



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

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Σύγχρονες μέθοδοι ανάλυσης για το γεωγραφικό προσδιορισμό  
της προέλευσης των οίνων»**

**Φοιτήτριες:**

**Μαύρου Θωμάς – Λητώ (AM 161064)**

**Ρούβαλη Ασημίνα (AM 161092)**

**Επιβλέπουσα:**

**Χατζηλαζάρου Αρχοντούλα**

ΑΘΗΝΑ, ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2022



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

**BACHELOR THESIS**

**«Modern methods of analysis for the geographical determination of  
the origin of wines»**

**Students:**

**Mavrou Thomais Lito (AM 161064)**

**Rouvali Asimina (AM 161092)**

**Supervisor:**

**Chatzilazarou Archontoula**

ATHENS, OCTOBER 2022



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

**ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με  
τίτλο:

**«Σύγχρονες μέθοδοι ανάλυσης για το γεωγραφικό προσδιορισμό  
της προέλευσης των οίνων»**

<b>Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (1ου Μέλους Επιτροπής)</b>  <b>Αρχοντούλα Χατζηλαζάρου</b>	
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (2ου Μέλους Επιτροπής)</b>  <b>Αλεξάνδρα Ευαγγέλου</b>	
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (3ου Μέλους Επιτροπής)</b>  <b>Αντνάν Σεχάντε</b>	

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογράφουσες Μαύρου Θωμαΐς – Λητώ του Σταματίου, με αριθμό μητρώου 161064 και Ρούβαλη Ασημίνα του Δημητρίου, με αριθμό μητρώου 161092, φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Τεχνολογίας Τροφίμων. του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, δηλώνουν υπεύθυνα ότι: «Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση των πτυχίων μας».

*Επιθυμούμε την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μας μέχρι ..... και έπειτα από αίτηση μας στη Βιβλιοθήκη και έγκριση του επιβλέποντα καθηγητή\**

Οι Δηλούσες

Μαύρου Θωμαΐς – Λητώ

Ρούβαλη Ασημίνα

\*Χατζηλαζάρου Αρχοντούλα

## Περίληψη

Ο οίνος, είναι ίσως το πιο γνωστό, ευρείας κατανάλωσης προϊόν ζύμωσης που καταναλώνεται σε πάρα πολλές χώρες του κόσμου. Τα ποτά είναι εμπορικά προϊόντα και η παραγωγή τους εξελίσσεται συνεχώς, με τη βιομηχανία τροφίμων να είναι μια από τις πιο ισχυρές και κερδοφόρες βιομηχανίες στον κόσμο. Ωστόσο, για την επιδίωξη του κέρδους, ορισμένοι καταφεύγουν σε διάφορες μεθόδους παραποίησης, είτε του τελικού προϊόντος είτε ακόμη και της πρώτης ύλης. Οι πρακτικές αυτές χρησιμοποιούνται σε όλο τον κόσμο από αρχαιοτάτων χρόνων. Η αυθεντικότητα και οι μέθοδοι για τον προσδιορισμό της νοθείας είναι δύο από τα πιο σημαντικά ζητήματα στον τομέα του ποιοτικού ελέγχου και της ασφάλειας των τροφίμων.

Στον οινοποιητικό τομέα, η μελέτη της γνησιότητας είναι ακόμη πιο απαραίτητη, με τον οίνο να είναι ένα από τα πιο νοθευμένα τρόφιμα, όπως δείχνουν οι μηνιαίες εκθέσεις της Ευρωπαϊκής Επιτροπής (OALF, 2022). Η αυθεντικότητα του οίνου συνδέεται άμεσα με την ποιότητα του και την ασφάλεια των καταναλωτών.

Ο προσδιορισμός της προέλευσης των οίνων συνδέεται επίσης στενά με την αξιολόγηση των γεωγραφικών ενδείξεων. Είναι σημαντικό να διασφαλιστούν όροι οίνοι ΠΟΠ «Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης», ΠΓΕ «Προστατευόμενη Γεωγραφική Ένδειξη» και Ποικιλιακοί οίνοι. Τα υπόλοιπα κρασιά αναφέρονται ως Ελληνικοί οίνοι (πρώην επιτραπέζιοι) και δεν έχουν το δικαίωμα αναγραφής ούτε της χρονιάς εσοδείας, ούτε των ποικιλιών που συμμετέχουν στη σύνθεσή τους.

Η σημασία της μελέτης της αυθεντικότητας του οίνου καθορίζεται επίσης από το γεγονός ότι ο οίνος είναι ένα προϊόν που μπορεί να επηρεάσει την υγεία του καταναλωτή μέσω των πολυάριθμων βιοδραστικών ενώσεων που περιέχει.

Δεδομένου ότι η νοθεία του οίνου είναι ένα επίκαιρο πρόβλημα, είναι σημαντικό να μελετηθεί η χημική σύνθεση των οίνων για να συσχετιστεί οποιοδήποτε είδος παραποίησης του προϊόντος (είτε αραίωση οίνου με νερό, προσθήκη αλκοόλης, χρήση ουσιών για την ενίσχυση του χρώματος ή γεύσης, εσκεμμένη παραποίηση προέλευσης, παραπλανητική περιγραφή της ποικιλίας σταφυλιών ή της ηλικίας του οίνου, κ.λπ.)

Πλέον, ολοένα νέες και καινοτόμοι μέθοδοι ανάλυσης που βασίζονται τόσο σε

παλαιές όσο και σε νέες τεχνικές ανάλυσης αναπτύσσονται με στόχο την επικύρωση της γνησιότητας των οίνων. Η αυθεντικότητα είναι μια ερευνητική κατεύθυνση παγκόσμιας προτεραιότητας και οι ερευνητές εργάζονται για τη βελτίωση των ήδη υπαρχόντων μεθόδων παρακολούθησης της γνησιότητας, αλλά και για τη δημιουργία νέων.

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία παρουσιάζεται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση και μελέτη με στόχο τον εντοπισμό των κλασικών μεθόδων διαπίστωσης της αυθεντικότητας του οίνου, στην περιγραφή τους και στον προσδιορισμό του βαθμού αποτελεσματικότητάς τους. Επιπλέον, στην παρούσα πτυχιακή παρουσιάζεται μια ανασκόπηση των τρεχουσών ερευνητικών τάσεων.

Λέξεις κλειδιά: Οίνος, γεωγραφικός προσδιορισμός, χρωματογραφία, φασματοσκοπία, χημειομετρία, νοθεία

## **Abstract**

Wine is probably the most well-known, widely consumed fermented product consumed in many countries of the world. Beverages are commercial products and their production is constantly evolving, with the food industry being one of the most powerful and profitable industries in the world. However, in pursuit of profit, some resort to various methods of adulteration, either of the finished product or even of the raw material. These practices have been used throughout the world since ancient times. Authenticity and methods to determine adulteration are two of the most important issues in quality control and food safety.

In the wine sector, the study of authenticity is even more necessary, with wine being one of the most adulterated foods, as the European Commission's monthly reports show (OALF, 2022). The authenticity of wine is directly linked to its quality and consumer safety.

Determining the origin of wines is also closely linked to the evaluation of geographical indications. It is important to ensure terms such as wines with a protected designation of origin, wines with a protected geographical indication and varietal wines.

The importance of studying the authenticity of wine is also determined by the fact that wine is a product that can affect the health of the consumer through the numerous bioactive compounds it contains.

Since wine adulteration is a current problem, it is important to study the chemical composition of wines to correlate any type of product adulteration (either diluting wine with water, adding alcohol, using substances to enhance color or flavor, deliberate adulteration origin, misrepresentation of the grape variety or the age of the wine, etc.)

Now, more and more new and innovative analytical methods based on both old and new analytical techniques are being developed with the aim of validating the authenticity of wines. Authenticity is a research direction of global priority, and researchers are working to improve existing authenticity monitoring methods, but also to create new ones.

This thesis presents a bibliographic review and study with the aim of identifying the classical methods of establishing the authenticity of wine, their description and the determination of their degree of effectiveness. In addition, a review of current research trends is presented in this thesis.

Keywords: Wine, geographical origin, chromatography, spectroscopy, chemometrics, adulteration



## Περιεχόμενα

Περίληψη.....	5
Abstract .....	7
Κατάλογος Πινάκων .....	12
Κατάλογος Σχημάτων .....	13
Κατάλογος Διαγραμμάτων .....	14
Κατάλογος Εικόνων .....	15
Κεφάλαιο 1 <sup>ο</sup> : Άμπελος & Οίνος.....	16
1.1 Το φυτό της αμπέλου .....	16
1.2 Οίνος.....	17
1.3 Η καλλιέργεια της αμπέλου και η οινοπαραγωγή ανά τον κόσμο .....	18
2.2 Συστατικά οίνου .....	22
2.2.1 Το νερό .....	22
2.2.2 Οργανικά οξέα.....	22
2.2.3 Αλκοόλες.....	23
2.2.4 Αρωματικές ενώσεις.....	24
2.2.5 Σάκχαρα.....	24
2.2.6 Πολυσακχαρίτες .....	25
2.2.7 Φαινολικές ενώσεις .....	25
2.2.8 Αζωτούχες ενώσεις.....	26
2.2.9 Βιταμίνες .....	26
2.2.10 Ένζυμα.....	26
2.3 Αλκοολική ζύμωση .....	27
Κεφάλαιο 3 <sup>ο</sup> : Οργανοληπτική αξιολόγηση των οίνων .....	32
3.1 Γευσιγνωσία .....	32
3.1.1 Οπτικός έλεγχος .....	32
3.1.2 Άρωμα .....	32
3.1.3 Γεύση.....	33
Κεφάλαιο 4 <sup>ο</sup> :Η σημασία του γεωγραφικού προσδιορισμού-Η ταυτότητα των τροφίμων και η νοθεία .....	34
4.1 Τοπικό ανάγλυφο και οίνος.....	34
4.2 Οίνοι Π.Ο.Π & Οίνοι Π.Γ.Ε.....	36
4.2.1 Οίνοι Ονομασίας Προέλευσης –Π.Ο.Π.....	38
4.3 Οι νοθείες στον οίνο.....	44
4.3.1 Τρόποι νόθευσης του οίνου .....	44

4.3.2 Μέθοδοι Προσδιορισμού της Νοθείας του οίνου .....	45
Κεφάλαιο 5° : Ανασκόπηση των μεθόδων ταυτοποίησης της γεωγραφικής προέλευσης και της νοθείας στον οίνο .....	50
5.1 Στοιχειακή ανάλυση ως μέθοδος γεωγραφικού προσδιορισμού .....	51
5.1.1 Φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS).....	59
5.1.2 Υπέρυθρη φασματοσκοπία (IR) – Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis) .....	60
5.1.3 Φασματοσκοπία εγγύς και μέσο υπέρυθρο .....	61
5.1.4 Φασματοσκοπία (MIR- Mid-Infrared). .....	61
5.1.5 Το εγγύς υπέρυθρο (NIR-Near-Infrared).....	62
5.2 Ανάλυση οργανικών οξέων .....	62
5.3. Ανάλυση φαινολικών .....	67
5.3.1 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR-Nuclear Magnetic Resonance) .....	70
5.3.2 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) .....	75
5.4 Ανάλυση αμινοξέων .....	76
5.4.1 Αέρια χρωματογραφία (GC).....	77
5.5 Ανάλυση των πτητικών .....	78
5.6 Μελέτη της Ισοτοπικής αναλογίας.....	79
5.7 Μοριακές αναλύσεις-Αναλύσεις DNA.....	82
5.8 Λοιπές μέθοδοι ανάλυσης .....	84
5.8.1 Τριχοειδής ηλεκτροφόριση.....	84
5.8.2 Ηλεκτρονική γλώσσα .....	85
5.8.3 Μεταβολομική μέθοδος.....	85
5.8.4 Βολταμετρία .....	86
5.9 Χημειομετρικές μέθοδοι.....	87
5.9.1 Ανάλυση Κυρίων Δεδομένων (PCA-Principal Component Analysis).....	88
5.9.2 Διακριτική ανάλυση (DA-Discriminant Analysis).....	89
5.9.3 Ανάλυση συστάδων (CA-Cluster Analysis).....	89
5.9.4 Κανονική συσχέτιση (CC-Canonical Correletaion) .....	89
5.9.5 HCA.....	89
5.9.6 RDA.....	90
5.9.7 Τεχνητό νευρωνικό δίκτυο (ANN-Artificial Neural Networks).....	91
5.9.8. Μερικό ελάχιστο τετράγωνο (PLS).....	95
Κεφάλαιο 6° : Συζήτηση & Συμπεράσματα .....	95

<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>96</b>
--------------------------	-----------

## **Κατάλογος Πινάκων**

**Πίνακας 1 Τα ποσοστά της παραγωγικής κατεύθυνσης επί της συνολικής παραγωγής**

**Πίνακας 2 Η κατανομή των εκτάσεων οιναμπέλων στην Ελλάδα**

**Πίνακας 3 Η πορεία των εισαγωγών σε εκατόλιτρα κατά τα έτη 2008-2015**

**Πίνακας 4 Η πορεία των εξαγωγών οίνων σε εκατόλιτρα κατά τα έτη 2008-2015**

**Πίνακας 5 Οι οίνοι Π.Ο.Π της Ελλάδας**

**Πίνακας 6 Οι οίνοι Π.Γ.Ε της Ελλάδας**

**Πίνακας 7 Συνοπτική παρουσίαση των υπο εξέταση παραμέτρων και των αντίστοιχων μεθόδων ανίχνευσης**

**Πίνακας 8 Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των στοιχείων των εδαφών**

**Πίνακας 9 Οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις των σταφυλιών**

**Πίνακας 10 Οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις των στοιχείων των οίνων**

**Πίνακας 11 Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης για τα υπο-εξέταση οργανικά οξέα**

**Πίνακας 12 Τα μόρια που περιέχουν άτομα Δευτερίου**

**Πίνακας 13 Μεταβολές έπειτα από εμπλουτισμό με εξωγενές σάκχαρο**

## Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 1 Η αλκοολική ζύμωση

## **Κατάλογος Διαγραμμάτων**

**Διάγραμμα 1** Οι καλλιεργούμενες εκτάσεις ανά τον κόσμο σε ποσοστά ανά χώρα

**Διάγραμμα 2** Η διακύμανση των καλλιεργούμενων εκτάσεων κατά τα έτη 2000-2018 σε εκατομμύρια εκτάρια

**Διάγραμμα 3** Η διακύμανση των καλλιεργούμενων εκτάσεων στην Ελλάδα κατά τα έτη 2014-2018

**Διάγραμμα 4** Χρωματογράφημα HPLC. Κάθε κορυφή αντιστοιχεί στο αντίστοιχο οργανικό οξύ

## **Κατάλογος Εικόνων**

**Εικόνα 1** Αμπέλι με σταφύλια

**Εικόνα 2** Τα ευρωπαϊκά εμπορικά σήματα κατοχύρωσης της γεωγραφικής προέλευσης

**Εικόνα 3** Φάσματα Raman αιθανόλης, μεθανόλης, ερυθρού οίνου και ερυθρού οίνου με μεθανόλη, σε αντιπαραβολή

**Εικόνα 4** Τα αποτελέσματα της PCA για τα στοιχεία του εδάφους (α), των σταφυλιών (β) και των οίνων (γ)

**Εικόνα 5** Τα αποτελέσματα της LDA για τα στοιχεία του εδάφους (α), των σταφυλιών (β) και των οίνων (γ).

**Εικόνα 6** Η λειτουργία του ICP-MS

**Εικόνα 7** Η λειτουργία του IR

**Εικόνα 8** (Αριστερά) Το αποτέλεσμα της PCA για τους υπό εξέταση οίνους και με βάση την ποικιλία (Δεξιά) με βάση το οργανικό οξύ.

**Εικόνα 9** Το αποτέλεσμα της LDA για τους υπό εξέταση οίνους με βάση την ποικιλία.

**Εικόνα 10** Τα αποτελέσματα της LDA για το γεωγραφικό προσδιορισμό των οίνων με βάση τα προφίλ των οργανικών οξέων. (a) Cabernet Sauvignon, (b) Merlot και (c) Shiraz

**Εικόνα 11** Η λειτουργία του NMR

**Εικόνα 12** Η λειτουργία της HPLC

**Εικόνα 13** Η λειτουργία της GC

**Εικόνα 14** Χρωματογράφημα HPLC οίνων Feteasca Neagra συγκομιδής 2011

**Εικόνα 15** Κατάταξη των οίνων βάση της αναλογίας ανθοκυανινών

**Εικόνα 16** Ανάλυση PCA (αριστερά) και PLS-DA (δεξιά)

**Εικόνα 17** Τα αποτελέσματα της κατηγοριοποίησης με βάση τη γεωγραφική προέλευση

**Εικόνα 18** Οι συγκεντρώσεις των στοιχείων (mg/L) σε οίνους από διαφορετικές χώρες

## Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>: Άμπελος & Οίνος

### 1.1 Το φυτό της αμπέλου

Η άμπελος ή αμπέλι ή κλήμα ή κούρβουλο (*Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris* Gmel.) είναι πολυετής και φυλλοβόλος αγγειόσπερμος θάμνος με γρήγορη και έντονη ανάπτυξη. Ανήκει στην οικογένεια Vitaceae και είναι το μόνο είδος που παρουσιάζει ενδιαφέρον αλλά αποτελεί και το μοναδικό ευρασιατικό είδος της οικογένειας Vitaceae. Στην καλλιεργούμενη μορφή του (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa* D.C) και με κατάλληλη διαμόρφωση, ονομάζεται πρέμνο (Σταυρακάκης, 2013).

Το είδος *Vitis vinifera*, καλλιεργείται κυρίως για τον καρπό του, όπου ανάλογα την ποικιλία δίνει και το αντίστοιχο αμπελουργικό προϊόν, δηλαδή επιτραπέζια σταφύλια, σταφίδα και οινοποιήσιμα σταφύλια. Στη μεταφυλλοξηρική αμπελουργία, δηλαδή στην εκ νέου ανάπτυξη της αμπελουργίας μετά την φυλλοξήρα, το ριζικό σύστημα προέρχεται από αμερικανικές ποικιλίες (υποκείμενα), ενώ το υπέργειο προέρχεται από ευρωπαϊκές ποικιλίες. Η συμβίωση αυτή, επιτυγχάνεται μέσω του εμβολιασμού (Σταυρακάκης, 2013).

Το υπέργειο τμήμα, αποτελείται από τον κορμό, τους βραχίονες και το φύλλωμα. Το υπόγειο τμήμα, περιλαμβάνει τα διάφορα είδη ριζών και είναι πολλές φορές μεγαλύτερο από το υπέργειο. Το αντίστοιχο υπόγειο μέρος του κορμού είναι η αγωγός ρίζα, των βραχιόνων οι διακλαδώσεις πρώτης και δεύτερης τάξης (σκελετικές) και τη θέση των φύλλων κατέχουν τα απορροφητικά τριχίδια (ή ριζίδια), που εμφανίζονται κάθε χρόνο στις διακλαδώσεις των μόνιμων ριζών. Στο τέλος κάθε καλλιεργητικής περιόδου, τα απορροφητικά αυτά ριζίδια καταστρέφονται και όσα επιβιώσουν θα αποτελέσουν τις κύριες ρίζες του πρέμνου (Σταυρακάκης, 2013).





Εικόνα 1 Αμπέλι με σταφύλια (Πηγή: wikipedia)

## 1.2 Οίνος

Γενικά, ως οίνο μπορούμε να χαρακτηρίσουμε το τελικό προϊόν που προκύπτει μετά την αλκοολική ζύμωση (Σχήμα 1) του γλεύκους (μούστου). Η αλκοολική ζύμωση πραγματοποιείται με τη βοήθεια ζυμών (*Saccharomyces cerevisiae*) και μετατρέπει τα σάκχαρα σε αλκοόλη και CO<sub>2</sub> (Τσακίρης, 2020). Η λέξη «οίνος» φαίνεται να υπάρχει από τους μυκηναϊκούς χρόνους αλλά απαντάται σε όλες τις τότε γλώσσες της Μεσογείου (Καρυπίδης, 2009). Η γνωστή λέξη με την οποία συχνά αναφέρεται ο οίνος, το «κρασί» πρωτοεμφανίσθηκε κατά τη Βυζαντινή περίοδο. Η λέξη αυτή είναι παράγωγο της λέξης «κράσις» (ανάμειξη), η οποία αντανakλούσε τη συνήθεια των αρχαίων Ελλήνων να αναμειγνύουν το νερό με τον οίνο (Καρυπίδης, 2009).

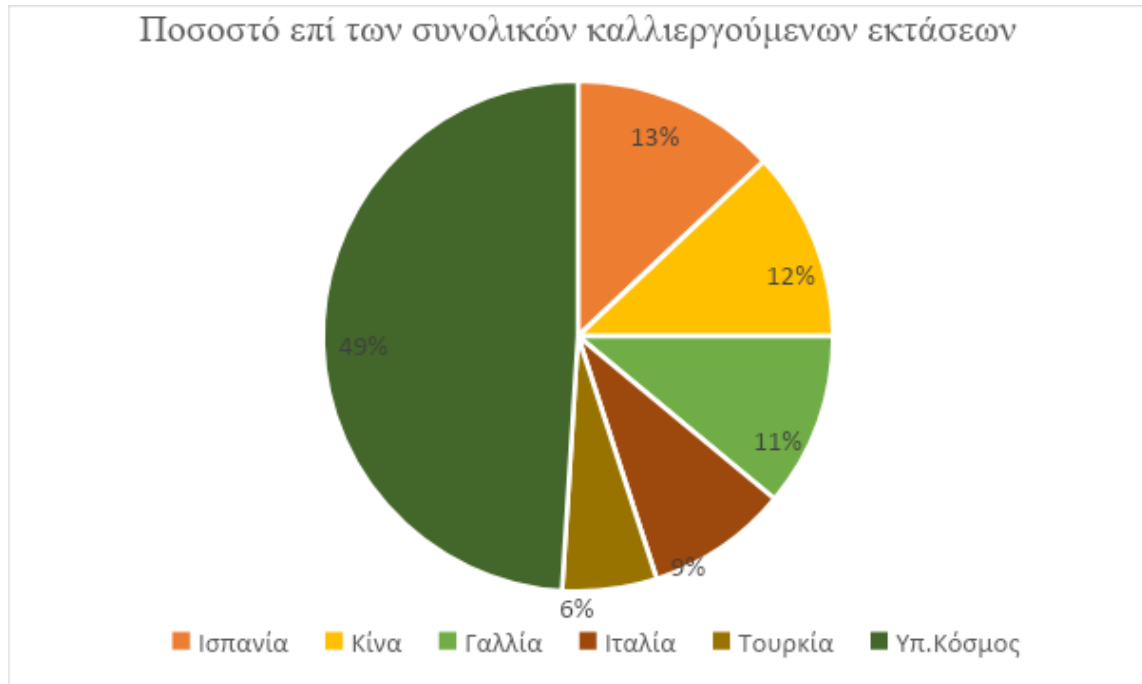
Όπως είναι γνωστό, υπάρχουν διάφορα είδη οίνων που κατατάσσονται με βάση το χρώμα και το είδος οινοποίησης (Λευκοί-Ερυθροί-Ροζέ), το αν είναι ήσυχοι οίνοι ή αφρώδεις, το αν έχουν χρησιμοποιηθεί μία ή περισσότερες ποικιλίες αλλά και με βάση την περιεκτικότητά τους σε σάκχαρα (Ξηροί-Ημίγλυκοι-Γλυκοί) (Τσακίρης, 2020).



Σχήμα 2 Η αλκοολική ζύμωση

### 1.3 Η καλλιέργεια της αμπέλου και η οινοπαραγωγή ανά τον κόσμο

Όπως φαίνεται και από τα στοιχεία του ΟΙV, η αμπελοκαλλιέργεια είναι μία από τις σημαντικότερες καλλιέργειες ανά τον κόσμο, καθώς οι καλλιεργούμενες εκτάσεις αγγίζουν τα 750 εκατομμύρια στρέμματα. Οι περισσότερες εκτάσεις εντοπίζονται στη Γαλλία, την Ισπανία και την Κίνα.



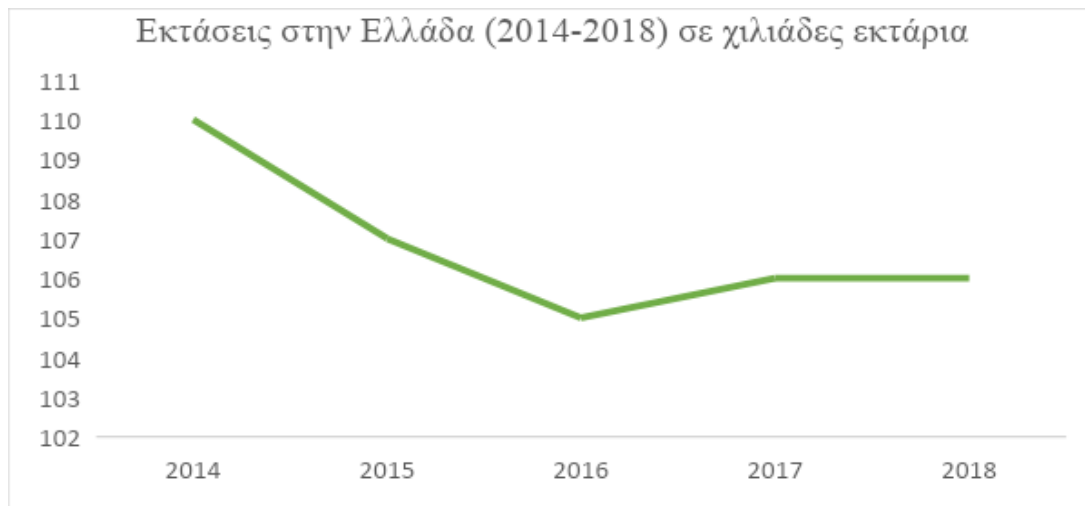
Διάγραμμα 5 Οι καλλιεργούμενες εκτάσεις ανά τον κόσμο σε ποσοστά ανά χώρα (Πηγή: ΟΙV)

Όπως φαίνεται και στο παρακάτω γράφημα (Διάγραμμα 2), οι συνολικές εκτάσεις βρίσκονται σταθερά πάνω από τα 74 εκατομμύρια στρέμματα, κατά τα έτη 2000 έως 2018.



**Διάγραμμα 6 Η διακύμανση των καλλιεργούμενων εκτάσεων κατά τα έτη 2000-2018 σε εκατομμύρια εκτάρια (Πηγή: ΟΙΥ).**

Στην Ελλάδα, κατά την 5ετία 2014-2018 φαίνεται να υπάρχει μία αρχική μείωση στις καλλιεργούμενες εκτάσεις και σταθεροποίηση στα επίπεδα των 106 χιλιάδων εκταρίων (Διάγραμμα 3).



**Διάγραμμα 7 Η διακύμανση των καλλιεργούμενων εκτάσεων στην Ελλάδα κατά τα έτη 2014-2018 (Πηγή: ΟΙΥ)**

Όσον αναφορά τα ποσοστά για τα οινοποιήσιμα, τα επιτραπέζια και τα σταφύλια που προορίζονται για σταφιδοποίηση, ως προς τις συνολικές εκτάσεις, αυτά συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 1).

**Πίνακας 12 Τα ποσοστά της παραγωγικής κατεύθυνσης επί της συνολικής παραγωγής (Πηγή: ΟΙΥ)**

Ποσοστά επί της χρήσης	
Οινοποιήσιμα	57%
Επιτραπέζια σταφύλια	36%
Σταφιδοποια	7%

Η κατανομή των εκμεταλλεύσεων με βάση την έκταση αλλά και τον παραγωγικό προσανατολισμό, παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 2).

**Πίνακας 13 Η κατανομή των εκτάσεων οιναμπέλων στην Ελλάδα (Πηγή: ΕΛΣΤΑΤ, 2022)**

	ΣΥΝΟΛΟ	%	ΤΑΞΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΗΣ ΣΥΝΟΛΙΚΗΣ ΕΚΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΕΚΜΕΤΑΛΛΕΥΣΗΣ				
			< 1 στρέμματα	1 έως 9,9 στρέμματα	10 έως 49,9 στρέμματα	50 - 99,9 στρέμματα	>100 στρέμματα
<b>ΣΥΝΟΛΟ ΑΜΠΕΛΩΝΩΝ</b>	<b>193.252</b>	<b>100,00 %</b>	36.016	129.606	26.386	1.093	151
ΣΥΝΟΛΟ ΟΙΝ-ΑΜΠΕΛΩΝ	166.492	<b>86,15%</b>	33.442	112.135	19.801	966	148
ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΟΙΝΩΝ ΠΟΠ	29.988	<b>15,52%</b>	2.709	19.804	7.017	398	60
ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΟΙΝΩΝ ΠΠΕ	108.729	<b>56,26%</b>	22.184	71.772	13.845	790	138
ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΛΟΙΠΩΝ ΟΙΝΩΝ	34.157	<b>17,67%</b>	6.682	24.730	2.438	223	84

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν και τα στοιχεία που αφορούν τις εξαγωγές και τις εισαγωγές οίνου. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3, οι εισαγωγές φαίνεται πως ακολούθησαν μια μειούμενη τάση σε αντίθεση με τις εξαγωγές, οι οποίες αρχικές εκτοξεύτηκαν αλλά μετά από μία πτώση ακολούθησαν έναν λιγότερο αυξανόμενο ρυθμό (Πίνακας 4).

**Πίνακας 14 Η πορεία των εισαγωγών σε εκατόλιτρα κατά τα έτη 2008-2015 (Πηγή: ICAP)**

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Ε.Ε	229.664	158.040	101.950	199.837	170.150	183.144	146.982	123.104
Τρίτες χώρες	4.766	4.879	5.408	3.102	7.741	4.708	2.282	1.800
Σύνολο	234.430	162.919	107.358	202.939	177.891	187.852	149.264	124.904

**Πίνακας 15 Η πορεία των εξαγωγών οίνων σε εκατόλιτρα κατά τα έτη 2008-2015 (Πηγή: ICAP)**

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Ε.Ε	220.605	266.388	332.257	294.507	297.611	198.545	237.799	231.519
Τρίτες χώρες	48.150	37.672	53.411	44.985	46.604	45.067	43.930	46.764
Σύνολο	268.755	304.060	385.668	339.492	344.215	243.612	281.729	278.283

## **2.2 Συστατικά οίνου**

Ως οίνο χαρακτηρίζουμε το αλκοολούχο ποτό το οποίο έχει προκύψει από την αλκοολική ζύμωση του γλεύκους και αποτελείται κυρίως από νερό, αλκοόλες, οργανικά οξέα, φαινόλες, ανόργανα συστατικά, ταννίνες, σάκχαρα. Πιο συγκεκριμένα στον οίνο περιέχονται τα παρακάτω συστατικά: (Σουφλερός, 1997)

### **2.2.1 Το νερό**

Ο οίνος στον μεγαλύτερο του βαθμό (70 έως 80%) αποτελείται από νερό, το οποίο και είναι υπεύθυνο για την πυκνότητα του. Η αλκοόλη έχοντας μικρή πυκνότητα ισοσταθμίζει την πυκνότητα που έχουν τα «βαρύτερα» συστατικά του οίνου και έτσι η πυκνότητα του οίνου μοιάζει με του νερού. Για να προσδιοριστεί το νερό στον οίνο πρέπει να γίνει εξάτμιση σε θερμοκρασία 100°C και στη συνέχεια να μετρηθεί το στερεό υπόλειμμα (Σουφλερός, 1997).

### **2.2.2 Οργανικά οξέα**

Τα οργανικά οξέα παίζουν σημαντικό ρόλο στον οίνο, καθώς βοηθούν να διατηρηθεί το χρώμα του, παρέχουν προστασία έναντι μικροβιολογικών και χημικών αλλοιώσεων και προσδίδουν μία όξινη γεύση στον οίνο (Τσακίρης, 2005). Στο γλεύκος περιέχονται οργανικά και ανόργανα οξέα, τα οποία εξουδετερώνονται από τις βάσεις που υπάρχουν. Κάποια οργανικά οξέα όμως παραμένουν ελεύθερα και είναι υπεύθυνα για τον όξινο χαρακτήρα του οίνου. Πέρα από τα οξέα, η περιεκτικότητα των αλκοολών, σακχάρων, τανίνων κ.α. επηρεάζει την όξινη γεύση του οίνου (Σουφλερός, 1997).

Τα οξέα του οίνου χωρίζονται σε αυτά που υπάρχουν στο σταφύλι και τα κυριότερα είναι το τρυγικό, μηλικό, κιτρικό οξύ κ.α. και σε αυτά που σχηματίζονται κατά την ζύμωση ή προκαλούνται από μικροβιολογικές αλλοιώσεις και είναι το ηλεκτρικό, οξικό οξύ κ.α. Τα οξέα συμβάλλουν στην σωστή και γρήγορη εκκίνηση της ζύμωσης, προσδίδουν στον οίνο, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και ανάλογα την περιεκτικότητά τους μπορεί να πραγματοποιηθεί διόρθωση οξύτητας καθώς και άλλες επεμβάσεις όπως σωστή

θείωση κλπ.

Το τρυγικό οξύ βρίσκεται στο γλεύκος ως ελεύθερο, ουδέτερο άλας και όξινο άλας, είναι το πιο ισχυρό οξύ και προσβάλλεται δύσκολα από βακτήρια. Στην ελεύθερη μορφή του επηρεάζει το pH του γλεύκους και του κρασιού. Γενικά το τρυγικό οξύ, προσδίδει έντονη όξινη και στυφή γεύση και έχει την τάση να ελαττώνεται στο γλεύκος και στο αποθηκευμένο οίνο λόγω της δυσδιαλυτότητας των αλάτων του. Οι συγκεντρώσεις των ανόργανων ιόντων, ο αλκοολομετρικός τίτλος του οίνου, οι περιεκτικότητες μηλικού και γαλακτικού οξέος καθώς και η θερμοκρασία περιβάλλοντος επηρεάζουν την εξέλιξη και την τελική συγκέντρωση του τρυγικού οξέος (Ζουμπούτης και Τσιβεριώτου, 2003).

