
3. Lattey, K.A.; Bramley, B.R.; Francis, I.L. Consumer acceptability, sensory properties and expert quality judgements of Australian Cabernet Sauvignon and Shiraz wines. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2010**, *16*, 189–202.
4. Mezei, L.V.; Johnson, T.E.; Goodman, S.; Collins, C; Bastian, S.E.P. Meeting the demands of climate change: Australian consumer acceptance and sensory profiling of red wines produced from non-traditional red grape varieties. *OENO One* **2021**, *55*, 29–46.
5. Pozo-Bayón, M.A.; Muñoz González, C.; Esteban-Fernández, A. Chapter 7. In *Wine Safety, Consumer Preference, and Human Health*; Victoria Moreno-Arribas, M., Suáldea, B.B., ed.; Springer: Cham, Switzerland, **2016**; pp. 51–69.
6. Bruwer, J.; Saliba, A.; Miller, B. Consumer behaviour and sensory preference differences: Implications for wine product marketing. *J. Consum. Mark.* **2011**, *28*, 5–18.
7. Ristic, R.; Danner, L.; Johnson, T.E.; Meiselman, H.L.; Hoek, A.C.; Jiranek, V.; Bastian, S.E.P. Wine-related aromas for different seasons and occasions: Hedonic and emotional responses of wine consumers from Australia, UK and USA. *Food Qual. Prefer.* **2018**, *71*, 250–260.
8. Pereira, A.G.; Fraga, M.; Paula, G.O.; Carpena, M.; Jimenez-Lopez, C.; Lourenço-Lopes, C.; Barros, L.; CFR Ferreira, I.; Prieto, M.A.; Simal-

- Gandara, J. Management of Wine Aroma Compounds: Principal Basis and Future Perspectives, Winemaking—Stabilization. In *Chemistry and Biochemistry of Winemaking, Wine Stabilization and Aging*; IntechOpen: London, UK, 2020.
9. Hernandez-Orte, P.; Cersosimo, M.; Loscos, N.; Cacho, J.; Garcia-Moruno, E.; Ferreira, V. The development of varietal aroma from non-floral grapes by yeasts of different genera. *Food Chem.* **2008**, *107*, 1064–1077.
 10. Swiegers, J.H.; Bartowsky, E.J.; Henschke, P.A.; Pretorius, I.S. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2008**, *11*, 139–173.
 11. Francis, I.L.; Newton, J.L. Determining wine aroma from compositional data. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2005**, *11*, 114–126.
 12. Hernandez-Orte, P.; Ibarz, M.J.; Cacho, J.; Ferreira, V. Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine. *Food Chem.* **2005**, *89*, 163–174.
 13. Styger, G.; Prior, B.; Bauer, F.F. Wine flavor and aroma. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *38*, 1145–1159.
 14. Jarauta, I.; Cacho, J.; Ferreira, V. Concurrent Phenomena Contributing to the Formation of the Aroma of Wine during Aging in Oak Wood: An Analytical Study. *J. Agric. Food Chem* **2005**, *53*, 4166–4177.
 15. Chira, K.; González-Centeno, M.R.; Teissedre, P.L. Wine Ageing in Oak Barrel: Effect of Toasting Process. *Agri. Res. Tech. OpenAccess J.* **2017**, *12*, 555847.
 16. Fresno, J.M.D.; Morata, A.; Loira, I.; Escott, C. Evolution of the Phenolic Fraction and Aromatic Profile of Red Wines Aged in Oak Barrels. *Omega J.A.S.L.A.* **2020**, *5*, 7235–7243.
 17. Holmberg, L. Wine fraud. *Int. J. Wine Res.* **2010**, *2*, 105–113.
 18. Villano, C.; Lisanti, M.T.; Gambuti, A.; Vecchio, R.; Moio, L.; Frusciante, L.; Aversano, R.; Carputo, D. Wine varietal authentication based on

phenolics, volatiles and DNA markers: State of the art, perspectives and drawbacks. *Food Control* **2017**, *80*, 1–10.

