



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΧΗΜΕΙΑΣ»**

**ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ « ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ »**

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**Στοχευμένη Μεταβολομική Μελέτη**

**σε Αλκοολούχα Ποτά**

**ΑΛΚΕΝΑΡΗΣ ΧΑΡΙΛΑΟΣ**

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΑΘΗΝΑ**

**ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2015**

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**Στοχευμένη Μεταβολομική Μελέτη  
σε Αλκοολούχα Ποτά**

**ΑΛΚΕΝΑΡΗΣ ΧΑΡΙΛΑΟΣ**

**A.M.: 41201**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:**

Λιούνη Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Λιούνη Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

Ζουμπουλάκης Παναγιώτης, Ερευνητής Γ' Ε.Ι.Ε.

Προεστός Χαράλαμπος , Λέκτορας

**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 23/09/2015**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία μελετά οίνους, ελληνικά αποστάγματα στέμφυλων σταφυλής (τσίπουρο, τσικουδιά) και ούισκι από τη Σκωτία, με την εφαρμογή φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance, NMR).

Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν 33 δείγματα οίνου όπου αποτελούνταν από 5 ποικιλίες ( 4 ερυθροί και 1 λευκή ) , 114 αποστάγματα στέμφυλων σταφυλής (75 τσίπουρο, 39 τσικουδιά) από 9 ποικιλίες και καθώς και 23 ούισκι από 6 αποστακτήρια.

Σε αυτή την κατεύθυνση ελήφθησαν NMR φάσματα σε ακατέργαστα δείγματα (Untreated), σε λυοφιλοποιημένα (Lyophilized) και σε εκχυλίσματα μεθανόλης (Extracted). Επίσης, ταυτοποιήθηκαν και προσδιορίστηκαν ποσοτικά 40 μεταβολίτες σε όλα τα δείγματα αξιοποιώντας τη μεταβολομική υπολογιστική πλατφόρμα Chenomx. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των αποτελεσμάτων ανάμεσα στις διαφορετικές παρασκευές των δειγμάτων.

Επιπρόσθετα, εφαρμόσθηκε πολυπαραμετρική ανάλυση μέσω του προγράμματος Simca 13 στα αποτελέσματα της ποσοτικοποίησης μεταβολιτών. Ιδιαίτερα, εφαρμόστηκε η τεχνική PCA με αποτέλεσμα να αναδειχθεί η σχέση των μεταβολιτών με παράγοντες όπως η προέλευση, η ποικιλία και η διαδικασίες παραγωγής. Χαρακτηριστικές διαφορές που προέκυψαν είναι οργανοληπτικές (π-κρεσόλη στο ούισκι) , γεωγραφικές (μεταβολίτες στο ούισκι που υπάρχουν στο Speyside της Σκωτίας και δεν ταυτοποιήθηκαν στην περιοχή των Islays), παλαίωσης (φαινυλοξικό σε παλαιωμένα τσίπουρα) καθώς επίσης και ομοιότητες μεταξύ οίνου και ούισκι από συγγενείς ποικιλίες.

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Στοχευμένη μεταβολομική μελέτη

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** Οίνος, Αποστάγμα, NMR, PCA, Μεταβολικό αποτύπωμα

## **ABSTRACT**

This thesis is focused on NMR based, targeted metabolomics analysis on Greek wines , Greek grape marc spirit (tsipouro, tsikoudia) and whiskeys from Scotland.

Specifically, 33 samples of wine were tested by 5 varieties (4 red and 7 white), 114 from grape marc (75 tsipouro, 39 tsikoudia ) 9 varieties and 23 whiskey from 6 distilleries .

In this direction NMR spectra were acquired in untreated and lyophilized samples as well as in methanol extracts. Forty metabolites were identified and quantified in all samples utilizing the metabolomics platform Chenomx. Furthermore a comparison of the results between different sample preparations has been performed.

Additionally, multivariate statistical analysis using Simca 13 was performed in order to highlight the relationship of metabolites on factors such as origin, variety and production process. Characteristic differences were attributed to sensory characteristics (i.e. p-cresol in whiskey), to geographic region (i.e. metabolites in whiskey from Scotland Speyside are not identified in the region of Islays, and to aging process (i.e. phenylacetate in aged marc distillates).

**SUBJECT AREA:** NMR metabolomic analysis

**KEYWORDS:** wine, distillate, NMR, PCA, metabolomic profiling

Στη παρούσα διπλωματική εργασία θέλω να την αφιερώσω στη μητέρα μου Πηνελόπη για την ηθική στήριξη καθ'όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού και στο παππού μου Ελευθέριο που δυστυχώς έχασα πρόσφατα..

“Η μάνα δεν είναι ένα πρόσωπο για να στηρίζεις πάνω του. Αλλά εκείνη που σε βοηθάει να μη χρειάζεσαι στηρίγματα”  
Ντόροθι Κάνφιλντ Φίσερ



Για τη διεκπεραίωση της παρούσας ερευνητικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα Αναπληρώτρια καθηγήτρια Μαρία Λιούννη για την αποδοχή στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα, όπως επίσης και για την ηθική στήριξη καθόλη την διάρκεια της εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τον Δρ. Παναγιώτη Ζουμπουλάκη, Ερευνητή Γ΄ στο Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, για τη συνολική συνεισφορά του σε όλους τους τομείς για την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής ερευνητικής εργασίας η οποία υλοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του ΕΙΕ.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Δρ. Χαράλαμπο Φωτάκη για την πολύ σημαντική του βοήθεια από την αρχή έως το τέλος της μεταπτυχιακής έρευνας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω και όλα τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου για την ηθική στήριξη αλλά και για την άψογη συνεργασία μας κατά τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

## ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Ιστορική αναδρομή.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Ποικιλίες οίνου.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2.1 Λεύκες ποικιλίες.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2.2 Ερυθρές ποικιλίες .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3 Απόσταγμα από στέμφυλα .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3.1 Ιστορική αναδρομή.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3.2 Τα είδη των αποσταγμάτων .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3.3 Διάκριση αποσταγμάτων στέμφυλων .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3.4 Διαδικασία απόσταξης στέμφυλων .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3.5 Παλαίωση αποσταγμάτων .....</b>	<b>6</b>
<b>1.4 Ουίσκι .....</b>	<b>6</b>
<b>1.4.1. Εισαγωγή .....</b>	<b>6</b>
<b>1.4.2 Περιοχές αποστακτήριων και τοπικά αποστάγματα Σκωτίας ....</b>	<b>8</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΑΡΧΕΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ</b>	
<b>(NMR) .....</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Εισαγωγή.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2. Πυρηνικός Μαγνητικός συντονισμός .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.1 Φασματοσκοπία πρωτονίου μιας διάστασης (1H-NMR) .....</b>	<b>17</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΧΗΜΕΙΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ ΠΟΛΥΜΕΤΑΒΛΗΤΗ</b>	
<b>ΑΝΑΛΥΣΗ .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Εισαγωγή.....</b>	<b>18</b>



3.2 Πολυμεταβλητή ανάλυση δεδομένων στη μεταβολομική με χρήση NMR.....	18
3.2.1.Επεξήγηση της ανάλυσης των κυρίων συνιστώσεων.....	18

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ – ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ ΜΕΣΩ CHENOMX.....	22
4.1.Εισαγωγή .....	22
4.2 Αλκοόλες.....	23
4.3 Οργανικά οξέα.....	27
4.4.Σάκχαρα.....	35
4.5 Φαινολικές ενώσεις.....	39
4.6.Αμινοξέα .....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΟ ΟΙΝΟ.....	48
5.1. Οργανικά Οξέα .....	48
5.2. Αλκοόλες.....	53
5.3. Σάκχαρα.....	56
5.4. Φαινολικές ενώσεις .....	57
5.5. Αμινοξέα.....	60
5.6. Καρβονιλικές ενώσεις .....	65
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑ ΣΤΕΜΦΥΛΩΝ .....	67
6.1. Αποτελέσματα σε παλαιωμένα δείγματα τσίπουρων .....	67
6.2. Αξιολόγηση αποτελεσμάτων και συμπεράσματα ποσοτικής ανάλυσης σε δείγματα τσίπουρου μέσω του SimCa 13 .....	69
6.3. Αποτελέσματα και συμπεράσματα για ποικιλίες σε τσίπουρα .....	71

6.4 Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης τσικουδιάς .....	74
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΟΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΣΕ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΑ ΟΥΣΚΙ ΑΠΟ ΤΗ ΣΚΩΤΙΑ .....</b>	<b>77</b>
7.1 .Αποτελέσματα ποσοτικής ανάλυσης για τα αποστάγματα Σκωτίας.....	77
7.2.Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης σε λυοφιλοποιημένα δείγματα.....	77
7.3.Αξιολόγηση αποτελεσμάτων και συμπεράσματα ποσοτικής ανάλυσης λυοφιλοποιημένων αποσταγμάτων.....	80
7.4.Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων λυοφιλοποιημένων δειγμάτων ούισκι μέσω του SimCa 13.....	82
7.5.Αποτελέσματα και συμπεράσματα στατιστικής ανάλυσης λυοφιλοποιημένων ούισκι.....	83
7.6. Αποτελέσματα σε untreated δείγματα ούισκι .....	84
7.7. Αξιολόγηση αποτελεσμάτων και συμπεράσματα σε μη επεξεργασμένα δείγματα ούισκι μέσω του SimCa 13.....	85
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>86</b>

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 : NMR φασματογράφος 600 Mhz.....	11
Εικόνα 2 :Ενεργειακή διαφορά (2E) μεταξύ των καταστάσεων πυρηνικού spin συναρτήσει της έντασης του εφαρμοζόμενου πεδίου.....	13
Εικόνα 3 :Ακολουθία 1D .....	17
Εικόνα 4 : (α) Η κουκίδα που ορίζεται με συντεταγμένες τις τιμές των μεταβλητών σε Πίνακα X (οπού $K=3$ ) αναπαριστώντας τις στο χώρο των K-διαστάσεων. (β) Προβολή όλων των παρατηρήσεων στο διανυσματικό χώρο K-διάστασης .....	19
Εικόνα 5 : Διάγραμμα φορτίου (Loading plot).....	20
Εικόνα 6: Μοντέλο ανάλυσης κύριων συνιστώσεων.....	21
Εικόνα 7: Συσχέτιση παρατηρήσεων και μεταβλητών .....	21
Εικόνα 8: : Με χρήση λογισμικού προγράμματος προσομοιώνονται NMR φάσματα ενώσεων.....	23
Εικόνα 9: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αιθανόλης.....	24
Εικόνα 10 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Μεθανόλης.....	25
Εικόνα 11 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Γλυκερόλης.....	25
Εικόνα 12 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Προπυλενογλυκόλης .....	26
Εικόνα 13 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αιθυλενογλυκόλης .....	26
Εικόνα 14: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Ισοπροπανόλης.....	27