Το μηλικό οξύ προσδίδει στον οίνο τα «χορτώδη» αρώματα. Κατά το σχηματισμό της ράγας αποτελεί το 60-70% της ολικής οξύτητας, ενώ κατά την ωρίμανση αποτελεί το 10-40%. Κατά την διάρκεια της ζύμωσης συνήθως δεν παρατηρείται κάποια μεταβολή της συγκέντρωσης του μηλικού. Εξαιρεση αποτελεί η περίπτωση που γίνεται χρήση των ζυμών *Schizosaccharomyces pombe* όπου πραγματοποιείται μετατροπή του μηλικού οξέος σε αλκοόλη. Αυτό καλείται μηλογαλακτική ζύμωση και παρατηρείται ελάττωση της οξύτητας (Τσακίρης, 2020). Συνήθως η μηλογαλακτική ζύμωση γίνεται στους ερυθρούς οίνους υψηλής οξύτητας καθώς βελτιώνεται ο οργανοληπτικός χαρακτήρας τους. (Ζουμπούτης και Τσιβεριώτου, 2003). Μηλογαλακτική μπορεί να πραγματοποιηθεί και υπό άλλες συνθήκες (π.χ. ελάχιστα θειωμένο γλεύκος) όπου το μηλικό οξύ διασπάται από γαλακτικά βακτήρια και σχηματίζεται γαλακτικό οξύ (Τσακίρης, 2020).

Όσο αφορά το κιτρικό οξύ βρίσκεται σε όλα τα γλεύκη σε μικρές ποσότητες. Η χρήση του βελτιώνει την γεύση καθώς χαρακτηρίζεται για την απαλότητα του, ανεβάζει την ολική οξύτητα και βοηθάει να αποφευχθούν θολώματα (Τσακίρης, 2005).

### 2.2.3 Αλκοόλες

Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες αλκοολών στον οίνο όπως αυτές των απλών αλκοολών (μεθανόλη, αιθανόλη), των ανώτερων αλκοολών (προπανόλη-1, βουτανόλη κ.α.) και των πολυαλκοολών (γλυκερόλη κ.α.). Με βάση την κατ' όγκο περιεκτικότητα αλκοόλης στον οίνο δηλαδή τον «αλκοολομετρικό τίτλο»,

διαμορφώνεται η ποιότητα και η συντήρηση του οίνου.

Η αιθανόλη είναι η σημαντικότερη αλκοόλη καθώς αποτελεί το βασικό προϊόν μεταβολισμού των σακχάρων. Στον οίνο προσδίδει μια γλυκιά γεύση φέρνοντας έτσι την ισορροπία της όξινης γεύσης που έχει προκληθεί από τα οξέα. Τέλος λειτουργεί και σας διαλύτης αρωματικών ενώσεων (Τσακίρης, 2005).

#### **2.2.4 Αρωματικές ενώσεις**

Οι περισσότερες αρωματικές ενώσεις βρίσκονται σε μικρές συγκεντρώσεις και ο προσδιορισμός τους είναι αρκετά δύσκολος. Οι αρωματικές ύλες βρίσκονται κυρίως στα επιδερμικά κύτταρα των ραγών. Γι' αυτό το λόγο μετά το τρύγο το γλεύκος παραμένει πολλές φορές για ορισμένο χρονικό διάστημα, συνήθως 1-8 ώρες, με τους φλοιούς των σταφυλιών, με σκοπό την εκχύλιση χρωστικών και αρωμάτων (Μπέτζιος, 2000). Τα αρώματα οφείλονται κυρίως στις ανώτερες αλκοόλες, οι οποίες προσδίδουν την πολυπλοκότητα στο κρασί και στους εστέρες (Τσακίρης, 1994). Οι εστέρες βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στους οίνους, και οι αρωματικοί χαρακτήρες που προσδίδουν είναι φρούτα και λουλούδια. Υπάρχουν και άλλες ενώσεις (αλδεΐδες, κετόνες, τερπένια κλπ.) οι οποίες προσδίδουν διαφορετικά αρωματικά χαρακτηριστικά στους οίνους (Etiavent, 1991).

#### **2.2.5 Σάκχαρα**

Τα σάκχαρα βρίσκονται σε μεγάλη ποσότητα στο γλεύκος, αποτελούν «πηγή» της αλκοόλης και άλλων υποπροϊόντων της αλκοολικής ζύμωσης και προσδίδουν οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στον οίνο. Η περιεκτικότητα των σακχάρων εξαρτάται από το αμπέλι, το έδαφος, τις καλλιεργητικές τεχνικές κ.λπ., τη θερμοκρασία και την ηλιοφάνεια της περιοχής, την ποικιλία, τον βαθμό ωρίμανσης στον τρύγο, την προσβολή ή όχι από *Botrytis cinerea* καθώς και την πίεση των σταφυλιών. Στον οίνο περιέχονται αναγωγικά και μη αναγωγικά σάκχαρα, ζυμώσιμα και μη ζυμώσιμα σάκχαρα (Σουφλερός, 1997). Λόγω της φωτοσύνθεσης, η σακχαρόζη μαζεύεται στα φύλλα της αμπέλου, στα γλεύκη όμως, γίνεται υδρόλυση της σακχαρόζης σε φρουκτόζη και γλυκόζη λόγω της



μβερτάσης. Αυτό σημαίνει πως η ύπαρξη σακχαρόζης στους οίνους, αποτελεί νοθεία με σκοπό την αύξηση του αλκοολικού βαθμού. Η φρουκτόζη και η γλυκόζη είναι τα δύο βασικά σάκχαρα του γλεύκους. Όταν τα σταφύλια είναι ανώριμα υπάρχει περισσότερη γλυκόζη απ'ότι φρουκτόζη, κατά την ωρίμανση όμως αυξάνεται η φρουκτόζη με αποτέλεσμα να έχουμε αναλογία γλυκόζης και φρουκτόζης 1:1 στα ώριμα σταφύλια για συγκέντρωση σακχάρων 100g/l. Αυτή η αναλογία μπορεί να επηρεαστεί από τις κλιματικές συνθήκες κατά το στάδιο της ωρίμανσης. Κατά τις θερμές εποχές παρατηρείται μείωση της αναλογίας 1:1 και κατά τις ψυχρές παρατηρείται αύξηση (Hawker 1967a). Τέλος, όσο εξελίσσεται η ωρίμανση έχουμε μείωση της αναλογίας μεταξύ γλυκόζης και φρουκτόζης.

### **2.2.6 Πολυσακχαρίτες**

Οι πολυσακχαρίτες ανήκουν στην κατηγορία των κολλοειδών ουσιών, απαρτίζονται από πηκτίνες και κόμια και βρίσκονται στον φλοιό των ραγών και δημιουργούνται και κατά την αυτόλυση των ζυμών και των βακτηρίων. Κατά την διάρκεια την αλκοολικής ζύμωσης και της οινοποίησης πραγματοποιείται ενζυματική διάσπαση και στην συνέχεια καθίζηση, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ζελατινωειδούς ιζήματος (Σουφλερός, 1997).

### **2.2.7 Φαινολικές ενώσεις**

Τα φαινολικά συστατικά βρίσκονται στα σταφύλια και στους οίνους και συμβάλλουν στην ποιότητα του οίνου, το χρώμα, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όπως τη στυφάδα και παίζουν ρόλο σε οξειδοαναγωγικά φαινόμενα από την παραγωγή μέχρι την παλαίωση (Brouillardetal., 2003). Τα φαινολικά συστατικά χωρίζονται σε φλαβονοειδείς και μη φλαβονοειδείς φαινόλες. Όσον αφορά τις μη φλαβονοειδείς φαινόλες, δηλαδή τα φαινολικά οξέα, υπάρχουν στα σταφύλια αλλά και στον οίνο και έχουν βρεθεί συστατικά της ομάδας βενζοϊκών και κινναμωμικών οξέων, τα οποία έχουν αντιβακτηριακή και αντισηπτική δράση (Τσακίρης, 2005). Οι φλαβονοειδείς φαινόλες είναι οι φλαβανόλες, ανθοκυάνες, τανίνες. Οι ανθοκυάνες είναι γλυκοζίτες και τις συναντάμε στον φλοιό των ραγών. Για να παραλειφθούν στο γλεύκος θα πρέπει να πραγματοποιηθεί ζύμωση μαζί με τους φλοιούς. Η αλκοόλη που παράγεται και η υψηλή θερμοκρασία βοηθούν στην εκχύλιση τους. Είναι ευαίσθητες σε

οξειδωτικές αντιδράσεις και αντιδρούν με τον θειώδη ανυδρίτη, η αντίδραση όμως είναι αμφίδρομη και έτσι το χρώμα επανέρχεται (Σουφλερός, 1997).

Οι φλαβανόλες είναι ουσίες κίτρινου χρώματος, βρίσκονται στον φλοιό των σταφυλιών και διαμορφώνουν και αυτές το χρώμα του οίνου.

Οι τανίνες βρίσκονται στους φλοιούς, τα γίγαρτα και τους βόστρυχους. Χωρίζονται σε υδρολυόμενες και συμπυκνωμένες και είναι υπεύθυνες για την στυφή αίσθηση κατά την γευστική δοκιμή ενός οίνου. Αυτό οφείλεται στην ένωση μεταξύ τανινών και πρωτεϊνών. Κάποιες από τις ιδιότητες τους είναι ότι δίνουν σώμα στον οίνο, σταθεροποιούν το χρώμα του και βοηθούν στην διαύγηση και την καλύτερη συντήρηση του οίνου. Τέλος, παίζουν σπουδαίο ρόλο όσο αφορά την παλαίωση (Monegasetal., 2006).

Αξίζει να σημειωθεί πως ο ακριβής προσδιορισμός των τανινών και των ανθοκυάνων δεν είναι εύκολος λόγω της μεγάλης διαφοροποίησης και της πολυπλοκότητας τους (Brouilardetal., 2003).

### **2.2.8 Αζωτούχες ενώσεις**

Στα γλεύκη έχουν βρεθεί διάφορες αζωτούχες ύλες, οργανικές και ανόργανες. Οι ανόργανες υπάρχουν στον οίνο σαν αμμωνιακά άλατα ενώ οι οργανικές είναι αμινοξέα, πολυπεπίδια, πρωτεΐνες και αμίδια. Η ποσότητα τους εξαρτάται κυρίως από τις εδαφολογικές συνθήκες και έχει παρατηρηθεί πως προσβεβλημένα σταφύλια από έντομα έχουν μεγαλύτερη ποσότητα ολικού αζώτου (Νακοπούλου, 2005).

### **2.2.9 Βιταμίνες**

Στο γλεύκος περιέχονται βιταμίνες όπως B1, B2, B3, P κ.λπ. οι οποίες έχουν σημαντικό ρόλο και μεταβάλλονται ανάλογα τις φάσεις του μεταβολισμού των ζυμών.

### **2.2.10 Ένζυμα**

Τα ένζυμα που έχουν βρεθεί στον οίνο είναι οι πολυφαινολοξειδάσεις, οξειδάσεις, πηκτινάσες, ινβεργάσες, πρωτεάσες κλπ. τα οποία προϋπήρχαν στο εξωτερικό ή στο εσωτερικό του φλοιού του σταφυλιού (Σουφλερός, 1997).

## 2.3 Αλκοολική ζύμωση

Αφού γίνει η έκθλιψη και επεξεργαστούν τα σταφύλια στο οινοποιείο, το γλεύκος ζυμώνεται μέσα σε δεξαμενές που είναι ιδανικές για ζύμωση. Ζύμωση είναι όταν διασπώνται σύνθετες οργανικές ύλες σε πιο απλές με τη βοήθεια ενζύμων. Αλκοολική ζύμωση είναι όταν διασπώνται σάκχαρα γενικού τύπου  $C_6H_{12}O_6$  προς αιθυλική αλκοόλη (αιθανόλη), από τα ένζυμα των ζυμών (Belitz et al., 2006).

Η αλκοολική ζύμωση είναι ένα ιδιαίτερο κομμάτι το οποίο έκανε αρκετούς επιστήμονες να ασχοληθούν με την έρευνα για πολλά χρόνια. Όπως για παράδειγμα ο Pasteur δημιούργησε τη Βιοχημεία και έτσι η αλκοολική ζύμωση είναι το πρώτο βιοχημικό μοντέλο που μελετήθηκε κατά στάδια. Πολλές ήταν οι γνώμες που επικράτησαν σχετικά με την ερμηνεία του φαινομένου της αλκοολικής ζύμωσης (Σουφλερός, 1997)

Στις μέρες μας γνωρίζουμε ότι η αλκοολική ζύμωσης είναι ένα βιοχημικό φαινόμενο το οποίο όταν συμβαίνει μετατρέπει τα σάκχαρα σε αιθανόλη από τα ένζυμα κάποιων ζυμών ενώ παράλληλα παράγεται διοξείδιο του άνθρακα και απελευθερώνεται θερμότητα (περίπου 24kcal/rrpm γλυκόζης) (Τσέτουρας, 2003).

Αυτό το φαινόμενο το συναντάμε στους χυμούς σακχάρων των φρούτων και διαθέτει περίπου 30 διαφορετικές χημικές αντιδράσεις. Το γλεύκος ως χυμός που περιλαμβάνει τα σάκχαρα του σταφυλιού αν μείνει σε χαμηλή θερμοκρασία, μετά από ένα μικρό χρονικό διάστημα οδηγείται σε βρασμό. Κατά τον βρασμό εκλύεται διοξειδίου του άνθρακα, απελευθερώνεται θερμότητα, παράγεται αλκοόλη και σταδιακά μειώνονται τα σάκχαρα του γλεύκους. Έτσι, μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης ο χυμός από το σταφύλι θα είναι πλέον οίνος, ο οποίος έχει ανώτερη ποιότητα και ποικιλία στην έκφραση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων (Manseuf et al., 2006). Στην αλκοολική ζύμωση παρατηρούμε τέσσερα βασικά στάδια:

- A. Μετατροπή της γλυκόζης σε τριόζες
- B. Αφυδρογόνωση των τριοζών σε πυροσταφυλικό οξύ
- Γ. Αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος σε ακεταλδεΐδη

#### Δ. Αναγωγή της ακεταλδεΐδης σε αιθυλική αλκοόλη

Γενικά υπάρχουν αρκετά άλλα δευτερογενή προϊόντα, που παράγονται σε μικρές ποσότητες κατά την αλκοολική ζύμωση. Κάποια από αυτά είναι η γλυκερόλη, το οξικό οξύ, το ηλεκτρικό οξύ, η ακετόνη, η ακεταλδεΐδη, εστέρες, ανώτερες αλκοόλες, πτητικά οξέα κ.α. (Αλεξάκης, 2000). Για να υπάρξει ζύμωση χρειάζεται ένα μεγάλο ποσό κυττάρων ζυμομυκήτων. Οι μύκητες που συμμετέχουν στην αλκοολική ζύμωση είναι του γένους των σακχαρομυκήτων. Οι μύκητες με το πιο μεγάλο ποσοστό συμμετοχής είναι ο *Saccharomyces apiculatus* που συγκαταλέγεται στις άγριες ζύμες που εμφανίζονται στην επιφάνεια των σταφυλιών και ο *Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus* ή *pastorianus* που είναι επιλεγμένες ζύμες με επιθυμητές ιδιότητες κατά τη ζύμωση (Belitz Et Al., 2006).

Η αύξηση και η ενέργεια των ζυμών μπορεί να διευκολυνθεί ή να επιταχυνθεί με τη δράση διαφόρων χημικών ή φυσικών παραγόντων. Οι σπουδαιότεροι παράγοντες που παίζουν ρόλο στην οينوποίηση και επηρεάζουν το πληθυσμό και τη δράση των ζυμών είναι οι εξής: (Τσέτουρας, 2003)

- Η πίεση
- Η θερμοκρασία
- Το οξυγόνο του αέρα
- Η αλκοόλη
- Τα οξέα
- Οι αντισηπτικές ουσίες (θειώδης ανυδρίτης)
- Οι θρεπτικές ουσίες της ζύμης

Οι ζύμες μπορούν να επιβιώσουν και να δρουν παρουσία αλλά και απουσία οξυγόνου. Όσο πιο λίγο οξυγόνο υπάρχει τόσο πιο δύσκολα θα πολλαπλασιαστούν. Σε αυτή την περίπτωση όμως θα αυξηθεί η ζυμωτική τους δράση άρα και η παραγωγή της αλκοόλης (Ζαμπούτης και Τσιβεριώτου, 2003).

Η αλκοολική ζύμωση είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο με αρκετές αντιδράσεις ενζύμων που για την ολοκλήρωσή της απαιτείται ένας σημαντικός αριθμός ενζύμων, κάποια συνένζυμα και ανόργανα ιόντα. Τα βασικότερα ένζυμα που συμμετέχουν στην αλκοολική ζύμωση είναι: (Σουφλερός, 1997)

- Η αποκαρβοξυλάση TPP (πυροφωσφορικός εστέρας της θειαμίνης ή της βιταμίνης B1), η οποία καταλύει τις αποκαρβοξυλιώσεις όπως εκείνη του πυρουβικού οξέος σε ακεταλδεΐδη και διοξείδιο του άνθρακα.
- Το νικοτιναμίδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (NAD), το οποίο είναι μια αφυδρογονάση που καταλύει τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής.
- Η διφωσφορική αδενοσίνη (ADP), που παίζει σημαντικό ρόλο στους μηχανισμούς μεταφοράς ενέργειας ανάμεσα στις βιοχημικές. Το συνένζυμο A (CoA-SH), που συμμετέχει κυρίως στη σύνθεση λιπαρών οξέων και λιπιδίων.

Όσο εξελίσσεται η αλκοολική ζύμωση παράγονται μεγάλες ποσότητες διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) και μεγαλώνει ο όγκος του γλεύκους κατά 20%. Κάποιο ποσοστό του διοξειδίου του άνθρακα θα διαλυθεί στο γλεύκος και η μεγαλύτερη ποσότητα θα αποβληθεί στην ατμόσφαιρα, όταν ανοίξουν οι δεξαμενές. Για παράδειγμα, όταν έχουμε 200lt γλεύκος με περιεκτικότητα σε σάκχαρα 20% εκλύονται δέκα κυβικά μέτρα CO<sub>2</sub>.

Στους ερυθρούς οίνους το ποσοστό διαλυτότητας του διοξειδίου του άνθρακα είναι 0,1-0,5% g/l και στους λευκούς είναι 0,5-1g/l (Τσέτουρας, 2003). Στην αλκοολική ζύμωση πραγματοποιούνται τα εξής φαινόμενα:

- Αύξηση της θερμοκρασίας του γλεύκους.
- Αναβρασμό του γλεύκους (θορυβώδης ζύμωση), με ταυτόχρονη έκλυση διοξειδίου του άνθρακα.
- Μεταβολή της γεύσης του γλεύκους, η οποία οφείλεται στη αποικοδόμηση των σακχάρων προς αιθυλική αλκοόλη,
- Μείωση του ειδικού βάρους.

Τις περισσότερες φορές η ζύμωση του γλεύκους γίνεται σε αργούς ρυθμούς και διαρκεί περίπου 21 μέρες. Στην ερυθρή οινοποίηση οι θερμοκρασίες ζύμωσης είναι 25°C-30°C και στη λευκή 15°C-20°C (Betrand et al., 1987).

Τα σάκχαρα που υπάρχουν στο γλεύκος (βαθμοί Baume) επηρεάζουν την αύξηση της θερμοκρασίας κατά την αλκοολική ζύμωση. Στις μέρες μας τα οινοποιεία χρησιμοποιούν δοχεία οινοποίησης τα οποία έχουν διπλά τοιχώματα και μέσα σε

αυτά υπάρχει ψυκτικό υγρό ώστε να ψύχεται το γλεύκος και να αποφεύγεται η ανεπιθύμητη αύξηση της θερμοκρασίας.

Το διάστημα που πραγματοποιείται η αλκοολική ζύμωση, δύο φορές μέσα στη μέρα (συνήθως πρωί - απόγευμα) θα πρέπει να ελέγχεται η θερμοκρασία και η πυκνότητα του γλεύκους.

Στην αρχή της αλκοολικής ζύμωσης, παρατηρείται έντονη ζύμωση και στη συνέχεια αυξάνεται ο αλκοολικός βαθμός και μειώνεται ο βρασμός. Στη συνέχεια, η ζύμωση πραγματοποιείται με αργούς ρυθμούς και μειώνεται η θερμοκρασία του υγρού ζύμωσης. Έχουμε αργή ζύμωση όταν φτάσει ο αλκοολικός τίτλος τα 11-15%vol και μειωμένη ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό ζυμομυκήτων (Τσέτουρας,2003). Το οξυγόνο βοηθά τον πολλαπλασιασμό των ζυμών, γι'αυτό όταν υπάρχουν προβλήματα κατά την αλκοολική ζύμωση βοηθάει ο αερισμός του γλεύκους, επίσης μπορεί να γίνει και προσθήκη θρεπτικών αλάτων.

Τις περισσότερες φορές γίνεται προσθήκη θρεπτικών αλάτων, πριν αρχίσει η ζύμωση, ως τροφή του ζυμομύκητα (Erasmus et al., 2003). Το θειώδες οξύ επηρεάζει την πορεία της αλκοολικής ζύμωσης, διότι η αρχή της ζύμωσης καθυστερείται για τρεις ημέρες με 100mg/l και με 200mg/l για τρεις εβδομάδες (Belitz et al., 2006).

Η ζύμωση του γλεύκους μπορεί να γίνει ή σε κλειστές ή σε ανοιχτές δεξαμενές. Όταν έχουμε τρύγο τις ημέρες με υψηλές θερμοκρασίες και υψηλόβαθμους οίνους, η ζύμωση γίνεται σε ανοιχτές δεξαμενές. Σε αυτή την περίπτωση η λήξη της ζύμωσης γίνεται κανονικά και ο οίνος μπορεί να αποκτήσει μεγάλο αλκοολικό βαθμό. Στην περίπτωση αυτή έχουμε λιγοστά αζύμωτα σάκχαρα.

Ανάλογα το πότε θα γίνει ο αερισμός (αρχή, μέση, τέλος ζύμωσης) τα αποτελέσματα είναι διαφορετικά. Τις περισσότερες φορές πραγματοποιείται όταν έχει γίνει ζύμωση των 30-40g σακχάρων, δηλαδή στην αρχή. Παρατηρείται μείωση του δυναμικού οξειδοαναγωγής. Σε αυτή την περίπτωση για να επανέλθει στα πρωταρχικά επίπεδα πρέπει να γίνει αερισμός του γλεύκους. Αν γίνει στο τέλος της ζύμωσης θα μειωθεί η αλκοόλη (Τσέτουρας, 2003).

Απαιτούνται υδατάνθρακες, μεταλλικά άλατα και αζωτούχες ενώσεις για τον πολλαπλασιασμό των ζυμομυκήτων. Σε περίπτωση που η πορεία της ζύμωσης δεν είναι ομαλή, παρότι έχει γίνει αερισμός και προσθήκη θρεπτικών αλάτων, μπορούμε

να προσθέσουμε καλλιεργημένη ζύμη εμπορίου. Θα έχουμε ικανοποιητικά αποτελέσματα εφόσον και οι θερμοκρασίες είναι ιδανικές.

Αν βάλουμε γλεύκος που ζυμώνει μπορεί να γίνει η αναζύμωση του γλεύκους, όμως πρέπει να προσέχουμε να γίνεται ανάμειξη μικρών ποσοτήτων στην αρχή και στη συνέχεια να αυξάνονται οι ποσότητες (Erasmus et al., 2003).

Τα θετικά της ελεγχόμενης ζύμωσης με επιλεγμένες ζύμες είναι τα παρακάτω:

- Προκαθορισμένη έναρξη της ζύμωσης
- Αποτελεσματικότητα και ταχύτητα στην ολοκλήρωση της ζύμωσης
- Απουσία ανεπιθύμητων οσμών και γεύσεων
- Δυνατότητα ζύμωσης σε μεγάλη ποσότητα αλκοόλης

Στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης τα ζυμώσιμα σάκχαρα γίνονται αιθυλική αλκοόλη. Σε αυτή τη φάση, η συγκέντρωση της αιθανόλης είναι 12-15% (v/v) (Belitzetal., 2006). Το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης καθορίζεται με βάση τα παρακάτω:

- **Μετρώντας τα ανάγοντα σάκχαρα, τα οποία αποτελούν την πλειονότητα των σακχάρων του οίνου.** Για τους ερυθρούς οίνους όταν το ποσοστό των σακχάρων είναι χαμηλότερο από 2g/l και 1,5g/l για τους λευκούς, τότε το γλεύκος έχει αποζυμώσει. Όταν μιλάμε για ποσοστό 0-15g/l εναπομείναντων σακχάρων τότε συνήθως ξεκινάει ξανά η ζύμωση της άνοιξη. Δε ζυμώνονται σάκχαρα που είναι σε μικρότερα ποσοστά από 2g/l και αναφέρονται ως υπολειπόμενα σάκχαρα. Αυτά είναι η αραβινόζη (0,26-1,65 g/l) και η ξυλόζη (0,4g/l)
- **Σύγκριση του ειδικού βάρους του γλεύκους που ζύμωσε με βάση τον υπολογιζόμενο αλκοολικό βαθμό.** Το ειδικό βάρος των ξηρών οίνων αφού σταματήσει η ζύμωση είναι πιο μικρό από 0,998 (Τσέτουρας, 2003).

## **Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup> : Οργανοληπτική αξιολόγηση των οίνων**

### **3.1 Γευσιγνωσία**

Η γευσιγνωσία είναι ουσιαστικά μία μέθοδος αξιολόγησης των οίνων. Με τον όρο γευσιγνωσία δεν εννοούμε μόνο την αξιολόγηση της γεύσης, αλλά και της οσμής όπως και της όψης του οίνου.

#### **3.1.1 Οπτικός έλεγχος**

Όταν πραγματοποιείται οπτικός έλεγχος σε έναν οίνο, κυρίως αξιολογείται το χρώμα του. Πιο συγκεκριμένα, η ένταση του χρώματος, η απόχρωση του χρώματος και η διαύγειά του. Για κάθε τύπο οίνου (Λευκό, Ροζέ και Ερυθρό) υπάρχουν χαρακτηριστικές αποχρώσεις που μας βοηθούν στο να αξιολογήσουμε έναν οίνο.

Οι λευκοί οίνοι που έχουν «ανοιχτή» απόχρωση, συνήθως υποδηλώνουν απαλή γεύση χωρίς ένταση και ελαφρύ σώμα. Αντιθέτως, ένας λευκός οίνος σε κίτρινη απόχρωση, δείχνει γεμάτο σώμα. Στον αντίποδα, οι ανοιχτόχρωμοι ερυθροί οίνοι δείχνουν φρεσκάδα και έντονα αρώματα. Στον οπτικό έλεγχο επίσης συμπεριλαμβάνονται και τα θολώματα του οίνου, τα οποία μπορούμε να παρατηρήσουμε στα τοιχώματα του ποτηριού καθώς και στη στεφάνη του.

#### **3.1.2 Άρωμα**

Για να μελετήσουμε το άρωμα ενός οίνου, χρειαζόμαστε ειδικά ποτήρια τα οποία μας βοηθούν στο να μπορέσουμε να αντιληφθούμε το συνολικό αρωματικό προφίλ ενός οίνου.

Τα αρώματα του οίνου οφείλονται στις πτητικές αρωματικές του ενώσεις οι οποίες οφείλονται στο σύνολο των καλλιεργητικών συνθηκών-πρακτικών όπως και στις συνθήκες οινοποίησης. Βασικότερη εξ αυτών είναι η ποικιλία του αμπελιού.

Τα κυριότερα αρώματα που μπορούμε να διακρίνουμε στους οίνους είναι αυτά των φρούτων, των λουλουδιών και ορισμένων μπαχαρικών. Οι ερυθρές ποικιλίες



συνήθως προσφέρουν αρώματα κόκκινων φρούτων, ενώ οι λευκές ποικιλίες τείνουν να έχουν αρώματα εσπεριδοειδών και λουλουδιών.

### **3.1.3 Γεύση**

Η αξιολόγηση της γεύσης είναι το τελικό (και σημαντικότερο) κριτήριο της γευσιγνωσίας των οίνων. Για να αξιολογήσουμε τη γεύση ενός οίνου, θα πρέπει να διατηρήσουμε μία μικρή ποσότητα οίνου στο στόμα μας και να την περιστρέψουμε σε κάθε περιοχή της στοματικής μας κοιλότητας, καθώς έτσι θα μπορέσουμε να αντιληφθούμε τις διαφορετικές γεύσεις.

## **Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup> :Η σημασία του γεωγραφικού προσδιορισμού-Η ταυτότητα των τροφίμων και η νοθεία**

Σήμερα, οι καταναλωτές έχουν αυξημένες ανάγκες όσον αφορά στο να γνωρίζουν την προέλευση, τον τρόπο παραγωγής, συσκευασίας και διανομής ενός τροφίμου. Εδώ πρέπει να αναφερθεί πως υπάρχουν δύο όροι, που περιγράφουν αυτά που αναφέρθηκαν παραπάνω. Αυτοί οι όροι είναι το «authenticity» (ελλ. «αυθεντικότητα») και το «traceability» (ελλ. «ιχνηλασιμότητα») (Kamiloglu, 2018). Ο όρος «αυθεντικότητα», αναφέρεται στην ορθή παρουσίαση των χαρακτηριστικών ενός τροφίμου και συνήθως συνοδεύεται από μία μορφή πιστοποίησης. Από την άλλη πλευρά, η ιχνηλασιμότητα ενός τροφίμου περιλαμβάνει την καταγραφή της διαδικασίας από την παραγωγή έως και το ράφι.

Στην Ευρώπη, η προέλευση (origin) ενός τροφίμου είναι ένας από τους σημαντικότερους δείκτες αυθεντικότητας. Ήδη από το 1992 (Ε.Ε.Κ 2081/91), η Ευρώπη έχει θεσπίσει ειδική νομοθεσία η οποία αντιστοιχεί ορισμένα τρόφιμα και ποτά με συγκεκριμένες περιοχές παραγωγής. Πιο συγκεκριμένα, αυτές οι νομοθεσίες έχουν εισάγει την έννοια των Π.Ο.Π (Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης) τροφίμων & Ποτών, των Π.Γ.Ε (Προστασία Γεωγραφικής Ένδειξης) τροφίμων & ποτών και τέλος τα Ε.Π.Ι.Π (Εγγυημένα Παραδοσιακά Ιδιότυπα Προϊόντα) τρόφιμα & ποτά

Στην περίπτωση του οίνου, η αυθεντικότητα (και η αξία του παραγόμενου προϊόντος), είναι συνδεδεμένα με την ποικιλία, τη γεωγραφική περιοχή παραγωγής και το vintage<sup>1</sup>. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η Ευρώπη προστατεύει τους οίνους με πολύ αυστηρές προδιαγραφές παραγωγής που συνοψίζονται και αναφέρονται εκτενώς στις προδιαγραφές Π.Ο.Π για τον εκάστοτε οίνο (Kamiloglu, 2019). Κάθε οίνος Π.Ο.Π, θα πρέπει να παράγεται με χρήση συγκεκριμένων ποικιλιών, οι οποίες έχουν καλλιεργηθεί με συγκεκριμένες πρακτικές και έχουν οινοποιηθεί με αυστηρά πρότυπα.

### **4.1 Τοπικό ανάγλυφο και οίνος**

---

<sup>1</sup> Η χρονιά συγκομιδής των σταφυλιών

Με τον όρο «terroir», εννοούμε όλους εκείνους τους όρους που περικλείουν την ιδιαίτερη ταυτότητα μιας περιοχής. Αυτοί είναι οι εδαφοκλιματικές συνθήκες και το ανάγλυφο (Brillante et al., 2020). Η ωριμότητα των σταφυλιών επηρεάζεται από το κλίμα, ενώ παράλληλα οι οργανοληπτικές διαφορές μεταξύ των οίνων που παράγονται στο ίδιο κλίμα επηρεάζονται από την γεωμορφολογία (Jones, 2018).

Έχει διαπιστωθεί πως ανάλογα την ποικιλίας και το κλίμα της περιοχής παράγονται οίνοι με διαφορετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Οι ποικιλίες ανάλογα με την δυνατότητα ωρίμανσης χωρίζονται σε πρώιμες, ενδιάμεσες και όψιμες. Οι πρώιμες ποικιλίες προτιμούν δροσερό κλίμα ενώ οι όψιμες πιο θερμό. Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες σε θερμό κλίμα παράγουν οίνους με ήπια οξύτητα, υψηλό αλκοολικό βαθμό, έντονα αρώματα και γεύσεις και γεμάτο σώμα. Αντίθετα ποικιλίες που απαιτούν δροσερό κλίμα δημιουργούν οίνους με υψηλή οξύτητα, χαμηλό αλκοολικό βαθμό, έντονα αρώματα και χρώμα (Jones, 2018).

Φυσικά, άλλος ένας παράγοντας που επηρεάζει θετικά τα χαρακτηριστικά του παραγόμενου οίνου, είναι και η διαθεσιμότητα νερού στο αμπέλι. Ο χρόνος και η ένταση της έλλειψης του νερού επηρεάζει σημαντικά τα αρώματα, το χρώμα, την γεύση καθώς και την χημική σύσταση του οίνου που πρόκειται να παραχθεί (Santos et al., 2020).

Γενικά, η σύσταση του εδάφους, η ύπαρξη ή όχι ανθρακικού ασβεστίου, η περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά συνδυαστικά με την ικανότητα στράγγισης του εδάφους και την διαθεσιμότητα του νερού μπορούν να διαμορφώσουν την ποιότητα και το προφίλ των οίνων (Koundouras, 2018).

Τέλος, υπάρχει μία διαφωνία μεταξύ οινόφιλων για το αν το «terroir» μπορεί να επηρεάσει το προφίλ των οίνων. Κάποιοι υποστηρίζουν πως η «μεταλλικότητα» που μπορεί να αντιληφθούν κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο του οίνου προέρχεται από το έδαφος. Άλλοι υποστηρίζουν πως αφού τα περισσότερα ορυκτά είναι αδιάλυτα και δεν απορροφούνται από τις ρίζες των αμπελιών, η «μεταλλικότητα» που γεύονται θεωρούν πως προέρχεται από κάποιες πτητικές ενώσεις στον οίνο (πχ. Βενζολομεθανοθειόλη) (Koundouras, 2018).