19. Valentin, L.; Barroso, L.P.; Barbosa, R.M.; Paulo, G.A.D.; Castro, I.A. Chemical typicality of South American red wines classified according to their volatile and phenolic compounds using multivariate analysis. *Food Chem.* **2020**, *302*, 125340.
20. Schüttler, A.; Friedel, M.; Jung, R.; Rauhut, D. Characterizing aromatic typicality of Riesling wines: Merging volatile compositional and sensory aspects. *Food Res. Int.* **2015**, *69*, 26–37.
21. García-Carpintero, E.G.; Sánchez-Palomo, E.; Gallego, M.A.G.; González-Viñas, M.A. Free and bound volatile compounds as markers of aromatic typicalness of Moravia Dulce, Rojal and Tortosv red wines. *Food Chem.* **2012**, *131*, 90–98.
22. Fabani, M.P.; Ravera, M.J.; Wunderlin, D.A. Markers of typical red wine varieties from the Valley of Tulum. *Food Chem.* **2013**, *141*, 1055–1062.
23. Parr, W.V.; Green, J.A.; White, K.G.; Sherlock, R.R. The distinctive flavour of New Zealand Sauvignon blanc: Sensory characterisation by wine professionals. *Food Qual. Prefer.* **2007**, *18*, 849–861.
24. Stupak, M.; Goodall, I.; Tomaniova, M.; Pulkrabova, J.; Hajslova, J. A novel approach to assess the quality and authenticity of Scotch Whisky based on gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *Anal. Chimica Acta* **2018**, *1042*, 60–70.
25. Lukić, I.; Carlin, S.; Vrhovsek, U. Comprehensive 2D Gas Chromatography with TOF-MS Detection Confirms the Matchless Discriminatory Power of Monoterpenes and Provides In-Depth Volatile Profile Information for Highly Efficient White Wine Varietal Differentiation. *Foods* **2020**, *9*, 17–87.
26. Ziółkowska, A.; Wąsowicz, E.; Jeleń, H.H. Differentiation of wines according to grape variety and geographical origin based on volatiles profiling using SPME-MS and SPME-GC/MS methods. *Food Chem.* **2016**, *213*, 714–720.
27. Barrio-Galán, R.D.; Valle-Herrero, H.D.; Bueno-Herrera, M.; López-De-La-Cuesta, P.; Pérez-Magariño, S. Volatile and Non-Volatile

Characterization of White and Rosé Wines from Different Spanish Protected Designations of Origin. *Beverages* **2021**, *7*, 49–49.

28. Ivanova, V.; Stefova, M.; Stafilov, T.; Vojnoski, B.; Bíró, I.; Bufa, A.; Kilár, F. Validation of a Method for Analysis of Aroma Compounds in Red Wine using Liquid–Liquid Extraction and GC–MS. *Food Anal. Methods* **2012**, *5*, 1427–1434.
29. Mayr, C.M.; Capone, D.L.; Pardon, K.H.; Black, C.A.; Pomeroy, D.; Francis, I.L. Quantitative Analysis by GC-MS/MS of 18 Aroma Compounds Related to Oxidative Off-Flavor in Wines. *J. Agric. Food Chem* **2015**, *63*, 3394–3401.
30. Arcari, S.G.; Caliani, V.; Sganzerla, M.; Godoy, H.T. Volatile composition of Merlot red wine and its contribution to the aroma: Optimization and validation of analytical method. *Helena Teixeira Godoy* **2017**, *174*, 752–766.
31. Marquez, A.; Serratosa, M.P.; Merida, J.; Zea, L.; Moyano, L. Optimization and validation of an automated DHS-TD-GC-MS method for the determination of aromatic esters in sweet wines. *Talanta* **2014**, *123*, 32–40.
32. Liu, Z.; Ezernieks, V.; Reddy, P.; Elkins, A.; Krill, C.; Murphy, K.; Rochfort, S.; Spangenberg, G. A Simple GC-MS/MS Method for Determination of Smoke Taint-Related, Volatile Phenols in Grapes. *Metabolites* **2020**, *10*, 294.
33. Alexi, N.; Nanou, E.; Lazo, O.; Guerrero, L.; Grigorakis, K.; Byrne, D.V. Check-All-That-Apply (CATA) with semi-trained assessors: Sensory profiles closer to descriptive analysis or consumer elicited data? *Food Qual. Prefer.* **2018**, *64*, 11–20.
34. Nanou E. ; Mavridou E. ; Milienos F. ; Papadopoulos G. ; Tempère S. ; Kotseridis G. Odor Characterization of White Wines Produced from Indigenous Greek Grape Varieties Using the Frequency of Attribute Citation Method with Trained Assessors, *Foods*, **2020**, *9*, 1396.
35. Koussissi, E.; Paterson, A.; Paraskevopoulos, Y. Factors influencing sensory quality in red wines of the variety Aghiorghitiko (*Vitis vinifera* L.) from Nemea. *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, *226*, 745–753.

