



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
UNIVERSITY OF WEST ATTICA

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ
ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ»

ΠΕΥΚΑΡΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ
ΜΥΡΙΑΝΘΟΥΣ ΧΡΙΣΤΙΝΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΝΤΟΥΡΤΟΓΛΟΥ ΕΥΘΑΛΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2021



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ
ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ»

“STUDY ON THE AROMATIC COMPOUNDS OF MALAGOUSIA WINES”

ΠΕΥΚΑΡΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ
ΜΥΡΙΑΝΘΟΥΣ ΧΡΙΣΤΙΝΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΝΤΟΥΡΤΟΓΛΟΥ ΕΥΘΑΛΙΑ

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ:
Δρ. ΝΤΟΥΡΤΟΓΛΟΥ ΕΥΘΑΛΙΑ
Δρ. ΧΑΤΖΗΛΑΖΑΡΟΥ ΑΡΧΟΝΤΟΥΛΑ
Δρ. ΔΡΟΣΟΥ ΦΩΤΕΙΝΗ

ΑΘΗΝΑ 2021

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή

Η πτυχιακή/διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

	Ντουρτόγλου Ευθαλία
	Χατζηλαζάρου Αρχοντούλα
	Δρόσου Φωτεινή

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι υπογράφουσες Πεύκαρου Κωνσταντίνα του Πανίκου με αριθμό μητρώου 171122 και Μυριάνθους Χριστίνα του Άνθου με αριθμό μητρώου 17203, φοιτήτριες του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνουμε η κάθε μία υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή Συγγραφέων της Πτυχιακής Εργασίας

Πεύκαρου Κωνσταντίνα



Χριστίνα Μυριάνθους



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστούμε θερμά το Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών για την δυνατότητα χρήσης του ερευνητικού εργαστηρίου Βιομοριακής Ανάλυσης και Χημείας Οίνου, για την διεξαγωγή των πειραμάτων αυτής της πτυχιακής.

Επίσης επιθυμούμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας στην επιβλέπουσα καθηγήτρια Δρ. Ντουρτόγλου Ευθαλία για την ουσιαστική επιστημονική βοήθεια και καθοδήγηση που μας παρείχε. Οι υποδείξεις και συμβουλές της ήταν σημαντικές για την εκπόνηση και συγγραφή της πτυχιακής μας εργασίας.

Ακόμα, ευχαριστούμε θερμά την υποψήφια διδάκτορα κα Τσάπου Ελιάννα για το ενδιαφέρον, τη βοήθεια της στο εργαστήριο, την εύρεση των κατάλληλων δειγμάτων και οργάνων, τις πολύτιμες πληροφορίες καθώς και την καθοδήγηση της σε όλη τη διάρκεια της διεξαγωγής της πτυχιακής εργασίας μας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Μαλαγουζιά είναι μια αρχαία γηγενής ελληνική ποικιλία, που εκτιμάται ιδιαίτερα για τον χαρακτηριστικό φρουτώδη χαρακτήρα της. Είχε ουσιαστικά εξαφανιστεί μέχρι τα τέλη του 20ου αιώνα, όταν αναβίωσε η καλλιέργεια της για την παραγωγή κρασιών υψηλής ποιότητας. Είναι μία από τις πλέον δημοφιλείς λευκές ποικιλίες στην Ελλάδα που έφτασε κοντά στην εξαφάνιση και τώρα βρίσκεται στην κορυφή του Ελληνικού αμπελώνα.

Ο στόχος της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων που συμμετέχουν στο άρωμα των οίνων ποικιλίας Μαλαγουζιά. Οι ενώσεις αυτές απομονώθηκαν και προσδιορίστηκαν ποσοτικά. Σε πέντε δείγματα οίνων της ποικιλίας αυτής, οι ενώσεις απομονώθηκαν με Εκχύλιση Υγρής Φάσης (Liquid-Liquid Extraction), έγινε συμπύκνωση σε στήλη Vigreux μέχρι σταθερού βάρους και στη συνέχεια ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των δειγμάτων με Αέρια Χρωματογραφία – Φασματομετρία Μάζας (GC-MS). Σε όλα αυτά τα δείγματα που αναλύθηκαν, ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν πτητικές, αρωματικές ενώσεις με χαρακτήρα φρούτων και ανθέων, όπως εστέρες, ανώτερες αλκοόλες, καρβονυλικές ενώσεις κ. ά που δικαιολογούν τον αρωματικό χαρακτήρα αυτής της ποικιλίας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά σε πίνακα, όπως και τα συμπεράσματα που προκύπτουν από την συγκριτική μελέτη των δειγμάτων

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Μαλαγουζιά, Αρωματικό προφίλ, Πτητικές Ενώσεις, Υγρή Εκχύλιση (LLE), Αέρια Χρωματογραφία – Φασματοφωτομετρία Μάζας (GC-MS)

ABSTRACT

Malagousia is an ancient native Greek variety, highly appreciated for its distinctive fruity character. In fact, until the late 20th century, when its cultivation for varietal wine making revived, it had almost faded away. Nowadays, Malagousia is one of the most popular varieties in Greece, showing great potential for producing high quality wines.

The aim of the study was to identify the volatile organic compounds involved in the aroma of Malagousia wines. These compounds were isolated and quantified. Samples from 5 different wines of Malagousia variety were used for the study. At first, extraction of the compounds by means of Liquid Phase Extraction (LLE) was carried out followed by condensation up to constant weight in a vigreux column. Subsequently, qualitative and quantitative sample analysis was carried out by means of Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry (GC-MS). In all tested samples, volatile compounds were detected and quantified. The presence of compounds with fruity and floral aroma character, such as esters, higher alcohols, carbonyl compounds, can justify the aroma character of Malagousia variety.

The results as well as a conclusion based on the comparison of values are illustrated in the last section of the thesis.

KEYWORDS: Malagousia, Aromatic profile, Volatile compounds, Liquid Extraction (LLE), Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC- MS)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
ΕΙΚΟΝΕΣ	8
ΠΙΝΑΚΕΣ.....	8
1. ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ.....	9
1.1 ΑΡΩΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ.....	10
2. ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΟΙΝΩΝ.....	11
2.1 ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΑΡΩΜΑΤΑ.....	11
2.2 ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΑΡΩΜΑΤΑ.....	12
2.3 ΤΡΙΤΟΓΕΝΗ ΑΡΩΜΑΤΑ.....	12
3. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΟΥΣ ΟΙΝΟΥΣ	13
3.1 ΑΛΚΟΟΛΕΣ	13
3.2 ΕΣΤΕΡΕΣ	15
3.3 ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	18
3.4 ΤΕΡΠΕΝΙΑ.....	20
3.5 ΛΑΚΤΟΝΕΣ	21
3.6 ΜΕΘΟΞΥΠΥΡΑΖΙΝΕΣ	22
3.7 ΠΤΗΤΙΚΑ ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ	23
3.8 C-13 ΝΟΡΙΣΟΠΡΕΝΟΕΙΔΗ ΠΑΡΑΓΩΓΑ	24
3.9 ΘΕΙΟΥΧΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	26
3.10 ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΘΕΙΟΛΕΣ	28
4 ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΟΙΝΟΥ	29
4.1 ΥΓΡΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ (LLE).....	29
5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	30
5.1 ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ (GC).....	30
5.2 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ (MS)	31
5.3 ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ – ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ (GC-MS).....	32
6 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	34
6.1 ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΟΙΝΩΝ.....	34
6.2 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	35
6.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ GC – MS.....	36
7 ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	37
8 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	41
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 : ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ	43
9 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	46

ΕΙΚΟΝΕΣ:

Εικόνα 1: Σταφύλι Ποικιλίας Μαλαγουζιά	9
Εικόνα 2: Σημαντικότερες τερπενικές αλκοόλες του οίνου	21
Εικόνα 3: Σημαντικότερα C-13 νορισοπρενοειδή	25
Εικόνα 4: Στάδια εκτέλεσης LLE	30
Εικόνα 5: Διάταξη αέριου χρωματογράφου	34
Εικόνα 7: Δείγματα οίνων (4), (5)	35

ΠΙΝΑΚΕΣ:

Πίνακας 1: Ανώτερες μονοσθενείς αλκοόλες	15
Πίνακας 2: Αρώματα των εστέρων που εμφανίζονται στους οίνους.....	18
Πίνακας 3: Καρβονυλικές ενώσεις κρασιού.....	19
Πίνακας 4: Κυριότερες λακτόνες οίνου.....	22
Πίνακας 5: Κυριότερες μεθοξυπυραζίνες του οίνου.....	23
Πίνακας 6: Πτητικά λιπαρά οξέα.....	24
Πίνακας 7: Κυριότερες θειούχες ενώσεις του οίνου.....	27
Πίνακας 8: Ποικιλιακές θειόλες, η οσμή και το όριο αντίληψής στον οίνο	29

1. ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ



Εικόνα 1: Σταφύλι Ποικιλίας Μαλαγουζιά (12)

Η Μαλαγουζιά, είναι μια λευκή ποικιλία με ενδιαφέρουσα ιστορία (Καρακλής Α. 2014). Η πρώτη αναφορά για την ποικιλία «Μαλαγουζιά», γίνεται στο βιβλίο «Οινολογικά» (1888) από τον Όθωνα Ρουσόπουλο. Αναφέρεται πως η ποικιλία καλλιεργείτο σποραδικά στις περιοχές Ναύπακτου και Μεσολογγίου του νομού Αιτωλοακαρνανίας (Κουράκου Σ. 2016). Μετά από χρόνια η ποικιλία θεωρήθηκε εξαφανισμένη καθώς είχε μια εξαιρετική

δυσκολία στην καλλιέργεια της. Η εμφάνιση διάφορων νέων ασθενειών κατά τις πρώτες δεκαετίες του 20^{ου} αιώνα συντέλεσαν στη σταδιακή εγκατάλειψή της. Μετά από ερευνητικές εργασίες που πραγματοποιήθηκαν, θεωρήθηκε σταφύλι παγκόσμιας εμβέλειας. Κατά το 2000 ο Βαγγέλης Γεροβασιλείου αναδεικνύει και επίσημα πλέον την Μαλαγουζιά, η οποία καλλιεργείται σε Πελοπόννησο, Στερεά Ελλάδα, Ήπειρο και Θεσσαλία, με αποτέλεσμα να δίνει εκπληκτικά και μαλακά ξηρά ή γλυκά λευκά κρασιά (Καρακλής Α. 2014)

Είναι μια πρώιμη ποικιλία, ζωηρή και παραγωγική. Η βλάστησή της ξεκινά στα μέσα του Μάρτη και μέχρι τα τέλη Αυγούστου ωριμάζει και τρυγείται. Η σταφυλή της είναι αρκετά μεγάλη, κυλινδροκωνική και πυκνόραχη. Η ράγα είναι μέτριου μεγέθους, σφαιρική ή δισκοειδής, με λεπτή ανθηρότητα και με πρασινοκίτρινο-χρυσοκίτρινο χρώμα. Η σάρκα της είναι μαλακή, χυμώδης και ελαφρώς αρωματική. Ευδοκίμει σε εδάφη επικλινή, ξηρά και καλά στραγγιζόμενα, αεριζόμενα και φτωχά σε θρεπτικά στοιχεία. Αντίθετα, σε εδάφη αμμώδη, αμμοαβεστώδη, αμμοαργιλοπηλώδη, σχιστολιθικά, χάνει τα αρώματά της. Είναι ανθεκτική στη ξηρασία αλλά πολύ ευαίσθητη στο ωίδιο, τον περονόσπορο και την φαίη σήψη (Βοτρυτή). Γενικά, είναι μια ποικιλία δύσκολη στην αμπελοκαλλιέργεια της και αρκετά απαιτητική. Είναι ποικιλία με χαμηλή οξύτητα. Για το λόγο αυτό πρέπει να υπάρχει μικρό φορτίο ανά πρέμνο και σκίαση σταφυλιών από το φύλλωμα, για να έχουμε υψηλότερη οξύτητα. Σε περίπτωση εγκαύματος, χάνονται τα φίνα αρώματα της και υπερτερούν τα τερπενικά. Γενικά, η Μαλαγουζιά είναι μια ποικιλία με διαφορές στους αμπελογραφικούς χαρακτήρες αλλά και στον αρωματικό πλούτο. Όσο πιο μικρές είναι οι ράγες και παχύτερος ο φλοιός, τόσο πιο αρωματικός είναι ο οίνος (Μελέτη από Κτήμα Γεροβασιλείου) (Κουράκου Σ. 2016).

1.1 ΑΡΩΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ

Τα χαρακτηριστικά ποικιλιακά αρώματα της Μαλαγουζιάς (Κουράκου Σ. 2016) είναι:

- Αρώματα βοτανικά (χαμομήλι)
- Αρώματα εσπεριδοειδών (κυρίως κίτρο, άνθη πορτοκαλιάς, περγαμόντο)
- Αρώματα φρούτων (ροδάκινο, βερίκοκο)
- Αρώματα από νότες μπαχαρικών (άσπρο πιπέρι, πράσινη πιπεριά)

Το αρωματικό προφίλ του κρασιού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον χρόνο συγκομιδής. Όταν τα σταφύλια συλλέγονται με αλκοολικό τίτλο κάτω από 11,5%, το άρωμα του οίνου δείχνει ελάχιστη αρωματική πολυπλοκότητα. Αντιθέτως, εάν ο οίνος έχει αλκοολικό τίτλο μεταξύ 12,5 – 13,5% , η αρωματική πολυπλοκότητα βρίσκεται στο μέγιστο (Καρακλίσ Α. 2014).

Κατά την διάρκεια της παραγωγής, η μέθοδος οινοποίησης της είναι η κλασσική μέθοδος λευκής οινοποίησης. Αρχικά, γίνεται αποβοστρύχωση και έκθλιψη με αποβοστρυχωτήρα- θλιπτήρα (απομάκρυνση βοστρύχων από ράγες), ακολουθεί η εκπίεση της σταφυλομάζας με πιεστήριο (διαχωρισμός σταφυλοπολτού από τα στερεά, φλοιούς, γίγαρτα) και τέλος η ζύμωση στο γλεύκος σε δεξαμενή ή βαρέλι. αυτός ο τρόπος οινοποίησης προκαλεί απώλεια των αρωματικών συστατικών που βρίσκονται στους φλοιούς των σταφυλιών. . Όμως έχει αναπτυχθεί μια νέα τεχνική, η τεχνική της κρουοεκχύλισης (skin contact). Η μέθοδος αυτή συνιστάται στο να μείνει ο χυμός των ραγών σε επαφή με τα στέμφυλα για μερικές ώρες και σε χαμηλή θερμοκρασία. Αυτό, έχει ως αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό του κρασιού με τα αρωματικά συστατικά του φλοιού, χωρίς να υπάρξει οξείδωση με την εκχύλιση των ταννινών (Κουράκου Σ. 2016). Επίσης ο οινολόγος μπορεί να διαθέσει μία χρονική περίοδο τριών μηνών, όπου το κρασί θα συνυπάρξει με τις οινολάσπες του σε δεξαμενή για να αποκτήσει δομή και σώμα. Ιδιαίτερα η παλαίωση σε ξύλινα βαρέλια και η ωρίμανση σε δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα, βελτιώνουν και προκαλούν ένα εντυπωσιακό άρωμα σε αυτή τη ποικιλία. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, η ξηρή Μαλαγουζιά μπορεί να μείνει στη φιάλη για 4 ή και περισσότερα χρόνια. Αντίθετα, η γλυκιά Μαλαγουζιά χρειάζεται 4-7 χρόνια για να αναπτύξει το αρωματικό μπουκέτο της (Καρακλίσ Α. 2014).

Ανάλυση των οίνων της Μαλαγουζιάς (Καρακλίσ Α. 2014), έδειξε οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που θύμιζαν το άρωμα του φραγκοστάφυλου, το οποίο θα μπορούσε να προκληθεί από συγκεντρώσεις της 4-μερκαπτο-4-μεθυλπεντα-2-όνης. Ακόμη, ο έντονος λουλουδάτος χαρακτήρας της ποικιλίας οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητα σε μονοτερπένια, όπως λιναλοόλη, α-τερπινεόλη, χοτριενόλη, γερανιόλη και από τα C13 νορισοπρενοειδή, συγκεκριμένα από την β-δαμασκενόνη (Καρακλίσ Α. 2014). Επιπλέον, μέσα από διάφορες μελέτες εξακριβώθηκε η περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις, όπως η τυροσόλη, το καφταρικό και το

καφεϊκό οξύ. Επίσης εξακριβώθηκε η παρουσία κατεχίνης, επικατεχίνης και ρ-κουμαρικού οξέος. Οι ανωτέρω ενώσεις είναι από τις σημαντικότερες που έχουν ανιχνευθεί στα περισσότερα δείγματα οίνων της Μαλαγουζιάς (Karaklis A. 2014).

Εκτός από τις φαινολικές ενώσεις ανιχνεύθηκαν και εστέρες σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις. Αρχικά, ο 3-μεθυλοβουτυλεστέρας του οξικού οξέος με άρωμα μπανάνας και ο 2-φαινυλαιθυλεστέρας του οξικού οξέος. Επίσης, ανιχνεύθηκε και βουτυρικός αιθυλεστέρας με όριο αναγνώρισης αρκετά υψηλό. Ακόμη, σε όλους τους οίνους που μελετήθηκαν, οι συγκεντρώσεις του διαιθυλεστέρα του ηλεκτρικού οξέος και του αιθυλεστέρα του γαλακτικού οξέος ήταν μικρότερες από τα όρια αναγνώρισης τους. Επίσης σε δείγματα Μαλαγουζιάς ανιχνεύονται και ανώτερες αλκοόλες, όπως η 3-μεθυλοβουτανόλη και η 2-φαινυλαιθανόλη σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από τα όρια οσμών τους. Η 2-φαινυλαιθανόλη μαζί με τα τερπένια, συμβάλλουν γενικά στο «λουλουδάτο» χαρακτήρα της Μαλαγουζιάς (Karaklis A. 2014)

2. ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΟΙΝΩΝ

Ουσιαστικά, στον οίνο διακρίνονται 3 κατηγορίες πτητικών αρωματικών ενώσεων: Τα πρωτογενή, τα δευτερογενή και τα τριτογενή αρώματα.

Αναλυτικότερα, το άρωμα του νέου οίνου συντίθεται από το άρωμα του σταφυλιού, ανάλογα με την κάθε ποικιλία και από το άρωμα της ζύμωσης, που είναι το χαρακτηριστικό των ζυμών και των συνθηκών ζύμωσης (Σουφλερός Ε. 2015).

Το άρωμα του «μπουκέτου» κατά την παλαίωση του οίνου, προκύπτει από το μετασχηματισμό των συστατικών του αρώματος των νέων οίνων. Ο μετασχηματισμός αυτός για ορισμένους τύπους οίνων είναι οξειδωτικός, ενώ για τους περισσότερους τύπους λευκών οίνων είναι αναγωγικός (Σουφλερός Ε. 2015). Εκείνες που συνιστούν το «άρωμα» στους νέους οίνους και εκείνες που συνιστούν το «μπουκέτο» στους παλαιωμένους.