## 4.2 Οίνοι Π.Ο.Π & Οίνοι Π.Γ.Ε

Ήδη από τη δεκαετία του '90 υπάρχουν οι πρώτες νομοθετικές ρυθμίσεις από την Ε.Ε, με σκοπό την προφύλαξη της γεωγραφικής ένδειξης καθώς και των ονομασιών προέλευσης (ΕΟΚ 2081/92). Σύμφωνα με τον κανονισμό 2081/92 ο οποίος καταργήθηκε το 2006 και αντικαταστάθηκε από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 510/2006. Στις μέρες μας ισχύει ο κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1151/2012 από το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και το Συμβούλιο, που αφορά τα ποιοτικά συστήματα των προϊόντων γεωργίας και των τροφίμων. Η τελευταία τροποποίηση έγινε στις 6.12.2021. Με βάση το άρθρο 5 του κανονισμού (ΕΕ) 1151/2012, οι χαρακτηρισμοί «ονομασία προέλευσης» και «γεωγραφική ένδειξη» μπορούν να χρησιμοποιηθούν όταν πληρούνται συγκεκριμένες προδιαγραφές και αποτελούν ενδείξεις ποιότητας. Δηλαδή (Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1151/2012): “Ως «ονομασία προέλευσης» νοείται η ονομασία, η οποία μπορεί να είναι μία παραδοσιακά χρησιμοποιούμενη ονομασία, που ταυτοποιεί ένα προϊόν:

- η καλλιέργεια και η παραγωγή του γίνεται σε συγκεκριμένο τόπο, περιοχή ή, σε εξαιρετικές περιπτώσεις, χώρα·
- η ποιότητα ή τα χαρακτηριστικά του οφείλονται κυρίως ή αποκλειστικά στο ιδιαίτερο γεωγραφικό περιβάλλον
- του οποίου όλα τα στάδια παραγωγής εκτελούνται εντός της οριοθετημένης γεωγραφικής περιοχής.”

“Ως «γεωγραφική ένδειξη» νοείται η ονομασία, συμπεριλαμβανομένης της παραδοσιακά χρησιμοποιούμενης ονομασίας, που ταυτοποιεί ένα προϊόν:

- καταγόμενο σε συγκεκριμένο τόπο, περιοχή ή χώρα·
- ένα συγκεκριμένο ποιοτικό χαρακτηριστικό μπορεί να αποδοθεί κατά κύριο λόγο στη γεωγραφική του προέλευση
- του οποίου ένα τουλάχιστον από τα στάδια της παραγωγής εκτελείται σε συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή.”

Στην Ελλάδα οι ζώνες παραγωγής οίνων Π.Ο.Π που έχουν αναγνωριστεί είναι 33 ενώ οι οίνοι Π.Γ.Ε είναι 120. Για να καταχωρηθεί ένας οίνος στις κατηγορίες Π.Ο.Π ή Π.Γ.Ε πρέπει να τηρούνται συγκεκριμένες προδιαγραφές και τα γεωγραφικά όρια απ' όπου καλλιεργείται το σταφύλι να είναι ακριβής, όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Επίσης, σύμφωνα με τη νέα ευρωπαϊκή οινική νομοθεσία οι τοπικοί οίνοι εντάσσονται στην κατηγορία των προϊόντων ΠΓΕ, όπως και οι οίνοι Ονομασίας κατά Παράδοση (Βερντέα και όσες Ρετσίνες έχουν γεωγραφικό προσδιορισμό).

#### **. Ελληνικοί Οίνοι ΠΟΠ (ΟΠΑΠ)**

**ΠΟΠ = Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης**  
**ΟΠΑΠ = Ονομασίας Προέλευσης Ανώτερης Ποιότητας**  
**PDO = Protected Designation of Origin**



Σήμα Προϊόντων ΠΟΠ – PDO

#### **Ελληνικοί Οίνοι ΠΟΠ ΠΡΩΗΝ (ΟΠΕ)**

**ΠΟΠ = Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης**  
**ΟΠΕ = Ονομασίας Προέλευσης Ελεγχόμενης**  
**PDO = Protected Designation of Origin**



Σήμα Προϊόντων ΠΟΠ – PDO

#### **Ελληνικοί Οίνοι ΠΓΕ (Τοπικοί Οίνοι)**

**ΠΓΕ = Προστατευόμενη Γεωγραφική Ένδειξη**  
**PGI = Protected Geographical Indication**



Σήμα Προϊόντων ΠΓΕ - PGI

Εικόνα 2 Τα ευρωπαϊκά εμπορικά σήματα κατοχύρωσης της γεωγραφικής προέλευσης

#### 4.2.1 Οίνοι Ονομασίας Προέλευσης –Π.Ο.Π

Οι οίνοι ονομασίας προέλευσης (Π.Ο.Π) στην Ελλάδα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, στους οίνους με ένδειξη ονομασίας προέλευσης ανωτέρας ποιότητας (Ο.Π.Α.Π.) και στους οίνους με ένδειξη ονομασία προέλευσης ελεγχόμενη (Ο.Π.Ε.). Όταν πληρούνται οι μέθοδοι οινοποίησης, η ζώνη παραγωγής του κρασιού, η στρεμματική απόδοση, η ποικιλιακή σύνθεση του αμπελώνα και ο ελάχιστος αλκοολικός τίτλος τότε αναγνωρίζεται το τοπωνύμιο ως εμπορικό όνομα των οίνων.

Οι περιοχές από τις οποίες προέρχονται οι ελληνικοί οίνοι έχουν ποιοτικό δυναμικό πολύ υψηλό και ως εκ τούτου, με βάση την ευρωπαϊκή νομοθεσία αναφέρονται ως Vin de Qualité Produit de Région Déterminée (Οίνοι ποιότητας παραγόμενος σε καθορισμένη περιοχή).

Οι οίνοι Ο.Π.Α.Π φέρουν στο φελλό κόκκινη ταινία αναγνώρισης ενώ οι οίνοι Ο.Π.Ε φέρουν ταινία μπλε χρώματος

Πίνακας 16 Οι οίνοι Π.Ο.Π της Ελλάδας

A/A	Π.Ο.Π	A.A	Π.Ο.Π	A.A	
1	Αγχίαλος	13	Μαυροδάφνη Πατρών	25	Πεζά
2	Αμύνταιο	14	Μεσενικόλα	26	Πλαγιές Μελιτώνα
3	Αρχάνες	15	Μαλβάζια Μονεμβάσια	27	Ραψάνη
4	Γουμένισσα	16	Μοσχάτος Κεφαλληνίας	28	Ρόδος
5	Δαφνές	17	Μοσχάτος Λήμνου	29	Ρομπόλα Κεφαλληνία ς

6	Ζίτσα	18	Μοσχάτος Πατρών	30	Σάμος
7	Λήμνος	19	Μοσχάτος Ρίου Πατρών	31	Σαντορίνη
8	Μαλβάζια Πάρος	20	Μοσχάτος Ρόδου	32	Σητεία
9	Μαλβάζια Σητείας	21	Νάουσα	33	Χάνδακας
10	Μαλβάζια Χάνδακας	22	Νεμέα		
11	Μαντίνεια	23	Πάρος		
12	Μαυροδάφνη Κεφαλληνίας	24	Πάτρα		

Πίνακας 17 Οι οίνοι Π.Γ.Ε της Ελλάδας

A/A	Π.Γ.Ε	A/A	Π.Γ.Ε/P.G.I
1	Άβδηρα	17	Δωδεκάνησος
2	Άγιο Όρος	18	Έβρος
3	Αγορά	19	Ελασσόνα
4	Αδριανή	20	Επανομή
5	Αιγαίο Πέλαγος	21	Εύβοια
6	Ανάβυσσος	22	Ζάκυνθος
7	Αργολίδα	23	Ηλεία
8	Αρκαδία	24	Ημαθία
9	Αττική	25	Ήπειρος
10	Αχαΐα	26	Ηράκλειο
11	Βελβεντό	27	Θάσος
12	Βερντέα (Ζάκυνθος)	28	Θραγανά
13	Βιλίτσα	29	Θεσσαλία
14	Γεράνεια	30	Θεσσαλονίκη
15	Γρεβενά	31	Θήβα



16	Δράμα	32	Θράκη
33	Ικαρία	50	Κρήτη
34	Ίλιον	51	Κυκλάδες
35	Ίσμαρος	52	Κως
36	Ιωάννινα	53	Λακωνία
37	Καβάλα	54	Λασιθι
38	Καρδίτσα	55	Λέσβος
39	Κάρυστος	56	Λετρίνοι
40	Καστοριά	57	Λευκάδα
41	Κέρκυρα	58	Ληλάντιο Πεδίο
42	Κίσσαμος	59	Μαγνησία
43	Κλημεντί	60	Μακεδονία
44	Κοζάνη	61	Μαντζαβινάτα
45	ΚοιλιάδαΑταλάντης	62	Μαρκόπουλο
46	Κορινθία	63	Μαρτίνο
47	Κορωπί	64	Μεσσηνία
48	Κρασιά	65	Μεταξάτα

49	Κρανώνα	66	Μετέωρα
67	Μέτσοβο	84	Πλαγιές Πάικου
68	Νέα Μεσημβρία	85	Πλαγιές Πάρνηθας
69	Οπούντια Λοκρίδας	86	Πλαγιές Πεντελικού
70	Παγγαίο	87	Πλαγιές Πετρωτού
71	Παιανία	88	Πυλία
72	Παλλήνη	89	Ρέθυμνο
73	Παρνασσός	90	Ρετσίνα Αττικής
74	Πέλλα	91	Ρετσίνα Βοιωτίας
75	Πελοπόννησος	92	Ρετσίνα Εύβοιας
76	Πιερία	93	Ρετσίνα Γιάλτρων
77	Πισάτις	94	Ρετσίνα Θηβών
78	Πλάγιες Αιγιαλείας	95	Ρετσίνα Καρύστου
79	Πλαγιές Αίνου	96	Ρετσίνα Κορωπίου
80	Πλαγιές Αμπέλου	97	Ρετσίνα Μαρκόπουλο
81	Πλαγιές Βερτίσκου	98	Ρετσίνα Μεγάρων
82	Πλαγιές Κιθαιρώνα	99	Ρετσίνα Μεσογίων

83	Πλαγιές Κνημίδας	100	Ρετσίνα Παιανίας
101	Ρετσίνα Παλλήνης	111	Σύρος
102	Ρετσίνα Πικερμίου	112	Τεγέα
103	Ρετσίνα Σπάτων	113	Τριφυλία
104	Ρετσίνα Χαλκίδας	114	Τύρναβος
105	Ριτσώνα	115	Φθιώτιδα
106	Σέρρες	116	Φλώρινα
107	Σιάτιστα/	117	Χαλκίδα
108	Σιθωνία	118	Χαλκιδική
109	Σπάτα	119	Χανιά
110	Στερεά Ελλάδα	120	Χίος

### 4.3 Οι νοθείες στον οίνο

Ως νοθεία (adulteration) στα τρόφιμα, ορίζουμε την προσθήκη ουσιών που είτε απαγορεύονται είτε που επιτρέπονται για να προσδώσουν διαφορετικό χαρακτήρα στο εκάστοτε τρόφιμο. Οι νοθείες μπορεί να έχουν επίδραση στην υγεία του καταναλωτή είτε να τον ζημιώσουν οικονομικά καθώς παρουσιάζουν ψευδή στοιχεία με σκοπό το κέρδος. Ένα τρόφιμο είναι νοθευμένο όταν η σύστασή του δεν ταυτίζεται με τα στοιχεία που παρουσιάζονται στην ετικέτα (EC No 178/2002).

Σε σχέση με τον οίνο, η μελέτη και η ταυτοποίηση της αυθεντικότητάς του είναι πολύ σημαντική, καθώς ο οίνος εξάγεται σε όλο τον κόσμο και αποτελεί το κορυφαίο γεωργικό προϊόν της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Ο οίνος αποτελεί ένα από τα πιο εύκολα τρόφιμα ως προς το να νοθευτούν, κάτι το οποίο αποτελεί μια ευρέως διαδεδομένη πρακτική (Moret et al., 1994).

Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή συντάσσει κάποιες μηνιαίες εκθέσεις που αφορούν την οινική βιομηχανία της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Σε αυτές τις μελέτες καταγράφηκαν απάτες υψηλότερες του 1.200.000 ευρώ σε αξία και υψηλότερες των 1.000.000 λίτρων οίνου, οι οποίες έχουν πραγματοποιηθεί το τελευταίο εξάμηνο του 2020.

Δεδομένου ότι η νοθεία του οίνου είναι ένα επίκαιρο και κοινό πρόβλημα, είναι σημαντικό να μελετηθεί η χημική σύσταση του οίνου για να συσχετιστεί με την κάθε είδους νοθεία του προϊόντος (είτε αραιώση οίνου με νερό, είτε προσθήκη αλκοόλης, είτε χρήση ουσιών για ενίσχυση χρώματος ή γεύσης, ψευδή δήλωση στοιχείων ετικέτες κ.λπ.) (Holmberg, 2010). Οι μέθοδοι νοθείας παρουσιάζονται παρακάτω.

#### 4.3.1 Τρόποι νόθευσης του οίνου

Από την εμφάνιση της οινοποίησης, παράλληλα αναπτύχθηκε και η νοθεία του οίνου. Ήδη από τον 4<sup>ο</sup> π.Χ, οι Έλληνες νομοθέτησαν για την πρόληψη της νοθείας του οίνου. Οι πιο συνηθισμένες «τεχνικές» νόθευσης περιγράφονται συνοπτικά παρακάτω (Καραδήμα Χ., Άγνωστο έτος).

Ο πιο σύνηθες τρόπος νοθείας που συναντάται και στον οίνο είναι η παραπλανητική επισήμανση. Πιο συγκεκριμένα παρατηρείται καταγραφή ψευδών

στοιχείων στην ετικέτα που αφορά την ποικιλία, τη χρονιά παραγωγής, τη γεωγραφική προέλευση (Holmberg, 2010; Kamiloglu, 2019; Everstine *et al.*, 2013).

Άλλοι τρόποι νόθευσης του οίνου είναι: 1) η αραίωση με νερό, 2) η ανάμιξη οίνων ή υποκατάσταση οίνου υψηλής ποιότητας με οίνο χαμηλότερης ίδιας ή διαφορετικής περιοχής και 3) προσθήκη απαγορευμένων ουσιών (Anastasiadi *et al.*, 2009; Kamiloglu, 2019; Geana *et al.*, 2016; Holmberg, 2010).

Η προσθήκη ουσιών φέρει ως αποτέλεσμα την αύξηση της φαινομενικής ποιότητας δηλαδή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, καθώς και την αύξηση της περιεκτικότητας σε αιθανόλη αφού με αυτό τον τρόπο αυξάνεται η τιμή του προϊόντος (Ravindran *et al.*, 2018; Dordevic *et al.*, 2013). Οι ουσίες αυτές είτε είναι τεχνητές γλυκαντικές (γλυκερίνη, αιθανόλη), είτε φυσικές, είτε τεχνητές ουσίες (αρωματικές και χρωστικές) (Geana *et al.*, 2016; Kamiloglu, 2019; Anastasiadi *et al.*, 2009; Hong *et al.*, 2017; Ravindran *et al.*, 2018; Csapó and Albert, 2018; Everstine *et al.*, 2013).

Γενικά, η νομοθεσία που αφορά την νόθευση του οίνου διαφέρει μεταξύ των χωρών και αλλάζει ανάλογα το είδος του οίνου και την περιοχή που παράγεται. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η προσθήκη συγκεκριμένων ουσιών, είτε νερού είτε φυσικών γλυκαντικών, στην οινοποίηση να επιτρέπεται σε καθορισμένα όρια σε ορισμένες χώρες ενώ παράλληλα στις υπόλοιπες χώρες αυτή η προσθήκη να θεωρείται νοθεία (Canizo *et al.*, 2019; Csapó and Albert, 2018; Geana *et al.*, 2016; Kamiloglu, 2019; Dordevic *et al.*, 2013).

### **4.3.2 Μέθοδοι Προσδιορισμού της Νοθείας του οίνου**

#### **4.3.2.1 Γενικά στοιχεία**

Για τον προσδιορισμό της νοθείας και της εκτίμησης της αυθεντικότητας αναλύονται ειδικές ενώσεις και δείκτες οι οποίες είναι ενδεικτικές για κάποιες οινολογικές παραμέτρους. Για να πραγματοποιηθεί αυτό εξετάζονται και διάφοροι παράγοντες όπως η χημική σύνθεση του οίνου, η γεωγραφική του προέλευση, η χρονιά και η μέθοδος οινοποίησης καθώς και η παλαιώση.

Όσες ενώσεις παρουσιάζονται στη βιβλιογραφία σαν δείκτες, είναι φαινολικές ενώσεις (φλαβονοειδή, ανθοκυανίνες), ελεύθερα αμινοξέα και διάφορες πτητικές ενώσεις. Επίσης, σαν δείκτες χρησιμοποιούνται κάποια ιχνοστοιχεία και μέταλλα (Κ,

Na, Ca, Mg, Br, Fe, Co, Zn, Cr, Mn, Rb, Cu) και η αναλογία σταθερών ισοτόπων, κυρίως ατόμων H, C και O (Geana et al., 2016; Canizo et al., 2019; Hong et al., 2017; Csapó and Albert, 2018; Kallithraka et al., 2001; Dordevic et al., 2013).

Οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση δεικτών, διαφέρουν ως προς τον βαθμό ειδικότητας και ευαισθησίας, όπως είναι οι MS, φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης και εκπομπής, HPLC, GC, φασματοσκοπία UV-VIS, NIR, MIR και Raman και η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) (Anastasiadi et al., 2009; Csapó and Albert, 2018; Pasvanka et al., 2019; Canizo et al., 2019). Τέλος, αποτελεσματική εκτίμηση της αυθεντικότητας του οίνου πραγματοποιείται όταν συνδυάζονται δεδομένα από αναλυτικές τεχνικές με χημειομετρική ανάλυση (Canizo et al., 2019; Sádecká et al., 2018; Kallithraka et al., 2001).

#### **4.3.2.2 Χρωματογραφικές Μέθοδοι**

Για τον καθορισμό όλων των προστιθέμενων μονοσακχαριτών και δισακχαριτών, των χρωστικών, της γλυκερίνης και των αρωματικών υλών, είναι κατάλληλες οι μέθοδοι HPLC. Επίσης, πολύ βασική χρήση των μεθόδων HPLC είναι ο καθορισμός της συγκέντρωσης του γλεύκους σταφυλιών σε σορβιτόλη. Ο οίνος έχει φυσικά ελάχιστη περιεκτικότητα σε σορβιτόλη (έως 80 mg/dm<sup>3</sup>), επομένως υψηλότερη περιεκτικότητα σορβιτόλης υποδηλώνει την προσθήκη χυμού άλλων φρούτων στο γλεύκος σταφυλιών (Csapó and Albert, 2018).

Επιπρόσθετα, με τη χρήση των μεθόδων RP HPLC και LC-MS μπορεί να γίνει ταυτοποίηση και προσδιορισμός της ποσότητας των φαινολικών ενώσεων, όπως είναι οι ανθοκυανίνες (Ferrari et al., 2011; Hong et al., 2017; Canizo et al., 2019). Όσον αφορά τις πτητικές ενώσεις, όπως τις αλδεΐδες, τις κετόνες, τις αλκοόλες και τα οργανικά οξέα για τον προσδιορισμό τους χρησιμοποιούνται οι τεχνικές GC.

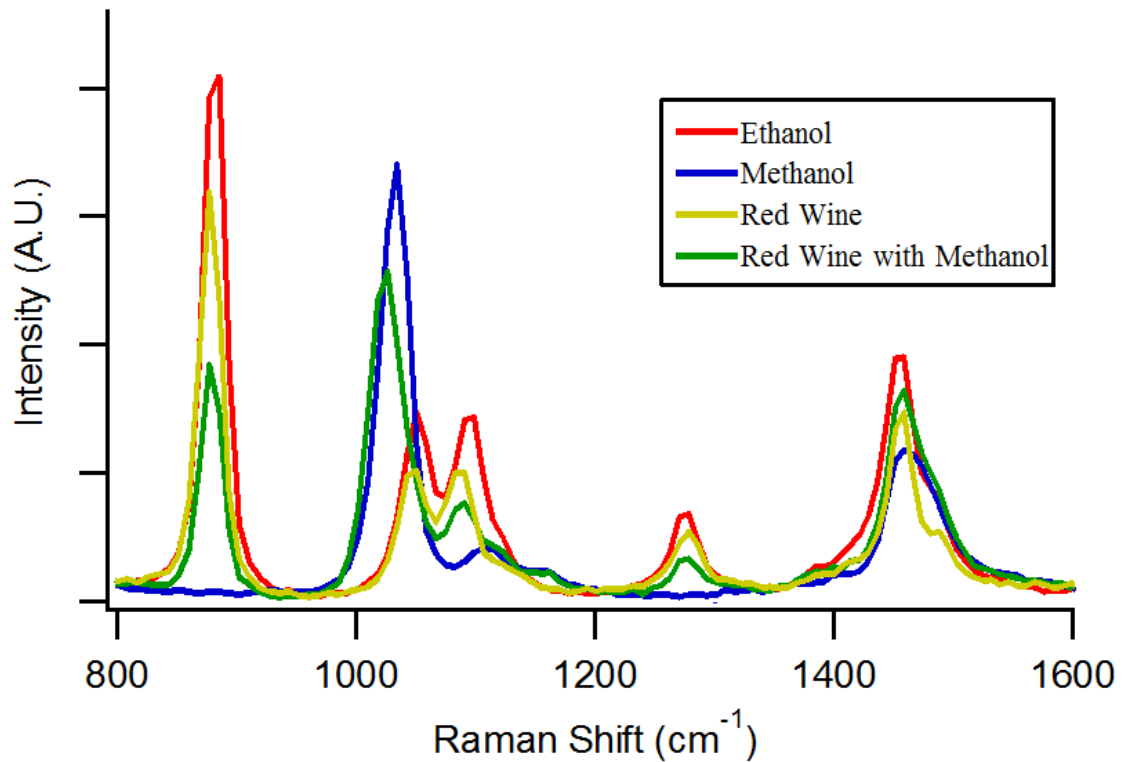
Πιο συγκεκριμένα, όταν έχει γίνει ανάμιξη οίνων, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο GC-MS, μπορούν να καθοριστούν οι συγκεκριμένες πτητικές ενώσεις από διάφορες ποικιλίες οίνων που καθορίζονται οι οίνοι που έχουν δημιουργηθεί από ανάμιξη διαφόρων ποικιλιών της *V. vinifera* (Csapó and Albert, 2018; Canizo et al., 2019).

#### 4.3.2.3 Φασματοσκοπικές Μέθοδοι

Οι τρόποι για τον προσδιορισμό της νοθείας στον οίνο που έχουν να κάνουν με τις φασματοσκοπικές τεχνικές έχουν πολλά θετικά, όπως είναι η μη καταστρεπτική ανάλυση μικρών ποσοτήτων δείγματος, ο σύντομος χρόνος που απαιτείται για την ανάλυση και το γεγονός ότι δεν αποτελούν δαπανηρές μέθοδοι (Canizo et al., 2019). Η φασματοσκοπία UV-VIS χρησιμοποιείται για την εκτίμηση του χρώματος του οίνου και είναι μια γρήγορη και έγκυρη τεχνική. Βασικότερα, όλη η συγκέντρωση των ανθοκυανινών, εκφρασμένη ως ισοδύναμα μαλβιδίνης, καθορίζεται με απορρόφηση στα 520 nm.

Ωστόσο, δεν μπορούν να προσδιοριστούν συγκεκριμένες ανθοκυανίνες που είναι βασικές για τον προσδιορισμό της πηγής τους (Canizo et al., 2019; Ferrari et al., 2011). Η φασματοσκοπία IR χρησιμοποιείται παντού σε καθημερινές αναλύσεις στο γλεύκος και στον οίνο, γιατί χρειάζεται μικρή προετοιμασία του δείγματος και δεν είναι χρονοβόρα, επίσης είναι οικονομική. Έρευνες έχουν δείξει ότι οι μέθοδοι IR έχουν να κάνουν πιο πολύ με την γεωγραφική προέλευση του οίνου και της ολικής συγκέντρωσης των ανθοκυανινών και κάποιων φαινολικών ενώσεων στο σταφύλι (Canizo et al., 2019; Ferrari et al., 2011).

Επίσης, οι μέθοδοι NIR και MIR είναι αρκετά υποσχόμενες όσον αφορά τον προσδιορισμό της σύστασης του οίνου και τη διάκριση βιολογικών και μη βιολογικών οίνων (Cozzolino et al., 2006; Holmberg, 2010). Ωστόσο, βασικό μειονέκτημα των μεθόδων IR είναι η χαμηλή ευαισθησία κατά τον προσδιορισμό ενώσεων σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Ferrari et al., 2011).



Εικόνα 3 Φάσματα Raman αιθανόλης, μεθανόλης, κόκκινου οίνου και κόκκινου οίνου με μεθανόλη, σε αντιπαραβολή (Qian *et al.*, 2013)

Με τη φασματοσκοπία NMR μπορεί να γίνει ανάλυση διαφορετικών παραμέτρων την ίδια στιγμή μέσω στοχευμένων και μη προσεγγίσεων. Επίσης, χρησιμοποιείται για τον καθορισμό της γεωγραφικής προέλευσης, το έτος παραγωγής και της ποικιλίας του οίνου (Hongetal., 2017; Anastasiadietal., 2009; Canizoetal., 2019; Kamiloglu, 2019). Από το 1990, η ανάλυση της αναλογίας σταθερών ισοτόπων (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C στην αιθανόλη και <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O στο νερό) με φασματοσκοπία NMR και με φασματομετρία μάζας αναλογίας ισοτόπων (Isotope Ratio Mass Spectrometry, IRMS) εφαρμόζεται ως η επίσημη μέθοδος ανάλυσης στους οίνους που παράγονται εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Αυτές οι τεχνικές καθορίζουν την προέλευση, το έτος παραγωγής και τη προσθήκη νερού και ζάχαρης στον οίνο, εξετάζοντας τα δεδομένα από το δείγμα με αυτά του αυθεντικού οίνου της ίδιας περιοχής με αυτό που εξετάζεται (Holmberg,2010; Dordevic et al., 2013; Kamiloglu, 2019; Geana et al., 2016). Επιπλέον, η φασματοσκοπία NMR είναι πολύ βασική όταν έχουμε να κάνουμε με νοθείες σε ερυθρούς οίνους με επιπλέον ανθοκυανίνες και τεχνητές αρωματικές ύλες (Canizo et al., 2019). Συγκριτικά με τις χρωματογραφικές μεθόδους, αυτές της φασματοσκοπίας NMR είναι λιγότερο ευαίσθητες. Ωστόσο είναι μη καταστροφικές,



πιο εύκολες και λιγότερο χρονοβόρες στην προετοιμασία του δείγματος. (Ferrari et al., 2011).

## **Κεφάλαιο 5<sup>ο</sup> : Ανασκόπηση των μεθόδων ταυτοποίησης της γεωγραφικής προέλευσης και της νοθείας στον οίνο**

Ύστερα από έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι οι οποίες στοχεύουν στην ταυτοποίηση της αυθεντικότητας των οίνων. Γενικά οι «νέες» και οι «παλιές» μέθοδοι παρόλο που έχουν τις ίδιες αρχές διαφέρουν, καθώς στις νέες μεθόδους παρατηρείται πως γίνεται συνδυασμός δύο ή περισσότερων «παλαιότερων» μεθόδων ανάλυσης, οι οποίες μπορούν να επιβεβαιώσουν ή να διαψεύσουν την προέλευση ενός οίνου, το έτος που παράχθηκε, την ποικιλία που προήλθε κ.λπ. (Arvanitoyannis, 2010).

Στις μέρες μας με την χρήση των αναλυτικών τεχνικών μπορεί να πραγματοποιηθεί ο ποιοτικός και ποσοτικός χαρακτηρισμός διαφόρων ενώσεων ενός οίνου όπως: πτητικές ενώσεις (με χρήση GS-MS), πολυφαινόλες (με χρήση HPLC), ορυκτά (με χρήση φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης: AAS — Φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης ή ICP-MS με (φασματομετρία μάζας-επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος) ή συνδυασμό αυτών. Σε κάποιες τελευταίες μελέτες έχει γίνει χρήση της FTIR καθώς και της NMR με σκοπό να ελεγχθεί η ποικιλία και η αυθεντικότητα του οίνου (Arvanitoyannis, 2010; Zoecklein et al., 1994)

Για να προσδιοριστεί η ποικιλία από την οποία προήλθε ένας οίνος, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι DNA, οι οποίες περιλαμβάνουν εξαγωγή DNA από μούστο ή οίνο με χρήση PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης) (Perez-Trujilloetal., 2003). Ακόμη, κάποιοι από τους οίνους της Ισπανίας (Κανάρια Νησιά) με την χρήση της τεχνικής CZE (ηλεκτροφόρηση τριχοειδούς ζώνης) έχουν προσδιοριστεί επιτυχώς (Pazoureketal., 2000).

Πίνακας 18 Συνοπτική παρουσίαση των υπό εξέταση παραμέτρων και των αντίστοιχων μεθόδων ανίχνευσης

Παράμετρος	Μέθοδος
Μεταλλικά στοιχεία	FES,AAS,AES, ICP-MS,SF-ICP-MS,ICP-OES,VIS,NIRS,FAAS
Φαινολικά συστατικά	HPLC, HPLC-DAD, HPLC-DAD-MS, HPLC-UV/Vis, HPLC-MS,HPLC-QToF-MS
Αρωματικά προφίλ	GC(SPI)-MS, DH-GC-MS, HS-SPME-GC-ToF-MS, SPME-GC-MS
Ισοτοπική Ανάλυση	SNIF-NMR, IRMS, Raman, Q-ICP-MS, MC-ICP-MS, qNMR
Μοριακές μέθοδοι	PCR, rt-PCR

### 5.1 Στοιχειακή ανάλυση ως μέθοδος γεωγραφικού προσδιορισμού

Μία από τις αναλύσεις που χρησιμοποιούνται συχνά για τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης του οίνου είναι με βάση την ανάλυση των ορυκτών στοιχείων.

Βέβαια σε πολλές περιπτώσεις γίνεται χρήση και άλλων μεθόδων προσδιορισμού (Galaninikolakaki et al., 2002; Frias, 2003). Με βάση την βιβλιογραφία, τα κυριότερα στοιχεία που χρησιμοποιούνται για να προσδιοριστεί η αυθεντικότητα ενός οίνου είναι τα: K, Na, Fe, Ca, Cu, Co, Sb, Cs, Cr, Mn, Al, Ba, Mg και Sr (Suhaj & Korenovska, 2005).

Σε πείραμα των Ha et al., (2021), εξετάστηκε η ανάλυση δεκαπέντε στοιχείων από εδάφη έξι περιοχών της Κίνας με ICP-MS. Στα δείγματα που συλλέχθηκαν έγινε ανάλυση με μονόδρομη διακύμανση (ANOVA) και πολλαπλές συγκρίσεις Duncan για να βρεθούν οι στοιχειακές συγκεντρώσεις.

Η συλλογή των δειγμάτων (έδαφος, σταφύλι, οίνος) έγινε από τις χαρακτηριστικές αμπελουργικές περιοχές της Κίνας. Πιο συγκεκριμένα το έτος συγκομιδής 2018 συλλέχθηκαν δείγματα από 6 περιοχές, την περιοχή της Εσωτερικής

Μογγολίας, η οποία είναι αυτόνομη, και από τρεις ακόμη επαρχίες τις Shaanxi, Shanxi και Henan.

Όσο αφορά τα δείγματα του εδάφους (n=30) προσδιορίστηκαν με ένα επαγωγικά συζευγμένο φασματόμετρο μάζας πλάσματος (ICP-MS). Με σκοπό την μείωση της επίδρασης της επιφανειακής μόλυνσης έγινε συλλογή 5 διαφορετικών δειγμάτων, 1,5kg το καθένα, από βάθος 10 έως 60cm, και 30cm γύρω από κάθε αμπέλι στον αμπελώνα. Τα δείγματα που έφτασαν στο εργαστήριο ομογενοποιήθηκαν, αφού πρώτα ξηράνθηκαν σε σταθερό βάρος.

Τα δεκαπέντε στοιχεία που προσδιορίστηκαν από τις έξι περιοχές που μελετήθηκαν, έδειξαν σημαντικές διαφορές ( $p < 0.05$ ) που σημαίνει πως το έδαφος κάθε περιοχής έχει ένα χαρακτηριστικό στοιχειακό προφίλ. Ο Fe ήταν το πιο συγκεντρωμένο από τα κύρια στοιχεία ενώ ακολουθούν τα K, Ca, Al, Na και Mg. Οι συγκεντρώσεις των δευτερευόντων στοιχείων και των ιχνοστοιχείων ήταν  $Mn > Sr > Zn > Rb > Li > Cu > Ba > Cs > Cd$  ενώ το Ba είχε μία ακραία τιμή (μέση τιμή 330 mg/kg).

Πίνακας 19 Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των στοιχείων των εδαφών (Πηγή: Haoetal., 2021)

Στοιχείο	Yangling	Bailuyuan	Heyang	Xiaxian	Minquan	Wuhai
<b>Fe</b>	330000 ± 1000	36000 ± 5600	17000 ± 2100	25000 ± 3300	8800 ± 2300	9300 ± 1600
<b>K</b>	28000 ± 1400	21000 ± 2600	15000 ± 2200	27000 ± 2400	26000 ± 3100	22000 ± 900
<b>Ca</b>	22000 ± 1200	17000 ± 2700	23000 ± 3500	26000 ± 5200	23000 ± 2800	23000 ± 3800
<b>Al</b>	12000 ± 6200	19000 ± 3000	5400 ± 1900	20000 ± 3600	15000 ± 1500	14000 ± 1400
<b>Na</b>	5300 ± 200	6600 ± 800	6400 ± 200	5900 ± 300	9200 ± 500	6700 ± 300
<b>Mg</b>	4700 ± 500	5800 ± 1400	300 ± 400	5100 ± 600	3200 ± 40	3400 ± 400
<b>Mn</b>	700 ± 29	800 ± 140	540 ± 18	560 ± 17	360 ± 38	330 ± 20
<b>Sr</b>	180 ± 11	73 ± 1.4	160 ± 3.2	210 ± 18	220 ± 20	160 ± 7.5
<b>Zn</b>	80 ± 3.0	62 ± 0.9	73 ± 2.4	72 ± 5.7	48 ± 3.2	46 ± 3.2
<b>Rb</b>	32 ± 17	6.4 ± 1.4	10 ± 3.6	65 ± 33	57 ± 3.4	57 ± 5.9
<b>Li</b>	24 ± 1.0	45 ± 1.7	34 ± 3.3	26 ± 1.0	15 ± 1.2	15 ± 1.5
<b>Cu</b>	29 ± 1.3	31 ± 0.9	25 ± 1.4	25 ± 2.5	13 ± 2.5	12 ± 1.2
<b>Ba</b>	6.1 ± 1.1	330 ± 12	8.7 ± 1.3	9.2 ± 4.8	8.2 ± 0.6	7.1 ± 0.9
<b>Cs</b>	6.6 ± 0.4	1.2 ± 0.3	4.0 ± 0.7	7.2 ± 1.8	2.9 ± 0.4	3.1 ± 0.4
<b>Cd</b>	0.34 ± 0.02	0.2 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.02

Δέκα στοιχεία (Na, Mg, K, Mn, Rb, Sr, Li, Cd, Cs και Ba) έδειξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των έξι περιοχών ( $p < 0,05$ ). Η σειρά συγκέντρωσης των κύριων στοιχείων ήταν  $K > Mg > Na$ . Όσον αφορά τα δευτερεύοντα και ιχνοστοιχεία, η συγκέντρωσή τους μειώθηκε με τη σειρά  $Rb > Sr > Mn > Ba > Li > Cs > Cd$ . Οι περιοχές συγκέντρωσης των Rb και Sr διέφεραν πολύ μεταξύ των έξι περιοχών.