Εικόνα 15 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Γαλακτικού οξέως.....	<u>28</u>
Εικόνα 16 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Οξικού οξέως .....	<u>50</u>
Εικόνα 17 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Τρυγικού οξέως .....	<u>29</u>
Εικόνα 18 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Πυροσταφυλικού οξέως	<u>30</u>
Εικόνα 19 Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Φορμικού οξέως	<u>31</u>
Εικόνα 20 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Ηλεκτρικού οξέως	<u>31</u>
Εικόνα 21 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Κιτρικού οξέως	<u>32</u>
Εικόνα 22 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Ασκορβικού οξέως	<u>33</u>
Εικόνα 23 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Καπρικού οξέως	<u>33</u>
Εικόνα 24 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Καπρυλικού οξέως.....	<u>34</u>
Εικόνα 25 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Μηλικού οξέως	<u>35</u>
Εικόνα 26 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Σουκρόζης	<u>36</u>
Εικόνα 27 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Φρουκτόζης	<u>37</u>

Εικόνα 28 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Γλυκόζης .....	37
Εικόνα 29 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Τρεαλόζης .....	37
Εικόνα 30 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αραβινόζης .....	38
Εικόνα 31 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Ξυλόζης...	38
Εικόνα 32 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Γαλλικού οξέως .....	39
Εικόνα 33 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Φαινυλοξικού .....	40
Εικόνα 34 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Φαινυλαλανίνης.....	41
Εικόνα 35 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Τυροσίνης .....	41
Εικόνα 36 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Προλίνης.....	42
Εικόνα 37 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Λευκίνης.....	43
Εικόνα 38 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αλανίνης .....	43
Εικόνα 39 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Ισολευκίνης.....	44
Εικόνα 40 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Θρεονίνης .. ..	45

Εικόνα 41 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αργινίνης .....	45
Εικόνα 42 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Βανιλίνης .....	46
Εικόνα 43 : Διάγραμμα διασποράς .....	69
Εικόνα 44 : Διάγραμμα σημαντικότητας με τους σημαντικούς μεταβολίτες σε παλαιωμένα τσίπουρα. ....	69
Εικόνα 45 : Διαχωρισμός σε παλαιωμένα τσίπουρα. ....	70
Εικόνα 46 : Διάγραμμα σημαντικότητας με τους σημαντικούς μεταβολίτες σε λυοφιλοποιημένα δείγματα ούισκι .....	82
Εικόνα 47 : Διάγραμμα διασποράς σε λυοφιλοποιημένα δείγματα ούισκι .....	82
Εικόνα 48 : Διαχωρισμός μεταβολιτών σε λυοφιλοποιημένα δείγματα ούισκι μέσω SimCa13 .....	83
Εικόνα 49 : Διάγραμμα σημαντικότητας με τους μεταβολίτες σε μη επεξεργασμένα δείγματα ούισκι .....	83
Εικόνα 50 : Μεταβολίτες σε μη επεξεργασμένα δείγματα .....	84
Εικόνα 51 : Διαχωρισμός μεταβολιτών .....	84

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα εφαρμογής NMR...	<a href="#">12</a>
Πίνακας 2: Αποτελέσματα οργανικών οξέων στον οίνο .....	<a href="#">47</a>
Πίνακας 3: Αποτελέσματα οργανικών οξέων στον οίνο .....	<a href="#">48</a>
Πίνακας 4: Αποτελέσματα αλκοόλων στον οίνο .....	<a href="#">52</a>
Πίνακας 5 Αποτελέσματα σακχάρων στον οίνο .....	<a href="#">54</a>
Πίνακας 6: Αποτελέσματα Φαινολικών ενώσεων στον οίνο .....	<a href="#">57</a>
Πίνακας 7: Αποτελέσματα Αμινοξέων στον οίνο .....	<a href="#">60</a>
Πίνακας 8: Αποτελέσματα Αμινοξέων στον οίνο .....	<a href="#">62</a>
Πίνακας 9: Αποτελέσματα καρβονυλικών στον οίνο .....	<a href="#">64</a>
Πίνακας 10: Αποτελέσματα σε παλαιωμένα δείγματα τσίπουρων ..	<a href="#">66</a>
Πίνακας 11: Αποτελέσματα σε παλαιωμένα δείγματα τσίπουρων ..	<a href="#">67</a>
Πίνακας 12 : Αποτελέσματα σε παλαιωμένα δείγματα τσίπουρων	<a href="#">68</a>
Πίνακας 13 : Αποτελέσματα σε ποικιλίες τσίπουρου .....	<a href="#">71</a>
Πίνακας 14: Αποτελέσματα σε ποικιλίες τσίπουρου .....	<a href="#">71</a>
Πίνακας 15: Αποτελέσματα σε ποικιλίες τσικουδιάς .....	<a href="#">74</a>
Πίνακας 16 : Αποτελέσματα σε λυοφιλοποιημένα δείγματα ούισκι	<a href="#">77</a>
Πίνακας 17: Αποτελέσματα σε λυοφιλοποιημένα δείγματα ούισκι	<a href="#">78</a>

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη αφορά στη μεταβολομική μελέτη αλκοολούχων ποτών (οίνων, στέμφυλων σταφυλής και ούισκι) με χρήση πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear magnetic resonance).

Στόχος της έρευνας είναι η ανίχνευση στα αλκοολούχα ποτά δεικτών ποικιλίας και γεωγραφίας καθώς και μεταβολιτών με σημαντική διατροφική αξία.

Η μεταβολομική μελέτη έγινε με χρήση φασματοσκοπίας NMR και υλοποιήθηκε σε φασματογράφο Varian V600 MHz στο Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας του ΕΙΕ.

Για την αξιοποίηση των αποτελεσμάτων με στατιστικά δεδομένα εφαρμόστηκε η πολυμεταβλητή ανάλυση δεδομένων και συγκεκριμένα η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες Principal Component Analysis, PCA).

Η παρούσα Μεταπτυχιακή εργασία έχει δομηθεί ως εξής:

Το 1<sup>ο</sup> Κεφάλαιο αποτελεί την εισαγωγή στην μελέτη των δειγμάτων οίνου, αποσταγμάτων στέμφυλων και ούισκι.

