



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών στην
Επιστήμη Οίνου και Ζύθου
Κατεύθυνση: Οίνος**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση διαφορετικών γηγενών στελεχών *Saccharomyces cerevisiae* και non *Saccharomyces* ζυμών
στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας οίνου Αγιωργίτικο.

Του

ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ ΣΕΛΛΑ

Παρουσιάστηκε για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων για την απονομή του
Μεταπτυχιακού Τίτλου Σπουδών στο Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου & Ποτών
του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής

Επιβλέπων: Επ. Καθηγήτρια ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑ

ΑΘΗΝΑ, 2022



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA
SCHOOL OF FOOD SCIENCES
DEPARTMENT OF WINE, VINE & BEVERAGE SCIENCES**

**Master of Science in
Wine and Beer Science
Option: Wine**

Master Thesis

**Effect of different native strains of *Saccharomyces cerevisiae* and non
Saccharomyces yeasts on the organoleptic characteristics of the
Agiorgitiko wine.**

**By
VASILEIOS SELLAS**

Presented for the partial fulfillment of the obligations for the award of the
Master's Degree in the Department of Wine, Vine and Beverage Sciences
of the University of West Attica

Supervisor: Asst. Professor DIMOPOULOU MARIA

Athens, 2022

Διασαφήσεις

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο «Επίδραση διαφορετικών γηγενών στελεχών *Saccharomyces cerevisiae* και non *Saccharomyces* ζυμών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας οίνου Αγιωργίτικο.» που παρουσιάστηκε από τον ΒΑΣΙΛΕΙΟ ΣΕΛΛΑ και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

The signatories declare that we have examined the postgraduate diploma thesis titled “**Effect of different native strains of *Saccharomyces cerevisiae* and non *Saccharomyces* yeasts on the organoleptic characteristics of the Agiorgitiko wine.**” presented by **VASILEIOS SELLAS** and we affirm that it is accepted.

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 1ου Μέλους Επιτροπής
(Name and Signature of 1st Commission Member):**

Asst. Professor Δημοπούλου Μαρία.....

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 2^{ου} Μέλους Επιτροπής
(Name and Signature of 2nd Commission Member):**

Asst. Professor Αραπίτσας Παναγιώτης.....

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή 3^{ου} Μέλους Επιτροπής
(Name and Signature of 3rd Commission Member):**

Dr Ευαγγέλου Αλεξάνδρα.....

Με την υποβολή αυτής της διατριβής, δηλώνω ότι το σύνολο των εργασιών που περιέχονται σε αυτή είναι το δικό μου, πρωτότυπο έργο, ότι εγώ είμαι ο μοναδικός δημιουργός τους (εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά), ότι η αναπαραγωγή και η δημοσίευσή της από το Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής δεν θα παραβιάζει οποιαδήποτε δικαιώματα τρίτων και ότι δεν έχω υποβάλει στο παρελθόν το σύνολο ή μέρος αυτής για την απόκτηση οποιουδήποτε τίτλου.

By submitting this thesis, I declare that the entirety of the work contained therein is my own, original work, that I am the sole author thereof (save to the extent explicitly otherwise stated), that reproduction and publication thereof by University of West Attica will not infringe any third party rights and that I have not previously in its entirety or in part submitted it for obtaining any qualification.

**Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή Υποψηφίου
(Surname and first name of the candidate):**

ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΣΕΛΛΑΣ



Πνευματική ιδιοκτησία © 2020 Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής
Όλα τα δικαιώματα διατηρούνται

Copyright © 2022 University of West Attica
All rights reserved

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
<< ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΟΙΝΟΥ ΚΑΙ ΖΥΘΟΥ >>

Επίδραση διαφορετικών γηγενών στελεχών *Saccharomyces cerevisiae* και non *Saccharomyces* ζυμών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας οίνου Αγιωργίτικο.

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΣ ΦΟΙΤΗΤΗΣ: ΣΕΛΛΑΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ



Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Δημοπούλου Μαρία: Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστημών Αμπέλου, Οίνων και Ποτών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής (επιβλέπουσα)

Αραπίτσας Παναγιώτης: Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Επιστημών Αμπέλου, Οίνων και Ποτών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

Ευαγγέλου Αλεξάνδρα: Χημικός, Ακαδημαϊκή Υπότροφος, Τμήμα Επιστημών Αμπέλου, Οίνων και Ποτών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το Αγιωργίτικο είναι μια από τις σημαντικότερες Ελληνικές οινοποιήσιμες ποικιλίες σταφυλιού η οποία κατά βάση καλλιεργείται στην περιοχή της Νεμέας, η ανάγκη για ανάδειξη της διαφορετικότητας οδηγεί τους οινοποιούς στην αναζήτηση τρόπων που θα δώσουν ξεχωριστά κρασιά. Η διαχείριση του αμπελώνα, ο χρόνος τρύγου, η ζύμωση, η παλαίωση μπορούν να δώσουν ορισμένα στοιχεία διαφορετικότητας. Το βασικό στάδιο της οινοποίησης είναι η αλκοολική ζύμωση, κατά την οποία οι ζυμομύκητες μεταβολίζουν τα σάκχαρα σε αλκοόλη διοξείδιο του άνθρακα και πληθώρα δευτερογενών μεταβολιτών, οι οποίοι διαμορφώνουν την τελική ποιότητα του οίνου. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε γλεύκος από την ποικιλία Αγιωργίτικο το οποίο εμβολιάστηκε με διαφορετικά είδη και στελέχη ζυμομυκήτων με στόχο να εξεταστεί η επίδραση αυτών στην ποιότητα του παραγόμενου οίνου. Ο εμβολιασμός πραγματοποιήθηκε με είδη *Saccharomyces cerevisiae* το οποίο είναι και το πιο διαδεδομένο αλλά και είδη non *Saccharomyces* τόσο σε μεικτές καλλιέργειες όσο και σε μονοκαλλιέργειες των πρώτων. Σε όλους τους οίνους πραγματοποιήθηκαν οινολογικές αναλύσεις σύμφωνα με τα επίσημα πρωτόκολλα του OIV, εξετάστηκε το αρωματικό τους προφίλ με Αέρια Χρωματογραφία (GC/MS) και αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά από εκπαιδευμένο πάνελ δοκιμαστών. Οι διαφορές μεταξύ της συνθήκης με την μεγαλύτερη ποικιλομορφία εμβολιασμού σε σχέση με τις υπόλοιπες ήταν στατιστικά σημαντικές ιδιαίτερα στο κομμάτι της ανάλυσης των πτητικών ενώσεων, όπως οι ανώτερες αλκοόλες, λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας και τους εστέρες τους αλλά και σε οξικούς εστέρες. Όσο αφορά το οργανοληπτικό κομμάτι οι οίνοι που ζυμώθηκαν με ένα συγκεκριμένο στέλεχος *Saccharomyces cerevisiae* βαθμολογήθηκαν στο ίδιο επίπεδο με τους οίνους που εμβολιάστηκαν με μεικτές καλλιέργειες ζυμομυκήτων, γεγονός που αποδεικνύει την ετερογένεια μεταξύ των στελεχών και την σημαντικότητα της επιλογής του στελέχους του ζυμομύκητα για την διεξαγωγή της ζύμωσης.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Αγιωργίτικο, Ζυμομύκητες, Αλκοολική Ζύμωση, Αέρια Χρωματογραφία-Φασματομετρία Αερίου, Αισθητηριακός Έλεγχος

ABSTRACT

Agiorgitiko is one of the most important Greek wine grape varieties which is basically grown in the area of Nemea, the need to highlight the diversity leads winemakers in search of ways to produce unique wines. Vineyard management, harvest time, fermentation, aging can give some elements of diversity. The basic stage of vinification is the alcoholic fermentation, during which the yeasts metabolize sugars into alcohol, carbon dioxide and a variety of secondary metabolites, which shape the final quality of the wine. In the present work, must from the variety Agiorgitiko was used, which was inoculated with different species and strains of yeasts in order to examine their effect on the quality of the wine produced. Inoculation was carried out with *Saccharomyces cerevisiae* species which is the most common but also non *Saccharomyces* species in both mixed and monocultures of the former. All wines were subjected to oenological analyzes according to the official OIV protocols, their aromatic profile was examined by Gas Chromatography (GC / MS) and they were evaluated organoleptically by a trained panel of testers. The differences between the condition with the greatest diversity of vaccination compared to the others were statistically significant especially in the part of the analysis of volatile compounds, such as higher alcohols, medium chain fatty acids and acetates. Regarding the organoleptic part, the wines fermented with a specific strain of *Saccharomyces cerevisiae* were graded at the same level as the wines inoculated with mixed yeast cultures, which proves the heterogeneity between the strains and the importance of the selection of the strain at fermentation.

Key words: Agiorgitiko, Yeasts, Alcoholic Fermentation, Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Sensory Analysis

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την Κυρία Δημοπούλου Μαρία η οποία είναι επιβλέπουσα καθηγήτρια της εργασίας αυτής για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου αναθέτοντας μου το συγκεκριμένο

θέμα και για την στήριξη της σε όλη την διάρκεια υλοποίησης της εργασίας, καθώς και τους Κύριο Αραπίτσα Παναγιωτή και Κυρία Ευαγγέλου Αλεξάνδρα για την καθοδήγηση τους. Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω μέσα από την καρδιά μου την Κυρία Δρόσου Φωτεινή η οποία ήταν υπεύθυνη του εργαστηρίου που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των πτητικών ενώσεων, η βοήθεια και η στήριξη της ήταν αμέριστη και συνεχής σε όλη την διάρκεια της εργασίας. Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου για όλη την στήριξη και την εμπιστοσύνη στο όραμα μου για την δημιουργία μεγάλων οίνων και την ανάδειξη της ποικιλίας Αγιωργίτικο.

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1 Αμπελουργική Περιοχή Νεμέας	9
1.1.1 Γεωγραφικά Χαρακτηριστικά και Τρύγος	9
1.1.2 Υποπεριοχές	10
1.1.3 Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης	12
1.2 Αγιωργίτικο	15
1.2.1 Γενικά Χαρακτηριστικά	15
1.2.2 Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά	19
1.2.3 Αρωματικές Ενώσεις	22
1.2.4 Φαινολικές Ενώσεις	29
1.3 Ο ρόλος των μικροοργανισμών	30
1.3.1 Μικροβιακό Terroir	32
1.3.2 Επίδραση μικροοργανισμών στο αρωματικό προφίλ	34
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	37
2.1 Τρύγος Και Προζυμωτικές Διεργασίες	37
2.2 Αλκοολική Ζύμωση	38
2.3 Διαδικασία εκχύλισης	39
2.4 Ανάλυση αρωματικών συστατικών με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS)	40
2.5 Οργανοληπτικός Έλεγχος	41
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	41
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	67
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	71
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	72

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Αμπελουργική Περιοχή Νεμέας

1.1.1 Γεωγραφικά Χαρακτηριστικά και Τρύγος

Το υψόμετρο της ζώνης ξεκινά από 300 μέτρα και φτάνει ως τα 900, οι υψηλότεροι αμπελώνες φυτεύονται στα 850m στον Ασπρόκαμπο και το 20% των αμπελώνων βρίσκονται ανω των 500m. Το κλίμα εάν και μεσογειακό και ζεστό με 2000 Growing Degree Day (GDD: αναφέρονται στο άθροισμα της αποτελεσματικής θερμοκρασίας που συσσωρεύεται κατά την ανάπτυξη μιας καλλιέργειας, Liu *et al.*, 2020) στην πεδιάδα είναι πολύ πιο δροσερό από αυτό της Νάουσας και παρουσιάζει σημαντικές διαφορές ακόμη και σε μικρές αποστάσεις λόγω διακύμανσης υψόμετρου. Η βροχόπτωση είναι περίπου 750mm κυρίως τον χειμώνα βέβαια κάποιο συγκεκριμένο κανόνα, έτσι κάθε χρονιά επηρεάζεται στο μέγιστο. Υπάρχουν χρονιές με ελάχιστες βροχοπτώσεις (2007-408mm, 2008-515mm, 2013-541mm) αλλά και χρονιές με αρκετές (1999-908mm, 2010-872mm, 2014-826mm), επίσης ένας άλλος παράγοντας που κάνει το όλο θέμα πολύπλοκο είναι οι πολύ κρύες νύχτες.

Η παρουσία του πηλού και της λάσπης χαρακτηρίζει τα εδάφη, επίσης υπάρχει ασβεστόλιθος σχεδόν παντού αλλά σε διαφορετικό βάθος το οποίο δίνει ξεχωριστά χαρακτηριστικά στα κρασιά. Τα πεδινά εδάφη είναι πιο εύφορα αντίθετα όσο ανεβαίνουμε σε λόφους τα εδάφη γίνονται πιο ρηχά και με βραχώδη χαρακτηριστικά (τα καλύτερα εδάφη βρίσκονται στους πρόποδες των πλαγιών) που δίνουν χαμηλότερες αποδόσεις εξαιτίας της εξαιρετικής αποστράγγισης.

Συνηθίζεται ο ανεπίσημος διαχωρισμός σε 3 ζώνες οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα και το στύλ του παραγόμενου οίνου, για την πρώτη ζώνη, ορεινή (550-850m) παρατηρείται οψίμιση της παραγωγής με καθυστέρηση ωρίμανσης σε σχέση με τις άλλες δύο ζώνες. Η δεύτερη ζώνη ημιορεινή (320-550m) περιλαμβάνει κυρίως πλαγιές ενώ η τρίτη ζώνη (200-320m) είναι η πεδινή. Ο τρύγος ξεκινά στην πεδινή ζώνη μετά τα μέσα Σεπτεμβρη, ακολουθεί η ημιορεινή και 20-25 μέρες μετά την πεδινή η ορεινή (Karakasis Y. and Koundouras S., 2022).



Εικόνα 1. Το αμπελοοινικό τοπίο της κοιλάδας της Νεμέας από αεροφωτογραφία . Πηγη: greeksapes

1.1.2 Υποπεριοχές

Η ζώνη καθορίζεται από πολλές κοιλάδες:

- 1) Νεμέα (κεντρικό οροπέδιο) με υπόπεριοχές όπως ο Αχλαδιάς, Γαλατάς, Αηδόνια, Πετρί, Καλύβια κα
- 2) Αρχαίες Κλεωνές
- 3) Αρχαία Νεμέα
- 4) Λεόντιο-Γυμνό
- 5) Ασπρόκαμπος-Ψάρι
- 6) Κεφαλάρι-Κλιμέντι
- 7) Μαλανδρένι
- 8) Ξηρόκαμπος και άλλες όπως οι πλαγιές Κουτσίου, Δάφνη, Μποζικάς κα.

ΑΡΧΑΙΑ ΝΕΜΕΑ

Το υψόμετρο είναι στα 330m, εδάφη κυρίως από πηλό και ασβεστόλιθο σε βάθος μεγαλύτερο από 50cm, έχει κάποιες πλαγιές και τα εδάφη είναι λιγότερο βαριά και γόνιμα από τον κάμπο της Νεμέας. Είναι μια κοιλάδα στενή από τον βορρά προς το νότο με λόφους στην δυτική και ανατολική πλευρά, στις πλαγιές υπάρχει περισσότερο ανθρακικό ασβέστιο.

ΞΗΡΟΚΑΜΠΟΣ

Είναι μια προέκταση της Νεμέας, μια κοιλάδα που περικλείεται από λόφους, τα εδάφη είναι κόκκινα και αργιλώδη με καλή αποστράγγιση, το υψόμετρο είναι στα 300-340m και παράγει αρωματικές εκφράσεις της ποικιλίας.

ΚΟΥΤΣΙ

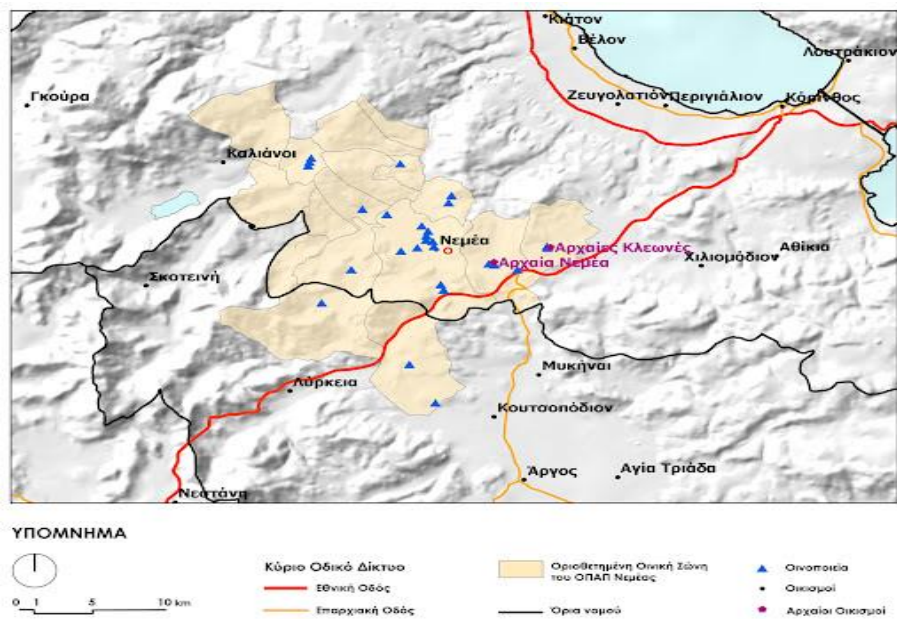
Περιλαμβάνει κυρίως δυτικές πλαγιές σε ύψος 350-500m, η έκθεση προσδίδει θερμότητα, ακόμη υπάρχει άφθονος ασβεστόλιθος στα 30-40cm κάτω από την επιφάνεια.

ΑΧΛΑΔΙΑΣ

Το υψόμετρο βρίσκεται στα 300m και η έκθεση είναι ανατολική, τα εδάφη σε αυτή την περιοχή αποτελούνται από αμμοχάλικο και προς το βουνό είναι περισσότερο βραχώδη.

ΑΠΡΟΚΑΜΠΟΣ

Το υψόμετρο ξεκινά από τα 700m και φτάνει ως και 850m. Στα 700m δεν έχουμε καλή αποστράγγιση και υπάρχει απουσία ασβεστόλιθου, στα 770m έχουμε όξινα εδάφη χωρίς καλή αποστράγγιση και στα 800m έχουμε την καλύτερη εκδοχή του Ασπρόκαμπου. Με αμπελώνες ακόμη και στα 850m έχει ένα από τα πιο δροσερά κλίματα της χώρας, με 15°C ημερήσια θερμοκρασία το χειμώνα και 20°C το καλοκαίρι πράγμα το οποίο είναι ζωτικής σημασίας για την διατήρηση της οξύτητας και την οικοδόμηση της τανίνης. Έχει 300 μονάδες GDD λιγότερες από την κλασική Νεμέα (κάμπος) καθώς και το καλοκαίρι η θερμοκρασία είναι 2-3 °C χαμηλότερη τόσο την μέρα όσο και την νύχτα. Έτσι λοιπόν καταλαβαίνουμε πως ο ασπρόκαμπος προσφέρει μια δυνατότητα αντιμετώπισης των ζεστών καλοκαιριών, λαμβάνοντας υπόψιν μας την τάση για αύξηση της θερμοκρασίας, η συγκομιδή πραγματοποιείται 15 ημέρες μετά από αυτή των κλασικών terroir της Νεμέας με μερικούς αμπελώνες σε πλαγιές να φτάνουν ως και 14 βαθμούς baume. Τα καλύτερα terroir είναι τα φτωχότερα εδάφη στις πλαγιές του λόφου, είναι γενικά εδάφη βαριά με λίγο ανθρακικό ασβέστιο που παράγουν εξαιρετικά κρασιά με την προϋπόθεση ότι η έκθεση τους να είναι προς το νότο ή την δύση. Η Νεμέα γύρω από τον Ασωπό έχει εδάφη βαριά που δεν αποστραγγίζουν καλά πράγμα που δεν βοηθά την ωρίμανση βέβαια υπάρχουν και περιοχές στα όρια του βουνού που έχουν πιο συναρπαστικά χαρακτηριστικά.



Εικόνα 2 Η ευρύτερη περιοχή της Νεμέας, οινοποιεία εντός ζώνης, όρια νομών

1.1.3 Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης

Η οριοθέτηση της περιοχής για την παραγωγή οίνων Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) Νεμέα καθορίστηκε από το Βασιλικό Διάταγμα αριθμού 539/4-8-1971 (ΦΕΚ 159/Α/14-8-1971) το οποίο τροποποιήθηκε αρκετές φορές με τελευταία σύμφωνα με Προεδρικό Διάταγμα αριθμού 21/21-1-1995 (ΦΕΚ 16/Α/31-1-1995). Αρχικά σαν ΠΟΠ Νεμέα αναγνωρίζονταν δύο τύπο οίνων, ερυθρός ξηρός και ερυθρός γλυκός από την ποικιλία Αγιωργίτικο, ενώ πλέον αναγνωρίζεται και ο ερυθρός ημίγλυκος. Ακόμη το 2006 ψηφίστηκε τροποποίηση της νομοθεσίας για την μη υποχρεωτική δωδεκάμηνη ωρίμανση των ΠΟΠ οίνων σε δρύινα βαρέλια επομένως πλέον κυκλοφορούν στην αγορά και οίνοι με λιγιστή ή και καθόλου παλαιώση. Ο ΠΟΠ Νεμέα οίνος είναι συνδεδεμένος με το μύθο του Ηρακλή για αυτό και η λαϊκή παράδοση αναφέρει το κρασί της Νεμέας ως το αίμα του Ηρακλή. Η συνολική έκταση της ζώνης ΠΟΠ Νεμέα περιλαμβάνει 27000 στρέμματα.

Οι οίνοι ΠΟΠ Νεμέα θα πρέπει να έχουν κάποια συγκεκριμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Όσον αφορά το χρώμα πρέπει να είναι φωτεινό, βαθύχρωμο ερυθρό με πορφυρές, ιώδεις και κυανές ανταύγειες και σπανιότερα κεραμιδί ή καφέ αποχρώσεις εάν έχει παλαιώσει για μεγάλο διάστημα. Το

άρωμα πρέπει να είναι αναπτυγμένο και σύνθετο με πολυπλοκότητα, η γεύση να είναι αρμονικά ισορροπημένη με μαλακό και πλούσιο σώμα και αρωματική επίγευση.

Ο ερυθρός ξηρός ΠΟΠ Νεμέα παράγεται με την παραδοσιακή τεχνική για τους ερυθρούς οίνους της περιοχής, για τον ημίγλυκο ΠΟΠ Νεμέα η γλύκανση γίνεται 2 τουλάχιστον μήνες μετά την απολάσπωση και ακολουθούνται τα όρια και οι προϋποθέσεις του κανονισμού 606/2009(Παρ.1Δ), ο γλυκός οίνος παράγεται με προσθήκη αλκοόλης αμπελοοινικής προέλευσης ή αποστάγματος οίνου σε γλεύκος σταφυλιών.

Πρέπει κάποιος να έχει περπατήσει σε αμπελώνες στην ευρύτερη περιοχή ώστε να κατανοήσει την ποικιλομορφία του terroir. Αξίζει να δοκιμάσει κρασιά από κάθε περιοχή της Νεμέας ώστε να διακρίνει το εύρος των διαφορετικών στοιχείων και πως αυτά αποτυπώνονται στα κρασιά. Η Νεμέα ανταγωνίζεται την Νάουσα σε πολυπλοκότητα του terroir, βασική διαφορά πως στην Νεμέα δεν δημιουργούνται κρασιά αποκλειστικά από συγκεκριμένα terroir ή ζώνες. Επίσης η εικόνα της Νεμέας έχει υποστεί υποβαθμισμό από τα φθηνά κρασιά που έχουν κατακλίσει την αγορά και βλάπτουν την φήμη της περιοχής. Τα τελευταία χρόνια πραγματοποιείται μια προσπάθεια από το Σύνδεσμο Οινοποιών Νεμέας για αναβάθμιση και ενίσχυση του ΠΟΠ Νεμέα με την εισαγωγή ενός ειδικού σήματος ποιότητας. Επομένως εκτός από την απλή Νεμέα και την Classic Νεμέα θα έχουμε και μια επιπλέον έκφραση η οποία θα προκύπτει από ένα σύνολο αυστηρών αυστηρών ελέγχων.

Το σήμα ποιότητας Νεμέα Lions λοιπόν θα μπορεί να αποκτηθεί σύμφωνα τα παρακάτω.

A. Λογιστικός έλεγχος.

1ον . Έλεγχο νομιμότητας αμπελοτεμαχίου.

2ον . Ηλικία (Min 10 έτη)

3ον . Έλεγχο στρεμματικής απόδοσης αμπελοτεμαχίου (Max 800 kg).

4ον. Έλεγχο βιβλίου παλαιώσης. Ωρίμανση 24(12-6) Min Βαρέλι-Φιάλη.

B. Χημικές Αναλύσεις

1ον. Αλκοόλη (Min 13% vol)

2ον. Ολική Οξύτητα (Min 5,0 g/l)

3ον. Πτητική οξύτητα (Max 1,2 g/l)

4ον. Ολικό θειώδες (Max 150 mg/l)

5ον. Υπολειμματικά σάκχαρα (Max 4,0 g/l)

6ον. Διαδικασία επανελέγχου (Στερεό υπόλειμμα, Δ.Φ.Ο.)

Γ. Οργανοληπτικός έλεγχος.

Θα πραγματοποιείται από σώμα δοκιμαστών (έντεκα έως δεκαπέντε τον αριθμό) που θα αποτελείται από:

1ον. Master of wine.

2ον. Sommelier.

3ον. Ακαδημαϊκούς.

4ον. Οινολόγους παραγωγής.

Δ. Διαδικασία κατάταξης.

1ον . Ο εμφιαλωτής ζητά την κατάταξη.

2ον. Δειγματοληψία 90 (ενενήντα) ημέρες πριν την εμφιάλωση.

3ον. Οργανοληπτικός έλεγχος από το σώμα δοκιμαστών.

Την ευθύνη για τον έλεγχο της τήρησης των προβλέψεων του τροποποιημένου φάκελου του ΠΟΠ Νεμέα καθώς και της διαδικασίας κατάταξης των ανωτέρω οίνων έχει η Επιτροπή Δεοντολογίας του Συνδέσμου Οινοποιών ΠΟΠ Νεμέας.

Την νομιμότητα των πράξεων και διαδικασιών θα ελέγχει Ανεξάρτητος φορέας πιστοποίησης



Εικόνα 3.Ειδικό σήμα ποιότητας Νεμέα Lions.

1.2 Αγιωργίτικο

1.2.1 Γενικά Χαρακτηριστικά

Το Αγιωργίτικο είναι η πιο ευρέως φυτεμένη ποικιλία κόκκινων σταφυλιών στην Ελλάδα, καλύπτει περίπου 2.500 εκτάρια στην Νεμέα αλλά είναι φυτεμένη και στην ηπειρωτική Ελλάδα. Είναι μια γοητευτική ποικιλία με αμεσότητα και ισορροπία, χαρακτηρίζεται λοιπόν για το μέτρο της καθώς τα συστατικά της (φρούτο, οξύτητα, τανίνες, αλκοόλ) βρίσκονται σε πλήρη αρμονία. Είναι μια ποικιλία που δεν θα προσφέρει κρασιά πολλών επιπέδων αλλά θα δώσει πολύ φρούτο και απόλαυση σε αυτόν που θα την δοκιμάσει. Η κλασική έκφραση του βρίσκεται στην Νεμέα αλλά έχει δώσει και συναρπαστικές εκφράσεις σε άλλες περιοχές όπως η Δράμα και η Καβάλα. Όταν οι παραγωγοί επιτυγχάνουν τον έλεγχο της εκχύλισης καθώς και το χρόνο ωρίμανσης σε δρυ τότε το αποτέλεσμα είναι εκπληκτικό, έχουμε μια βαθιά φρουτώδη γεύση με μικρές και απαλές πινελιές στον ουρανίσκο που προέρχονται από την παλαίωση. Τα καλά παραδείγματα μπορούν να παλαιώσουν αρκετά και τα καλύτερα ίσως ξεπερνούν τα δέκα χρόνια, ωστόσο τα περισσότερα προορίζονται για κατανάλωση εντός έξι ετών (Karakasis Y. and Koundouras S., 2022).

Το Αγιωργίτικο ωριμάζει αργά από τα μέσα Σεπτεμβρίου και μετά στα πεδινά της Νεμέας ενώ στην Δράμα και την Καβάλα αργότερα, ωστόσο είχαμε κάποιες περιπτώσεις ωρίμανσης τέλος Αυγούστου

αρχές Σεπτεμβρίου. Απαιτούνται 1800-1900 GDD έναντι του Ξινόμαυρου που χρειάζεται 2100. Είναι επιρρεπές μυκητιακές ασθένειες ειδικά στο ωίδιο και λιγότερο στον περονόσπορο και το βοτρυτή και επίσης ευαίσθητο σε ιούς των φύλλων. Παράγει τσαμπιά παχιά, μεσαίου μεγέθους και μπορεί να θεωρηθεί ποικιλία καλής γονιμότητας καθώς μπορεί να παράγει ως και 120 hl/ha, αποδίδει καλύτερα σε φτωχά εδάφη όπου μπορεί να ελεγχθεί η δύναμη του. Λόγω της ευαισθησίας του στις μυκητιακές ασθένειες και της καθυστερημένης ωρίμανσης πολύ πιθανό πρόβλημα μπορούν να αποτελέσουν οι βροχοπτώσεις συγκεκριμένα αναφέρουμε τις χρονιές 2002, 2008, 2011, 2016 αυτό φέρνει στο προσκήνιο το θέμα του μοσχεύματος και της κλωνικής επιλογής.



Εικόνα 4. Αγιωργίτικο μετά τον τρυγητό στην περιοχή της Νεμέας.

Ένας κλώνος (ENTAN INRA 1252) έχει κυκλοφορήσει στο εμπόριο και έχει πιστοποιηθεί από το γαλλικό υπουργείο γεωργίας, βασικό χαρακτηριστικό του είναι πως είναι απαλλαγμένο από ασθένειες (δεν προσβάλλεται) και ωριμάζει γρηγορότερα, περίπου 2 εβδομάδες, ακόμη διατηρεί την τυπικότητα του, είναι παραγωγικό και προωθεί την ανάπτυξη του φρούτου αλλά με 50% υψηλότερη περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνη και ζουμερές τανίνες. Η έρευνα για την επιλογή του διήρκησε 15 χρόνια. Μια σύντομη περιγραφή για έξι ακόμη κλώνους που δεν γνωρίζουμε πότε θα είναι διαθέσιμοι είναι η παρακάτω.

- 1) πολύ σάρκα, ζουμερά φρούτα, λίγο πικρό
- 2) μικρότερα μούρα σε σχέση με το πρώτο, υψηλότερη οξύτητα, λιγότερο εμφανή φρούτο και μικρότερες δέσμες
- 3) παρόμοιο με το πρώτο, με φρέσκια οξύτητα, μεγάλα τσαμπιά και εμφανή τον πράσινο χαρακτήρα
- 4) συμπαγή δέσμες, σαρκώδη και ώριμες μέτριες σε μέγεθος
- 5) ώριμο και ισορροπημένο με μέτριες δέσμες
- 6) χαλαρά τσαμπιά και μέτριες δέσμες



Εικόνα 5. Αγιωργίτικο Νέος Κλώνος vs Αγιωργίτικο Standard.