Πίνακας 20 Οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις των σταφυλιών (Πηγή: Haoetal., 2021)

Στοιχείο	Yangling	Bailuyuan	Heyang	Xiaxian	Minquan	Wuhai
<b>Fe</b>	2700 ± 170	2700 ± 120	1900 ± 130	3000 ± 230	2500 ± 230	2500 ± 180
<b>K</b>	240 ± 93	150 ± 42	240 ± 83	220 ± 53	220 ± 85	23 ± 62
<b>Ca</b>	120 ± 41	110 ± 16	110 ± 25	180 ± 18	120 ± 28	130 ± 22
<b>Al</b>	3.3 ± 0.3	3.2 ± 0.5	3.8 ± 0.5	7.8 ± 2.0	13 ± 1.4	3.6 ± 0.3
<b>Na</b>	6.9 ± 1.8	6.3 ± 4.5	6.7 ± 1.4	6.3 ± 0.6	6.2 ± 1.0	5.2 ± 0.9
<b>Mg</b>	6.0 ± 0.9	7.3 ± 0.4	4.3 ± 0.4	4.2 ± 0.7	3.9 ± 1.5	1.0 ± 0.4
<b>Mn</b>	2.6 ± 0.2	1.9 ± 0.3	3.3 ± 3.2	4.5 ± 2.7	2.5 ± 0.8	1.7 ± 0.3
<b>Sr</b>	1.5 ± 0.3	0.4 ± 0.04	1.2 ± 0.2	7.0 ± 1.4	1.7 ± 0.7	3.0 ± 0.7
<b>Zn</b>	1.8 ± 0.4	0.9 ± 0.2	1.7 ± 0.5	2.7 ± 0.4	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.2
<b>Rb</b>	1.3 ± 0.2	1.5 ± 0.5	1.5 ± 0.4	1.8 ± 0.4	1.4 ± 0.2	1.2 ± 0.3
<b>Li</b>	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.7 ± 0.6	1.6 ± 0.3	1.5 ± 0.1	1.3 ± 0.5
<b>Cu</b>	300 ± 120	100 ± 22	180 ± 31	380 ± 110	380 ± 180	260 ± 23
<b>Ba</b>	6.5 ± 0.8	3.6 ± 0.4	6.8 ± 0.5	12 ± 2.3	11 ± 1.9	23 ± 2.1
<b>Cs</b>	10 ± 1.1	12 ± 0.5	19 ± 1.0	9.6 ± 2.8	11 ± 5.8	2.5 ± 1.3
<b>Cd</b>	1.7 ± 0.4	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.3	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.0

Πίνακας 21 Οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις των στοιχείων των οίνων (Πηγή: Haoetal., 2021)

Στοιχείο	Yangling	Bailuyuan	Heyang	Xiaxian	Minquan	Wuhai
<b>Fe</b>	3100 ± 16	2700 ± 28	1900 ± 3.0	4000 ± 5.3	3000 ± 21	2100 ± 2.4
<b>K</b>	180 ± 1.9	150 ± 0.9	170 ± 0.8	250 ± 2.2	200 ± 0.9	180 ± 0.5
<b>Ca</b>	120 ± 1.0	92 ± 1.7	120 ± 16	72 ± 1.4	110 ± 0.4	88 ± 0.2

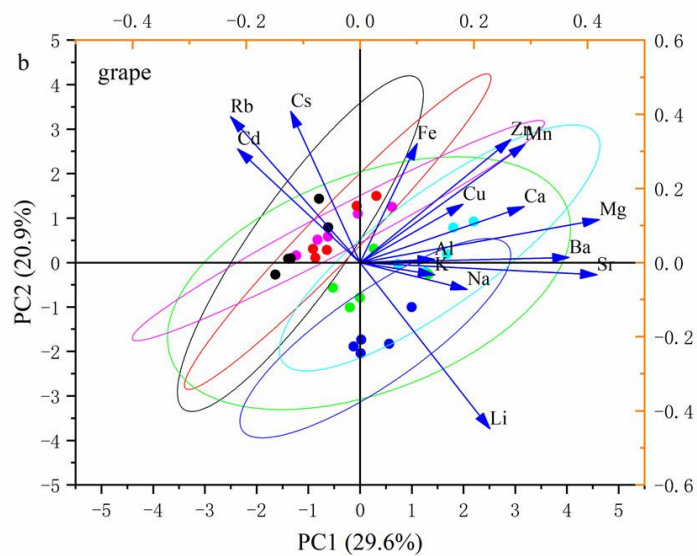
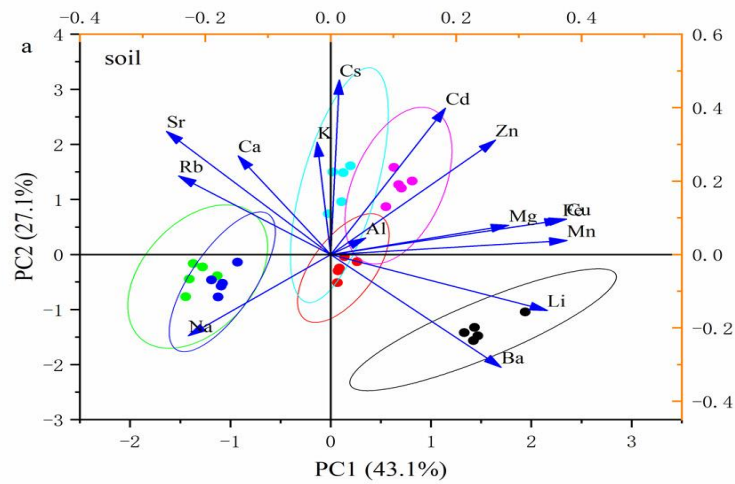
<b>Al</b>	6.2 ± 0.0	6.9 ± 0.1	5.8 ± 0.0	18 ± 0.2	20 ± 0.1	7.4 ± 0.1
<b>Na</b>	4.9 ± 0.0	4.7 ± 0.1	2.6 ± 0.0	3.4 ± 0.0	2.4 ± 0.0	0.7 ± 0.0
<b>Mg</b>	2.0 ± 0.0	1.1 ± 0.3	2.0 ± 0.0	2.2 ± 0.2	1.6 ± 0.0	1.6 ± 0.0
<b>Mn</b>	1.4 ± 0.0	0.71 ± 0.01	1.5 ± 0.0	2.1 ± 0.1	1.3 ± 0.0	0.98 ± 0.01
<b>Sr</b>	0.063 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.55 ± 0.0	1.9 ± 0.02	0.84 ± 0.01	1.2 ± 0.01
<b>Zn</b>	0.95 ± 0.05	0.57 ± 0.01	0.92 ± 0.01	1.4 ± 0.01	0.61 ± 0.01	0.52 ± 0.01
<b>Rb</b>	0.36 ± 0.01	0.38 ± 0.09	0.45 ± 0.05	0.73 ± 0.27	0.48 ± 0.01	0.52 ± 0.22
<b>Li</b>	0.22 ± 0.0	0.35 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.21 ± 0.0	0.24 ± 0.01
<b>Cu</b>	120 ± 0.6	70 ± 1.0	85 ± 0.4	110 ± 0.2	150 ± 1.0	110 ± 0.9
<b>Ba</b>	7.2 ± 0.1	2.7 ± 0.1	6.5 ± 0.1	19 ± 0.1	17 ± 0.2	25 ± 0.3
<b>Cs</b>	12 ± 0.5	11 ± 0.1	17 ± 0.1	7.8 ± 0.1	8.3 ± 0.0	2.3 ± 0.0
<b>Cd</b>	0.36 ± 0.05	0.56 ± 0.03	0.45 ± 0.03	0.56 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.14 ± 0.03

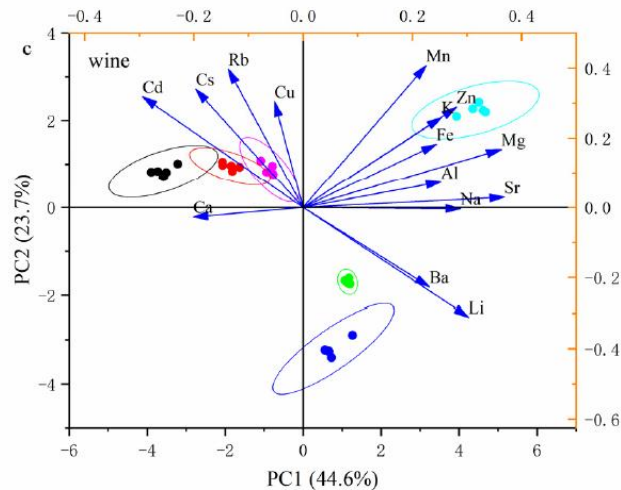
Όπως παρατηρήθηκε, το K ήταν το στοιχείο με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μεταξύ των κύριων στοιχείων, ακολουθούμενο από το Mg και το Ca, ενώ το Na παρουσίασε τη χαμηλότερη συγκέντρωση. Όσον αφορά τα δευτερεύοντα και ιχνοστοιχεία, η περιεκτικότητα στους οίνους που μελετήθηκαν μειώθηκε με σειρά Rb > Fe > Zn > Sr > Mn > Al > Cu > Ba > Li > Cs > Cd



Η PCA πραγματοποιήθηκε με δεκαπέντε στοιχεία για να απεικονιστεί η κατανομή του δείγματος σύμφωνα με τη γεωγραφική προέλευση. Η χρήση της μεθόδου PCA έδειξε πως μπορεί να διακριθεί πλήρως ο οίνος έξι περιοχών, να διαφοροποιηθεί εν μέρει το έδαφος, ενώ παράλληλα η διάκριση των δειγμάτων σταφυλιών δεν είναι εφικτή.

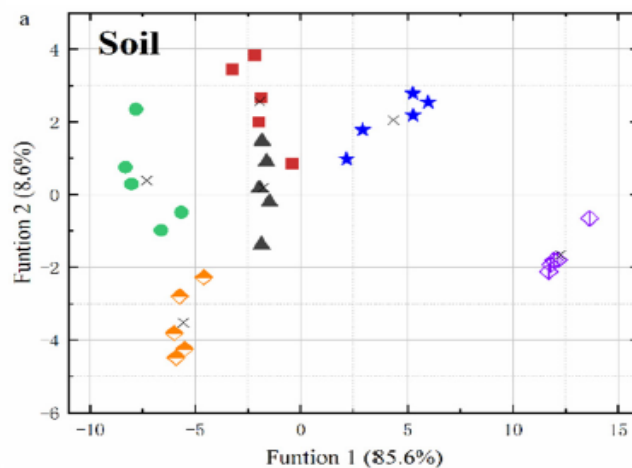
Αξίζει να σημειωθεί, πως πολλά από τα χαρακτηριστικά στοιχεία που λαμβάνονται χρησιμοποιώντας την PCA, έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση του κόστους και την μείωση της αποτελεσματικότητας της ιχνηλασιμότητας της προέλευσης. Η χρήση και ο συνδυασμός της ανάλυσης συσχέτισης και του LDA έφερε ως αποτέλεσμα τη λήψη λιγότερων στοιχείων που στοχεύουν στην αναγνώριση της προέλευσης.

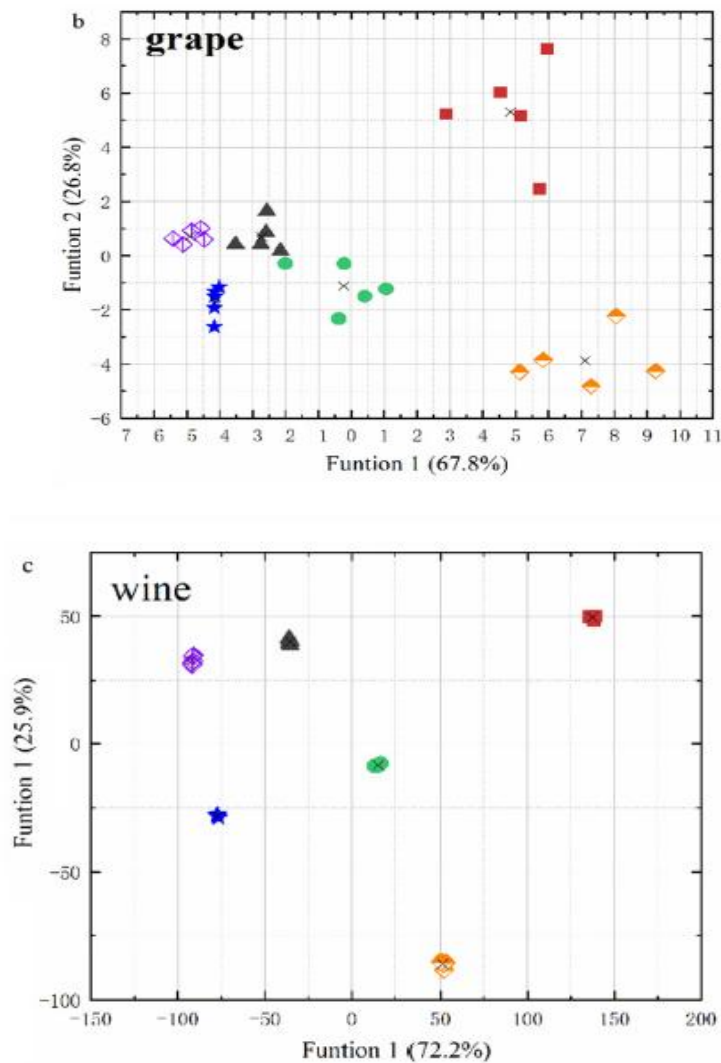




Εικόνα 4 Τα αποτελέσματα της PCA για τα στοιχεία του εδάφους (α), των σταφυλιών (β) και των οίνων (γ)

Τα στοιχεία K και Li παρουσίασαν μία αλληλεξάρτηση τόσο μεταξύ των καρπών των σταφυλιών και του οίνου όσο και μεταξύ των εδαφών και των καρπών των σταφυλιών. Με την χρήση της ανάλυσης LDA η διάκριση μεταξύ έξι περιοχών έγινε με 93,3% βεβαιότητα και με ποσοστό διασταυρούμενης επικύρωσης 90%. Η LDA εφαρμόστηκε και σε δείγματα οίνων και το ποσοστό βεβαιότητας και διασταυρούμενης επικύρωσης άγγιξε το 100%, δείχνοντας έτσι πως τα Sr, Li και K είναι εφικτό να διακρίνουν την γεωγραφική προέλευση των δειγμάτων οίνου. Τέλος, όσο αφορά τα σταφύλια, το σύνολο δεδομένων των σταφυλιών από τις έξι περιοχές που μελετήθηκαν με την χρήση της LDA μπορεί να ταξινομηθεί με 96,7% βεβαιότητα και ποσοστό διασταυρούμενης επικύρωσης με βάση τα στοιχεία Li, K και Sr.





Εικόνα 5 Τα αποτελέσματα της LDA για τα στοιχεία του εδάφους (α), των σταφυλιών (β) και των οίνων (γ). (Πηγή: Haoetal., 2021)

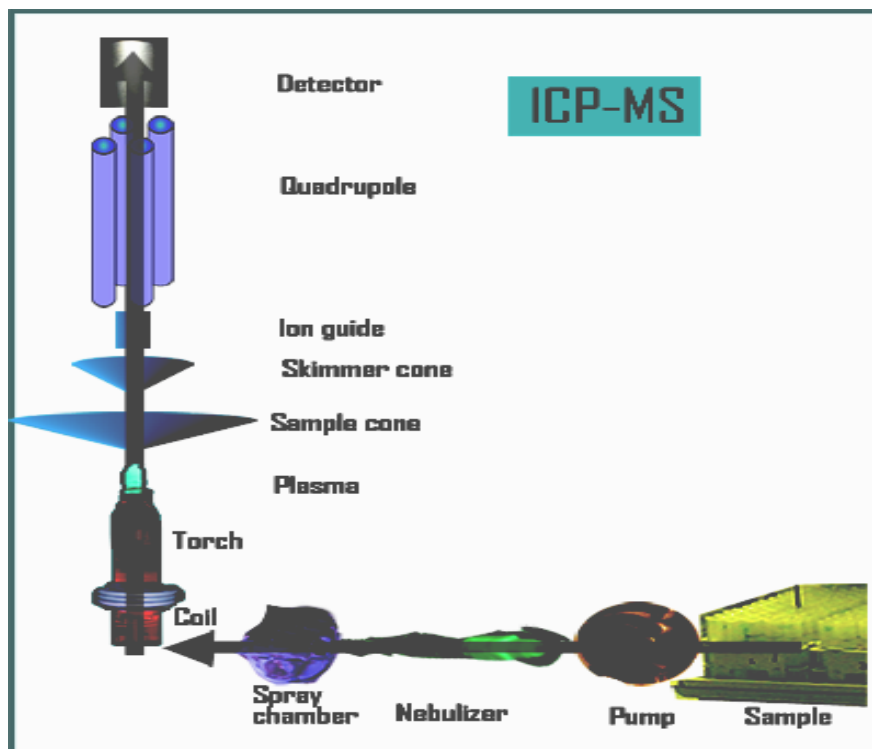
### 5.1.1 Φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS)

Σε ένα ICP-MS υπάρχουν έξι βασικά μέρη. Αρχικά, το σύστημα εισαγωγής δείγματος, το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (I.C.P), μια διεπαφή, ο οδηγός ιόντων, ο αναλυτής μάζας και ο ανιχνευτής. Τα όργανα αυτά έχουν σχεδιαστεί κυρίως για τη μελέτη υγρών δειγμάτων (χωρίς να αποκλείεται και η μελέτη στερεών δειγμάτων, αλλά προορίζεται κυρίως για δείγματα πέραν του οίνου).

Αρχικά προκαλείται νεφελοποίηση των υγρών δειγμάτων εντός του συστήματος εισαγωγής δειγμάτων, δημιουργείται ένα λεπτό αεροζόλ το οποίο μεταφέρεται στο

πλάσμα αργού. Το δείγμα λόγω της υψηλής θερμοκρασίας του πλάσματος, εξατμίζεται και ιονίζεται, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται ιόντα τα οποία εξάγονται μέσω της περιοχής διεπαφής και σε ένα σύνολο ηλεκτροστατικών φακών που ονομάζονται οπτικά ιόντα.

Η δέσμη ιόντων που έχει δημιουργηθεί καθοδηγείται από το οπτικό σύστημα στον τετραπολικό αναλυτή μάζας. Ο αναλυτής αυτός πραγματοποιεί τον διαχωρισμό των ιόντων ανάλογα με τον λόγο φορτίου μάζας τους ( $m/z$ ) και στην συνέχεια γίνεται η καταμέτρηση τους στον ανιχνευτή (Wilschefski & Baxter, 2019).

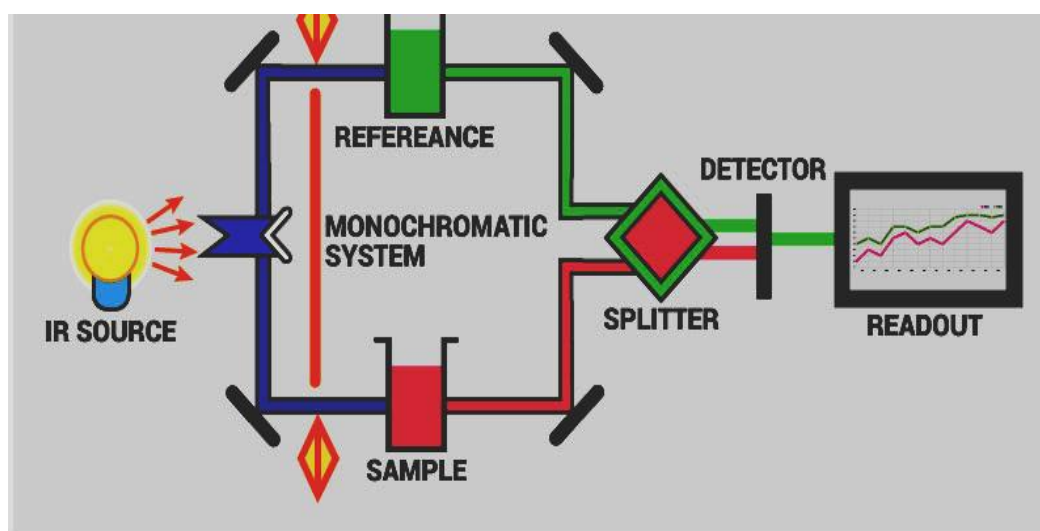


Εικόνα 6 Η λειτουργία του ICP-MS (Πηγή: [www.ru.nl](http://www.ru.nl))

### 5.1.2 Υπέρυθρη φασματοσκοπία (IR) – Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis)

Το IR χρησιμοποιείται κυρίως για τον έλεγχο των οργανικών οξέων, των φαινολών, της περιεκτικότητας σε σάκχαρα, των αμινοξέων αλλά και της χρωματικής ανάλυσης του οίνου. Οργανικά μόρια, χημικοί δεσμοί ή λειτουργικές ομάδες φωτίζονται από το υπέρυθρο φως και επιδέχονται δόνηση απορρόφησης. Ανάλογα τον χημικό δεσμό ή τις λειτουργικές ομάδες καθορίζονται οι συχνότητες και οι εντάσεις απορρόφησης (Cozzolino 2015).

Η φασματοσκοπία UV-Vis, περιλαμβάνει την απορρόφηση στην περιοχή του υπεριώδους (195 έως 400 nm) και την ορατή περιοχή (400 έως 900 nm).



Εικόνα 7 Η λειτουργία του IR (Πηγή: MicrobeNotes)

### 5.1.3 Φασματοσκοπία εγγύς και μέσο υπέρυθρο υπέρυθρο

Η φασματοσκοπία χρησιμοποιείται γενικά για τις αναλύσεις του οίνου. Όμως, πρακτικά οι αναλύσεις γίνονται μαζί με υπεριώδες και ορατό φως (UV-Vis). Η NIR (φασματοσκοπία κοντινού υπέρυθρου) αναλύει τα δείγματα σε ένα φασματικό εύρος από 14.000 μέχρι 4.000  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.1.4 Φασματοσκοπία (MIR- Mid-Infrared).

Χρησιμοποιεί ένα φασματικό εύρος 4000–400  $\text{cm}^{-1}$  για ανάλυση δειγμάτων, που ανακτά πληροφορίες που σχετίζονται με μοριακούς δεσμούς, και έτσι μπορεί να προσδιορίσει τον τύπο των μορίων στο δείγμα (Skoog & Crouch., 2007).

### 5.1.5 Το εγγύς υπέρυθρο (NIR-Near-Infrared)

Η ανάλυση αυτή παρέχει ένα ευρύ φάσμα αλλά συνήθως περιλαμβάνει τη μεσαία υπέρυθρη περιοχή, η οποία δίνει σημαντικές πληροφορίες για τη λειτουργική ομάδα (Bevin et al. 2006). Είναι πιο κατάλληλη τεχνική για τις αναλύσεις του οίνου, επειδή η ζώνη απορρόφησης των οργανικών λειτουργικών ομάδων είναι χαρακτηριστική και καθορισμένη στο MIR και ερμηνεύονται εύκολα. (Dos Santos et al., 2017).

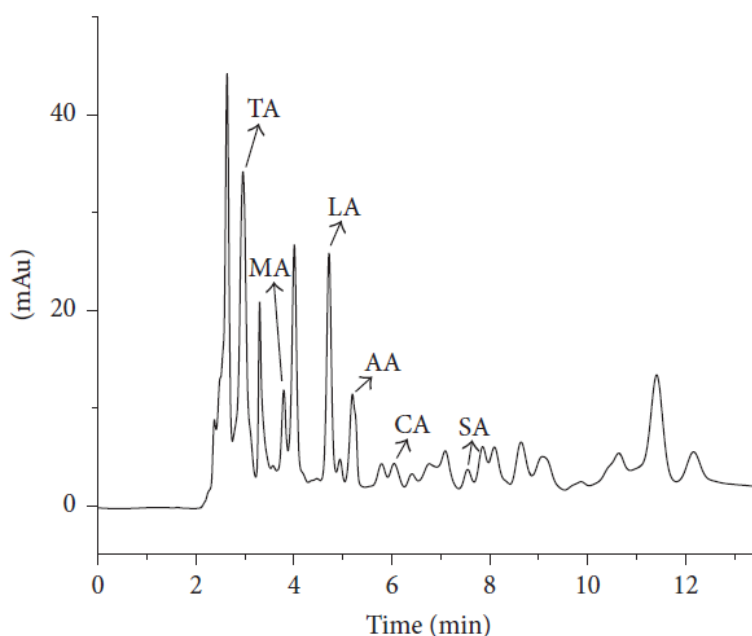
Αρκετές έρευνες δείχνουν ότι γίνεται χρήση της φασματοσκοπίας εγγύς υπέρυθρου (NIR) για την πρόβλεψη της χημικής σύστασης των οίνων και για να τους χαρακτηρίσουν. Παρόλα αυτά, ελάχιστα γνωρίζουμε για το πως επηρεάζουν οι αλλαγές της θερμοκρασίας στο NIR του οίνου και η επίδραση που ακολουθεί στο πόσο αποδοτικές είναι οι βαθμονομήσεις ως προς τον καθορισμό της χημικής σύνθεσης (Cozzolino et al., 2011).

### 5.2 Ανάλυση οργανικών οξέων

Τα οξέα του οίνου αποτελούνται κυρίως από οργανικά οξέα, που προέρχονται από το τρυγικό οξύ, το μηλικό οξύ και το κιτρικό οξύ των σταφυλιών, καθώς και ηλεκτρικό οξύ, γαλακτικό οξύ και οξικό οξύ που παράγεται κατά τη ζύμωση (Volschenk et al., 2006), ως επί το πλείστο σε ελεύθερη κατάσταση, και λίγα σε μορφή άλατος. Μπορούμε να μελετήσουμε τα οργανικά οξέα του οίνου, διότι αυτά μας δείχνουν τη ζύμωση, την προέλευση και την ποικιλία του σταφυλιού και επομένως την αυθεντικότητα. Για την εξέταση των οργανικών οξέων συνήθως γίνεται χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC).

Σε πείραμα των Huang et al., (2017), εξετάστηκε η ιχνηλασιμότητα ερυθρών οίνων με βάση το προφίλ οργανικών οξέων. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε μια προκαταρκτική μελέτη για τη χημειομετρική ταξινόμηση των ερυθρών οίνων που παράγονται από διαφορετικές ποικιλίες σταφυλιού και σε διαφορετικές περιοχές με βάση τα χρωματογραφικά προφίλ οργανικών οξέων. Το τρυγικό (TA), μηλικό (MA), κιτρικό (CA), γαλακτικό (LA), οξικό (AA) και ηλεκτρικό οξύ (SA) στους οίνους ανιχνεύθηκαν μέσω υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Χρησιμοποιώντας πολυμεταβλητές στατιστικές μεθόδους, συμπεριλαμβανομένης της

ανάλυσης κύριου συστατικού (PCA) και της γραμμικής διακριτικής ανάλυσης (LDA), κατασκευάστηκαν μοντέλα αναγνώρισης προτύπων για την ταξινόμηση των οίνων που ερευνήθηκαν σχετικά με τις ποικιλίες σταφυλιών και τη γεωγραφική προέλευση. Η PCA ομαδοποίησε σαφώς τους οίνους ανάλογα με την ποικιλία και η LDA πρόσφερε επιπλέον 100% ικανότητα ταξινόμησης ως προς τον γεωγραφικό προσδιορισμό των οίνων και οι διασταυρούμενες επικυρωμένες εκχωρήσεις άγγιζαν το 100%, 86,7%, και 100% για τους οίνους Cabernet Sauvignon, Merlot και Pinot Noir, αντίστοιχα. Από τα αποτελέσματα γίνεται γνωστό ότι μπορεί να γίνει χρήση χρωματογραφικών προφίλ οργανικών οξέων που θα λειτουργούν σαν δείκτες για την χημειομετρική ταξινόμηση.



**Διάγραμμα 8 Χρωματογράφημα HPLC. Κάθε κορυφή αντιστοιχεί στο αντίστοιχο οργανικό οξύ (Huangetal., 2017)**

Αναλυτικά, συλλέχθηκαν 20 δείγματα εμπορικών οίνων από διαφορετικές χώρες (7 Χιλή, 2 Νότια Αφρική, 3 Κίνα, 5 Γαλλία, 2 Αυστραλία και 1 Ιταλία). Για τη μελέτη των οργανικών οξέων, παρασκευάστηκαν οι αντίστοιχες πρότυπες καμπύλες και έπειτα αναλύθηκαν τα οργανικά οξέα καθώς εκτιμήθηκαν παράλληλα και τα όρια ανίχνευσης (LOD) και τα όρια πιστοποίησης της μεθόδου (LOQ). Τέλος, κατασκευάστηκε μια μήτρα δεδομένων από τα προφίλ οργανικού οξέος με σειρές που αντιπροσωπεύουν τα δείγματα οίνων και στήλες που αντιστοιχούν στην περιεκτικότητα σε οργανικό οξύ. Στη συνέχεια εκτελέστηκε η αυτόματη κλιμάκωση

για να δώσει μεταβλητές με μηδενικό μέσο όρο και τυπική απόκλιση μονάδας. Δηλαδή, κάθε καταχώριση αφαιρέθηκε με τη μέση στήλη και στη συνέχεια διαιρέθηκε με τις τυπικές αποκλίσεις στηλών. Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε PCA για τη διάκριση των ποικιλιών οίνου και στη συνέχεια, χρησιμοποιήθηκε LDA για να εξαχθεί ένας κανόνας ταξινόμησης σύμφωνα με τον οποίο τα δείγματα κρασιού ταξινομήθηκαν τόσο ανάλογα με την ποικιλία όσο και την προέλευση.

Ο ταυτόχρονος προσδιορισμός διαφόρων οργανικών οξέων στους οίνους με HPLC έχει τεκμηριωθεί αρκετά καλά (Mato et al., 2005; Pereira et al., 2010). Η μέθοδος παρουσίασε καλές γραμμικότητες ( $R^2 > 0,994$ ) ως προς τα έξι οργανικά οξέα σε ευρεία κλίμακα συγκεντρώσεων. Το LOQ ήταν αρκετά χαμηλό για την ανάλυση των οργανικών οξέων στους οίνους. Τα παραπάνω αναλυτικά αποτελέσματα δείχνουν ότι η χρησιμοποιούμενη μέθοδος HPLC είναι ικανοποιητικής ευαισθησίας, ακρίβειας και σταθερότητας. Τα TA, AA και LA ήταν τα τρία κύρια οργανικά οξέα που βρέθηκαν στους οίνους, ενώ τα MA, CA και SA υπήρχαν σε σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα. Από την άποψη της διασποράς, τα περιεχόμενα του MA παρουσίαζαν τη μεγαλύτερη διακύμανση μεταξύ των κρασιών (RSD = 123%), και οι διακυμάνσεις των έτερων οξέων κυμαίνονταν από 38% έως 66%. Τα προφίλ οργανικού οξέος των οίνων εμφάνιζαν διαφορετικά μοτίβα για κάθε δείγμα, βάσει των οποίων η χημειομετρική ταξινόμηση αυτών των οίνων αναμενόταν να είναι εφικτή.

**Πίνακας 22 Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης για τα υπο-εξέταση οργανικά οξέα (Πηγή: Huangetal., 2017)**

Ένωση	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	Γραμμικό εύρος (mg/L)	$R^2$
TA	1	3	3 - 300	0.999
MA	1	3	3 - 300	0.996
LA	2	5	5 - 500	0.998
AA	3	10	10 - 1000	0.999
CA	1	3	3 - 300	0.996
SA	0.1	0.25	0.25 - 100	0.994

Για την χημειομετρική ανάλυση, λήφθηκαν 20 δείγματα επί 6 μεταβλητές. Με



τη χρήση PCA έγινε η επεξεργασία της μήτρας δεδομένων τριών επαναλήψεων. Διατέθηκαν δύο κύριες συνιστώσες που ερμηνεύουν στο 58,9% της ολικής διακύμανσης στα στοιχεία. Μπορούμε να υποθέσουμε ότι το CA και το MA είναι οι κύριες μεταβλητές για την ταξινόμηση PCA της ποικιλίας, διότι προέρχονται από το σταφύλι, αντίθετα το SA και το LA έρχονται δεύτερα, γιατί παράγονται κατά το στάδιο της ζύμωσης. Το TA, επίσης ένα από τα φυσικά οργανικά οξέα στα σταφύλια, θα μπορούσε να είναι και εξωγενές καθώς η προσθήκη TA σε οίνους είναι νόμιμη σε ορισμένες χώρες, αλλά όχι σε όλες.