2.1 ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΑΡΩΜΑΤΑ

Είναι αυτά που προέρχονται από το σταφύλι, συγκεκριμένα είναι τα αρώματα της κάθε ποικιλίας. Τα σταφύλια είναι μη αρωματικά φρούτα με εξαίρεση μερικές ποικιλίες, όπως είναι το Μοσχάτο που είναι πλούσιο σε τερπενικές αλκοόλες. Παρόλα αυτά, πολλά σταφύλια επιτρέπουν την παραγωγή αρωματικών κρασιών ποιότητας, λόγω της παρουσίας ποικιλιακών πρόδρομων ενώσεων. Οι ενώσεις αυτές είναι άοσμες και κατά τη διάρκεια της οινοποίησης παράγουν αρωματικές ενώσεις, χαρακτηριστικές της ποικιλίας που χρησιμοποιείται. Οι ποικιλιακές αρωματικές ενώσεις υπάρχουν ήδη στα σταφύλια σε δύο μορφές. Ανιχνεύονται είτε σε ελεύθερη μορφή, ως πτητικές ουσίες που είναι απευθείας αντιληπτές από τους οσφρητικούς υποδοχείς, είτε σε δεσμευμένη μορφή, ενωμένες με ομοιοπολικό

δεσμό με ένα μη πτητικό κομμάτι (αμινοξύ, σάκχαρο κλπ). Η διάσπαση αυτού του χημικού δεσμού μπορεί να συμβεί κατά την διάρκεια της οινοποίησης, με αποτέλεσμα την δημιουργία των ποικιλιακών αρωμάτων. Τα περισσότερα υποστρώματα κατά την διάρκεια της ζύμωσης (σάκχαρα, λιπίδια, θειούχες ή αζωτούχες ενώσεις), είναι πρόδρομοι αρωματικών ουσιών. Ωστόσο, δεν θεωρούνται ειδικοί πρόδρομοι, διότι οδηγούν στο σχηματισμό αρωματικών ενώσεων, των οποίων η αρχική δομή δεν είναι ανιχνεύσιμη, μετά από σύνθετες βιοχημικές αντιδράσεις. (Roland et al, 2011).

2.2 ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΑΡΩΜΑΤΑ

Είναι τα αρώματα τα οποία αναπτύσσονται πριν και κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (Σουφλερός Σ. 2016). Τα αρώματα πριν την ζύμωση, είναι οι ουσίες οι οποίες εμφανίζονται μεταξύ της συγκομιδής και της αλκοολικής ζύμωσης. Δημιουργούνται μέσω των ενζυμικών αντιδράσεων, οι οποίες πραγματοποιούνται κατά την σύνθλιψη των σταφυλιών (Roland et al, 2011). Τα αρώματα τα οποία εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, όπως οι αιθυλεστέρες και οι ανώτερες αλκοόλες είναι δευτερεύοντα προϊόντα του μεταβολισμού ζυμομυκήτων ή γαλακτικών βακτηρίων. Οι ενώσεις αυτές είναι υπεύθυνες για τον φρουτώδη χαρακτήρα των κρασιών (Roland et al, 2011).

2.3 ΤΡΙΤΟΓΕΝΗ ΑΡΩΜΑΤΑ

Είναι τα αρώματα τα οποία αναπτύσσονται μετά την ζύμωση, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και της παλαίωσης του κρασιού, στο βαρέλι ή στο μπουκάλι (Σουφλερός Σ. 2016). Σχηματίζονται μέσα από χημικές ή βιοχημικές μετατροπές των πτητικών ενώσεων και είναι υπεύθυνα για την πολυπλοκότητα του μπουκέτου των οίνων (Roland et al, 2011).

Αρώματα που ανιχνεύονται στους οίνους είναι ενδεικτικά:

- Αρώματα λουλουδιών
- Αρώματα φρούτων
- Αρώματα χόρτων
- Αρώματα μπαχαρικών
- Αρώματα γήινα
- Αρώματα χημικά κ.α

Οι ενώσεις που συμβάλλουν στο άρωμα του οίνου είναι:

- Εστέρες
- Ανώτερες αλκοόλες
- Τερπένια

- Λιπαρά οξέα
- Καρβονυλικές ενώσεις
- Λακτόνες
- Ακετάλες
- Πτητικές φαινόλες
- Θειούχες ενώσεις
- Θειόλες
- Πτητικές αζωτούχες ενώσεις

3. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΟΥΣ ΟΙΝΟΥΣ

3.1 ΑΛΚΟΟΛΕΣ

Η σημαντικότερη αλκοόλη στο κρασί είναι η αιθανόλη η οποία παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση των σακχάρων του γλεύκους. Η οσμή της αιθανόλης είναι χαρακτηριστική και αρκετά δριμεία. Έχει διαλυτικές ιδιότητες οι οποίες χρησιμεύουν στη διάλυση των φαινολών από τα στέμφυλα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Με αυτό τον τρόπο συμβάλλει στον αρωματικό χαρακτήρα του κρασιού. (Σουφλερός Ε. 2015).

Η μεθανόλη περιέχεται σε όλους τους οίνους, σε πολύ μικρές ποσότητες 36-350 mg/l και προέρχεται από την υδρόλυση των πηκτινών του σταφυλιού. Δεν είναι προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης, προέρχεται από δύο πηκτίνες, οι οποίες αποτελούνται από γαλακτουρονικό οξύ. Εφόσον οι πηκτίνες προέρχονται από στερεά συστατικά των ραγών του σταφυλιού, έτσι και η ποσότητα της μεθανόλης εξαρτάται από το χρόνο παραμονής των στέμφυλων με το γλεύκος. Συμπερασματικά, οι ερυθροί οίνοι έχουν μεγαλύτερη ποσότητα μεθανόλης από τους ροζέ και ειδικότερα από τους λευκούς οίνους (Ribéreau-Gayon et al, 2006).

Οι δυο πιο σημαντικές αλκοόλες όσον αφορά το άρωμα του κρασιού είναι η 2-φαινυλοαιθανόλη και η τυροσόλη. Η 2-φαινυλοαιθανόλη συντίθεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, εντοπίζεται στους οίνους σε ποσότητες 20-180 mg/l, και αποτελεί για το άρωμα του οίνου σημαντικό συστατικό δίνοντας μια ευχάριστη οσμή τριαντάφυλλου. Αν και περιέχεται σε μικρές ποσότητες στους οίνους η παρουσία της γίνεται αισθητή γιατί σε σχέση με άλλες ανώτερες αλκοόλες είναι η μόνη που γίνεται αντιληπτή σε χαμηλές περιεκτικότητες (50mg/L περίπου). Η σύνθεση της ευνοείται από την παρουσία οξυγόνου, τις χαμηλές θερμοκρασίες ζύμωσης και από την θερμοοινοποίηση (Σουφλερός Ε. 2015). Η τυροσόλη, ένα δευτερεύον προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης, περιέχεται στους οίνους από 50-100 mg/l, έχει άρωμα μελιού και συμμετέχει στη διαμόρφωση του αρώματος του οίνου (Σουφλερός Ε.2015).

Οι ανώτερες αλκοόλες είναι πτητικές αλκοόλες με περισσότερα από δύο άτομα άνθρακα. Οι κυριότερες είναι η 1-προπανόλη, η ισοπροπανόλη, 1-βουτανόλη, η ισοβουτανόλη, 1-εξανόλη, 2-φαινυλαιθανόλη, 3-μεθυλο-1-βουτανόλη (ισοαμυλική αλκοόλη) κ.α. Είναι δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης με εξαίρεση την 1-εξανόλη, η οποία δεν προέρχεται από τη ζύμωση αλλά από το σταφύλι και προσδίδει χορτώδη οσμή σε ορισμένα κρασιά. Περιέχονται στους οίνους από 150-500 mg/l. Η συγκέντρωση σε ανώτερες αλκοόλες εξαρτάται από διάφορους παράγοντες. Αρχικά, από τη σύσταση του γλεύκους, τις συνθήκες αερισμού, το είδος των ζυμών που θα χρησιμοποιηθεί, τις συνθήκες ζύμωσης κτλ. (Σουφλερός Ε. 2015).

Σύμφωνα με κάποιες μελέτες που έγιναν, όσο μεγαλύτερο είναι το pH του γλεύκους και χαμηλότερη η θερμοκρασία ζύμωσης, τόσο και μεγαλύτερη η παραγωγή των ανώτερων αλκοολών. Οι ανώτερες αλκοόλες επιδρούν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων και παίζουν έμμεσο ρόλο στην ανάπτυξη του μπουκέτου των παλαιωμένων οίνων. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις (μικρότερες από 300 mg/l) συμβάλουν στην πολυπλοκότητα του αρώματος του οίνου, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις η οσμή τους καλύπτει την αρωματική φινέτσα του κρασιού. Από τις κυριότερες ανώτερες αλκοόλες που υπάρχουν στο κρασί, η προπανόλη δεν ασκεί μεγάλη επίδραση στο άρωμα του οίνου γιατί έχει ουδέτερη οσμή. Οι αμυλικές αλκοόλες (ζυμέλαια) ενώ φαίνεται να μην έχουν ευνοϊκή επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου η παρουσία τους είναι θετική για την αξιολόγηση των αποσταγμάτων του οίνου. Τέλος, η 1-εξανόλη δίνει στους οίνους χορτώδη οσμή και γεύση, όμως δεν είναι προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης και προέρχεται από το σταφύλι (Σουφλερός Ε. 2015). Οι ακόρεστες αλκοόλες, trans-2-εξενόλη και η cis-3-εξενόλη, δίνουν μια διαφορετική νότα αρώματος στο κρασί. Περιγράφεται σαν οσμή από φρεσκοκομμένο γρασίδι ή πράσινα φύλλα και πράσινα μέρη του φυτού (Ντουρτόγλου Ε. 2020)

Ταυτόχρονα, εντοπίζονται στους οίνους κάποιες κορεσμένες πολυσθενείς αλκοόλες (διόλες, πολυόλες). Συγκεκριμένα είναι η 2,3 βουτανοδιόλη, 1,2,3 προπανοτριόλη (γλυκερίνη) και ακετυλομεθυλοκαρβινόλη ή ακετοΐνη. Αρχικά, η 2,3 βουτανοδιόλη είναι η σημαντικότερη διόλη στο κρασί, έχει ελάχιστη οσμή και ήπια γλυκόπικρη γεύση, έτσι δεν επηρεάζει ιδιαίτερα το αρωματικό προφίλ του κρασιού. Σχηματίζεται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης από το πυροσταφυλικό οξύ το οποίο μετατρέπεται σε ακετοΐνη, η οποία όταν ανάγεται δίνει 2,3 βουτανοδιόλη. Ακόμη η περιεκτικότητα της 2,3 βουτανοδιόλης στον οίνο αποτελεί κριτήριο για την ενδυνάμωσή του και δεν προσβάλλεται από βακτήρια. Η 1,2,3 προπανοτριόλη (γλυκερίνη), εντοπίζεται σε ξηρά κρασιά και έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μετά το νερό και την αλκοόλη. Η γλυκερίνη έχει μια ελαφριά γεύση και μπορεί να συμβάλλει στο ιξώδες, όχι όμως αισθητά και σπάνια σε συγκεντρώσεις >26 g/L. Το όριο ανίχνευσης της στα ξηρά κρασιά είναι >5g/L και αποτελεί θρεπτική ουσία για τα κρασιά sherry, όσον αφορά την ανάπτυξη των ζυμομυκήτων. Οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν το ποσοστό της γλυκερίνης στο σταφύλι είναι η ποικιλία, η ωριμότητα και η υγεία των σταφυλιών. Η ακετοΐνη

σχηματίζεται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης σε συγκέντρωση 2-84 mg/L. Σε επιδόρπιους οίνους αυξάνεται η ποσότητα της ακετοΐνης καθώς διακόπτεται η ζύμωση και προστίθεται αλκοόλη. Η εντύπωση που αφήνει στη μύτη είναι έντονη, δίνει μια κρεμώδη, λιπαρή οσμή και άρωμα βουτύρου (Ντουρτόγλου Ε. 2020).

Σύμφωνα με την έρευνα που έχει γίνει από τους Karaklis et al 2014 σε δείγματα Μαλαγουζιάς που αναλύθηκαν βρέθηκαν οι παρακάτω ενώσεις.

Αρχικά, η ισοαμυλική αλκοόλη και η 2-φαινυλαιθανόλη ανιχνεύθηκαν σε ποσότητες άνω του ορίου οσμής 30 mg/L και 14 mg/L αντίστοιχα, η 1-βουτανόλη και η 1-εξανόλη ανιχνεύθηκαν σε μικρότερες συγκεντρώσεις και πιθανόν δεν συμβάλλουν στο αρωματικό προφίλ του οίνου, η τυροσόλη, η 2-3 βουτανοδιόλη σε αρκετά υψηλή συγκέντρωση έως 0,5 mg/L, η 1-φαινυλομεθανόλη ανιχνεύθηκε κάτω από το όριο οσμής και πιθανότατα δεν συμβάλλει στο αρωματικό προφίλ του οίνου.

Επίσης, μια άλλη μελέτη των Sarala A., Cieslak D. 2019, έδειξε ότι η πιο σημαντική αλειφατική αλκοόλη είναι η ισοαμυλική αλκοόλη καθώς αποτελεί το 40-60% του συνόλου των ανώτερων αλκοολών.

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΟΣΜΗ
Ισοπροπυλική αλκοόλη	Αλκοολική, αιθερική, ακετόνης
Ισοβουτυρική αλκοόλη	Αποπνικτική, ερεθιστική
Ισοαμυλική αλκοόλη	Αποπνικτική, ερεθιστική, φρουτώδης μπανάνας
Βουτανόλη-1	Ήπια ζυμελαίου, χημική
Εξανόλη	Πράσινη, φρουτώδης, ελαφρά λιπαρή, χημική-κρασιού
2-Φαινυλ-αιθυλαλκοόλη	Λουλουδιού, τριαντάφυλλο με νότα μελιού
π-υδροξυφαινυλαιθυλαλκοόλη (Τυροσόλη)	Φρουτώδης, λουλουδιού

Πίνακας 1: Ανώτερες μονοσθενείς αλκοόλες (Ντουρτόγλου Ε. 2020)

3.2 ΕΣΤΕΡΕΣ

Εστέρες είναι οι ενώσεις που προκύπτουν από την αντίδραση μεταξύ αλκοολών και οξέων, αποτελώντας αριθμητικά το μεγαλύτερο μέρος των αρωματικών ενώσεων

που παράγονται από τους σακχαρομύκητες. Οι αιθυλεστέρες των λιπαρών οξέων και οι οξικοί εστέρες των ανώτερων αλκοολών είναι αυτοί που υπάρχουν με τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους οίνους (Μαλούχου Α. 2003).

Οι εστέρες σχηματίζονται είτε κατά τη διάρκεια της παλαίωσης των οίνων (χημική διαδικασία), είτε κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης (ενζυμική διαδικασία). Κατά τη διάρκεια της παλαίωσης ενός κρασιού, δημιουργούνται περισσότεροι εστέρες σε σχέση με ένα νέο κρασί, μέσω μιας αργής χημικής αντίδρασης (2-3 mg/l νέοι οίνοι, 9-10 mg/l παλαιωμένοι οίνοι) (Σουφλερός Ε. 2015)

Περίπου 160 διαφορετικοί εστέρες έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα στο κρασί. Οι περισσότεροι από αυτούς έχουν βρεθεί σε ίχνη και έχουν είτε μικρή πτητικότητα, είτε ήπια οσμή. Ωστόσο, οι πιο κοινός εστέρες, όπως οι αιθυλεστέρες βρίσκονται σε συγκεντρώσεις οι οποίες είναι στο όριο αντίληψης τους ή και πάνω από αυτό. Έχουν κυρίως φρουτώδη οσμή και είναι σημαντικοί στη δημιουργία του αρώματος κυρίως των φρέσκων λευκών οίνων. Κατά την παλαίωση οι συγκεντρώσεις τους μειώνονται λόγω υδρόλυσης, η οποία ευνοείται σε χαμηλό pH. Στους ερυθρούς οίνους έχει μελετηθεί πολύ λιγότερο η σημασία τους (Ντουρτόγλου Ε. 2020).

Οι εστέρες προέρχονται:

1. Από τα σταφύλια σε πολύ μικρό ποσοστό
2. Από την διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης (ουδέτεροι εστέρες)
3. Κατά την ωρίμανση των οίνων (όξινοι εστέρες)

Οι φαινολικοί εστέρες παρουσιάζουν χαμηλό κατώφλι αντίληψης, όμως λόγω της μικρής τους πτητικότητας δεν επηρεάζουν το άρωμα του οίνου. Αντίθετα, οι αλειφατικοί εστέρες αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα εστέρων στο κρασί. Υποδιαιρούνται σε καρβοξυλικούς σε δι και τρι-καρβοξυλικούς, υδροξυ εστέρες και οξο εστέρες. Παρόλα αυτά, μόνο η πρώτη ομάδα παίζει σημαντικό ρόλο στο αρωματικό προφίλ του οίνου. Από αυτούς οι πιο σημαντικοί είναι αυτοί που σχηματίζονται από την αιθανόλη και τα κορεσμένα οξέα (εξανοϊκό, οκτανοϊκό και δεκανοϊκό).

Ο σημαντικότερος εστέρας του κρασιού είναι ο οξικός αιθυλεστέρας. Μικρή ποσότητα αυτού σχηματίζεται από τους ζυμομύκητες κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Ο εστέρας αυτός οφείλεται στην εστεροποίηση του οξικού οξέος με την αιθανόλη κατά τη διάρκεια της παλαίωσης, αλλά και κατά την αλκοολική ζύμωση. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις (<50 mg/l), είναι ευχάριστος και έχει θετική επίδραση στο άρωμα του οίνου, ενώ σε μεγαλύτερη συγκέντρωση (>150 mg/l), δίνει μια ξινή και ελαττωματική οσμή. Το ανεπιθύμητο άρωμα του οξικού αιθυλεστέρα μπορεί να προκληθεί και από κάποια βακτήρια με αποτέλεσμα να καταστραφεί το άρωμα ενός κρασιού (Ντουρτόγλου Ε. 2020).

Εκτός, από τον οξικό αιθυλεστέρα που χαρακτηρίζεται για τη δυσάρεστή οσμή του, οι εστέρες με μεγαλύτερο μοριακό βάρος έχουν άρωμα λουλουδιών ή φρούτων και συμμετέχουν στην διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των οίνων (Σουφλερός Ε. 2015). Παρόλα αυτά, ο γαλακτικός και ο προπανικός αιθυλεστέρας δεν παίζουν κανένα ρόλο στην διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των οίνων, λόγω του ότι έχουν ουδέτερη οσμή και για να γίνουν αντιληπτοί απαιτούνται μεγάλες ποσότητες.