Πηγή: Φυτόριο Μπακασιέτα Νεμέα

Το Αγιωργίτικο έχει κορυφή νεαρού βλαστού ανοιχτή ως την μέση, βαμβακώδης, λευκοπράσινη με ερυθρή παρυφή. Το φύλλο είναι αναπτυγμένο, μεσαίου μεγέθους ως μεγάλο, σφηνοειδές πεντάλοβο. Το έλασμα είναι παχύ με εξογκώσεις μεταξύ των νευρώσεων εως κυματώδες βαθυπράσινο στην άνω επιφάνεια και ελαφρώς ανοιχτότερο στη κάτω, οι κύριες νευρώσεις είναι ελαφρώς εξέχουσες και, ανοιχτοπράσινες, η οδοντοστοιχία χονδρή με πλευρές κυρτές ή ευθύγραμμες, ο μίσχος είναι πολύ μακρύς μέσου πάχους, πράσινος με ερυθροϊώδεις ραβδώσεις. Η σταφυλή είναι μετρίου ως μεγάλου μεγέθους, κυλινδροκωνική, πυκνή με το μίσχο της να είναι μεσαίου μήκους σχεδόν πράσινος ως ξυλοποιημένος μέχρι τον κόμπο. Η ράγα μεσαίου μεγέθους ως μικρή, σφαιρική κυανομελανή με παχύ φλοιό με άφθονη ανθηρότητα και σάρκα μαλακή και χυμώδη (Σταύρακας Δ., 2011).

Το Αγιωργίτικο είναι παραγωγική ποικιλία, κάθε καρποφόρος βλαστός φέρει 2-4 σταφύλια και τα πρέμνα χαρακτηρίζονται από μέση ζωηρότητα. Η διαμόρφωση που εφαρμόζεται είναι σε σχήμα Royat και ιδιαίτερα το διπλό με μεταβλητό ύψος από την επιφάνεια του εδάφους ανάλογα το υψόμετρο, τα υποκείμενα που συνηθίζεται να χρησιμοποιούνται είναι 110R και 41B ωστόσο πολλές στα τελευταία παρουσιάζεται χλώρωση σιδήρου και για αποφυγή της ασθένειας εμβολιάζεται σε 140Ru. Η

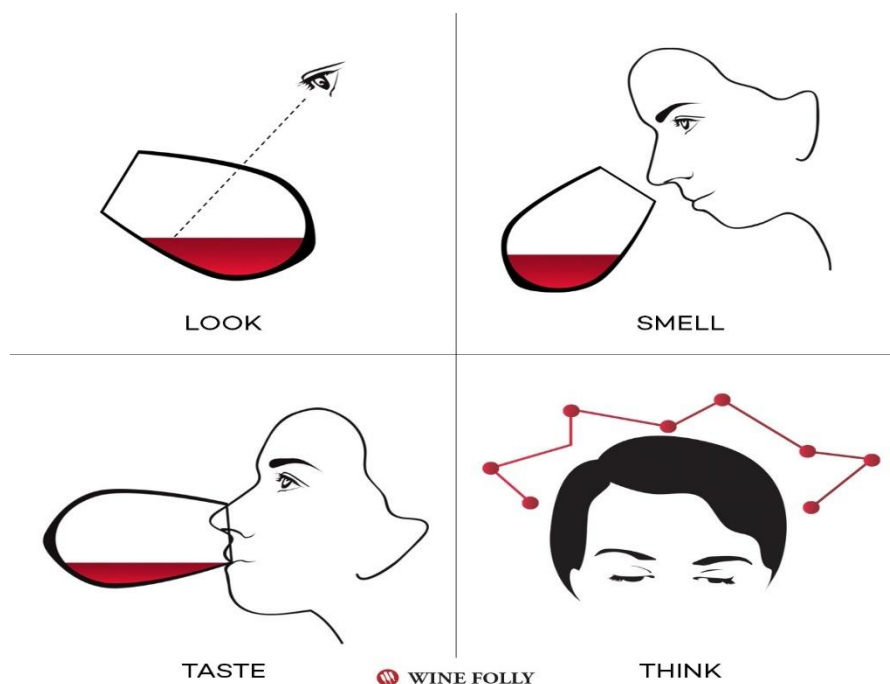
εκβλάστηση πραγματοποιείται το 3^ο δεκαήμερο του Μαρτίου, η άνθηση περί τα τέλη Μαΐου, ο περκασμός τέλη Ιουλίου με αρχές Αυγούστου, η τεχνολογική ωριμότητα από το 2^ο δεκαήμερο του Σεπτεμβρίου μέχρι αρχές Οκτώβρη ανάλογα τον αμπελώνα και τα χαρακτηριστικά του (Σταύρακας Δ., 2011).



Εικόνα 6. Πρέμνο Αγιωργίτικο

Το γλεύκος της ποικιλίας χαρακτηρίζεται γενικότερα από υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα (200-240 gr/l), χαμηλή οξύτητα (4,4-4,6 gr/l τρυγικού οξέος) και pH 3,4-3,8. Πρόκειται για μια ποικιλία πλούσια σε ανθοκυάνες (600 mg/Kg ραγών) ωστόσο η περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών επηρεάζεται έντονα από τον κλώνο, την καλλιεργητική τεχνική και τις εδαφοτοποκλιματικές συνθήκες (Koundouras *et al.*, 2006). Από οινολογική άποψη πρόκειται για μια πολυδυναμική ποικιλία καθώς είναι δυνατόν να παραχθούν διαφορετικής χημικής σύστασης γλεύκη, σε διαφορετικά στάδια ωρίμανσης που είναι κατάλληλα για παραγωγή οίνων διαφορετικού τύπου. Η παραγωγή διαφορετικών τύπων οίνων δικαιολογείται και από την ανομοιογένεια της ζώνης ως προς τις υψομετρικές διαφορές αλλά και τις διαφορές στην τοπογραφία (Κουράκου- Δραγωνά Σ., 1998).

1.2.2 Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά



Εικόνα 7. Τα τέσσερα βασικά βήματα δοκιμής οίνου. .

Η ποικιλία που θεωρείται το απόλυτο αστέρι το οποίο παράγει μαλακά, φρουτώδη και εύχρηστα κρασιά είναι μια δήλωση που περιλαμβάνει πολύ αλήθεια αλλά όχι όλη την αλήθεια, καθώς οι αμπελώνες της Νεμέας ποικίλουν σε έκθεση, υψόμετρο και έδαφος έτσι αυτή η ποικιλία εκφράζεται στα κρασιά ποικιλοτρόπως.

Το Αγιωργίτικο είναι μια φρουτώδης ποικιλία η οποία δεν χρειάζεται πολύ επαφή με δρύινα βαρέλια επειδή τα αρώματα από το βαρέλι καλύπτουν τα αρώματα της ποικιλίας. Είναι μια λεπτή και κομψή ποικιλία, τα χαρακτηριστικά της περιλαμβάνουν φρουτώδη αρώματα, φράουλας και κεράσι και ένα ζουμερό ουρανίσκο, όταν η ποικιλία ωριμάσει καλά μπορούμε να έχουμε και μαύρο φρούτο και βελούδινες τανίνες. Η δυνατότητα παλαίωσης είναι 1-3 χρόνια για μια φρουτώδη Νεμέα ενώ 10 χρόνια για τα καλά δομημένα Αγιωργίτικα. Η αλλαγή του κλίματος ίσως είναι κάτι θετικό για το Αγιωργίτικο καθώς μπορεί να ωθήσει την συγκομιδή νωρίτερα και να αποφευχθούν οι βροχές στα τέλη Σεπτεμβρίου.

Χαρακτηρίζεται από αυξημένη περιεκτικότητα σε τανίνη (Koundouras *et al.*, 2000) λεία αίσθηση στο στόμα και χαμηλή στυπτικότητα (Koussisi *et al.*, 2003, Kallithraka *et al.*, 2011), επομένως ο χαρακτηρισμός των PAs (προανθοκυανιδίων) και των υποομάδων τους έχει μεγάλη σημασία. Οι προανθοκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες τανίνες είναι σημαντικά πολυφαινολικά συστατικά (Curko *et al.*,

2014), οι τανίνες των σπόρων και του δέρματος ποικίλουν σε μήκος, στην σύνθεση της υποομάδας και τις αισθητηριακές ιδιότητες. Οι προανθοκυανιδίνες των σπόρων αποτελούνται από (+) κατεχίνη, (-) επικατεχίνη και υποομάδες (-) επικατεχίνης 3-O-γαλλικού ενώ του δέρματος από (+) γαλλοκατεχίνη, (-) επιγαλλοκατεχίνη και επιγαλλοκατεχίνη 3-O-γαλλικό (Prieur *et al.*, 1994; Li *et al.* 2014). Οι τανίνες των σπόρων είναι μικρότερες με χαμηλότερο βαθμό πολυμερισμού και υψηλότερο ποσοστό γαλλουλιωμένων υποομάδων (Vidal *et al.*, 2003). Η σημασία των τανινών στο κόκκινο κρασί έχουν να κάνουν με την στυπτικότητα και την πίκρα, το astrigency είναι μια αίσθηση αφής που περιγράφεται από ξήρανση και τραχύτητα και προκύπτει από αλληλεπίδραση των PAs με τις πρωτεΐνες του σάλιου (Mc Rae *et al.*, 2010).

Η ένταση της στυπτικότητας σχετίζεται άμεσα με το συνολικό περιεχόμενο προανθοκυανιδίνης και τον βαθμό πολυμερισμού (Chira *et al.*, 2012) χωρίς ωστόσο να έχει επιβεβαιωθεί από όλες τις έρευνες (Kyraleou *et al.*, 2016). Η σύνθεση των υποομάδων των PAs είναι σημαντική καθώς η επικατεχίνη είναι πιο στυπτική από την κατεχίνη (Ferrer-Gallego *et al.*, 2012), ακόμη το ποσοστό γαλλουλίωσης των τανινών του δέρματος σχετίζεται θετικά με την αντίληψη της στυπτικότητας ενώ στους σπόρους πραγματοποιείται το αντίθετο ωστόσο έχει αποδειχθεί πως η παρουσία της επιγαλλοκατεχίνης μειώνει την στυπτικότητα (Chira *et al.*, 2012). Η βιοσύνθεση των PAs ξεκινά μετά την άνθηση και φτάνει στο μέγιστο κατά το verasion (Colle *et al.*, 2011), στην συνέχεια όμως μειώνεται μέχρι την ωρίμανση (Powny *et al.*, 2003). Παράμετροι που μπορούν να επηρεάσουν την σύνθεση των PAs στο δέρμα και στους σπόρους είναι η ποικιλία (Chira *et al.*, 2011), η ωριμότητα (Chacon *et al.*, 2009), η κατάσταση του νερού στα αμπέλια (Kyraleou *et al.*, 2016), οι κλιματολογικές συνθήκες και το σύστημα εκπαίδευσης (Kyraleou *et al.*, 2011), οι πρακτικές οινοποίησης (Busse-Valverde *et al.*, 2010), η μόλυνση από βοτρυτή (Ky Loirain *et al.*, 2012).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε Petropoulos *et al.*, 2017 προσδιορίστηκε η δομή της προανθοκυανιδίνης (PAs) σε δέρματα και σπόρους που απομονώθηκαν από Αγιωργίτικα σταφύλια. Οι κυρίαρχες υποομάδες των προανθοκυανιδίνων ήταν (-) επικατεχίνη (EC) και (+) επιγαλλοκατεχίνη (EGC) σε σπόρους και δέρματα αντίστοιχα, η σύνθεση της υποομάδας των PAs του κρασιού έμοιαζε με αυτή του δέρματος, οι PAs των σπόρων ήταν περισσότερο γαλλουλιωμένες και πολυμερισμένες από του δέρματος, η χρονιά της συγκομιδής επηρέασε τις PAs του δέρματος ενώ το υψόμετρο τις PAs των σπόρων. Οι χαμηλές τιμές του mDP και του ποσοστού γαλλουλίωσης (G%) σε συνδυασμό με την αφθονία των υποομάδων επιγαλλοκατεχίνης (EGC) στις PAs του Αγιωργίτικου (σταφυλιών και κρασιών) αναμένεται να συσχετιστεί με την χαμηλότερη αντίληψη στυπτικότητας. Οι προανθοκυανιδίνες των σπόρων ήταν (C) κατεχίνη, (EC) επικατεχίνη, (EGC) επιγαλλοκατεχίνη ενώ η παρουσία της επιγαλλοκατεχίνης 3-O-γαλλικού δεν παρατηρήθηκε. Η (EC) επικατεχίνη

ακολουθούμενη από την (C) κατεχίνη ήταν οι κυρίαρχες υποομάδες σε όλα τα δείγματα και τις χρονιές. Η (EC) επικατεχίνη κυμαίνονταν από 44–52%, η (C) κατεχίνη από 18-39% και η (EGC) επιγαλλοκατεχίνη από 14-28%, αυτό παρατηρήθηκε σε ολιγομερή και πολυμερή των σπόρων κατά τη διάρκεια των 3 χρόνων του πειράματος, οι προανθοκυανιδίνες του δέρματος ήταν η (C) κατεχίνη, η (EC) επικατεχίνη, η (EGC) επιγαλλοκατεχίνη και η (EGCg) επιγαλλοκατεχίνη 3-O-γαλλικού.

Η επιγαλλοκατεχίνη είναι η κύρια υποομάδα των προανθοκυανιδίνων στα ολιγομερή και πολυμερή με ποσοστά 65-85% και 42-83% αντίστοιχα ενώ η επικατεχίνη στα πολυμερή ήταν 12-31% και στα ολιγομερή 7-48%. Οι Quisada –Morin *et al.*, 2012-2014 ανέφεραν την θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης (EC) επικατεχίνης και της αυξημένης στυπτικότητας και σε συμφωνία με τους Vidal *et al.*, 2003 την μείωση της αντίληψης της στυπτικότητας με αυξημένη συγκέντρωση (EGC) επιγαλλοκατεχίνης. Τα κρασιά από Αγιωργίτικο χαρακτηρίζονται από λείες, μεταξένιες τανίνες και χαμηλή στυπτικότητα (Koussisi *et al.*, 2003, Kallithraka *et al.*, 2011) το οποίο εξηγείται από το ότι η κύρια υποομάδα των PAs του κρασιού είναι η (EGC) επιγαλλοκατεχίνη.

Η δομή και η αίσθηση στο στόμα αποτελούν καθοριστικό παράγοντα για την προτίμηση του οίνου, η αίσθηση του στόματος αναφέρεται στην στυπτικότητα, όπου τα αυξημένης ποιότητας κόκκινα κρασιά θα πρέπει να έχουν ισορροπημένα επίπεδα. Η μέγιστη ένταση στυπτικότητας και πικρίας συσχετίστηκε σημαντικά με τις συνολικές φαινόλες και τις συνολικές κατεχίνες, οι (Gawel *et al.*, 2007) βρήκαν παρόμοιους συσχετισμούς μεταξύ αντιληπτής στυπτικότητας και συνολικής φαινολικής σύνθεσης. Σύμφωνα με τον Vidal *et al.*, 2004 διαπιστώθηκε πως κύριος παράγοντας για τις διαφορές στυπτικότητας μεταξύ οίνων που δοκιμάστηκαν ήταν η συγκέντρωση της προανθοκυανιδίνης, ακόμη οι ανθοκυάνες δεν βρέθηκαν να συμβάλουν στην στυπτικότητα ούτε στην μέγιστη ένταση πικρίας σε συμφωνία με τους (Gawel *et al.*, 2007), ωστόσο επιτεύχθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ T_{max} της στυπτικότητας και της συγκέντρωσης ανθοκυάνων του κρασιού. Ακόμη σύμφωνα με έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Kallithraka *et al.*, 2011 στην οποία αναλύθηκαν οίνοι από 3 ποικιλίες, Αγιωργίτικο (Νεμέα), Ξινόμαυρο (Γουμένισσα) και Μανδηλαριά (Πάρος) προέκυψε πως η συγκέντρωση της ανθοκυανίνης δεν είχε ισχυρή σχέση με την ένταση του στυπτικού και ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη μέγιστης έντασης του στυπτικού συσχετίστηκε έντονα με την περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνη του οίνου, ίσως λοιπόν να έχουμε πιθανή εμπλοκή των ανθοκυανών στο μηχανισμό της στυπτικότητας.

1.2.3 Αρωματικές Ενώσεις

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρασιού επηρεάζονται από το κλίμα και το έδαφος, οι κλιματολογικές επιδράσεις στην ανάπτυξη της αμπέλου και την ωρίμανση σχετίζονται κυρίως με την θερμοκρασία, την ακτινοβολία, τις βροχοπτώσεις ενώ η επίδραση του εδάφους με την διαθεσιμότητα του νερού και την παροχή του αζώτου. Η επίδραση του κλίματος και του εδάφους σε ένα φάσμα μορίων είναι υπεύθυνα για την έκφραση του αρώματος του οίνου το φαινόμενο του terroir προκαλείται από μετρήσιμους παράγοντες που μπορούν εύκολα να παρατηρηθούν στον αμπελώνα, η έκφραση του σε συγκεκριμένες τοποθεσίες μπορεί να μεγιστοποιηθεί επιλέγοντας το κατάλληλο φυτικό υλικό σε σχέση με το έδαφος και το κλίμα, επεμβαίνοντας σε διαχειρίσιμες παραμέτρους όπως το νερό, την κατάσταση του αζώτου και την διαχείριση του θόλου τροποποιώντας έτσι το μικροκλίμα στην ζώνη των σταφυλιών.

Πίνακας 1 Επίδραση εξωτερικών παραγόντων σε ενώσεις του σταφυλιού. Πηγή Van Leeuwen et. al., 2020

ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΕΡΑ (ΜΕΙΩΜΕΝΗ)	ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ (ΑΥΞΗΜΕΝΗ)	ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΝΕΡΟΥ (ΜΕΙΩΜΕΝΟ)	ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΑΖΩΤΟΥ (ΑΥΞΗΜΕΝΟ)
↑Ibmp	↓Ibmp	↓Ibmp	↑Ibmp
↑1,8Cineole	↓C6 Compounds	↓1,8Cineole	C13 Norisoprenoid (no effect)
↑Rotundone	↓C13 Norisoprenoid	↓Rotundone	↑4Mmp
↑γNonalactone Furaneole	↑ γNonalactone Furaneole	C6 Compounds (no effect)	↓βDamaskenone
βDamaskenone α & β ionone (no effect)	↓3SH ,Glutathione	↑C13 Norisoprenoid (for agiorgitiko)	↑Phenolic comp
↓4Mmp	↑Phenolic comp	↑Phenolic comp	↑Glutathione

↓ Linanool,
Geraniol

↓ Volative thiols

-IBMP (2μεθοξύ3ισοβούτυλο πυραζίνη) που είναι υπεύθυνη για το άρωμα της πράσινης πιπεριάς (Allen et al., 1991).

-1,8 Cineole δίνει την γεύση της μέντας στο κρασί (Carone et al., 2011; Pointon et al., 2017)

-Rotundone είναι ένωση σημαντική για το Syrah αλλά και κάποιες άλλες ποικιλίες δίνοντας τις νότες πιπεριού (Wood et al 2003).

-3SH (3σουλφόνη εξανόλη, άρωμα γκρειπφρουτ)

-3SHA (3σουλφόνου εξυλεστερας, άρωμα φρούτων πάθους)

-4MSP(4MMP) (4 μεθυλο 4 σουλφανυλοπενταν2ονη, άρωμα boxwood)(Tominaga et al 1998).

-β Damaskenone (φρουτώδες-λουλουδένιο ή ψητό μήλο)(Kotseridis et al 1999,Pineau et al 2007)

- Tabanone (αρώματα μπαχαρικών και καπνού) (Slagdeuaufi et al 2016) .

- γ-Nonalactone, Furaneol η αρωματική τους έκφραση είναι ιδιαίτερη κατά το φαινόμενο της υπερωρίμανσης και ανιχνεύονται σε κρασιά που προκύπτουν από αυτού του τύπου σταφύλια, εμπλέκονται σε αρώματα ξηρών καρπών σε γλεύκη και ερυθρά κρασιά (Pons et al 2011).

Η έκφραση του αρώματος έχει μεγάλη σημασία, τα αρώματα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε πρωτογενή (ωρίμανση σταφυλιού), δευτερογενή (ζύμωση) και τριτογενή (παλαίωση) (Ribereau-Gayon *et al.*, 2020). Εκατοντάδες ενώσεις έχουν αναγνωριστεί σε κρασιά και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν (Ribereau-Gayon *et al.*, 2020). Η συγκέντρωση των πτητικών ενώσεων οι οποίες αποτελούν το άρωμα του οίνου ποικίλει από mg/l μέχρι ng/l ή και λιγότερο. Το οργανοληπτικό τους αποτέλεσμα ωστόσο εξαρτάται από την πτητικότητα η οποία επηρεάζεται από την συγκέντρωση σακχάρων, τον αλκοολικό τίτλο, την θερμοκρασία, από την συγκέντρωση τους στον οίνο, από τον τύπο των πτητικών ενώσεων και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις (Ταραντίλης Π., 2019). Ενώσεις οι οποίες σε τάξη των ng/l ενδέχεται να διαδραματίζουν σημαντικότερο ρόλο από άλλες σε μεγαλύτερη συγκέντρωση, αυτό οφείλεται στο κατώφλι αντίληψης, δηλαδή την ελάχιστη συγκέντρωση μιας ουσίας η οποία γίνεται αντιληπτή από το 50% του συνόλου των δοκιμαστών (Ribereau-Gayon *et al.*, 2006). Η πολυπλοκότητα του αρώματος οφείλεται σε διάφορους μηχανισμούς, συγκεκριμένα

1) Διεργασίες μεταβολισμού των σταφυλιών, μεταβάλλεται ανάλογα ποικιλία, έδαφος, κλιματολογικές συνθήκες και

2) Βιοχημικά φαινόμενα όπως οξειδώσεις και υδρολύσεις, λαμβάνουν χώρα κατά την ζύμωση αλλά και κατά την εκχύλιση των πτητικών από τους φλοιούς στο γλεύκος.

3) Το ζυμωτικό μεταβολισμό των μικροοργανισμών οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για αλκοολική ζύμωση αλλά και την μηλογαλακτική.

4) Χημικές και ενζυμικές αντιδράσεις που συμβαίνουν μετά το τέλος της ζύμωσης κατά την διάρκεια της ωρίμανσης σε βαρέλι ή φιάλη (Gonzalez-Barreiro *et al.*, 2015).

Οι πτητικές ενώσεις που προέρχονται από τα σταφύλια είναι οι σημαντικότερες καθώς αποτελούν το ποικιλιακό άρωμα του, μπορεί ακόμη γλεύκη ορισμένων οίνων να μη χαρακτηρίζονται αρωματικά έντονα αλλά τελικά να δίνουν ποικιλιακό άρωμα. Ο όρος ποικιλιακό άρωμα δεν πρέπει να συγχέεται με το είδος των πτητικών ενώσεων που περιέχει κάθε ποικιλία, καθώς οι ίδιες πτητικές ενώσεις εντοπίζονται σε όλες τις ποικιλίες και σε όλα τα σταφύλια, αφού είναι κοινές για κάθε οικογένεια φρούτων. Το χαρακτηριστικό ιδιαίτερο άρωμα της κάθε ποικιλίας προκύπτει από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις και τους διαφορετικούς συνδυασμούς των πτητικών συστατικών (Ribereau-Gayon *et al.*, 2006). Οι αρωματικές ενώσεις μπορούν να ποικίλουν ανάλογα με βάση τις περιβαλλοντικές συνθήκες, το έδαφος και το κλίμα (Pons *et al.*, 2017; Dunlevy *et al.*, 2009). Η αλληλεπίδραση του κλίματος, εδάφους, της ποικιλίας, των τεχνικών διαχείρισης και της οινοποίησης είναι πολύπλοκη και η τυπικότητα του κρασιού δεν μπορεί να προβλεφθεί πλήρως. Οι κύριες ομάδες ενώσεων οι οποίες συμβάλουν στο άρωμα των οίνων είναι τα μονοτερπένια, τα νορισοπρενοειδή, οι αλειφατικές αλκοόλες, οι εστέρες, οι φαινυλ-προπανοειδής ενώσεις, οι μεθοξυπυραζίνες και οι πτητικές θειούχες ενώσεις (Edeler S. E. and Thomgate J. H., 2009).

ΤΕΡΠΕΝΙΑ

Τα μονοτερπένια συνεισφέρουν κυρίως στο χαρακτηριστικό άρωμα των λευκών οίνων που παράγονται από μοσχατίζουσες ποικιλίες ή και γενικότερα σε έντονα αρωματικούς οίνους, υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του ανθικού χαρακτήρα των οίνων και της υψηλής συγκέντρωσης λιναλόλης και α-τερπινεόλης (Campo *et al.*, 2005). Η λιναλόλη και γερανιόλη μειώθηκαν με την αύξηση της θερμοκρασίας (Duchere *et al.*, 2016), η μείωση αυτή οφείλεται στην μείωση της έκφρασης του γονιδίου της συνθετάσης της λιναλόλης. Άλλες έρευνες έδειξαν αύξηση της λιναλόλης με αύξηση της θερμοκρασίας και του GDD (Marais *et al.*, 1992; Schuttler *et al.*, 2013), το μοτίβο κατανομής των

απλών μονοτερπενίων εξαρτάται από την θερμοκρασία (Marais *et al.*, 1992). Οι ερυθροί οίνοι δεν χαρακτηρίζονται από μεγάλες συγκεντρώσεις αυτής της κατηγορίας των ενώσεων ωστόσο σε κάποιες ποικιλίες όπως Cabernet Sauvignon εντοπίζονται μερικά τερπένια όπως λιναλόλη, σιτρονεόλη και γερανιόλη (Martin *et al.*, 2010). Σε έρευνα των Karimali D., *et al.*, 2019 στην οποία μελετήθηκαν πτητικές ενώσεις ελληνικών ποικιλιών το Αγιωργίτικο χαρακτηρίστηκε από χαμηλή συγκέντρωση τερπενίων σε αντίθεση με το Ξινόμαυρο. Τα τερπένια που εντοπίστηκαν ήταν p-Cineme, dl-Limonene, a-Terpinolene, a-Terpineol. Στην συγκεκριμένη έρευνα ωστόσο δεν εντοπίστηκε η παρουσία ενώσεων οι οποίες να ανήκουν στη ομάδα των τερπενίων.

ΝΟΡΙΣΟΠΡΕΝΟΕΙΔΗ

Τα νορισοπρενοειδή παράγονται από τα καροτένια που εντοπίζονται στα σταφύλια, τα πιο γνωστά σχετίζονται με αρώματα μελιού και λουλουδιών ανάλογα την συγκέντρωσή τους. Τα πιο γνωστά είναι η β-ιονόνη είναι η β-δαμασκενόνη (φρουτώδες-λουλουδέσιο ή ψητό μήλο) (Kotseridis *et al.*, 1999; Pineau *et al.*, 2007), ταμπανόνη (αρώματα μπαχαρικών και καπνού) (Slagdeuaufi *et al.*, 2016), η TDN η οποία σχετίζεται με το άρωμα κηροζίνης σε παλαιωμένα Riesling (Simpson *et al.*, 1979). Η ταμπανόνη ήταν αυξημένη σε κρασιά που παράχθηκαν από τους θερμότερους αμπελώνες του Bordeaux (Le Menn *et al.*, 2019) και η β-δαμασκενόνη, α-ιονόνη, β-ιονόνη δεν επηρεάστηκαν από την θερμοκρασία, ακόμη Riesling ψυχρού κλίματος είχε λιγότερη TDN σε σχέση με αυτά του θερμού κλίματος. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε πάνω σε Αγιωργίτικα παρατηρήθηκε πως τα C13 νορισοπρενοειδή είχαν αυξημένη περιεκτικότητα σε αμπέλια με περιορισμένη άρδευση (Koundouras *et al.*, 2006), αυτό συμβαδίζει με τον Bindon *et al.*, 2007 όπου ανέφερε πως η έλλειψη νερού οδήγησε σε μερική ξήρανση των ριζών με αποτέλεσμα την αύξηση των C13 νορισοπρενοειδών. Ακόμη τα καροτενοειδή που είναι πρόδρομοι των C13 νορισοπρενοειδών αυξήθηκαν σε σταφύλια με μερική ξήρανση ριζών ειδικά όταν τα σταφύλια πλησίαζαν στο στάδιο της ωρίμανσης. Τα C13 νορισοπρενοειδή αυξάνονται με το έντονο ηλιακό φως (Marais *et al.*, 1999) μάλλον λόγω της αύξησης των προδρόμων τους, τα οποία είναι τα καροτονοειδή (Kwasniewski *et al.*, 2010)

ΦΑΙΝΥΛ-ΠΡΟΠΑΝΟΕΙΔΗΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Η σύνθεση τους πραγματοποιείται ενζυμικά στη σταφυλή έτσι η συγκέντρωσή τους στον οίνο εξαρτάται από την πρώτη ύλη και παράλληλα από το φαινολικό δυναμικό της αλλά και την εκχυλισματικότητα της (Kennedy *et al.*, 2002). Το μεγαλύτερο μέρος της συγκέντρωσής τους στους οίνους σχετίζεται με την επαφή τους με δρύινα βαρέλια (Prida A. and Chatonner P., 2010). Ακόμη η δράση μυκήτων όπως *Brettanomyces species* σχετίζεται με την παρουσία αυτών των ενώσεων στον οίνο

οι οποίες προσδίδουν αρώματα δέρματος, σέλας αλόγου που είναι ανεπιθύμητα από τους καταναλωτές (Wedral *et al.*, 2010)

ΦΟΥΡΑΝΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΑΙ ΦΟΥΡΑΝΟΝΕΣ

Τα φουρανικά παράγωγα όπως η φουρφουράλη και η 5-μέθυλ-φουρφουράλη παράγονται κατά το κάψιμο του ξύλου της δρυός και συνεπώς εκχυλίζονται στον οίνο κατά την παραμονή του σε αυτά. Ακόμη σχετίζονται με την πραγματοποίηση αντιδράσεων Maillard κατά την θέρμανση των σταφυλιών ή του οίνου. Οι φουρφουράλες χαρακτηρίζονται από χαμηλό κατώφλι αντίληψης και προσδίδουν αρώματα φρυγανισμένου ψωμιού και καραμέλας στους οίνους, ενισχύουν την ένταση της αντίληψης της δρυός (Prida A. and Chatonnet P., 2010) αλλά και το συνολικό άρωμα του οίνου. Τα φουρανικά παράγωγα δίνουν την αίσθηση αρώματος φρούτων όπως φράουλα, βατόμουρο, γκουάβα, ανανά (Robison *et al.*, 2014).

ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Οι ζυμομύκητες παράγουν λιπαρά οξέα βραχείας, μέσης και μακράς αλυσίδας. Τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας έχουν λιγότερα από 6 άτομα άνθρακα, τα μέσης αλυσίδας από 6-12 άτομα άνθρακα και τα μακράς αλυσίδας περισσότερα από 12 άτομα. Αυτά των δύο πρώτων κατηγοριών (βραχείας και μέσης αλυσίδας) αποτελούν τα κύρια πτητικά λιπαρά οξέα, ωστόσο η πλειονότητα των λιπαρών οξέων που παράγονται από τους ζυμομύκητες είναι μακράς αλυσίδας όπως παλμιτικά (C16) και στεατικά (C18) (Tehlivets *et al.*, 2007). Τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας που συμβάλουν δυνητικά στην γεύση του οίνου περιλαμβάνουν ισοβουτυρικά και ισοβαλερικά διακλαδισμένης αλυσίδας αλλά και βουτυρικά και προπανοϊκά οξέα ευθείας αλυσίδας, αυτή η κατηγορία λιπαρών οξέων σχετίζεται με αρώματα τυριού. Τα λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας όπως εξανοϊκό (C6), οκτανοϊκό (C8) και δεκανοϊκό (C10) συμβάλουν στο άρωμα του οίνου (Francis I. L. and Newton J. L., 2005) και οι συγκεντρώσεις τους εξαρτώνται από τις αναερόβιες συνθήκες ανάπτυξης του ζυμομύκητα, το στέλεχος, την θερμοκρασία ζύμωσης, και τις τεχνικές οινοποίησης. Η παρουσία τους σχετίζεται με ζυμώσεις χαμηλού ρυθμού ή και μη ολοκληρωμένες ζυμώσεις μιας και η παρουσία τους αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για τον *S.cerevisiae* (Francis I. L. and Newton J. L., 2005).