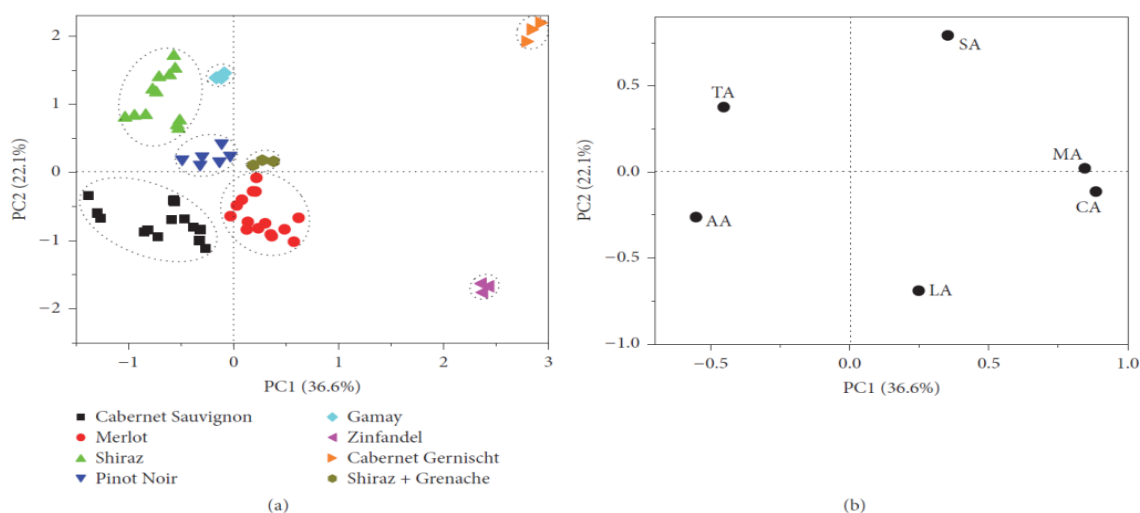
Παρόλο που η PCA επέτρεψε την ταξινόμηση των ερυθρών οίνων ανάλογα με την ποικιλία, δεν ήταν δυνατή η χρήση και για το γεωγραφικό προσδιορισμό λόγω αυξημένου κόστους. Επειδή η PCA είναι μία μέθοδος που δεν επιβλέπεται δε τη νοιάζει η σχέση μεταξύ των καθορισμένων ομάδων και ενός αντικειμένου και απλά διαλέγει μία κατεύθυνση που κρατάει τη μέγιστη δομή σε πιο χαμηλή διάσταση. Αφότου οι ερευνητές δεν μπόρεσαν να χρησιμοποιήσουν την PCA για τη διάκριση της γεωγραφικής προέλευσης των οίνων, ασχολήθηκαν με την LDA. Αντίθετα με την PCA, η LDA απαιτεί την κατηγοριοποίηση των στοιχείων πριν από τη χρήση της, είναι μία μέθοδος αναγνώρισης προτύπων. Χρησιμοποιώντας τις πληροφορίες που δίνονται κατά τη διάρκεια της σχεδίασης, η LDA επιλέγει μια κατεύθυνση που επιτυγχάνει ελάχιστη απόσταση εντός της τάξης και μέγιστο διαχωρισμό μεταξύ των τάξεων (La Berueta et al., 2007). Σε σύγκριση με το αποτέλεσμα που λήφθηκε από την PCA, η LDA έδωσε πιο συνεκτικές ομάδες σε μία ποικιλία. Χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο λάμδα του Wilk ώστε να βρεθούν οι πιο βασικές μεταβλητές μέσω της σταδιακής χρήσης LDA.

Έπειτα, επιχειρήθηκε η χρήση LDA για την αναγνώριση της γεωγραφικής προέλευσης. Το μοντέλο κατέδειξε 100% ικανότητα ταξινόμησης ως προς τη γεωγραφική προέλευση για τρεις ποικιλίες. Αφού επιβεβαιώθηκαν, έγινε σωστή ταξινόμηση του 100% των οίνων Cabernet Sauvignon και Pinot Noir, και τα Merlot 86,7%. Συνέχισαν τα διάφορα οργανικά οξέα των οίνων από διάφορες περιοχές να είναι τα θεμέλια για την ταξινόμηση LDA. Δηλαδή το MA ήταν η μεταβλητή που είχε μεγαλύτερη σημασία για την ταξινόμηση των οίνων Merlot στη γεωγραφική προέλευση. Οι οίνοι Merlot που επιλέχθηκαν από διάφορες χώρες είχαν μεγάλη συγκέντρωση σε MA, σε αντίθεση με τους οίνους Cabernet Sauvignon κινέζικης προέλευσης που είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση σε MA, CA.

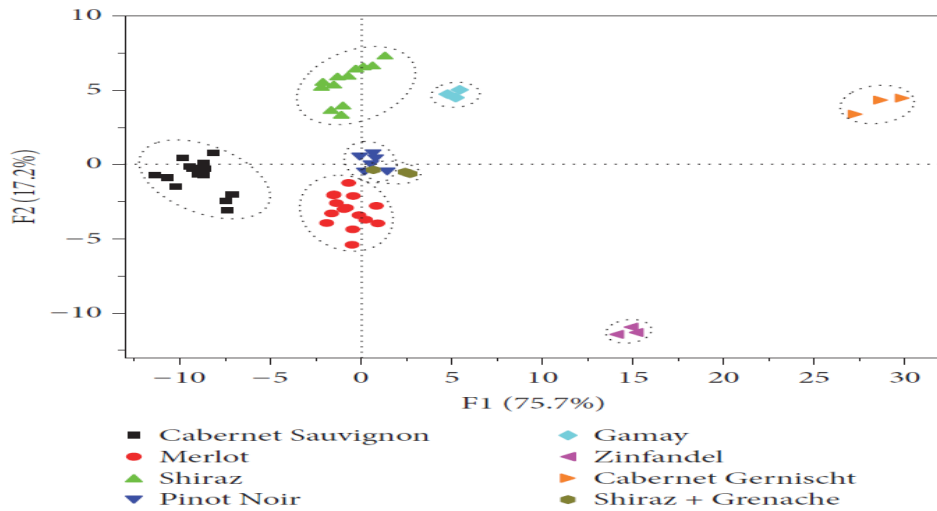
Συμπερασματικά, οι ερευνητές πέτυχαν την προκαταρκτική διάκριση της

ποικιλίας οίνου και της γεωγραφικής προέλευσης προς ένα μικρό σύνολο δειγμάτων με βάση τα χρωματογραφικά προφίλ του οργανικού οξέος. Με τη χρήση μόνο έξι οργανικών οξέων ως δείκτες, η PCA έδωσε την άδεια για ταξινόμηση των κόκκινων οίνων με βάση την ποικιλία και το LDA είχε την ικανότητα της γεωγραφικής διάκρισης με 100% διόρθωση και η επιβεβαιωμένη επικύρωση ήταν τουλάχιστον 86,7% σωστή. Αυτή η δοκιμαστική μελέτη αποκαλύπτει ότι η ποσοτική ανάλυση του προφίλ του οργανικού οξέος με HPLC, σε συνδυασμό με χημειομετρικά στοιχεία όπως η PCA και η LDA, αποτελεί μια πιθανή εναλλακτική στην ταξινόμηση των οίνων που παράγονται από διαφορετικές ποικιλίες και γεωγραφικές περιοχές.

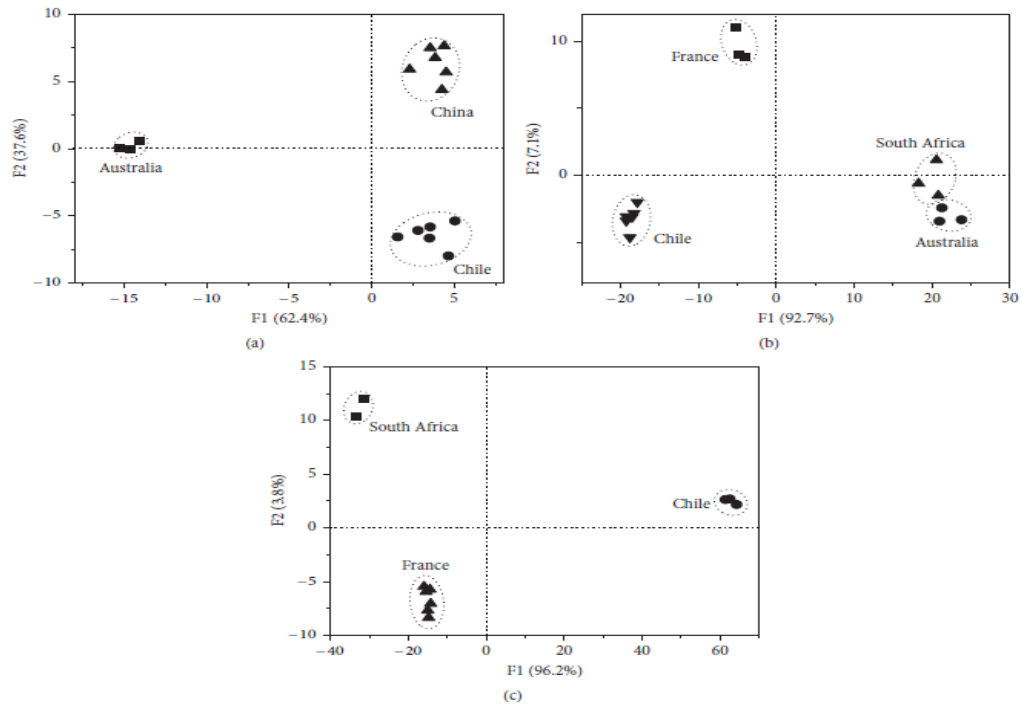
Παρόλα αυτά, τα πρώτα στοιχεία πρέπει να επικυρωθούν από ένα εκτενέστερο εύρος δειγμάτων στα οποία ανήκουν επιπλέον ποικιλίες οίνου και πιο μεγάλο γεωγραφικό σύνολο, όσο η μηλογαλακτική ζύμωση και άλλες διεργασίες οινοποίησης μπορούν να καθορίσουν το προφίλ των οργανικών οξέων.



**Εικόνα 8 (Αριστερά) Το αποτέλεσμα της PCA για τους υπό εξέταση οίνους και με βάση την ποικιλία (Δεξιά) με βάση το οργανικό οξύ (Πηγή: Huangetal., 2017).**



Εικόνα 9 Το αποτέλεσμα της LDA για τους υπό εξέταση οίνους με βάση την ποικιλία (Πηγή: Huangetal., 2017).



Εικόνα 10 Τα αποτελέσματα της LDA για το γεωγραφικό προσδιορισμό των οίνων με βάση τα προφίλ των οργανικών οξέων. (a) Cabernet Sauvignon, (b) Merlot και (c) Shiraz(Πηγή: Huang et al., 2017).

### 5.3. Ανάλυση φαινολικών

Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν μια ομάδα ενώσεων και υπάρχουν στον οίνο, τα σταφύλια και το μούστο. Οι κατηγορίες που εντοπίζονται συχνότερα είναι οι τανίνες, φλαβανόλες, ανθοκυάνες και στυλβένια. Βοηθούν το φυτό όσο αφορά την γονιμότητα, την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή του, προσφέρουν αντιοξειδωτική

προστασία στον μούστο και επηρεάζουν οργανοληπτικά το προφίλ του οίνου (Merkyte et al., 2020). Ωστόσο, το πολυφαινολικό αποτύπωμα διαφέρει από οίνο σε οίνο καθώς επηρεάζεται από αρκετούς παράγοντες. Πιο συγκεκριμένα παίζουν ρόλο η ποικιλία σταφυλιού που θα οινοποιηθεί, ο τρόπος οινοποίησης καθώς και οι κλιματικές συνθήκες. Παλαιότερα το NMR (Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός), οι φασματοφωτομετρικές μέθοδοι και τεχνικές πολυστοιχειακής ανάλυσης ήταν οι βασικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνταν για το φαινολικό αποτύπωμα του οίνου. Σήμερα, η αναγνώριση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των φαινολών στον οίνο εξακολουθεί να πραγματοποιείται με την μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (LC), αλλά συνδυάζεται με τους ανιχνευτές: Συστοιχία διόδων (DAD), UV/Vis (Υπεριώδες-ορατό) ή φασματόμετρο μάζας (Kalogiouri et al., 2020).

Για τη μελέτη του προφίλ των φαινολικών οξέων ως μέσο διαφοροποίησης των οίνων με βάση την περιοχή στην οποία παράγονται, οι Huang et al., (2015) εξέτασαν 90 οίνους πολλαπλών ποικιλιών από 3 διαφορετικές περιοχές της Κίνας (Helan Mountain, Huaizhuo Basin και Yanatai Region).

Για την ανάλυση των φαινολικών οξέων χρησιμοποιήθηκε υγρός χρωματογράφος υψηλής απόδοσης σε μήκη κύματος ανίχνευσης 280nm και 320nm. Η HPLC πέτυχε το διαχωρισμό 11 φαινολικών οξέων με  $R^2 > 0,9992$  και καλές γραμμικότητες σε όλο το εύρος συγκεντρώσεων που εξετάστηκαν.

Γενικά υπάρχει η θεωρία πως το ηλιακό φως το οποίο λαμβάνουν τα σταφύλια την περίοδο της καλλιέργειας τους, αποτελεί καθοριστικό παράγοντα της διακύμανσης της πολυφαινολικής περιεκτικότητας των οίνων ανά τον κόσμο (Fang et al., 2007; 2008). Σταφύλια τα οποία είναι εκτεθειμένα σε υψηλό φως έχουν αυξημένη την βιοσύνθεση της φλαβαν-3-όλης. Έτσι, υποστηρίζεται πως τους ερυθρούς οίνους με υψηλά επίπεδα φλαβαν-3-όλης έχουν καλλιεργηθεί σε ηλιόλουστο κλίμα (Fang et al., 2007; 2008; Ma et al., 2014; Tang et al., 2015). Στο πείραμα που αναφέρθηκε παραπάνω, η περιοχή Yantai Region βρίσκεται δίπλα στον Ειρηνικό Ωκεανό και έχει ελάχιστη ηλιοφάνεια. Αντίθετα η περιοχή Helan Mountain βρίσκεται στο δυτικό μέρος της Κίνας και αποτελεί την πιο ηλιόλουστη από τις τρεις περιοχές.

Παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των περιοχών και των ποικιλιών. Σε έρευνες που είχαν πραγματοποιηθεί παλαιότερα, αναλύσεις συστάδων (Li et al., 2011; Ma et al., 2014), γραμμικές αναλύσεις διακρίσεων (Tang et al., 2015), αναλύσεις βασικών συστατικών (Rodríguez et al., 2002; Elisabeta et al., 2014),

κανονικές αναλύσεις διακρίσεων (Tang et al., 2015), κανονικές συσχετίσεις (Romina et al., 2011) και άλλες σχετικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για τη διάκριση, την ταξινόμηση, τη μοντελοποίηση και τη συσχέτιση της γεωγραφικής προέλευσης του οίνου και των ποικιλιών σταφυλιών. Η επιλογή των ερευνητών λόγω των διαφορών και μίας προκαταρκτικής ανάλυσης που έγινε, ήταν μία κανονική διακριτική ανάλυση με σκοπό να μελετηθεί η διαφοροποίηση της γεωγραφικής προέλευσης του οίνου. Συνολικά 11 φαινολικά οξέα χρησιμοποιήθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές.

Το πείραμα περιλάμβανε 90 δείγματα οίνων τα οποία διανεμήθηκαν κυρίως σε 3 περιοχές. Επιλεγμένα δείγματα οίνων φάνηκε να επικαλύπτονται. Τα δείγματα προέρχονταν από διάφορα οινοποιεία και η διανομή τους πιθανών ήταν διάσπαρτη. Η σύνθεση των φαινολικών οξέων των οίνων επηρεάστηκε από παράγοντες που σχετίζονται με τις ειδικές συνθήκες παραγωγής εκτός από το έδαφος, τη γεωγραφική προέλευση του σταφυλιού και την ποικιλία σταφυλιών. Επίσης, αποσκοπώντας στον έλεγχο της προγνωστικής ικανότητας του μοντέλου έγινε χρήση μιας διασταυρούμενης επικύρωσης. Στη διασταυρούμενη επικύρωση, προβλεπόμενα σφάλματα σημειώθηκαν σε 2 δείγματα στην ανατολική περιοχή Helan Mountain, 6 δείγματα στην περιοχή Huaizhuo Basin Region και 2 δείγματα στην περιοχή Yantai. Η ακρίβεια της κρίσης ήταν 93,3%, 80,0% και 93,3% αντίστοιχα. Το σωστό ποσοστό διάγνωσης της διασταυρούμενης επικύρωσης ήταν 88,9% (Sun et al., 2015).

Η ποικιλία φαίνεται πως στο συγκεκριμένο πείραμα είχε τη μεγαλύτερη επιρροή από τους υπόλοιπους παράγοντες (μέθοδος οινοποίησης, terroir κ.λπ.) αφού 30 δείγματα οίνων κατανεμήθηκαν σε 5 ποικιλίες (Sun et al., 2015). Η διανομή ήταν διάσπαρτη, πιθανότατα λόγω των διαφορών μεταξύ των διαφορετικών οινοποιείων (Ma et al., 2014; Sun et al., 2015).

Τέλος, στη διασταυρούμενη επικύρωση που πραγματοποιήθηκε για να προσδιοριστεί η προγνωστική ικανότητα του μοντέλου, δεν παρουσιάστηκε κάποιο σφάλμα. Τα ποσοστά της διάγνωσης της διασταυρούμενης επικύρωσης και της ακρίβειας της κρίσης ήταν 100%. Αξίζει να αναφερθεί πως η συγκεκριμένη μελέτη περιορίστηκε από τις συνθήκες δειγματοληψίας καθώς πολλά από τα δείγματα που λήφθηκαν δεν ήταν 100% από μονοποικιλιακούς οίνους διαφόρων περιοχών.

Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε διασταυρούμενη επικύρωση για τον προσδιορισμό της προγνωστικής ικανότητας αυτού του μοντέλου. Στη διασταυρούμενη επικύρωση, κανένα δείγμα δεν προέβλεψε σφάλμα. Οι ακρίβειες της κρίσης ήταν όλες 100%, και

το σωστό ποσοστό διάγνωσης της διασταυρούμενης επικύρωσης ήταν 100%. Αυτή η μελέτη περιορίστηκε από τις συνθήκες δειγματοληψίας επειδή δεν λάβαμε αρκετά δείγματα 100% μονοποικιλιακού οίνου από τις διάφορες περιοχές (Sun et al., 2015).

### 5.3.1 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR-Nuclear Magnetic Resonance)

Εδώ και πενήντα χρόνια η NMR (φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού), είναι μία από τις βασικές μεθόδους για την ανάλυση των οργανικών ενώσεων, γιατί σε αρκετές καταστάσεις αποτελεί έναν τρόπο προσδιορισμού μιας ολόκληρης δομής με τη χρήση μιας ποικιλίας αναλυτικών δοκιμών. Έχει αρκετές και σημαντικές δομικές πληροφορίες για τη βιοχημεία και την ανόργανη χημεία και γι' αυτό τη χρησιμοποιούν αρκετά σε αυτούς τους τομείς. Το NMR είναι μια ιδιότητα του πυρήνα ενός ατόμου, που σχετίζεται με αυτό που είναι γνωστό ως πυρηνικό σπιν (I). Το πυρηνικό σπιν (I) είναι όσο ο πυρήνας που είναι σαν ένας μικρός μαγνήτης ράβδων. Όσοι πυρήνες έχουν κβαντικό αριθμό σπιν I μεγαλύτερο από 0 εμφανίζουν το φαινόμενο NMR. Ένας πυρήνας με περιττό μαζικό ή ατομικό αριθμό διαθέτει πυρηνικό σπιν, όπου λόγω της περιστροφής δημιουργείται μαγνητικό πεδίο κατά μήκος του άξονα. Τα ισότοπα έχουν τη δυνατότητα να έχουν πολλές τιμές για το I (μαζί και το μηδέν). Στην NMR χρήσιμοι είναι οι πυρήνες που έχουν περιττό μαζικό αριθμό (A) ή περιττό ατομικό αριθμό (Z) (παραδείγματα: ο  $^{13}\text{C}$ , το  $^{19}\text{F}$ , ο  $^{31}\text{P}$  και το  $^1\text{H}$ ). Παρότι χρειάζονται αρκετές ποσότητες δείγματος σε σχέση με τη φασματοσκοπία μάζας, η NMR δε δημιουργεί προβλήματα και με νέα όργανα μπορεί να γίνει λήψη καλών δεδομένων από δείγματα με βάρος που είναι πιο μικρό από 1mg.

Ο Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (NMR) είναι μια τεχνική φασματοσκοπίας που βασίζεται στη μετάβαση των Ηλεκτρομαγνητικών ακτινοβολιών σε μια περιοχή ραδιοσυχνοτήτων 4 έως 900 MHz από πυρήνες ατόμων παρουσία μαγνητικού πεδίου. Σ' αυτό το μαγνητικό πεδίο, για να συμβούν αλλαγές ανάμεσα σε διάφορες καταστάσεις του πυρηνικού σπιν γίνεται χρήση ακτινοβολιών ραδιοσυχνοτήτων. Ονομάζουμε Μαγνητικό Συντονισμό Πρωτονίων (PMR) όταν μελετάμε το  $^1\text{H}$ , ενώ όταν πρόκειται για άλλους πυρήνες όπως είναι ο  $^{35}\text{Cl}$ , ο  $^9\text{F}$ , ο  $^{13}\text{C}$  κλπ τότε το ονομάζουμε NMR.

Σύμφωνα με τις παραμέτρους που μετρώνται τα φασματοφωτόμετρα NMR είναι δύο:

1. Φασματόμετρα ενός πηνίου: Μετρά την απορρόφηση.

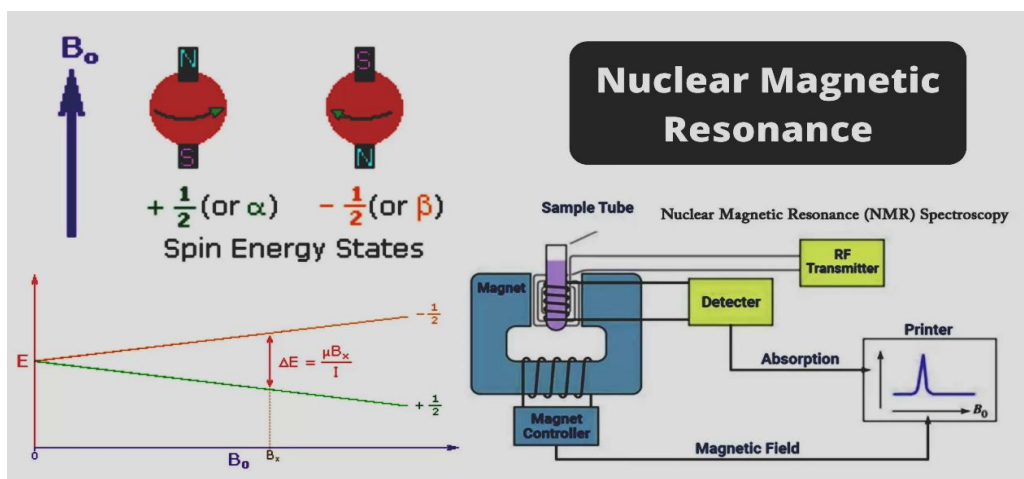
2. Φασματόμετρα διπλού πηνίου: Μετρά την ακτινοβολία συντονισμού.

Αυτά γίνεται να χωριστούν σε φασματόμετρα χαμηλής ανάλυσης (γνωστά ως ευρείας γραμμής), τα οποία μπορούν να κάνουν ποσοτική ανάλυση στοιχείων, και σε φασματόμετρα υψηλής ανάλυσης. Τα κύρια συστατικά του οργάνου NMR είναι τα εξής:

- Υπεραγώγιμος μαγνήτης
- Δείγμα
- Προενισχυτής
- Δέκτης
- Ανιχνευτής (και υπολογιστής)
- Πομπός (Skoog et al., 2007)

Η μέθοδος NMR έχει τα πλεονεκτήματα της γρήγορης ανάλυσης (συμπεριλαμβανομένης της προετοιμασίας δειγμάτων, της ανάλυσης και της επεξεργασίας δεδομένων) και το μικρό μέγεθος δείγματος (Gougeon et al. 2019), και μπορεί να ανιχνεύσει ταυτόχρονα πολλά χαμηλού μοριακού βάρους συστατικά (Ogrinc et al. 2003) αλλά έχει χαμηλή ευαισθησία (Kosir et al., 1998), απαιτεί την προμήθεια πολύ ακριβού εξοπλισμού (Αρβανιτογιάννης και Βαΐτση 2007), και απαιτεί ιδιαίτερη γνώση για την ανάλυση των δεδομένων (Cordella et al. 2002).

Η μέθοδος SNIF-NMR (Site-specific natural isotope fractionation NMR), είναι η επίσημη κοινοτική μέθοδος για την ταυτοποίηση της βοτανικής και γεωγραφικής προέλευσης ενός οίνου (EC No 2729/2000). Στηρίζεται στο φυσικό διαχωρισμό των ισotόπων δευτερίου ως συνάρτηση των εδαφοκλιματικών συνθηκών στις οποίες αναπτύσσεται η άμπελος αλλά και ως συνάρτηση του μεταβολισμού τους. Βέβαια, για τον προσδιορισμό ενός αγνώστου δείγματος απαιτείται η ύπαρξη μιας βάσης δεδομένων με ήδη γνωστά δείγματα.



Εικόνα 11 Η λειτουργία του NMR (Πηγή: Microbiology Note)

### 5.3.1.1 Ανίχνευση νοθείας με SNIF-NMR

Με βάση τον κανονισμό (2676/90) της Ευρωπαϊκής Επιτροπής της 17ης Σεπτεμβρίου 1990, έχει θεσπιστεί η μέθοδος του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, ως επίσημη μέθοδος ανίχνευσης της νοθείας στους οίνους.

Μετά το πέρας της ζύμωσης, τα άτομα δευτερίου που υπάρχουν στα σάκχαρα και το νερό του γλεύκους των σταφυλιών ανακατανέμονται στα παρακάτω μόρια του κρασιού:

Πίνακας 232 Τα μόρια που περιέχουν άτομα Δευτερίου

CH <sub>2</sub> DCH <sub>2</sub> OH	I
CH <sub>3</sub> CHDOH	II
CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OD	III
HOD	IV

Πριν το πέρας της ζύμωσης του γλεύκους, αν γίνει προσθήκη εξωγενών σακχάρων ή νερού επηρεάζεται η ανακατανομή του Δευτερίου. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 13) φαίνονται οι μεταβολές που συμβαίνουν όταν γίνει εμπλουτισμός με κάποιο εξωγενές σάκχαρο, σε σύγκριση με τις τιμές των παραμέτρων που αντιστοιχούν σε έναν φυσικό οίνο-μάρτυρα.

Πίνακας 13 Μεταβολές έπειτα από εμπλουτισμό με εξωγενές σάκχαρο (Πηγή: EC 2676/90)

Οίνος - Παράμετρος	(D/H) <sub>I</sub>	(D/H) <sub>II</sub>	(D/H) <sub>QW</sub>	R
Φυσικός	→	→	→	→
Εμπλουτισμένος				
- Σάκχαρο τέυτλου	→	→	→	→



- Καλαμοσάκχαρο				
- Σάκχαρο αραβοσίτου				

(D/H)I : ισοτοπική αναλογία στο μόριο I

(D/H)II: ισοτοπική αναλογία στο μόριο II

(D/H) QW: ισοτοπική αναλογία στο ύδωρ του οίνου

Γίνεται RMN δευτερίου στην αιθανόλη, η οποία λαμβάνεται με απόσταξη από τα προϊόντα ζύμωσης του γλεύκους ή τον οίνο, του συμπυκνωμένου και του ανακαθαρισμένου γλεύκους, για τον προσδιορισμό των παραπάνω παραμέτρων [(R, (D/H)I] και (D/H)II]. Αυτό επίσης πραγματοποιείται ταυτόχρονα με τον προσδιορισμό της ισοτοπικής αναλογίας του ύδατος του οίνου, (D/H)QW και της ισοτοπικής αναλογίας  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  της αιθανόλης.

Όσο αφορά την προετοιμασία του δείγματος, παραλαμβάνεται το νερό και η αιθανόλη του οίνου. Όμως πρέπει να είναι γνωστό ότι κάθε διάταξη παραλαβής της αιθανόλης χρησιμοποιείται μόνο όταν επιτρέπει την παραλαβή μεταξύ 98% και 98,5% της αλκοόλης του οίνου σε ένα απόσταγμα τίτλου μεταξύ 92% και 93% κατά μάζα (95% vol). Στη συνέχεια γίνεται προσδιορισμός του αλκοολικού τίτλου του κρασιού με ακρίβεια το λιγότερο 0,05% vol. Παραλαμβάνεται η αιθανόλη με απόσταξη, προστίθεται ομοιογενές δείγμα στη φιάλη της αποστακτικής συσκευής, συλλέγεται το υγρό (40-60ml). Η συλλογή του αποστάγματος σταματάει για πέντε λεπτά όταν η θερμοκρασία φτάσει πάνω από 78,5°C και ξανά ξεκινάει όταν κατέβει πάλι στους 78°C , αυτή η διαδικασία γίνεται μέχρι να σταματήσει να κατεβαίνει η θερμοκρασία. Αυτό βοηθάει στην παραλαβή του 98-98,5% της συνολικής αλκοόλης του οίνου σε ένα απόσταγμα του οποίου ο τίτλος είναι 92-93% κατά μάζα, για να συμβιβάζεται με τις συνθήκες RMN. Επίσης φυλάσσεται ένα ομοιογενές μείγμα από τις “ουρές”, που θεωρείται το νερό του οίνου και γίνεται προσδιορισμός της ισοτοπικής του αναλογίας. Στη συνέχεια προσδιορίζεται ο αλκοολικός τίτλος της αλκοόλης που λήφθηκε με απόσταξη και μέσω της μεθόδου Karl Fischer προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε νερό.

Όταν έχουμε γνωστή ισοτοπική αναλογία, οι ζύμες ενεργοποιούνται πριν τον εμβολιασμό για 15 λεπτά. Όταν δεν είναι γνωστή είναι προτιμότερο να εμβολιαστεί κατευθείαν. Επίσης, το δοχείο που χρησιμοποιείται για τη ζύμωση, λόγω του ότι δεν

επιτρέπεται καμία απώλεια αλκοόλης κατά το στάδιο αυτό, έχει μία διάταξη η οποία το προφυλάσσει από τον αέρα και και τη συμπύκνωση των ατμών της αλκοόλης. Ακολουθούν οι διάφορες διεργασίες για τα νωπά γλεύκη, τα θειωμένα γλεύκη, τα συμπυκνωμένα και τα συμπυκνωμένα ανακαθαρισμένα γλεύκη. Προετοιμάζεται το δείγμα της αλκοόλης για την ανάλυση RMN, κατά την οποία χρησιμοποιούνται δύο καθετήρες διαφορετικών μεγεθών (10mm και 15mm) στον φασματογράφο. Στη συνέχεια, γίνεται και η προετοιμασία του δείγματος ύδατος για την ανάλυση RMN, για τον ενδεχόμενο προσδιορισμό της ισοτοπικής αναλογίας.

Όσο αφορά την καταγραφή του φάσματος RMN της αλκοόλης και του ύδατος χρησιμοποιείται φασματογράφος RMN με ειδικό καθετήρα δευτερίου, ο οποίος ρυθμίζεται ανάλογα. Οι συνθήκες που πρέπει να επικρατούν κατά την καταγραφή του φάσματος RMN είναι οι παρακάτω:

- σταθερή θερμοκρασία του καθετήρα
- χρόνος λήψεως του φάσματος 6,8s
- παλμός 90°
- καθυστέρηση λήψεως όσο χρόνο χρειάζεται η δειγματοληψία
- κάθετη ανίχνευση προς το πεδίο
- προσδιορισμός του offset αποσύζευξης 02 από το φάσμα του πρωτονίου

Για κάθε φάσμα γίνεται μία σειρά NS μετρήσεων ώστε να ληφθεί η σχέση σήματος/θορύβου και γίνεται 10 φορές αυτή η σειρά των NS. Ανάλογα τον τύπο του φασματογράφου και του καθετήρα είναι και οι τιμές των NS.

Η έκφραση των αποτελεσμάτων της αιθανόλης:

Για καθένα από τα δέκα φάσματα προσδιορίζονται:

- $R = 3 (h_{II}/h_I) = 3$  (ύψος του σήματος II / ύψος του σήματος I)
- $(D/H)_I = 1,5866 \cdot T_I (m_{st}/m_a) [ (D/H)_{st}/t_{dM}]$ 
  - o Όπου  $T_I =$  (ύψος του σήματος I / ύψος του σήματος του εσωτερικού προτύπου)
- $(D/H)_{II} = 2,3799 \cdot T_{II} (m_{st}/m_a) [ (D/H)_{st}/t_{dM}]$ 
  - o Όπου  $T_{II} =$  (ύψος του σήματος II / ύψος του σήματος του εσωτερικού προτύπου)

Η χρήση του ύψους των σημάτων αντί των μετρουμένων με μικρότερη ακρίβεια εμβαδών υποθέτει εύρος γραμμής ίσο προς το ήμισυ του ύψους, πράγμα που αποτελεί λογική προσέγγιση.

Η έκφραση των αποτελεσμάτων του νερού:

Όταν η ισοτοπική αναλογία του ύδατος προσδιορίζεται με RMN, από το μείγμα ύδατος — TMU, χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος:

- $(D/H)_{QW} = 0,9306 T_{IV} (m'_{st}/m'_E) (D/H)_{st}$ 
  - Όπου  $T_{IV}$  = (Εμβαδόν του σήματος πHODή του ύδατος που παραλαμβάνεται από τον οίνο/ Εμβαδόν του σήματος του εσωτερικού προτύπου πTMUή)
  - $(D/H)_{st}$  = ισοτοπική αναλογία του εσωτερικού προτύπου (TMU) που αναγράφεται μέσα στο φιαλίδιο το οποίο διατίθεται από το κοινοτικό γραφείο αναφοράς (BCR).

Για καθεμία από τις ισοτοπικές παραμέτρους υπολογίζεται ο μέσος όρος των δέκα προσδιορισμών και το όριο αξιοπιστίας.

Τέλος, ισχύει πως σε τιμές του Rx υψηλότερες από τον RT, υπάρχει ένδειξη προσθήκης τευτλοσακχάρου και σε τιμές Rx χαμηλότερες από τον RT, υπάρχει ένδειξη προσθήκης καλαμοσακχάρου ή σακχάρου αραβοσίτου.