36. Kallithraka, S.; Arvanitoyannis, I.; Kefalas, P.; El-Zajouli, A.; Soufleros, E.; Psarra, E. Instrumental and sensory analysis of Greek wines; implementation of principal component analysis (PCA) for classification according to geographical origin. *Food Chem.* **2001**, *73*, 501–514.
37. Basalekou, M.; Kyraleou, M.; Pappas, C.; Tarantilis, P.; Kotseridis, Y.; Kallithraka, S. Proanthocyanidin content as an astringency estimation tool and maturation index in red and white winemaking technology. *Food Chem.* **2019**, *299*, 125135.
38. Koussissi, E.; Dourtoglou, V.G.; Ageloussis, G.; Paraskevopoulos, Y.; Dourtoglou, T.; Paterson, A.; Chatzilazarou, A.. Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace analysis. *Food Chemistry* **2009**, *114*(4), 1503-1509.
39. Kallithraka, S.; Kotseridis, Y.; Kyraleou, M.; Proxenia, N.; Tsakiris, A.; Karapetrou, G.; Stamatina, K.; Yorgos, K.; Maria, K.; Niki, P.; et al. Analytical phenolic composition and sensory assessment of selected rare Greek cultivars after extended bottle ageing. *J. Sci. Food Agric.* **2015**, *95*, 1638–1647.
40. Koussissi, E.; Paterson, A.; Piggott, J.R. Sensory flavour discrimination of Greek dry red wines. *J. Sci. Food Agric.* **2003**, *83*, 797–808.
41. Nisiotou, A.; Mallouchos, A.; Tassou, C.; Banilas, G. Indigenous Yeast Interactions in Dual-Starter Fermentations May Improve the Varietal Expression of Moschofilero Wine. *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 1712.
42. Kechagia, D.; Paraskevopoulos, Y.; Symeou, E.; Galiotou-Panayotou, M.; Kotseridis, Y. Influence of Prefermentative Treatments to the Major Volatile Compounds of Assyrtiko Wines. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 4555–4563.
43. Siebert, T. ; Barker, A. ; Pearson, W. ; Barter, S. ; Lopes, M. ; Darriet, P. ; Herderich, M. ; Francis L. Volatile Compounds Related to 'Stone Fruit' Aroma Attributes in Viognier and Chardonnay Wines. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 2838–2850.
44. Gomis-Bellmunt, A.; Claret, A.; Puig-Pujol, A.; Pérez-Elortondo, F.J.; Guerrero, L. Development of a Descriptive Profile and References for the

Assessment of Taste and Mouthfeel Descriptors of Protected Designation of Origin Wines. *Foods* **2022**, *11*, 2970.

45. Brand, J.; Valentin, D.; Kidd, M.; Vivier, M.A.; Næs, T.; Nieuwoudt, H.H. Comparison of pivot profile© to frequency of attribute citation: Analysis of complex products with trained assessors. *Food Qual. Prefer.* **2020**, *84*, 103921.
46. Campo, E.; Do, B.V.; Ferreira, V.; Valentin, D. Aroma properties of young Spanish monovarietal white wines: A study using sorting task, list of terms and frequency of citation. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2008**, *14*, 104–115.
47. Jaeger, S.R.; Chheang, S.L.; Yin, J.; Bava, C.M.; Giménez, A.; Vidal, L.; Ares, G. Check-all-that-apply (CATA) responses elicited by consumers: Within-assessor reproducibility and stability of sensory product characterizations. *Food Qual. Prefer.* **2013**, *30*, 56–67.
48. Campo, E.; Ballester, J.; Langlois, J.; Dacremont, C.; Valentin, D. Comparison of conventional descriptive analysis and a citation frequency-based descriptive method for odor profiling: An application to Burgundy Pinot noir wines. *Food Qual. Prefer.* **2010**, *21*, 44–55.
49. Pearson, W. ; Schmidtke, L. ; Leigh. Francis, I. ; Blackman, J.W.. An investigation of the Pivot© Profile sensory analysis method using wine experts: comparison with descriptive analysis and results from two expert panels, *Food Quality and Preference*, **2020**, *83*, 103858
50. Lawless H. ; Descriptive analysis of complex odors: reality, model or illusion? *Food Quality and Preference*, **1999**, *10*, 325-332.
51. *ELOT EN ISO 8586:2012*; Sensory Analysis—General Guidance for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2012**.
52. *ISO 13301:2002*; Sensory Analysis—Methodology – General guidance for measuring odour, flavour and detection thresholds by a three-alternative forced choice (3-AFC) procedure. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2002**.