ΕΣΤΕΡΕΣ

Οι εστέρες αντιπροσωπεύουν το μεγαλύτερο ποσοστό των πτητικών ενώσεων σε όλα τα αλκοολούχα ποτά (Mason A. B. and Dufur J.P., 2000). Στον οίνο συμβάλουν και ενισχύουν τα γλυκά και φρουτώδη αρώματα. Ο προπανοϊκός αιθυλεστέρας, 2-μέθυλο-προπανοϊκός αιθυλεστέρας και 2-μέθυλο-βουτανοϊκού αιθυλεστέρα όταν υπάρχουν σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις στον οίνο προσδίδουν το άρωμα του μαύρου βατόμουρου ενώ ο βουτανοϊκός αιθυλεστέρας, ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας, ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας και ο 3-βουτανοϊκός αιθυλεστέρας σχετίζονται με το άρωμα των κόκκινων βατόμουρων (Pineau *et al.*, 2009). Οι φαίνυλ-προπανοϊκοί αιθυλεστέρες συμπεριλαμβανομένου του κινναμωμικού αιθυλεστέρα, του διυδροκινναμιδικού αιθυλεστέρα, και του οξικού 2-φαίνυλ-αιθυλεστέρα οι οποίοι σε συνδυασμό με την λιναλόλη ενισχύουν το άρωμα ώριμων φρούτων, μελιού και γενικά τους γλυκούς χαρακτήρες σε ερυθρούς οίνους (Escudero *et al.*, 2007). Οι πιο σημαντικοί εστέρες θεωρούνται οι αιθυλεστέρες των λιπαρών οξέων και οι οξικοί εστέρες, όπως ο οξικός αιθυλεστέρας, ο βουτυρικός αιθυλεστέρας, ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας, ο οκτανοϊκός αιθυλεστέρας, ο δεκανοϊκός αιθυλεστέρας, ο οξικός εξυλεστέρας, ο οξικός ισοαμυλεστέρας, ο οξικός ισοβουτυλεστέρας και ο οξικός φαίνυλαιθυλεστέρας. Σε έρευνα των Karimali D., *et al.*, 2019 στην οποία μελετήθηκαν πτητικές ενώσεις ελληνικών ποικιλιών το Αγιωργίτικο χαρακτηρίστηκε από αυξημένη συγκέντρωση του Isoamyl acetate (6.023 mg/L) σε σχέση με άλλες ελληνικές ποικιλίες όπως το Ξινόμαυρο, Φωκιανό και το Μαυροτράγανο. Στην συγκεκριμένη εργασία παρότι εντοπίστηκε ο συγκεκριμένος οξικός εστέρας η συγκέντρωση ήταν σχεδόν 4 φορές μικρότερη. Έχει παρατηρηθεί ότι η συγκέντρωση προδρόμων λιπαρών οξέων στον οίνο σχετίζεται άμεσα με την παρουσία αιθυλεστέρων στον οίνο και αποτελεί κύριο παράγοντα που επηρεάζει την παραγωγή τους. Παράγονται μέσω μεταβολισμού των λιπιδίων και του ακέτυλο-CoA αλλά και κάποιες φορές μέσω βακτηριακού μεταβολισμού και χημικών μετασχηματισμών. Πολλές φορές κατά την παλαίωση ή την αποθήκευση παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης των εστέρων, γεγονός που σχετίζεται με απώλεια των εστέρων αλλά και των οξικών εστέρων εξαιτίας υδρόλυσης. Σε θερμοκρασίες 0-10°C παρατηρείται μικρότερη υδρόλυση και επομένως μεγαλύτερη διατήρηση του φρουτώδους αρώματος νεαρών οίνων (Marais J. and Pool H., 1980).

ΑΛΚΟΟΛΕΣ

Ο *Saccharomyces cerevisiae* παράγει την πλειονότητα των ανώτερων αλκοολών που εντοπίζονται στον οίνο μέσω μεταβολισμού των σακχάρων, ακόμη ανώτερες αλκοόλες παράγονται και από τον καταβολισμό των αμινοξέων από τις ζύμες. Οι ανώτερες αλκοόλες διακλαδισμένης αλυσίδας συμπεριλαμβανομένης και της ισοαμυλικής (άρωμα διαλύτη) αλλά και της ισοβουτυρικής (πικρά αρώματα) συντίθενται από αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας και προσδίδουν στον οίνο αρώματα

ουϊσκι, βύνης και καμένου, τα αρωματικά αμινοξέα όπως φαινυλαλανίνη και τυροσίνη παράγουν αρωματικές αλκοόλες όπως η φαινυλαιθυλική αλκοόλη η οποία δίνει το άρωμα μελιού, μπαχαρικών και τριαντάφυλλου (Francis *et al.*, 2005). Σε έρευνα των Karimali D., *et al.*, 2019 στην οποία μελετήθηκαν πτητικές ενώσεις ελληνικών ποικιλιών το Αγιωργίτικο χαρακτηρίστηκε από αυξημένη συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών ιδιαίτερα της 1-Butanol, 3-methyl γεγονός το οποίο συμφωνεί με τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης εργασίας.

ΘΕΙΟΥΧΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Οι πτητικές ενώσεις που περιέχουν θείο συνδέθηκαν αρχικά με δυσάρεστες οσμές λόγω της παρουσίας όπως υδρόθειο, μεθυλομερκαπτάνης, αιθανοθειόλης και μεθειονόλης. Ωστόσο πλέον έχουν εντοπιστεί ορισμένες πτητικές θειόλες με ευχάριστα ποώδη, φρουτώδη, μεταλλικά, καπνιστά και πικάντικα αρώματα (Dubourdieu D. and Tominaga T., 2009). Κάποιες πολύ σημαντικές ενώσεις είναι η 4-μερκαπτο-4μεθυλοπενταν-2-όνη (4MMP), η 3-μέρκαπτοεξανόλη (3MH) και ο οξικός εστέρας της 3-μέρκαπτοεξανόλης (3MHA) οι οποίες έχουν πολύ χαμηλό κατώφλι αντίληψης της τάξης των ng/l (Perot des Gachons *et al.*, 2005). Το διμέθυλοσουλφίδιο (DMS) το οποίο θεωρείται πως παράγεται από την μικροβιακή αποικοδόμηση μεθειονίνης και της κυστεΐνης έχει παρατηρηθεί πως αυξάνει το άρωμα ελιάς, τρούφας και οσπρίων στο Syrah και πως μπορεί να ενισχύσει το άρωμα φρούτων σε ερυθρά κρασιά μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλες πτητικές ενώσεις όπως εστέρες και νορισοπρενοειδή (Escudero *et al.*, 2007).

ΠΥΡΑΖΙΝΕΣ

Η πυραζίνη είναι ένας ετερόκυκλος δακτύλιος με δύο άτομα αζώτου, διαφορετικοί υποκατάστατες πχ αλκύλια, ακύλια και αλκοξύ ομάδες αλλά και συνδυασμοί αυτών οδηγούν σε ένα μεγάλο αριθμό ενώσεων γνωστών ως πυραζίνες. Οι ενώσεις αυτές είναι πολύ σημαντικές για το άρωμα του οίνου εξαιτίας του πολύ χαμηλού κατώφλιού αντίληψης, το κατώφλι είναι της τάξης των ng/l (Kotseridis *et al.*, 1998). Οι χαμηλές συγκεντρώσεις συμβάλουν στον ποικιλιακό χαρακτήρα και είναι επιθυμητές για ορισμένα είδη, ωστόσο οι αυξημένες θεωρούνται ανεπιθύμητες. Η 3-ισοβούτυλο-2-μεθόξυπυραζίνη (IBMP), η 3-ισοπρόπυλο-2-μεθόξυπυραζίνη (IPMP) και η βούτυλο-2-μεθόξυπυραζίνη (SBMP) συμβάλουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου δίνοντας αρώματα πράσινης πιπεριάς, μπιζελιού και σπαραγγιού ακόμη προσδίδουν χορτώδη αρώματα σε ποικιλίες όπως Cabernet Sauvignon και Sauvignon Blanc (Robinson *et al.*, 2014).

1.2.4 Φαινολικές Ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις είναι πολύ σημαντικά συστατικά για τους ερυθρούς οίνους καθώς εκτός από τις αντιοξειδωτικές ικανότητες συνεισφέρουν στο χρώμα, την στυπτικότητα και την πικρία (Rodichard *et al.*, 1990), στις οξειδωτικές αντιδράσεις (Cheynier *et al.*, 1991) και στην συμπεριφορά του κρασιού κατά την ωρίμανση (Haslan *et al.*, 1980). Βέβαια επηρεάζονται από περιβαλλοντικά ερεθίσματα που μπορούν να παίξουν κρίσιμο παράγοντα στην ρύθμιση της δραστηριότητας των ενζύμων που εμπλέκονται στην βιοσύνθεση της πολυφαινόλης.

Ο οίνος από Αγιωργίτικο είναι πλούσιος σε υδροξυκινναμικά οξέα (95,8 mg/l) και φτωχός σε στυλβένια (0,74mg/l), ο μέσος όρος της ολικής σύνθεσης φλαβονόλης, φλαβανόλης και ανθοκυάνης είναι 43,3, 114,5 και 612,5 mg/l (Kallithraka *et al.*, 2007; Makris *et al.*, 2006). Το σύστημα εκπαίδευσης επηρεάζει την χημική σύνθεση των σταφυλιών (Reynolds *et al.*, 2009) ωστόσο σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε Αγιωργίτικο από τους Petropoulos *et al.*, 2011 δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο πολυφαινολικό περιεχόμενο μεταξύ των δυο συστημάτων το οποίο είναι σύμφωνο και με την έρευνα των (Peter Langer *et al.*, 2002) που έδειξε πως τα αμπέλια κάτω από παρόμοια συστήματα εκπαίδευσης δεν παρουσιάζουν εμφανής διαφορές στο πολυφαινολικό περιεχόμενο. Ακόμη η αφαίρεση φύλλων δεν προκάλεσε καμία σημαντική αλλαγή και στην περίπτωση της αύξησης του μήκους των βλαστών μειώθηκε το περιεχόμενο φλαβονόλης παρόλο που είχαμε αύξηση της έκθεσης στον ήλιο. Η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσει την συσσώρευση των ανθοκυανίνων στα μούρα (Yamane *et al.*, 2006) ωστόσο σε αυξημένες θερμοκρασίες μετά το veraison μπορεί να είναι επιβλαβές για το χρώμα των κρασιών (Yamane *et al.*, 2006; Lorrain *et al.*, 2011). Οι Mori *et al.* 2007 σε πειράματα σε Cabernet Sauvignon με θερμοκρασίες 25 και 35 °C παρατήρησαν μείωση της ολικής ανθοκυάνης κατά 50% με αύξηση της θερμοκρασίας. Η μελέτη έδειξε πως οι πρακτικές που αυξάνουν την διείσδυση φωτός στο θόλο (κλάδεμα, επιμήκυνση βλαστών, αποφύλλωση) δεν είναι πάντα ευεργετικές για την φαινολική σύνθεση και την ανθοκυανίνη των οίνων σε αυτή την περιοχή, πιθανότατα σχετίζεται με τις καιρικές συνθήκες ξηρές και υψηλές θερμοκρασίες με αποτέλεσμα την μείωση της περιεκτικότητας φαινολικών και ανθοκυανών.

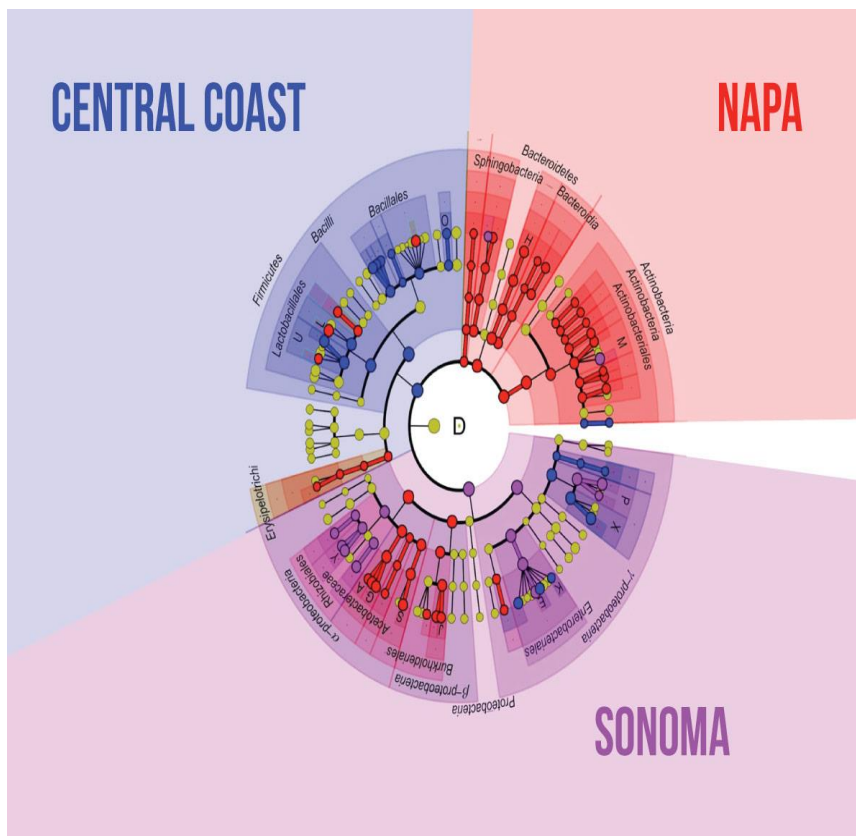
Ακόμη οι Theodorou *et al.*, 2019 πραγματοποίησαν έρευνα με στόχο να προσδιοριστεί και να συγκριθεί η περιεκτικότητα και το προφίλ της ανθοκυάνης υπο ποικίλα συστήματα άρδευσης στις ποικιλίες Αγιωργίτικο, Ξινόμαυρο, Syrah, Grenache Noir. Σε αμπελώνα 6 ετών εφαρμόστηκε πλήρης άρδευση (FI) στο 100% της εξατμισοδιαπνοής ETc, έλλειψη άρδευσης (DI) στο 50% και καθόλου άρδευση παρατηρήθηκε πως η συγκέντρωση της ανθοκυάνης αυξήθηκε υπο την μη παροχή νερού σε όλες τις ποικιλίες και το προφίλ της και η σχετική κατανομή των μεμονωμένων ανθοκυανών μεταξύ των

θεραπειών άρδευσης έδειξαν ένα ισχυρό αποτέλεσμα σε σχέση με την καλλιέργεια. Το Ξινόμαυρο φάνηκε να ευνοεί την σύνθεση πιο σταθερών μορφών ανθοκυάνων υπο περιορισμένη παροχή νερού (ακυλιωμένες έναντι μη ακυλιωμένων και τρι-οξυγονομένες και μεθοξυλιωμένες στον Β δακτύλιο έναντι δι-οξυγονομένων και υδροξυλιωμένων), ενώ το Αγιωργίτικο είχε αντίθετη συμπεριφορά που ίσως να υπονοεί την ανάγκη για διαφορετική στρατηγική άρδευσης γεγονός το οποίο μας φανερώνει πως ίσως πρέπει να εφαρμοστούν άλλα συστήματα άρδευσης ώστε να έχουμε καλύτερο συμβιβασμό μεταξύ των επιπέδων ανθοκυανίνης και σταθερότητας χρώματος.

1.3 Ο ρόλος των μικροοργανισμών

Η έννοια του *terroir* έγινε κατανοητή όταν μικροπεριφέρειες αμπελώνων οριοθετήθηκαν από διαφορετικά χαρακτηριστικά. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες όπως το κλίμα, η σύνθεση εδάφους, η διαχείριση του νερού, οι άνεμοι, το υψόμετρο, η πανίδα και η χλωρίδα και τα μικρόβια θεωρούνται μέρος του *terroir* και συμβάλουν σε ένα μοναδικό στύλ κρασιού. Η οινοποίηση ξεκινά στον αμπελώνα και μπορεί να βελτιωθεί επιλέγοντας την κατάλληλη ποικιλία και διαχείριση επικεντρωμένη στην ποιότητα του φρούτου, αυτή η διαχείριση μαζί με τα χαρακτηριστικά του εδάφους και του τόπου θα επηρεάσουν την μικροχλωρίδα των σταφυλιών που μπαίνουν στο οινοποιείο (Tempere *et al.*, 2018).

Η πρόοδος στον μοριακό χαρακτηρισμό και η μαζική αλληλούχηση του μικροβίου και των συσχετίσεων με το περιβάλλον ή τις μικροβιακές αλληλεπιδράσεις στον καρπό ή κατά την διάρκεια της οινοποίησης θα μας επιτρέψουν να κατανοήσουμε πολύπλοκες μεταβολικές διεργασίες όπως οι μικτές καλλιέργειες και η κοινοπραξία ζυμομυκήτων στην ζύμωση. Οι γηγενής επιλεγμένες ζύμες είναι μια βασική στρατηγική για τη διασφάλιση της αρχικής ζύμωσης αποφεύγοντας τον κίνδυνο των αυθόρμητων διαδικασιών. Οι φιλικοί εκκινητές εξηγούνται ως στελέχη που δεν είναι τόσο επιθετικά με την φυσική χλωρίδα όπως συμβαίνει με στελέχη των *Saccharomyces cerevisiae*. Αυτοί οι εκκινητές επιτρέπουν σε άλλα στελέχη και είδη ζυμών να συμβάλουν στο τελικό προφίλ της γέυσης, δουλεύουν σε ένα στυλ κοινοπραξίας και η διαδικασία αυτή αυξάνει την ποικιλομορφία της ζύμης καθώς, την πολυπλοκότητα της γέυσης, την μικροβιακή σταθερότητα και την διαφοροποίηση του κρασιού στην αγορά. Οι πρακτικές χαμηλής επεμβατικότητας οι οποίες έχουν ξεκινήσει να εφαρμόζονται από πολλούς οινοποιούς ευνοούνται από την αυξημένη ποικιλία ζυμών.

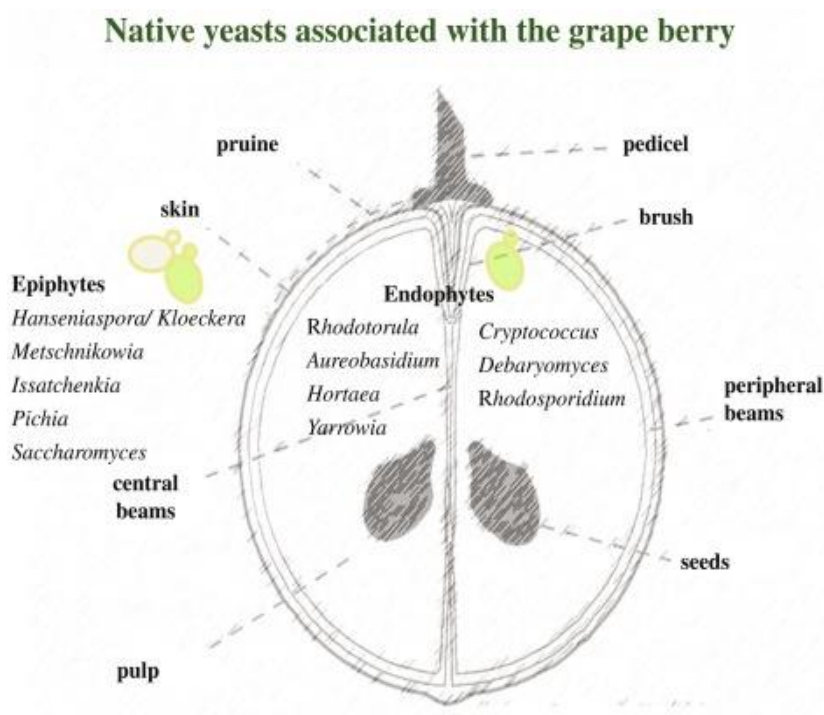


Εικόνα 8. Διαφορετικά είδη μυκήτων και βακτηρίων που εντοπίστηκαν σε σταφύλια της ποικιλίας Chardonnay σε διαφορετικές περιοχές της Καλιφόρνιας. (Bukulich et al.)

Ο *S. cerevisiae* και ο χυμός των σταφυλιών είναι φυσικά συνδεδεμένα ωστόσο η σχέση τους μπορεί να εμπλουτιστεί επιτρέποντας και σε άγριες ζύμες να συμμετάσχουν στις πρώτες φάσεις της ζύμωσης. Είναι υπεύθυνος για το μεταβολισμό των σακχάρων σε αλκοόλ και διοξείδιο του άνθρακα αλλά παίζει και σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση δευτερογενών μεταβολιτών και μετατροπή των προδρόμων αρώματος του σταφυλιού σε άρωμα του οίνου (Reed & Pepler 1973; Fleet et al., 1993; Fleet et al., 2008; Swiegers et al., 1995). Αναμένεται και επιθυμείτε η κυριαρχία του *S. cerevisiae* ωστόσο οι non *Saccharomyces* που υπάρχουν στο μούστο και συχνά σε μεγαλύτερο βαθμό από το είδος *S. cerevisiae* προσαρμόζονται στο περιβάλλον και σε μια κατάσταση ανάπτυξης που τους δίνει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα (Cray et al., 2013). Οι κυρίαρχες ζύμες που βρίσκονται στο μούστο μετά την έκθλιψη πρέπει να είναι ίδιες με αυτές που βρίσκονται στα σταφύλια (Rementeria et al., 2003) ειδικά εάν σκεφτούμε πως οι διαδικασίες που χρησιμοποιούνται σήμερα έχουν ως στόχο να ελαχιστοποιήσουν την μόλυνση του οίνου από την χλωρίδα του κελαριού (Pretorius et al., 2000), τα είδη ζύμης που βρίσκονται γενικά στα σταφύλια και στα κρασιά είναι παρόμοια σε όλο τον κόσμο (Amerine et al., 1967; Longo et al., 1991; Zahari et al., 1997; Jolly et al., 2002; Jolly et al., 2006) ωστόσο το προφίλ, του πληθυσμού

των ζυμομυκήτων σε διάφορες περιοχές εμφανίζει διαφορές. Οι ειδικές περιβαλλοντικές συνθήκες στο μούστο πχ οσμωτική πίεση, αναλογία γλυκόζης φρουκτόζης, SO₂, μη βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης, αύξηση της συγκέντρωσης αλκοόλης και οι αναερόβιες συνθήκες και η μείωση των θρεπτικών συστατικών παίζουν σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό των ειδών που μπορούν να επιβιώσουν και να αναπτυχθούν (Bisson and Kunkee 1991; Longo *et al.*, 1991).

1.3.1 Μικροβιακό Terroir



Εικόνα 9. Κατανομή των non *Saccharomyces* ζυμών στην ράγα. Πηγή : Godoy *et al.*, 2018

Υπάρχουν περισσότερα από 100 είδη ζυμών και εκατομμύρια στελέχη που συμβάλουν στο καθορισμό του μικροβιακού terroir. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Vans Leeuwen *et al.*, 2020 εξηγήθηκαν τα θετικά αποτελέσματα για την ποικιλομορφία της γεύσης και της ποιότητας κρασιών που προκύπτει από φιλικές γηγενής ζύμες που επέτρεψαν στην μικροβιακή χλωρίδα του terroir να συμμετέχει και να συνεισφέρει στην ζύμωση. Η έννοια της χαμηλής επεμβατικότητας εισήχθη το 1990 όταν μερικοί παραγωγοί ανακάλυψαν πως ο ελάχιστος χειρισμός και η αποφυγή χρήσης κάποιων οινολογικών πρακτικών βελτιώνει την ποιότητα του οίνου (Ramey *et al.*, 1995).

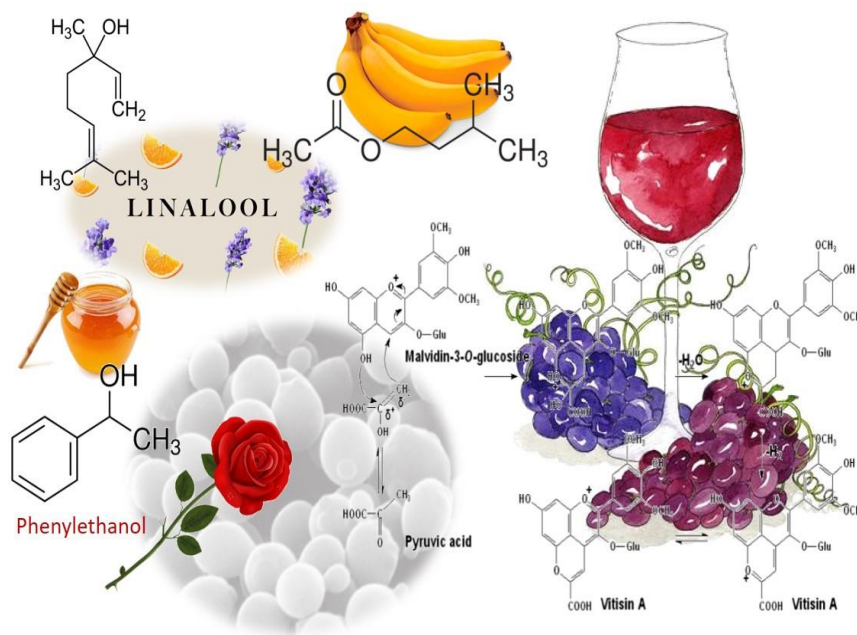
Η είσοδος νέων τεχνολογιών ψύξη, φιλτράρισμα, προσαρμογές pH, προσθήκη αμμωνιακών αλάτων και παρατηρήθηκε πως μπορούν να επηρεάσουν την σύνθεση του κρασιού, όσο περισσότερο χειρίζονται τα γλεύκη και το κρασί τόσο χάνονται οι ανθοκυάνες, πρωτεΐνες, μαννοπρωτεΐνες, λιπίδια, φαινολικά και πολυσακχαρίτες. Πρόσφατα ανακαλύφθηκε πως η ποικιλομορφία γεύσης και η πολυπλοκότητα δεν επιτυγχάνεται με την καθαρή ζύμωση στελεχών *Saccharomyces cerevisiae* καθώς η παραγωγή της αιθανόλης είναι η κύρια ικανότητα του. Πολλά είδη non *Saccharomyces* σε καθαρές ή μεικτές καλλιέργειες ταυτοποιήθηκαν ως καλοί και έντονοι παραγωγοί αρωμάτων σε σχέση με εφαρμογές του *Saccharomyces cerevisiae*. Η αύξηση της ποικιλίας της ζύμης αυξάνει την πολυπλοκότητα της γεύσης και μπορεί να ολοκληρώσει την ζύμωση και μπορεί να επιτρέψει στον οινοποιό να εκφράσει τις διαφορές του terroir. Υπάρχουν πολλές τεχνικές οι οποίες έχουν ονομαστεί τεχνικές χαμηλής επεμβατικότητας (Ramey *et al.*, 1996), μετά την απόκτηση σταφυλιών υψηλής ποιότητας όπου η φυσική μικροχλωρίδα και ο τύπος του στελέχους της ζύμης είναι τα βασικότερα βήματα για την αύξηση της ποιότητας και την πολυπλοκότητα (Carrau *et al.*, 2005; Carrau *et al.*, 2006). Η τεχνολογία που εφαρμόζεται πρέπει να είναι πολύ ακριβής ώστε το μικροβιακό terroir να μπορεί να επηρεάσει το τελικό προϊόν. Μπορούν επομένως να επιλεγούν γηγενής ζύμες για την παραγωγή διαφοροποιημένων μοναδικών κρασιών, επίσης η χρήση φιλικών επιλεγμένων ζυμών στην ζύμωση επηρεάζει την φυσική μικροχλωρίδα των ζυμών επιτρέποντας την απόκτηση αυξημένης ποικιλίας ζύμης που θα συμβάλει σε αυξημένη πολυπλοκότητα.

Η κύρια στρατηγική για την διαφοροποίηση των κρασιών με βάση τους non *Saccharomyces* είναι η μεικτή καλλιέργεια, η προσθήκη ενός *Saccharomyces cerevisiae* μετά τον εμβολιασμό με non *Saccharomyces* για να ολοκληρωθεί η ζύμωση όταν το αλκοόλ πρόκειται να φτάσει πάνω από 10%. Αποδείχθηκε πως η αρχική επίδραση των διαφορετικών στελεχών επηρέασε σημαντικά και θετικά την τελική γεύση των κρασιών, συνήθη στελέχη είναι *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Torulaspora*. Η ανάπτυξη non *Saccharomyces* είχε ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη του *Saccharomyces cerevisiae*, παρατηρήθηκε ένα πιο αργό προφίλ ζύμωσης της μικτής καλλιέργειας πράγμα το οποίο ίσως είναι ενδιαφέρον για την ποιότητα του οίνου και την χαμηλότερη ενεργειακή ζήτηση για τον έλεγχο της θερμοκρασίας, βέβαια θα μπορούσαμε να έχουμε και βραδείς ή κολλημένες ζυμώσεις κάτι το οποίο θα μπορούσε να αποφευχθεί με προσθήκη βιταμινών ή εκχυλισμάτων κυττάρων ζύμης όταν ο *Saccharomyces cerevisiae* εμβολιάζονταν ή αρχίζει να αναπτύσσεται φυσικά στην μέση της ζύμωσης και τα θρεπτικά συστατικά καταναλώνονται από την αρχική χλωρίδα (Gobert *et al.*, 2019), ακόμη το SO₂ μπορεί να εμποδίσει την ανάπτυξη βακτηρίων λειτουργώντας ως βιοστατικό και να αποφευχθεί η μηλογαλακτική ζύμωση κατά την οποία καταναλώνονται πολλά θρεπτικά συστατικά με αποτέλεσμα να

έχουμε επιβράδυνση της ζύμωσης παραγωγή οξικού οξέος και σταματημένες ζυμώσεις (Van Leeuwen *et al.*, 2020).

Οι μεταβολίτες που παράγονται από στελέχη non *Saccharomyces* που μπορούν δράσουν ενάντια στην ζύμη αλλοίωσης είναι κάτι το οποίο μπορεί να λάβει προσοχή (Masih *et al.*, 2001; Weiler and Schmitt 2003; Comitini *et al.*, 2004; Ciani and Comitini 2011), καθώς αυτό μπορεί να έχει πιθανή εφαρμογή κατά την ωρίμανση και την αποθήκευση του κρασιού. Για να εκμεταλλευτούμε τα οφέλη των non *Saccharomyces* πρέπει να γνωρίζουμε τον πληθυσμό των ζυμών στα σταφύλια και το μούστο καθώς και την επίδραση των πρακτικών οινοποίησης στις ζύμες, πως αλληλεπιδρούν τα είδη ζυμών και οι μεταβολίτες. Η επιλογή στελεχών είναι ζωτικής σημασίας καθώς όλα τα στελέχη ενός είδους δεν θα έχουν απαραίτητα τα ίδια επιθυμητά στοιχεία (Fleet *et al.*, 2008), τα επιθυμητά χαρακτηριστικά του *S. cerevisiae* (Yap *et al.*, 1987; Pretorius *et al.*, 2010) δεν ισχύουν απαραίτητα για τους non *Saccharomyces*, συγκεκριμένα η αυξημένη απόδοση κατά την ζύμωση και η αυξημένη αντοχή στο θειώδες.

1.3.2 Επίδραση μικροοργανισμών στο αρωματικό προφίλ



Εικόνα 10. Πηγή :MDPI (Alice Vilela *et al.*, 2019)

Το εύρος των αρωματικών ενώσεων που παράγονται από non *Saccharomyces* είναι καλά τεκμηριωμένο (Castor *et al.*, 1954; Soles *et al.*, 1982; Rojas *et al.*, 2003; Moreira *et al.*, 2005; Swiegers *et al.*, 2005), τα μεταβολικά προϊόντα των non *Saccharomyces* περιλαμβάνουν τερπενοειδή, εστέρες, ανώτερες

αλκοόλες, γλυκερόλη, ακεταλδεΐδη, οξικό οξύ και ηλεκτρικό οξύ (Fleet *et al.*, 1984; Bisson and Kunkee 1991; King and Dickson 2000), ακόμη και το χρώμα του κρασιού μπορεί να επηρεαστεί από τους non *Saccharomyces* ωστόσο είναι λιγότερο μελετημένο (Morata *et al.*, 2012). Η διαδοχική ζύμωση χυμού σταφυλιών με *Pichia guillermonti* και *S. cerevisiae* απέδειξε πως ο αυξημένος σχηματισμός μορίων βίνυλοφαινολικών πυρανοανθοκυάνων που δείχνουν μεγαλύτερη σταθερότητα χρώματος (Benito *et al.*, 2011).