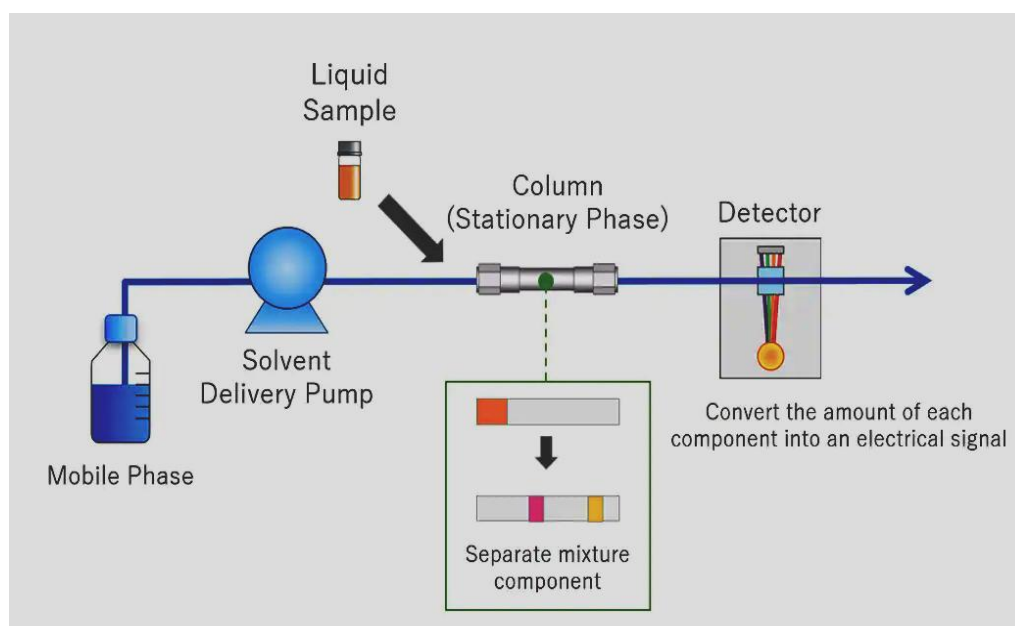
### 5.3.2 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

Η HPLC είναι ένας σημαντικός κλάδος της χρωματογραφίας που χρησιμοποιήθηκε κυρίως για την ανίχνευση της περιεκτικότητας σε αλκοόλη, οργανικά οξέα, φαινόλες, αμινοξέα και άλλες ουσίες στον οίνο,

Ως κινητή φάση χρησιμοποιείται υγρό και διατίθεται ένα σύστημα έγχυσης με υψηλή πίεση. Όταν οι ουσίες διαχωριστούν στην στήλη, ανιχνεύονται στον ανιχνευτή και πραγματοποιείται η ανάλυση του δείγματος (Macrae 2007). Σε μια μελέτη, οι Serrano- Lourido et al. (2012) εξήγαγαν διάφορα είδη φαινολικών ενώσεων με HPLC και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι θα μπορούσαν να γίνουν διακρίσεις σε διάφορα ισπανικά κρασιά, βάσει 13 ειδών φαινολικών ενώσεων.

Ένα πλεονέκτημα της HPLC είναι πως μπορεί να συνδυαστεί με ανιχνευτή φασματομέτρου μάζας, ανιχνευτή υπεριώδους και ανιχνευτή συστοιχίας διόδων. Η HPLC είναι πιο ευαίσθητη από τη φασματομετρία μάζας (Ogrinc et al. 2003). Επίσης,

αυτή η τεχνική έχει υψηλή απόδοση διαχωρισμού και μπορεί να πραγματοποιήσει την ταυτόχρονη ανίχνευση διαφόρων μονομερών ενώσεων (Gomez- Alonso, Garcia-Romero και Hermosin-Gutierrez 2007). Μειονέκτημα της HPLC είναι πως το δείγμα οίνου που προορίζεται για ανάλυση χρειάζεται μία προκατεργασία και πως ο χρόνος ανάλυσης είναι μεγάλος. Τέλος, η συγκεκριμένη μέθοδος συχνά χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές καθώς δεν επαρκεί μόνη της (Sunet.al, 2011)



Εικόνα 12 Η λειτουργία της HPLC (Πηγή: Shimadzu)

#### 5.4 Ανάλυση αμινοξέων

Τα αμινοξέα αποτελούν (κυρίως) προϊόν πρωτεόλυσης που λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (Arvanitoyannis 1999; Valero et al. 2003). Τα αμινοξέα δεν αντικατοπτρίζουν μόνο τα χαρακτηριστικά της ζύμωσης του οίνου αλλά συνδέονται και με την γεωγραφική προέλευση και την ποικιλία του οίνου, των οποίων ο προσδιορισμός γίνεται με HPLC.

Αν τα ελεύθερα αμινοξέα μελετηθούν και συνδυαστούν με κάποιες ενώσεις, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν μεταβλητές σε μια πολυπαραγοντική ανάλυση, θα ήταν εφικτός ο χαρακτηρισμός του οίνου ανά ποικιλία. Το προφίλ αμινοξέων στους οίνους εξαρτάται από πάρα πολλούς παράγοντες (κλιματολογικές συνθήκες, χρόνος διαβροχής, αλκοολική ζύμωση κ.λπ.) και επομένως είναι δύσκολο να είναι ανεξάρτητοι δείκτες (Versari et al., 2014).

Στους αφρώδεις οίνους παρατηρείται πιο πλούσιο προφίλ αμινοξέων και αυτό οφείλεται στην δεύτερη ζύμωση που πραγματοποιείται στη φιάλη. Μια μελέτη στη Γαλλία έδειξε ότι ήταν δυνατό να διαχωριστούν μερικές σαμπάνιες από άλλους αφρώδεις οίνους με διαφορετική γεωγραφική προέλευση χρησιμοποιώντας το προφίλ αμινοξέων (Pasvanka et al., 2019)

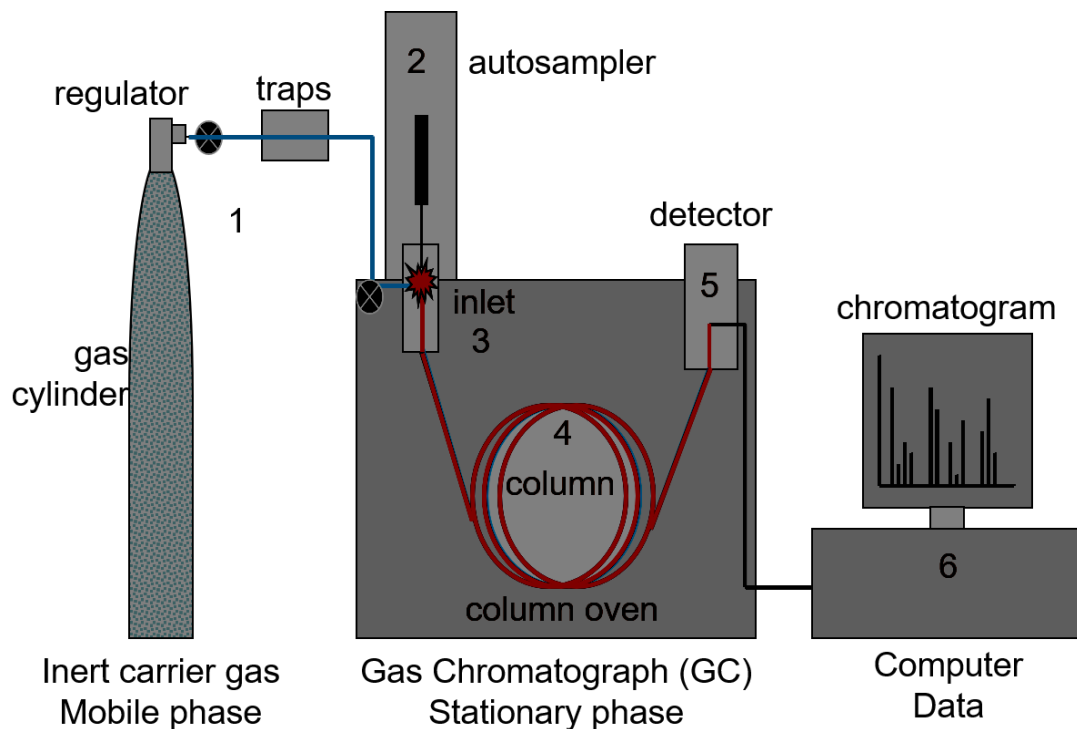
#### **5.4.1 Αέρια χρωματογραφία (GC)**

Η αέρια χρωματογραφία αφορά μία μέθοδο που χρησιμοποιεί αέριο ως την κινητή φάση και μπορεί να εφαρμοστεί στην ανίχνευση πτητικών και ημι-πτητικών ενώσεων στους οίνους (κυρίως αρωματικές ενώσεις).

Για να εξαλειφθούν οι διάφορες παρεμβολές που μπορεί να υπάρξουν στα συστατικά «στόχους», στα βήματα εξαγωγής μπορεί να πραγματοποιηθεί μία κλασματοποίηση και έκλουση του οργανικού διαλύτη. Το GC έχει το μειονέκτημα της ποιοτικής ανίχνευσης, η οποία μπορεί να επιλυθεί μόνο σε συνδυασμό με φασματοσκοπία μάζας (Sivertsen et al., 1999; Garde-Cerdán et al. 2008).

Ένα πλεονέκτημα της GC είναι πως η μεταφορά του δείγματος σε αέρια φάση πραγματοποιείται γρήγορα, Έτσι, τα συστατικά που υπάρχουν στο δείγμα μπορούν να δημιουργήσουν μία στιγμιαία ισορροπία μεταξύ σταθερής και κινητής φάσης, με αποτέλεσμα η ανάλυση να γίνει γρήγορα και η απόδοση διαχωρισμού να είναι υψηλή (Cordella et al. 2002).

Η πτητικότητα και η θερμική σταθερότητα αποτελούν παράγοντες περιορισμού της μεθόδου GC. Γι' αυτό το λόγο ενώσεις που έχουν ισχυρή πολικότητα και κατά την διαδικασία της θέρμανσης αποσυντίθενται εύκολα, χρήζουν επεξεργασίας πριν την έναρξη της GC-MS ανάλυσης (McDonald et al. 2007).



Εικόνα 13 Η λειτουργία της GC(Πηγή: TechnologyNetworks)

### 5.5 Ανάλυση των πτητικών

Οι αρωματικές ουσίες του οίνου είναι ένας από τους καθοριστικούς παράγοντες για την ποιότητά τους. Προέρχονται κυρίως από τις πτητικές ουσίες που παράγονται κατά την ωρίμανση των σταφυλιών και τη ζύμωση, που σχετίζονται με την ποικιλία του σταφυλιού, την ωριμότητα, τις μεθόδους οινοποίησης αλλά και τον τρυγητό (Perestrelo et al.,2011). Παλαιότερες μελέτες έχουν δείξει ότι μπορεί να γίνει διάκριση και χαρακτηρισμός οίνων από διάφορες περιοχές, διαφορετικών ποικιλιών και σοδειών με τα δακτυλικά αποτυπώματα αρωμάτων οίνου (Garde-Cerdán et al. 2008, 2009; Sivertsen et al. 1999). Η αέρια χρωματογραφία (GC) σε συνδυασμό με τη φασματομετρία μάζας (MS) και την ηλεκτρονική μύτη (e-nose) είναι γενικά οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται περισσότερο για να προσδιορίσουν τα αρώματα του οίνου.

Ο οίνος είναι ένα υδροαλκοολικό διάλυμα με πάρα πολλές ενώσεις, που κάποιες από αυτές είναι από σταφύλια, ενώ άλλες δημιουργούνται κατά το στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης ή της ωρίμανσης και της παλαίωσης. Ο συνδυασμός γευστικών

ενώσεων και διαφορετικών συγκεντρώσεων δημιουργούν την αρωματική ταυτότητα μιας ποικιλίας σταφυλιού. Όταν έχουμε να κάνουμε με μία αρωματική ποικιλία, υπάρχουν πολλές τερπενικές ενώσεις και σε πιο μεγάλη περιεκτικότητα από τις ουδέτερες ποικιλίες, με μεγάλη συμβολή των νορισοπρενοειδών, ιδιαίτερα στη δημιουργία του αρώματος. Οι πιο πολλές από αυτές τις ενώσεις προσφέρουν όμορφα λουλουδάτα ή φρουτώδη, όμως διαθέτουν χαμηλά όρια αντίληψης.

Όταν αναγνωρίζεται μία ποικιλία οι πτητικές ενώσεις λειτουργούν σαν δακτυλικό αποτύπωμα (Arvanitoyannis, 2010; Riberau-Gayon et al., 2006; Dourtoglou et al., 2014). Η παλαιότερη μελέτη που αναφέρεται σε αυτό το άρθρο, η οποία αναφέρεται στο προφίλ των πτητικών ενώσεων ως πιθανό δείκτη αυθεντικότητας, είναι από το 1995. Εκείνη την περίοδο ήταν εφικτό να γίνει διαχωρισμός μερικών ισπανικών οίνων με βάση τη γεωγραφική προέλευσης και την ποικιλία με γνώμονα τη μελέτη πάνω από 100 ταυτοποιημένων πτητικών ενώσεων (Garcia-Janes et al., 1995).

Αρκετά δύσκολο είναι να βρούμε τη συγκεκριμένη αρωματική ένωση, διότι η ποικιλία των πτητικών στον οίνο καθορίζεται από αυτή του σταφυλιού. Υπό αυτή την έννοια, αναπτύχθηκε μια μελέτη στη Βραζιλία (54 δείγματα) που καθιέρωσε δύο ειδικούς εστέρες για το Chardonnay (μηλικός διαιθυλεστέρας και 9-δεκανοϊκός αιθυλεστέρας) και δύο ειδικές φουρανόνες για το Cabernet Sauvignon (τετραϋδρο-2 (2H)-πυρανόνη και 3- μεθυλ-2 (5H)-φουρανόνη) (Versari et al., 2014).

## 5.6 Μελέτη της Ισοτοπικής αναλογίας

Τα ισότοπα έχουν όμοιο ατομικό αριθμό αλλά διαφορετικό μαζικό (δηλαδή όμοιες χημικές ιδιότητες και διαφορετικές φυσικές) (Kelly 2003). Τις περισσότερες φορές στις αναλύσεις του οίνου γίνεται χρήση τριών ισωτόπων C, H και O. Το είδος του φυτού και η περιοχή στην οποία αναπτύσσεται επηρεάζει το φυτικό υλικό, το οποίο με τη σειρά του επηρεάζει την αναλογία των σταθερών ισωτόπων C, H, O. Πιο συγκεκριμένα, συνήθως χρησιμοποιούνται τα ισότοπα  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  από το νερό που περιέχεται στον οίνο και  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  στην αιθανόλη που περιέχεται στον οίνο (Giosanu et al., 2013). Παράλληλα οι μελετητές ερευνούν όλο και πιο πολύ τα ισότοπα Sr. Παρότι

αυτά τα ισότοπα δεν είναι βασικό συστατικό των σταφυλιών, απορροφάται συνεχώς (Horn et al. 1993; Durante et al. 2015). Επειδή έχουν μικρή συγκέντρωση, τις περισσότερες φορές αναφέρονται ως σχετικό περιεχόμενο. Στην Ευρώπη, το 1991 αποφασίστηκε να δημιουργηθεί μια βάση δεδομένων που αφορούν στα ισότοπα των οίνων και καλύπτει όλα τα οινοπαραγωγά κράτη-μέλη (Pirñau et al. 2013). Για την ανίχνευση των ισωτόπων, χρησιμοποιείται κυρίως η φασματομετρία μάζας ισωτόπων (IRMS).

Η ανάλυση της σταθερής ισωτοπικής αναλογίας χρησιμοποιείται και για να ελεγχθεί η ταυτότητα του οίνου (ανιχνεύει την προσθήκη ζάχαρης, νερού και ταυτοποιεί την γεωγραφική προέλευση του οίνου. Πάντα πρέπει να γίνεται σύγκριση των ισωτοπικών παραμένων από έναν αυθεντικό οίνο της ίδιας περιοχής με τον προς ανάλυση οίνο που έχει γίνει η διευκρίνιση μιας ή πιο πολλών ισωτοπικών αναλογιών (Costinel et al., 2011). Το μοναδικό δακτυλικό αποτύπωμα που δημιουργούν αυτοί οι ισωτοπικοί λόγοι για κάθε οίνο, μπορεί να μετρηθεί χρησιμοποιώντας φασματομετρία μάζας (IRMS) ή απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (SNIF-NMR) (Giosanu et al., 2013). Σε κάποια σημαντικά στοιχεία όπως είναι το Sr και το Pb, ανεξάρτητα από τα βιοστοιχεία, έχει γίνει επέκταση και εφαρμογή της ισωτοπικής ανάλυσης με επιτυχία (Fortunato et al., 2004).

Σε πείραμα των Geana et al., (2016), εξετάστηκε η ικανότητα ανίχνευσης της νοθείας σε ερυθρούς γλυκούς οίνους με χρήση χρωματογραφικών μεθόδων σε συνδυασμό με χημειομετρικές μεθόδους. Πιο συγκεκριμένα, εξετάστηκαν 29 οίνοι (17 δείγματα από Ρουμανία, 2 δείγματα από την Ε.Ε ευρύτερα, 3 δείγματα από Βουλγαρία και 7 δείγματα από Μολδαβία) με έτη συγκομιδής το 2011 και 2012.

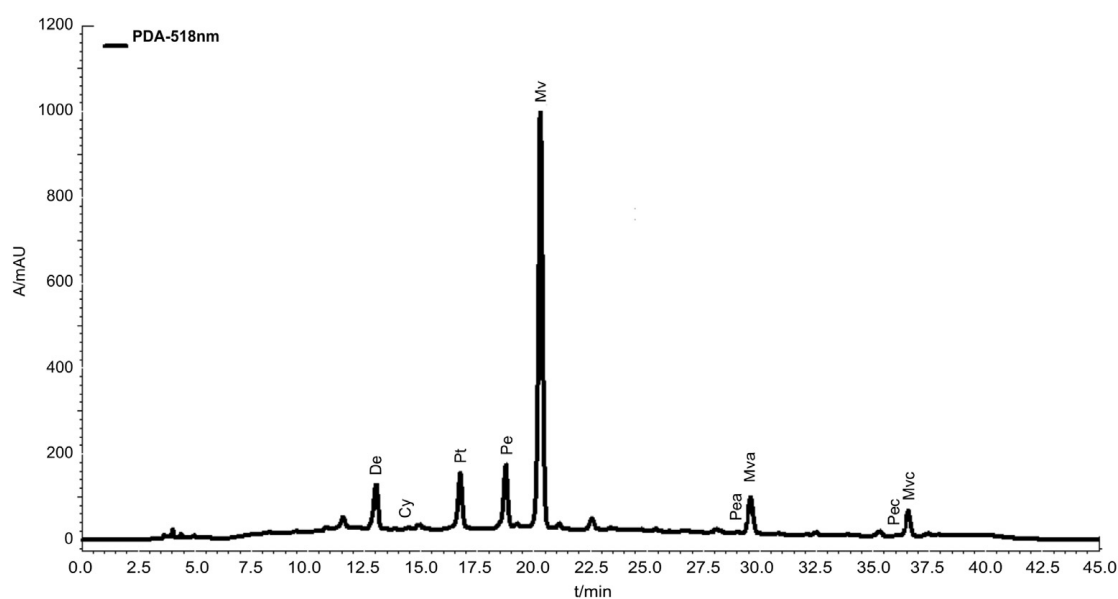
Επιπρόσθετα, οι ερευνητές χαρακτήρισαν 23 αυθεντικά δείγματα ερυθρών οίνων, νεαρά και παλαιωμένα (εσοδείες από το 2009 έως το 2013). Εφαρμόστηκε μία κλασική τεχνολογία οινοποίησης για τη δημιουργία ποιοτικών ξηρών κόκκινων οίνων, χωρίς να χρησιμοποιηθούν επιλεγμένες ζύμες, θρεπτικά συστατικά ή ένζυμα, με βάση τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 555, 2008 της Ε.Ε και είχαμε παραγωγή αυθεντικών δειγμάτων οίνου σε μικρή κλίμακα (150-200 kg) από γνωστές ποικιλίες (Merlot, Cabernet Sauvignon, Pinot Noir, Mamaia και Feteasca Neagra).

Όλα τα δείγματα οίνου αναλύθηκαν σε δύο επαναλήψεις. Οι ισωτοπικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν αμέσως μετά το άνοιγμα της φιάλης. Ο οίνος που



απέμεινε τοποθετήθηκε σε φιάλες από κεχριμπάρι ώστε να προστατευτούν από τον ήλιο και έμεινε στο ψυγείο έως ότου γίνουν οι χρωματογραφικοί προσδιορισμοί.

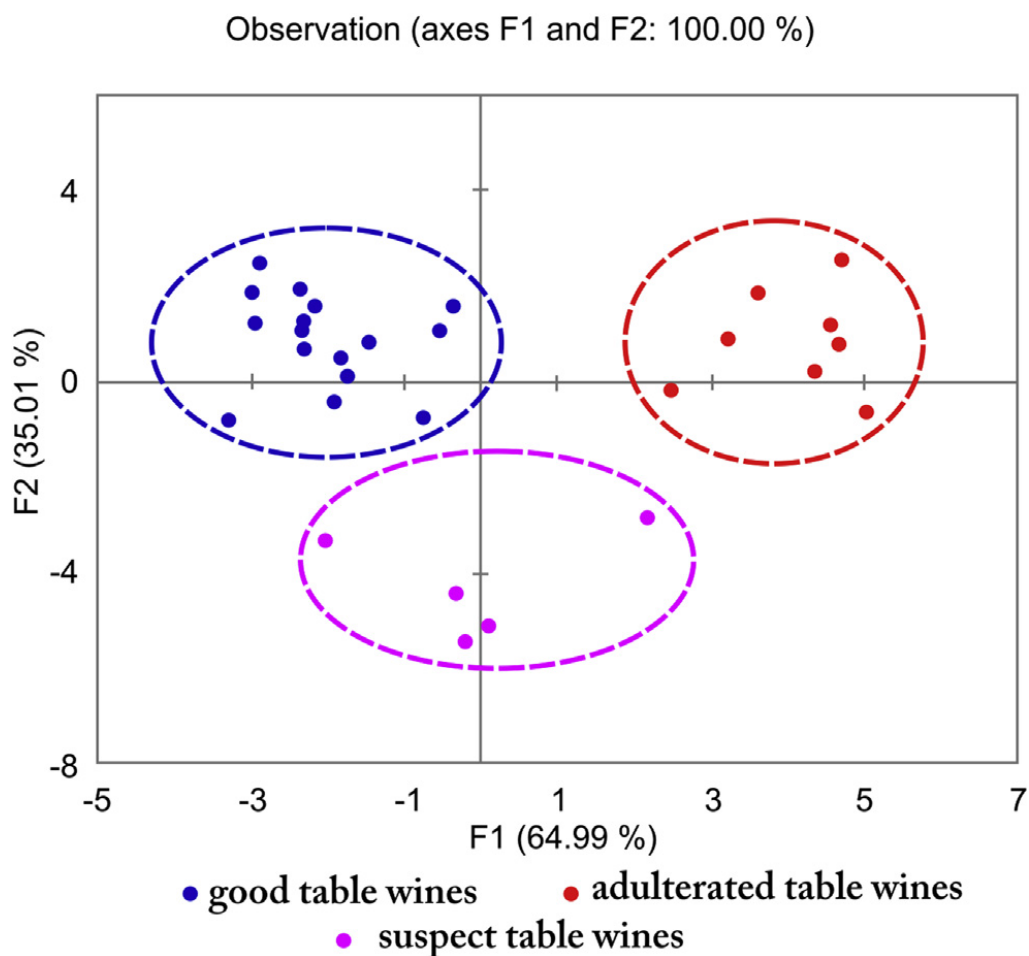
Με τη μέθοδο MA-E-AS312-06-ETHANO OIV (OIV, 2008a) έγινε ο προσδιορισμός της αναλογίας C-13 του οίνου, κατά τον οποίο χρησιμοποιήθηκε στοιχειακός αναλυτής ο οποίος υποβάλλει την αιθανόλη σε καύση με περίσσεια οξυγόνου και ύστερα γίνεται η μετατροπή σε αέριο CO<sub>2</sub>. Το παραπάνω συνέβη με φασματόμετρο μάζας αναλογίας ισοτόπων συνεχούς ροής (CF-IRMS). Ο τελικός σταθερός λόγος ισοτόπων C αναφέρθηκε μετά την καύση της ουσίας σε CO<sub>2</sub> και υπολογίστηκε ως ποσοστό (%). Η μέτρηση του οξυγόνου έγινε σε νερό που βγήκε από τα δείγματα οίνου με τη χρήση ενός φασματόμετρου μάζας αναλογίας ισοτόπων συνεχούς ροής (CF-IRMS). Η χρωματογραφική ανάλυση διεξήχθη με σύστημα HPLC. Δύο φορές έγιναν οι αναλύσεις HPLC και τα δεδομένα δόθηκαν σαν μέσοι όροι. Για να ελέγξουμε την απόδοση που έχει να κάνει με τους παράγοντες που μεταβάλλονται ή κάποιο σφάλμα που γίνεται τυχαία, έγινε ανάλυση των τυφλών δειγμάτων και ελέγχου.



**Εικόνα 14** Χρωματογράφημα HPLC οίνων Feteasca Neagra συγκομιδής 2011 (De, delphinidin-3-O-glucoside; Cy, cyanidin-3-O-glucoside; Pt, petunidin-3-O-glucoside; Pe, peonidin-3-O-glucoside; Mv, malvidin-3-O-glucoside; Pea, peonidin-3-O-(6-acetyl)glucoside; Mva, malvidin-3-O-(6-acetyl)glucoside; Pec, peonidin-3-O-(6-p-coumaroyl)glucoside and Mvc, malvidin-3-O-(6-p-coumaroyl)glucoside) (Πηγή: Geanaetal., 2016).

Όλες οι χημικές παράμετροι μετρήθηκαν δύο φορές. Με βάση την κατηγορία του οίνου έγινε η επεξεργασία των δεδομένων που λήφθηκαν και εκφράστηκαν σαν

μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις. Στη συνέχεια στα στοιχεία που προέκυψαν έγινε στατιστική επεξεργασία με ανάλυση διακύμανσης (ANOVA). Για να διακριθεί η κατηγορία του οίνου ( $p=0,05$ ) έγινε χρήση της δοκιμής Duncan. Επίσης για τον διαχωρισμό των οίνων ανά κατηγορία έγιναν τυπική ιεραρχική ανάλυση συστάδων και ανάλυση γραμμικής διάκρισης (LDA). Επιβεβαιώθηκε ότι η μέθοδος ανάλυσης αναλογίας σταθερών ισοτόπων είναι μια ισχυρή τεχνική για την πιστοποίηση της ταυτότητας των οίνων.



Εικόνα 15 Κατάταξη των οίνων βάση της αναλογίας ανθοκυανινών (Πηγή: Geanaetal.,2016)

### 5.7 Μοριακές αναλύσεις-Αναλύσεις DNA

Μία μέθοδος που επιφέρει αποτελέσματα και είναι ακριβής σχετικά με τον έλεγχο της ταυτότητας και της ποικιλίας ενός οίνου είναι αυτή που αναγνωρίζει, εξάγει και ενισχύει μικροδορυφόρους DNA. Είναι εφικτό να χρησιμοποιηθεί μόνη της ή μαζί με μεθόδους ανάλυσης χημικών προφίλ οίνων. Τα θετικά αυτής της μεθόδου είναι ότι το DNA είναι πολύ σταθερό σε μεγάλες θερμοκρασίες και χαμηλό

pH καθώς είναι και ανεξάρτητο από τις συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον (Villano et al., 2017). Μικροδορυφόρος είναι ένα μέρος του DNA το οποίο επαναλαμβάνεται και σε αυτό κάποια μοτίβα DNA συχνά επαναλαμβάνονται 5 με 50 φορές. Σε σχέση με άλλες περιοχές του DNA έχουν πιο μεγάλο ποσοστό μετάλλαξης και υπάρχουν σε πάρα πολλές θέσεις στο γονιδίωμα ενός οργανισμού. Οι γενετιστές φυτών αναφέρουν τους μικροδορυφόρους σαν απλές επαναλήψεις ακολουθιών (SSRs) (Vieira et al., 2016). Επίσης είναι δυνατό να ενταθούν για αναγνώριση μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) (Alzohairy & Lau, 2016).

Το να βρεθεί η πιο αποδοτική μέθοδος για την εξαγωγή DNA από τον οίνο και η δημιουργία καλύτερων συνθηκών αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) ώστε να υπάρχει αρκετή ενίσχυση για ενδεδειγμένη ανάλυση και επιβεβαίωση της ποικιλίας σε σχέση με κάποια γνωστή αλληλουχία DNA, είναι τα πιο βασικά βήματα στις αναλυτικές μεθόδους που έχουν να κάνουν με το DNA (Siret et al., 2000). Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί με αυτή τη μέθοδο, όπως: παράγοντες αποκωδόμησης του DNA και πολύπλοκη διαδικασία διαχωρισμού DNA, η οποία, αν δεν είναι αποτελεσματική, μπορεί να οδηγήσει σε αδυναμία ενίσχυσης του DNA για τη μελέτη του (An et al., 2014; Ibanez et al., 2001).

Δυστυχώς, επειδή η μέθοδος έχει κάποιους περιορισμούς υπάρχουν ακόμα κάποιες περιπτώσεις που ή δεν ήταν δυνατό να βγει αρκετή ποσότητα DNA από το κρασί που αναλύθηκε ή δε γινόταν να ενισχυθεί με PCR (επειδή ήταν τέτοιος ο τύπος της μήτρας και των παρεμβολών που λαμβάνουν χώρα μεταξύ τανινών, πολυσακχαριτών και πολυφαινολών) (Garcia-Beneytez et al., 2002). Ότι αναφέρθηκε παραπάνω ήταν τα εμπόδια που υπήρξαν σε μία έρευνα που έγινε το 2016, η οποία έδειξε ότι δε γινόταν να πιστοποιηθεί η γνησιότητα της ποικιλίας Sangiovese από έναν οίνο Brunello di Montalcino μέσω του χαρακτηρισμού του DNA (Catalano et al., 2016).

Σε αυτή τη μελέτη (Teixeira et al., 2021), συλλέχθηκαν διαφορετικά δείγματα οίνου (11), εδάφους (11) και υποστρώματος (11) από επτά αμπελώνες των δύο οριοθετημένων οινοπαραγωγικών περιοχών: (1) Μονς (υποπεριφέρεια Melgaço) και (2) περιοχή Douro (Πορτογαλία). Όλοι οι οίνοι παρήχθησαν από μονοποικιλιακές μικροοινοποιήσεις για την αποφυγή πιθανής πολυϊσοτοπικής μεταβλητότητας

Νεαρά φύλλα ποικιλιών αμπέλου Alvarinho, Touriga Franca και Touriga

Nacional συλλέχθηκαν από διαφορετικούς αμπελώνες και καταψύχθηκαν αμέσως σε υγρό άζωτο, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως υλικό αναφοράς για την ανάπτυξη των αναλύσεων. Το συνολικό γονιδιωματικό DNA εκχυλίστηκε από τα κατεψυγμένα νεαρά δείγματα φύλλων χρησιμοποιώντας τη μέθοδο CTAB. Η PCR πραγματοποιήθηκε σε ένα σύστημα PCR πραγματικού χρόνου (RT-PCR).

Η αναγνώριση της ποικιλίας αμπέλου σε δείγματα οίνου είναι εξαιρετικά σημαντική (Pereira et al., 2015; Gomes et al., 2018; Santos et al., 2014). Οι μοριακοί δείκτες Single Sequence Repeats (SSRs) έχουν εφαρμοστεί σε δείγματα οίνου για τον προσδιορισμό της σύνθεσης της ποικιλίας (Baleiras-Couto et al., 2006; Vignani et al., 2019; Pereira et al., 2011; Bocacci et al., 2012), ωστόσο, έχουν αναφερθεί ορισμένες δυσκολίες, κυρίως λόγω της ποιότητας και της ποσότητας του DNA που ανακτάται από τέτοια δείγματα. Οι Santos et al., (2014) έχουν προτείνει ότι μικρότεροι τόποι SSR θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για τέτοιο σκοπό. Ο πόρος για τους δείκτες SNP, ως εναλλακτική λύση για τους δείκτες SSR, έχει αποδειχθεί ότι είναι μια καλή επιλογή, καθώς είναι εξαιρετικά σταθεροί και επαναλαμβανόμενοι, με υψηλή διακριτική ισχύ (Cabezas et al., 2011) και εξαιρετικά αποτελέσματα σε δείγματα οίνου (Pereira et al., 2017; Barrias et al., 2019).

## **5.8 Λοιπές μέθοδοι ανάλυσης**

### **5.8.1 Τριχοειδής ηλεκτροφόριση**

Η τριχοειδής ηλεκτροφόρηση περιλαμβάνει έναν αριθμό ηλεκτροκινητικών τεχνικών που έχουν ως σκοπό τον διαχωρισμό των ενώσεων με βάση είτε τις διαφορές στην ηλεκτροφορητική κινητικότητα, την κατανομή φάσης ή το μοριακό μέγεθος ή τον συνδυασμό αυτών των ιδιοτήτων.

Οι τρόποι με τους οποίους χρησιμοποιείται η τριχοειδής ηλεκτροφόρηση σαν τεχνική για την ανάλυση των τροφίμων είναι οι παρακάτω:

- CZE (ηλεκτροφόρηση τριχοειδούς ζώνης),
- CIEF (τριχοειδική ισοηλεκτρική εστίαση),
- CITP (τριχοειδής ισοταχοφόρηση),
- CGE (ηλεκτροφόρηση τριχοειδούς πηκτής) και
- CEC (τριχοειδής ηλεκτροχρωματογραφία).

Για να αναλυθούν κάποια ανόργανα ιόντα, μικρά οργανικά μόρια, νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες, πεπτίδια κ.α έχουν χρησιμοποιηθεί όλες οι παραπάνω μέθοδοι (Kvansička, 2005).