53. *ISO 3972:2011; Sensory Analysis—Methodology – Method of investigating sensitivity of taste.* International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2011**.
54. *ELOT EN ISO 5496:2006; Sensory Analysis—Methodology—Initiation and Training of Assessors in the Detection and Recognition of Odours.* International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2006**.
55. *ELOT EN ISO 13299:2012; Sensory Analysis—Methodology – General guidance for establishing a sensory profile.* International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2012**.
56. *ISO 11132:2012; Sensory Analysis—Methodology – Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel.* International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2012**.
57. International Organisation of Vine and Wine. Review document on sensory analysis, April **2015**.
58. *COI/T.28/Doc. No 15/Rev. 10; Method for the organoleptic assessment of virgin olive oil.* International Olive Council: Madrid, Spain, **2018**.
59. *COI/T.28/Doc. No 1/Rev. 8; Guidelines for the accomplishment of requirements of standard iso 17025 of sensory testing laboratories with particular reference to virgin olive oil.* International Olive Council: Madrid, Spain, November **2023**.
60. *COI/T.28/Doc. No 14/Rev. 8; Guide for the selection, training and quality control of virgin olive oil tasters – qualifications of tasters, panel leaders and trainers.* International Olive Council: Madrid, Spain, November **2023**.
61. *COI/T.28/Doc. No 17/Rev. 1; Internal quality control guidelines for sensory laboratories.* International Olive Council: Madrid, Spain, June **2023**.
62. *COI/T.28/Doc. No 4/Rev. 1; Sensory analysis: general basic.* International Olive Council: Madrid, Spain, September **2007**.

63. COI/T.28/Doc. No 22; Method for the organoleptic assessment of extra virgin olive oil applying to use a designation of origin. International Olive Council: Madrid, Spain, November **2005**.
64. ISO 22935-1:2023; Milk and milk products – Sensory Analysis – Part 1: General Guidance for the recruitment, selection, training and monitoring of assessors. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2023**.
65. ISO 22935-2:2023; Milk and milk products – Sensory Analysis – Part 2: Methods for sensory evaluation. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2023**.
66. ISO 22935-3:2023; Milk and milk products – Sensory Analysis – Part 3: Methods for evaluation of compliance with product specifications for sensory properties by scoring. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2023**.
67. Garde-Cerdán, T.; Lorenzo, C.; Carot, J.M.; Esteve, M.D.; Climent, M.D.; Salinas, M.R.. Effects of composition, storage time, geographic origin and oak type on the accumulation of some volatile oak compounds and ethylphenols in wines. *Food Chemistry* **2010**, *122*, 1076–1082.
68. Garde-Cerdán, T; Ancín-Azpilicueta, C.; Effect of oak barrel type on the volatile composition of wine: Storage time optimization. *LWT* **2006**, *39*, 199–205.
69. Pérez-Prieto, L.J.; López-Roca, J.M.; A. Martínez-Cutillas, A.; Pardo Mínguez, F.; Gómez-Plaza, E.. Maturing Wines in Oak Barrels. Effects of Origin, Volume, and Age of the Barrel on the Wine Volatile Composition. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3272-3276.
70. Fernández De Simón, B.; Cadahía, E.; Jalocha, J.. Volatile Compounds in a Spanish Red Wine Aged in Barrels Made of Spanish, French, and American Oak Wood. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7671-7678.
71. Pérez-Prieto, L.J.; López-Roca, J.M.; Martínez-Cutillas, A.N.; Pardo-Mínguez, F.; Gómez-Plaza, E.; Extraction and Formation Dynamic of Oak-Related Volatile Compounds from Different Volume Barrels to Wine and Their Behavior during Bottle Storage. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 5444-5449.