Αρκετές ενώσεις αρώματος στα σταφύλια υπάρχουν ως γλυκοζυλιωμένοι πρόδρομοι χωρίς άρωμα (Todd *et al.*, 1995; Pretorius *et al.*, 2003) αυτές μπορούν να υδρολυθούν από τα κατάλληλα ένζυμα γλυκοσιδασών για να σχηματιστούν ελεύθερα πτητικά οξέα που μπορούν να βελτιώσουν την γεύση και τι άρωμα του οίνου (Ubeda-Iranzo *et al.*, 1998; Van Rensburg *et al.*, 2005). Είναι αξιοσημείωτο, ότι οι non *Saccharomyces* που ανήκουν στα γένη *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Candida*, *Pichia*, *Kloeckera* έχουν διάφορους βαθμούς δραστηριότητας β-γλυκοσιδάσης και μπορούν να παίζουν ρόλο στην απελευθέρωση πτητικών ενώσεων από μη πτητικούς προδρόμους (Ross *et al.*, 1994; Todd *et al.*, 1995; Rodriguez *et al.*, 2002; Hernandez-Orte *et al.*, 2008). Ζυμώσεις με μικτές καλλιέργειες σε Chardonnay με *Debaryomyces morphus/Saccharomyces cerevisiae* είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των τερπενολών (κιτρονελόλη, νερόλη, γερανιόλη) (Cordero *et al.*, 2003), σε Μοσχάτο με *Debaryomyces vanriji/Saccharomyces cerevisiae* έδωσε κρασιά με αυξημένη συγκέντρωση αρκετών τερπενολών (Garcia *et al.*, 2002), σε Sauvignon Blanc με *Candida zemplinina/Saccharomyces cerevisiae* καθώς *Toluraspora delbruekii/Saccharomyces cerevisiae* (Sadoudi *et al.*, 2012).

Διαφορετικές ζύμες non *Saccharomyces* παράγουν διαφορετικά επίπεδα ανώτερων αλκοολών όπως προπανόλη, ισοβουτανόλη, ισοαμυλική αλκοόλη, (Romano *et al.*, 1992; Lambrechts and Pretorius 2000). Συνήθως, οι υψηλές συγκεντρώσεις ανώτερων αλκοολών δεν είναι επιθυμητές όμως οι χαμηλότερες μπορούν να αυξήσουν την πολυπλοκότητα του οίνου (Romano and Suzzi 1993). Οι non *Saccharomyces* συχνά σχηματίζουν χαμηλότερα επίπεδα ανώτερων αλκοολών από ότι ο *S. cerevisiae* βέβαια υπάρχει και μεγάλη μεταβλητότητα ανάλογα με το στέλεχος (Romano *et al.*, 1992; Zironi *et al.*, 1993).

Η γλυκερόλη ο επόμενος κύριος μεταβολίτης μετά την αιθανόλη είναι σημαντικός στο μεταβολισμό της ζύμης για την ρύθμιση του δυναμικού της οξειδωαναγωγής στο κύτταρο (Scanes *et al.*, 1998; Prior *et al.*, 2000). Η γλυκερόλη συμβάλει στην απαλότητα, την γλυκύτητα και την πολυπλοκότητα στους οίνους (Ciani and Maccarellie 1998) βέβαια η ποικιλία και το στυλ του θα καθορίσουν το βαθμό που θα επηρεάσουν τις ιδιότητες αυτές. Ορισμένες ζύμες non *Saccharomyces* ιδιαίτερα οι *Lachancea thermotolerans* και *C. zemplinina* μπορούν να παράγουν αυξημένες συγκεντρώσεις γλυκερόλης κατά την ζύμωση (Ciani and Ferraro 1998; Soden *et al.*, 2000; Comitini *et al.*, 2011).

Οι πτητικές θειόλες συμβάλουν σημαντικά στον ποικιλιακό χαρακτήρα του Sauvignon blanc (Swieger et al., 2009), ορισμένα στελέχη που *Saccharomyces* που απομονώθηκαν από *C. zemplinina* και *Pichia kluyveri* μπορούν να παράγουν σημαντικές ποσότητες πτητικών θειολών 3MH, 3MHA (Anfang et al., 2003) ομοίως και τα είδη *T. delbruekii*, *M. pulcherrima*, *L. thermotolerans* έχουν περιγραφεί να απελευθερώνουν σημαντικές ποσότητες 3MH κατά την ζύμωση του Sauvignon blanc (Zott et al., 2011).

Συνεμβολιασμός των ειδών *T. delbruekii* και *S. cerevisiae* σε Sauvignon blanc και Chenin blanc έδειξε πως οι οίνοι που προέκυψαν ήταν καλύτεροι από τις καθарές καλλιέργειες *S. cerevisiae* 5 και 18 μήνες μετά την παραγωγή (Jolly et al., 2003), ομοίως και οίνοι από Amarone που εμβολιάστηκαν διαδοχικά με *T. delbruekii* και *S. cerevisiae* είχαν αυξημένη ένταση αρώματος όπως κόκκινα φρούτα, αυξημένη γλυκύτητα και στυπτικότητα και χαμηλότερη ένταση φυτικών χαρακτήρων (Azzolini et al., 2012).

Οι ζύμες που ανήκουν στο είδος *Hanseniaspora sp* παρουσιάζουν χαμηλή ζυμωτική ικανότητα αλλά συμβάλουν σημαντικά στην παραγωγή πτητικών ενώσεων κρασιού και στην χημική σύνθεση οίνων που παρασκευάζονται από συνεμβολιασμό με *S. cerevisiae*, ο συνδυασμός των οποίων διαφέρει από την μονοκαλλιέργεια *S. cerevisiae* (Herraiz et al., 1990; Mateo et al., 1991; Gil et al., 1996). Οι *Hanseniaspora vineae* και *Hanseniaspora guilliermodii* έχει αναφερθεί πως παράγουν αυξημένες ποσότητες οξικού 2-φαινυλαιθυλεστέρα κατά την ζύμωση (Rojas et al., 2003; Viana et al., 2009) ο οποίος σχετίζεται με άρωμα τριαντάφυλλο, μέλι, φρουτώδες και ανθικό (Swiegers and Pretorius 2005) και μπορεί να συμβάλει στην συνολική γεύση του οίνου. Σε οίνους από την ποικιλία Bodal ο συνεμβολιασμός με τα είδη *H. vineae* και *S. cerevisiae* όχι μόνο έδωσαν αυξημένο οξικό 2φαινυλαιθυλεστέρα αλλά εμφάνισαν και αυξημένες βαθμολογίες του φρουτώδους σε σχέση με αυτούς που παράχθηκαν από *S. cerevisiae* (Viana et al., 2009), η ποσότητα οξικού 2φαινυλαιθυλεστέρα εξαρτάται από την αναλογία *H. vineae* και *S. cerevisiae* (Viana et al., 2009), ακόμη αναφέρθηκε αυξημένη παραγωγή οξικού 2φαινυλαιθυλεστέρα σε κρασιά Tempranillo που παράχθηκαν από διαδοχικό εμβολιασμό *H. vineae* και *S. cerevisiae* σε σχέση με κρασιά που παράχθηκαν από συνεμβολιασμό. Οίνοι από Macabo που ζύμωσαν με μεικτές καλλιέργειες *H. uvarum* και *S. cerevisiae* παρατηρήθηκε πως έδωσαν αυξημένη συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών, οξικών εστέρων και αιθυλεστέρων καθώς και λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας (Andora et al., 2010).

Μικτές καλλιέργειες *L. thermotolerans/S. cerevisiae* σε ζύμωση ποικιλίας Sangiovese παρήγαγαν αυξημένο τον πικάντικο χαρακτηριστικά και αύξηση της οξύτητας σε σχέση με μονοκαλλιέργειες *S. cerevisiae* (Gobbi et al., 2011), η επίδραση του στην χημική σύνθεση εξαρτάται από το χρόνο του εμβολιασμού με *S. cerevisiae* (Kapsoroulou et al., 2007; Gobbi et al., 2013) καθώς όσο πιο αργά εμβολιάζεται ο *S. cerevisiae* τόσο αυξημένο είναι το γαλακτικό οξύ και η γλυκερόλη στον τελικό οίνο.

Μείγμα ξηρής ζύμης *L. thermotolerans* με *S. cerevisiae* αναπτύχθηκε για να ενισχύσει το άρωμα και την γεύση σε λευκά (Chardonnay, Pinot blanc, Riesling) και κόκκινα (Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah, Pinot Noir). Η χρήση αυτής της ζύμης σε ταυτόχρονο εμβολιασμό μπορεί να ενισχύσει τα αρώματα λουλουδιών, τροπικών φρούτων και πιο σύνθετων και στρογγυλεμένων γεύσεων σε λευκό και κόκκινο οίνο. Συνεμβολιασμός *P. fermentans* και *S. cerevisiae* οδήγησαν σε οίνους με αυξημένη συγκέντρωση ορισμένων πτητικών ενώσεων όπως ακεταλδεΐδη, οξικό αιθυλεστέρα, 1-προπανόλη, ν-βουτανόλη, 1-εξανόλη, οκτανοϊκό αιθύλεστέρα, 2,3-βουτανεδιόλη και γλυκερόλη (Clemente-Jimenez *et al.*, 2005) ακόμη ο συνδυασμός αυτών των δύο έδωσε αυξημένους πολυσακχαρίτες πράγμα το οποίο αυξάνει την γεύση του οίνου (Domizio *et al.*, 2011). Η *Candida cantarelli* έχει αποδειχθεί πως σε μικτές καλλιέργειες με *S. cerevisiae* δίνει οίνους από Syrah με αυξημένη γλυκερόλη, ακετοΐνη, προπανόλη και ηλεκτρικό οξύ (Toro and Vazquez 2002). Το *Issatchenkia orientalis* σε μικτές καλλιέργειες με *S. cerevisiae* χρησιμοποιήθηκε για την μείωση του μηλικού οξέος (Kim *et al.*, 2008) επιπλέον τα κρασιά παρουσίασαν μειωμένη ακεταλδεΐδη, προπανόλη, 2-βουτανόλη και ισοαμλική αλκοόλη, και είχαν καλύτερες βαθμολογίες όσον αφορά το χρώμα, γεύση και το άρωμα (Kim *et al.*, 2008). Το *Schizosaccharomyces ludwigii* σε μονοκαλλιέργειες σε γλεύκος Trebiano (Romano *et al.*, 1999) και έδωσε αυξημένη συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών και οξικού οξέος σε σχέση με μονοκαλλιέργειες *S. cerevisiae*, ενώ σε μικτές καλλιέργειες παρατηρήθηκε αύξηση του σχηματισμού πολυσακχαριτών, ισοβουτανόλης και αμυλικής αλκοόλης και μείωση της συγκέντρωσης γαλακτικού αιθυλεστέρα (Herraiz *et al.*, 2011). Εμπορικό μείγμα ζύμης *Torulaspora delbrueckii/Kluveromyces Thermotolerans/S. cerevisiae* σε διαφορετικές αναλογίες (Hansen *et al.*, 2013) οδήγησε σε πλουσιότερη και στρογγυλότερη γεύση με αύξηση του φρουτώδους, παρατηρήθηκαν βελτιώσεις σε οίνους τόσο λευκούς όσο και σε ερυθρούς.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Τρύγος Και Προζυμωτικές Διεργασίες

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο Οινοποιείο Σελλά από σταφύλια που συλλέχθηκαν από αμπελώνες των Αρχαίων Κλεωνών, τα σταφύλια συλλέχθηκαν τις πρώτες πρωινές ώρες και αποθηκεύτηκαν σε ψυκτικό θάλαμο στους 0 °C για διάστημα 6 ωρών όπου και ξεκίνησε η διαδικασία οινοποίησης τους. Σε πρώτη φάση πραγματοποιήθηκε η αποβοστρύχωση και το σπάσιμο των σταφυλιών, αμέσως μετά το

σπάσιμο έγινε προσθήκη 8gr/hL θειώδους ανυδρίτη (Potassium Metabisulphite, Ever S.R.L) όπου η ποσότητα αυτού αφορά το προϊόν με 50% καθαρότητα. Η αποβοστρύχωση πραγματοποιήθηκε με τα χέρια και τα σταφύλια τοποθετήθηκαν σε βαρελάκια των 5L. Η ποσότητα των σταφυλιών ήταν 4Kg ανα βαρελάκι, η ποσότητα αυτή ζυγίστηκε σε ένα κουβά όπου πραγματοποιήθηκε και το σπάσιμο των ραγών με γυμνά χέρια. Ακόμη πραγματοποιήθηκε η προσθήκη οργανικού αζώτου (Creafarm EVER S.R.L) και ανόργανου αζώτου (Nutrozim EVER S.R.L) για την θρέψη σε αναλογία 1:1 και ποσότητα 25gr/hl, έπειτα ακολούθησε ο εμβολιασμός ο οποίος παρουσιάζεται στην συνέχεια.

2.2 Αλκοολική Ζύμωση

Ο βασικός στόχος του πειράματος ήταν η μελέτη της δράσης διαφορετικών ειδών και στελεχών ζυμών στην οινοποίηση σταφυλιών από την ποικιλία Αγιωργίτικο. Τα στελέχη των ζυμών που παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα είχαν απομονωθεί στα πλαίσια του προγράμματος Εμβληματική δράση “Οι δρόμοι των Αμπελώνων”, από το Εργαστήριο Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, με υπεύθυνη Καθηγήτρια την κα Τσακαλίδου (πίνακας 3). Όλα τα στελέχη απομονώθηκαν από την περιοχή της Νεμέας και από την ποικιλία Αγιωργίτικο. Τα στελέχη του ίδιου είδους που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία απομονώθηκαν από διαφορετικά οινοποιεία της περιοχής της Νεμέας.

Πίνακας 3 : Στελέχη ζυμών που χρησιμοποιήθηκαν για τον εμβολιασμό.

Συνθήκες	Μικροβιακή σύσταση εμβολίου
Wine 1	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Strain A
Wine 2	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Strain B
Wine 3	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Strain C
Wine 4	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Strain C + <i>Hanseniaspora Opuntiae</i> Strain A
Wine 5	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Strain C + <i>Hanseniaspora Opuntiae</i> Strain A + <i>Hanseniaspora Opuntiae</i> Strain B + <i>Hanseniaspora Uvarum</i> Strain A

Ο μούστος εμβολιάστηκε με καθαρές καλλιέργειες των προς μελέτη ζυμών με τελικό πληθυσμό ζυμών στο μούστο 10^6 cfu/ml. Κάθε συνθήκη πραγματοποιήθηκε σε διπλή βιολογική επανάληψη. Η πορεία

της ζύμωσης ακολουθήθηκε καθημερινά μετρώντας την πυκνότητα με την χρήση αραιόμετρου Baume ενώ πραγματοποιήθηκε σπάσιμο καπέλου 2 φορές (πρωί και βράδυ) τη μέρα. Η ζύμωση πραγματοποιήθηκε σε σταθερή θερμοκρασία μεταξύ των 20-23°C. Στα μέσα της ζύμωσης πραγματοποιήθηκε εκ νέου προσθήκη αζώτου, οργανικού (Creaferm- EVER S.R.L) και ανόργανου (Nutrozim-EVER S.R.L) για την θρέψη στις αρχικές ποσότητες (25g/hl) και αναλογίες (1:1). Προς το τέλος της ζύμωσης μετρήθηκε η πυκνότητα καθώς τα δείγματα επέστρεφαν στα βαρελάκια με μεγάλη προσοχή για τυχόν επιμολύνσεις. Όταν η πυκνότητα έφτασε στο 991-993 και παρέμεινε σταθερή για 2 ημέρες απομακρύναμε τα στέμφυλα από τα δείγματα με σουρωτήρι. Σε αυτό το στάδιο κρατήθηκαν επίσης δείγματα για την εφαρμογή των κλασσικών αναλύσεων σύμφωνα με τα επίσημα πρωτόκολλα του OIV. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε ιδιωτικό εργαστήριο.

Με το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης τα δείγματα απολασπώθηκαν και προστέθηκε άμεσα θειώδης ανυδρίτης (10 gr/hL), με σκοπό να μην πραγματοποιηθεί η μηλογαλακτική ζύμωση. Καθώς ο σκοπός του πειράματος εστιάζει στη δράση των ζυμών δεν επιθυμούσαμε την εμπλοκή των βακτηρίων στην παρούσα οινοποίηση. Τέλος τα φρέσκα κρασιά εμφιαλώθηκαν αφού ενώθηκαν οι βιολογικές επαναλήψεις κάθε δείγματος για την περαιτέρω οργανοληπτική και χημικά ανάλυση των δειγμάτων. Παράλληλα κρατήθηκαν δείγματα σε όλη την πορεία της οινοποίησης για μεταγονιδιαματική ανάλυση στο ΓΠΑ υπό την επίβλεψη της κα Τσακαλίδου και της κα Κάζου.

2.3 Διαδικασία εκχύλισης

Για την ανάλυση των αρωματικών με αέρια χρωματογραφία πρέπει να προηγηθεί μια διαδικασία εκχύλισης. Κατά τη μέθοδο αυτή οι ουσίες που θέλουμε να προσδιορίσουμε μέσω της χρωματογραφίας εκχυλίζονται σε ένα μίγμα οργανικών διαλυτών. Η φάση του διαλύτη συλλέγεται ενώ η φάση που περιέχει τις πρωτεΐνες απορρίπτεται. Στην συνέχεια πραγματοποιείται συμπύκνωση του μίγματος σε στήλη Vigreux, κατά την οποία οι πιο πτητικοί διαλύτες απομακρύνονται και τελικά συλλέγεται ένα μίγμα το οποίο είναι πλούσιο σε ουσίες που σχετίζονται με το αρωματικό προφίλ του κρασιού. Το τελικό αυτό μίγμα αναλύθηκε σε GC-MS.

Μεθοδολογία:

- Σε ποτήρι ζέσεως τοποθετούνται 50 mL δείγματος 25 mL πεντάνιο και 25 mL αιθέρα.

- Το διάλυμα αφήνεται για 10 min υπό ήπια ανάδευση και στη συνέχεια τοποθετείται στη φυγόκεντρο για 10 min στις 3500 rpm.
- Μετά το πέρας των 10 min με την χρήση σιφωνίου διαχωρίζεται η οργανική φάση από το κρασί. Το διάλυμα των οργανικών διαλυτών που περιέχουν τις αρωματικές ενώσεις συλλέγεται.
- Στο κρασί προστίθεται εκ νέου μίγμα διαλυτών και πραγματοποιείται ξανά η παραπάνω διαδικασία.
- Σε διαχωριστική χοάνη τοποθετούνται οι οργανικές φάσεις που έχουν συλλεχθεί παραπάνω και προστίθενται περίπου 10 mL απιονισμένο νερό.
- Απορρίπτεται η κάτω φάση που είναι η υδατική και η οργανική τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως.
- Για την απορρόφηση της εναπομένουσας υγρασίας προστίθεται μικρή ποσότητα θειικού νατρίου στο δείγμα.
- Έπειτα από ήπια ανάδευση το δείγμα φιλτράρεται και τοποθετείται σε προζυγισμένη απιοειδή φιάλη.
- Η απιοειδής φιάλη συνδέεται με μία στήλη Vigreux και αφήνεται σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 35-40°C για περίπου 2 h.
- Μετά το τέλος της απόσταξης το δείγμα μεταφέρεται σε δοχείο vial και προστίθενται σε αυτό 10 μ L 3-οκτανόλη, ως εσωτερικό πρότυπο.
- Τέλος το δείγμα υφίσταται ταχεία συμπύκνωση με την χρήση αέριου αζώτου μέχρι τελική μάζα περίπου ίση με 100 mg και πραγματοποιείται ένεση του δείγματος στη συσκευή GC-MS.

2.4 Ανάλυση αρωματικών συστατικών με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS)

Για τον προσδιορισμό του αρωματικού προφίλ χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος-φασματοφωτόμετρο μάζας Hemlet-Pckard 6890 Agilent Technologies 5975C VL MSD και στήλη με ανιχνευτή τριπλού άξονα. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με μια τριχοειδή στήλη διοξειδίου του πυριτίου HP-1 (Agilent Technologies) με διαστάσεις 30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m ενώ ως φέρον αέριο χρησιμοποιείται ήλιο (He) με παροχή 1 mL/min. Η ποσότητα που παραλαμβάνεται είναι 1 μ l, από κάθε εκχύλισμα εγχέεται στο χρωματογράφο με split ratio 100:1. Επίσης η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς είναι 38° C. Στο φασματομέτρο μάζας τα ηλεκτρόνια παράγονται στον θάλαμο ιονισμού από θερμαινόμενο μεταλλικό νήμα και έχουν δυναμικό της τάξεως των 70 eV στα 40-550 amu. Τέλος η ανάλυση των αποτελεσμάτων γίνεται με το λογισμικό HP Chemstation rev.A.06.03.

2.5 Οργανοληπτικός Έλεγχος

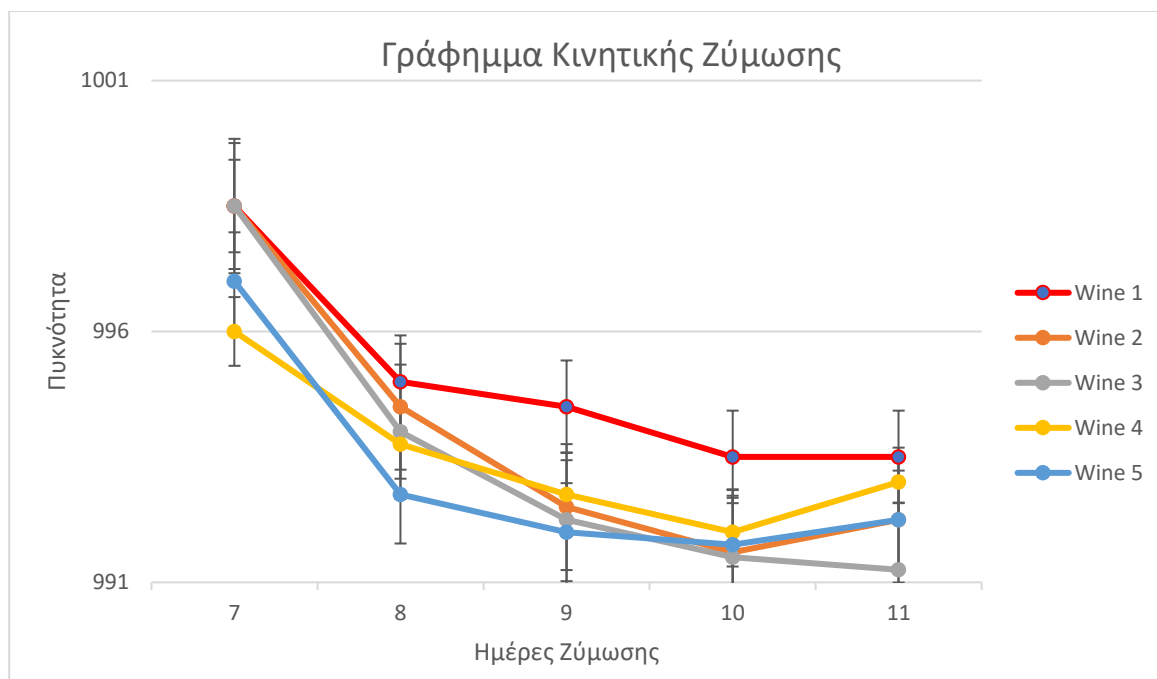
Οι παραγόμενοι οίνοι αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά από το εκπαιδευμένο πάνελ (12 άτομα) του Τμήματος Αμπέλου, Οίνου και Ποτών του ΠΑΔΑ. Τα δείγματα παρουσιάστηκαν σε ποτήρια οίνου που είχαν τριψήφιο κωδικό, ενώ χρησιμοποιήθηκαν 30 ml δείγματος ανά ποτήρι. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν με ελεύθερη κλίμακα επιλογής είναι:

- Αρωματική Ένταση
- Αρωματική Πολυπλοκότητα
- Αρωματική Τυπικότητα
- Νότες Κόκκινου Φρούτου
- Νότες Μαύρου Φρούτου
- Νότες Γλυκών Μπαχαρικών
- Λουλουδάτο Άρωμα (Βιολέτας)

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Ζυμωτική ικανότητα και οινολογικές αναλύσεις

Ο αρχικός μούστος πριν τον εμβολιασμό των ζυμομυκήτων είχε τιμή σε baume 13,098 και pH 3,44. Επιπλέον μέσω των καθημερινών μετρήσεων της πυκνότητας σε συγκεκριμένες ώρες καταγράφηκε η κινητική της ζύμωσης η οποία και απεικονίζεται και στο παρακάτω γράφημα. Παρατηρούμαι πως πρίν το τέλος της ζύμωσης είχαμε απότομη μείωση της πυκνότητας για όλες τις ζυμώσεις. Παρατηρήθηκε ακόμη μέσω στατιστικής ανάλυσης (Duncan's test, $p < 0.05$) πως μέχρι και την 7^η ημέρα δεν είχαμε σημαντικά στατιστική διαφορά μεταξύ των ζυμώσεων. Ωστόσο την 8^η ημέρα παρατηρήθηκε σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του Wine 5 και των 1, 2 δηλαδή μεταξύ του κρασιού που εμβολιάστηκε με μεικτή καλλιέργεια ζυμομυκήτων *non Saccharomyces & Saccharomyces cerevisiae* και αυτών που εμβολιάστηκαν με μονοκαλλιέργειες *Saccharomyces cerevisiae*. Ακόμη την 9^η ημέρα παρατηρήθηκε σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του Wine 1 και όλων των υπολοίπων συνθηκών. Τις τελευταίες ημέρες δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Οι διαφορές παρατηρήθηκαν λίγο πριν το τέλος της ζύμωσης.



Γράφημα 1. Γράφημα Κινητικής Ζυμώσεων. Οι μπάρες δείχνουν τη \pm τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τα διαφορετικά γράμματα α , β , γ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$.

Μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών ζύμωσης εξετάστηκε μέσω στατιστικής επεξεργασίας με την μέθοδο ANOVA εάν υπήρχαν σημαντικές στατιστικές διαφορές για τις εξής οινολογικές παραμέτρους όπως :

το ποσοστό της Αλκοόλης (%Vol), το pH, η Ολική Οξύτητα, η Πτητική οξύτητα, τα Υπολειματικά σάκχαρα, η Γλυκερόλη, το σύνολο των Φαινολικών Συστατικών (Folin Ciocalteu) και η Ένταση χρώματος (A420+A520+A620).

Παρατηρήθηκε πως για την πλειονότητα των οινολογικών παραμέτρων που εξετάστηκαν δεν υπήρξε σημαντικά στατιστική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών ζύμωσης. Η μόνη παράμετρος που έδειξε να επηρεάζεται ήταν η πτητική οξύτητα η οποία εντοπίστηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Wine 1 το οποίο δεν διέφερε σημαντικά από τα 2 και 5, ωστόσο διέφερε από τα Wine 3, 4 με την μικρότερη συγκέντρωση να επιτυγχάνετε στο 4.

Πίνακας 4. Βασικές οινολογικές αναλύσεις για τις 5 συνθήκες ζύμωσης

	Wine 1	Wine 2	Wine 3	Wine 4	Wine 5
Fermentation Duration (Days)	11	10	10	10	9
Vol%	12,7±0,4 α	13,4±1,08 α	13,445±1,43 α	12,2±1,06 α	13,19±0,11 α
pH	3,4±0,04 α	3,5±0,02 α	3,5±0,03 α	3,4±0,03 α	3,5±0,04 α
Total Acidity (g/L)	6,73±0,3 α	6,19±0,3 α	6,155±0,1 α	6,255±0,3 α	6,085±0,1 α
Volatile Acidity (g/L)	0,35±0,04 β	0,31±0,01 αβ	0,265±0,02 α	0,245±0,02 α	0,275±0,00 αβ
Residual Sugars (g/L)	2,35±0,071 α	2,25±0,071 α	2,6±0,141 α	2,5±0,141 α	2,7±0,141 α
Glycerol (g/L)	7,2±0,14 α	7,35±0,63 α	7,7±1,13 α	6,85±0,63 α	7,2±0,14 α
Folin C (mg gallic acid/L)	250,04±25,44 α	281,71±29,21 α	250,25±9,00 α	241,71±8,12 α	221,29±28,03 α
Color Intesity	8,78±0,4 α	9,02±0,63 α	8,8±0,11 α	8,3±0,47 α	8,48±0,5 α

Τα διαφορετικά γράμματα α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, p<0.05

3.2 Αρωματικές ενώσεις

Μεταξύ των οίνων που ζύμωσαν ύστερα από ανάλυση των πτητικών ενώσεων παρατηρήθηκε πως υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ορισμένων από αυτών. Σε πρώτη φάση εντοπίστηκαν οι ενώσεις οι οποίες είναι σημαντικές για το αρωματικό προφίλ των οίνων και εν συνεχεία επιλέχθηκαν αυτές που ήταν κοινές μεταξύ των δειγμάτων ώστε να πραγματοποιηθεί στατιστική επεξεργασία. Από τις ενώσεις αυτές στατιστικά σημαντική διαφορά προέκυψε μεταξύ 29 ενώσεων οι οποίες ήταν οι εξής (Πίνακας 5) :

1-Butanol, 3-methyl, 1-Butanol, 2-methyl-(S), Phenylethyl Alcohol, Tryptophol, Benzeneethanol, 4-hydroxy, 1-Butanol, 3-methyl acetate, 1-Butanol, 2-methyl acetate, Acetic Acid 2-phenylethyl ester, 1-Propanol, 3-methylthio, Hexanoic Acid, Octanoic Acid, n-Decanoic Acid, Hexanoic acid, ethyl ester, Octanoic acid, ethyl ester, Decanoic acid, ethyl ester, Butanedioic acid, diethyl ester, Ethyl hydrogen succinate, Benzoic Acid, 4-hydroxy-3methyl, ethyl ester, p-Hydroxycinnamic acid, ethyl ester, 5-Oxotetrahydrofuran-2-carboxylic acid, ethyl ester, Propanoic acid, 2-methyl (isobutyric acid), Butanoic acid, Butanoic acid, ethyl ester, Butanoic acid, 3-methyl, Butanoic acid, 2-methyl, Butanoic acid, 3-methyl, ethyl ester, Butanoic acid, 3-hydroxy, ethyl ester, 3-Hexen-1-ol (Z)-, 3-Hydroxy 4-methoxybenzoic acid.

Η 1-Butanol, 3-methyl η οποία δίνει την αίσθηση του φρουτώδους και της μπανάνας διέφερε ανάμεσα στο Wine 5 και όλων των υπολοίπων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 5 και την μικρότερη στο 3. Η 1-Butanol, 2-methyl-(S) η οποία δίνει την αίσθηση της φρεσκάδας διέφερε μεταξύ του Wine 4 και 3 και των υπολοίπων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 4 και την μικρότερη στο 2. Η Phenylethyl Alcohol η οποία δίνει την αίσθηση της γλυκάδας αλλά και του τριαντάφυλλου διέφερε μεταξύ του Wine 5 και των υπολοίπων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 5 και την μικρότερη στο 1.