Για την ταυτοποίηση και τη ποσοτικοποίηση της ρεσβερατρόλης στον οίνο χρησιμοποιείται η παραπάνω μέθοδος. Σε αντίθεση με τις τεχνικές HPLC, η μέθοδος CE είναι ταχύτερη αλλά με παρόμοια ευαισθησία και δυνατότητα διαφοροποίησης μεταξύ των ισομερών *cis* και *trans* της ρεσβερατρόλης. Αυτή η μέθοδος φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενη για τον προσδιορισμό των γλυκοσιδών στον οίνο (Gu et al., 2000).

### **5.8.2 Ηλεκτρονική γλώσσα, Ηλεκτρονική μύτη**

Η ηλεκτρονική γλώσσα (*e-tongue*) είναι ένα αναλυτικό εργαλείο που μετρά την ένταση της γεύσης. Τα κατώφλια αντίχενωσης είναι παρόμοια ή καλύτερα από αυτά των ανθρώπινων αποδοχέων. Η ηλεκτρονική γλώσσα αποτελείται από μη εκλεκτικούς χημικούς αισθητήρες και ένα εργαλείο το οποίο έχει τη δυνατότητα να αναγνωρίζει ποσοτικές και ποιοτικές συνθέσεις απλών και πολύπλοκων διαλυμάτων. Οι οργανικές και οι ανόργανες ενώσεις ανιχνεύονται από τα πολυηλεκτρόδια-αισθητήρες της ηλεκτρικής συσκευής. Με τον συνδυασμό των αποτελεσμάτων των αισθητήρων εμφανίζεται ένα μοναδικό δακτυλικό αποτύπωμα για κάθε υπό εξέταση προϊόν (Vlasov et al., 2005).

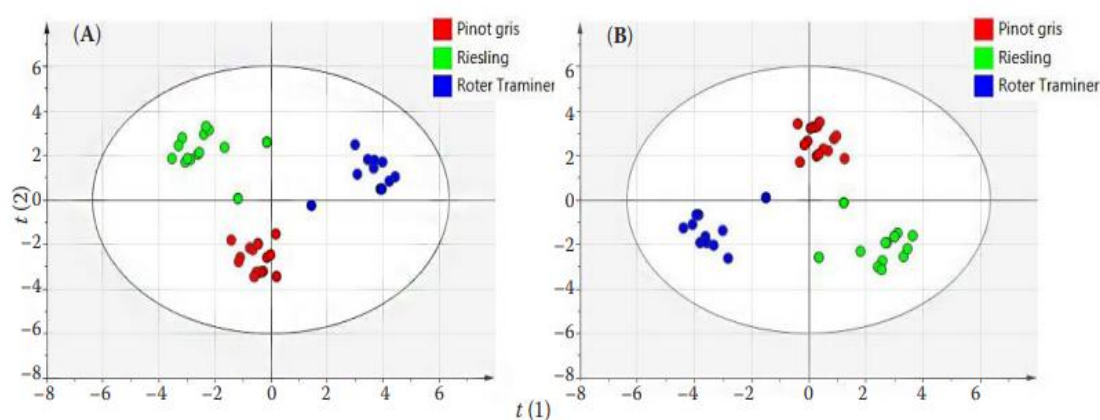
Όσο αφορά τις ηλεκτρονικές μύτες, στη βιομηχανία τροφίμων και ποτών είναι ευρέως διαδεδομένες ως αναλυτικά εργαλεία και υπάρχουν συσκευές διάφορων τύπων και αρχών λειτουργίας. Οι αισθητήρες από τους οποίους αποτελείται μία ηλεκτρονική μύτη, συλλέγουν διάφορα χημικά σήματα, τα οποία αναλύονται και ερμηνεύονται με τρόπο που μιμείται η ανθρώπινη μύτη (Santos et al., 2010). Οι ηλεκτρονικές μύτες μπορούν να παρέχουν πολλούς τρόπους για τον έλεγχο της ταυτότητας των οίνων, συμπεριλαμβανομένης της διάκρισης των οίνων ανά ποικιλία, γεωγραφική προέλευση και έτος παραγωγής (Alexandre et al., 2008).

### **5.8.3 Μεταβολομική μέθοδος**

Μεταβολομική ονομάζεται η μέθοδος με την οποία αναλύονται οι χημικές διεργασίες που περιλαμβάνουν μεταβολίτες, μικρά μόρια, τα οποία είναι τελικά ή/και

ενδιάμεσα προϊόντα του μεταβολισμού των κύτταρων. Πιο συγκεκριμένα, οι κυτταρικές διεργασίες αφήνουν πίσω τους κάποια μοναδικά χημικά δακτυλικά αποτυπώματα που με την βοήθεια της μεταβολομικής μεθόδου μελετώνται συστηματικά (Davis, 2005).

Σε μελέτη 43 εμπορικών οίνων (Uttletal., 2019) από διαφορετικές περιοχές, διαφορετικά οινοποιία και διαφορετικές ποικιλίες και διαφορετικά vintage της Τσέχικης Δημοκρατίας (Rieslingn=14, PinotGrisn=17, RoterTraminer=12), αναλύθηκαν οίνοι με χρήση HPLC σε συνδυασμό με TOF-MS για τη μελέτη του δακτυλικού αποτυπώματος των πτητικών συστατικών.



Εικόνα 20 Ανάλυση PCA (αριστερά) και PLS-DA(δεξιά) (Πηγή: Uttletal., 2019).

Η εργασία αυτή έδειξε την ικανότητα απόκτησης του μεταβολομικού δακτυλικού αποτυπώματος που βασίζεται στην εκχύλιση του αιθανικού αιθυλεστέρα, ακολουθούμενη από ανάλυση U-HPLC–HRMS/MS και πολυμεταβλητή χημειομετρική ανάλυση μέσω PCA και PLS-DA. Η εν λόγω μέθοδος είναι πολλά υποσχόμενη μέθοδος για την ταυτοποίηση οίνων που παράγονται από διαφορετικές ποικιλίες και για να γίνει ακόμη πιο αξιόπιστη, οι ερευνητές θα πρότειναν τη μελέτη διαδοχικών vintage από διαφορετικές περιοχές.

#### 5.8.4 Βολταμετρία

Η βολταμετρία είναι μία ηλεκτροανλυτική τεχνική, η οποία βασίζεται στην παρατήρηση της σχέσης που συνδέει την ένταση του ρεύματος και την τάση που εφαρμόζεται στο ηλεκτρόδιο εργασίας. Η ελεγχόμενη παράμετρος είναι το δυναμικό

του ηλεκτροδίου εργασίας, η οποία αναγκάζει τα μόρια ή τα ιόντα που βρίσκονται στο διάλυμα να αναχθούν ή να οξειδωθούν πάνω στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου αυτού.

Ειδοποιός διαφορά μεταξύ άλλων ηλεκτρολυτικών τεχνικών είναι ότι βασίζεται στη μέτρηση του ρεύματος, το οποίο αναπτύσσεται σε ένα ηλεκτροχημικό στοιχείο σε συνθήκες πλήρους πόλωσης συγκέντρωσης (Skoog et al., 2007). Πρόκειται για μια γρήγορη, εύκολη, φθηνή μέθοδο που δίνει αποτελέσματα με μεγάλη ακρίβεια (Mostafa et al., 2019).

Σε πείραμα της Λιβέρη (2021), για την ανίχνευση νοθείας σε λευκούς οίνους με χυμό μήλου ή/και μηλίτη, μέσω της συγκριτικής ανάλυσης στις κορυφές των βολταμμογραφημάτων, επιλέχθηκαν δύο μέθοδοι. Η πρώτη μέθοδος είναι η χρήση ηλεκτροδίου εκτυπωμένου άνθρακα τροποποιημένου με νανοσωματίδια χρυσού και η δεύτερη μέθοδος είναι η χρήση ηλεκτροδίου πλατίνας.

Έτσι, μετά την πραγματοποίηση των χημειομετρικών τεχνικών, η ερευνήτρια κατέληξε στο συμπέρασμα πως η μέθοδος του ηλεκτροδίου εκτυπωμένου άνθρακα ήταν η βέλτιστη. Επιπλέον, και οι δύο μέθοδοι διαθέτουν όρια ανίχνευσης συγκρίσιμα με τα βιβλιογραφικά τα οποία μπορούν να ανιχνεύσουν οποιαδήποτε νοθεία πραγματοποιείται σε εμπορικά διαθέσιμους λευκούς οίνους. Συνεπώς, συνοψίζοντας όλα τα παραπάνω η επιλεγθείσα μέθοδος, η οποία διαθέτει χαμηλό κόστος και διακρίνεται ως προς την ευκολία της προτείνεται για την εύρεση και ποσοτικοποίηση της νοθείας λευκού οίνου με χυμό και μηλίτη.

## **5.9 Χημειομετρικές μέθοδοι**

Η Χημειομετρία είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την αξιοποίηση και την βελτιστοποίηση εξαγωγής ενός μεγάλου όγκου πληροφοριών που προκύπτουν από αναλυτικά ποσοτικά πειράματα. Ο όρος χημειομετρία εισήχθη για πρώτη φορά το 1971 από το Σουηδό χημικό, S. Wold για να περιγράψει την αυξανόμενη χρήση μαθηματικών μοντέλων και στατιστικών αρχών στον κλάδο της χημείας. Ένας ορισμός που έχει επικρατήσει είναι αυτός που προτάθηκε από τον Massart κάποια χρόνια αργότερα και ακολουθεί στη συνέχεια

Δεν αρκεί μία μόνο παράμετρος αξιολόγησης της ποιότητας του οίνου για να αξιολογήσει εάν τα στοιχεία που δηλώνονται στην ετικέτα είναι αληθή (Temerdashev

et al. 2019). Έτσι, μια πληθώρα παραμέτρων πρέπει να ληφθούν υπόψιν. Μετά από μία ανάλυση, τα δεδομένα που λαμβάνονται είναι πολλές φορές περίπλοκα και γι' αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται χημειομετρικά εργαλεία για την εξόρυξη και την επεξεργασία των δεδομένων, ειδικά για την εξόρυξη δεδομένων από πολύπλοκα συστήματα. Επομένως, τα φάσματα και τα δεδομένα από τα διαφορετικά αναλυτικά όργανα αναλύονται μέσω χημειομετρικής ανάλυσης για καλύτερη διάκριση μεταξύ διαφορετικών οίνων (Gonzalez και Peña-Mendez 2000).

Όπως έγινε ήδη κατανοητό, οι χημειομετρικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται σε κάθε είδους ανάλυση για να επικυρώσουν τα δεδομένα. Συνεπώς, κρίθηκε σκόπιμο να αναλυθούν σε ειδική ενότητα στην παρούσα εργασία. Οι βασικότερες χημειομετρικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση του οίνου, παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω.

### **5.9.1 Ανάλυση Κυρίων Δεδομένων (PCA-Principal Component Analysis)**

Ο στόχος της PCA, είναι να προσδιορίσει το βασικό πυρήνα πληροφοριών που περιέχονται σε ένα σύστημα. Μέσω της προβολής όλων των δεδομένων ενός συνόλου, μπορούν να εντοπιστούν οι κύριες διαφορές μεταξύ αυτών και κατά συνέπεια να εντοπιστούν οι κύριες μεταβλητές (Otto 2016). Η εποπτευόμενη PCA θα ήταν δυνατό να εξηγήσει τις διαφορές ανάμεσα σε vintage, ενώ η μη εποπτευόμενη PCA θα μπορούσε να προσδιορίσει την προέλευση των σταφυλιών καθώς και τις ποικιλίες.

Η PCA είναι κατάλληλη για την αναγνώριση της οινικής προέλευσης καθώς σε μία μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Kosir et al. (2001), αποδείχθηκε πως η αποτελεσματικότητα του PCA είναι υψηλότερη από αυτές των τεχνητών νευρωνικών δικτύων CA και KANN. Επίσης, από τους Banc et al. (2014) και Kosir et al. (2001), παρατηρήθηκε πως ο συνδυασμός αναλύσεων και PCA αποτελεί ισχυρό εργαλείο για την πιστοποίηση της προέλευσης των οίνων.

Η PCA έχει χαρακτηριστικά υψηλής αξιοπιστίας και ευελιξίας, εστιάζοντας στην επίδραση της συνεισφοράς της συνολικής αξιολόγησης των πληροφοριών. Όταν όμως η ομαδοποίηση είναι υπερβολική, η ταξινόμηση και η επίδραση της PCA θα μειωθεί σημαντικά.



### **5.9.2 Διακριτική ανάλυση (DA-Discriminant Analysis)**

Η λογική της διακριτικής ανάλυσης είναι πως για να βρεθεί η κατηγορία στην οποία ανήκει ένα συγκεκριμένο άτομο, με βάση τα υπάρχοντα ευρετήρια σαφούς ταξινόμησης, πρέπει να δημιουργηθεί μία ομάδα διακριτικών κανόνων. Η DA με σκοπό την μεγαλύτερη ακρίβεια των αποτελεσμάτων και τη βελτίωση της ευαισθησίας, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μέσω του μοντέλου PLS-DA, για την επεξεργασία δεδομένων IR, MS, HPLC, Raman καθώς και άλλων τεχνολογιών (Bronzi et al. 2020; Dos Santos et al. 2017; Serrano-Lourido et al. 2012). Η DA είναι κατάλληλη σε περίπτωση που απαιτείται μείωση διαστάσεων ενός ογκώδους δείγματος αλλά παρουσιάζει χαμηλή ακρίβεια ταξινόμησης.

### **5.9.3 Ανάλυση συστάδων (CA-Cluster Analysis)**

Η ανάλυση συστάδων υπολογίζει την ομοιότητα που υπάρχει μεταξύ των δειγμάτων με μία ποσοτική μαθηματική μέθοδο. Οι Coetzee et al. (2014) εφάρμοσαν ICP-MS μαζί με PCA, CA και DA για να μελετήσουν διάφορους οίνους σε σχέση με το έδαφος. Η CA έδειξε σημαντικές διακρίσεις στις συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων σε οίνους διαφόρων περιοχών. Η CA χρησιμοποιείται συχνά στην προκαταρκτική διερευνητική ανάλυση δεδομένων, ωστόσο οι μεταβλητές πρέπει να υποβληθούν σε προεπεξεργασία πριν από την ομαδοποίηση. Η ακρίβεια των αποτελεσμάτων δεν είναι εφικτή όταν το μέγεθος του δείγματος είναι μεγάλο, καθώς η ομαδοποίηση των δεδομένων είναι δύσκολη.

### **5.9.4 Κανονική συσχέτιση (CC-Canonical Correletaion)**

Η CC χρησιμοποιείται για τη σύγκριση συγκεκριμένου συνόλου μεταβλητών που αφορούν 2 διαφορετικές παραμέτρους (π.χ. συσχέτιση μεταλλικής σύνθεσης εδάφους-οίνου) (Pohl, 2007).

### **5.9.5 HCA**

Η HCA (Hierarchical Cluster Analysis) ταξινομεί αντικείμενα σε συστάδες με

βάση τις αποστάσεις-διαφορές των χαρακτηριστικών τους σε υψηλές διαστάσεις. Με σκοπό την ανίχνευση ομάδων παρόμοιων ατόμων, τα αποτελέσματα εμφανίζονται σε δενδρόγραμμα (Brescia et al., 2003). Στην ιεραρχική συμπλεγματική ανάλυση, οι ομοιότητες μεταξύ των δειγμάτων καθορίζονται με βάση την έννοια της απόστασης, και υπολογίζονται από τις μαθηματικές σχέσεις της αριθμητικής ιδιότητας των δειγμάτων. Κάθε δείγμα συνδέεται με το πλησιέστερο δείγμα ή την ομάδα των δειγμάτων, και η απόσταση αυτή χρησιμοποιείται για να περιγράψει αυτή την ένωση.

Οι αποστάσεις μεταξύ των διαφορετικών ομάδων των δειγμάτων αξιολογούνται με τρόπους διαφορετικούς από τις κοινές μεθόδους σύνδεσης και αναπαρίστανται γραφικά σε ένα δενδρόγραμμα, το οποίο δείχνει την απόσταση κάθε δείγματος από τα άλλα (Du et al., 2012).

### **5.9.6 RDA**

Η RDA (Regularized Discriminant Analysis) περιλαμβάνει λειτουργίες διάκρισης οι οποίες ρυθμίζονται έτσι ώστε να μεγιστοποιούν τις αποστάσεις μεταξύ προκαθορισμένων ομάδων. Σκοπός της είναι να υπολογίζει μοντέλα κατάταξης και όρια, δίνοντας έναν κανόνα ταξινόμησης ο οποίος βασίζεται σε ένα σύνολο γνωστών αντικειμένων (Brescia et al., 2003). Ο κανόνας βρίσκει εφαρμογή στον καθορισμό της ταξινόμησης ενός συνόλου ελέγχου (άγνωστων αντικειμένων), αφού έχει προηγηθεί επικύρωση. Δύο προσεγγίσεις επικύρωσης που μπορούν να εφαρμοστούν είναι οι εξής: η ενδοπιστοποίηση και η μέθοδος ενός συνόλου ελέγχου. Όσο αφορά την πρώτη μέθοδο, από τον αρχικό πληθυσμό γίνεται αφαίρεση ενός ατόμου και στα υπόλοιπα άτομα εφαρμόζεται η μέθοδος RDA. Με αυτόν τον τρόπο γίνεται γνωστή η επίδραση κάθε ατόμου.

Οι συντεταγμένες του ατόμου που έχουν αφαιρεθεί υπολογίζονται, και έτσι επαληθεύεται η καταχώρηση του ατόμου σε κάποια ομάδα. Για τη μέθοδο ενός συνόλου ελέγχου, τα δείγματα χωρίζονται τυχαία σε ένα σύνολο που ονομάζεται training set (υπόδειγμα) και σχηματίζεται από το 66% των δειγμάτων.

Έτσι αναπτύσσεται ένα μοντέλο διάκρισης και ένα σύνολο επικύρωσης, το οποίο σχηματίζεται από το υπόλοιπο 33% των δειγμάτων και το οποίο δοκιμάζεται πάνω στο υπόδειγμα (Brescia et al., 2003).

### 5.9.7 Τεχνητό νευρωνικό δίκτυο (ANN-Artificial Neural Networks)

Τα ANN, με την εξαιρετική τους ικανότητα μη γραμμικής χαρτογράφησης, έχουν αναπτυχθεί ως μέθοδοι για διόρθωση μη γραμμικών συστημάτων. Είναι ένα μαθηματικό μοντέλο κατανεμημένης παράλληλης επεξεργασίας πληροφοριών που μιμείται τη συμπεριφορά του νευρικού συστήματος.

Ανάλογα το πόσο πολύπλοκο είναι το σύστημα, το δίκτυο επεξεργάζεται τα στοιχεία εντάσσοντας τις διασυνδέσεις ανάμεσα σε πολλούς εσωτερικούς κόμβους (Messai et al. 2016). Η ANN είναι πιο ακριβής μέθοδος και είναι πιο κατάλληλη για την ταυτοποίηση των οίνων, αυτό επιβεβαιώθηκε ύστερα από μία ανάλυση με πολλά ισότοπα και μακροστοιχεία που έκαναν οι Wu et al. (2019) σε 600 δείγματα οίνου που εισήγαγαν στην Κίνα.

Τα θετικά του ANN είναι η αυτοπροσαρμογή, η αυτομάθηση, η συσχετιστική αποθήκευση και η γρήγορη αναζήτηση της πιο καλής λύσης. Συγκριτικά με άλλες μεθόδους, είναι πιο απαιτητική όσον αφορά την υπολογιστική ισχύ. Παρόλα αυτά όμως επειδή έχει να κάνει με διαφορετικές λειτουργίες και δομές, φέρει πιο καλά αποτελέσματα.

Σε πείραμα του Khalafyan (et al., 2019) ταυτοποιήθηκε η γεωγραφική προέλευση 153 δειγμάτων οίνων με χρήση τεχνητών νευρωνικών δικτύων. Αυτοί οι οίνοι αποτελούνταν από 49 οίνους της ποικιλίας Riesling, 56 οίνους της ποικιλίας Chardonnay και 48 οίνους της ποικιλίας Muscat και όλοι προέρχονταν από οινοποιεία της περιοχής Krasnodar. Χρησιμοποιήθηκε επαγωγικά συζευγμένη φασματομετρία ατομικής εκπομπής πλάσματος για τον καθορισμό της περιεκτικότητας ιχνοστοιχείων και μακροστοιχείων στους οίνους.

Με τη χρήση νευρωνικών δικτύων STATISTICA έγιναν χημειομετρικές μελέτες. Από την ανάλυση 15 ιχνοστοιχείων και μακροστοιχείων, βρέθηκε ότι τα 5 από τα ιχνοστοιχεία (Fe, Mg, Ti, Na και Rb) θεωρήθηκαν, από ένα μοντέλο κατασκευασμένου νευρωνικού δικτύου, προγνωστικοί παράγοντες οι οποίοι μπόρεσαν να αναγνωρίσουν τις ετικέτες των οίνων. Δημιουργήθηκε ένα μοντέλο νευρωνικών δικτύων με προγνωστικούς παράγοντες ένα συγκεκριμένο είδος οίνου και πέντε ιχνοστοιχεία, ώστε να βρεθεί η περιοχή στην οποία καλλιεργήθηκε το σταφύλι. Για να γίνονται αυτόματα οι υπολογισμοί που χρειάζονται, δημιουργήθηκε ένα λογισμικό. Οι πιο ευαίσθητες αναλυτικές γραμμές χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό σχεδόν όλων των μετάλλων δοκιμής με εξαίρεση τα Al, Ca, Mg και Sr,

για τα οποία επιλέχθηκαν εναλλακτικές γραμμές λόγω φασματικών παρεμβολών και στην περίπτωση ορισμένων μακροστοιχείων, λόγω της ανάγκης μείωσης της έντασης του σήματος.

Sample group	Classification accuracy	Anapa subzone	Taman subzone	Black Sea zone	South Piedmont zone	Total
Training	Total	14	50	24	21	109
	Correct	12	49	24	19	104
	Incorrect	2	1	0	2	5
	Correct, %	85.71	98	100	90.48	95.41
Reference	Incorrect, %	14.29	2	0	9.52	4.59
	Total	3	12	3	4	22
	Correct	3	11	3	4	21
	Incorrect	0	1	0	0	1
Test	Correct, %	100	91.67	100	100	95.5
	Incorrect, %	0	8.33	0	0	4.54
	Total	1	11	5	5	22
	Correct	1	11	5	5	22
Test	Incorrect	0	0	0	0	0
	Correct, %	100	100	100	100	100
	Incorrect, %	0	0	0	0	0

**Εικόνα 17 Τα αποτελέσματα της κατηγοριοποίησης με βάση τη γεωγραφική προέλευση (Khalafyanetal., 2019)**

Οι ερευνητές μελέτησαν την αμοιβαία επίδραση των ιχνοστοιχείων και των μακροστοιχείων στα δείγματα που προετοιμάστηκαν για την ανάλυση χρησιμοποιώντας λύσεις μοντέλων που περιέχουν τις μεταβλητές ποσότητες τους. Τα μέταλλα προσδιορίστηκαν ποσοτικά με αραίωση των δοκιμαστικών δειγμάτων οίνου λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα των αναφερόμενων μελετών (Martin et al., 2012; Jurado et al., 2012; Rapeanu et al., 2009; Grindlay et al., 2011; Ivanova-Petropoulos et al., 2016; Gonzalvez et al., 2008; Ziola-Frankowska & Frankowski, 2017; Kaunova et al., 2013).

Element	Czech Republic	France	Germany	Italy	Spain
K	553–3056	265–426	480–1860	–	338–2032
Na	2.0–110	7.7–14.6	6–25	–	3.5–300
Ca	40–210	65–161	58–200	88–151	12–241
Mg	7.8–138	55–96	56–105	53–60	50–236
Al	–	0.56–1.27	–	–	0.57–14.3
Cu	–	ND–0.48	0.02–0.71	–	ND–3.1
Fe	0.9–5.2	0.81–2.51	0.4–4.2	–	0.4–17.4
Mn	0.28–3.26	0.63–0.96	0.5–1.3	–	0.1–5.5
Rb	0.56–1.20	0.64–0.72	0.2–2.9	0.50–9.90	0.1–5.3
Sr	0.34–0.53	0.22–0.47	0.12–1.28	0.40–1.16	0.28–1.50
Zn	–	0.44–0.74	0.3–1.5	–	ND–4.63
Ba	0.09–0.12	0.025–0.24	0.04–0.26	0.07–0.14	0.01–0.35
Cd	–	ND–0.0002	–	–	ND–0.019
Co	ND–0.018	0.004–0.011	0.004–0.005	0.003–0.006	ND–0.040
Cr	0.032–0.037	0.030–0.057	0.022–0.078	0.023–0.034	0.025–0.029
Li	0.015–0.052	0.008–0.036	0.005–0.043	–	0.002–0.13
Ni	–	ND–0.052	–	–	0.005–0.079
Pb	–	0.006–0.023	–	–	0.001–0.043
V	0.020–0.054	0.06–0.23	0.01–0.14	–	0.026–0.043

\* ND stands for not detected.

**Εικόνα 18 Οι συγκεντρώσεις των στοιχείων (mg/L) σε οίνους από διαφορετικές χώρες (Πηγή: Khalafyanetal. 2019)**

Η χημειομετρική λύση ενός προβλήματος προσδιορισμού της ποικιλίας σταφυλιού και της περιοχής όπου καλλιεργήθηκε το σταφύλι με νευρωνικά δίκτυα εφαρμόστηκε στο λογισμικό Statistica Neural Network (Hill & Lewicki, 2007).

Πιο πριν, οι Titarenko et al., (2018) για τις δοκιμές των λευκών οίνων χρησιμοποίησαν κλασικές στατιστικές μεθόδους που είχαν εφαρμοστεί (δέντρα ταξινόμησης, διακριτική ανάλυση), για να δημιουργήσουν πιθανά στατιστικά μοντέλα. Με αυτά ήταν εφικτό να βρεθεί η ποικιλία και η προέλευση του σταφυλιού με τη βοήθεια των συγκεντρώσεων 15 ιχνοστοιχείων. Τα ιχνοστοιχεία του οίνου εξαρτώνται από το έδαφος, σε αυτό βασίζονται τα μοντέλα που προτείνονται. Είναι δυνατό να αναγνωριστούν μέσω της χρήσης οργάνων και διαφόρων λειτουργιών για πολυστοιχειακή ανάλυση.

Σε αυτό το έργο εξετάστηκε το αν είναι δυνατόν η γεωγραφική προέλευση των οίνων και τα σήματά τους να προσδιοριστούν με λιγότερα ιχνοστοιχεία με αρκετή προγνωστική ακρίβεια μέσω της χρήσης μοντέλων νευρωνικών δικτύων. Για να αναγνωριστούν τα στοιχεία σαν προγνωστικά μοντέλα ταξινόμησης νευρωνικών δικτύων, χρησιμοποιήθηκε η συσχέτιση του Spearman, που αφορά τους δεσμούς ανάμεσα στην περιοχή όπου καλλιεργήθηκε το σταφύλι και των σημάτων από τα δείγματα του οίνου με τις περιεκτικότητες των ιχνοστοιχείων στα δείγματα αυτά. Για προγνωστικές μεταβλητές χρησιμοποιήθηκαν τα ιχνοστοιχεία Fe, Mg, Ti, Na και Rb, γιατί έχουν στατιστικά σπουδαίες συσχετίσεις. Εξακριβώνεται πως εμφανίζονται αρκετά βασικές διαφορές ανάμεσα στις μέσες τιμές για οίνους από διαφορετικά

εμπορικά σήματα και αμπελοτόπια. Αυτές ευθύνονται για την ικανότητα να δημιουργούνται μοντέλα ταξινόμησης και νευρωνικά δίκτυα.

Τα επανειλημμένα υπολογιστικά πειράματα έδειξαν ότι είναι δυνατό να κατασκευαστεί ένα κατάλληλο μοντέλο νευρωνικών δικτύων για τον προσδιορισμό της αυθεντικότητας των οίνων και της γεωγραφικής προέλευσής τους σε δύο στάδια. Βασικά, είναι σημαντικό να δημιουργηθεί ένα δίκτυο που να μπορεί να προβλέπει τα εμπορικά σήματα των οίνων σύμφωνα με τις περιεκτικότητες των ιχνοστοιχείων (Fe, Mg, Ti, Na και Rb). Στο δεύτερο στάδιο, θα πρέπει να κατασκευαστεί ένα δίκτυο για τον προσδιορισμό της περιοχής αμπελοκαλλιέργειας με βάση μεγαλύτερο αριθμό προγνωστικών παραγόντων, δηλαδή την προβλεπόμενη ετικέτα (ποιοτικό προγνωστικό) και το παραπάνω σύνολο ιχνοστοιχείων (ποσοτικοί προγνωστικοί).

Το πρόγραμμα Statistica Neural Network μπορεί να δημιουργήσει έναν καθορισμένο από τον χρήστη αριθμό νευρωνικών δικτύων που θα επιτρέψουν σε κάποιον να επιλέξει το καλύτερο μοντέλο ταξινόμησης νευρωνικών δικτύων με βάση τα κριτήρια που χαρακτηρίζουν τις προγνωστικές ιδιότητες των δικτύων. Όσο μεγαλύτερη είναι η παραγωγικότητα, τόσο πιο ακριβής είναι η πρόβλεψη και η υψηλότερη δυνατή παραγωγικότητα είναι 100%. Το πρόγραμμα δημιούργησε δίκτυα με προκαταρκτική διαίρεση και χώρισε τα δεδομένα σε τρία μέρη (ομάδες δειγμάτων αναφοράς, δοκιμής και εκπαίδευσης), ώστε να μεγαλώσουν οι προγνωστικές ιδιότητες. Αρχικά, μία ομάδα αναφοράς από τα δείγματα έλεγξε τα αποτελέσματα εκπαίδευσης του δικτύου. Μετά το πέρας της εκπαίδευσης, έγινε έλεγχος του δικτύου με χρήση μιας δοκιμαστικής ομάδας από δείγματα. Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας, ο συνολικός αριθμός λανθασμένων ταξινομήσεων ήταν 6 από 153 δείγματα, που είναι  $\approx 4\%$ . Δηλαδή, το νευρωνικό δίκτυο εντόπισε σωστά περίπου το 96% των δειγμάτων οίνου. Βασικό είναι να έχει γίνει σωστή κατανομή των δειγμάτων της ομάδας δοκιμής σε όλες τις περιοχές.

Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι η υψηλότερη ακρίβεια πρόβλεψης 100% επιτεύχθηκε και στην ομάδα δοκιμής των δειγμάτων με τη χρήση νευρωνικών δικτύων, μπορούμε να πούμε ότι κατασκευάστηκαν αποδεκτά μοντέλα ταξινόμησης για τον προσδιορισμό της ποικιλίας και της περιοχής ανάπτυξης σταφυλιών, χρησιμοποιώντας κλασικές εφαρμοσμένες στατιστικές μεθόδους (διακριτική ανάλυση και δέντρα ταξινόμησης) και ευρετικές διαδικασίες νευρωνικών δικτύων.

### **5.9.8. Μερικό ελάχιστο τετράγωνο (PLS)**

Η μέθοδος του μερικού ελαχίστου τετραγώνου είναι μια μαθηματική τεχνική βελτιστοποίησης που ανιχνεύει τη βέλτιστη συνάρτηση ενός συνόλου δεδομένων μέσω της ελαχιστοποίησης του αθροίσματος των τετραγώνων των σφαλμάτων και καθορίζει τη σχέση μεταξύ των μεταβλητών πρόβλεψης και των μεταβλητών απόκρισης για τη πρόβλεψη ενός συνόλου (Tenenhaus et al. 2005).

## **Κεφάλαιο 6<sup>ο</sup> : Συζήτηση & Συμπεράσματα**

Συμπερασματικά, η ποιότητα και τα χαρακτηριστικά του οίνου επηρεάζονται σημαντικά από τις εδαφοκλιματικές συνθήκες, τον τρόπο καλλιέργειας και τον τρόπο οινοποίησης των σταφυλιών. Καταναλωτές και οινοπαραγωγοί έχουν δείξει ενδιαφέρον όσο αφορά την διασφάλιση της ποιότητας του οίνου και την γεωγραφική του προέλευση.

Γι' αυτό το λόγο όπως αναφέρθηκε παραπάνω έχουν θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση κάποιοι κανόνες με σκοπό την προφύλαξη της γεωγραφικής ένδειξης καθώς και των ονομασιών προέλευσης. Αυτό δίνει την δυνατότητα και στους καταναλωτές να διαφοροποιούν τα ποιοτικά προϊόντα και να τα εμπιστεύονται. Αξίζει να σημειωθεί όμως πως οι σημάνσεις Π.Ο.Π. και Π.Γ.Ε. δηλώνονται από τους παραγωγούς και πως δεν υπάρχει πάντα κατάλληλος εργαστηριακός έλεγχος. Γι' αυτό το λόγο ένας τρόπος που μπορεί να διασφαλίσει την ποιότητα και την προστασία της ονομασίας προέλευσης των οίνων είναι μέσω του ελέγχου της νοθείας.

Με βάση τα στοιχεία και τα δεδομένα που παρουσιάζονται και αναλύονται στην παρούσα πτυχιακή μελέτη, μπορούμε με βεβαιότητα να αναφέρουμε πως δεν υπάρχει μία καθολική μέθοδος για την ανάλυση των οίνων όσον αφορά στον γεωγραφικό προσδιορισμό και στη νοθεία.

Έτσι, είναι απαραίτητο να συνδυάζονται διαφορετικές μέθοδοι ανάλυσης

(ανάλογα με την υπό εξέταση παράμετρο) μεταξύ τους και φυσικά με τη βοήθεια χημειομετρικών μεθόδων έτσι ώστε τα αποτελέσματα να είναι ορθά και επαναλήψιμα.

Με βάση τις οινοποιητικές παραδόσεις και πρακτικές που βρέθηκαν στη βιβλιογραφία, θεωρούμε πως καλύπτουμε ένα ευρύτατο φάσμα που αφορά τις μεθόδους ανάλυσης και είναι κάποιοι μέθοδοι που θα μπορούσαν να διασφαλίσουν την «ταυτότητα» ενός προϊόντος, ενώ θα ήταν η χρήση γηγενών στελεχών ζυμών και οξυγαλακτικών βακτηρίων ένα μέσο που προσδίδει μια ακόμα πιο ιδιαίτερη ταυτότητα στο προϊόν που μαζί με την ποικιλία θα το καθιστούσαν μοναδικό.