Διάφοροι παράγοντες, όπως το γένος και το είδος ζυμών, η θερμοκρασία της ζύμωσης, το pH, ο αερισμός του υποστρώματος (γλεύκος), η τεχνική της οινοποίησης, επιδρούν στο σχηματισμό των ανωτέρω εστέρων (Σουφλερός Ε. 2015). Τόσο οι εστέρες όσο και οι ανώτερες αλκοόλες είναι τα κύρια συστατικά αρώματος που προέρχονται από την αλκοολική και μηλογαλακτική ζύμωση ως προϊόντα του μεταβολισμού ζύμης και βακτηρίων.

Σύμφωνα με έρευνα (Sarala A., Cieslak D. 2019), σε δείγματα Μαλαγουζιάς που αναλύθηκαν, εντοπίστηκαν υψηλές αλλά και χαμηλές συγκεντρώσεις αιθυλεστέρων. Συγκεκριμένα 2,84 mg/L οκτανοϊκού αιθυλεστέρα και 0,76mg/L εξανοϊκού αιθυλεστέρα, 0,18mg/L βουτυρικού αιθυλεστέρα, 0,44mg/L δεκανοϊκού αιθυλεστέρα, 0,36mg/L εξαδεκανοϊκού αιθυλεστέρα, επίσης ο 3-υδροξυβουτανοϊκός αιθυλεστέρας του οποίου το άρωμα χαρακτηρίζεται ως φρουτώδες και τροπικό και ο ηλεκτρικός διαιθυλεστέρας που χαρακτηρίζεται με φρουτώδες άρωμα μήλου.

Ακολούθως, σύμφωνα με άλλη έρευνα (Karaklis et al 2014), σε δείγματα Μαλαγουζιάς ανιχνεύθηκε βουτυρικός αιθυλεστέρας (0,52 mg/L) σε αρκετά υψηλή συγκέντρωση και γαλακτικός αιθυλεστέρας (0,60 mg/L) σε αρκετά χαμηλή συγκέντρωση. Σ' αυτή την εργασία, κατά την ανάλυση των εστέρων οξικού οξέος στα δείγματα Μαλαγουζιάς, ανιχνεύθηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις οξικός 3-μεθυλοβουτυλεστέρας με άρωμα μπανάνας (2,05 mg/L), οξικός 2-μεθυλοβουτυλεστέρας ο οποίος συμβάλλει στο άρωμα του οίνου και των φρούτων και οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας με άρωμα λουλουδιού, μελιού και φρουτώδες (0,39 mg/L)

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΟΣΜΗ
Οξικός ισοαμυλεστέρας	Μπανάνα
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	Τριαντάφυλλο
Οξικός μεθυλοβουτυλεστέρας	Μήλο
Οξικός ισοπεντυλεστέρας	Φρουτώδης
Οξικός ισοβουτυλεστέρας	Φρουτώδης, μήλο, μπανάνα
Οξικός εξυλεστέρας	Φρουτώδης, πράσινο μήλο

Δεκανοϊκός αιθυλεστέρας	Γλυκιά, σταφύλι
Ισοβουτυρικός αιθυλεστέρας	Γλυκιά
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	Γλυκιά, φρουτώδης, ανανάς
3-υδροξυβουτανοϊκός αιθυλεστέρας	Φρουτώδης, πράσινη, σταφύλι, τροπικά φρούτα
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	Κερί, γλυκιά, μούχλα

Πίνακας 2: Αρώματα των εστέρων που εμφανίζονται στους οίνους (Sapala A., Cieslak D. 2019)

3.3 ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Οι καρβονυλικές ενώσεις έχουν ανιχνευθεί στους οίνους σ' ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό (Μαλλούχου Α. 2003). Οι αλειφατικές καρβονυλικές ενώσεις αποτελούν ενδιάμεσα προϊόντα στο σχηματισμό των αλκοολών από αμινοξέα και σάκχαρα. Σχηματίζονται με την αποκαρβοξυλίωση του αντίστοιχου α-κετοξέος. Στη συνέχεια, μεταφέρονται από τους ζυμομύκητες στον οίνο, όπου ανάγονται ενζυμικά σε αλκοόλες. Το στέλεχος της ζύμης και το θρεπτικό υλικό παίζουν πρωταρχικό ρόλο για το σχηματισμό των αλδεϋδών. Επίσης, η θερμοκρασία της ζύμωσης, το pH του γλεύκους και το SO₂ είναι εξίσου σημαντικοί παράγοντες οι οποίοι θα επηρεάσουν τον σχηματισμό των καρβονυλικών ενώσεων (Μαλλούχου Α. 2003).

Η σημαντικότερη καρβονυλική ένωση είναι η ακεταλδεΐδη και αποτελεί το 90% του συνόλου των αλδεϋδών στους οίνους. Η συγκέντρωση της κυμαίνεται από περίπου 80 mg/L στους λευκούς οίνους, σε 30 mg/L στους ερυθρούς οίνους, ενώ στους οίνους sherry μπορεί να ξεπεράσει και τα 300 mg/L (McCloskey & Mahaney, 1981). Έχει σημαντικές οργανοληπτικές ιδιότητες και σε μικρές συγκεντρώσεις δίνει στον οίνο ευχάριστη οσμή φρούτου. Αντίθετα, σε υψηλές συγκεντρώσεις προσδίδει μια δριμεία και ενοχλητική οσμή (Miyake & Shibamoto, 1993). Ωστόσο, σε οίνους sherry θεωρείται αρκετά επιθυμητή (Cortes et al, 1998). Είναι δευτερεύον προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης και παράγεται μετά από την αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος. Κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης λόγω της ικανότητας της χαρακτηριστικής της ομάδας (-CHO) να δεσμεύει το SO₂, παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της προσθήκης του θειώδους ανυδρίτη. Έχει σημαντική επίδραση σε γευστικά χαρακτηριστικά οίνων που δεν περιέχουν επαρκείς ποσότητες θειώδη ανυδρίτη. Ουσιαστικά, η ποσότητα της ακεταλδεΐδης κυμαίνεται ανάλογα με την θείωση των οίνων και τον αερισμό κατά τη διάρκεια οινοποίησης και παλαίωσης. Επιπλέον παίζει σημαντικό ρόλο στην αλλαγή χρώματος στους ερυθρούς οίνους γιατί διευκολύνει το συμπολυμερισμό των φαινολών (ανθοκυάνες, τανίνες). Τέλος, κατά την ωρίμανση μικρές ποσότητες ακεταλδεΐδης σχηματίζονται, λόγω οξειδωσης της αιθανόλης των οίνων παρουσία αέρα (Μαλλούχου Α. 2003).

Επιπλέον, στον οίνο βρίσκονται αρωματικές αλδεΐδες όπως η βανιλίνη, η οποία σχετίζεται με την παλαίωση σε βαρέλι και έχει ευχάριστη οσμή βανίλιας και η εξανάλη η οποία προέρχεται από το σταφύλι κι είναι υπεύθυνη για τα χορτώδη αρώματα των οίνων (Μαλλούχου Α. 2003). Τέλος, η φουρφουράλη, προέρχεται από θερμική επεξεργασία της σταφυλομάζας ή του γλεύκους, κι έχει ανιχνευθεί σε αρκετούς επιδόρπιους οίνους Καλιφόρνιας, Μαδέρας, και Tokay (Σουφλερός Ε. 2015). Γενικά όμως το άρωμά της είναι αντιληπτό κατά την ωρίμανση του οίνου (Spilman et al, 1998).

Στο κρασί ακόμα υπάρχει η ακετάλη, η οποία σχηματίζεται από την αντίδραση της ακεταλδεΐδης με την αιθυλική αλκοόλη. Ο σχηματισμός της ευνοείται από το χαμηλό pH και χαρακτηρίζεται από ισχυρή οσμή αλδεΐδης. Η συγκέντρωσή της στον οίνο είναι πολύ μικρή, ωστόσο την εντοπίζουμε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση σε αποστάγματα και σε οίνους sherry (Σουφλερός Ε. 2015). Θεωρείται ότι μπορεί να συνεισφέρει στη πολυπλοκότητα του αρώματος.

Κετόνες που έχουν εντοπισθεί στο κρασί είναι η προπανόνη, η βουτανόνη και η πεντανόνη. Οι σημαντικότερες όμως, είναι η ακετοΐνη και το διακετύλιο (2,3-βουτανεδιόνη). Η ακετοΐνη, σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και από την συμπύκνωση δυο μορίων ακεταλδεΐδης. Περιέχεται από 2-84 mg/l στους οίνους, και συγκεκριμένα η συγκέντρωσή της κυμαίνεται από 46 mg/L περίπου για τους ερυθρούς οίνους έως 12 mg/L για τους λευκούς οίνους. Έχει ευχάριστη οσμή. Στο μέσο της αλκοολικής ζύμωσης υπάρχει μια αύξηση συγκέντρωσης ενώ στο τέλος της ζύμωσης μειώνεται. Έτσι οι επιδόρπιοι οίνοι είναι πλουσιότεροι σε ακετοΐνη. Το διακετύλιο είναι και αυτό δευτερεύον προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης και περιέχεται στους οίνους σε ποσότητες που κυμαίνονται από 0,1-2 mg/L. Η ένωση αυτή προκύπτει από την οξείδωση της ακετοΐνης και έχει ευχάριστη οσμή φρέσκου βουτύρου (Σουφλερός Ε. 2015).

Σε ανάλυση δειγμάτων οίνου Μαλαγουζιάς (Sapala A., Cieslak D. 2019) εντοπίστηκαν υψηλά ποσοστά φουρφουράλης (0,22mg/L), 5-μεθυλοφουρφουράλης (0,25 mg/L) καθώς και λακτοζίδιο βανιλίνης (0,07 mg/L), κάτι το οποίο δείχνει την εκχύλιση από το ξύλο του βαρελιού.

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΟΣΜΗ
Βανιλίνη	Βανίλια
Διακετύλιο	Φρέσκο βούτυρο
Ακετοΐνη	Βούτυρο, γάλα
Ακεταλδεΐδη	Μήλο
Φουρφουράλη	Ξύλο, καραμέλα, ψωμί

Πίνακας 3: Καρβονυλικές ενώσεις κρασιού (Sapala A., Cieslak D. 2019)

3.4 ΤΕΡΠΕΝΙΑ

Οι τερπενικές ενώσεις προέρχονται από τα σταφύλια και απαντώνται υπό τη μορφή των μονοτερπενικών αλκοολών ή των οξειδίων τους, είναι πτητικές και συνεισφέρουν στο άρωμα του οίνου. Ένα υψηλό ποσοστό τερπενίων υπάρχει υπό τη μορφή γλυκοζιτών. Οι δομές αυτές δεν είναι πτητικές, οπότε δεν συνεισφέρουν στο άρωμα. Ωστόσο με ενζυμική υδρόλυση των συστατικών αυτών απελευθερώνονται τερπένια και με αυτό το τρόπο ενισχύεται το άρωμα πολλών οίνων (Μαλλούχου Α. 2003).

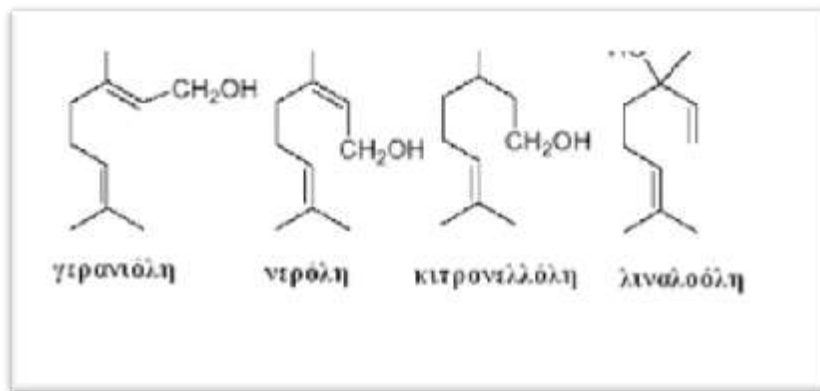
Εν γένει, πρόκειται για ενώσεις με έντονο και ευχάριστο αρωματικό χαρακτήρα και με σημαντική οργανοληπτική δράση. Έχουν στο μόριό τους 10 άτομα άνθρακα και τα κυριότερα τερπένια που βρίσκονται στα σταφύλια (κυρίως στο φλοιό των ραγών και λίγο στη σάρκα και τους οίνους) είναι οι τερπενικές αλκοόλες. Οι κυριότερες είναι η λιναλοόλη (λουλούδια, κίτρου), η νερόλη (λεμόνι), η γερανιόλη (λουλούδια) και η α-τερπινεόλη (λουλούδια, πασχαλιά). Η συνολική τους συγκέντρωση κυμαίνεται από 1-3 mg/l. Κάποιες από αυτές τις ενώσεις καταστρέφονται μερικώς κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και της παλαίωσης λόγω οξειδωσης και μετατρέπονται σε ενώσεις λιγότερο αρωματικές. Ειδικά, η λιναλοόλη, η γερανιόλη και η κιτρονελλόλη μειώνονται αισθητά όσο αυξάνεται ο χρόνος ωρίμανσης. Οι ενώσεις αυτές δεν έχουν προσδιοριστεί σε ποικιλίες οι οποίες δεν είναι αρωματικές ή με ελάχιστο άρωμα στο σταφύλι (Σουφλερός Ε. 2015). Αντίθετα, ανιχνεύθηκαν σε ποικιλίες οίνων όπως η Μαλαγουζιά προσφέροντας ένα φρουτώδες άρωμα και άρωμα λουλουδιών (Ribéreau-Gayon).

Παράγοντες από τους οποίους εξαρτώνται οι τερπενικές ενώσεις στα σταφύλια και στον οίνο (Σουφλερός Ε. 2015) είναι:

- Μεταβολισμός των σταφυλιών (ποικιλία, περιβάλλον, καλλιεργητικές συνθήκες)
- Βιοχημικές μεταβολές (οξειδώσεις, υδρολύσεις)
- Μεταβολισμός ζυμομυκήτων κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης
- Χημικές μεταβολές οι οποίες συμβαίνουν μετά τη ζύμωση

Σε μελέτη των (Song M., Fuentes C., Loos A., Tomasianiano 2018), η λιναλοόλη ταυτοποιήθηκε επίσημα στην ποικιλία Μαλαγουζιά. Είναι από τις βασικότερες τερπενικές ενώσεις με σημαντική συνεισφορά στο άρωμα ανθέων και εσπεριδοειδών του οίνου και εντοπίστηκε σε συγκέντρωση 0,2 mg/L.

Σύμφωνα με την έρευνα που έχει γίνει από τους Ribéreau-Gayon et al 2006, σε δείγματα Μαλαγουζιάς που αναλύθηκαν, εντοπίστηκε μεν η α-τερπινεόλη, όμως δεν ανιχνεύθηκαν με την τεχνική GC/MS η νερόλη, η β-δαμασκηνόνη και η γερανιόλη.



Εικόνα 2: Σημαντικότερες τερπενικές αλκοόλες του οίνου

3.5 ΛΑΚΤΟΝΕΣ

Είναι κυκλικοί εστέρες που σχηματίζονται από εσωτερική εστεροποίηση μεταξύ της καρβοξυλομάδος και του υδροξυλίου ενός αλειφατικού υδροξυοξέως. Αυτή η αντίδραση παράγει ένα ετεροκυκλικό δακτύλιο οξυγόνου. Ανάλογα με την θέση του υδροξυλίου που συμμετέχει στην εστεροποίηση, ονομάζονται γ-λακτόνες και δ-λακτόνες (Ribéreau- Gayon P. 2006).

Οι λακτόνες δημιουργούνται κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και της ωρίμανσης ή μπορεί να εκχυλίζονται από δρύινα βαρέλια. Κάποιες λακτόνες μπορεί να προέρχονται από τα σταφύλια και συνεισφέρουν στο ποικιλιακό άρωμα, όπως του Riesling και Muscat. Πρόδρομες ενώσεις όπως είναι το ελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ όταν οξειδωθούν ενζυμικά προς υδροξυοξέα, επιβραχύνονται με β-οξείδωση και κυκλοποιούνται προς λακτόνες. Οι περισσότερες λακτόνες στο κρασί είναι γ-λακτόνες και παίζουν σημαντικό ρόλο για το άρωμα των sherry, ενώ σε άλλα κρασιά δεν έχουν μεγάλη σημασία. Η πιο γνωστή είναι η γ-βουτυρολακτόνη, που υπάρχει στον οίνο σε συγκεντρώσεις της τάξης των mg/l. Αυτή η ένωση προκύπτει από το γ-υδροξυβουτυρικό οξύ, ένα ασταθές μόριο που παράγεται με αποαμίνωση και αποκαρβοξυλίωση του γλουταμινικού οξέος (Ribéreau- Gayon P. 2006).

Μία από τις βασικότερες λακτόνες στον οίνο είναι η 3-μεθυλο-γ-οκταλακτόνη, έχει χαρακτηριστική οσμή καρύδας, ξύλου βελανιδιάς και ταυτοποιήθηκε αρχικά σε ούισκι, μπράντι αλλά και σε κρασί το οποίο ωρίμαζε σε δρύινο βαρέλι. Η λακτόνη αυτή παρουσιάζει δυο διαστερεοϊσομερείς ενώσεις για κάθε μια από τις μορφές (cis, trans). Τα cis και trans ισομερή της 3-μεθυλο-γ-οκταλακτόνης, είναι γνωστά ως «λακτόνες δρυός» ή «ουίσκι λακτόνες». Στο κρασί η συγκέντρωση αυτών των λακτονών κυμαίνεται από 100-400 mg/l, σημαντικά υψηλότερη από το όριο αντίληψης τους (μερικές δεκάδες mg/l). Η προσβολή των σταφυλιών από Botrytis cinerea οδηγεί πιθανόν στην παραγωγή σοτολόνης (4,5-διμεθυλ-3-υδροξυ-2-φουρανόνη), η οποία εμπλέκεται στο χαρακτηριστικό άρωμα των οίνων που παράγονται από σταφύλια με ευγενή σήψη. Οι συγκεντρώσεις της ένωσης αυτής στον οίνο είναι της τάξης των 5 μg/l, και υπερβαίνουν το όριο αντίληψης.

Από έρευνα που έχουν γίνει από Sarala A., Cieslak D. 2019, σε δείγμα από οίνο Μαλαγουζιάς ανιχνεύθηκε cis-oak lactone, στην τιμή 0,06 mg/L, γ-βουτυρολακτόνη σε αρκετά χαμηλή συγκέντρωση (0,04 mg/L) και γ-εννεαλακτόνη.