Η Tryptophol η οποία δίνει την αίσθηση του λιπαρού είτε του τυριού διέφερε μεταξύ του Wine 4, του 5 και όλων των υπολοίπων με την μεγαλύτερη να επιτυγχάνεται στην 4 και την μικρότερη στην 5. Η Benzene ethanol, 4-hydroxy η οποία δίνει την αίσθηση του φρουτώδους και του λουλουδάτου διέφερε μεταξύ όλων των οίνων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο Wine 5 και την μικρότερη στο 1. Ο 1-Butanol, 3-methyl, acetate ο οποίος δίνει την αίσθηση του φρουτώδους, της μπανάνας και του γλυκού διέφερε μεταξύ του Wine 5 και όλων των υπολοίπων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 5 και την μικρότερη στο 1. Ο 1-Butanol, 2-methyl, acetate ο οποίος δίνει την αίσθηση της ώριμης μπανάνας διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 5, 1 και όλων των υπολοίπων με τα 2, 3, 4 να μην διαφέρουν μεταξύ τους και την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται για το 4 και την μικρότερη για το 5. Ο Acetic Acid, 2-phenylethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του τριαντάφυλλου και του μελιού διέφερε σημαντικά μεταξύ του Wine 5 και όλων των υπολοίπων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 5 και την μικρότερη στο 2. Η 1-Propanol, 3-methylthio η οποία δίνει την αίσθηση του κρεμμυδιού και του λάχανου διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 5, 1, 2 και των 3, 4 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 4 και την μικρότερη στο 5.

Το Hexanoic acid το οποίο δίνει την αίσθηση του λιπαρού-τυρώδους αλλά και του φρουτώδους διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 5 και 3, 4 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 5 και την μικρότερη στο 3. Το Octanoic acid το οποίο δίνει την αίσθηση του λιπαρού, του σαπουνιού και λάχανου διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 5, 1 και όλων των υπολοίπων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 4 και την μικρότερη στο 5. Το n-Decanoic acid που δίνει την αίσθηση λιπαρού και σαπουνιού μεταξύ των Wine 4, 5 και 2, 3, 1 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται για το 5 και την μικρότερη για το 2. Ο Hexanoic acid, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση της μπανάνας και του ανανά διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 5 και όλων των υπολοίπων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 5 και την μικρότερη στο 2.

Ο Octanoic acid, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του λιπαρού, του κηρώδους και των μανιταριών διέφερε σημαντικά μεταξύ του Wine 5, του 3 και των 4, 1, 2 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση επιτυγχάνεται για το 5 και την μικρότερη για το 4. Ο Decanoic acid, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του φρουτώδους, του μήλου και του κεριού διέφερε σημαντικά μεταξύ της του Wine 5 και όλων των υπολοίπων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 5 και την μικρότερη στο 1. Ο Butanedioic acid, diethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του τροπικού και του φρουτώδους διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 5, 1 και των 3, 4, 2 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 5 και την μικρότερη στο 3. Ο Ethyl hydrogen succinate ο οποίος δίνει την αίσθηση του φρουτώδους και του τροπικού διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 1 και 5, 2 αλλά και μεταξύ των 3, 4 με τις υπόλοιπες με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 1 και την μικρότερη στο 3. Ο Benzoic acid 4-hydroxy, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση καπνιστού, μεταλλικού ακόμη και φαινολικού διέφερε σημαντικά μεταξύ του Wine 2, του 5 και των 3, 1, 4 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 2 και την μικρότερη στο 3.

Ο p-Hydroxycinnamic acid, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του δαμάσκηνου, μήλου, άνηθου διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 2, 3 και 1, 2 αλλά και το 5 διέφερε με όλες τις υπόλοιπες με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται για το 5 και την μικρότερη για το 2. Ο 5-Oxotetrahydrofuran-2-carboxylic acid, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του ψητού, καπνιστού παρουσίασε σημαντική διαφορά μεταξύ των Wine 4, 3 και όλων των υπολοίπων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται για το 5 και την μικρότερη για το 4. Το Propanoic acid, 2-methyl το οποίο δίνει την αίσθηση του ξινού τυριού διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 2, 4 και των 5, 3, 1 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται για το 4 και την μικρότερη για το 5. Το Butanoic acid το οποίο δίνει την αίσθηση βουτύρου αλλά και τροπικών φρούτων διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 3, 4 και 5, 1 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 4 και την μικρότερη στο 1.

Ο Butanoic acid, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του φρουτώδους και της καραμέλας διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 2, 5 και των 1, 3, 4 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται για το 5 και την μικρότερη για το 1. Ο Butanoic acid, 3-methyl ο οποίος δίνει την αίσθηση του τροπικού, ιδρώτα, τυριού διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 3, 2 και 1, 4 αλλά και το 5 με όλα τα προηγούμενα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται για το 5 και την μικρότερη για το 3. Ο Butanoic acid, 2-methyl ο οποίος δίνει την αίσθηση του φρουτώδους, τυριού και ξινισμένου διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 5, 2, 1, 4 και του 3 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται για το 5 και την μικρότερη για το 3. Ο Butanoic acid, 3-methyl, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του ανανά, μήλου και πορτοκαλιού διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 2, 1 και των 3, 5, 4 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται για το 3 και την μικρότερη για το 2. Ο Butanoic acid, 3-hydroxy, ethyl

ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του φρουτώδους και του πράσινου μήλου διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 5, 4, 1 και των 3, 2 με τα τελευταία να διαφέρουν και μεταξύ τους και την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 2 και την μικρότερη στο 5. Η 3-Hexen-1-ol, (Z)-, η οποία δίνει την αίσθηση πράσινων στοιχείων διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 2, 5, 1 και 4, 3 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 3 και την μικρότερη στο 2. Τέλος το 3-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid το οποίο δίνει την αίσθηση της βανίλιας διέφερε σημαντικά μεταξύ των Wine 2, 3, 1 και των 4, 5 με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνεται στο 5 και την μικρότερη στο 2.

Πίνακας 5. Οι 29 ενώσεις με σημαντικά στατιστική διαφορά.

compounds/wines	Wine 1	Wine 2	Wine 3	Wine 4	Wine 5
1-Butanol, 3-methyl-	12,9355±0,52α	11,66±0,735α	7,8865±1,058α	13,218±2,92α	29,7645±7,18β
1-Butanol, 2-methyl-, (S)-	4,218±0,28α	2,3885±0,28α	8,5695±2,02β	14,4565±2γ	3,7445±0,16α
Phenylethyl Alcohol	19,9435±4,29α	20,785±5,53α	29,205±0,84α	32,858±5,29α	78,978±10,16β
Tryptophol	0±0α	0±0α	0±0α	0,1785±0γ	0,055±0,02β
Benzeneethanol, 4-hydroxy	0,0185±0,002α	0,0875±0,007β	0,19±0,028γ	0,414±0,004δ	0,579±0,029ε
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0,045±0,021α	0,1±0,028α	0,2635±0,002α	0,3205±0,034α	1,5465±0,32β
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	0±0α	0,016±0,007β	0,019±0,004β	0,023±0,001β	0±0α
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	0,049±0,009α	0,028±0,014α	0,029±0,004α	0,0505±0,002α	0,1105±0,026β
1-Propanol, 3-(methylthio)-	0±0α	0,017±0,005α	0,1575±0,03β	0,2185±0,065β	0±0α
Hexanoic acid	0,267±0,05βγ	0,1855±0,04αβ	0,129±0,01α	0,1745±0,01α	0,279±0,02γ
Octanoic acid	0±0α	0,056±0,008β	0,1495±0,01γ	0,201±0,019δ	0±0α
n-Decanoic acid	0,01±0α	0±0α	0±0α	0,027±0,002β	0,0635±0,01β
Hexanoic acid, ethyl ester	0,1975±0,07α	0,197±0,005α	0,213±0,032α	0,2545±0,02α	0,4915±0,03β
Octanoic acid, ethyl ester	0±0α	0,0675±0,01α	0,2625±0,02β	0±0α	0,5125±0,103γ
Decanoic acid, ethyl ester	0,018±0,002α	0,038±0,001α	0,025±0,001α	0,0265±0,003α	0,2165±0,017β
Butanedioic acid, diethyl ester	0,723±0,08β	0,235±0,07α	0,1615±0,02α	0,173±0,02α	0,818±0,106β
Ethyl hydrogen succinate	31,7905±0,542γ	8,1405±2,979β	2,525±0,650α	2,9365±1,224α	12,284±2,972β
Benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-, ethyl ester (ethyl vanillate)	0,003±0,001α	0,275±0,04γ	0±0α	0,01±0α	0,134±0,002β
p-Hydroxycinnamic acid, ethyl ester	0,035±0,007β	0±0α	0±0α	0,041±0,005β	0,1455±0,004γ
5-Oxotetrahydrofuran-2-carboxylic acid, ethyl ester (γ-Carboethoxy-γ-butyrolactone)	0,005±0,001β	0,011±0,001γ	0±0α	0±0α	0,0485±0,002δ
Propanoic acid, 2-methyl- (isobutyric acid)	0±0α	0,0675±0,024β	0±0α	0,079±0,015β	0±0α
Butanoic acid	0±0α	0,0415±0,05αβ	0,077±0,001β	0,099±0,009β	0±0α
Butanoic acid, ethyl ester	0±0α	0,0785±0,002β	0,0225±0,002α	0,0245±0,004α	0,0855±0,02β
Butanoic acid, 3-methyl-	0,194±0,03β	0,03±0,01α	0±0α	0,258±0,09β	0,641±0,07γ
Butanoic acid, 2-methyl-	0,1305±0,07α	0,165±0,04α	0±0β	0,0885±0,01βα	0,195±0,06α
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	0±0β	0±0β	0,2555±0,06α	0,1595±0,04α	0,2435±0,06α
Butanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester	0±0α	0,027±0,002γ	0,0125±0,0007β	0±0α	0±0α
3-Hexen-1-ol, (Z)-	0±0α	0±0α	0,2845±0,08γ	0,1235±0,006β	0±0α
3-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid- Isovanillic acid	0,0125±0,003α	0±0α	0±0α	0,0365±0,009α	0,2055±0,065β

Τα

διαφορετικά γράμματα α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, p<0.05

Στις 24 από τις 29 κοινές ενώσεις στις οποίες παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις επιτεύχθηκαν από τις συνθήκες στις οποίες είχε πραγματοποιηθεί εμβολιασμός με μεικτή καλλιέργεια ζυμομυκήτων και συγκεκριμένα ήταν το Wine 5 (Mixed Culture Fermentation) και το Wine 4 (Mixed Culture Fermentation). Από τα δύο αυτά το 5 παρουσίασε μέγιστα σε 17 από τις 29 κοινές ενώσεις και το 4 σε μόλις 7 ενώσεις. Ο εμβολιασμός με μονοκαλλιέργεια ζυμομυκήτων *S. cerevisiae* παρουσίασε μέγιστες συγκεντρώσεις σε 5 μόνο ενώσεις. Στην συνέχεια παρουσιάζονται οι ενώσεις στην συγκέντρωση που εντοπίστηκαν στους διαφορετικούς οίνους αλλά και το κατώφλι αντίληψης όσων καταφέραμε να εντοπίσουμε. Το ανθρώπινο κατώφλι της όσφρησης για τα διάφορα μόρια ποικίλει ανάλογα με τη φύση της ουσίας καθώς και ανάλογα με την ηλικία των ατόμων, το γένος, και την κατάσταση της υγείας τους. Υπάρχουν δύο είδη threshold που μπορούν να ανιχνευτούν σε κάθε άτομο. Το κατώφλι της ανίχνευσης/αντίληψης μιας οσμής, δηλαδή η χαμηλότερη συγκέντρωση στην οποία το άτομο αναγνωρίζει μια διαφορά ανάμεσα σε δύο δείγματα, και το κατώφλι της αναγνώρισης, δηλαδή η χαμηλότερη συγκέντρωση στην οποία το άτομο μπορεί να προσδιορίσει το είδος της οσμής. Φυσικά αυτά τα κατώτερα επίπεδα εξαρτώνται από τους διαλύτες μέσα στους οποίους είναι διαλυμένα τα οσμηρά μόρια.

Πίνακας 6. Οι 17 ενώσεις όπου παρουσίασαν μέγιστη συγκέντρωση στο Wine 5.

ΕΝΩΣΗ	Flavor	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ/ΚΑΤΩΦΛΙ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ (mg/l)
1-Butanol ,3-methyl	Φρουτώδες ,μπανάνα	29.76 / 30
Phenylethyl Alcohol	Τριαντάφυλλο, γλυκάδα	78.98 / 10
Benzeneethanol, 4-hydroxy	Φρουτώδες, λουλουδάτο	0.58 /
1-Butanol, 3-methyl, acetate	Φρουτώδες, μπανάνα, γλυκάδα	1.55 /
Acetic Acid, 2-phenylethyl ester	Τριαντάφυλλο, μέλι	0.11 / 0.25
Hexanoic acid	Φρουτώδες, λιπαρό, τυρί	0.28/ 3
n-Decanoic acid	Λιπαρό, σαπούνι	0.06/
Hexanoic acid, ethyl ester	Μπανάνα, ανανά	0.49 / 0.05
Octanoic acid, ethyl ester	Λιπαρό, μανιτάρι ,κερί	0.51 / 0.02
Decanoic acid, ethyl ester	Φρουτώδες, μήλο, κερί	0.22 / 0.2 (synthetic wine)

Butanedioic acid, diethyl ester	Φρουτώδες, τροπικό	0.82 /
p-Hydroxycinnamic acid, ethyl ester	Δαμάσκηνο, άνηθος, μήλο	0.15 /
5-Oxotetrahydrofuran-2-carboxylic acid, ethyl ester	Ψητό, καπνιστό	0.05 /
Butanoic acid, ethyl ester	Φρουτώδες, καραμέλα	0.09 / 0.02
Butanoic acid, 3-methyl	Λιπαρό, ιδρώτας, τυρί	0.64 /
Butanoic acid, 2-methyl	Φρουτώδες, τυρί	0.20 /
3-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid	Βανίλια	0.21 /

Παρατηρούμε λοιπόν πως η συντριπτική πλειοψηφία των ενώσεων που παρουσίασαν σημαντική στατιστική διαφορά και μέγιστη συγκέντρωση για το Wine 5 δίνουν την αίσθηση αρωμάτων τα οποία είναι επιθυμητά στον οίνο και τον αναβαθμίζουν ποιοτικά. Πιο συγκεκριμένα είχαμε ενώσεις που έδωσαν την αίσθηση φρουτώδους, δαμάσκηνου, μπανάνας, τριαντάφυλλου, μελιού, τροπικών φρούτων, καραμέλας, βανίλιας, πράσινου μήλου, ανανά βέβαια είχαμε και λίγες ενώσεις που έδωσαν την αίσθηση του λιπαρού, κηρώδους, ιδρώτα και των μανιταριών οι οποίες θα μπορούσαν να προσθέσουν πολυπλοκότητα.

Πίνακας 7. Οι 7 ενώσεις όπου παρουσίασαν μέγιστη συγκέντρωση στο Wine 4.

ΕΝΩΣΗ	FLAVOR	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ/ΚΑΤΩΦΛΙ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ (mg/l)
1-Butanol, 2-methyl –(S)	Φρεσκάδα	14.46 /
Tryptophol	Λιπαρό, τυρώδες	0.18 /
1-Butanol, 2-methyl, acetate	Ωριμη μπανάνα	0.02 /
1-Propanol, 3-methylthio	Λάχανο, κρεμμύδι, πατάτα	0.22 / 0.5
Octanoic acid	Λάχανο, σαπούνι, λιπαρό	0.20 / 8.8
Propanoic acid, 2-methyl	Ξινό, τυρώδες	0.08 /
Butanoic acid	Βούτυρο, νότες φρούτων	0.10 / 0.24

Παρατηρούμε λοιπόν πως η συνθήκη 4 για τις ενώσεις με σημαντικά στατιστική διαφορά παρουσίασε μέγιστες συγκεντρώσεις σε μόλις 7 ενώσεις η πλειοψηφία των οποίων δίνει την αίσθηση αρωμάτων

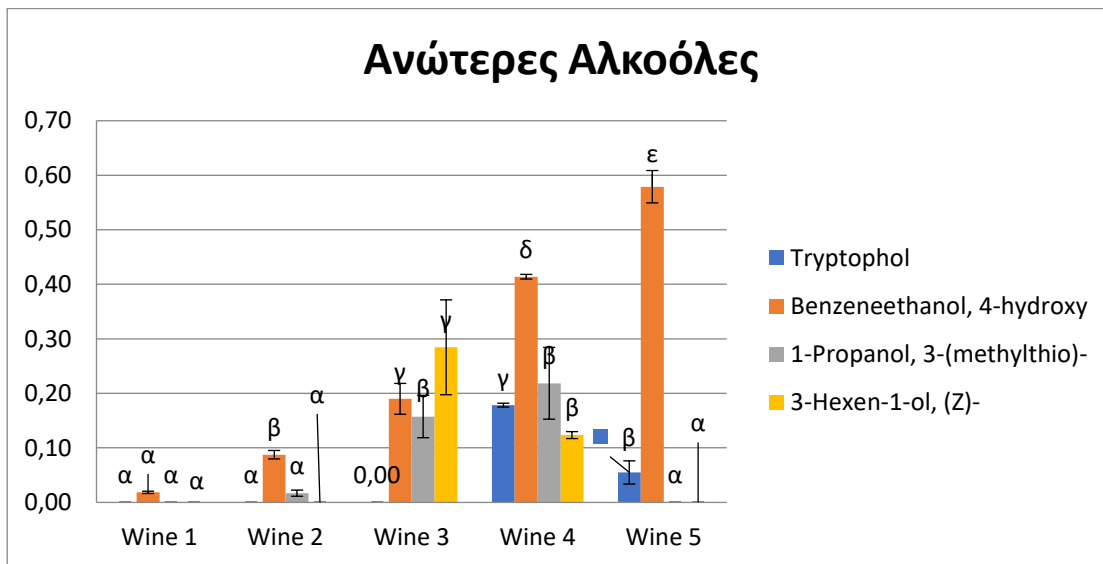
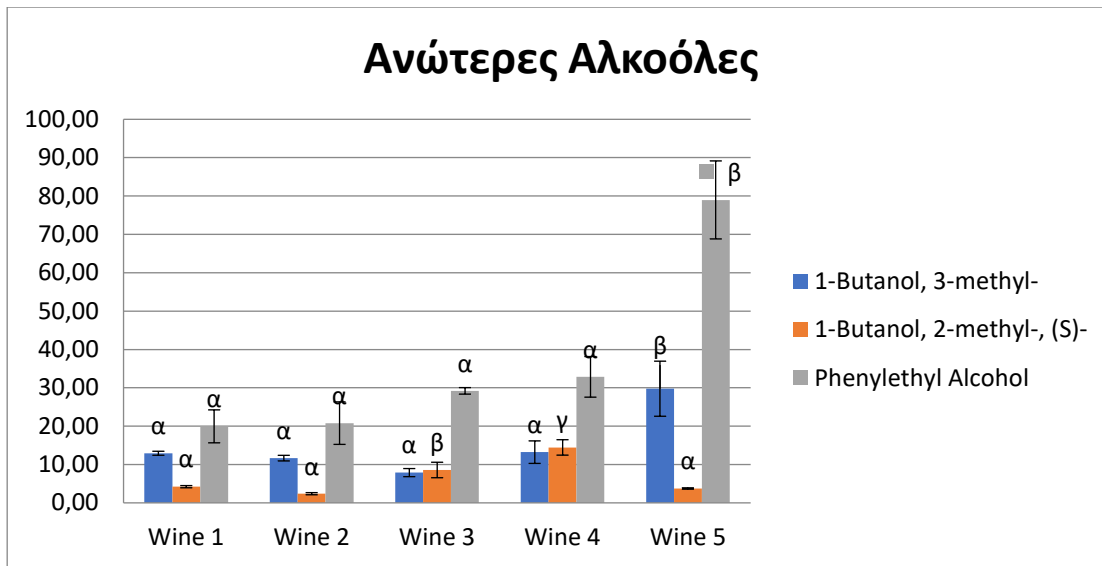
λάχανου, λιπαρού, τυρώδους και κρεμμυδιού και υποβαθμίζουν ποιοτικά τον οίνο ωστόσο είχαμε και μέγιστη συγκέντρωση σε 3 ενώσεις οι οποίες δίνουν την αίσθηση φρεσκάδας, βουτύρου, νότες φρούτων και ώριμης μπανάνας.

Πίνακας 8. Οι κοινές ενώσεις όπου παρουσίασαν μέγιστη συγκέντρωση στα Wine 1, 2, 3.

ΣΥΝΘΗΚΗ / ΕΝΩΣΗ	FLAVOR	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ/ΚΑΤΩΦΛΙ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ (mg/l)
Wine 1 (S. c Strain A)		
Ethyl hydrogen succinate	Τροπικό, Φρουτώδες	31.79 /
Wine 2 (S. c Strain B)		
Benzoic acid, 4-hydroxy - 3methyl, ethyl ester	Φαινολικό, μεταλλικό, καπνιστό	0.28 /
Butanoic acid, 3-hydroxy, ethyl ester	Φρουτώδες, πράσινο μήλο	0.03 /
Wine 3 (S. c Strain C)		
Butanoic acid, 3-methyl, ethyl ester	Ανανά, μήλο, πορτοκάλι	0.26 /
3-Hexen-1-ol, (Z)-	Πράσινες νότες	0.28 / 0.07

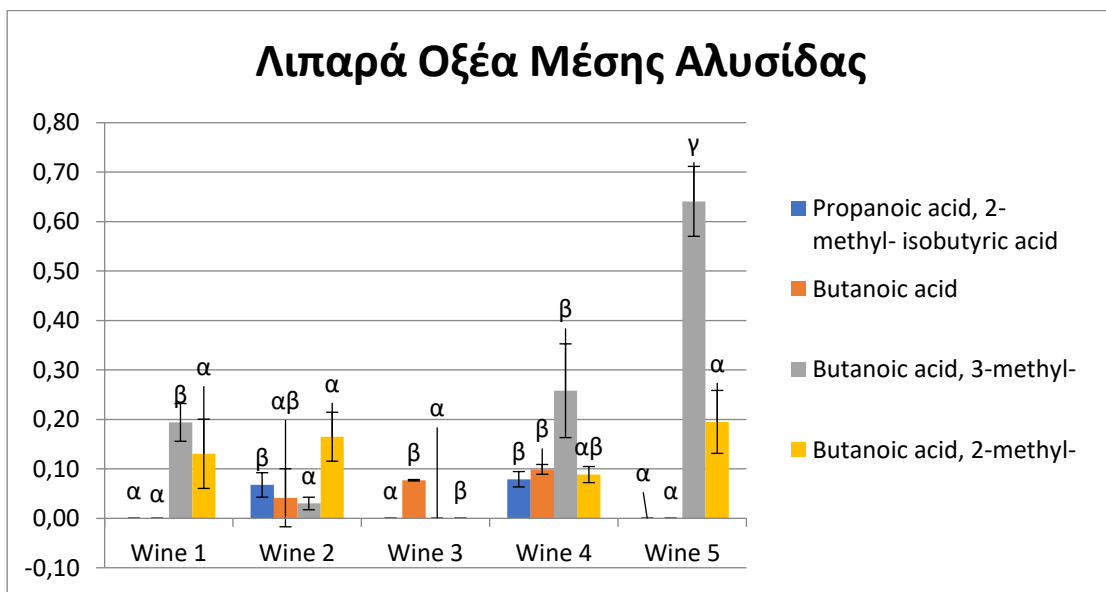
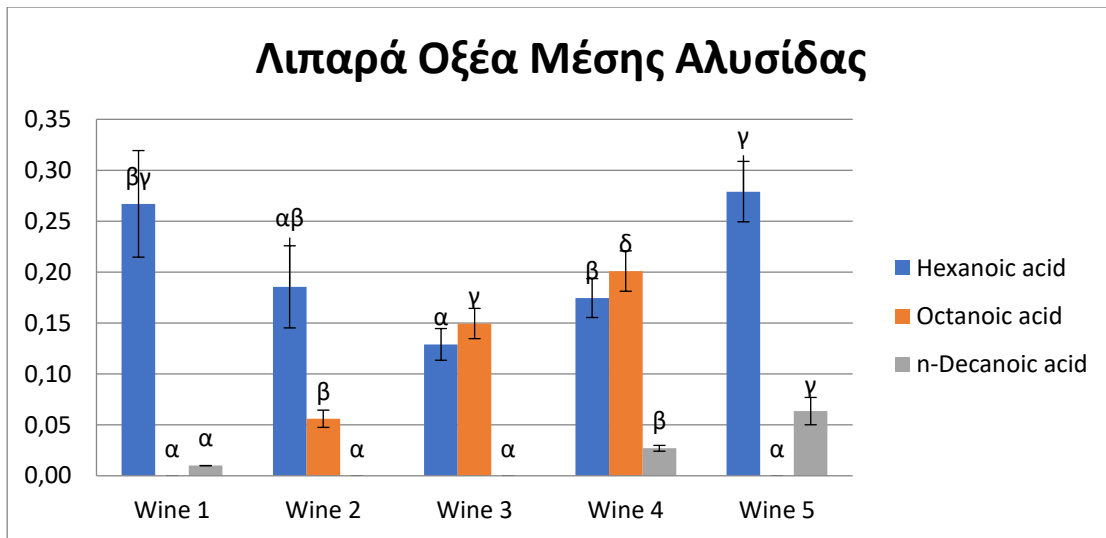
Παρατηρούμε πως για τα Wine 1, 2, 3 στις οποίες υπήρξε εμβολιασμός με μονοκαλλιέργεια ζυμομυκήτων με τα στελέχη α, β, γ αντίστοιχα, ελάχιστες ήταν οι κοινές ουσίες με σημαντικά στατιστική διαφορά στις οποίες παρουσίασαν μέγιστες συγκεντρώσεις. Συγκεκριμένα για το Wine 1 είχαμε την Ethyl hydrogen succinate η οποία δίνει την αίσθηση του τροπικού και φρουτώδους, για το 2 είχαμε τον Benzoic acid, 4-hydroxy-3methyl, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του ανανά, μήλο, πορτοκάλι και τον Butanoic Acid, 3-hydroxy, ethyl ester ο οποίος δίνει την αίσθηση του φρουτώδους και πράσινου μήλου ενώ για το 3 είχαμε τις ενώσεις Butanoic acid, 3-hydroxy, ethyl ester και 3-Hexen-1-ol, (Z)- οι οποίες δίνουν την αίσθηση φρούτων και πράσινες νότες.

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε ομαδοποίηση των συγκεκριμένων πτητικών ενώσεων ανα κατηγορία ώστε να έχουμε πιο διακριτά αποτελέσματα.



Γράφημα 2. Συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών. Τα διαφορετικά γράμματα α, β, γ, δ, ε δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$.

Απο το παραπάνω γράφημα παρατηρούμε πως το Wine 5 είχε μεγάλη διαφορά στις συγκεντρώσεις των Phenylethyl alcohol (τριαντάφυλλο, γλυκάδα), 1-Butanol, 3methyl (φρουτώδες, μπανάνα) και Benzeneethanol, 4-hydroxy (φρουτώδες, λουλουδάτο) γεγονός το οποίο θα μπορούσε να ενισχύσει το φρουτώδες και λουλουδάτο χαρακτήρα του οίνου.



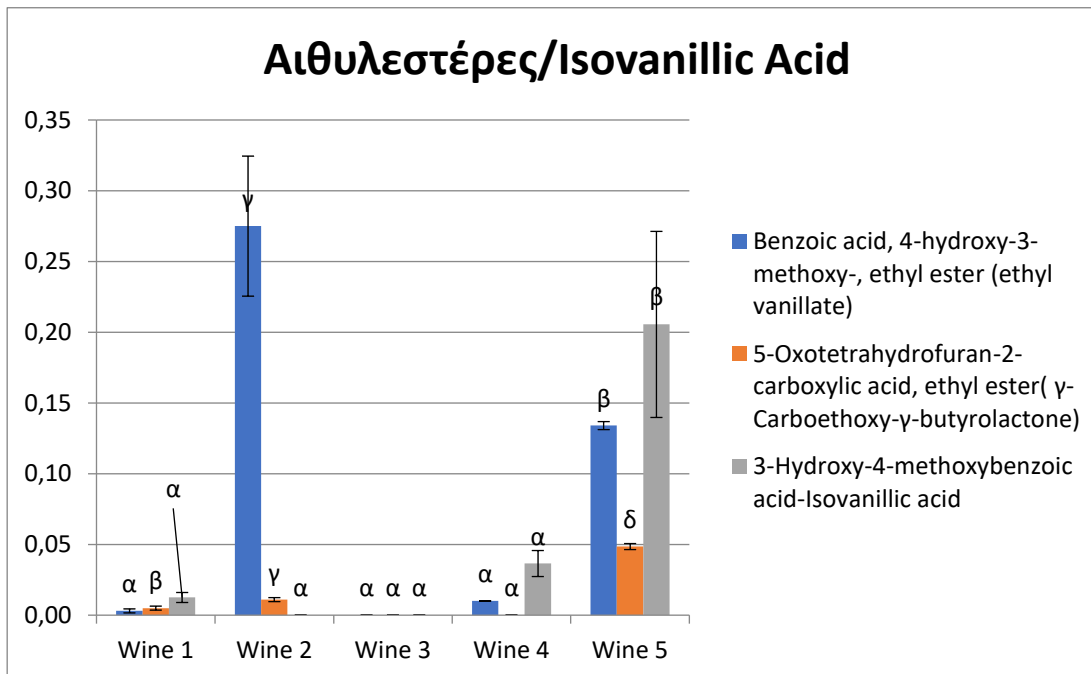
Γράφημα 3. Συγκέντρωση λιπαρών οξέων μέσης αλυσίδας. Τα διαφορετικά γράμματα α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, *Duncan's test*, $p < 0.05$

Όσον αφορά τα λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας το Wine 5 είχε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε hexanoic acid (λιπαρό, φρουτώδες, τυρί) χωρίς ωστόσο να διαφέρει από το 1, n-Decanoic acid (λιπαρό, σαπούνι), Butanoic acid, 3-methyl (λιπαρό, ιδρώτας) γεγονός το οποίο θα μπορούσε να ενισχύσει την αίσθηση της λιπαρότητας, του φρουτώδους και του ιδρώτα σε σχέση με τις υπόλοιπες συνθήκες δίνοντας μια πολυπλοκότητα.