72. Garde-Cerdán, T.; Ancín-Azpilicueta, C.; Review of quality factors on wine ageing in oak barrels. *Trends in Food Science & Technology* **2006**, *17*, 438–447.
73. Spillman, P.J.; Iland, P.G.; Sefton, M.A.. Accumulation of volatile oak compounds in a model wine stored in American and Limousin oak barrels. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **1998**, *4*, 67-73.
74. Garde-Cerdán, T.; Torrea Goñi, D.; Ancín Azpilicueta, C.. Changes in the concentration of volatile oak compounds and esters in red wine stored for 18 months in re-used French oak barrels. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2002**, *8*, 140–145.
75. Spillman, P.J.; Pollnitz, A.P.; Liacopoulos, D.; Skouroumounis, G.K.; Sefton, M.A.. Accumulation of Vanillin during Barrel-Aging of White, Red, and Model Wines. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 2584-2589.
76. Ferreira, V.; Jarauta, I.; Cacho, J.. Physicochemical Model To Interpret the Kinetics of Aroma Extraction during Wine Aging in Wood. Model Limitations Suggest the Necessary Existence of Biochemical Processes. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 3047-3054.
77. International Organisation of Vine and Wine. International Code of Oenological Practices. Available online: <https://www.oiv.int/public/medias/8630/code-2022-en.pdf> (accessed on 31 January 2024).
78. European Union. Council Regulation (EC) No 2165/2005. Available online: Regulation - 2165/2005 - EN - EUR-Lex (europa.eu) (accessed on 20 December 2005).
79. European Union. Commission Delegated Regulation (EU) 2019/934. Available online: Delegated regulation - 2019/934 - EN - EUR-Lex (europa.eu) (accessed on 12 March 2019).
80. Laqui-Estaña, J.; López-Solís, R.; Peña-Neira, A.; Medel-Marabolí, M.; Obreque-Slier, E.. Wines in contact with oak wood: the impact of the variety (Carménère and Cabernet Sauvignon), format (barrels, chips and staves) and aging time on the phenolic composition. *J Sci Food Agric.* **2019**, *99(1)*, 436-448.

81. Stegăruș, D.I.; Călugăr, A.; Tanase, C.; Muscă, A.; Botoran, O.R.; Manolache, M.; Babeș, A.C.; Bunea, C.; Gál, E.; Bunea, A.; et al. Influence of Oak Chips and Oak Barrel Ageing on Volatile Profile in Chardonnay Wine of Romania. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 3691.
82. Bautista-Ortín, A.B.; Lencina, A.G.; Cano-López, M.; Pardo-Mínguez, F.; López-Roca, J.M.; Gómez-Plaza, E.. The use of oak chips during the ageing of a red wine in stainless steel tanks or used barrels: effect of the contact time and size of the oak chips on aroma compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2008**, *14*, 63–70.
83. Călugăr, A.; Coldea, T.E.; Pop, C.R.; Pop, T.I.; Babeș, A.C.; Bunea, C.I.; Manolache, M.; Gal, E. Evaluation of Volatile Compounds during Ageing with Oak Chips and Oak Barrel of Muscat Ottonel Wine. *Processes* **2020**, *8*, 1000.
84. Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; del Álamo, M.; Nevares, I.. Effect of size, seasoning and toasting in the volatile compounds in toasted oak wood and in a red wine treated with them. *Analytica Chimica Acta* **2010**, *660*, 211–220.
85. Delgado de la Torre, P.; Priego-Capote, F.; Luque de Castro, D.. Comparative profiling analysis of woody flavouring from vine-shoots and oak chips. *J Sci Food Agric* **2014**; *94*, 504–514.
86. Fanzone, M.; Catania, A.; Assof, M.; Jofré, V.; Prieto, J.; Gil Quiroga, D.; Lacognata Sottano, J.; Sari, S. Application of Vine-Shoot Chips during Winemaking and Aging of Malbec and Bonarda Wines. *Beverages* **2021**, *7*, 51.
87. Cejudo-Bastante, M.J.; Herмосín-Gutiérrez, I.; Pérez-Coello, M.S.. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part II: Merlot wines. *Food Chemistry* **2011**, *124*, 738–748.
88. Tao, Y.; García, J.F.; Sun, D.W.. Advances in Wine Ageing Technologies for Enhancing Wine Quality and Accelerating Wine Ageing Process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2013**, *54*(6), 817–835.
89. Martínez-Gil, A.M.; del Alamo-Sanza, M.; Gutiérrez-Gamboa, G.; Moreno-Simunovic, Y.; Nevares, I.. Volatile composition and sensory characteristics of Carménère wines macerating with Colombian (*Quercus*