Το 2<sup>ο</sup> Κεφάλαιο αφορά στις αρχές του NMR και την εφαρμογή του σε αλκοολούχα ποτά.

Το 3<sup>ο</sup> κεφάλαιο αναφέρεται στις αρχές της πολυμεταβλητής ανάλυση δεδομένων.

Το 4<sup>ο</sup> Κεφάλαιο περιλαμβάνει τη διαδικασία της ταυτοποίησης και

Ποσοτικοποίησης των μεταβολιτών σε οίνους, στέμφυλα σταφυλής και ούισκι

Στα κεφάλαια 5, 6 και 7 παρουσιάζεται η στατιστική ανάλυση των δεδομένων, τα ποσοτικά αποτελέσματα των μεταβολιτών.

Τέλος παρατίθεται μια σύνοψη των αποτελεσμάτων και μελλοντικές εφαρμογές της μεταβολομικής μελέτης με χρήση NMR και χημειομετρίας.





# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Ιστορική αναδρομή

Ο οίνος πιθανολογείται ότι γεννήθηκε στην Εγγύς Ανατολή, από πειράματα και τεχνικές που πέρασαν από γενιά σε γενιά, 5000-6000 χρόνια π.Χ. Η καλλιέργεια του αμπελιού και η παραγωγή οίνου θεωρούνται δεδομένες στην Ελλάδα από το 4500 π.χ. . Έχουν βρεθεί υπολείμματα της άγριας αμπέλου (*vitis vinifera ssp sylvestris*) σε πολλά μέρη της χώρας. Στην Αρχαϊκή περίοδο και πιο συγκεκριμένα κατά τον 7ο αιώνα π.Χ. έχει διαδοθεί σε όλο τον Ελλαδικό χώρο και υπάρχει τεράστια εξέλιξη τόσο σε ποιότητα όσο και στη μεταφορά σε άλλες Χώρες. Στην κλασική περίοδο έρχεται η ανάπτυξη ενός μεγάλου αμπελοοινικού πολιτισμού. Από τη σύγχρονη περίοδο και μετά έχουν αλλάξει τα δεδομένα με κάποιες αυξομειώσεις σε σχέση την παραγωγή και την εξαγωγή (1).

### 1.2 Ποικιλίες οίνου

Στη συνέχεια θα αναφερθούν διάφορες ποικιλίες (λευκές και ερυθρές). Οι συγκεκριμένες ποικιλίες καλλιεργούνται στην Ελλάδα και χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία για τον διαχωρισμό σε γεωγραφικό, ποικιλιακό και σε οργανοληπτικό επίπεδο

#### 1.2.1 Λευκές ποικιλίες

**Σαββατιανό:** Καλλιεργείται σε πολλές περιοχές της χώρας και είναι η πρώτη σε έκταση καλλιέργειας, οινοποιήσιμη ποικιλία. Είναι μία διαδεδομένη λευκή ποικιλία ιδιαίτερα στην Κεντρική Ελλάδα (Αττική, Βοιωτία, Εύβοια) και σε μικρότερη έκταση στην Πελοπόννησο και στη Μακεδονία.

Από αυτή την ποικιλία παρασκευάζονται οίνους με ευχάριστη γεύση και άρωμα φρούτων με καλή ισορροπία ανάμεσα σε αλκοόλη και την οξύτητα, εφόσον εφαρμοστούν σύγχρονες οινοποιητικές μέθοδοι (2).

**Chardonnay:** Είναι μια πράσινη ποικιλία σταφυλιού η οποία χρησιμοποιείται για να φτιαχτεί λευκό κρασί.

Προέρχεται από τη Βουργουνδία, μια περιοχή στην Ανατολική Γαλλία. Πλέον ευδοκιμεί όπου παράγεται οίνος.

Σαν σταφύλι το Chardonnay είναι πολύ ουδέτερο με πολλές από τις γεύσεις να έχουν επιρροές από το "terroir" και από το δρυ. Οινοποιείται με διάφορους τρόπους όπως από ελαφρύ σώμα με διακριτική γεύση από ορυκτό μέχρι και τροπικές γεύσεις φρούτων.

Οίνοι η οποίοι έχουν περάσει από μηλογαλακτική ζύμωση τείνουν να έχουν πιο ήπια οξύτητα με διάφορα αρώματα φρούτων και νότες από βούτυρο και φουντούκι. Επίσης χρησιμοποιείται για την παραγωγή αφρώδη οίνου. Σαν ποικιλία το Chardonnay καλλιεργείται πιο εύκολα και προσαρμόζεται σε διαφορετικές συνθήκες (2).

**Ροδίτης:** Πρόκειται για μια ποικιλία που καλλιεργείται από πολύ παλιά στη χώρα μας, με πολλά ονόματα αλλά και κλώνους. Ιδιαίτερα είναι εντοπισμένη στην Αττική, την βόρεια και δυτική Πελοπόννησο. Από αυτή την ποικιλία εφόσον βρεθούν σε κατάλληλα εδάφη ορεινών περιοχών παράγονται εκλεκτής ποιότητας ξηροί οίνοι, λευκοί και ρόδινοι, με φρουτώδες άρωμα και πλούσιο σώμα (3).

**Μοσχάτο Λευκό:** Καλλιεργείται κυρίως στην Σάμο και στη Β.Δ. Πελοπόννησο, ενώ το συναντάμε στην Κεφαλονιά και στην Ρόδο. Τα ξηρά κρασιά που παράγονται από αυτή την ποικιλία, με χρυσοκίτρινο-σκούρο χρώμα, ελαφρύ σώμα, μεσαία αλκοόλη και χαμηλή οξύτητα, διακρίνονται για το πλουσιότατο και πολυσύνθετο άρωμά τους, όπου κυριαρχεί το τριαντάφυλλο, τα εσπεριδοειδή, όπως το λεμόνι, το κίτρο, το περγαμόντο και το βερίκοκο.