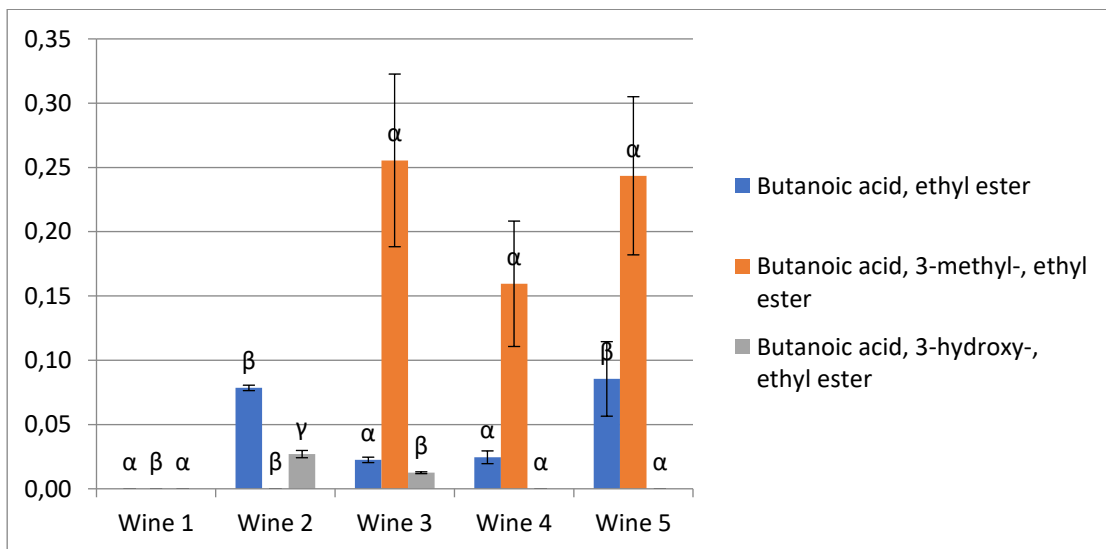
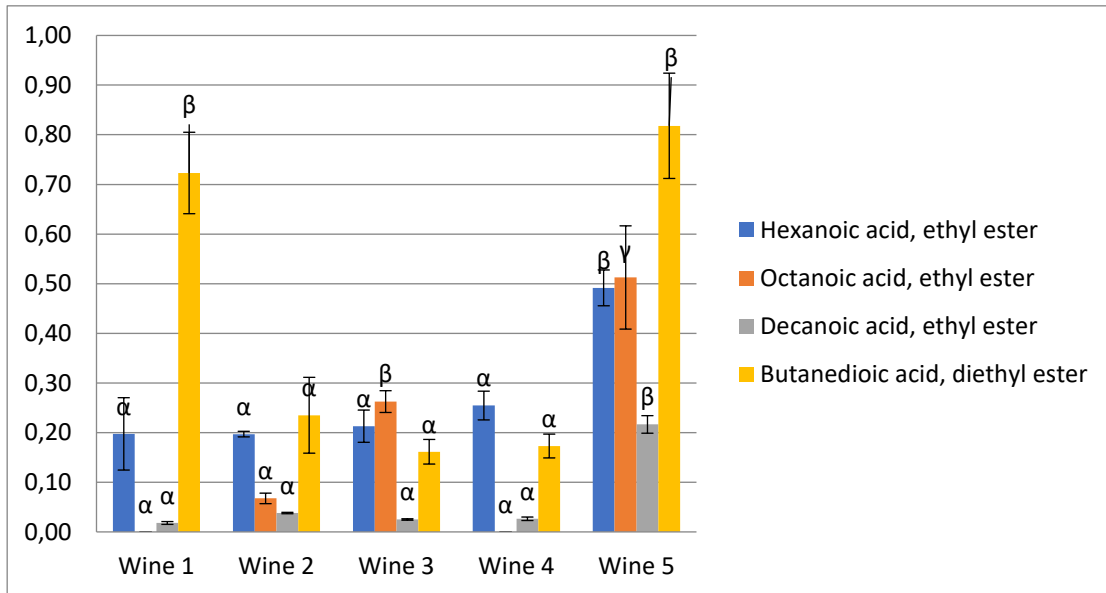
Γράφημα 4. Συγκέντρωση οξικών εστέρων. Τα διαφορετικά γράμματα α, β δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$)

Ακόμη όσον αφορά τους οξικούς εστέρες είχαμε τεράστιες διαφορές υπέρ του Wine 5 στην συγκέντρωση των 1-Butanol, 3-methyl, acetate (φρουτώδες, μπανάνα, γλυκάδα) και Acetic acid, 2-phenylethyl ester (τριαντάφυλλο, μέλι) ενώσεις οι οποίες θα μπορούσαν να ενισχύσουν το χαρακτήρα του φρουτώδους και το άρωμα του τριαντάφυλλου σε σχέση με τις άλλες συνθήκες.



Γράφημα 5. Συγκέντρωση ορισμένων σημαντικών αιθυλεστέρων και ισοβανιλικού οξέος. Τα διαφορετικά γράμματα α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$)

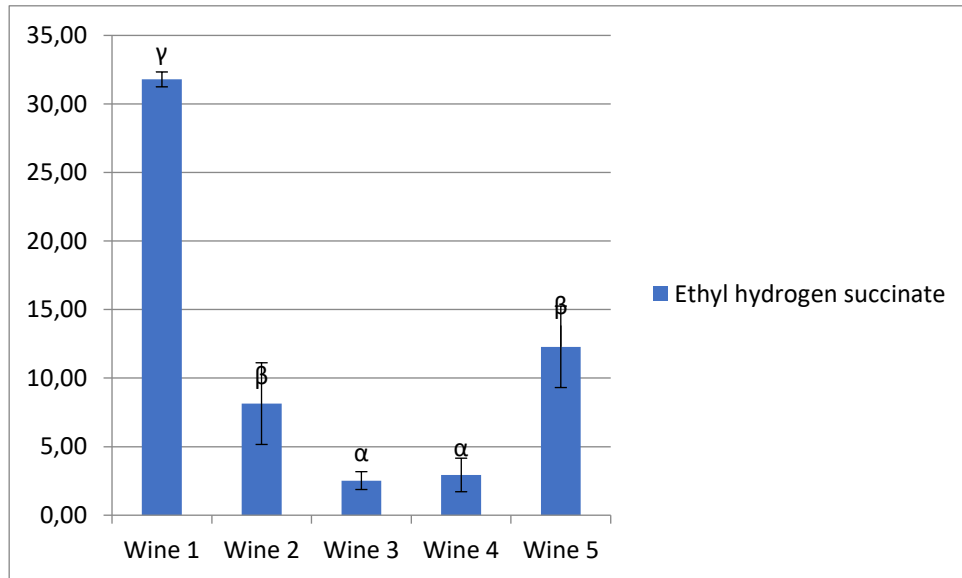
Όσον αφορά τους αιθυλεστέρες είχαμε μεγάλη διαφορά στην συγκέντρωση του 5-Oxotetrahydrofuran-2-carboxylic acid, ethyl ester (καπνιστό, ψητό) και στην συγκέντρωση του 3-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid (βανίλια) υπέρ του Wine 5, τα οποία δίνουν αρώματα που συνήθως μας παραπέμπουν σε ωρίμανση σε βαρέλι και μπορούν να ενισχύσουν την πολυπλοκότητα.



Γράφημα 6. Συγκέντρωση εστέρων των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας. Τα διαφορετικά γράμματα α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$)

Στους εστέρες των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας παρατηρούμε μεγάλες διαφορές στην συγκέντρωση υπέρ του Wine 5 στους Butanedioic acid, diethyl ester (φρουτώδες, τροπικό) χωρίς σημαντική στατιστική διαφορά από το 1 ωστόσο, Decanoic acid, ethyl ester (φρουτώδες, μήλο, κερύ), Octanoic acid, ethyl ester (λιπαρό, μανιτάρι, κερύ), Hexanoic acid, ethyl ester (μπανάνα, ανανά) αλλά

και στον Butanoic acid, ethyl ester (φρουτώδες, καραμέλα) γεγονός το οποίο θα μπορούσε να ενισχύσει το φρουτώδες και λιπαρό χαρακτήρα του Wine 5 σε σχέση με τις υπόλοιπες.

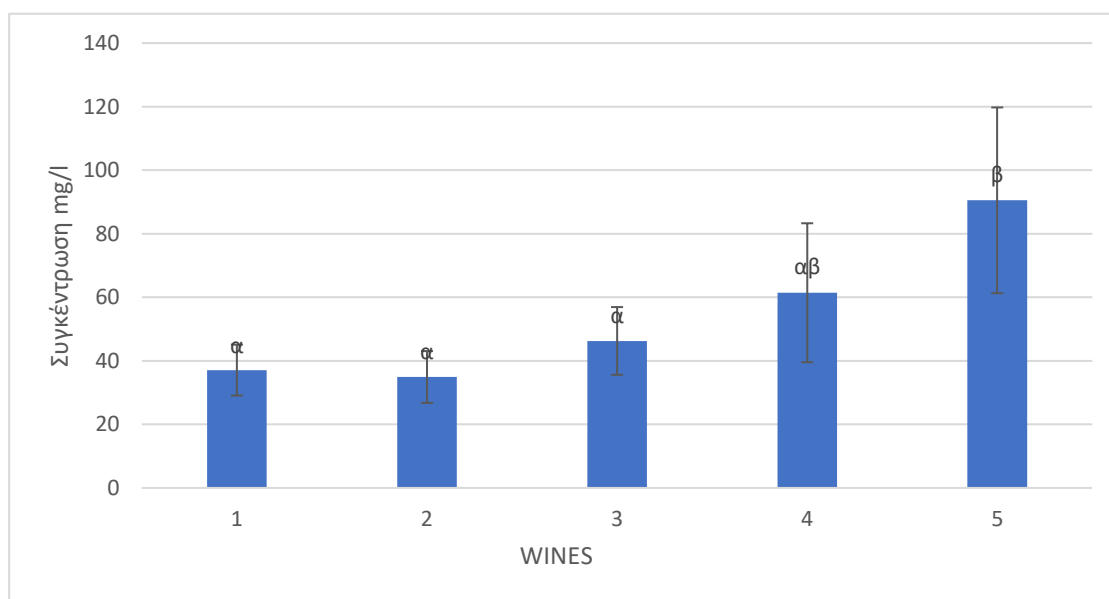


Γράφημα 7. Τα διαφορετικά γράμματα α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$

Οι κοινές ενώσεις που παρουσίασαν σημαντική στατιστική διαφορά ομαδοποιήθηκαν και παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα. Οι κατηγορίες είναι οι εξής ανώτερες αλκοόλες, εστέρες λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, οξικοί εστέρες και κάποια πτητικά οξέα που είναι και αυτά σημαντικά για το άρωμα του οίνου.

Πίνακας 9. Συγκέντρωση κοινών Ανωτέρων Αλκοολών (mg/l) μεταξύ των διαφορετικών οίνων.

H.ALCOHOLS	Wine 1	Wine 2	Wine 3	Wine 4	Wine 5
1-Butanol, 3-methyl-	12,93	11,66	7,88	13,21	7,18
1-Butanol, 2-methyl-, (S)-	4,21	2,38	8,56	14,45	3,74
Phenylethyl Alcohol	19,94	20,78	29,2	32,85	78,97
Tryptophol	0	0	0	0,178	0,055
Benzeneethanol, 4-hydroxy	0,018	0,087	0,19	0,41	0,57
1-Propanol, 3-(methylthio)-	0	0,017	0,15	0,21	0
3-Hexen-1-ol, (Z)-	0	0	0,28	0,12	0
SUM.H.ALC	37,098	34,924	46,26	61,428	90,515
AVER.	5,299714	4,989143	6,608571	8,775429	12,93071
ST.D	8,01981	8,15675	10,66484	21,87427	29,24524



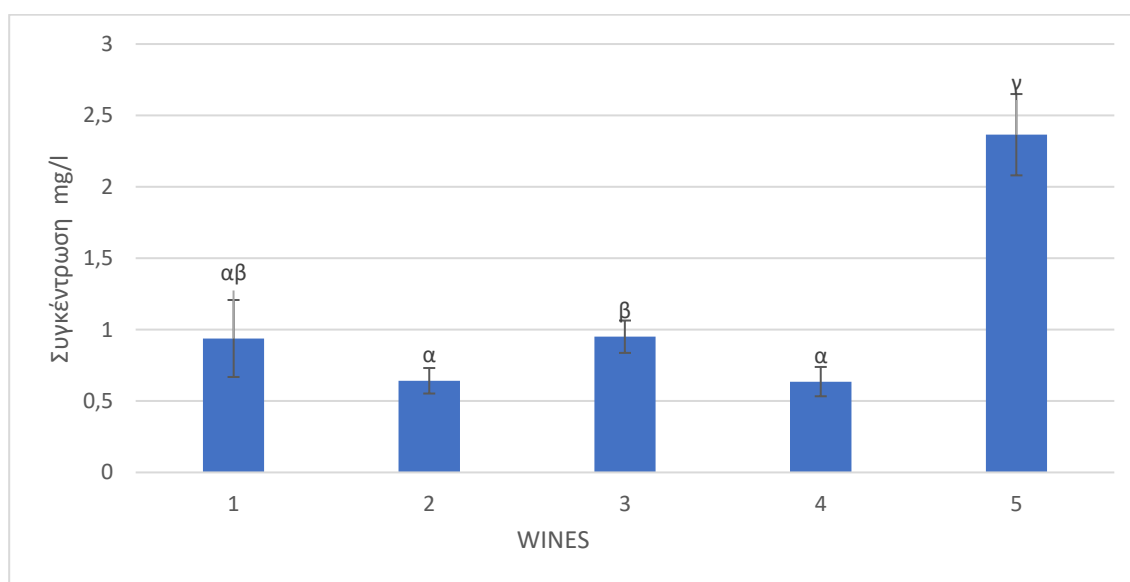
Γράφημα 8. Συνολική συγκέντρωση ανωτέρων αλκοολών. Τα διαφορετικά γράμματα α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$

Παρατηρούμε πως υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών όσον αφορά την συνολική συγκέντρωση των ανώτερων αλκοολών. Τα Wine 1, 2, 3, 4 δεν διέφεραν μεταξύ τους και το 5 δεν διέφερε από το 4 σημαντικά αλλά διέφερε από τις υπόλοιπες. Το Wine 5 στο οποίο είχε πραγματοποιηθεί εμβολιασμός μεικτής καλλιέργειας ζυμομυκήτων με την μεγαλύτερη ποικιλομορφία κατάφερε την μεγαλύτερη συνολική συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών οι οποίες

μπορούν να ενισχύσουν την αίσθηση του φρουτώδους, τριαντάφυλλου, φρεσκάδας, πράσινων νοτών και ίσως λάχανου που δεν είναι ιδιαίτερα θετικό.

Πίνακας 10. Συγκέντρωση των κοινών Λιπαρών Οξέων Μεσαίας Αλυσίδας (mg/l) μεταξύ των διαφορετικών οίνων.

MCFA ESTERS	Wine 1	Wine 2	Wine 3	Wine 4	Wine 5
Butanoic acid, ethyl ester	0	0,078	0,022	0,024	0,085
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	0	0	0,255	0,159	0,243
Butanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester	0	0,027	0,0125	0	0
Hexanoic acid, ethyl ester	0,197	0,197	0,213	0,254	0,491
Octanoic acid, ethyl ester	0	0,067	0,262	0	0,512
Decanoic acid, ethyl ester	0,018	0,038	0,025	0,026	0,216
Butanedioic acid, diethyl ester	0,723	0,235	0,161	0,173	0,818
SUM.MCFA ESTER	0,938	0,642	0,9505	0,636	2,365
ST.D MCFA.ESTER	0,26962	0,089349	0,113402	0,102626	0,284677

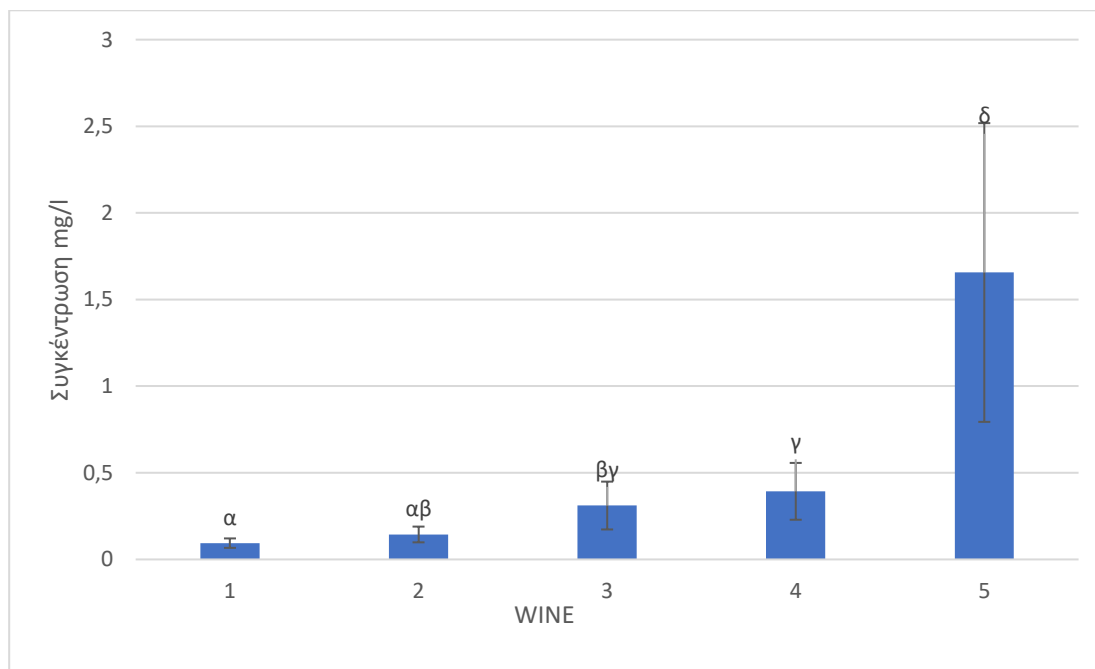


Γράφημα 9. Συνολική συγκέντρωση λιπαρών οξέων μέσης αλυσίδας. Τα διαφορετικά γράμματα α,β,γ,δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, p<0.05

Παρατηρούμε πως υπάρχει σημαντικά στατιστική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών ζύμωσης όσον αφορά τους εστέρες των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας. Το Wine 3 διέφερε σημαντικά από τα 2, 4, 5 και το 5 διέφερε από όλες τις υπόλοιπες. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση επιτεύχθηκε από το 5 στο οποία είχε πραγματοποιηθεί εμβολιασμός μεικτής καλλιέργειας ζυμομυκήτων με την μεγαλύτερη ποικιλομορφία. Οι συγκεκριμένες ενώσεις θα μπορούσαν να δώσουν την αίσθηση του φρουτώδους, καραμέλας, μπανάνας, ανανά, πράσινου μήλου, τροπικού και κεριού οι οποίες μπορούν να αναβαθμίσουν ποιοτικά τον οίνο.

Πίνακας 11. Συγκέντρωση των κοινών Οξικών Εστέρων (mg/l) μεταξύ των διαφορετικών οίνων.

ACET. ESTERS	Wine 1	Wine 2	Wine 3	Wine 4	Wine 5
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0,045	0,1	0,263	0,32	1,546
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	0	0,016	0,019	0,023	0
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	0,049	0,028	0,029	0,05	0,11
SUM.AC.ESTERS	0,094	0,144	0,311	0,393	1,656
ST.D.ACET.ESTER	0,027209	0,045431	0,138077	0,164235	0,862584

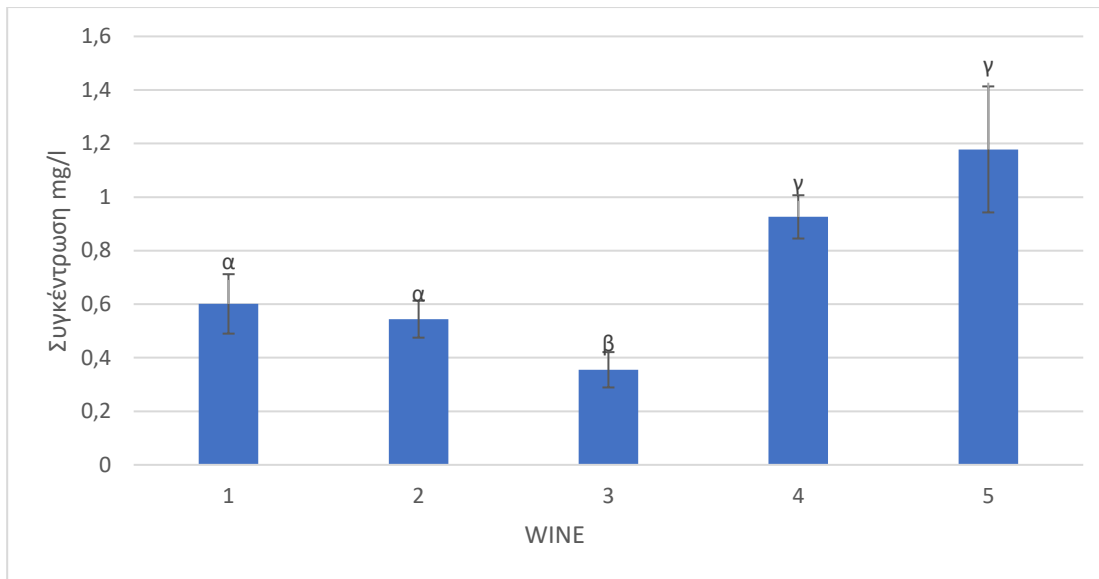


Γράφημα 10. Συνολική συγκέντρωση οξικών εστέρων. Τα διαφορετικά γράμματα α,β,γ,δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$

Παρατηρούμε πως για την συνολική συγκέντρωση των οξικών εστέρων υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών ζύμωσης. Το Wine 3 διέφερε από τα 1, 5 και το 4 διέφερε από τα 1, 2, 5 και το 5 διέφερε από όλες τις υπόλοιπες. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση επιτεύχθηκε από το Wine 5 στο οποίο είχε πραγματοποιηθεί εμβολιασμός μεικτής καλλιέργειας ζυμομυκήτων και οι συγκεκριμένες ενώσεις μπορούν να δώσουν την αίσθηση του φρουτώδους, μπανάνας, τριαντάφυλλου και μελιού οι οποίες μπορούν να αναβαθμίσουν ποιοτικά τους οίνους.

Πίνακας 12. Συγκέντρωση των κοινών Πτητικών Οξέων (mg/l) μεταξύ των διαφορετικών οίνων.

ACIDS	Wine 1	Wine 2	Wine 3	Wine 4	Wine 5
Propanoic acid, 2-methyl- isobutyric aci	0	0,067	0	0,079	0
Butanoic acid	0	0,041	0,077	0,099	0
Butanoic acid, 3-methyl-	0,194	0,03	0	0,258	0,641
Butanoic acid, 2-methyl-	0,13	0,165	0	0,088	0,195
Hexanoic acid	0,267	0,185	0,129	0,174	0,279
Octanoic acid	0	0,056	0,149	0,201	0
n-Decanoic acid	0,01	0	0	0,027	0,063
SUM ACIDS	0,601	0,544	0,355	0,926	1,178
STD ACIDS	0,111299	0,069976	0,066793	0,08089	0,235399



Γράφημα 11. Συνολική συγκέντρωση πτητικών λιπαρών οξέων. Τα διαφορετικά γράμματα α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$

Η συγκέντρωση των παραπάνω λιπαρών οξέων παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών οίνων. Τα Wine 1 και 2 διέφεραν με τις υπόλοιπα, το 3 επίσης διέφερε με όλα και τα 4, 5 διέφεραν με όλα τα άλλα ωστόσο όχι μεταξύ τους. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση επιτεύχθηκε για το Wine 5 στο οποίο είχε πραγματοποιηθεί εμβολιασμός μεικτής καλλιέργειας ζυμομυκήτων, είχαμε λοιπόν ενώσεις οι οποίες θα μπορούσαν να δώσουν την αίσθηση του φρουτώδους, λιπαρότητας, βουτύρου, νότες φρούτων και σαπουνιού. Οι περισσότερες από αυτές ενισχύουν ποιοτικά τον οίνο ενώ ορισμένες μπορούν να τον υποβαθμίσουν ανάλογα την συγκέντρωση.

Το Wine 5 είχε μεγαλύτερη συνολική συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών (με σημαντικά στατιστική διαφορά από τις υπόλοιπες), εστέρων λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας (με σημαντικά στατιστική διαφορά από τις υπόλοιπες) το ίδιο ίσχυε και με τους οξικούς εστέρες αλλά και με το σύνολο των σημαντικών πτητικών οξέων τα οποία παρουσιάζονται παραπάνω. Επομένως για τις κοινές ενώσεις μεταξύ οίνων 1-5 που παρουσίασαν σημαντικά στατιστική διαφορά το 5 παρουσίασε σημαντικές διαφορές και συγκεντρωτικά στις ανώτερες αλκοόλες, τους εστέρες λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, τους οξικούς εστέρες αλλά και στα σημαντικότερα πτητικά οξέα, γεγονός το οποίο θα μπορούσε να μας δώσει ένα οίνο ποιοτικά ανώτερο.

Ωστόσο οι πτητικές ενώσεις που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές δεν ήταν μόνο αυτές καθώς για κάθε συνθήκη προέκυψαν ενώσεις οι οποίες ήταν μοναδικές.

Συγκεκριμένα είχαμε

Πίνακας 13. Συγκέντρωση των πτητικών ενώσεων που εντοπίστηκαν μοναδικά στο Wine 1.

Wine 1	FLAVOR	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ/ ΚΑΤΩΦΛΙ ΑΝΤΙΑΛΗΨΗΣ (mg/l)
Methyl 4-hydroxybutanoate		0,016/
Undecanoic acid	Λιπαρό, Κηρώδες, Καρύδα	0,005/
Butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester	Ανανάς, Φράουλα , Μέλι	0,06/ 0.018-0.314
Benzeneacetic acid, 2-propenyl ester	Μέλι	0,15/
Total Concentration (mg/l)		0,23
ST.D		0,064

Πίνακας 14. Συγκέντρωση των πτητικών ενώσεων που εντοπίστηκαν μοναδικά στο Wine 2.

Wine 2	FLAVOR	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ/ ΚΑΤΩΦΛΙ ΑΝΤΙΑΛΗΨΗΣ (mg/l)
2-Pentenoic acid, 4-hydroxy-	Καρύδα, Καπνιστό	0,05/
1-Pentanol, 4-methyl-	Ξηροί Καρποί	0,01/
Benzyl alcohol	Ανθικό, Αμύδαλο	0,017/ 1
1-Hexanol, 2-ethyl-	Γλυκό, Λιπαρό, Φρουτώδες	0,01/
Benzeneacetaldehyde	Λουλουδάτο, πράσινο, γλυκό	0,03/
Benzenepropanoic acid, α -hydroxy-, methyl ester		0,18/
Hexadecane	Βενζίνη	0,019/
Total Concentration (mg/l)		0,32
ST.D		0,06

Πίνακας 15. Συγκέντρωση των πτητικών ενώσεων που εντοπίστηκαν μοναδικά στο Wine 3.

Wine 3	FLAVOR	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ/ ΚΑΤΩΦΛΙ ΑΝΤΙΑΛΗΨΗΣ (mg/l)
--------	--------	---

Sulfurous acid, nonyl 2-propyl ester		0,016/
2-Butenoic acid, butyl ester		0,008/
Total Concentration (mg/l)		0,025
ST.D		0,005

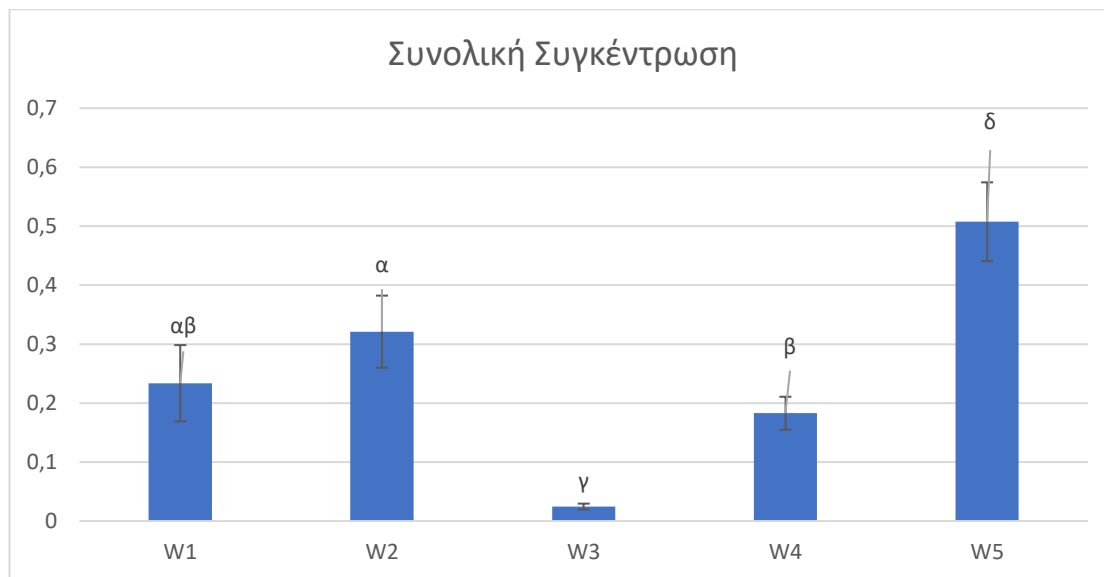
Πίνακας 16. Συγκέντρωση των πτητικών ενώσεων που εντοπίστηκαν μοναδικά στο Wine 4.

Wine 4	FLAVOR	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ/ ΚΑΤΩΦΛΙ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ (mg/l)
1-Pentanol, 3-methyl-	Κακάο, Πράσινες Νότες	0,07/ 50
Heptanoic acid	Λιπαρό, Τυρώδες, Ανανά	0,06/
5-Hydroxymethyl-dihydrofuran-2-one		0,02/
4,5-Dihydro-2(1H)-pentalenone		0,02/
Total Concentration (mg/l)		0,18
ST.D		0,028

Πίνακας 17. Συγκέντρωση των πτητικών ενώσεων που εντοπίστηκαν μοναδικά στο Wine 5.

Wine 5	FLAVOR	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ/ ΚΑΤΩΦΛΙ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ (mg/l)
Disulfide, dipropyl	Σκόρδο, Κρεμμύδι	0,03/
Isoamyl nitrite	Φρουτώδες	0,19/
2-Butenoic acid, 2-methoxy-, methyl ester, (Z)-		0,005/
Disulfide, 1-methylethyl propyl	Κρεμμύδι	0,1/
Ethanone, 1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-		0,04/
Undecanoic acid, ethyl ester	Λιπαρό, Κρεμώδες, Καρύδα	0,02/
Hexadecanoic acid, ethyl ester	Φρουτώδες, Κρεμώδες, Βανίλια	0,1/ 2

Total Concentration (mg/l)		0,51
ST.D		0,0668



Γράφημα 12. Συνολική συγκέντρωση πτητικών ενώσεων που εμφανίστηκαν αποκλειστικά σε μια συνθήκη. Τα διαφορετικά α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$

Οι ενώσεις στις οποίες αναφερόμαστε ήταν μοναδικές σε κάθε οίνο, για κάθε ένα λοιπόν υπολογίστηκε η συνολική συγκέντρωση αυτών η οποία θα μπορούσε να παίζει σημαντικό ρόλο στο συνολικό άρωμα του. Παρατηρούμε πως η μεγαλύτερη συγκέντρωση αρωματικών ουσιών επιτεύχθηκε από το Wine 5 στο οποίο είχαμε εμβολιασμό με μεικτή καλλιέργεια ζυμομυκήτων και είχε σημαντική διαφορά από όλες τις υπόλοιπες. Το 2 ακολούθησε με την δεύτερη μεγαλύτερη συγκέντρωση χωρίς να διαφέρει σημαντικά από το 1 το οποίο είχε την τρίτη μεγαλύτερη συγκέντρωση. Το Wine 4 βρισκονταν στην τέταρτη θέση χωρίς να διαφέρει σημαντικά από το 1. Τέλος το 3 είχε την μικρότερη συγκέντρωση συνολικά και διέφερε σημαντικά από όλες τις άλλες συνθήκες.

Όσον αφορά λοιπόν τις πτητικές ενώσεις παρατηρήθηκε πως για τις κοινές οι οποίες είχαν σημαντικά στατιστική διαφορά το Wine 5 κατάφερε τα καλύτερα αποτελέσματα μεταξύ όλων των συνθηκών αλλά και για τις μοναδικές ενώσεις που εντοπίστηκαν σε κάθε οίνο οι οποίες και αυτές είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά το Wine 5 είχε την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Περεταίρω ανάλυση και σχολιασμός θα πραγματοποιηθεί παρακάτω.