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΟΣΜΗ
γ-εννεαλακτόνη	Έλαιο φοινικοκαρύδας, λιπαρή
γ-δεκαλακτόνη	Κρεμώδης, γλυκιά
δ-δεκαλακτόνη	Κρεμώδης, γλυκιά
δ-εντεκαλακτόνη	Ελαιώδης, ροδάκινο
Ουίσκι λακτόνη	Φοινικοκαρύδας

Πίνακας: 4 Κυριότερες λακτόνες οίνου (Ντουρτόγλου Ε. 2020)

3.6 ΜΕΘΟΞΥΠΥΡΑΖΙΝΕΣ

Οι μεθοξυπυραζίνες έχουν δυο πλευρικές αλυσίδες, μία μεθόξυ ομάδα (-OCH₃) και ένα αλκύλιο με τρία ή τέσσερα άτομα άνθρακα και παράγονται από το μεταβολισμό των αμινοξέων. Είναι πολύ έντονες και η οσμή τους είναι ανιχνεύσιμη σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Είναι ενώσεις ποικιλιακού αρώματος και στην παρουσία τους οφείλεται η χαρακτηριστική φυτική οσμή ορισμένων κρασιών. Οι 3-ισοπροπυλο-2-μεθοξυπυραζίνη, 3-sec-βουτυλο-2-μεθοξυπυραζίνη και 3-ισοβουτυλο-2-μεθοξυπυραζίνη, συνδέονται με το πράσινο, φυτικό άρωμα, το οποίο είναι χαρακτηριστικό για τα κρασιά Sauvignon blanc (Harris et al, 1987), Cabernet franc (Allen et al, 1994), Cabernet Sauvignon (Bayonove et al, 1975 και Allen et al 1994), Merlot (Allen et al, 1994) και Semillon. Συγκεκριμένα, η 3-ισοβουτυλο-2-μεθοξυπυραζίνη (IBMP), είναι η κυριότερη μεθοξυπυραζίνη, έχει κατώφλι αντίληψης περίπου 2 ng/L και βρέθηκε σε συγκεντρώσεις έως και 35 ng/L, παίζει δε σημαντικό ρόλο στην οσμή πράσινης πιπεριάς, συχνά εμφανή στο Sauvignon blanc. Η πρώτη ταυτοποίηση της ένωσης αυτής έγινε σε σταφύλια Cabernet Sauvignon και αργότερα σε Sauvignon blanc.

Οι δύο άλλες μεθοξυπυραζίνες, βρίσκονται σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις και δεν παίζουν σημαντικό ρόλο στο άρωμα των κρασιών (Lavin & Accree, 1992).

Η περιεκτικότητα σε μεθοξυπυραζίνες είναι σχετικά υψηλή στα πρώτα στάδια ωρίμανσης και μειώνεται κατά τη διάρκειά της. Αρχικά οι πυραζίνες εντοπίζονται στους βλαστούς και ακολούθως σε φλοιούς και γίγαρτα και μέσω της οινοποίησης μεταφέρονται στο κρασί. Οι κλιματολογικές συνθήκες είναι ένας καταλυτικός παράγοντας για τις πυραζίνες, σε ψυχρά κλίματα αυξάνεται η συγκέντρωσή τους, και σε θερμά μειώνεται (μελέτη από δύο περιοχές στη Νέα Ζηλανδία, Lacey et al, 1991).

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΟΣΜΗ
3-ισοπρόπυλο-2-μεθοξυπυραζίνη	Γαιώδης, πράσινη πιπεριά, πατάτα
3-sec-βούτυλο-2-μεθοξυπυραζίνη	Μπιζέλι, πράσινη πιπεριά
3-ισοβουτυλο-2-μεθοξυπυραζίνη	Πράσινη πιπεριά, μπιζέλι

Πίνακας: 5 Κυριότερες μεθοξυπυραζίνες του οίνου (Ντουρτόγλου Ε. 2020)

3.7 ΠΤΗΤΙΚΑ ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ

Στο κρασί υπάρχουν σχετικά λίγα οργανικά οξέα που είναι αρκετά πτητικά ώστε να συμβάλλουν στο άρωμα του. Τέτοια «οσμηρά» οξέα είναι το οξικό οξύ (οσμή ξυδιού), το προπανικό οξύ (κατσικίσια οσμή), το βουτανικό οξύ (οσμή χαλασμένου βουτύρου) και το γαλακτικό οξύ. Με εξαίρεση το οξικό οξύ, οι τιμές των υπολοίπων αυτών οξέων συνήθως βρίσκονται κάτω από τα όρια αντίληψης τους. Γενικά, τα οξέα θεωρούνται πως δίνουν ανεπιθύμητες οσμές στους οίνους, παρ' όλα αυτά συμβάλλουν στην αρωματική πολυπλοκότητα και στην ποιότητά τους. (Μαλλούχου Α. 2003).

Αποτελούν συστατικά του δευτερογενούς αρώματος του οίνου και εμφανίζονται μετά την ζύμωση του γλεύκους, με εξαίρεση βέβαια το μυρμηκικό οξύ το οποίο βρίσκεται στο σταφύλι (Ribéreau-Gayon P. 2006).

Τα πιο σημαντικά είναι τα οξέα με 1-6 άτομα άνθρακα. Αυτά τα οξέα μικρής αλυσίδας, ευνοούν τον οίνο με σπουδαία οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Είναι δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης, ή προϊόντα μικροβιακών προσβολών και είναι τα εξής: μυρμηκικό οξύ, οξικό, προπανικό, ισοβουτυρικό, βουτυρικό, βαλερικό και ισοβαλερικό οξύ. Από την κατηγορία αυτή το σημαντικότερο είναι το οξικό οξύ. Έχει την οσμή «ξυδιού» και συνδέεται κυρίως με ελαττώματα, προσβολή του οίνου από οξικά ή/και γαλακτικά βακτήρια και άσχημες οσμές. Μπορεί όμως να συνεισφέρει στην πολυπλοκότητα της γεύσης και του αρώματος του οίνου και είναι επιθυμητό σε μια συγκέντρωση < 300 mg/L. Επιπλέον το οξικό οξύ είναι σημαντικό για την παραγωγή των οξικών εστέρων που προσδίδουν φρουτώδη χαρακτήρα στον οίνο. (Ribéreau-Gayon P. 2006).

Τα λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας (6-12 άτομα άνθρακα), όπως το εξανοϊκό, το οκτανοϊκό και το δεκανοϊκό οξύ, σχηματίζονται από τις ζύμες και συνεισφέρουν στο άρωμα των οίνων (μαζί με τους εστέρες τους). Οι συγκεντρώσεις τους εξαρτώνται από την σύνθεση του μούστου, τις αναερόβιες συνθήκες αύξησης, το στέλεχος του ζυμομύκητα, την καλλιέργεια του αμπελιού, τις οινολογικές πρακτικές και την θερμοκρασία ζύμωσης. Αυτά τα λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας, δύνανται να προκαλέσουν αργή ζύμωση ή ακόμη και το τέλος της ζύμωσης, καθώς η παρουσία τους είναι ανασταλτική για το μύκητα *Sacharomyses cerevisiae* και για κάποια βακτήρια. Το ανασταλτικό αυτό φαινόμενο παρατηρείται συνήθως σε συνθήκες χαμηλού pH, χαμηλής θερμοκρασίας και υψηλών ποσοστών αιθανόλης. Τα λιπαρά

οξέα μεγάλης αλυσίδας (>12 άτομα άνθρακα) είναι ενεργοποιητές ζύμωσης, κυρίως υπό αναερόβιες συνθήκες. Τα πιο σημαντικά είναι το ελαϊκό (C18 με ένα διπλό δεσμό) και το λινελαϊκό οξύ (C18 με δυο διπλούς δεσμούς) και προέρχονται από τον φλοιό του σταφυλιού (Ribéreau-Gayon P. 2006).

Σύμφωνα με έρευνα (Karaklis et al 2014), στα δείγματα Μαλαγουζιάς που αναλύθηκαν, ανιχνεύτηκε οκτανοϊκό οξύ σε συγκέντρωση 6,13 mg/L. Σε άλλη εργασία (Smyth et al 2005), ανιχνεύτηκαν εξανοϊκό και δεκανοϊκό οξύ, πάνω από το όριο οσμής τους, σε συγκέντρωση 3 mg/L. Ακόμη, σε ακόλουθη έρευνα (Smyth et al 2005 και Simpson R.F 1984), στα δείγματα Μαλαγουζιάς που αναλύθηκαν βρέθηκαν βουτανοϊκό οξύ σε συγκέντρωση 0,22 mg/L, πεντανοϊκό οξύ σε 0,11 mg/L, εξαδεκανοϊκό οξύ και υψηλές ποσότητες οξικού οξέος (368,95 mg/L).

Τέλος, σε έρευνα που έχει γίνει από τον Gunzler H. 2000 σε δείγματα Μαλαγουζιάς, ανιχνεύθηκαν δωδεκανοϊκό οξύ, το οποίο αναδεικνύει το κρασί έχοντας ευχάριστο άρωμα καρύδας, 2-μεθυλοβουτανοϊκό οξύ το οποίο είναι ελαφρώς πτητικό και ισοβαλερικό οξύ σε συγκέντρωση αρκετά υψηλή (33 mg/L).

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΟΣΜΗ
Βουτανοϊκό οξύ	Γαλακτοκομικά, βούτυρο, τυρί
Πεντανοϊκό οξύ	Τυριά, ξινό, γάλα,
Εξανοϊκό οξύ	Δριμεία, τυρί, λιπαρή
Οκτανοϊκό οξύ	Λιπαρή, κρεμώδης, τυρί
Δεκανοϊκό οξύ	Ξινή, λιπαρή, φρουτώδης
Δωδεκανοϊκό οξύ	Λιπαρή, καρύδα
Ισοβαλερικό οξύ	Τυρί, γαλακτοκομικά, φρουτώδης
Σορβικό οξύ	Όξινη, φρουτώδης, τυρί

Πίνακας 6: Πτητικά λιπαρά οξέα (Sapala A., Cieslak D. 2019)

3.8 C-13 ΝΟΡΙΣΟΠΡΕΝΟΙΔΗ ΠΑΡΑΓΩΓΑ

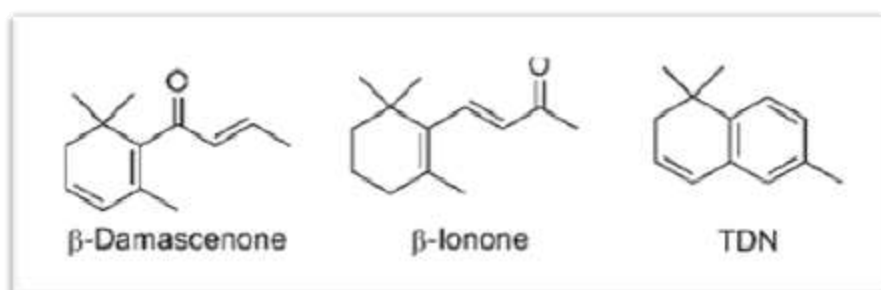
Τα C13 νορισοπρενοειδή προέρχονται από την αποικοδόμηση των καροτενοειδών. Τα καροτενοειδή είναι τερπένια με 40 άτομα άνθρακα (τετρατερπένια) και μπορούν με οξειδωτική αποικοδόμηση να παράγουν ενώσεις με 9, 10, 11, ή 13 άτομα άνθρακα (Ribéreau-Gayon P., 2006). Τα παράγωγα με 13 άτομα άνθρακα (C13-νορισοπρενοειδή) είναι ενώσεις με ενδιαφέρουσα οσμή και έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλουν στο άρωμα του κρασιού (Schreier et al., 1976; Sefton et al, 1989).

Μία μεγάλη υποκατηγορία αυτών, είναι τα οξυγονωμένα C13 νορισοπρενοειδή, με ένα βενζόλιο με υποκαταστάτες στους άνθρακες 1,5,6 και στο οποίο συνδέεται στον άνθρακα 6 μια ακόρεστη αλυσίδα με τέσσερα άτομα άνθρακα και κετονομάδα. Στην κατηγορία αυτή οι δύο σημαντικότερες ενώσεις είναι η β-δαμασκηνόνη και β-ιονόνη.

Η β-δαμασκηνόνη, με οσμή λουλουδιών, τροπικών φρούτων και βραστού μήλου, έχει πολύ χαμηλό όριο οσμής στο νερό (3-4 ng/l). Εντοπίστηκε για πρώτη φορά στο χυμό σταφυλιών Riesling, Scheurebe (Schreier et al., 1976) και σε Μοσχάτο (Etievant et al., 1983), αλλά πιθανώς υπάρχει και σε πολλές άλλες ποικιλίες σταφυλιών (Baume et al, 1986, Sefton et al, 1993). Διάφορες αναλύσεις, δείχνουν ότι οι συγκεντρώσεις β-δαμασκηνόνης σε λευκούς και κόκκινους οίνους είναι εξαιρετικά μεταβλητές και ότι η ένωση αυτή έχει σημαντικό οσφρητικό αντίκτυπο σε ορισμένους οίνους. Υψηλότερες τιμές συγκέντρωσης βρίσκονται στους κόκκινους οίνους από ό, τι στα ξηρά λευκά κρασιά και οι συγκεντρώσεις της είναι ιδιαίτερα υψηλές σε γλυκά ενισχυμένα κρασιά που παράγονται από ποικιλίες Μοσχάτου. Οι μέσες συγκεντρώσεις στους οίνους Merlot, Cabernet Sauvignon και Cabernet Franc δεν διαφέρουν σε σημαντικό βαθμό (Ribereau-Gayon et al, 2000).

Με το χαρακτηριστικό άρωμα της βιολέτας, η β-ιονόνη έχει όριο αντίληψης 120 ng/l στο νερό και έχει εντοπιστεί σε διάφορες λευκές ποικιλίες σταφυλιών (Schreier et al., 1976), καθώς και στο Μοσχάτο (Etievant et al., 1983). Η συμβολή της β-ιονόνης στο άρωμα των λευκών οίνων είναι αμελητέα. Μπορεί ωστόσο να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στο άρωμα των κόκκινων οίνων. Οι συγκεντρώσεις της είναι πιο μεταβλητές από εκείνες της β-δαμασκηνόνης και η ποικιλία σταφυλιών δεν φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτές τις παραλλαγές

Ένα άλλο σημαντικό C-13 νορισοπρενοειδές είναι το TDN (1,1,6-τριμεθυλο-1,2-διυδροναφταλένιο). Η ένωση αυτή δίνει χαρακτηριστική οσμή «κηροζίνης», η οποία εμφανίζεται σε παλαιωμένα κρασιά Riesling (Sacks et al, 2012). Καθώς είναι μια ένωση η οποία δεν υπάρχει σε νεαρά κρασιά, αναπτύσσεται μετά την παλαίωση και μπορεί να φτάσει σε συγκεντρώσεις πάνω από 200 µg/L (Winterhalter et al, 1990).



Εικόνα 3: Σημαντικότερα C-13 νορισοπρενοειδή

3.9 ΘΕΙΟΥΧΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Είναι ενώσεις οι οποίες ανήκουν σε διάφορες ομάδες, όπωςθειόλες,θειοεστέρες, σουλφίδια και ετεροκυκλικές ενώσεις, με εξαίρεση το υδρόθειο (Τσακίρης Α. 2017). Οι ενώσεις αυτές δρουν θετικά αλλά και αρνητικά στον οίνο. Οι πτητικές ενώσεις που περιέχουν θείο, αρχικά συσχετίστηκαν με αρνητικές οσμές λόγω του υδρόθειου (H₂S) και των θειολών (μερκαπτάνες), που προσδίδουν ένα άσχημο άρωμα κλούβιου αυγού και αυτό είχε αρνητικό αντίκτυπο στο άρωμα και στην ποιότητα του κρασιού. Παρ' όλα αυτά, πλέον δεν ισχύει κάτι τέτοιο αφού εντοπίστηκαν πτητικέςθειόλες, όπως η 3-μερκαπτοεξανόλη, ο οξικός 3-μερκαπτοεξυλεστέρας, η 4-μερκαπτο-4-μεθυλοπενταν-2-όνη, οι οποίες είναι οι πιο σημαντικές πτητικές ενώσεις που προσδίδουν φρεσκάδα στο κρασί, και έχουν θετικό αντίκτυπο στη γεύση και στο άρωμα του (Τσακίρης Α. 2017).

Η ζύμη του κρασιού *Saccharomyces cerevisiae* διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή των πτητικών ενώσεων του θείου. Η ζύμη είναι υπεύθυνη για το μετασχηματισμό των μη πτητικών πρόδρομων θειούχων ενώσεων που υπάρχουν στα σταφύλια σε πτητικές αρωματικές δραστικέςθειόλες. Η δημιουργία του υδρόθειου σε μικρές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητη για τις ζύμες αφού επιτρέπει την παραγωγή θειούχων ενώσεων, όπως η θειαμίνη, η κυστεΐνη, η μεθειονίνη, οι οποίες είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη των ζυμών, συνεπώς και για τον μεταβολισμό του αζώτου. Το υδρόθειο παράγεται με την αναγωγή ανόργανων ενώσεων του θείου που υπάρχουν στο γλεύκος και είναι ένα αποτέλεσμα της θείωσης των σταφυλιών ή του γλεύκους. Το διοξείδιο του θείου αφομοιώνεται από τις ζύμες πολύ εύκολα. Επίσης, το υδρόθειο μπορεί να προέρχεται από την αποικοδόμηση πρωτεϊνών από τις ζύμες σε περιβάλλον που υπάρχει έλλειψη αφομοιώσιμου αζώτου. Παρόμοιο προϊόν είναι το διμεθυλοσουλφίδιο, που λαμβάνεται από την κυστεΐνη. Το διμεθυλοσουλφίδιο, είναι δευτερεύον προϊόν μεταβολισμού του θείου. Έτσι, η κυστεΐνη παράγεται κατά την ωρίμανση του κρασιού συμμετέχοντας στην οσφρητική πολυπλοκότητα (Τσακίρης Α. 2017).

Στο κρασί, ανιχνεύονται και πολλές άλλες θειούχες ενώσεις με μικρό μοριακό βάρος, οι οποίες δημιουργούνται είτε από ενζυμικές είτε από μη ενζυμικές αντιδράσεις. Όσον αφορά τις ενζυμικές, είναι ο μεταβολισμός των αμινοξέων ή των πεπτιδίων που περιέχουν θείο στο μόριό τους, των θειούχων μικροβιοκτόνων και η δημιουργία παραπροϊόντων της αλκοολικής ζύμωσης. Αντίθετα, οι μη ενζυμικές αντιδράσεις είναι θερμικές, φωτοχημικές και χημικές αντιδράσεις θειούχων ενώσεων κατά την οινοποίηση και την παλαίωση (Swiegersn J.H., Pretorius I.S 2007).