**Μοσχοφίλερο:** Είναι μία έντονα αρωματική λευκή ποικιλία, που καλλιεργείται κυρίως στην Πελοπόννησο και σποραδικά σε διάφορα μέρη της Ελλάδος. Το βασικό χαρακτηριστικό του Μοσχοφίλερου είναι ο αρωματικός χαρακτήρας του, που περιλαμβάνει αρώματα εσπεριδοειδών όπως lime, λεμονιού, πράσινου μήλου, αχλαδιού και τριαντάφυλλου. Λευκοκίτρινο έως πρασινοκίτρινο, φρέσκο, δροσερό και φρουτώδες (2).

### 1.2.2 Ερυθρές ποικιλίες

**Syrah:** Στην Γαλλία καλλιεργείται από τη Ρωμαϊκή εποχή. Στην Ελλάδα εκτός από τη Χαλκιδική που πρωτοκαλλιεργήθηκε, επίσης καλλιεργείται και στους νομούς Θεσσαλονίκης, Αττικής, Βοιωτίας, Δωδεκανήσου κ.α. . Δίνει οίνους με έντονο χρώμα, χαρακτηριστικό άρωμα και έντονη επίγευση (2).

**Merlot:** Πρόκειται για γαλλική ποικιλία της περιοχής του Bordeaux. Στην Ελλάδα καλλιεργείται στην Χαλκιδική, Θεσσαλονίκη, Αττική, Βοιωτία, Δράμα κ.α. Είναι μία ερυθρή ποικιλία με βαθύ κόκκινο χρώμα, που δίνει κρασιά με βελούδινη γεύση, πλούσιο σώμα, με υψηλό αλκοολικό βαθμό, βελτιωτική ποικιλία, στις αναμείξεις με άλλα κρασιά, βελτιώνει το χρώμα τους, το άρωμα τους και επιταχύνει τον απαιτούμενο χρόνο παλαίωσης, κάνοντάς τα ικανά να καταναλωθούν πιο γρήγορα (3).

**Grenache rouge:** Πρόκειται για μια ποικιλία ισπανικής προέλευσης, που καλλιεργείται και στην Γαλλία, Ιταλία, Ν. Αφρική, ΗΠΑ, Αυστραλία. Στην Ελλάδα καλλιεργείται στην Χαλκιδική, Θεσσαλονίκη, Αττική, Βοιωτία, Δωδεκάνησο. Μια ερυθρή ποικιλία που δίνει εξαιρετικής ποιότητας κρασιά, με έντονο κόκκινο χρώμα και πλούσια δομή. Στη συνοينوποίηση με άλλες ποικιλίες συμβάλλει στη σταθεροποίηση και τη βελτίωση των οργανοληπτικών τους χαρακτήρων (2).

**Αγιωργίτικο:** Ποικιλία γνωστή και σαν Μαύρο Νεμέας, Μαυρούδι Νεμέας, από τις πιο εκλεκτές και πιο πλούσιες σε χρώμα ελληνικές ποικιλίες σταφυλιών. Η προέλευση της είναι από Νεμέα αλλά απαντάται σε πολλά μέρη της Πελοποννήσου (Κορινθία , Αργολίδα , Μεσσηνία) , Στερεά Ελλάδα, Θεσσαλία και την Εύβοια .

Μπορεί να δώσει διαφορετικούς τύπους προϊόντων ανάλογα με το περιβάλλον στο οποίο καλλιεργείται και για το λόγο αυτό θεωρείται πολυδυναμική ποικιλία. Από αυτή τη ποικιλία παράγονται τα ξηρά αλλά και τα γλυκά και ημίγλυκα κρασιά ονομασίας (3) .

**Λιάτικο:** Αποτελεί μια ερυθρή ποικιλία που είναι από τις παλαιότερες της Μεσογείου. Αυτή η ποικιλία καλλιεργείται ιδιαίτερα στη Κρήτη.

Από την ποικιλία αυτή παράγονται τόσο ξηρά όσο και γλυκά κρασιά. Τα γλυκά κρασιά από Λιάτικο φτιάχνονται από λιαστά σταφύλια, δηλαδή με φυσικό τρόπο και όχι με προσθήκη αλκοόλ. Το Λιάτικο δίνει ερυθρά, ξηρά,

υψηλόβαθμα σχετικά χαμηλή ένταση χρώματος είναι γεμάτο, με υψηλά επίπεδα αλκοόλης και χαμηλές, μαλακές ταννίνες (3).

**Ξινόμαυρο:** Μαζί με την ποικιλία του Αγιωργίτικου θεωρούνται οι ευγενέστερες ερυθρές ελληνικές ποικιλίες. Είναι εξαιρετικά πολύτιμη για την οινοποιία της Βόρειας Ελλάδας. Έχει έντονο χρώμα, υψηλή οξύτητα και πλούσιο άρωμα. Τα χαρακτηριστικά των κρασιών που δίνει το Ξινόμαυρο βελτιώνονται με την πάροδο του χρόνου, επιδέχονται δηλαδή παλαίωσης (2).

**Cabernet sauvignon:** Είναι ένα από τα πιο αναγνωρισμένα κόκκινα κρασιά στο κόσμο. Καλιεργείται σχεδόν σε κάθε μεγάλη χώρα παραγωγής κρασιού. Τείνει να είναι “γεμάτος” οίνος με υψηλές ταννίνες και αισθητή οξύτητα που συμβάλλουν στη παλαίωση του κρασιού.