Οργανοληπτικός Έλεγχος

Οι οίνοι αξιολογήθηκαν από πάνελ όσον αφορά την αρωματική ένταση, την αρωματική πολυπλοκότητα, την τυπικότητα, το άρωμα κόκκινου φρούτου, το άρωμα μαύρου φρούτου, τα γλυκά μπαχαρικά (κανέλλα, γαρύφαλλο) και το λουλουδάτο άρωμα (βιολέτα) και βαθμολογήθηκαν με κλίμακα 0-10. Με βάση την στατιστική ανάλυση προέκυψε πως σε όλους τους παράγοντες που αξιολογήθηκαν υπήρχαν σημαντικές διαφορές. Η αρωματική ένταση έλαβε την μεγαλύτερη τιμή στο Wine 1 το οποίο δεν διέφερε σημαντικά από το 4, ωστόσο διέφερε σημαντικά από τα 2 και 3, ακόμη αξίζει να αναφέρουμε πως το 3 έλαβε την χαμηλότερη τιμή και διέφερε σημαντικά και από το 2. Στην αρωματική πολυπλοκότητα είχαμε σημαντικές διαφορές μεταξύ των Wine 4, 5, 1 και των 2, 3 με την μεγαλύτερη τιμή να λαμβάνεται από το 4 και την μικρότερη 2. Η διαφορά στην τυπικότητα του αρώματος δεν ήταν σημαντική μεταξύ των οίνων, ωστόσο την υψηλότερη βαθμολογία κατάφεραν τα Wine 1 και 5 και την χαμηλότερη το 2. Όσον αφορά το άρωμα του κόκκινου φρούτου παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές με το Wine 5 να διαφέρει από τα 3, 4, 2, το Wine 1 να διαφέρει από τα 4, 2 και το Wine 3 να διαφέρει από το 2, την υψηλότερη βαθμολογία κατάφερε το Wine 5 και την χαμηλότερη στο 2. Το μαύρο φρούτο παρουσίασε σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα Wine 1, 4, 5 και τα 2, 3 με την μεγαλύτερη βαθμολογία να επιτυγχάνετε για το 1 και την χαμηλότερη για το 2. Η διαφορά στην ένταση αρώματος γλυκού μπαχαρικού εντοπίστηκε μεταξύ των Wine 4, 3 τα οποία διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους αλλά όχι από τα υπόλοιπα, η υψηλότερη βαθμολογία καταγράφηκε για το 4 και η μικρότερη για το 3. Τέλος για το άρωμα λουλουδιών (βιολέτα) παρατηρήθηκε σημαντικά στατιστική διαφορά μεταξύ των οίνων, τα Wine 3, 5, 1 δεν διέφεραν μεταξύ τους ωστόσο το 3 διέφερε από τα 4, 2 με το τελευταίο να μην διαφέρει μόνο από το 4. Το 4 διέφερε σημαντικά από το 3. Η υψηλότερη βαθμολογία επιτεύχθηκε από το Wine 3 και η μικρότερη από το 2.

Συνολικά λοιπόν σύμφωνα με το πάνελ το Wine 1 είχε καλύτερη αρωματική ένταση, νότες μαύρων φρούτων και τυπικότητα (χωρίς να υπάρχει σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα), το 4 είχε καλύτερη αρωματική πολυπλοκότητα αλλά και αρώματα γλυκών μπαχαρικών, το 5 ήταν το πιο εκφραστικό όσον αφορά το κόκκινο φρούτο και την αρωματική τυπικότητα (χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα υπόλοιπα) και το 3 ήταν το καλύτερο όσον αφορά το άρωμα λουλουδιών (βιολέτας) ωστόσο έλαβε τις χαμηλότερες τιμές στην αρωματική ένταση, τις νότες γλυκών μπαχαρικών και το μαύρο φρούτο. Τέλος άξιο προς αναφορά είναι πως το 2 έλαβε τις χαμηλότερες βαθμολογίες σε πολυπλοκότητα, τυπικότητα, κόκκινο φρούτο, λουλουδάτο άρωμα και δεν διέφερε σημαντικά από τις χαμηλότερες βαθμολογίες σε μαύρο φρούτο και αρωματική ένταση.

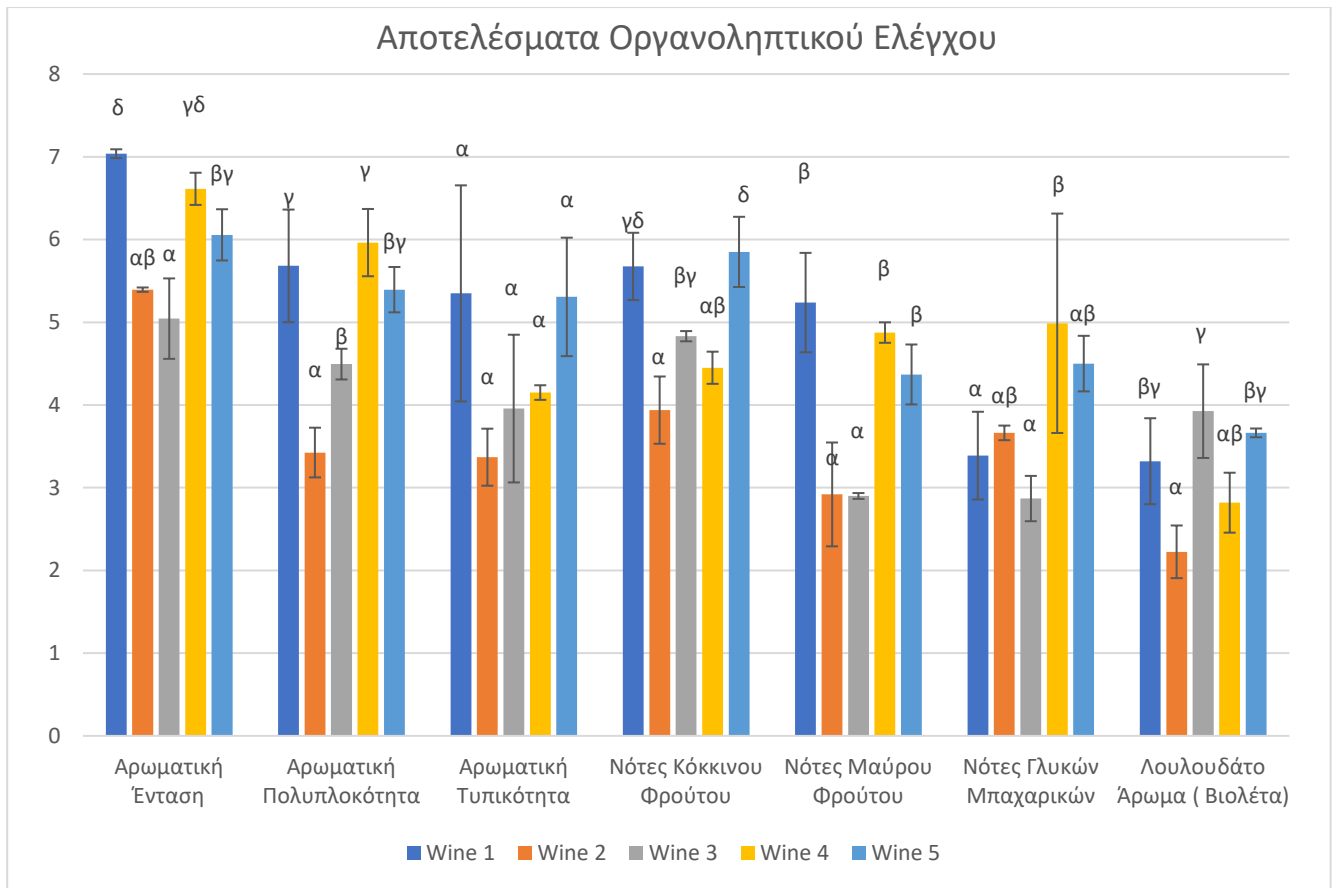
Παρατηρώντας ωστόσο πιο προσεκτικά θα καταλάβουμε πως παρόλο που στην αρωματική ένταση υψηλότερη βαθμολογία κατάφερε το Wine 1 δεν διέφερε σημαντικά από το 5, στην πολυπλοκότητα υψηλότερη βαθμολογία συγκέντρωσε το Wine 4 χωρίς να διαφέρει από τα Wine 1 και 5, στην

τυπικότητα οι δύο μεγαλύτερες συγκεντρώσεις επιτεύχθηκαν από τα Wine 1, 5, στο κόκκινο φρούτο υψηλότερη βαθμολογία κατάφερε το Wine 5 χωρίς να διαφέρει από το 1, στο μαύρο φρούτο υψηλότερη βαθμολογία κατάφερε το Wine 1 χωρίς να διαφέρει από τα 5, 4, στο άρωμα γλυκού μπαχαρικού υψηλότερη βαθμολογία κατάφερε το Wine 4 χωρίς να διαφέρει από τα 5, 1, και τέλος στο λουλουδάτο άρωμα υψηλότερη βαθμολογία κατάφερε το Wine 3 χωρίς να διαφέρει από τα 5, 1. Επομένως κατανοούμε πως τα Wine 1 και 5 κατάφεραν τα καλύτερα αποτελέσματα στον οργανοληπτικό έλεγχο καθώς είτε συγκέντρωσαν τις υψηλότερες βαθμολογίες είτε δεν διέφεραν από τις υψηλότερες βαθμολογίες. Στον αντίποδα τις χαμηλότερες βαθμολογίες από τα πάνελ συγκέντρωσαν τα Wine 2, 3 τα οποία στις περισσότερες περιπτώσεις δεν διέφεραν μεταξύ τους.

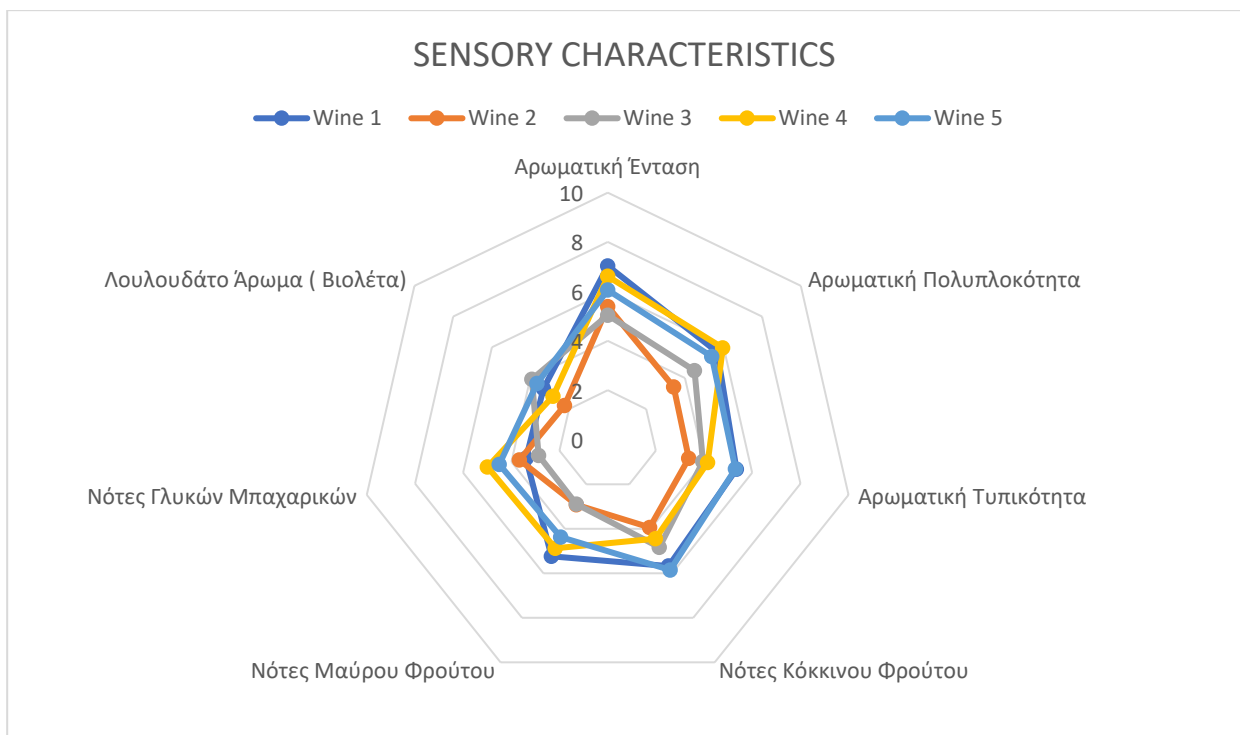
Πίνακας 18. Αποτελέσματα Οργανοληπτικού Ελέγχου

	Wine 1	Wine 2	Wine 3	Wine 4	Wine 5
Αρωματική Ένταση	7,03±0,05 δ	5,39±0,03 αβ	5,04±0,49 α	6,61±0,19 γδ	6,05±0,31 βγ
Αρωματική Πολυπλοκότητα	5,68±0,68 γ	3,42±0,3 α	4,49±0,19 β	5,96±0,41 γ	5,39±0,27 βγ
Αρωματική Τυπικότητα	5,34±1,31 α	3,36±0,34 α	3,95±0,89 α	4,15±0,09 α	5,30±0,72 α
Νότες Κόκκινου Φρούτου	5,67±0,41 γδ	3,93±0,41 α	4,83±0,06 βγ	4,45±0,19 αβ	5,85±0,42 δ
Νότες Μαύρου Φρούτου	5,23±0,60 β	2,91±0,63 α	2,90±0,04 α	4,87±0,12 β	4,36±0,36 β
Νότες Γλυκών Μπαχαρικών	3,38±0,53 αβ	3,66±0,09 αβ	2,86±0,27 α	4,98±1,33 β	4,5±0,34 αβ
Λουλουδάτο Άρωμα (Βιολέτα)	3,32±0,52 βγ	2,22±0,32 α	3,92±0,57 γ	2,81±0,36 αβ	3,66±0,05 βγ

Τα διαφορετικά α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, *Duncan's test*, $p < 0.05$, εξετάζουμε τις διαφορές των συνθηκών ζύμωσης ως προς αρωματική ένταση, πολυπλοκότητα, τυπικότητα κλπ



Γράφημα 13. Αποτελέσματα Οργανοληπτικού Ελέγχου. Τα διαφορετικά α, β, γ, δ δηλώνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών, Duncan's test, $p < 0.05$.



Γράφημα 14. Αποτελέσματα Οργανοληπτικού Ελέγχου (ΜΟ πάνελ Α,Β) σε μορφή ιστογράμματος.

Χαρακτηριστικά αναφέρουμε λοιπόν πως στο πάνελ Α προτιμήθηκε από την πλειοψηφία το Wine 1 στο οποίο υπήρξε εμβολιασμός με *Saccharomyces cerevisiae* και στην συνέχεια ακολούθησε το Wine 5 το οποίο είχε εμβολιαστεί με μεικτή καλλιέργεια *Saccharomyces cerevisiae* και *non Saccharomyces*. Στο πάνελ Β στην πρώτη θέση προτίμησης βρέθηκαν ταυτόχρονα τα Wine 1, 5 και 4 όπου τα τελευταία από αυτά είχαν εμβολιαστεί με μεικτή καλλιέργεια ζυμομυκήτων *Saccharomyces cerevisiae* και *non Saccharomyces*. Επομένως οι οίνοι που προτιμήθηκαν από τα πάνελ ήταν τα 5, 1 και 4 στον αντίποδα ο οίνος που προτιμήθηκε λιγότερο από τα πάνελ ήταν κοινός και στις δύο περιπτώσεις και ήταν ο οίνος 2 το οποίο είχε εμβολιαστεί με *Saccharomyces cerevisiae*.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στόχος της εργασίας ήταν να μελετήσει την επίδραση διαφορετικών στελεχών *Saccharomyces cerevisiae* και *non Saccharomyces* ζυμών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας οίνου Αγιωργίτικο. Το γλεύκος εμβολιάστηκε με 5 διαφορετικές συνθήκες και οι ζυμώσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν. Στην πρώτη συνθήκη είχαμε εμβολιασμό με μονοκαλλιέργεια *S. cerevisiae* (Strain A), η δεύτερη συνθήκη εμβολιάστηκε με μονοκαλλιέργεια *S. cerevisiae* (Strain B), η τρίτη συνθήκη εμβολιάστηκε με μονοκαλλιέργεια *S. cerevisiae* (Strain C), στην τέταρτη συνθήκη είχαμε εμβολιασμό με μεικτή καλλιέργεια στην οποία έλαβαν μέρος *S. cerevisiae* (Strain C) + *H. opuntiae* (Strain A) και στην πέμπτη συνθήκη είχαμε πάλι εμβολιασμό με μεικτή καλλιέργεια στην οποία έλαβαν μέρος *S. cerevisiae* (Strain C) + *H. opuntiae* (Strain A) + *H. opuntiae* (Strain B) + *H. uvarum* (Strain A).

Σύμφωνα με τις βασικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν οι οποίες αφορούσαν τον αλκοολικό βαθμό, το pH, την ολική οξύτητα, την πτητική οξύτητα, τα υπολειμματικά σάκχαρα, την γλυκερόλη, το σύνολο των φαινολικών ουσιών (Folin C) και την ένταση χρώματος παρατηρήθηκε πως δεν υπήρξαν σημαντικά στατιστικές διαφορές για τις περισσότερες από αυτές. Ωστόσο η παράμετρος η οποία παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν η πτητική οξύτητα. Η πτητική οξύτητα βρίσκονταν μεγαλύτερη συγκέντρωση στο Wine 1 και μικρότερη στο Wine 4 πράγμα το οποίο είναι σε συμφωνία με έρευνα των Lee *et al.*, 2019 όπου παρατηρήθηκε πως το οξικό οξύ σε οίνους που ζύμωσαν με μονοκαλλιέργειες ήταν αυξημένο σε σχέση με οίνους μεικτών καλλιεργείων.

Εν συνεχεία αναλύθηκαν οι πτητικές ενώσεις των διαφορετικών οίνων, εκεί εντοπίστηκαν όλες οι κοινές ενώσεις αλλά και αυτές οι οποίες υπήρχαν αποκλειστικά σε κάθε συνθήκη. Οι κοινές πτητικές ενώσεις είχαν σημαντικά στατιστική διαφορά ανάμεσα στους 5 οίνους ωστόσο για να είναι πιο ξεκάθαρα τα αποτελέσματα όπως και προηγουμένως κατηγοριοποιήθηκαν και ο σχολιασμός θα πραγματοποιηθεί συγκεντρωτικά για τις κατηγορίες αλλά και για ορισμένες ενώσεις στις οποίες οι διαφορές στην συγκέντρωση ανάμεσα στις συνθήκες ήταν πολύ μεγάλες

Συγκεκριμένα όσον αφορά τις ανώτερες αλκοόλες παρατηρείται πως το Wine 5 είχε μεγάλη διαφορά στις συγκεντρώσεις των Phenylethyl alcohol (τριαντάφυλλο, γλυκύτητα), 1-Butanol,3-methyl (φρουτώδες, μπανάνα) και Benzeneethanol, 4-hydroxy (φρουτώδες, λουλουδάτο) γεγονός το οποίο θα μπορούσε να ενισχύσει το φρουτώδες και λουλουδάτο χαρακτήρα του οίνου, αποτέλεσμα το οποίο συμφωνεί με έρευνες των Valera *et al.*, 2018 όπου παρατήρησαν πως οι μεικτές ζυμώσεις *non Saccharomyces/S. cerevisiae* ζυμώσεις οδηγούν σε αύξηση συγκέντρωσης της phenylethyl alcohol, (Luan *et al.*, 2018) οι οποίοι σε οίνο που παράχθηκε από την ποικιλία Cabernet Sauvignon με ταυτόχρονο εμβολιασμό *H. opuntiae/S. cerevisiae* παρατήρησαν αυξημένη συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών σε σχέση με μονοκαλλιέργειες και ιδιαίτερα για την Phenylethyl alcohol και την 1-Butanol,3-methyl. Επιπλέον σε έρευνα των Hu *et al.*, 2021 παρατηρήθηκε πως ο τριπλός εμβολιασμός σε γλεύκος από Merlot με *S. cerevisiae/P. fermentants/Lactobacillus brevis 26* είχε ως αποτέλεσμα αύξηση του αρώματος μαρμελάδας και ώριμου φρούτου καθώς η δράση της β-γλυκοσιδάσης του βακτηρίου αύξησε την απελευθέρωση των ελεύθερων τερπενίων. Όσο αφορά το άθροισμα των ανώτερων αλκοολών των κοινών ενώσεων των οίνων με σημαντικά στατιστική διαφορά, οι ενώσεις αυτές θα μπορούσαν να ενισχύσουν στον οίνο την αίσθηση του φρουτώδους, τριαντάφυλλου, πράσινες νότες και φρεσκάδα. Παρατηρήθηκε πως η μεγαλύτερη συγκέντρωση επιτεύχθηκε για το Wine 5 και έπειτα για το 4 τα οποία δεν είχαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους, ωστόσο το 5 είχε με όλες τις υπόλοιπες πράγμα το οποίο είναι σύμφωνο με έρευνες των Martin *et al.*, 2018; Andora *et al.*, 2018; Hu *et al.*, 2018; Valera *et al.*, 2018 οι οποίοι παρατήρησαν πως σε μεικτές καλλιέργειες *H. uvarum/S. cerevisiae* είχαμε αυξημένη συγκέντρωση ανώτερων αλκοολών αλλά και των Luan *et al.*, 2018 οι οποίοι παρατήρησαν το ίδιο φαινόμενο σε μεικτές ζύμωση *H. opuntiae/S. cerevisiae*.

Οι εστέρες λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας οι οποίοι μπορούν να δώσουν την αίσθηση του φρουτώδους, καραμέλας, μπανάνας, ανανά, πράσινου μήλου, τροπικού και κεριού. Παρατηρήθηκε πως συνολικά η μεγαλύτερη συγκέντρωση με σημαντικά στατιστική διαφορά επιτεύχθηκε από το Wine 5, έπειτα ακολούθησε το 1 και ύστερα όλα τα υπόλοιπα, ωστόσο δεν είχαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν σύμφωνα με έρευνες των Valentina *et al.*, 2018; Mestre *et al.*, 2019; Hu *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020 οι οποίοι παρατήρησαν πως σε κρασιά που προέκυψαν από ζύμωση με

συνεμβολιασμό *H. uvarum/S. cerevisiae* είχαμε υψηλές συγκεντρώσεις εστέρων των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας.

Ακόμη όσον αφορά τους οξικούς εστέρες είχαμε σημαντικές διαφορές υπέρ του Wine 5 στην συγκέντρωση των 1-Butanol, 3-methyl acetate (φρουτώδες, μπανάνα, γλυκάδα) και Acetic acid, 2-phenylethyl ester (τριαντάφυλλο, μέλι) ενώσεις οι οποίες θα μπορούσαν να ενισχύσουν το χαρακτήρα του φρουτώδους και το άρωμα του τριαντάφυλλου σε σχέση με τις άλλες συνθήκες. Τα αποτελέσματα ήταν σύμφωνα με έρευνα των Viana *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2020; Varela *et al.*, 2018 οι οποίοι ανέφεραν πως συνεμβολιασμός *non Saccharomyces/S. cerevisiae* θα μπορούσε να αυξήσει την παραγωγή Acetic acid, 2-phenylethyl ester αλλά και των Luan *et al.*, 2018 οι οποίοι μίλησαν και για αυξημένη παραγωγή οξικού ισοαμυλεστέρα.

Οι οξικοί εστέρες παίζουν σημαντικό παράγοντα για το άρωμα του οίνου, οι συγκεντρώσεις τους αθροίστηκαν και εξετάστηκε αν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά. Οι 1-Butanol, 2-methyl acetate, 1-Butanol, 3-methyl acetate και Acetic acid, 2-phenylethyl ester οι οποίοι δίνουν την αίσθηση του φρουτώδους, μπανάνας, τριαντάφυλλου και μελιού. Το Wine 5 είχε και εδώ την μεγαλύτερη συγκέντρωση με σημαντικά στατιστική διαφορά από τις υπόλοιπες γεγονός το οποίο συμφωνεί με τα αποτελέσματα ερευνών των Valentina *et al.*, 2018; Andora *et al.*, 2018; Hu *et al.*, 2018, οι οποίοι διαπίστωσαν πως οίνοι οι οποίοι προέκυψαν από ζύμωση με συνεμβολιασμό με *H. uvarum/S. cerevisiae* είχαν αυξημένη συγκέντρωση οξικών εστέρων σε σχέση με μονοκαλλιέργειες *S. cerevisiae*, επιπλέον οι Lu *et al.*, 2017 και Vianna *et al.*, 2008 ανέφεραν πως οι ζύμες *H. uvarum* είναι γνωστοί παραγωγί οξικών εστέρων. Στην συνέχεια την δεύτερη μεγαλύτερη συγκέντρωση την κατάφερε το Wine 4 χωρίς ωστόσο να διαφέρει σημαντικά από το Wine 3.

Τέλος μια σημαντική κατηγορία για τον οίνο είναι τα πτητικά οξέα και ιδιαίτερα αυτά που ανήκουν στην οικογένεια των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, οι συγκεντρώσεις τους αθροίστηκαν και εξετάστηκε εάν υπάρχουν σημαντικές διαφορές. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις επιτεύχθηκαν από το Wine 5 και έπειτα ακολούθησε το 4, μεταξύ τους δεν υπήρχε σημαντική στατιστική διαφορά αλλά υπήρχε με τους υπόλοιπους οίνους. Οι δύο οίνοι στους οποίους είχαμε εμβολιασμό με μεικτή καλλιέργεια ζυμομυκήτων είχαν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε μια κατηγορία ενώσεων που προσδίδει στον οίνο την αίσθηση του φρουτώδους, λιπαρότητας, βουτύρου, νότες φρούτων και σαπουνιού. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με έρευνες των Andora *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2020; Andora *et al.*, 2018; Valentina *et al.*, 2018 οι οποίοι παρατήρησαν σημαντική αύξηση των λιπαρών οξέων

μεσαίας αλυσίδας σε ζυμώσεις που πραγματοποιήθηκαν από συνεμβολιασμό *H. uvarum*/*S. cerevisiae* σε σχέση με μονοκαλλιέργειες *S. cerevisiae*.

Οι συγκεντρώσεις των πτητικών ενώσεων που εντοπίστηκαν ως μοναδικές σε κάθε οίνο αθροίστηκαν καθώς θα μπορούσαν να παίξουν σημαντικό ρόλο στο συνολικό άρωμα του οίνου κάθε συνθήκης. Παρατηρήθηκε λοιπόν πως υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των περισσότερων συνθηκών όπως φαίνεται και στα διαγράμματα της προηγούμενης ενότητας. Το Wine 5 είχε την μεγαλύτερη συνολική συγκέντρωση των συγκεκριμένων ενώσεων με σημαντικά στατιστική διαφορά από όλες τις υπόλοιπες γεγονός το οποίο θα μπορούσε να επηρεάσει σημαντικά το συνολικό άρωμα του παραχθέντα οίνου. Στην συγκεκριμένη περίπτωση για το Wine 5 θα μπορούσαμε να έχουμε ενίσχυση της αίσθησης του φρουτώδους, βανίλιας, καρύδας (ακόμη 2 ενώσεις που δεν έχουν ταυτοποιηθεί) και κρεμμυδιού το οποίο δεν είναι ιδιαίτερα επιθυμητό σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Οι Lin *et al.*, 2016 ανέφεραν πως οίνος ο οποίος προέκυψε από αυθόρμητη ζύμωση είχε διακριτά αρώματα σε σχέση με αυτόν από εμβολιασμό με *S. cerevisiae* καθώς χαρακτηρίστηκε από αυξημένη ποσότητα λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, εστέρων, τερπενίων και β-δαμασκονόνης. Παρατηρήθηκε λοιπόν πως τα non *Saccharomyces* συνέβαλαν σε μεγάλο βαθμό στην ενίσχυση του φρουτώδους αρώματος και πως οι μεικτές καλλιέργειες *S. cerevisiae*/non *Saccharomyces* είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την ρύθμιση των πτητικών προφίλ των οίνων.

Τέλος ακολούθησε ο οργανοληπτικός έλεγχος των οίνων από εξειδικευμένο πάνελ, όπου εξετάστηκαν η αρωματική ένταση, η αρωματική πολυπλοκότητα, η αρωματική τυπικότητα, το κόκκινο φρούτο, το μαύρο φρούτο, οι πικάντικες νότες και τέλος το λουλουδάτο άρωμα (βιολέτας). Οι οίνοι κωδικοποιήθηκαν ως εξής 510-(Wine 1), 345-(Wine 2), 981-(Wine 3), 732-(Wine 4), 196-(Wine 5). Σε όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών οίνων εκτός της αρωματικής τυπικότητας.

Η συνθήκη που προτιμήθηκε λιγότερο κατά συντριπτική πλειοψηφία ήταν το 2 δηλαδή αυτό που προέκυψε από εμβολιασμό με μονοκαλλιέργεια *Saccharomyces cerevisiae* (Strain B). Συγκεκριμένα συγκέντρωσε τις χαμηλότερες βαθμολογίες σε αρωματική πολυπλοκότητα, αρωματική τυπικότητα, άρωμα κόκκινου φρούτου και άρωμα λουλουδιών (βιολέτα). Στις άλλες παραμέτρους που αξιολογήθηκαν την χαμηλότερη βαθμολογία έλαβε το Wine 3, ο οίνος δηλαδή που προέκυψε από τον εμβολιασμό με μονοκαλλιέργεια *Saccharomyces cerevisiae* (Strain C). Επομένως τις χαμηλότερες βαθμολογίες από το πάνελ τις συγκέντρωσαν οι 2 από τους 3 οίνους οι οποίοι προέκυψαν από εμβολιασμό με μονοκαλλιέργεια *Saccharomyces cerevisiae*, γεγονός το οποίο θα μπορούσε να είναι έμμεσα σύμφωνο με αποτελέσματα έρευνας των Johnson *et al.*, 2013; Ma *et al.*, 2017 οι οποίοι ανέφεραν

πως η συμμετοχή ειδών *non Saccharomyces* σε μεικτές ζυμώσεις με *S. cerevisiae* μπορεί να αυξήσει την δράση της εστεράσης με αποτέλεσμα ισχυρότερο και διαφοροποιημένο άρωμα. Ακόμη οι Hong *et al.*, 2012 ανέφεραν πως οίνος της ποικιλίας Campell ο οποίος είχε πραγματοποιηθεί εμβολιασμός με *H. uvarum* είχε υψηλότερες βαθμολογίες όσον αφορά την γεύση και την συνολική προτίμηση σε σχέση με αντίστοιχο οίνο ο οποίος προέκυψε από εμβολιασμό με *S. cerevisiae*.

Συνολικά παρατηρήθηκε πως ο εμβολιασμός μεικτής καλλιέργειας με τα περισσότερα στελέχη και ο εμβολιασμός με *S. cerevisiae* (Strain A) είχαν κατά πλειοψηφία τα καλύτερα αποτελέσματα. Οι *non Saccharomyces* ζύμες παίζουν σημαντικό ρόλο στο προσδιορισμό του αρώματος και του στυλ της γεύσης σε οίνο αυθόρμητης ζύμωσης, παράγοντας πτητικές ενώσεις δραστικές στην οσμή όπως β-δαμασκενόνη και αυξημένα επίπεδα επιθυμητών εστέρων (Lin *et al.*, 2016). Η ελεγχόμενη ζύμωση μεικτής καλλιέργειας *S.cerevisiae/non Saccharomyces* είναι αποτελεσματική μέθοδος για την βελτίωση του φρουτώδους χαρακτήρα και της πολυπλοκότητας ενισχύοντας την έκφραση του terroir και διαμορφώνοντας ένα συγκεκριμένο στυλ γεύσης (Lin *et al.*, 2016). Επιπλέον σημαντικό παράγοντα αποτέλεσε και το στέλεχος με το οποίο έγινε ο εμβολιασμός καθώς ενώ τα Strain B και C του είδους *Saccharomyces cerevisiae* δεν είχαν τα καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά την προτίμηση από το πάνελ το Strain A βρίσκονταν στο αντίποδα αφού συγκέντρωσε καλές κριτικές καθώς όπως έχει αναφερθεί και από τον Fleet *et al.*, 2008 η επιλογή στελεχών είναι ζωτικής σημασίας καθώς όλα τα στελέχη ενός είδους δεν θα έχουν απαραίτητα τα ίδια επιθυμητά στοιχεία.