Μια άλλη κατηγορία ενώσεων είναι τα προϊόντα μεταβολισμού της κυστεΐνης και της μεθειονίνης, όπως η 2-μερκαπτοαιθανόλη. Συνήθως, η περιεκτικότητά τους δεν ξεπερνάει το κατώφλι αντίληψης και έτσι συμμετέχουν στη γενική οσφρητική αντίληψη και πολυπλοκότητα του κρασιού, χωρίς να δημιουργούνται οργανοληπτικά ελαττώματα (Τσακίρης Α. 2017).

Κατά την διάρκεια της ζύμωσης του οίνου, η αφομοιωτική αναγωγή των θειικών από τον ζυμομύκητα (για την βιοσύνθεση κυστεΐνης και μεθειονίνης), μπορεί να οδηγήσει στην υπερβολική παραγωγή του ιόντος HS^- , και έτσι να σχηματιστεί το υδρόθειο στο κρασί. Αυτό είναι ένα από τα πιο κοινά προβλήματα σε ένα οινοποιείο και αν δεν αντιμετωπιστεί εγκαίρως, το κρασί που θα δημιουργηθεί θα έχει υποβαθμισμένη ποιότητα. Η συγκέντρωση του υδρόθειου που παράγεται κατά την ζύμωση του οίνου εξαρτάται από την παρουσία θειούχων ενώσεων, το στέλεχος του ζυμομύκητα, τις συνθήκες ζύμωσης και τη θρεπτική κατάσταση του γλεύκους.

Σύμφωνα με την έρευνα που έχει γίνει από Dittrich & Groosman, 2011 σε δείγματα Μαλαγουζιάς που αναλύθηκαν, βρέθηκαν οι θειούχες ενώσεις: H_2S (υδρόθειο), $MeSH$ (Μεθανοθειόλη) και DMS (δισουλφίδιο). Πέρα από το H_2S που είχε αρκετά υψηλό κατώφλι αντίληψης οι υπόλοιπες ενώσεις δεν είχαν υψηλό όριο οσμής. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα να μην επηρεαστεί καθόλου το αρωματικό προφίλ του κρασιού (Segure et al, 2004; Solomon et al, 2010; Dittrich & Groosman, 2011).

Η πρόκληση για τη σύγχρονη οινοποίηση, είναι να περιοριστεί η παραγωγή ανεπιθύμητων θειούχων ενώσεων με αρνητικές οσμές (κρεμμύδι, κουνουπίδι, λάχανο, κλούβιο αυγό κλπ), όπως είναι το υδρόθειο και η μερκαπτάνη. Ταυτόχρονα να ενισχυθεί η παραγωγή των ευνοϊκών πτητικών θειολών (Ferreira et al, 2008; Jackson Rons., 2002; Jackson Ron S., 2008), που αποδίδουν συνήθως θετικές οσμές τροπικών φρούτων (Coetzee & Du Toit, 2012; Du Plessis & Augustun, 1981).

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΟΣΜΗ
Υδρόθειο (H_2S)	Κλούβιο αυγό
Μεθανοθειόλη ($MeSH$)	Μαγειρεμένο λάχανο
Διμεθυλοσουλφίδιο (DMS) Διμεθυλοτρισουλφίδιο	Λάχανο, κουνουπίδι, σκόρδο
Μεθυλοθειοστέρες (s-θειοοξικός μεθυλεστέρας, s-θειοπροπανικός μεθυλεστέρας, s-θειοβουτανοϊκός μεθυλεστέρας)	Μαγειρεμένο κουνουπίδι Τυρί
Μερκαπτοεξαν-1-όλη 4-μερκαπτο-4-μεθυλο-πενταν-1-όλη 3-μερκαπτοεξαν-1-όλη 3-μερκαπτο-3-μεθυλοβουταν-1-όλη	Φρουτώδης οσμή (γκρέιπφρουτ, φραγκοστάφυλο, γκουάβα)

Πίνακας 7: Κυριότερες θειούχες ενώσεις του οίνου

3.10 ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΘΕΙΟΛΕΣ

Οι ενώσεις αυτές ανήκουν στην κατηγορία των ποικιλιακών αρωμάτων. Προκύπτουν από την διάσπαση άοσμων πρόδρομων ουσιών που υπάρχουν στο σταφύλι ή στο γλεύκος κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης (Roland A., Schneider R., Razungles A. 2011).

Είναι οργανικές ενώσεις που περιέχουν τουλάχιστον μια ομάδα (-SH), συνδεδεμένη με ένα άτομο άνθρακα. Ουσιαστικά, είναι ενώσεις οι οποίες στην θέση της ομάδας -OH έχουν την ομάδα -SH (Αλεξάνδρου και Βάρβογλης 1986).

Η παρουσία ποικιλιακών θειολών στον οίνο προκύπτει από πολλούς παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις των πρόδρομων ουσιών. Η παρουσία αυτών των πρόδρομων ενώσεων στα σταφύλια εξαρτάται από διάφορους αμπελουργικούς παράγοντες (άζωτο και νερό), την διαχείριση και την ωριμότητα της αμπέλου. Έχει διαπιστωθεί ότι οι σημαντικότερες πτητικές θειόλες είναι επτά, αλλά οι πιο πολλές έρευνες έχουν διεξαχθεί για τις: 4-μερκαπτο-4-μεθυλοπεντα-2-όνη (4MMP), την 3-μερκαπτοεξαν-1-όλη (3MH) και τον οξικό 3-μερκαπτοεξυλεστέρα (3MHA). Οι ενώσεις αυτές ανιχνεύθηκαν πρώτα ως χαρακτηριστικές ενώσεις στα τροπικά φρούτα (φρούτα του πάθους και γκουάβα) και ύστερα εντοπίστηκαν και σε ποικιλίες του *Vitis Vinifera* (Winter et al, 1976; Darriet et al, 1991; Darriet et al, 1993; Darriet et al, 1995). Οι ενώσεις αυτές συμβάλλουν θετικά στις φρουτώδεις νότες των κρασιών (φραγκοστάφυλο, γκρέιπφρουτ, φρούτα του πάθους και γκουάβα). Σύμφωνα με τους (Ribéreau-Gayon et al, 2006) η 4MMP, η 3MH και η 3MHA είναι οι πιο ισχυρές θειόλες (όρια οσμής κάποια ng/L), αποτελούν ποικιλιακά αρώματα και απελευθερώνονται κατά την αλκοολική ζύμωση.

Επιπλέον, οι παραπάνω τρεις ενώσεις εκτός του Sauvignon Blanc, που εντοπίζονται σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις, παίζουν σημαντικό ρόλο στον οργανοληπτικό χαρακτήρα και άλλων ποικιλιών, λόγω των αρωματικών ιδιοτήτων τους και των αλληλεπιδράσεών τους με άλλες ενώσεις του υποστρώματος του κρασιού (Van Rooyen 2019).

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΟΣΜΗ	ΟΡΙΟ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ ΣΕ ΟΙΝΟ (ng/L)
3-μερκαπτοεξαν-1-όλη (3ΜΗ)	(R)-3-ΜΗ: φλούδα κίτρου, passion fruit	50
	(S)-3-ΜΗ: γκρέιπφρουτ	60
Οξικός 3-μερκαπτοεξυλεστέρας (3ΜΗΑ)	(R)-3ΜΗΑ: passion fruit	4,2
	(S)-3ΜΗΑ: ξύλο πύξου	2,5
4-μερκαπτο -4-μεθυλπεντα -2-όνη (4ΜΜΡ)	Ξύλο πυξού, φραγκοστάφυλο	0,8

Πίνακας 8: Ποικιλιακές θειόλες, η οσμή τους και το όριο αντίληψης τους στον οίνο
 Πηγή: Tominaga et al, (1998a); Tominaga et al,(2006); Coetzee and Du toit, (2012); Land et al, (2009); Riberau-Gayon et al, (2006)

4 ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΟΙΝΟΥ

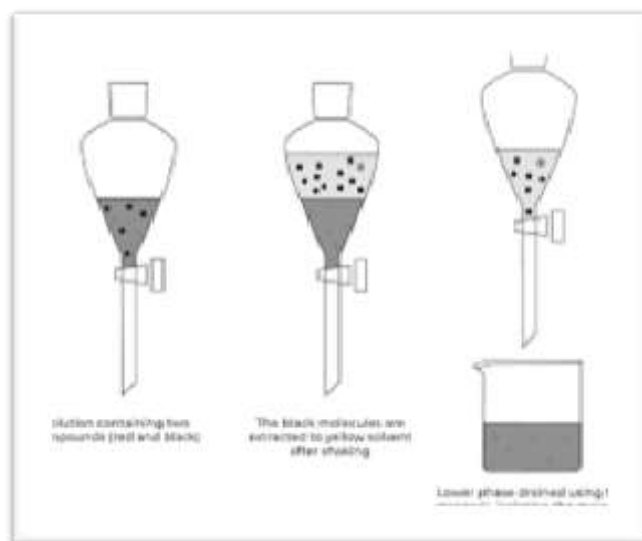
4.1 ΥΓΡΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ (LLE)

Η εκχύλιση υγρού – υγρού (υγρή εκχύλιση) είναι μια φυσική μέθοδος διαχωρισμού, η οποία βρίσκει ευρεία εφαρμογή στη βιομηχανία, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις όπου δεν μπορεί να εφαρμοστεί απόσταξη. Η βασική αρχή της υγρής εκχύλισης είναι η ανάμιξη ενός αρχικού διαλύματος με ένα άλλο υγρό διαλύτη, ο οποίος είναι μη αναμίξιμος ή μερικώς αναμίξιμος με το αρχικό διάλυμα. Ο διαλύτης επιλέγεται έτσι ώστε ένα ή περισσότερα από τα συστατικά του αρχικού διαλύματος (διαλυμένη ουσία) να είναι επιλεκτικά διαλυτά στον διαλύτη. Κατά την προσθήκη του διαλύτη δημιουργούνται δύο υγρές φάσεις οι οποίες διαχωρίζονται λόγω της διαφορετικής πυκνότητας, και λαμβάνει χώρα μεταφορά μάζας της διαλυμένης ουσίας από τη φάση του αρχικού διαλύματος προς τη φάση του διαλύτη. Επιπλέον, για να επιτευχθεί ο διαχωρισμός στην υγρή εκχύλιση είναι απαραίτητη η ύπαρξη δύο φάσεων, όπου ο διαλύτης προστίθεται ακριβώς για τη δημιουργία της δεύτερης φάσης. Κατά την διεργασία της εκχύλισης λαμβάνουν χώρα τα θεμελιώδη φαινόμενα της ισορροπίας φάσεων και της μεταφοράς μάζας (McCabe W.L, Smith J.C., Harriot P.)

Η μέθοδος της LLE χρησιμοποιείται για να διαχωρίσει τα συστατικά ενός μίγματος με παραπλήσια σημεία ζέσεως αλλά διαφορετικής διαλυτότητας, για την ανάκτηση ευαίσθητων ουσιών (όπως αντιβιοτικά), για αζεοτροπικά μίγματα, απομάκρυνση συστατικών που είναι παρόντα σε εξαιρετικά μικρές συγκεντρώσεις και σε

διαχωρισμούς που βασίζονται στο χημικό τύπο των ουσιών, παρά στη σχετική πυκνότητά τους.

Η εκχύλιση υγρής φάσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για βιομηχανικές εφαρμογές, όπως σε χημικές και βιοχημικές διεργασίες, επεξεργασία λυμάτων, φαρμακοβιομηχανία, βιομηχανία πετρελαίου, βιομηχανία τροφίμων, μεταλλουργία κλπ. Ακολούθως, οι λειτουργικές παράμετροι που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στο σχεδιασμό μιας διεργασίας υγρής εκχύλισης είναι η επιλογή διαλύτη, καθώς και η θερμοκρασία και η πίεση λειτουργίας. Οι δύο τελευταίοι είναι και οι σημαντικότεροι καθώς, η θερμοκρασία πρέπει να είναι τέτοια ώστε να διατηρεί τα συστατικά σε υγρή κατάσταση και να επιτρέπει τον διαχωρισμό δύο υγρών φάσεων, εξίσου και η πίεση (Muller E., Berger R. Blass E, Sluyts D.)



Εικόνα: 4 Στάδια εκτέλεσης LLE

Πηγή:

<https://mk0labsocietya446109.kinstacdn.com/wpcontent/uploads/vectors/Hydrocarbon-Extraction-Article/liquid-liquidextraction-separatory-funnel>.

5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

5.1 ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ (GC)

Η αέρια χρωματογραφία, ανήκει στις μεθόδους διαχωρισμού και εφαρμόζεται ως επί τω πλείστων σ' αναλυτική κλίμακα (ποσότητες δειγμάτων μικρότερες των 10^{-6} g = 1μg). Οι προς διαχωρισμό ενώσεις, πρέπει να είναι ή να καθίστανται πτητικές και θα πρέπει να μεταβαίνουν στην αέρια φάση χωρίς ταυτόχρονη όμως διάσπαση. Η προαναφερθείσα τεχνική, χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό της ταυτότητας (ποιοτική ανάλυση) και της ποσότητας (ποσοτική ανάλυση) των ενώσεων. Ωστόσο, η εν λόγω μέθοδος χρησιμεύει κι ως μέθοδος απομόνωσης ενός συστατικού από

ένα μίγμα στην καθαρή του μορφή (preparative chromatography). Η αέρια χρωματογραφία εξελίχθηκε σε αναλυτική τεχνική τις τελευταίες τέσσερις δεκαετίες, κι εφαρμόζεται εκτενώς στο διαχωρισμό πτητικών ουσιών, αφού παρουσιάζει υψηλή ταχύτητα, ικανότητα υψηλής απόδοσης και ιδιαίτερη ευκολία στη χρήση. Σήμερα, χρησιμοποιείται για ανάλυση πτητικών ουσιών σε τρόφιμα, φάρμακα, προϊόντα πετρελαίου, βιομηχανίες αρωματοποίησης κτλ.

Σε γενικές γραμμές, ο αέριος χρωματογράφος αποτελείται από δυο τμήματα:

1. το τμήμα διαχωρισμού: το φέρον αέριο μαζί με το κύριο μέρος του χρωματογράφου, όπου γίνεται ο διαχωρισμός
2. το τμήμα ανάλυσης: το σύστημα ανίχνευσης, καταγραφής και αποτίμησης του σήματος

Το κύριο μέρος του χρωματογράφου είναι η στήλη. Το υλικό των στηλών που χρησιμοποιούνται στη χρωματογραφία είναι συνήθως το γυαλί ή ο χάλυβας, και είναι γεμισμένες με διάφορα υλικά ανάλογα με τα επιθυμητά συστατικά της διαχώρισης. Το σχήμα τους έχει μορφή έλικας και η διάμετρός τους είναι εξαιρετικά μικρή. Σήμερα χρησιμοποιούνται τριχοειδείς γυάλινες στήλες μήκους μέχρι 60 m, καλυμμένες εσωτερικά με διάφορα υλικά (Θεοδωρίδης Γ. 2009)

Το όργανο που χρησιμοποιείται στην αέρια χρωματογραφία λέγεται αέριος χρωματογράφος. Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής. Εισάγεται το δείγμα με μικροσύριγγα, όπου ακαριαία σχεδόν, εξαερώνεται. Κατόπιν, συμπαρασύρεται από ποσότητα φέροντος αερίου και εισέρχονται μαζί στη στήλη. Η στήλη βρίσκεται μέσα σε θερμοστατούμενο κλίβανο με σταθερή ή προγραμματισμένη θερμοκρασία. Τα συστατικά κατανέμονται μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης και μεταφέρονται μέσω της στήλης σε διαφορετικούς χρόνους. Κατά την έξοδό τους από την στήλη εισέρχονται στον ανιχνευτή όπου παρέχει τα σχετικά ηλεκτρικά σήματα ενισχύοντας τα. Έτσι, διαβιβάζονται στον καταγραφέα ή στον ηλεκτρικό υπολογιστή. Η γραφική απεικόνιση του σήματος εισόδου σε σχέση με το χρόνο συγκρατήσεως κάθε συστατικού αποτελεί το χρωματογράφημα (Χατζηγιάννου & Κουππάρης, 2015; Cazer, 2005).

5.2 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ (MS)

Η φασματομετρία μαζών είναι μια από τις πλέον σημαντικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της δομής και της σχετικής μοριακής μάζας των οργανικών ενώσεων. Με το φασματογράφο μαζών, είναι εφικτός ο προσδιορισμός της Mr μιας ένωσης χρησιμοποιώντας λιγότερο από ένα mg. Στις πλείστες περιπτώσεις, με τη Mr μπορεί να προσδιοριστεί ο στοιχειώδης μοριακός τύπος με στοιχειακή ανάλυση και κατ' επέκταση ο εμπειρικός τύπος μιας χημικής ένωσης. Σε απλούστερη εκδοχή της, η φασματομετρία μαζών είναι μια τεχνική μέθοδος μέτρησης της μάζας, άρα και της σχετικής μοριακής μάζας Mr, ενός μορίου. Επιπροσθέτως, είναι δυνατό να συγκεντρωθούν πληροφορίες για μια

άγνωστη δομή, μετρώντας τη μάζα των θραυσμάτων που προκύπτουν από την αποσύνθεση μορίων υψηλής ενέργειας. Υπάρχουν αρκετά διαφορετικά είδη φασματομέτρων, αλλά το πλέον διαδεδομένο, είναι το όργανο ιοντισμού ηλεκτρονίων με μαγνητικό τμήμα, EI (McMurry, 1998).

Η αρχή λειτουργίας της φασματοφωτομετρίας μαζών βασίζεται στη δημιουργία ιόντων μιας ένωσης, στο διαχωρισμό τους με βάση το λόγο της μάζας προς το φορτίο (m/z) και στην καταγραφή τους. Έτσι, είναι δυνατόν να προσδιοριστεί το μοριακό βάρος (MB) της ένωσης και ο τρόπος σύνδεσης των διαφόρων ομάδων μεταξύ τους. Τα φασματόμετρα μαζών αποτελούνται από (Θεοδωρίδης Γ. 2009):

- 1) το σύστημα εισαγωγής του δείγματος (σε αέρια ή υγρή μορφή),
- 2) την πηγή ιόντων, που μετατρέπει τα συστατικά σε ιόντα,
- 3) τον αναλυτή μαζών, όπου γίνεται ο διαχωρισμός των ιόντων ανάλογα με το m/z τους,
- 4) τον ανιχνευτή που δημιουργεί τα ηλεκτρικά σήματα των ιόντων,
- 5) το σύστημα δημιουργίας κενού και
- 6) τον καταγραφέα των φασμάτων ή ηλεκτρονικό υπολογιστή.