- humboldtii*) oak chips compared to wines macerated with American (*Q. alba*) and European (*Q. petraea*) oak chips. *Food Chemistry* **2018**, 266, 90-100.
90. Tavares, M.; Jordão, A. M.; Ricardo-da-Silva, J. M.. Impact of cherry, acacia and oak chips on red wine phenolic parameters and sensory profile. *OENO One* **2017**, 51(3), 329.
 91. Baiano, A.; De Gianni, A.. Timing of the treatment with oak chips: the case of Nero di Troia wine. *Eur Food Res Technol* **2016**, 242, 1343–1353.
 92. Rubio-Bretón, P.; Garde-Cerdán, T.; Martínez, J. Use of Oak Fragments during the Aging of Red Wines. Effect on the Phenolic, Aromatic, and Sensory Composition of Wines as a Function of the Contact Time with the Wood. *Beverages* **2018**, 4, 102.
 93. Gordillo, B.; Baca-Bocanegra, B.; Rodriguez-Pulido, F.J.; González-Miret, M.L.; Estévez, I.G.; Quijada-Morín, N.; Heredia, F.J.; Escribano-Bailón, M.T.. Optimisation of an oak chips-grape mix maceration process. Influence of chip dose and maceration time, *Food Chemistry* **2016**, 206, 249-259.
 94. Hernández-Carapia, M.Á.; Verde-Calvo, J.R.; Escalona-Buendía, H.B.; Peña-Álvarez, A. Effect of Maturation with American Oak Chips on the Volatile and Sensory Profile of a Cabernet Sauvignon Rosé Wine and Its Comparison with Commercial Wines. *Beverages* **2023**, 9, 72.
 95. Baiano, A.; De Gianni, A., Mentana, A. *et al.* Effects of the treatment with oak chips on color-related phenolics, volatile composition, and sensory profile of red wines: the case of Aglianico and Montepulciano. *Eur Food Res Technol* **2016**, 242, 745–767.
 96. European Accreditation. *Accreditation for Sensory Testing Laboratories*. EA-4/09; European Accreditation: Paris, France, **2003**.
 97. Antia, G.; Pereira, M.; Fraga, P.; Garcia-Oliveira, M.; Carpena, C.; Jimenez-Lopez, C.; Lourenço-Lopes, L.; Barros, L.; Isabel, C.F.R.; Ferreira, M.A.; *et al.* Management of Wine Aroma Compounds: Principal Basis and Future Perspectives. In *Chemistry and Biochemistry of Winemaking, Wine Stabilization and Aging*; IntechOpen: London, UK, **2020**.