Σε ψυχρότερα κλίματα, το Cabernet Sauvignon τείνει να παράγει κρασιά με νότες φραγκοστάφυλου, που μπορεί να συνοδεύεται από πιπέρι, δυόσμο και κέδρου που όλα θα γίνουν πιο έντονες, όπως ωριμάζει το κρασί.

**Μοσχάτο Τυρνάβου :** Αποτελεί τη σημαντικότερη ποικιλία αμπέλου της Θεσσαλίας, αφού καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος των αμπελώνων του Τυρνάβου.

Δημιουργήθηκε από διασταύρωση της ιταλικής ποικιλίας Black Hamburg και της αιγυπτιακής Μοσχάτο Αλεξανδρείας.

Δίνει μια μεγάλη ποικιλία ξεχωριστών οίνων, με εκρηκτικό αρωματικό χαρακτήρα, όπως ημίγλυκους, γλυκούς καθώς επίσης λευκούς, ροζέ, ερυθρούς αφρώδεις και ασύγκριτα αποστάγματα. Η συνοινοποίηση του με άλλες ποικιλίες, έστω και χρησιμοποιούμενη σε μικρές ποσότητες μπορεί να αρωματίσει ακόμα και το πιο ουδέτερο κρασί.

Δίνει οίνους χαμηλής οξύτητας, με αρώματα τριαντάφυλλου και βανίλιας, εσπεριδοειδών (2).

### 1.3 Αποστάγματα από στέμφυλα

#### 1.3.1 Ιστορική αναδρομή

Η τεχνική της απόσταξης, για την παραγωγή αλκοολούχων ποτών

πρωτοεφαρμόστηκε από Έλληνες ‘αλχημιστές’ της Αλεξάνδρειας στην Αίγυπτο τον πρώτο αιώνα μ.Χ.

Αργότερα, οι μοναχοί με τις τεχνικές αρωματισμού, ίσως και απόσταξης, που χρησιμοποιούσαν και οι Άραβες αλχημιστές με τα πειράματά τους κατέστησαν σταδιακά γνωστή την απόσταξη ζυμωμένων υλών και τον αρωματισμό του αποστάγματος. Δεν είναι τυχαίο που η λέξη αλκοόλ προέρχεται από την αραβική λέξη “Al-Kuhl”.

Γενικά, θεωρείται ότι στον αραβικό κόσμο οι Μαυριτανοί διέδωσαν την τεχνική της απόσταξης ενώ οι σταυροφόροι την έφεραν στην Ευρώπη τον ενδέκατο με δωδέκατο αιώνα.

Στην Ελλάδα η πιο γνωστή χρονολογία της απόσταξης στα ζυμωμένα στέμφυλα είναι το 10<sup>ο</sup> αιώνα μ.Χ. στο Άγιο Όρος.

### **1.3.2 Τα είδη των αποσταγμάτων από στέμφυλα.**

Το απόσταγμα στεμφύλων είναι ένα υδατοαλκοολικό διάλυμα που περιέχει συστατικά που γενικά ονομάζονται συναπόστακτες ουσίες.

Η σύσταση τους επηρεάζεται από τις ζυμώσεις, την απόσταξη, την ωρίμανση σε δρύινα βαρέλια και τη συντήρησή τους κατά την εμφιάλωση.

### **1.3.3 Διάκριση αποσταγμάτων στέμφυλων**

Τα αποστάγματα διακρίνονται σε μονής (τσικουδιά) και διπλής απόσταξης.

### **1.3.4 Διαδικασία απόσταξης στέμφυλων**

Η διαδικασία απόσταξης διακρίνεται σε δύο κατηγορίες, στη παραδοσιακή απόσταξη και στη σύγχρονη απόσταξη.

Η παραδοσιακή απόσταξη είναι μια μέθοδος μικρής δυναμικότητας όπου χρησιμοποιείται άμβυκας έως 130 λίτρα.

Η σύγχρονη απόσταξη είναι μεγάλης δυναμικότητας απόσταξη και χρησιμοποιούνται άμβυκες χωρητικότητας από 200 μέχρι 1000 λίτρων.

Αρχικά γίνεται η συγκομιδή της πρώτης ύλης, δηλαδή τα στέμφυλα. Τα στέμφυλα είναι η μάζα που απομένει μετά τη συμπίεση των σταφυλιών.

Σε αυτή τη μάζα περιλαμβάνεται ο φλοιός, τα γίγαρτα (κουκούτσια), οι βόστρυχοι (κοτσάνια) και αζύμωτος γλεύκος (μούστος).

Το τσίπουρο μπορεί να παραχθεί από αζύμωτα στέμφυλα, τα οποία προέρχονται συνήθως από λευκά σταφύλια. Επίσης, μπορούν να προέλθουν και από ερυθρά σταφύλια, τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ροζέ ή λευκού οίνου με απευθείας συμπίεση.

Ακόμη χρησιμοποιούνται στέμφυλα που είναι ζυμωμένα και προέρχονται από ερυθρή οινοποίηση με μικρότερη ή μεγαλύτερη ποσότητα οίνου. Στη συνέχεια γίνεται η ζύμωση των λευκών στέμφυλων διάρκειας 30 ημερών

Κατά την πρώτη απόσταξη λαμβάνεται απόσταγμα που αποτελεί το 15-20% αρχικού του όγκου. μετά την απόσταξη το υπόλειμμα απορρίπτεται. Στη δεύτερη απόσταξη μετά την αφαίρεση της «κεφαλής» και της «ουράς» και στη συλλογή της «καρδιάς» είναι έτοιμο προς κατανάλωση.

### **1.3.5 Παλαίωση αποσταγμάτων**

Η διαδικασία της παλαίωσης στοχεύει στην «ωρίμανση» των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του προϊόντος και θεωρείται παλαιωμένο όταν παραμείνει σε δρύινο βαρέλι τουλάχιστον για 6 μήνες (6) .