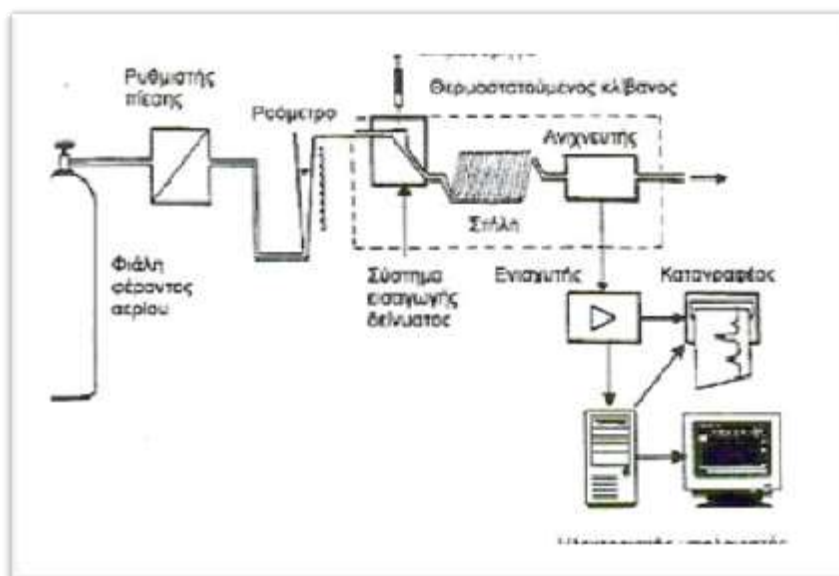
Η αυξημένη ευαισθησία, ο συνδυασμός με άλλες τεχνικές ανάλυσης κι η υψηλή εξειδίκευση της κατά την ταυτοποίηση, είναι μερικά απ' τα κυριότερα πλεονεκτήματα αυτής της τεχνικής, ενώ κάποια αξιοσημείωτα μειονεκτήματα της, αποτελούν το κόστος των οργάνων, της λειτουργίας και συντηρήσεώς τους και η απαίτηση για εξειδίκευση του χειριστή για την σωστή λειτουργία των συσκευών και την ορθή ερμηνεία των φασμάτων. Οι εφαρμογές της λαμβάνουν χώρα στην ταυτοποίηση και στη μελέτη της δομής οργανικών κυρίως ενώσεων, στον έλεγχο προσμίξεων σε μικροποσότητες (τάξεως των ppm) και σε μικρότερο βαθμό στην ποσοτική ανάλυση. Όπως έχει προαναφερθεί, η τεχνική αυτή μπορεί να λειτουργήσει και συνδυαστικά, όπως η αέρια χρωματογραφία (GC), δημιουργώντας την συνδυασμένη τεχνική GC/MS ή την υγρή χρωματογραφία (LC) δημιουργώντας την LC/MS αντίστοιχα. Σήμερα, είναι οι επικρατέστερες για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση πολύπλοκων οργανικών μιγμάτων. (Χατζηιωάννου & Κουπάρης, 2015).

5.3 ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ – ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ (GC-MS)

Η επιτακτική ανάγκη για ακριβείς μετρήσεις και εκτενή διερεύνηση των χημικών ουσιών σε χαμηλά επίπεδα (ppm, ppb, ppt), ώθησε τους ερευνητές προς εύρεση καινοτόμων τεχνικών με συνδυασμό δυο ή και περισσότερων επιμέρους οργάνων. Ο σχεδιασμός ενός συστήματος το οποίο συνδέει δυο όργανα που λειτουργούν υπό ακραίες συνθήκες πίεσης, θεωρείται δικαίως μια πρωτοπόρα πρακτική. Η συνδυασμένη τεχνική GC-MS υπήρξε από τις πρώτες που συνδέθηκε με την αέρια χρωματογραφία από τον Gohlke, το 1959. Ο ρόλος της είναι διττός, εννοώντας πως ο MS δύναται να αποτελέσει ανιχνευτή στην αέρια χρωματογραφία, αλλά και ο

αέριος χρωματογράφος να αποτελεί το σύστημα κατεργασίας-εισαγωγής του δείγματος για το φασματογράφο μαζών. Η GC-MS προσφέρει το μείζον πλεονέκτημα επιβεβαίωσης στην ταυτοποίηση των χρωματογραφικών κορυφών, μέσω σύγκρισης του φάσματος μάζας που αντιστοιχεί σε κάθε κορυφή, με τα φάσματα πρότυπων ουσιών που είναι αποθηκευμένα στα αρχεία βάσης δεδομένων του οργάνου (Καλοπέτρη Μ. 2009)

Ως αναλυτική μέθοδος, η GC-MS εφαρμόζεται με μεγάλη επιτυχία στην ανάλυση (ρουτίνας πλέον) βιολογικών υγρών (φάρμακα, στεροειδή και μεταβολίτες στο αίμα και στα ούρα), περιβαλλοντικών δειγμάτων (φυτοφάρμακα), τροφίμων (τοξικές ουσίες), πόσιμου νερού (τοξικές ουσίες), προϊόντων προσωπική περιποίησης κλπ (Καλοπέτρη Μ. 2009)



Εικόνα 5: Διάταξη αέριου χρωματογράφου

Πηγή: Παπαδογιάννης, ΙΝ., Σαμανίδου, Β.Φ. 2001, Χατζηγιωάννου, Θ.Π, Κουμπάρης, Μ.Α 2003, Αργυρόπουλος, Ν., Βαρέλλα 1997



Εικόνα 6: Διάταξη GC-MS (Agilent)

Πηγή: Agilent 7890B GC/MS System With 5977A (americanlaboratorytrading.com)

6 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εδώ θα αναφερθούμε στην προετοιμασία και ανάλυση δειγμάτων για τον προσδιορισμό αρωματικών ενώσεων στον οίνο, επικεντρώνοντας το ενδιαφέρον στην αναλυτική τεχνική της GC-MS για την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των υπό εξέταση ενώσεων.

6.1 ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΟΙΝΩΝ

Συνολικά αναλύθηκαν πέντε δείγματα οίνων. Τα τρία από αυτά τα δείγματα προέρχονταν από πειραματικές οινοποιήσεις του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και τα δύο ήταν δείγματα εμπορίου.

1^ο ΔΕΙΓΜΑ: Μαλαγουζιά Κιθαιρώνα 2020 (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών)

2^ο ΔΕΙΓΜΑ: Μαλαγουζιά Αμύνταιο 2020 (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών)

3^ο ΔΕΙΓΜΑ: Μαλαγουζιά Ορεινή Αιγιαλεία 2020 (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών)

4^ο ΔΕΙΓΜΑ: Μαλαγουζιά AA Sokos 2020

5^ο ΔΕΙΓΜΑ: Μαλαγουζιά Πελοποννήσου 2020

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ

- 1) Διάλυμα διαιθυλαιθέρα 95%
- 2) Διάλυμα πεντάνιο 95%
- 3) Άνυδρο θειικό νάτριο
- 4) Διάλυμα n-undecane 2500ppm, πρότυπη ουσία



Εικόνα 7: Δείγματα οίνων (4), (5)

6.2 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Για την εκχύλιση των αρωματικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε η εξής διαδικασία: Από κάθε δείγμα οίνου λαμβάνονται 50 ml τα οποία αναμιγνύονται σε ένα ποτήρι ζέσεως με 50 ml διαλύτη συνολικά. Χρησιμοποιήθηκαν δυο διαφορετικοί διαλύτες, πεντάνιο (95%) και διαιθυλαιθέρας (95%), από 25 ml ο κάθε ένας. Μετά από ανάδευση 10 min σε μαγνητικό αναδευτήρα, το δείγμα διαχωρίζεται σε δύο ίσα μέρη. Ακολούθησε μεταφορά του δείγματος σε falcon φυγοκέντρου και φυγοκέντρηση για 10 min στις 3.500 στροφές (rpm). Η διαδικασία αυτή της εκχύλισης επαναλήφθηκε άλλη μία φορά.

Η οργανική φάση που συλλέχθηκε μεταφέρθηκε ποσοτικά σε μια διαχωριστική χοάνη και πραγματοποιήθηκε έκπλυση με απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια απομακρύνεται η υγρασία με άνυδρο θειικό νάτριο. Το δείγμα φιλτράρεται σε διηθητικό χαρτί και συλλέγεται σε απιοειδείς φιάλες με σκοπό την συμπύκνωση του χρησιμοποιώντας στήλη vigreux σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 50-60 °C. Στο τέλος της συμπύκνωσης όλα τα δείγματα είχαν τελικό όγκο 1-2 ml, ενώ η περαιτέρω συμπύκνωση τους ολοκληρώθηκε με την χρήση αερίου αζώτου μέχρι τελικό βάρος 100 mg. Ακριβώς η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε για όλα τα δείγματα με μεγάλη ακρίβεια. Για την ποσοτικοποίηση των πτητικών ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιήθηκε πρότυπη ουσία αναφοράς, 10 µL n-undecane, γνωστής συγκέντρωσης.

6.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ GC – MS

Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε με αέριο χρωματογράφο Hewlett-Packard 6890 plus σε συνδυασμό με φασματογράφο μαζών Agilent Technologies 5975C VL MSD με Triple-Axis Detector, (GAS Chromatography-Mass Spectrometry).

Για τις αναλύσεις όλων των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η στήλη Agilent HP-5MS τριχοειδής silica, με χαρακτηριστικά 30m x 0.32mm i.d. x 0.25 µm.

Το κάθε δείγμα εισήχθη με ένεση 1.0 µL σε split mode 100:1. Το φέρον αέριο είναι He με ρυθμό ροής 1.0 mL/min. Η ανάλυση διεξήχθη σύμφωνα με το παρακάτω θερμοκρασιακό πρόγραμμα: παραμονή στους 50°C για 2.5 min, αύξηση στους 180 °C με ρυθμό 2.5 °C/min και από τους 180°C στους 230°C με ρυθμό 2 °C/min και αύξηση στους 250 °C με ρυθμό 6 °C/min. Παραμονή στους 250°C για 5 min και τέλος αύξηση στους 270 °C με 5 °C/min και παραμονή για 2 λεπτά στους 270 °C. Η θερμοκρασία του θαλάμου μεταφοράς ρυθμίζεται στους 280 °C. Η φασματοσκοπία μάζας λειτουργεί στην ρύθμιση ιονισμού (EI) με τάση ιονισμού 70 eV σε εύρος μάζας 40-550 amu και σε θερμοκρασία 270 °C. Τα φάσματα μάζας αναλύθηκαν και οι επιθυμητές ενώσεις ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τη βιβλιοθήκη δεδομένων φασματοφωτομετρικών μαζών (NIST 2000). Η ποσοτικοποίηση πραγματοποιήθηκε σε κλίμακα mg/L.

7 ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

ΕΝΩΣΕΙΣ		Μ.Ο	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	Μ.Ο	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	Μ.Ο	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	Μ.Ο	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	Μ.Ο	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
ΑΛΚΟΟΛΕΣ	Isoamyl alcohol/ 1-Butanol, 3- methyl-	18.49	0.283	28.14	0.368	27.11	0.739	12.33	0.145	14.24	0.279
	1-Pentanol, 3- methyl-	0.06	0.008	0.19	0.025	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	3-Hexen-1-ol	0.35	0.075	0.39	0.021	0.00	0.000	0.11	0.028	0.02	0.000
	1-Hexanol	0.48	0.010	0.00	0.000	0.30	0.004	0.25	0.000	0.27	0.011
	1-Hexanol, 2- ethyl-	0.03	0.005	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.01	0.004
	1-Propanol, 3- (methylthio)-	0.25	0.013	0.34	0.007	0.05	0.035	0.09	0.008	0.07	0.007
	Benzyl alcohol	0.65	0.010	0.96	0.021	0.67	0.021	0.78	0.025	0.75	0.025
	Phenylethyl Alcohol	28.30	0.455	34.97	0.357	24.70	0.127	9.88	0.516	11.64	0.732
	Benzeneethanol, 4-hydroxy-/ Tyrosol	2.88	0.310	3.70	0.180	1.76	0.085	1.35	0.110	1.40	0.021
	Tryptophol	0.41	0.028	0.54	0.011	0.31	0.014	0.71	0.067	0.24	0.011
	L- α -Terpineol	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.28	0.014
ΕΣΤΕΡΕΣ	Propanoic acid, 2- methyl-, ethyl ester	0.04	0.007	0.09	0.007	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	Butanoic acid, 3- hydroxy-, ethyl ester	0.03	0.007	0.02	0.007	0.02	0.007	0.03	0.007	0.02	0.004
	Butanoic acid, ethyl ester	0.04	0.011	0.04	0.007	0.00	0.000	0.41	0.039	0.14	0.018
	Butanoic acid, 3- methyl-, ethyl ester	0.00	0.000	0.22	0.000	0.00	0.000	0.48	0.042	0.00	0.000
	Hexanoic acid, ethyl ester	0.24	0.011	0.50	0.028	1.70	0.308	0.78	0.120	1.05	0.067
	2-Furancarboxylic acid, ethyl ester	0.06	0.000	0.07	0.011	0.07	0.000	0.01	0.004	0.00	0.000
	Pentanoic acid, 2- hydroxy-4-methyl- , ethyl ester	0.07	0.011	0.16	0.021	0.06	0.011	0.00	0.000	0.00	0.000
	Butanedioic acid, diethyl ester	9.44	0.608	14.69	0.891	5.82	0.067	0.80	0.028	0.93	0.004
	Butanedioic acid, hydroxy-, diethyl ester, (\pm)-	3.65	0.530	6.26	0.134	2.48	0.085	0.87	0.081	0.54	0.035
	Succinic acid, 2- hydroxy-3-methyl- , diethyl ester	0.75	0.106	1.02	0.004	0.46	0.049	0.25	0.025	0.35	0.106
	Benzene acetic acid, 4-hydroxy-, ethyl ester	0.04	0.025	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	p-Coumaric acid ethyl ester	0.17	0.039	0.20	0.011	0.23	0.000	0.55	0.078	1.24	0.025

	2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-ethylhexyl ester	0.47	0.237	0.00	0.000	0.00	0.000	0.30	0.145	0.36	0.173
	Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	0.10	0.067	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.12	0.004
	Formic acid, 3-methylpentyl ester	0.00	0.000	0.73	0.011	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	Decanoic acid, ethyl ester	0.00	0.000	0.15	0.011	0.00	0.000	0.39	0.025	0.34	0.018
	Octanoic acid, ethyl ester	0.00	0.000	0.00	0.000	8.46	0.912	3.76	0.813	5.60	0.598
	Acetic acid, 2-phenylethyl ester	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.32	0.049	0.56	0.067
	Trifluoroacetic acid, heptyl ester	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.35	0.180
	2-Propenoic acid, octyl ester	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.06	0.007
	Acetic acid, hexyl ester	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.02	0.007
	-Propenoic acid, 3-(phenylthio)-, ethyl ester	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	Ethyl hydrogen succinate	64.60	10.568	67.76	2.238	24.17	0.813	5.19	0.491	8.77	1.266
	1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0.04	0.007	0.07	0.014	0.07	0.014	0.63	0.011	0.64	0.071
OΞEA	Hexanoic acid	0.20	0.046	0.00	0.000	0.00	0.000	2.04	0.152	0.99	0.148
	Butanoic acid	0.05	0.011	0.15	0.035	0.00	0.000	0.00	0.000	0.29	0.078
	Butanoic acid, 3-methyl-	0.27	0.042	0.00	0.000	0.00	0.000	0.16	0.007	0.10	0.000
	Butanoic acid, 2-methyl-	0.46	0.240	0.00	0.000	0.00	0.000	0.05	0.035	0.06	0.004
	n-Decanoic acid	0.23	0.039	0.84	0.057	0.49	0.053	3.30	0.071	2.05	0.039
	n-Hexadecanoic acid	1.20	0.223	1.18	0.011	0.75	0.081	1.21	0.127	1.42	0.279
	Octadecanoic acid	0.86	0.113	0.84	0.018	0.40	0.046	0.95	0.099	0.88	0.202
	3-Decenoic acid, (E)-	0.25	0.028	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	Benzenepropanoic acid, α-(1-hydroxyethyl)-	0.96	0.039	1.11	0.011	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	p-Coumaric acid	0.48	0.230	0.00	0.000	0.51	0.276	0.62	0.018	0.90	0.067
	Tetradecanoic acid	0.00	0.000	0.00	0.000	0.05	0.007	0.05	0.035	0.13	0.018
	Octanoic acid	0.00	0.000	0.00	0.000	0.67	0.074	3.31	0.792	3.28	0.067
	Dodecanoic acid	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.07	0.011	0.00	0.000
	4-Acetoxy-3-methoxycinnamic acid	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.07	0.011	0.00	0.000
	Pentadecanoic acid	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.04	0.007	1.96	0.103
KETONEΣ	2H-Pyran-2,6(3H)-dione	0.24	0.042	0.60	0.018	0.32	0.028	0.09	0.004	0.04	0.007

	Mesitylene	0.17	0.110	0.15	0.106	0.00	0.000	0.09	0.060	0.01	0.007
ΑΛΚΕΝΙΑ	1-Propene, 1-(methylthio)-, (E)-	0.06	0.039	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
ΤΕΡΠΕΝΙΑ	Squalene	0.67	0.046	1.11	0.177	0.89	0.071	1.11	0.141	0.68	0.053
ΑΛΔΕΥΔΕΣ	3-Furaldehyde	0.20	0.141	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	Furfural	0.39	0.276	0.97	0.004	0.67	0.014	0.00	0.000	0.15	0.106
	L-Lyxose	0.00	0.000	0.03	0.021	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
	Methylal	0.00	0.000	0.18	0.004	0.11	0.078	0.05	0.035	0.00	0.000

8 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ύστερα από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία των δειγμάτων ταυτοποιήθηκαν 60 πτητικές ενώσεις, μεταξύ των οποίων 12 αλκοόλες, 24 εστέρες, 15 λιπαρά οξέα, 2 κετόνες, 1 αλκένιο, 1 τερπένιο και 4 αλδεΐδες.

Συγκρίνοντας με τη βιβλιογραφία που έχει αναφερθεί στο θεωρητικό μέρος και τις έρευνες των Karaklis et al 2014, Ribereau Gayon et al 2006, Sapala A. Cieslak D. 2019, Smyth et al 2005, Simpson RF 1984 και Gunzler et al 2000 ανιχνεύθηκαν πολλές κοινές ενώσεις.