98. Ferreira, V.; Lopez, R.; Cacho, J.F. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, *80*, 1659–1667.
99. López, R.; Ortín, N.; Pérez-Trujillo, J.P.; Cacho, J.; Ferreira, V. Impact odorants of different young white wines from the Canary Islands. *J. Sci. Food Agric.* **2003**, *51*, 3419–3425.
100. Campo, E.; Ferreira, V.; Escudero, A.; Marqués, J.C.; Cacho, J. Quantitative gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of four Madeira wines. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 180–187.
101. Noguerol-Pato, R.; González-Barreiro, C.; Cancho-Grande, B.; Simal-Gándara, J. Quantitative determination and characterization of the main odourants of Mencía monovarietal red wines. *Food Chem.* **2009**, *117*, 473–484.
102. Vázquez-Pateiro, I.; Arias-González, U.; Mirás-Avalos, J.M.; Falqué, E. Evolution of the Aroma of Treixadura Wines during Bottle Aging. *Foods* **2020**, *9*, 1419.
103. De-La-Fuente-Blanco, A.; Sáenz-Navajas, M.P.; Valentin, D.; Ferreira, V. Fourteen ethyl esters of wine can be replaced by simpler ester vectors without compromising quality but at the expense of increasing aroma concentration. *Food Chem.* **2020**, *307*, 125553.
104. Renault, P.; Coulon, J.; de Revel, G.; Barbe, J.C.; Bely, M. Increase of fruity aroma during mixed *T. delbrueckii* /*S. cerevisiae* wine fermentation is linked to specific esters enhancement. *Int. J. Food Microbiol.* **2015**, *207*, 40–48.
105. Rocha, S.M.; Rodrigues, F.; Coutinho, P.; Delgadillo, I.; Coimbra, M.A. Volatile composition of Baga red wine: Assessment of the identification of the would-be impact odourants. *Anal. Chim. Acta* **2004**, *513*, 257–262.
106. *ISO 3591:1977; Sensory Analysis – Apparatus – Wine tasting glass.* International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **1977**

107. *ISO 4120:2021; Sensory Analysis – Methodology – Triangle test.* International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2021**.
108. *ELOT EN ISO 8589:2012; Sensory Analysis— General guidance for the design of test rooms.* International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, **2012**.
109. *COI/T.28/Doc. No 6/Rev. 1; Guide for the installation of a test room.* International Olive Council: Madrid, Spain, September **2007**.
110. International Organisation of Vine and Wine. Compendium Of International Methods of Wine And Must Analysis. Available online: Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis | OIV (accessed on 31 January 2024).
111. Hellenic Accreditation System (ESYD). Scope of Accreditation of the Testing Laboratory CADMION. Available online: CADMION I. Λίγκας & ΣΙΑ ΟΕ – Ε.ΣΥ.Δ. (esyd.gr) (accessed on 18 December 2023).
112. *COI/T.28/Doc. No 5/Rev. 2; Glass for oil tasting.* International Olive Council: Madrid, Spain, September **2020**.
113. Laing D.G. ; Glemarec A. Selective attention and the perceptual analysis of odor mixtures. *Physiology and Behavior*, **1992**, Vol. 52, 1047-1053.
114. International Olive Council. The organoleptic assessment of virgin olive oil. Available online: THE ORGANOLEPTIC ASSESSMENT OF VIRGIN OLIVE OIL - International Olive Council (internationaloliveoil.org)
115. Chatonnet P., Dubourdieu D., Boidron J.N., Pons M. . The Origin of Ethylphenols in Wines. *J. Sci Food Agric*, **1992**, 60, 2, 165-178.
116. Agnolucci M., Tirelli A., Cocolin L., Toffanin A. . *Brettanomyces bruxellensis* yeasts: impact on wine and winemaking. *World J Microbiol Biotechnol*, **2017**, 33:180.
117. Rodrigues Pinto, P.C.; Borges da Silva, E.A.; Rodrigues, A.E.. Lignin as Source of Fine Chemicals: Vanillin and Syringaldehyde. In *Biomass Conversion*; Baskar, C., Baskar, S., Dhillon, R., Eds.; Springer: Berlin, Heidelberg, Germany, **2012**; pp 381–420.

118. Ligas, I. ; Goulioti E. ; Tarantilis P. ; Kotseridis Y. . A new simple method for the determination of complex wine aroma compounds using GC-MS/MS—the case of the Greek variety “Agiorgitiko”. *AppliedChem*, **2024**, *4*, 122–139.
119. Ligas, I.; Kotseridis, Y. Introducing a Standardized Sensory Analysis Method for Wine: A Methodology for the Recruitment, Selection, Training, and Monitoring of Assessors—Implementation on the Greek Variety “Agiorgitiko”. *Beverages* **2024**, *10*, 63.
120. Ligas, I.; Kotseridis, Y. Impact of French Oak Chip Maturation on the Volatile Composition and Sensory Profile of Agiorgitiko Wine. *Beverages* **2024**, *10*, 121.



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

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

ΑΘΗΝΑ
2024