## **1.4 Ούισκι**

Ως ούισκι χαρακτηρίζεται μια ευρεία κατηγορία οινοπνευματωδών ποτών που αποστάζονται από ζυμωμένη πολτοποιήση κριθαριού και ωριμάζουν σε ξύλινα βαρέλια .Η περιεκτικότητα του σε αλκοόλ κυμαίνεται από 40% έως 70%.

Γνωστότεροι τύποι ούισκι είναι το Σκωτσέζικο, το Καναδικό και το Αμερικάνικο. Διαφοροποιούνται ως προς το τρόπο παραγωγής, τύπος και είδος σιτηρών καθώς και στη ποιότητα που νερού που χρησιμοποιείται. Υπάρχουν δύο βασικές κατηγορίες ούισκι, το malt (το παρασκεύασμα δεν είναι προϊόν ανάμειξης ή προέρχεται μόνο από ανάμειξη προϊόντων του ίδιου αποστακτηρίου ) και το blended (ανάμειξη διαφορετικών ούισκι ) .

Η Σκωτία θεωρείται η χώρα παραγωγής υψηλότερης ποιότητας ούισκι. Χωρίζεται σε έξι βασικές περιοχές παραγωγής ούισκι: τα Highlands, τα νησιά (Islands), τα Lowlands, το Islay, το Campbeltown και το Speyside. Η λέξη "whisky" είναι παραφθορά του "uisge beatha" που στην γλώσσα των Gaelic (Κέλτικης διάλεκτος) σημαίνει "νερό της ζωής", όπου τα ισοδύναμα που ξεφυτρώνουν στις άλλες γλώσσες, συμπεριλαμβανομένου και του λατινικού "aqua vitae", του γαλλικού "eau de vie", μπορεί να είναι συναφή. Σταδιακά η λέξη "uisge" παραφράστηκε σε "usky", οπότε εντέλει καταλήξαμε στην λέξη whisky.

Οι διαφορετικές ποικιλίες ουίσκι παρασκευάζονται από διάφορα δημητριακά, και περιλαμβάνουν: το κριθάρι, τη σίκαλη, τον σίτο, και το καλαμπόκι.

#### **1.4.1 Από την παρασκευή μέχρι και την εμφιάλωση.**

Η βάση για την παρασκευή του scotch malt whisky είναι το κριθάρι. Παλαιότερα τα αποστακτήρια καλλιεργούσαν τα ίδια την πρώτη ύλη, αλλά σήμερα συνήθως αγοράζεται μαζικά. Μπορούν αν χρησιμοποιηθούν και άλλα δημητριακά , όπως η σίκαλη ή το σιτάρι, αλλά τότε το προϊόν δεν μπορεί νομικά να ονομάζεται scotch whisky.

Το πρώτο στάδιο στην επεξεργασία του κριθαριού είναι το ζυθοποίηση, δηλαδή ανάμειξη του με νερό για 2 ή 3 μέρες, έτσι ώστε να δημιουργηθούν σάκχαρα.

Η βύνη που δημιουργείται στεγνώνεται σε ειδικούς κλίβανους , οι οποίοι καίνε κυρίως τύρφη, δίνοντας έναν χαρακτηριστικό καπνιστό χαρακτήρα στο ουίσκι. Αφού η βύνη αποξηρανθεί, αλέθεται σε ειδικούς μύλους. Ακολουθεί η πολτοποίηση όπου στην αλεσμένη βύνη προστίθεται ζεστό νερό και τοποθετείται σε ειδικά ξύλινα ή μεταλλικά δοχεία , στη συνέχεια προστίθεται μαγιά ώστε να αρχίσει η διαδικασία της ζύμωσης. Η ζύμωση λαμβάνει τόπο σε ειδικό δοχείο όπου η μαγιά μετατρέπει τα σάκχαρα σε αλκοόλες. Ακολουθεί η απόσταξη όπου βράζεται σε χάλκινα δοχεία και κατακρατούνται οι ατμοί αλκοόλ και νερού στον ειδικό λεπτό λαιμό των δοχείων.

Η απόσταξη είναι διπλή ή ακόμα και τριπλή. κατά την πρώτη απόσταξη δημιουργούνται τα λεγόμενα 'χαμηλά κρασιά' (low wines), τα οποία έχουν γύρω στους 10 με 20 βαθμούς σε κάθε απόσταξη, το προϊόν χωρίζεται σε τρία μέρη, το κεφάλι, την καρδιά και τη ουρά.

Το κεφάλι και η ουρά θεωρούνται κατώτερες ποιότητας και επαναποστάζονται μαζί με τα low wines της επόμενης παρτίδας, Η καρδιά είναι ένα διαυγές υγρό με περίπου 70% αλκοολικούς βαθμούς, το οποίο είναι έτοιμο για την διαδικασία της ωρίμανσης στο βαρέλι. Τα βαρέλια που χρησιμοποιούνται είναι δυο ειδών. Το πρώτο είδος είναι τα βαρέλια από αμερικάνικό bourbon. Αυτά κατασκευάζονται από αμερικάνική δρυ και το εσωτερικό τους εμπορύνεται, ώστε να δώσουν το χαρακτηριστικό τους άρωμα και τις νότες βανίλιας στο Bourbon. Το δεύτερο είδος είναι βαρέλια sherry, Και τα δυο είδη βαρελιών



χρησιμοποιούνται πάνω από μια φορά. Με κάθε γέμισμα, μειώνεται και ο χαρακτήρας που προσδίδουν στο ουίσκι. Κατά την εμφιάλωση, το ουίσκι συνήθως αναμιγνύεται με ουίσκι από διαφορετικά βαρέλια για να επιτευχθεί ένας συγκεκριμένος χαρακτήρας. Ακολουθεί, μια διαδικασία που απομακρύνει κάποια συστατικά που θα θόλωναν το whisky όταν θα γινόταν προσθήκη νερού. Τέλος, μπορεί να γίνει ακόμα και προσθήκη χρώματος (1).