Σύμφωνα με την έρευνα των Karaklis et al 2014, ανιχνεύθηκε ισοαμυλική αλκοόλη και 2-φαινυλαιθανόλη σε υψηλή τιμή άνω του ορίου οσμής, 30 mg/L. Αντίστοιχα στα δείγματα που αναλύσαμε ανιχνεύθηκαν οι ενώσεις αυτές σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις. Συγκεκριμένα, στα δείγματα του Γεωπονικού Παν. Αθηνών (Αμύνταιο, Κιθαιρώνα και Ορεινή Αιγιαλεία) ανιχνεύθηκε ισοαμυλική αλκοόλη σε συγκεντρώσεις 18,485 mg/L, 28,14 mg/L, 27,105 mg/L και φαινυλαιθανόλη 28,3 mg/L, 34,965 mg/L και 24,7 mg/L αντίστοιχα. Στα δείγματα του εμπορίου (ΑΑ. Sokos και Πελοποννήσου) ανιχνεύθηκαν και οι 2 ενώσεις αλλά σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, συγκεκριμένα 12,33 mg/L και 14,24 mg/L η ισοαμυλική αλκοόλη και 9,88mg/L, και 11,64 mg/L η φαινυλαιθανόλη. Επίσης στην ίδια έρευνα είχε ανιχνευθεί η 1-εξανόλη σε χαμηλή συγκέντρωση, όπως και στα δείγματα μας, με μόνη διαφορά το δείγμα οίνου του Γεωπονικού (Κιθαιρώνα), στο οποίο η συγκεκριμένη ένωση δεν ανιχνεύθηκε. Τέλος, στην ίδια έρευνα, είχε ανιχνευθεί η τυροσόλη σε τιμή έως 0,5 mg/L. Τα δύο πρώτα δείγματα του Γεωπονικού (Αμύνταιο, Κιθαιρώνα) ξεπέρασαν τη συγκέντρωση 2,5 mg/L, ενώ στα υπόλοιπα η τυροσόλη βρέθηκε σε πιο μικρές συγκεντρώσεις.

Επιπρόσθετα, η 3-εξεν-1όλη στο δείγμα της Μαλαγουζιάς του Αμύνταιου και του Κιθαιρώνα έδειξε ένα μικρό ποσοστό συγκέντρωσης, ενώ στα υπόλοιπα η συγκέντρωση της ήταν απειροελάχιστη. Ακολούθως, η 1-προπανολ-3-μεθύλιο στα δείγματα Κιθαιρώνα και Αμύνταιου οι συγκεντρώσεις τους είναι 0,34 mg/L και 0,35 mg/L, ενώ τα υπόλοιπα δείγματα έχουν πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Τέλος, η τρυπτοφόλη σε κανένα από τα δείγματα δεν ξεπερνά το 1 mg/L.

Στη συνέχεια, σύμφωνα με την έρευνα που έχει γίνει από τους Sapala A. Cieslak D. 2019, στα δείγματα Μαλαγουζιάς που αναλύθηκαν βρέθηκε οκτανοϊκός αιθυλεστέρας σε συγκέντρωση 2,84 mg/L, ενώ στα δυο πρώτα δείγματά του ΓΠΑ (Αμύνταιο, Κιθαιρώνα) δεν είχε ανιχνευθεί καθόλου σε σχέση με τα υπόλοιπα (Αιγιαλείας, ΑΑ. Sokos, Πελοποννήσου). Ακόμη στην ίδια έρευνα βρέθηκε εξανοϊκός αιθυλεστέρας σε συγκέντρωση 0,76 mg/L. Η ένωση αυτή ταυτοποιήθηκε και στα δικά μας δείγματα σε ανάλογες συγκεντρώσεις. Επιπρόσθετα, ανιχνεύθηκε και ο δεκανοϊκός αιθυλεστέρας σε χαμηλή συγκέντρωση 0,44mg/L με μόνη διαφορά ότι στη δική μας έρευνα δεν είχε βρεθεί σε δυο δείγματα (Αμύνταιο, Αιγιαλεία). Τέλος,

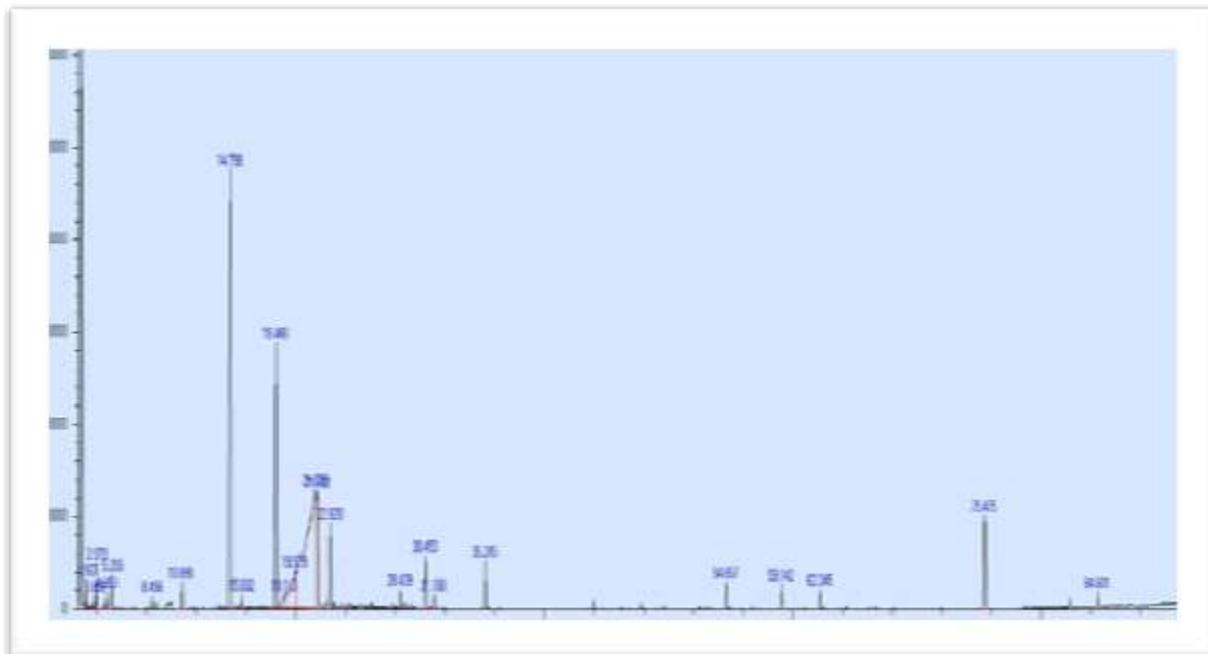
γίνεται αναφορά στην παρουσία 3-υδροξυβουτανοϊκού αιθυλεστέρα στην έρευνα του Sapala A. Cieslak D. 2019 χωρίς προσδιορισμό της συγκέντρωσης. Η ίδια ένωση εντοπίστηκε και στα δικά μας δείγματα με μόνη διαφορά τις συγκεντρώσεις, συγκεκριμένα τα δείγματα του Γεωπονικού είναι σε υψηλότερη συγκέντρωση σε σχέση με του εμπορίου. Επιπρόσθετα, με βάση την έρευνα του Karaklis et al 2014, βρέθηκε οξικός-2-φαινυλεστέρας σε συγκέντρωση 0,39 mg/L. Παρόλα αυτά στα δικά μας δείγματα είχε εντοπισθεί μόνο στα δείγματα του εμπορίου και σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις, 0,32 mg/L και 0,555 mg/L αντίστοιχα.

Ακολούθως, ο κουμαρικός αιθυλεστέρας εντοπίστηκε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα δείγματα του Γεωπονικού Παν. Αθηνών σε σύγκριση με τα δείγματα του εμπορίου. Ακόμη, ο 2-φαινυλαιθυλεστέρας του οξικού οξέος εντοπίστηκε μόνο στα δείγματα του εμπορίου και καθόλου σε αυτά του ΓΠΑ.

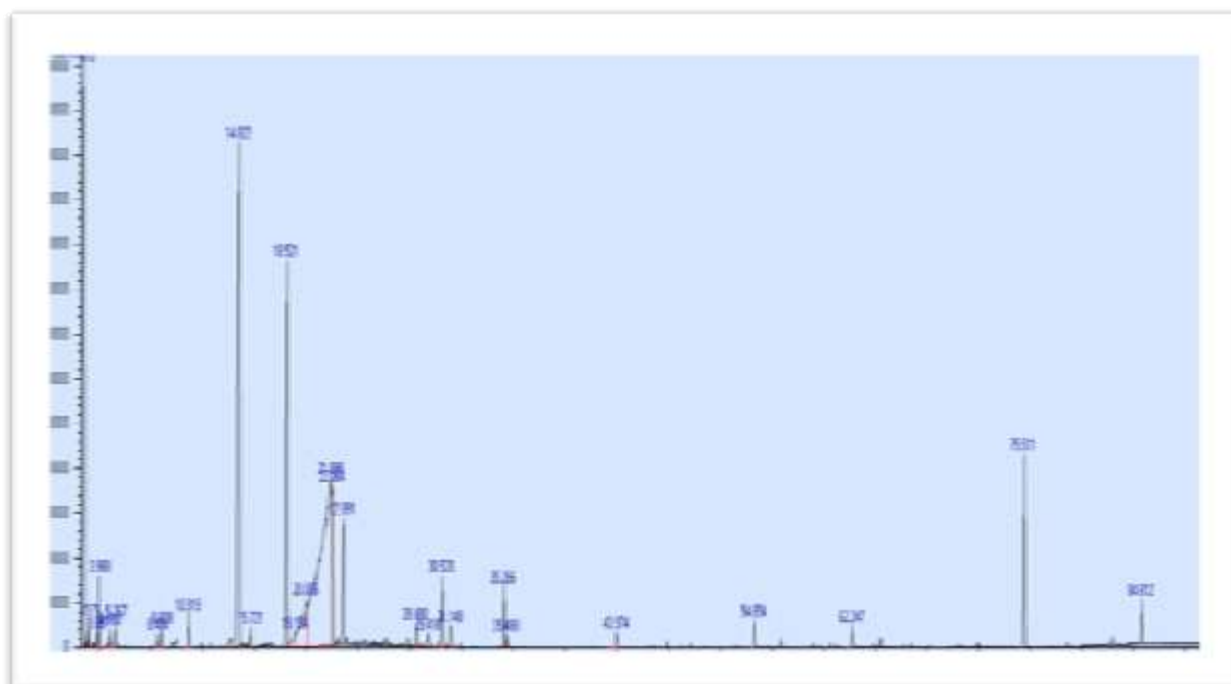
Όσον αφορά την έρευνα του Karaklis et al 2014, ανιχνεύθηκε το οκτανοϊκό οξύ σε συγκέντρωση 6,13 mg/L, ενώ στη δική μας έρευνα ανιχνεύθηκε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, καθώς δεν εντοπίστηκε σε δυο δείγματα του Γεωπονικού (Αμύνταιο, Κιθαιρώνας). Έπειτα, από τους Karaklis et al 2014 και Smyth et al 2005 σε δείγματα Μαλαγουζιάς που αναλύθηκαν βρέθηκε το εξανοϊκό οξύ και το δεκανοϊκό οξύ σε συγκεντρώσεις 3 mg/L. Ενώ στα δείγματά μας ανιχνεύθηκε το εξανοϊκό οξύ σε παρόμοιες τιμές, με εξαίρεση του Γεωπονικού (Αμύνταιο, Κιθαιρώνα) όπου δεν είχαν ανιχνευθεί και το δεκανοϊκό οξύ σε πιο υψηλές τιμές του Εμπορίου από το Γεωπονικό. Επιπλέον, μέσα από την έρευνα του Smyth et al 2005 και Simpson RF 1984 βρέθηκαν εξαδεκανοϊκό οξύ και βουτανοϊκό οξύ σε τιμή 0,22 mg/L. Το εξαδεκανοϊκό οξύ βρέθηκε στα δείγματά μας σε εξαιρετικά υψηλότερες τιμές ενώ το βουτανοϊκό οξύ σε ανάλογες συγκεντρώσεις, με εξαίρεση την Μαλαγουζιά του εμπορίου ΑΑ. Sokos που δεν είχε ανιχνευθεί καθόλου. Εν κατακλείδι, στην έρευνα του Gunzler H. 2000 εντοπίστηκε δωδεκανοϊκό και 2-μεθυλοβουτανοϊκό οξύ, όπως και στα δείγματά μας. Συγκεκριμένα, το δωδεκανοϊκό οξύ βρέθηκε μόνο στο δείγμα του εμπορίου ΑΑ. Sokos ενώ το 2-μεθυλοβουτανοϊκό οξύ εντοπίστηκε μόνο στο εμπορίου (ΑΑ. Sokos, Πελοποννήσου). Ωστόσο, οι συγκεντρώσεις στα δείγματα του Γεωπονικού σε σχέση με τα δείγματα του εμπορίου όσον αφορά το κουμαρικό οξύ είναι υψηλότερες.

Με βάση την τελευταία έρευνα που έχει γίνει από τον Sapala A. Cieslak D. 2019 βρέθηκε η καρβονυλική ένωση, φουρφουράλη στην τιμή 0,22 mg/L. Ταυτόχρονα, στα δείγματά μας εντοπίστηκε σε υψηλότερη συγκέντρωση του Γεωπονικού σε σχέση και με της έρευνας και του εμπορίου, με εξαίρεση το δείγμα ΑΑ. Solos όπου δεν είχε εντοπισθεί.

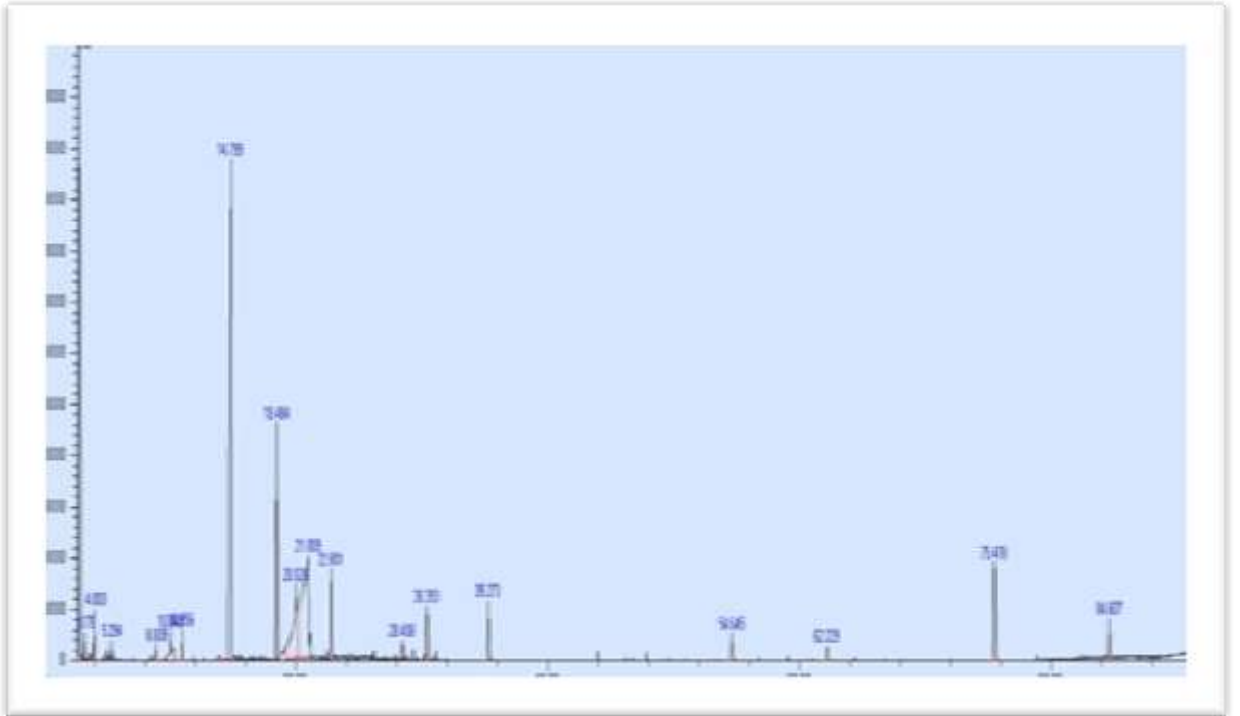
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 : ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ



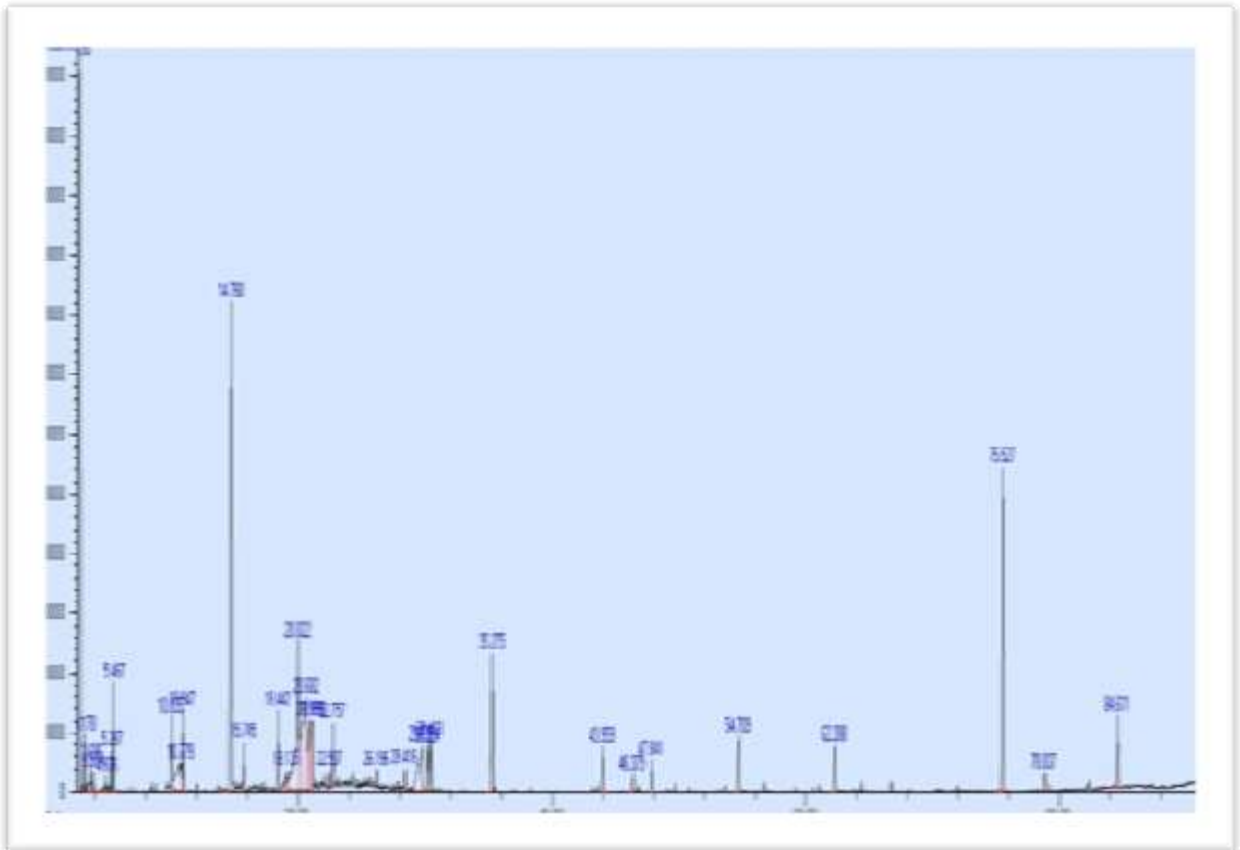
Εικόνα 8: Χρωματογράφημα του 1^{ου} δείγματος