## **Βιβλιογραφία**

1. Aceto, M., O. Abollino, M. C. Bruzzoniti, E. Mentasti, C. Sarzanini, M. Malandrino. 2002. Determination of metals in wine with atomic spectroscopy (flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES); a review. *Food Additives and Contaminants* 19 (2):126–33. doi: 10.1080/ 02652030110071336.
2. Aleixandre, M.J., Lozano, J., Gutierrez, I., Sayago, M.J.F., Horrillo, M.C., (2008). Portable E-Nose to Classify Different Kinds of Wine. *Sens. Actuators B Chem.*, 131, 71–76.
3. Anastasiadi, M., Zira, A., Magiatis, P., Haroutounian, S. A., Skaltsounis, A. L. & Mikros, E. (2009). <sup>1</sup>H NMR-Based Metabonomics for the Classification of Greek Wines According to Variety, Region, and Vintage. Comparison with HPLC Data. *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57(23), 11067–11074. <https://doi.org/10.1021/jf902137e>
4. Arvanitoyannis, I. 1999. Application of quality control methods for assessing wine authenticity: Use of multivariate analysis (chemometrics). *Trends in Food Science & Technology* 10 (10):321–36. doi: 10.1016/S0924-2244(99)00053-9.
5. Arvanitoyannis, I. S., and O. B. Vaitisi. 2007. A review on tomato authenticity: Quality control methods in conjunction with multivariate analysis (chemometrics). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47 (7):675–99. doi: 10.1080/10408390600948568.



6. Arvanitoyannis, I. Wine authenticity, traceability and safety monitoring. In *Managing Wine Quality*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2010; pp. 218–270
7. Augagneur, S., B. Medina, J. Szpunar, and R. Lobinski. 1996. Determination of rare earth elements in wine by inductively coupled plasma mass spectrometry using a microconcentric nebulizer. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 11 (9):713–21. doi: 10.1039/JA9961100713
8. Banc, R., F. Loghin, D. Miere, F. Fetea, and C. Socaciu. 2014. Romanian wines quality and authenticity using FT-MIR spectroscopy coupled with multivariate data analysis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 42 (2):556–64. doi: 10.15835/nbha4229674.
9. Basalekou M., Pappas C., Tarantilis P.A., Kallithraka S., (2020). Wine Authenticity and Traceability with the use of FT-IR. *Beverages* 6(30)
10. Baxter, M., J. M. Crews, H. M. J. Dennis, I. Goodall, and D. Anderson. 1997. The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. *Food Chemistry* 60 (3):443–50. doi: 10.1016/S0308-8146(96)00365-2.
11. Belitz H. –D., Grosch W., Schieberle P. (2006), *Food Chemistry*, 375- 382, 404-417, 657-683, 700, 742, 1456-1494
12. Bertrand, A., Antajona - Serrano J., Olivier C., (1987). Incidence du debourbage et role des liquides sur la formation par les levures des produits secondaires lors de la vinification en biane. *Act. Rech. Inst. Oenol Bordeaux*. 67-71
13. Bianco, A.D.; Boatto, V.; Trestini, S.; Caracciolo, F., (2018). Understanding consumption choice of prosecco wine: An empirical analysis using Italian and German Homescan data. *J. Wine Res.*, 29, 190–203.
14. Bocková, J., Y. Tian, H. Yin, N. Delepine-Gilon, Y. Chen, P. Veis, and J. Yu. 2017. Determination of metal elements in wine using laser induced breakdown spectroscopy (LIBS). *Appl Spectrosc* 71 (8):1750–9. doi:10.1177/0003702817708337
15. Brescia, M.A., Kosir, I.J., Caldarola, V., Kidric, J., Sacco, A., 2003. Chemometric Classification of Apulian and Slovenian Wines Using <sup>1</sup>H NMR and ICP-OES together with HPICE Data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (51):21-26
16. Bronzi, B., C. Brillì, G. M. Beone, M. C. Fontanella, D. Ballabio, R. Todeschini, V. Consonni, F. Grisoni, F. Parri, and M. Buscema. 2020. Geographical identification of Chianti red wine based on ICPMS element

- composition. *Food Chemistry* 315:126248. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126248.
17. Brouillard, R., Chassaing, S., Fougerousse, (2003). Why are grape/fresh wine anthocyanins so simple and why is it that red wine colour last so long? *Phytochemistry*. 64,1179-1186
  18. Cabrita, M. J., N. Martins, P. Barrulas, R. Garcia, C. B. Dias, E. P. Pérez-Álvarez, A. M. C. Freitas, and T. Garde-Cerdan. 2018. Multielement composition of red, white and palhete amphora wines from Alentejo by ICPMS. *Food Control* 92:80–5. doi: 10.1016/j.foodcont. 2018.04.041.
  19. Caracciolo, F.; D’Amico, M.; Di Vita, G.; Pomarici, E.; Dal Bianco, A.; Cembalo, L., (2016). Private vs. Collective Wine Reputation. *Int. Food Agribus. Manag. Rev.*, 19, 191–210.
  20. Canizo, B. V., Escudero, L. B., Pellerano, R. G., Wuilloud, R. G. (2019). 10 - Quality Monitoring and Authenticity Assessment of Wines: Analytical and Chemometric Methods. *Quality Control in the Beverage Industry, Academic Press*, pp 335-384. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816681-9.00010-2>
  21. Chandra, S.; Chapman, J.; Power, A.; Roberts, J.; Cozzolino, D. (2017). Origin and Regionality of Wines—The Role of Molecular Spectroscopy. *Food Anal. Methods*, 10, 3947–3955.
  22. Cheynier, V. 2012. Phenolic compounds: From plants to foods. *Phytochemistry Reviews* 11 (2-3):153–77. doi: 10.1007/s11101-012-9248.
  23. Coetzee, P. P., F. P. van Jaarsveld, and F. Vanhaecke. 2014. Intraregional classification of wine via ICP-MS elemental fingerprinting. *Food Chemistry* 164:485–92. doi: 10.1016/j.foodchem.2014. 05.027.
  24. Colquhoun, I. J. 1993. NMR spectroscopy in food science. *Nutrition & Food Science* 93 (1):8–12. doi: 10.1108/EUM00000000000975.
  25. Cordella, C., I. Moussa, A.-C. Martel, N. Sbirrazzuoli, and L. Lizzani-Cuvelier. 2002. Recent developments in food characterization and adulteration detection: Technique-oriented perspectives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (7):1751–64. doi: 10.1021/jf011096z.
  26. Cozzolino, D. 2015. The role of visible and infrared spectroscopy combined with chemometrics to measure phenolic compounds in grape and wine samples. *Molecules (Basel, Switzerland)* 20 (1):726–37. doi:10.3390/molecules20010726.
  27. Cozzolino, D.; Cynkar, W.U.; Shah, N.; Smith, P.A. Can spectroscopy geographically classify Sauvignon Blanc wines from Australia and New Zealand?

Food Chem. 2011, 126, 673–678.

28. Cozzolino, D.; Holdstock, M.; Damberg, R.G.; Cynkar, W.U.; Smith, P.A. Mid infrared spectroscopy and multivariate analysis: A tool to discriminate between organic and non-organic wines grown in Australia. *Food Chem.* 2009, 116, 761–765.
29. Christoph N, Hermann A, Wachter H., (2015). 25 Years authentication of wine with stable isotope analysis in the European Union. Review and Outlook. *BIO Web Of Conferences.*
30. Cotte J.F., Casabianca H., Lheritier J., Perucchietti C., Sanglar C., Watson H., Grenier-Loustalot M.F., (2006). Study and validity of <sup>13</sup>C stable carbon isotopic analysis by mass spectrometry and <sup>1</sup>H site-specific natural isotopic fractionation by nuclear magnetic resonance isotopic measurements to characterize and control the authenticity of Honey. *Analytica Chimica Acta* 582: 125-136
31. Csapo, J., & Albert, C. (2018). Wine adulteration and its detection based on the rate and the Concentration of free amino acids. *Acta Agraria Debreceniensis*, 150, 139–151.
32. De La Presa-Owens C and Noble A.C. (1995), Descriptive analysis of three white wines varieties from Penedes, *Am. J. Enol. Vitic*, 46, 5–9.
33. Dos Santos, C. A. T., R. N. M. J. Pascoa, and J. A. Lopes. 2017. A review on the application of vibrational spectroscopy in the wine industry: From soil to bottle. *Trac Trends in Analytical Chemistry* 88:100–18. doi: 10.1016/j.trac.2016.12.012.
34. Dourtoglou, V.; Antonopoulos, A.; Dourtoglou, T.; Lalas, S. Discrimination of Varietal Wines According to their Volatiles. *Food Chem.* **2014**, 159, 181–187.
35. Dordevic, N., Camin, F., Marianella, R. M., Postma, G. J., Buydens, L. M. C. & Wehrens, R. (2013). Detecting the addition of sugar and water to wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19(3), 324–330.
36. Du, B., Zhu, F.M., Li, F.Y., (2012). Measurement and Analysis of mineral Components in Grape Wine by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Specometer. *Advance Journal of Food Science and Technology* (4):277-280.
37. Dubois, P., (1994). Les arômes des vins et leurs défauts. *Rev. Fv. Oenol.* 145, 27-40
38. Durante, C., C. Baschieri, L. Bertacchini, D. Bertelli, M. Cocchi, A. Marchetti, D. Manzini, G. Papotti, and S. Sighinolfi. 2015. An analytical approach to Sr isotope ratio determination in Lambrusco wines for geographical traceability purposes. *Food*

Chemistry 173: 557–63. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.086.

39. Erasmus, D. Van Der Merwe, G. Van Vauren, H., (2003). Metabolic adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to high sugar stress. *Ferns Yeast Research*. 3, 375-399
40. Etiavent, P., (1991). Wine in: Volatile compounds in foods and beverage, Ed Maarse, H., Marcel Dekker, Inc New York, 483-546
41. Everstine, K., Spink, J. & Kennedy, S. (2013). Economically Motivated Adulteration (EMA) of Food: Common Characteristics of EMA Incidents. *J Food Prot*, 76(4), 723–735.
42. Fan, S., Q. Zhong, C. Fauhl-Hassek, M. K.-H. Pfister, B. Horn, and Z. Huang. 2018. Classification of Chinese wine varieties using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy combined with multivariate statistical analysis. *Food Control* 88:113–22. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.11.002.
43. Fantoni, R., L. Caneve, F. Colao, L. Fornarini, V. Lazic, and V. Spizzichino. 2008. Methodologies for laboratory laser induced breakdown spectroscopy semi-quantitative and quantitative analysis—A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 63 (10): 1097–108. doi: 10.1016/j.sab.2008.08.008
44. Ferrari, E., Foca, G., Vignali, M., Tassi, L. & Ulrici, A. (2011). Adulteration of the anthocyanin content of red wines: Perspectives for authentication by Fourier Transform-Near InfraRed and <sup>1</sup>H NMR spectroscopies. *Analytica Chimica Acta*, 701(2), 139– 151.
45. Flamini, R. 2003. Mass spectrometry in grape and wine chemistry. Part I: Polyphenols. *Mass Spectrometry Reviews* 22 (4):218–50. doi: 10. 1002/mas.10052.
46. Fortunato, G.; Mumic, K.; Wunderli, S.; Pillonel, L.; Bosset, J.O.; Gremaud, G. Application of strontium isotope abundance ratios measured by MC-ICP-MS for food authentication. *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, 19, 227–234. [
47. Frias, S., (2003). Classification of commercial wines from the Canary Islands (Spain) by chemometric techniques using metallic contents. *Talanta*, 59, 335–344.
48. Frias S, Conde J E, Rodriguez-Bencome J.J., Perez-Trujillo J P (2003), Classification of commercial wines from the Canary islands (Spain) by chemometric techniques using metallic contents, *Talanta*, **59**, 335–344.
49. Fuhrman, B.; Volkova, N.; Coleman, R.; Aviram, M. (2005). Grape Powder Polyphenols Attenuate Atherosclerosis Development in Apolipoprotein E Deficient (E0) Mice and Reduce Macrophage Atherogenicity. *J. Nutr.*, 135, 722–728.

50. Galaninikolakaki, S.M.; Kallithrakas-Kontos, N.; Katsanos, A., (2002). Trace element analysis of Cretan wines and wine products. *Sci. Total. Environ.*, 285, 155–163.
51. Galgano, F., Favati, M. Caruso, T. Scarpa, and A. Palma. 2008. Analysis of trace elements in southern Italian wines and their classification according to provenance. *LWT - Food Science and Technology* 41 (10):1808–15. doi: 10.1016/j.lwt.2008.01.015
52. Gambetta, J.M.; Cozzolino, D.; Bastian, S.E.P.; Jeffery, D.W. Classification of Chardonnay Grapes According to Geographical Indication and Quality Grade Using Attenuated Total Reflectance Mid-infrared Spectroscopy. *Food Anal. Methods* 2019, 12, 239–245
53. Garde Cerdan T., Torrea Goni T., Ancin Azpilicueta C., (2004). Accumulation of volatile compounds during ageing of two red wines with different composition. *Journal of Food Engineering*. 65, 349-356
54. Garde-Cerdán, T., C. Lorenzo, J. M. Carot, J. M. Jabaloyes, M. D. Esteve, and M. R. Salinas. 2008. Statistical differentiation of wines of different geographic origin and aged in barrel according to some volatile components and ethylphenols. *Food Chemistry* 111 (4): 1025–31. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.05.006.
55. Garde-Cerdán, T., C. Lorenzo, J. M. Carot, M. D. Esteve, M. D. Climent, and M. R. Salinas. 2009. Differentiation of barrel-aged wines according to their origin, variety, storage time and enological parameters using fermentation products. *Food Control* 20 (3): 269–76. doi: 10.1016/j.foodcont.2008.05.003
56. Geana, I., A. Iordache, R. Ionete, A. Marinescu, A. Ranca, and M. Culea. 2013. Geographical origin identification of Romanian wines by ICP-MS elemental analysis. *Food Chemistry* 138 (2-3):1125–34. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.104
57. Geana, E.I.; Popescu, R.; Costinel, D.; Dinca, O.R.; Stefanescu, I.; Ionete, R.E. Verifying the Red Wines Adulteration through Isotopic and Chromatographic Investigations Coupled with Multivariate Statistic Interpretation of the Data. *Food Control* **2016**, 62, 1–9.
58. Geana, E. I., Popescu, R., Costinel, D., Dinca, O. R., Stefanescu, I., Ionete, R. E. *et al.* (2016). Verifying the red wines adulteration through isotopic and chromatographic investigations coupled with multivariate statistic interpretation of the data. *Food Control*, 62, 1–9.
59. Giosanu D., Vijan L.E., Costinel D., Deliu I.,(2013). The isotopic analysis: A

- good tool for verifying the geographical origin of wines. *Rev.Chim* 64(3):414-416.
60. Gonzalez, G., and E. M. Peña-Mendez. 2000. Multivariate data analysis in classification of must and wine from chemical measurements. *European Food Research and Technology* 212 (1):100–7. doi: 10.1007/s002170000207.
61. González, A., A. Llorens, M. Cervera, S. Armenta, and M. de la Guardia. 2009. Elemental fingerprint of wines from the protected designation of origin Valencia. *Food Chemistry* 112 (1):26–34. doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.043
62. Grindlay, G., J. Mora, L. Gras, and M. T. C. de Loos-Vollebregt. 2011. Atomic spectrometry methods for wine analysis: A critical evaluation and discussion of recent applications. *Analytica Chimica Acta* 691 (1–2):18–32. doi: 10.1016/j.aca.2011.02.050.
63. Guidetti, R.; Beghi, R.; Bodrial, L. Evaluation of Chiavennasca grapefruit technological and phenolic ripening indexes by a portable Vis-NIR device. In *Agricultural and Biosystems Engineering for a Sustainable World, International Conference on Agricultural Engineering, Hersonissos, Crete, Greece, 23–25 June 2008*
64. Guth H (1997), Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties, *J Agric Food Chem*, **45**, 3027–3032
65. Gu, X.; Chu, Q.; O’Dwyer, M.; Zeece, M., (2000). Analysis of Resveratrol in Wine by Capillary Electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 11, 471–481
66. Holmberg, L., (2010). Wine Fraud. *Int. J. Wine Res.*, 2, 105–113.
67. Horn, P., P. Schaaf, B. Holbach, S. HuLzl, and H. Eschnauer. 1993.  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  from rock and soil into vine and wine. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 196 (5):407–9. doi: 10.1007/BF01190802.
68. Hong, E., Lee, S. Y., Jeong, J. Y., Park, J. M., Kim, B. H., Kwon, K. *et al.* (2017). Modern analytical methods for the detection of food fraud and adulteration by food category. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(12), 3877-3896. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8364>
69. Hu, X.Z.; Liu, S.Q.; Li, X.H.; Wang, C.X.; Ni, X.L.; Liu, X.; Wang, Y.; Liu, Y.; Xu, C.H. Geographical origin traceability of Cabernet Sauvignon wines based on Infrared fingerprint technology combined with chemometrics. *Sci. Rep.* 2019, 9, 1–9
70. Huang X.Y., Jiang Z.T., Tan J., Li R., (2017). Geographical Origin Traceability of Red Wines Based on Chemometric Classification via Organic Acid Profiles. *Journal of Food Quality*. Doi: 10.1155/2017/2038073

71. Ilbery B, Kneafsey M., (2000). Producer Constructions of Quality in Regional Speciality Food Production: a Case Study from South West England. *Journal of Rural Studies* 16: 217–230.
72. Jiang, W., J. Xue, X. Liu, D. Wang, Y. Guo, and L. Wang. 2015. The application of SNIF-NMR and IRMS combined with C, H and O isotopes for detecting the geographical origin of Chinese wines. *International Journal of Food Science & Technology* 50 (3):774–81. doi: 10.1111/ijfs.12686.
73. Jones, G.V. (2018). The Climate Component of Terroir. *Elements*, 14 (3): 167-172
74. Kallithraka, S., Arvanitoyannis, I. S., Kefalas, P., El-Zajouli, E., Soufleros, E. & Psarra, E. (2001). Instrumental and sensory analysis of Greek wines; implementation of principal component analysis (PCA) for classification according to geographical origin. *Food Chemistry*, 73(4), 501-514. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00327-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00327-7)
75. Kalogiouri, N.P.; Samanidou, V.F. Liquid chromatographic methods coupled to chemometrics: A short review to present the key workflow for the investigation of wine phenolic composition as it is affected by environmental factors. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2020**, 1–15.
76. Kelly, S. D. 2003. Using stable isotope ratio mass spectrometry (IRMS) in food authentication and traceability. *Food Authenticity and Traceability* 156–83. doi: 10.1533/9781855737181.1.156.
77. Khalafyan A.A., Temerdashev Z.A., Kaunova A.A., Abakunov V.O., Titarenko V.A., Ivanovets E.A., (2018). Determination of the wine variety and geographical origin of white wines using neural network technologies. *Journal Of Analytical Chemistry* 74(6):617-624.
78. Košir, I. J., M. Kocjani, N. Ogrinc, and J. Kidric. 2001. Use of SNIFNMR and IRMS in combination with chemometric methods for the determination of capitalisation and geographical origin of wines (the example of Slovenian wines). *Analytica Chimica Acta* 429 (2): 195–206. doi: 10.1016/S0003-2670(00)01301-5.
79. Košir, I., M. Kocjani, and J. Kidric . 1998. Wine analysis by 1D and 2D NMR spectroscopy. *Analisis* 26 (2):97–101. doi: 10.1051/analisis:1998118
80. Kvasnička, F., (2005). Capillary electrophoresis in food authenticity. *J. Sep. Sci.*, 28, 813–825.
81. Laghi, L.; Versari, A.; Parpinello, G.P.; Nakaji, D.Y.; Boulton, R.B. FTIR

- Spectroscopy and Direct Orthogonal Signal Correction Preprocessing Applied to Selected Phenolic Compounds in Red Wines. *Food Anal. Methods* 2011, 4, 619–625.
82. Lambropoulos I., Roussis I., (2007). Inhibition of the decrease of volatile esters and terpenes during storage of a white wine and a model wine medium by caffeic acid and gallic acid. *Food Research International* 40, 176- 181
83. Larrain, M.; Guesalaga, A.R.; Agosin, E. A multipurpose portable instrument for determining ripeness in wine grapes using NIR spectroscopy. *IEEE Trans. Inst. Meas.* 2008, 57, 294–302.
84. Latorre J M, Garcia-Jares C, Medina B and Herrero C (1994), Pattern recognition analysis applied to classification of wines from Galicia (Northwestern Spain) with certified brand of origin, *J Agric Food Chem*, **42**, 1451–1455.
85. Lohumi, S., S. Lee, H. Lee, and B.-K. Cho. 2015. A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration. *Trends in Food Science & Technology* 46 (1):85–98. doi: 10.1016/j.tifs.2015.08.003.
86. Lorrain, B., I. Ky, L. Pechamat, and P.-L. Teissedre. 2013. Evolution of analysis of polyphenols from grapes, wines, and extracts. *Molecules (Basel, Switzerland)* 18 (1):1076–100. doi: 10.3390/molecules18011076.
87. Macrae, R. 2007. Recent applications of high pressure liquid chromatography to food analysis. *International Journal of Food Science & Technology* 16 (1):1–11. doi: 10.1111/j.1365-2621.1981.tb00990.x.
88. Mandrile, L., G. Zeppa, A. M. Giovannozzi, and A. M. Rossi. 2016. Controlling protected designation of origin of wine by Raman spectroscopy. *Food Chemistry* 211:260–7. doi: 10.1016/j.foodchem.2016. 05.011
89. Masneuf-Pomarede I., Chantal Mansour, Marie-Laure M., Takatoshi Tominaga, Dubourdiou D., (2006). Influence of fermentation temperature on volatile thiols concentrations in Sauvignon blanc wines. *Journal of food microbiology*. 108, 385-390
90. McDonald, J. G., B. M. Thompson, E. C. McCrum, and D. W. Russell. 2007. Extraction and analysis of sterols in biological matrices by high performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *Lipidomics and Bioactive Lipids: Mass Spectrometry-Based Lipid Analysis* 432:145–70. doi: 10.1016/s0076- 6879(07)32006-5.



91. Messai, H., M. Farman, A. Sarraj-Laabidi, A. Hammami-Semmar, and N. Semmar. 2016. Chemometrics methods for specificity, authenticity and traceability analysis of olive oils: Principles, classifications and applications. *Foods* 5 (4):77. doi: 10.3390/foods5040077
92. Monagas M., Carmen Gomez-Cordoves, Begona Bartolome. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chemistry* 95, (2006) 405-412
93. Moncayo, S., J. D. Rosales, R. Izquierdo-Hornillos, J. Anzano, and J. O. Caceres. 2016. Classification of red wine based on its protected designation of origin (PDO) using Laser-induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). *Talanta* 158:185–91. doi: 10.1016/j.talanta.2016. 05.059
94. Moret, I.; Scarponi, G.; Cescon, P. (1994). Chemometric Characterization and Classification of Five Venetian White Wines. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1143–1153.
95. Mostafa G.A.E, Al-Otaibi Y.H, Al-Badr A.A, «Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology,» 2019, pp. 1-165.
96. Mutavdži, M., D. 41. Mutavdžić,, K. Radotic, and D. M. Opsenica. 2013. Differentiation of wine commercial samples by using fluorescence spectroscopy and multivariate analysis. *Acta Agriculturae Serbica* 36:169–77.
97. Ogrinc, N., I. J. Košir, J. E. Spangenberg, and J. Kidric. 2003. The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 376 (4):424–30. doi: 10.1007/s00216-003- 1804-6.
98. Pasvanka, K.; Tzachristas, A.; Proestos, C. Quality Tools in Wine Traceability and Authenticity. In *Quality Control in the Beverage Industry*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2019; pp. 289–334.
99. Pazourek, J.; González, G.; Revilla, A.L.; Havel, J. Separation of polyphenols in Canary Islands wine by capillary zone electrophoresis without preconcentration. *J. Chromatogr. A* **2000**, 874, 111–119.
100. Perestrelo, R., C. Silva, and J. S. Camara. 2014. A useful approach for the differentiation of wines according to geographical origin based on global volatile patterns. *Journal of Separation Science* 37 (15): 1974–81. doi: 10.1002/jssc.201400374
101. Perestrelo, R.; Barros, J.; Sílvia, M.R. In *Depth Search Focused on Furans, Lactones, Volatile Phenols, and Acetals as Potential Age Markers of Madeira Wines*

- by Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography with Time of Flight Mass Spectrometry Combined with Solid Phase Microextraction. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, 59, 3186–3204. [[CrossRef](#)]
102. Pirnău, A., M. Bogdan, D. A. Măgdas, and D. Stătescu. 2013. Isotopic analysis of some Romanian wines by <sup>2</sup>H NMR and IRMS. *Food Biophysics* 8 (1):24–8. doi: 10.1007/s11483-012-9278-8.
103. Pohl, P., 2007. What do metals tell us about wine?. *Trends in Analytical Chemistry* 26(9):941-948.
104. Pudney, P. D. A., and T. M. Hancewicz. 2010. The role of confocal Raman spectroscopy in food science. *Handbook of Vibrational Spectroscopy* doi: 10.1002/0470027320.s8939.
105. Reid, L. M., C. P. O'Donnell, and G. Downey. 2006. Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends in Food Science & Technology* 17 (7):344–53. doi: 10.1016/j.tifs.2006.01.006.
106. Pérez-Trujillo, J.-P.; Barbaste, M.; Médina, B. Chemometric Study of Bottled Wines with Denomination of Origin from the Canary Islands (Spain) Based on Ultra-Trace Elemental Content Determined by ICP-MS. *Anal. Lett.* **2003**, 36, 679–697.
107. Qian, J., Wu, H., Lieber, C., & Bergles, E. (2013). Non-Destructive Red Wine Measurement with Dispersive 1064 nm Raman Spectroscopy. *SPECTROSCOPY*, 16-16.
108. Ravindran, A., Nesamani, F. P. & D. N. (2018). A Study on the use of Spectroscopic Techniques to Identify Food Adulteration. *2018 International Conference on Circuits and Systems in Digital Enterprise Technology (ICCSDET)*, 1-6.
109. Ribereau-Gayon, P.; Maujean, A.; Dubourdieu, D.; Rychlewski, C. *The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments Handbook of Enology*; Johan Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2006; pp. 104–127.
110. Riovanto, R.; Cynkar, W.U.; Berzaghi, P.; Cozzolino, D. Discrimination between Shiraz wines from different Australian regions: The role of spectroscopy and chemometrics. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 10356–10360.
111. Romera-Fernandez, M.; Berrueta, L.A.; Garmon-Lobato, S.; Gallo, B.; Vicente, F.; Moreda, J.M. Feasibility study of FT-MIR spectroscopy and PLS-R for the fast determination of anthocyanins in wine. *Talanta* 2012, 88, 303–310.

112. Santos, J.P., Lozano, J., Aleixandre, M., Arroyo, T., Cabellos, J.M., Gil, M., Horrillo, M.D.C., (2010). Threshold detection of aromatic compounds in wine with an electronic nose and a human sensory panel. *Talanta*, 80, 1899–1906.
113. Sádecká, J., Jakubíková, M. & Májek P. (2018). Fluorescence spectroscopy for discrimination of botrytized wines. *Food Control*, 88, 75-84.
114. Santos J.A., Fraga, H., Malheiro, A.C., Moutinho-Pereira, J., Dinis, L.-T., Correia, C., Moriondo, M., Leolini, L., Dibari, C., CostafredaAumedes, S., Kartschall, T., Menz, C., Molitor, D., Junk, J., Beyer, M., Schultz, H.R. (2020). A Review of the Potential Climate Change Impacts and Adaptation Option for European Viticulture. *Applied Sciences*, 10 (9): 3092
115. Skoog, D.A, Crouch, J.H.S.R (2007). *Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης*. Εκδόσεις Κωστανάκη.
116. Serrano-Lourido, D., J. Saurina, S. Hernandez-Cassou, and A. Checa. 2012. Classification and characterisation of Spanish red wines according to their appellation of origin based on chromatographic profiles and chemometric data analysis. *Food Chemistry* 135 (3): 1425–31. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.06.010
117. Sivertsen, H. K., B. Holen, F. Nicolaysen, and E. Risvik. 1999. Classification of French red wines according to their geographical origin by the use of multivariate analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79 (1):107–15. doi: 10.1002/(sici)1097- 0010(199901)79:1<107::aid-jsfa193>3.0.co;2-a.
118. Tarantilis P A, Troianou V E, Pappas C S, Kotseridis Y S and Polissiou M G (2008), Differentiation of Greek red wines on the basis of grape variety using attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy, *Food Chem*, **111**, 192–196.
119. Temerdashev, Z., Khalafyan, A., Kaunova, A. Abakumov, A., Titarenko, V., Akinshina. V., 2019. Using neural networks to identify the regional and varietal origin of Cabernet and Merlot dry red wines produced in Krasnodar region. *Foods and Raw Materials* 7: 124–30. doi: 10.21603/2308-4057-2019-1-124-130.
120. Tenenhaus, M., V. E. Vinzi, Y.-M. Chatelin, and C. Lauro. 2005. PLS path modeling. *Computational Statistics & Data Analysis* 48 (1): 159–205. doi: 10.1016/j.csda.2004.03.005
121. Thompson, J. M. 2018. *Mass spectrometry*. Singapore: Pan Stanford Publishing Pvt. Ltd
122. Urbano Cuadrado, M., Luque De Castro, M.D., Gómez-Nieto, M.A., (2005).

- Study of spectral analytical data using fingerprints and scaled similarity measurements. *Anal. Bioanal. Chem.* 381: 953–963
123. Urvieta, R., F. Buscema, R. Bottini, B. Coste, and A. Fontan. 2018. Phenolic and sensory profiles discriminate geographical indications for Malbec wines from different regions of Mendoza, Argentina. *Food Chemistry* 265:120–7. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.05.083
  124. Versari, A.; Laurie, V.F.; Ricci, A.; Laghi, L.; Parpinello, G.P. Progress in Authentication, Typification and Traceability of Grapes and Wines by Chemometric Approaches. *Food Res. Int.* **2014**, 60, 2–18.
  125. Vlasov, Y., Legin, A., Rudnitskaya, A., Di Natale, C., D'Amico, A., (2005). Nonspecific sensor arrays (“electronic tongue”) for chemical analysis of liquids (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.*, 77, 1965–1983.
  126. Volschenk, H., H. J. J. Van Vuuren, and M. Viljoen-Bloom. 2006. Malic acid in wine: Origin, function and metabolism during vinification. *South African Journal of Enology and Viticulture* 27 (2):123–36. doi: 10.21548/27-2-1613.
  127. Wachs, T., J. C. Conboy, F. Garcia, and J. D. Henion. 1991. Liquid chromatography-mass spectrometry and related techniques via atmospheric pressure ionization. *Journal of Chromatographic Science* 29 (8):357–66. doi: 10.1093/chromsci/29.8.357
  128. Wilschefski S.C., Baxter M.R., (2019). Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *The Clinical Biochemist Review* 40(3)
  129. Wu, H., L. Tian, B. Chen, B. Jin, B. Tian, L. Xie, K. M. Rogers, and G. Lin. 2019. Verification of imported red wine origin into china using multi isotope and elemental analyses. *Food Chemistry* 301:125137 doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125137.
  130. Wurz, D.(2019). Wine and health: A review of its benefits to human health. *BIO Web Conf.*, 12, 04001.
  131. Zoecklein, B.W.; Fugelsang, K.C.; Gump, B.H.; Nury, F.S. *Wine Analysis and Production*; Chapman and Hall: New York, NY, USA, 1994.
  132. Καρυπίδης, 2009. Οίνος και ετυμολογία αυτού.
  133. Καραδήμα, Χ. (Άγνωστο έτος). Το κρασί της Θάσου στην αρχαιότητα.
  134. Λιβέρη Μ., (2021). Ανάπτυξη και αξιολόγηση βολταμμετρικής τεχνικής ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης νοθείας λευκού οίνου με χυμό μήλου και

μηλίτη. Διπλωματική Εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

135. Αλεξιάκης Α., (2000). Το κρασί και η παραγωγή του. Εκδόσεις Σιδερή
136. Ζουμπούτης Ι.- Τσιβεριώτου Μ., (2003). Στοιχεία αμπελουργίας και οινολογίας. Εκδόσεις Ίων
137. Θεοδοσίου Π. Σ., (1992). Μαθήματα οινοποιίας. Έκδοση Υπηρεσία δημοσιευμάτων πανεπιστημιακού τυπογραφείου, Θεσσαλονίκη
138. Νακοπούλου Ζ., (2005). Αζωτούχα συστατικά γλεύκους και οίνου των ποικιλιών ροδίτη και Sauvignon plane: Μεταβολές του πρωτεϊνικού προφίλ και άλλων συστατικών κατά την αλκοολική ζύμωση. Μεταπτυχιακή διατριβή. Θεσσαλονίκη
139. Σουφλερός Ε., (1997). Οινολογία, επιστήμη και τεχνογνωσία. Θεσσαλονίκη. Τόμος Ι
140. Σουφλερός Ε., (1997). Οινολογία, επιστήμη και τεχνογνωσία. Θεσσαλονίκη. Τομος ΙΙ
141. Τσακίρης Α., (1994). Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί. Εκδόσεις Ψύχαλου. Αθήνα.
142. Τσακίρης Α., (2005). Οινολογία, έρευνα και εφαρμογές. Εκδόσεις ψύχαλου. Αθήνα
143. Τσέτουρας Π. (2003). Οινοτεχνία, η επιστήμη του κρασιού στην πράξη. Εκδόσεις Σταμούλη. Αθήνα.
144. Κανονισμός (ΕC 2676/90)
145. [www.oiv.int](http://www.oiv.int) (Τελευταία επίσκεψη: 20/08/2022)
146. [www.icapcrif.com](http://www.icapcrif.com) (Τελευταία επίσκεψη: 19/09/2022)
147. [www.newwinesofgreece.com](http://www.newwinesofgreece.com) (Τελευταία επίσκεψη: 29/09/2022)
148. ΕΛΣΤΑΤ – [www.statistics.gr](http://www.statistics.gr) (Τελευταία επίσκεψη: 14/07/2022)
149. [www.icapcrif.gr](http://www.icapcrif.gr) (Τελευταία επίσκεψη: 19/09/2022)
150. Wikipedia (Τελευταία επίσκεψη: 14/08/22)