Ο συνδυασμός διαφορετικών ειδών ζυμομυκήτων αλλά και διαφορετικών στελεχών έπαιξαν σημαντικό παράγοντα καθώς όπως είδαμε τα Wine 5 και 4 είχαν διαφορετικά αποτελέσματα παρόλο που και τα δύο αξιολογήθηκαν θετικά από το πάνελ, σε συμφωνία με την διατύπωση των Martin *et al.*, 2018 πως η κύρια στρατηγική για την διαφοροποίηση των κρασιών με βάση τους *non Saccharomyces* είναι η μεικτή καλλιέργεια κατά την οποία η αρχική επίδραση διαφόρων στελεχών επηρέασε σημαντικά και θετικά την τελική γεύση των κρασιών με τα πιο συνήθη στελέχη να είναι *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Torulaspora*.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εργασία αυτή είχε ως στόχο να αναδείξει την επίδραση διαφορετικών στελεχών *Saccharomyces cerevisiae* και *non Saccharomyces* στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά οίνου από την ποικιλία Αγιωργίτικο. Όσον αφορά τις βασικές αναλύσεις σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν για την Πτητική οξύτητα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να επιτυγχάνετε από το Wine 1 και την μικρότερη από το

Wine 4, αποδεικνύοντας πως η επιλογή είδους, στελέχους αλλά και η ποικιλομορφία της καλλιέργειας μπορεί να επηρεάσει τις ορισμένες χημικές παραμέτρους του οίνου.

Τα αποτελέσματα του GC-MS έδειξαν πως για τις κοινές ενώσεις μεταξύ των διαφορετικών οίνων το Wine 5 κατάφερε την μεγαλύτερη συγκέντρωση με σημαντικά στατιστική διαφορά στην κατηγορία των ανώτερων αλκοολών και στην συνέχεια ακολούθησε το 4, το ίδιο συνέβη και για τους οξικούς εστέρες αλλά και για τα πτητικά οξέα (κυρίως λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας). Επιπλέον το Wine 5 κατάφερε μεγαλύτερη συγκέντρωση με σημαντικά στατιστική διαφορά και στην κατηγορία των εστέρων των λιπαρών οξέων μεσαίας αλυσίδας, έπειτα ακολούθησε το 1. Σε όλες τις κατηγορίες το Wine 5 στο οποίο είχαμε εμβολιασμό με την μεγαλύτερη ποικιλομορφία ζυμομυκήτων κατάφερε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις γεγονός το οποίο θα μπορούσε να ενισχύσει την αίσθηση του φρουτώδους, τριαντάφυλλου, πράσινης νότας, μπανάνας, καραμέλας, ανανά, τροπικού φρούτου, λιπαρότητας, βουτύρου.

Τα αποτελέσματα του GC-MS αλλά και του οργανοληπτικού ελέγχου δείχνουν να συνδέονται άριστα μεταξύ τους όσον αφορά το Wine 5, καθώς στην ανάλυση των αρωματικών είχε με διαφορά τα καλύτερα αποτελέσματα αλλά και στον οργανοληπτικό έλεγχο προτιμήθηκε από το πάνελ συγκεντρώνοντας και εκεί εξαιρετικές βαθμολογίες. Ωστόσο κάτι παρόμοιο δεν συνέβη με το Wine 1 καθώς παρόλο που προτιμήθηκε από το πάνελ και συγκέντρωσε εξαιρετικές βαθμολογίες σε αρωματική ένταση και μαύρο φρούτο χωρίς να διαφέρει σημαντικά από τις καλύτερες βαθμολογίες στις υπόλοιπες παραμέτρους που εξετάστηκαν κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο τα αποτελέσματα της ανάλυσης των αρωματικών στο GC-MS διέφεραν σημαντικά από το 5. Συνεπώς η πολυπλοκότητα του οίνου συνδέεται άμεσα με τον συνεμβολιασμό *Saccharomyces cerevisiae* και non *Saccharomyces* ειδών αλλά και η χρήση του κατάλληλου στελέχους είναι επίσης το ίδιο σημαντική και μπορεί να κατευθύνει το οργανοληπτικό προφίλ του παραγόμενου οίνου.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

-Κοτσερίδης Γ., (2019), Σημειώσεις/Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας Ι, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Αθήνα

-Κουνδουράς Σ., (2019), Σημειώσεις Αμπελουργίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Αθήνα

- Κουράκου–Δραγώνα, Σ.,(1998), Θέματα Οινολογίας, Επιστήμη και Τεχνολογία στον τομέα της οινοποιητικής τεχνικής, Εκδόσεις Τροχαλία, Αθήνα
- Σταυρακάκης Μ. Ν., (2010), Αμπελογραφία, Ελληνικό Ίδρυμα Πολιτισμού, Αθήνα
- Σταύρακας Δ. Ε., (2011), Αμπελογραφία, Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη
- Ταραντίλης Π., (2019), Σημειώσεις Χημείας Οίνου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Αθήνα
- Χαρβαλιά Α. και Μπενά- Τζούρου Ε., (1982): Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων, Ελληνικά Οινολογικά χρονικά,2, 1-77, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα
- Amerine M.A., Kunkee R.E., (1968). Microbiology of winemaking. Annual Reviews in Microbiology, 22 (1), pp. 323-358
- Andorra I, Berradre M, Rozes N, Mas A, Guillamon JM & Esteve-Zarzoso B (2010). *Effect of pure and mixed cultures of the main wine yeast species on grape must fermentations*. Eur Food Res Technol 231: 215–224
- Andorrà M., Berradre A., Mas B., Esteve-Zarzoso J.M., Guillamón, (2012). Effect of mixed culture fermentations on yeast populations and aroma profile. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology, 49, pp. 8-13
- Anfang N, Brajkovich M & Goddard MR (2009) Co-fermentation with *Pichia kluyveri* increases varietal thiol concentrations in Sauvignon blanc. Aust J Grape Wine Res 15: 1–8
- Benito S., Morata A., Palomero F., Gonzalez MC. & Suarez-Lepe JA., (2011). Formation of vinylphenolic pyranoanthocyanins by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia guilliermondii* in red wines produced following different fermentation strategies. Food Chem 124: 15–23
- Bindon, K. A., Dry, P. R., & Loveys, B. R. (2007). Influence of plant water status on the production of C13-norisoprenoid precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Sauvignon grape berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(11), 4493-4500.
- Bisson L.F., (1991). Influence of nitrogen on yeast and fermentation of grapes. Proceedings of the international symposium on nitrogen in grapes and wine: Seattle, Washington, USA, 18–19 June 1991, American Society for Enology and Viticulture, ASEV (1991), pp. 78-89
- Busse-Valverde N., Gómez-Plaza E., López-Roca J.M., Gil-Muñoz R., Fernández-Fernández J.L., Bautista-Ortín A.B. (2010). Effect of different enological practices on skin and seed proanthocyanidins in three varietal wines. J. Agric. Food Chem., 58, pp. 11333-11339
- Campo, E., V. Ferreira, A. Escudero, and J. Cacho, (2005). Prediction of the wine sensory properties related to grape variety from dynamic headspace gas chromatography-olfactometry data, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53:5682-5690

- Carrau F., (2005). Levaduras nativas para enología de mínima intervención: Biodiversidad, selección y caracterización. *Agrociencia*, 9 (1–2) , pp. 387-399
- Carrau F., (2006). Native yeasts for low input winemaking: Searching for wine diversity and increased complexity. California State University (Ed.), *International wine microbiology symposium*, California State University USA, Tenaya lodge, CA , pp. 33-39
- Carrau F., Boido E., Ramey D., (2020). Yeasts for low input winemaking: Microbial terroir and flavor differentiation. *Área Enología y Biotecnología de Fermentaciones*, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay
- Castor JGB (1954) Fermentation products and flavor profiles of yeasts. *Wines Vines* 35: 29–31
- Chacón J.L., Garcia E., Martinez J., Romero R., Gomez S., (2009). Impact of the vine water status on the berry and seed phenolic composition of ‘Merlot’ (*Vitis vinifera* L.) cultivated in a warm climate: consequence for the style of wine. *Vitis*, 48, pp. 7-9
- Chambers PJ & Pretorius IS (2010) Fermenting knowledge: the history of winemaking, science and yeast research. *EMBO Rep* 11: 914–920
- Chira K., Jourdes M., Teissedre P.L., (2012). Cabernet Sauvignon red wine astringency quality control by tannin characterization and polymerization during storage. *Eur. Food Res. Technol.*, 234, pp. 253-261
- Chira K., Lorrain B., KY I. and Teissedre P-L., (2011). Tannin composition of Cabernet-Sauvignon and Merlotgrapes from the Bordeaux area for different vintages (2006to 2009) and comparison to tannin profile of five 2009vintage Mediterranean grape varieties. *Molecules*, 16, 2,1519-1532.
- Chira K., Schmauch G., Saucier C., Fabre S., Teissedre P.L., (2009). Grape variety effect on proanthocyanidin composition and sensory perception of skin and seed tannin extracts from Bordeaux wine grapes (Cabernet Sauvignon and Merlot) for two consecutive vintages (2006 and 2007). *J. Agric. Food Chem.*, 57 (441), pp. 545-553
- Ciani M & Ferraro L (1998) Combined use of immobilized *Candida stellata* cells and *Saccharomyces cerevisiae* to improve the quality of wines. *J Appl Microbiol* 85: 247–254.
- Ciani M & Maccarelli F (1998) Oenological properties of non-*Saccharomyces* yeasts associated with wine-making. *World J Microbiol Biotechnol* 14: 199–203
- Ciani M., Comitini F., (2011). Non-*Saccharomyces* wine yeasts have a promising role in biotechnological approaches to winemaking
- Clemente-Jimenez JF., Mingorance-Cazorla L., Martinez-Rodriguez S., Las Heras-Vazquez FJ & Rodriguez-Vico F (2005). Influence of sequential yeast mixtures on wine fermentation. *Int J Food Microbiol* 98:301–308

- Comitini F., De JI., Pepe L., Mannazzu I. & Ciani M., (2004). *Pichia anomala* and *Kluyveromyces wickerhamii* killer toxins as new tools against *Dekkera/Brettanomyces* spoilage yeasts. *FEMS Microbiol Lett* 238: 235–240
- Ćurko N., Kovačević K., Gracin L., Ćapić M., Jourde M., Teissedre P.L., (2014). Characterization of seed and skin polyphenolic extracts of two red grape cultivars grown in Croatia and their sensory perception in a wine model medium. *Food Chem.*, 145, pp. 15-22
- Domizio P., Romani C., Comitini F., Gobbi M., Lencioni L., Mannazzu I., et al., (2011). Potential spoilage non-*Saccharomyces* yeasts in mixed cultures with *Saccharomyces cerevisiae*. *Annals of Microbiology*, 61, pp. 137-144
- Dubourdieu, D., and T. Tominaga, (2009). Polyfunctional thiol compounds. In *Wine Chemistry and Biochemistry*, M.V. Moreno-Arribas and M.C. Polo (eds), Springer, New York, pp. 275-293.
- Duchêne, E., Butterlin, G., Claudel, P. & Jaegli, N. (2016). Consequences of elevated temperatures during ripening on the biosynthesis of monoterpenols in grape berries. In: *Climwine, sustainable grape and wine production in the context of climate change*, 11-13 April 2016, Bordeaux
- Ebeler, S.E., and J.H. Thorngate, (2009). Wine chemistry and flavor: Looking into the crystal glass, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:8098-8108
- Escudero A., Campo E., Farina L., Cacho J., Ferreira V., (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 ,pp. 4501-4510
- Escudero, A., E. Campo, L. Fariña, J. Cacho, and V. Ferreira, (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:4501-4510
- Fleet G.H., (2003). *Yeast interactions and wine flavour*. Food Science and Technology, School of Chemical Sciences, The University of New South Wales, Sydney, NSW 2052, Australia
- Fleet G.H., (2008). Wine yeasts for the future. *FEMS Yeast Research*, 8, pp. 979-995
- Fleet GH (1993) *The microorganisms of winemaking -isolation, enumeration and identification*. Wine Microbiology and Biotechnology (Fleet GH, ed.), pp. 1–25. Harwood Academic Publishers, Switzerland
- Fleet GH (2008) Wine yeasts for the future. *FEMS Yeast Res* 8:979–995.
- Fleet GH, Lafon-Lafourcade S & Ribereau-Gayon P (1984). Evolution of yeasts and lactic acid bacteria during fermentation and storage of Bordeaux Wines. *Appl Environ Microbiol* 48: 1034–1038
- Francis, I.L., and J.L. Newton, (2005). Determining wine aroma from compositional data, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11:114-126

- Gawel, R., Francis L., Waters E., (2007). Statistical correlations between in-mouth textural characteristics and the chemical composition of siraz wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 , pp. 2683-26877
- Gilbert J.A., Van der Lelie D., Zarraonaindia I., (2014). Microbial terroir for wine grapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111 , pp. 5-6
- Gobbi M., Comitini F., Domizio P., Romani C., Lencioni L., Mannazzu I., et al. (2013). *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: A strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine. *Food Microbiology*, 33 pp. 271-281
- Gobert A., Tourdot-Maréchal R., Sparrow C., Morge C., Alexandre H., (2019). Influence of nitrogen status in wine alcoholic fermentation. *Food Microbiology*, 83, pp. 71-85
- González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2015). Wine aroma compounds in grapes: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2), 202-218
- Hansen CHR., (2013a) VINIFLORA Yeast specialities. (accessed 17 May 2013)
- Hansen CHR., (2013b) 'FrootZen™' - the first *Pichia kluyverii* yeast for winemakers. www.chr-hansen.com/products/product-areas/wine-ingredients/specialty-yeast-pichia-kluyveri-frootzen.html (accessed 20 May 2013)
- Heard G.M., Fleet G.H., (1988)., The effects of temperature and pH on the growth of yeasts during the fermentation of grape juice. *J. Appl. Bacteriol.*, 65, pp. 23-28
- Herraiz T., Reglero G., Herraiz M., Martin-Alvarez P.J., Cabezudo M.D. (1990). The influence of the yeast and type of culture on the volatile composition of wines fermented without sulfur dioxide. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41 (4), pp. 313-318
- Hong Y-A., Park H-D., (2012). Role of non-*Saccharomyces* yeasts in Korean wines produced from Campbell Early grapes: Potential use of *Hanseniaspora uvarum* as a starter culture. *Food Microbiology*, Volume 34, Issue 1, Pages 207-214
- Hu K., Jin G-J., HuXu Y., Tao Y-S., (2018). Wine aroma response to different participation of selected *Hanseniaspora uvarum* in mixed fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China.
- Hu K., Zhao H., Kang X., Ge X., Zheng M., Hu Z., Tao Y., (2021). Fruity aroma modifications in Merlot wines during simultaneous alcoholic and malolactic fermentations through mixed culture of *S. cerevisiae*, *P. fermentans*, and *L. brevis*. *LWT*, Volume 154, 112711
- Johnson E.A., (2013). Biotechnology of non-*Saccharomyces* yeasts—the ascomycetes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, pp. 503-517

- Jolly N. (2006). Die voorkoms van apikulat giste in druiwe- en mosmonsters in die Robertson area. Wynboer Tegnie Mei,68–70
- Jolly N.P., Augustyn O.P.R., Pretorius I.S., (2003). The effect of non-Saccharomyces yeasts on fermentation and wine quality. South African Journal of Enology and Viticulture, 24 (2) , pp. 55-62
- Karakasis Y., Koundouras S., 2022.
- Kallithraka S., Kim D., Tsakiris A., Paraskevopoulos I., Soleas G., (2011). Sensory assessment and chemical measurement of astringency of Greek wines: Correlations
- Kallithraka S., Mohdaly A., Makris D., Kefalas P., (2005). Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): Association with antiradical efficiency. Food Composition and Analysis, 18 , pp. 375-386
- Kapsopoulou K., Mourtzini A., Anthoulas M. & Nerantzis E. (2007). Biological acidification during grape must fermentation using mixed cultures of *Kluyveromyces thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*. World J Microbiol Biotechnol 23: 735–739
- Kennedy, J.A., M.A. Matthews, and A.L. Waterhouse, (2002). Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids, American Journal of Enology and Viticulture, 53:268-274
- Kim D.H., Hong Y.A., Park H.D., (2008). Co-fermentation of grape must by *Issatchenkia orientalis* and *Saccharomyces cerevisiae* reduces the malic acid content in wine. Biotechnology Letters, 30, pp. 1633-1638
- Kim DH., Hong YA. & Park HD., (2008). Co-fermentation of grape must by *Issatchenkia orientalis* and *Saccharomyces cerevisiae* reduces the malic acid content in wine. Biotechnol Lett 30: 1633–1638
- Kotseridis, Y., A. Anocibar Beloqui, A. Bertrand, and J.P. Doazan, (1998). An analytical method for studying the volatile compounds of Merlot noir clone wines, American Journal of Enology and Viticulture, 49:44-48
- Kotseridis, Y., and R. Baumes, (2000), Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine, American Journal of Enology and Viticulture, 48:400-406
- Kotseridis, Y., Baumes, R. L., & Skouroumounis, G. K. (1999). Quantitative determination of free and hydrolytically liberated β -damascenone in red grapes and wines using a stable isotope dilution assay. Journal of Chromatography A, 849(1), 245-254
- Koundouras S., Marinos V., Gkoulioti A., Kotseridis Y., Van Leeuwen C., (2006). Influence of Vineyard Location and Vine Water Status on Fruit Maturation of Nonirrigated Cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on Wine Phenolic and Aroma Components, Journal of agricultural and food chemistry, vol. 54, pp 5077-5086
- Koussisi E., Paterson A., Piggot J.R., (2003). Sensory flavour discrimination of Greek dry red wines. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83 , pp. 797-808

-Kwasniewski, M. T., Vanden Heuvel, J. E., Pan, B. S., & Sacks, G. L. (2010). Timing of cluster light environment manipulation during grape development affects C13 norisoprenoid and carotenoid concentrations in Riesling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 6841-6849.

-Ky Lorrain B., Jourdes M., Pasquier G., Fermaud M., Geny L., Rey P., Doneche B., Teissedre P.L., (2012). Assessment of grey mould (*Botrytis cinerea*) impact on phenolic and sensory quality of Bordeaux grapes: musts and wines for two consecutive vintages. *Aust. J. Grape Wine Res.*, 18 , pp. 215-226

-Kyraleou M., Kotseridis Y., Koundouras S., Chira K., Teissedre P.-L. and Kallithraka S.(2016b). Effect of irrigation regime on perceived astringency and proanthocyanidin composition of skins and seeds of *Vitis vinifera* L. cv. Syrah grapes under semiarid conditions. *Food Chemistry*, 203, 292–300

-Kyraleou M., Koundouras S., Kallithraka S., Theodorou N., Proxenia N. and Kotseridis Y., (2016a). Effect of irrigation regime on anthocyanin content and antioxidant activity of *Vitis vinifera* L. cv. Syrah grapes under semiarid conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(3), 988–996

-Lee S.-B., Banda C., & Park, H. -D., (2019). Effect of inoculation strategy of non- *Saccharomyces* yeasts on fermentation characteristics and volatile higher alcohols and esters in Campbell Early wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*.

-Li Y-Q., Hu K., HuXu Y., Mei W-C., Tao Y-S., (2020). Biomass suppression of *Hanseniaspora uvarum* by killer *Saccharomyces cerevisiae* highly increased fruity esters in mixed culture fermentation. *LWT*, Volume 132, 109839

-Liu P-T., Lu L., Duan C-Q, Yan G-L., (2016). The contribution of indigenous non-*Saccharomyces* wine yeast to improved aromatic quality of Cabernet Sauvignon wines by spontaneous fermentation. Centre for Viticulture and Enology, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing, 100083, China

-Liu Y., Su L., Wang Q., Zhang J., Shan Y., Deng M., (2020). Chapter Six - Comprehensive and quantitative analysis of growth characteristics of winter wheat in China based on growing degree days. *Advances in Agronomy*, Volume 159, Pages 237-273

-Luan Y., Zhang B-Q., Duan C-Q, Yan C-Q, (2018). Effects of different pre-fermentation cold maceration time on aroma compounds of *Saccharomyces cerevisiae* co-fermentation with *Hanseniaspora opuntiae* or *Pichia kudriavzevii*. *LWT*, 92, 177–186.

-Luan Y., Zhanga Bo-Q., Duana C-Q., Yan G-L., (2018). Effects of different pre-fermentation cold maceration time on aroma compounds of *Saccharomyces cerevisiae* co-fermentation with *Hanseniaspora opuntiae* or *Pichia kudriavzevii*. Centre for Viticulture and Enology, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing, 100083, China

- Ma D.C., Yan X., Wang Q.Q., Zhang Y.N., Tao Y.N., (2017). Performance of selected *P. fermentans* and its extracellular enzyme in co-inoculation with *S. cerevisiae* for wine aroma enhancement. *LWT - Food Science Technology*, 86, pp. 361-370
- Makris D.P., Kallithraka S., Mamalos A., (2006). Differentiation of young red wines based on cultivar and geographical origin with application of chemometrics of principal polyphenolic constituents. *Talanta*, 70 , pp. 1143-1152
- Marais, J., and H. Pool, (1980). Effect of storage time and temperature on the volatile composition and quality of dry white table wines, *Vitis*, 19:151-164
- Marais, J., Hunter, J. J., & Haasbroek, P. D. (1999). Effect of canopy microclimate, season and region on Sauvignon blanc grape composition and wine quality. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 20(1), 19-30
- Marais, J., Van Wyk, C. J., & Rapp, A. (1992). Effect of Storage Time, Temperature and Region on the Levels of 1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene and other Volatiles, and on Quality of Weisser Riesling Wines. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 13, 23-32.
- Martin V., Valera M.J., Medina K., Boido E., Carrau F., (2018). Oenological Impact of the *Hanseniaspora/Kloeckera* Yeast Genus on Wines—A Review. *Fermentation*, 4(3), 76
- Martin, D.M., S. Aubourg, M.B. Schouwey, L. Daviet, M. Schalk, O. Toub, S.T. Lund, and J. Bohlmann, (2010). Functional annotation, genome organization and phylogeny of the grapevine (*Vitis vinifera*) terpene synthase gene family based on genome assembly, FLcDNA cloning, and enzyme assays, *BMC Plant Biology*, 10:226
- Mason, A.B., and J.P. Dufour, (2000). Alcohol acetyltransferases and the significance of ester synthesis in yeast, *Yeast*, 16:1287-1298
- Mc Rae J.M., Falkoner R.J., Kennedy J.A., (2010). Thermodynamics of grape and wine tannin interaction with polyproline: implications for red wine astringency. *J. Agric. Food Chem.*, 58 , pp. 12510-12518
- Mestre M.V., Maturano Y.P., Gallardo C., Combina M., Mercado L., Toro M.E., Carrau F., Vazquez F., Dellacassa E., (2019). Impact on Sensory and Aromatic Profile of Low Ethanol Malbec Wines Fermented by Sequential Culture of *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* Native Yeasts. *Fermentation* 2019, 5(3), 65
- Morata A., Benito S., Loira I., Palomero F., González M.C., Suárez-Lepe J.A., (2012). Formation of pyranoanthocyanins by *Schizosaccharomyces pombe* during the fermentation of red must. *International Journal of Food Microbiology*, 159 , pp. 47-53
- Mori K., Goto-Yamamoto N., Kitayama M. and Hashizume K., (2007). Loss of anthocyanins in red-winegrape under high temperature. *J. Exp. Bot.*, 58, 8, 1935-1945

- Perot des Gachons, C., C. van Leeuwen, T. Tominaga, J.P. Soyer, J.P. Gaudillère, and D. Dubourdieu, (2005), Influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potential of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc in field conditions, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:73-85
- Petropoulos S., Kanellopoulou A., Paraskevopoulos I., Kotseridis Y., Kallithraka S., (2017). Characterization of grape and wine proanthocyanidins of Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L. cv.) cultivar grown in different regions of Nemea. Laboratory of Enology, Department of Food Science and Human Nutrition, Agricultural University of Athens, Greece, Department of Oenology and Beverage Technology, Technological Educational Institute (T.E.I.) of Athens.
- Petropoulos, S., Kallithraka, S., Paraskevopoulos, I., (2011). Influence of some viticultural practices on the polyphenolic content of wines produced from cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.), *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 45:235-243
- Pineau B., Barbe J-C., Van Leeuwen C., Dubourdieu D., (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific “Red-” and “Black-berry” aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (2009), pp. 3702-3708
- Pineau B., J.C. Barbe J.C., Van Leeuwen C., and Dubourdieu D., (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific “red-” and “black-berry” aromas in red wines, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 57:3702-3708
- Pons, A., Allamy, L., Lavigne, V., Dubourdieu, D., & Darriet, P. (2017a). Study of the contribution of massoia lactone to the aroma of Merlot and Cabernet-Sauvignon musts and wines. *Food Chemistry*, 232, 229-236.
- Pons, A., Allamy, L., Schüttler, A., Rauhut, D., Thibon, C., & Darriet, P. (2017b). What is the expected impact of climate change on wine aroma compounds and their precursors in grape? *OENO One*, 51(2), 141-146
- Pretorius I.S., (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking
- Prida A., and P. Chatonnet, (2010). Impact of oak-derived compounds on the olfactory perception of barrel-aged wines, *American Journal of Enology and Viticulture*, 61:408-413
- Prieur C., Rigaud J., Cheynier V., Moutounet M., (1994). Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry*, 36 , pp. 781-784
- Ramey D., Stockley C.S., Johnstone R.S., Lee T.H., Sas A.N., (Eds), (1995). Low input winemaking—Let nature do the work. *Proceedings Australian wine industry technical conference*. Adelaide, Australia, pp. 26-29
- Reed G. & Pepler H.J., (1973). *Yeast Technology*. The AVI Publishing Company Inc., Westport, CT
- Reynolds A.G. and Vanden Heuvel J.E., (2009). Influence of grapevine training systems on vine growth and fruit composition: A review. *Am. J. Enol. Vitic.*, 60, 3, 251-268.

- Ricardo Da Silva J.M., Cheynier V., Souquet J.M., Moutounet M., Cabanis J.C. and Bourzeix M.,(1991). Interaction of grape seed procyanidins with various proteins in relation to wine fining. *J. Sci. Food Agric.*, 57,1, 111-125
- Ridereau-Gayon P., Glories Y., Dubourdieu D., Rychlewski C., (2006). Handbook of Enology, The chemistry of wine. Stabilization and treatments, 2nd edition, vol. 6.4.5, pp178
- Ridereau-Gayon P., Glories Y., Dubourdieu D., Rychlewski C., (2006). Handbook of Enology, The chemistry of wine. Stabilization and treatments, 2nd edition, vol. 6.4.2, pp173
- Robichaud J.L. and Noble A.C., (1990). Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *J. Sci. Food Agric.*,53, 3, 343-353
- Rojas V., Gil J.V., Pinaga F. & Manzanares P. (2003). Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. *Int J Food Microbiol* 86: 181–188
- Romano P. & Suzzi G., (1993a). Potential use for *Zygosaccharomyces* species in winemaking. *J Wine Res* 4:87–94.
- Romano P. & Suzzi G., (1993b) Higher alcohol and acetoin production by *Zygosaccharomyces* wine yeasts. *J Appl Bacteriol* 75: 541–545
- Romano P., Suzzi G., Comi G. & Zironi R., (1992). Higher alcohol and acetic acid production by apiculate wine yeasts. *J Appl Bacteriol* 73: 126–130
- Sadoudi M., Tourdot-Marechal R., Rousseaux S., Steyer D., Gallardo-Chacon J.J., Ballester J., et al., (2012). Yeast-yeast interactions revealed by aromatic profile analysis of Sauvignon Blanc wine fermented by single or co-culture of non-Saccharomyces and Saccharomyces yeasts. *Food Microbiology*, 32 (2), pp. 243-253
- Saerens S.M.G., Verstrepen K.J., Van Laere S.D.M., Voet A.R.D., Dijck P.V., Delvaux F.R. and Thevelein J.M., (2006). The *Saccharomyces cerevisiae* EHT1 and EEB1 genes encode novel enzymes with medium-chain fatty acid ethyl ester synthesis and hydrolysis capacity. *Journal of Biological Chemistry* 281,4446–4456
- Slaighenaufi, D., Perello, M. C., Marchand, S., & de Revel, G. (2016). Quantification of megastigmatrienone, a potential contributor to tobacco aroma in spirits. *Food Chemistry*, 203, 41-48
- Swiegers JH, Pretorius IS. Modulation of volatile sulfur compounds by wine yeast. *Appl Microbiol Biotechnol* 74: 954-960
- Swiegers JH. & Pretorius IS., (2005). Yeast modulation of wine flavour. *Adv Appl Microbiol* 57: 131–175
- Swiegers JH., Bartowsky EJ., Henschke PA. & Pretorius IS., (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Aust J Grape Wine Res* 11: 139–173
- Swiegers JH., Kievit RL., Siebert T., Lattey KA., Bramley BR., Francis IL., King ES. & Pretorius IS., (2009). The influence of yeast on the aroma of Sauvignon blanc wine. *Food Microbiol* 26: 204–211

- Tehlivets, O., Scheuringer K., and Kohlwein S.D.. (2007). Fatty acid synthesis and elongation in yeast, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1771:255-270
- Tempère S., Marchal A., Barbe J.C., Bely M., Masneuf-Pomarede I., Marullo P., et al(2018). *The complexity of wine: Clarifying the role of microorganisms*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102 , pp. 3995-4007
- Theodorou N., Nikolaou N., Zioziou E., Kyraleou M., Kallithraka S., Kotseridis Y., Koundouras S., Vol. 53 No. 1 (2019): *OENO One*, 53, 1, Anthocyanin content and composition in four red winegrape cultivars (*Vitis vinifera* L.) under variable irrigation, Anthocyanin content and composition under variable irrigation.
- Tominaga, T., Peyrot des Gachons, C., & Dubourdieu, D. (1998). A New Type of Flavor Precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc: S-Cysteine Conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5215-5219.
- Valero E., Schuller D., Cambon B., Casal M., Dequin S., (2005). Dissemination and survival of commercial wine yeast in the vineyard: A large-scale, three-years study. *FEMS Yeast Research*, 5 , pp. 959-969
- Van Leeuwen C., Barbe J.C., Darriet P., Geffroy O., Gomès E., Guillaumie S., Helwi P., Laboyrie J., Lytra G., Le Menn N., Marchand S., Picard M., Pons A., Armin Schüttler, Thibon C., Vol. 54 No. 4 (2020): *OENO One*. Recent advancements in understanding the terroir effect on aromas in grapes and wines
- Varela C., Borneman A.R., (2017). Yeasts found in vineyards and wineries. *Yeast*, 34, 111–128
- Viana F., Belloch C., Vallés S., Manzanares P., (2011). Monitoring a mixed starter of *Hanseniaspora vineae*-*Saccharomyces cerevisiae* in natural must: Impact on 2-phenylethyl acetate production. *Int. J. Food Microbiol.* 151, 235–240.
- Viana F., Gil JV., Valles S. & Manzanares P., (2009). Increasing the levels of 2-phenylethyl acetate in wine through the use of a mixed culture of *Hanseniaspora osmophila* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Food Microbiol* 135: 68–74
- Vidal S., Courcoux P., Francis I.L., Kwiatkowski M., Gawel R., Williams P., et al. (2004). Use of an experimental design approach for evaluation of key components on mouth-feel perception. *Food Quality and Preference*, 15 pp. 209-217
- Wedral, D., R. Shewfelt, and J. Frank, (2010). The challenge of *Brettanomyces* in wine, *LWT-Food Science and Technology*, 43:1474-1479
- Wood, C., Siebert, T. E., Parker, M., Capone, D. L., Elsey, G. M., Pollnitz, A. P. & Krammer, G. (2008). From wine to pepper: rotundone, an obscure sesquiterpene, is a potent spicy aroma compound. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3738-3744.
- Yamane T., Jeong S.T., Goto-Yamamoto N., Koshita Y. and Kobayashi S., (2006). Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *Am. J. Enol. Vitic.*, 57, 1, 54-59

-Zironi R., Romano P., Suzzi G., Battistutta F. & Comi G., (1993). Volatile metabolites produced in wine by mixed and sequential cultures of *Hanseniaspora guilliermondii* or *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Lett* 15: 235–238