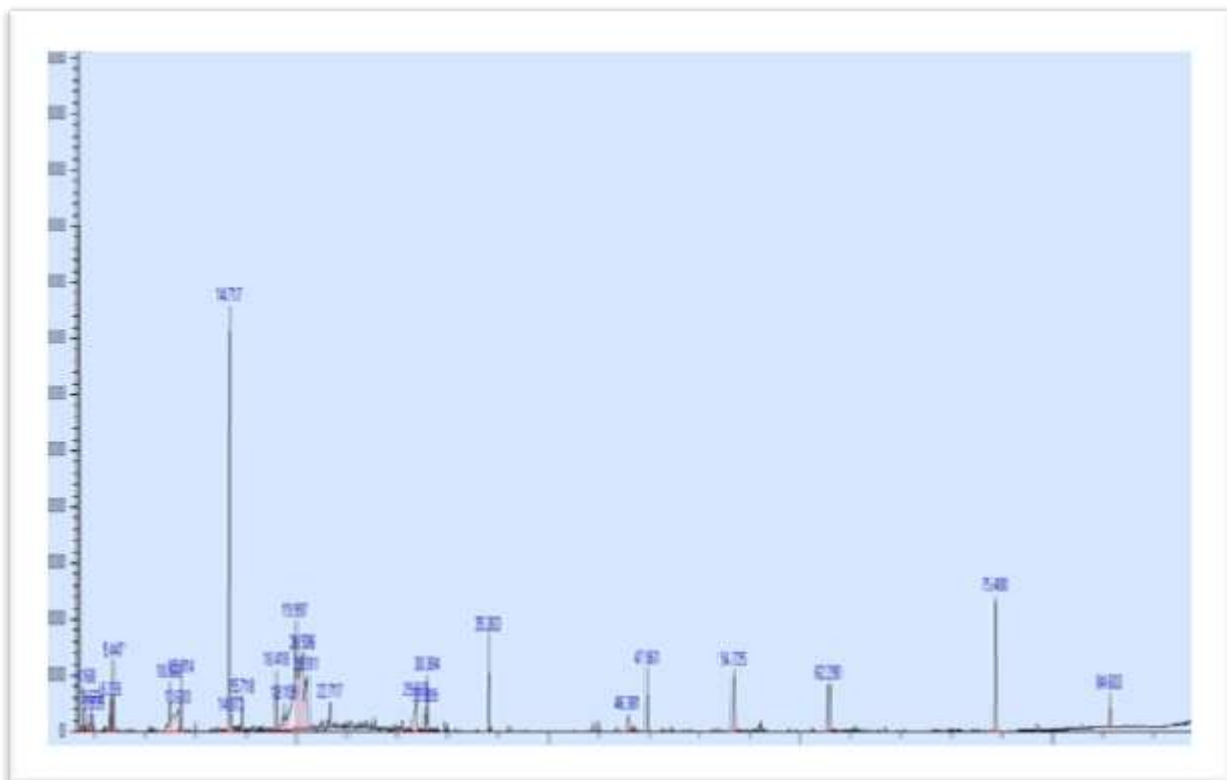
Εικόνα 9: Χρωματογράφημα του 2^{ου} δείγματος



Εικόνα 10: Χρωματογράφημα του 3^{ου} δείγματος



Εικόνα 11: Χρωματογράφημα του 4^{ου} δείγματος



Εικόνα 12: Χρωματογράφημα του 5^{ου} δείγματος

9 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

1. Αλεξάνδρου, Ν. Ε & Βαρβόγλη, Α. Γ. (1986) Οργανική Χημεία. Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις: Ζήτη
2. Θεοδωρίδης Γ., Φασματομετρία Μαζών σε Ειδικές και Διαχωριστικές Μέθοδοι Ανάλυσης, εκδ. Ζήτη, Θεσσαλονίκη.
3. Κουράκου Σ. (2016) – ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ: Η Σταχτοπούτα των Ελληνικών κρασοστάφυλων, Εκδόσεις: Φοίνικα
4. Κοτρίδου Σοφία (2020) – «Μελέτη του αρώματος της Μαλαγουζιάς», Μεταπτυχιακή Διατριβή, Αθήνα. Ελλάδα
5. Καλοπέτρη, Μ. (2009). Ανάπτυξη Κοινής Μεθόδου Προσδιορισμού του Υδριτή Της Χλωράλης και της 1,3-Διχλωρο-2-Προπανόλης στο Πόσιμο Νερό με τη Συνδυασμένη Τεχνική της Αέριας Χρωματογραφίας – Φασματομετρίας Μαζών. Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης Περιβαλλοντική Πολιτική και Διαχείριση. Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου.
6. Κουμπάρης, Μ.Α. & Χατζηιωάννου, Θ.Π. (2015). Κεφ.13: Φασματομετρία Μαζών, κεφ.15: Διαχωρισμός με εκχύλιση: Εκχύλιση Στερεάς Φάσης, κεφ.19: Αέρια Χρωματογραφία. Στο Ενόργανη Ανάλυση. (σσ. 334-364, 389-390, 439-466). ΑΘΗΝΑ: Εκτύπωση – βιβλιοδεσία ΓΕΩΡΓΙΟΣ Α. ΓΚΕΛΜΠΕΣΗΣ.
7. Μαλλούχου Α. (2003) – Μελέτη δευτερογενούς αρώματος με GC/MS Οίνων που παράγονται με ακινητοποιημένα κύτταρα, Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Χημείας - Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα. Ελλάδα
8. Ντουρτόγλου Ε. (2020) – Σημειώσεις μαθήματος: «ΧΗΜΕΙΑ ΟΙΝΩΝ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ, ΠΗΗΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΕΛΑΤΤΩΜΑΤΑ», Αρωματικές ενώσεις
9. Παπαδογιάννης, ΙΝ., Σαμανίδου, Β.Φ., Ενόργανη Χημική Ανάλυση, Θεσσαλονίκη 2001.
10. Ρίζου Σ. (2008) – Μελέτη επίδρασης της άρδευσης στο αρωματικό δυναμικό των σταφυλιών από την ποικιλία *Vitis Vinifera* cv Cabernet Sauvignon, με προσδιορισμό της δεσμευμένης μέσω γλυκοσιζιτικών δεσμών με ενώσεις μη φαινολικού τύπου γλυκόζης (rhenol free glycosyl-glucose), Διπλωματική εργασία, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη. Ελλάδα
11. Σουφλερός Ε. (2015) – ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ: Επιστήμη και Τεχνογνωσία, Θεσσαλονίκη
12. Τσακίρης Α. (2017) – Από το σταφύλι στο κρασί, Εκδόσεις: Ψυχάλου
13. Χατζηιωάννου, Θ.Π, Κουμπάρης, Μ.Α., Ενόργανη Ανάλυση, Αθήνα 2003. Αργυρόπουλος, Ν., Βαρέλλα, κ.α. Σημειώσεις Πειραματικής Οργανικής Χημείας – Α', Α.Π.Θ., 1997./'

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

14. Allen MS, Lacey, MLJ, Boyd, S (1994) Determination of methoxypyrazines in red wines by stable isotope dilution gas chromatography – mass spectrometry. *Food and Agriculture Organization of the United Nations* 42 1734-1738
15. Bayonove C., Cordonier R., Dubois P., (1975) Etude d' une fraction caractéristique fraction of the aroma of raisins of Cabernet Sauvignon variety; mise en proof de la 2- methoxy-3-isobutylpyrazine. *Comptes Rendus de l' Academie des Science Paris Ser: A.* 281 75-78
16. Coetzeem C. du Toit, JW (2012) A comprehensive on Sauvignon blanc aroma with a focus on certain positive volatile thiols *Food Research International* 45 287-298
17. Capone, D.L., Sefton, M.A., Hayasaka, Y. & Jeffery, D.W. (2010). Analysis of Precursors to Wine Odorant 3-Mercaptohexan-1-ol Using HPLC-MS/MS: Resolution Quantitation of Diastereomers of 3-S-Cysteinylhexan-1-ol and 3-S-Glutathionylhexan-1-ol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 58(3): 1390-1395
18. Du Plessis, CS, Augustyn, OPH (1981) Initial study on Chenin Blanc guava aroma and Kramp wines. *South Africa Journal of Enology & Viticulture* 2 101-103
19. Dittrich, H., H, Grossman, M (2011) *Microbiologie des Weisen*, Germany. Ulmer Eugen Vela Stuttgart ISBN 978-3-8001-6989-4
20. Darriet, P., Lavigne. V., Boirdon, J.N and Dubourdieau, D., (1991). Characterisation de l' aromaevarietal des vins de Sauvignon par couplage chromatographie en phase gazeuse-odometrie. *Journal International des Science de la Vigne et du Vin.* 25:167
21. Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boirdon, J.N. and Dubourdieu, D. (1993). Mise en evidence dans le raisin de *Vitis vinifera* (var. Sauvignon) d'un precurseur de la 4-mercapto-4-methylpentan-2-one. *Comptes rendus de l' Academie des Sciences.* 316: 1332
22. Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boirdon, J.N. and Dubourdieu, D. (1995). Identification of powerful aromatic of *Vitis Vinifera* L. var. Sauvignon wines: 4-mercapto-4methylpentan-2-one. *Flavour and Fragrance Journal.* 10: 385-392
23. Discovery, Analysis and Applications. *Chemical Reviews.* 111 (11): 7355-7376
24. Fedrizzi, B., Pardon, K.H., Sefton, M.A., Elsey, G.M. & Jeffery, D.W. (2009). First identification of 4-S-glutathionul-4-methylpentan-2-one, a potential precursor of 4-mercapto-4-methylpentan-2-one, in Sauvignon Blanc juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 57: 991-995
25. Gunzler H., *Analytiker-Taschenbrunch* 21, Springer DE , σελ.39, 2000, ISBN 3-540-66232-4
26. Gc-ms [Agilent 7890B GC/MS System With 5977A \(americanlaboratorytrading.com\)](http://www.americanlaboratorytrading.com)

27. Haris, RLW , Lacey , MJ, Brown, WV, Allen, MS (1987) Determination of 2-methoxy-3-alkolpyrazines in wine by gas chromatography, mass spectrometry *Vitis* 26 201-207
28. Kapaklis A. (2014). Impact of specific volatile thiols on varietal aroma of wines produced from Greek and some international grape varieties. Doctoral thesis. Institute for Phytopathology, Justus Liebig University of for Phytopathology, Justus Liebig University of Giessen
29. Kobayashi, H., Takase, H., Suzuki, Y., Tanzawa, F., Takata, R., Fujita, K., Kohno, M., Mochizuki, M., Suzuki, S. & Konno, T. (2010b). Environmental stress enhances biosynthesis of flavor precursors, s-3-(hexan-1-ol)-glytathione and s-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine, in grapevine through glutathione S-transferase activation. *Journal of Experimental Botany*. 62: 1325-1336
30. Lacey, MJ, Allen, Ms Harris, RLN (1991) Methoxy pyrazines in Sauvignon Blanc grapes and wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 42 103-108
31. Lavin, EH, Acree, TE (1992) Gas chromatography – alkylmethoxypyrazine gas chromatography in wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 43 392
32. LLE: [Asset 1 \(kinstacdn.com\)](http://kinstacdn.com)
33. Murat, M.L., Masneuf, I., Darriet, P., Lavigne, V., Tominaga, T. & Dubourdieu, D.(2001a). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains on the liberatin of volatile thiols in Sauvignon Blanc wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 52: 136-139
34. Makhotkina, O., Pineau, B, & Kilmartin, P.a. (2012). Effect of storage temperature on the chemical composition and sensory profile of Sauvignon Blanc wines. *Australian Society of Vilticulture and Oenology*. 18:91-99
35. McCabe W.L, Smith J.C., Harriot P. “Basic Physical Engineering Processes”, 3rd ed. Tziola Publications, Thessaloniki 2003
36. Muller E., Berger R. Blass E, Sluyts D. ”Liquid-Liquid Extraction”, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, Weinheim 2005.
37. McNair, H., Miller, J. (1998) *Basic Gas Chromatography*, John Wiley & Sons, Inc. United States of America.
38. Pineau, B., Barbe, JC van Leeuwen, C., Doubourdieu, D., (2007) What effect of b-Damascenone red wine aroma, *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 55 4103-4108
39. Roland, A., Scheider, R., Razungles, A., Cavelier, F., (2011). Varietal thiols in wine
40. Roland A., Scheider, R, Razungles, A., Cavelier, F. (2011). Varietal thiols in wine: Discovery, Analysis and Applications. *Chemical Reviews*. 111(11):7355-7376
41. Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006). *Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of wine Stabilization and Treatmentss*. England: JohnWiley & Sons Ltd.
42. Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., *Variety aroma in the Blessing Handbook, Volume 2: Thee chemistry of Wine and Stabilization and Treatments*. John Wiley & Sons: New York, 187-206,2000

43. Roland A., Schneider R., Razungles A., (2011) Varietal Thiols in Wine: Discovery, Analysis and Applications
44. Roland, A., Scheneider, R., Le Guerneve, C., Razungles, A. & Cavelier, F. (2010b). Identification and quantification by LC-MS/MS of a new precursor of 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) using stable isotope dilution assay: Elements for understanding the 3MH production in wine. *Food Chemistry*. 121: 847-855
45. Roland, A., Vialaret, J., Moniatte, M., Rigou, P., Razungles, A., & Schneider R., (2010C) Validation of a nanoliquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the identification and the accurate quantification by isotopic dilution of glutathionylated and cysteinylated precursors of 3-mercaptohexan-1-ol and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in white grape juices. *Journal of Chromatography A*. 1217: 1626
46. Roland, A., Schneider, R., Le Guerneve, C., Razungles, A., & Cavelier, F., (2010a). Straightforward synthesis of deuterated precursors to demonstrate the biogenesis of aromatic thiols in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(19): 106849-9
47. Sapala A., Cieslak D. (2019) – «Comparison of the aroma profile of unstudied Greek wine Malagouzia with worldwide known Chardonnay wine», University of West Attica – Department of Oenology and Beverage Technology, Athens. Greece
48. Song M., Fuentes C., Loos A., Tamasiano E., Free monoterpene isomer profile at *Vitis Vinifera* L. cv white wines, MDPI, *Foods* 2018,7,27
49. Simpson RF, Miller GC, Chardonnay wine aroma composition the Australian wine Research Institute 23, 143-158, 1984
50. Smyth, HE, The synthetic base of the aroma of Riesling wines and wood Chardonnay 1091, University of Adelaide, 2005
51. Shreier, P., Drawert, F., Junken (1976) Identification of volatile constituents from grapes. *Journal of Agriculture & Food Chemistry* 24:331-336
52. Sefton, MA, Francis, IL, William, PJ (1993) The volatile composition of Chardonnay juices, A study with taste precursor analysis, *American Journal of Enology and Viticulture* 44 359-370
53. Socks, GL, Gates, MJ, Ferry, FX, Lavin, EH, Kurtz, AJ, Acree, TE (2012) Sensory threshold 1,1,6-trimethyl-1,2 dihydronaphthalene (TDN) and concentration in young Riesling. 60 2998-3004
54. Swiegers J.H., Pretorius I.S. (2007) Modulation of volatile compounds by wine years. *Appl Microbial Biotechnology* 74: 954-960
55. Segural, AM, Razungles, AJ, Riou, C. Salles, M, Baumes, RL (2004) Contribution of dimethyl sulfide aroma of Syrah and Grenache noir wines and evaluation of its potential in these grape varieties. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 52 7084-7093
56. Solomon, MR, Geue, J. Osidacz, P., Siebert (2010) Methanethiol aroma detection threshold study in white and red wine. *Technical Reviews AWRI* 186 8-10

57. Schneider, R., Charrier, F., Razungles, A. & Baumes, R. (2006). Evidence for an alternative biogenetic pathway leading to 3-mercaptohexanol and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in wines. *Analitica Chimica Acta*. 563: 58-64
58. Starkenman, C., Troccaz, M. & Howell, K. (2008). The role of cysteine and cysteine-S conjugates as odourprecursors in the flavor and fragrance industry. *Flavour anf Fragrance Journal*. 23: 369-381
59. Tominaga, T., Niclass, Y., Frerot, E., Dubourdieu D. (2006). Stereoisomeric distribution of 3-mercaptohexanol-1-ol and 3-mercaptohexyl acetate in dry and sweet white wines made from *Vitis Vinifera* (Var. Sauvignon Blanc and Semillon). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (19): 7251-7255
60. Thibo, C., Dubourdieu, D., Darriet, P. & Tominaga, T. (2009). Impact of noble rot on the aroma precursos of 3-sulfanylhexanol content in *Vitis vinifera* L. cv Sauvignon Blanc and Semillon grape juice. *Food Chemistry*. 114: 1359-1364
61. Winterhalter, P., Sefton, M., A. Williams PJ (1990) Flying c-13 norisoprenoid compounds in Riesling wine is produced by many precursors *American Journal og Enology & Viticulture* 41 277-283
62. Winter, M., Furrer, A., Willham, B., Thommon, W., (1976). Indentificcation & Synthesis of two new organic sulfur compounds from the yellow passion fruit (*Pass flora eduilis f. flavicarpa*) *Helvetiaca chemical Acta*. 59. 1613
63. <https://www.google.gr/search?q=%CE%BB%CE%B9%CE%BD%CE%B1%CE%BB%CE%BF%CF%8C%CE%BB%CE%B7&hl=el&sxsrf=ALeKk03BAMQQJCV80akQprT9Zvamok6dFw:1604917386943&source=Inms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKUwi6gfiVn XsAhUKyoUKHSgDB kQ AUoAnoECBoQBA&biw=1536&bih=754#imgsrc=pmDv7NaJNe-r6M&imgdii=LsXECN5-w2r22M>
64. <https://www.google.gr/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.ypaithros.gr%2Fekdoseis%2Fmalagouzia-h-staxtopouta-twn-ellinikwn-krasostafilwn%2F&psig=AOvVaw2Lxb5suufkTZyGzU4N6AHv&ust=1617828582793000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCPC39aG 6u8CFQAA AAAdAAAAABAz>
65. <https://www.google.gr/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.enartis.com%2Fen-us%2Fenartisorisoprenoidseglantinechauffour2018%2F&psig=AOvVaw1S-3OgeTePO2A5YV8F2AB-&ust=1617749539559000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCLj2tu6Y6O8CFQAAAAAdAAAAABAD> (c-13)
66. <https://mk0labsocietya446109.kinstacdn.com/wpcontent/uploads/vectors/Hydrocarbon-Extraction-Article/liquid-liquidextraction-separatory-funnel>.