#### 1.4.2 Περιοχές αποστακτηρίων και τοπικά αποστάγματα Σκωτίας

**Highlands:** Είναι η μεγαλύτερη περιοχή γεωγραφικά, τα malts των highlands περιέχουν ευρύ και ισχυρή ποικιλία γεύσεων. Συγκριτικά με άλλες περιοχές ο χαρακτήρας από το ουίσκι τους είναι "βαρύς" και "ξηρός"

**Lowlands:** Στη συγκεκριμένη περιοχή υπάρχουν αμέτρητα λιβάδια και καλλιέργειες σιταριού. Με λίγη η καθόλου τυρφή να χρησιμοποιείται στη ξήρανση του Malt, τα ουίσκι που αποστάζονται εδώ είναι φρέσκα, ελαφριά, αρωματικά και λουλουδάτα με γεύσεις δημητριακών (5).

Ο διαχωρισμός των Highland με των Lowland έγινε βάση τη βιομηχανία ουίσκι και καταχωρήθηκε το 1794 από το Wash Act. Διαφορετικοί νόμοι και τελωνειακές διατάξεις που υπήρχαν Βόρεια και Νότια από την γραμμή του Highland (5)

**Islands:** Είναι τα νησιά Islays και Skye που παράγουν malt ουίσκι με έντονη τυρφή και αρώματα θάλασσας. Τα Caol ila, Talisker και Lagavulin είναι τα βασικότερα αποστάγματα που παράγονται στα νησιά (5).

Το αποστακτήριο Caol ila προέρχεται από το Islay. Το κριθάρι που χρησιμοποιείται επεξεργάζεται στο Port Ellen και το νερό αναβλύζει από την πηγή κοντά στο Loch nam Ban. Το Caol ila 12 ετών είναι το πιο φημισμένο ουίσκι που παράγεται από αυτό το αποστακτήριο το οποίο είναι γνωστό για τα καπνιστά αρώματα και τη γλυκύτητα του (5).

Το αποστακτήριο Jura προέρχεται από το Islay, το ιδιαίτερα ήπιο κλίμα μαζί με το τοπικό νερό είναι οι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν την γεύση του ουίσκι (4). Το Jura 10 ετών είναι το πιο εμπορικό ουίσκι που παράγεται εδώ και χρόνια.

Το Talisker προέρχεται από το νησί Skye, το συγκεκριμένο αποστακτήριο από την κατασκευή του μέχρι και σήμερα χρησιμοποιεί για την παρασκευή του ουίσκι το πλούσιο σε τύρφη νερό που αναβλύζει από τις 14 υπόγειες πηγές του λόφου Hawk. Το βασικό ουίσκι που παράγει είναι το Talisker 10 ετών το οποίο έχει γεύση τύρφης, αποξηραμένων φρούτων και μπαχαρικών (4). Τέλος, το αποστακτήριο Lagavulin προέρχεται από τα Islays, το αποστακτήριο παίρνει το απαραίτητο νερό από τα Solum Lochs και προμηθεύεται το κριθάρι από την παραγωγή του Port Ellen. Χαρακτηριστικό ουίσκι είναι το Lagavulin 16 ετών το οποίο έχει τυρφο-καπνιστό άρωμα και μια ιδιαίτερη γλυκύτητα (4).

Speyside: Περισσότερα από τα μισά αποστακτήρια της Σκωτίας βρίσκονται σε αυτή την περιοχή. Χαρακτηριστικές γεύσεις είναι το μέλι, η βανίλια και φρέσκων φρούτων (μήλο, αχλάδι). Με τα χρόνια και ιδιαίτερα όταν ωριμάζουν σε βαρέλια Sherry, τα ουίσκι βγάζουν αποξηραμένα φρούτα και γλυκές πικάντικες γεύσεις (5). Balvenie, Glenfiddich, Glenlivet είναι τα αποστακτήρια που προέρχονται από το Speyside της Σκωτίας. Η εξαιρετική ποιότητα του Balvenie οφείλεται κατά τα λεγόμενα στην δυνατότητα παραγωγής ακόμα δικού τους σιταριού, για την βυνοποίηση, στους δικούς του βαρελοποιούς με γνώση ετών στα τα βαρέλια. Επίσης κατά την παλαίωση με διπλό ξύλο δίνει την διαφορετικότητα του (4). Το Balvenie 12 doublewood είναι ένα από τα πολλά ουίσκι που παράγουν τα αποστακτήρια του Grant. Αρχικά αποθηκεύεται σε βαρέλια πρώην burbon και προτού ολοκληρωθεί η παλαίωση αποθηκεύεται σε βαρέλια τύπου sherry.

Ο ιδιοκτήτης του Glenfiddich είναι ο William Grant (ιδιοκτήτης του Balvenie). Οι εγκαταστάσεις του χρησιμοποιούν νερό από την πηγή Robbie Dhu. Αγοράζει το ελαφρώς καπνιστό κριθάρι από διάφορους προμηθευτές. Τα 2 χάλκινα βυτία που λειτουργούν έχουν χωρητικότητα 10 τόνων έκαστο. 24 δοχεία ζύμωσης και άμβυκες βοηθάνε στη διαδικασία πριν το wash φτάσει στα θερμαινόμενα από κάρβουνο αποστακτήριων των εγκαταστάσεων. Ποικιλία βαρελιών χρησιμοποιείται για την ωρίμανση των ουίσκι που φυλάσσονται σε παραδοσιακές αποθήκες (4). Τα κυριότερα ουίσκι που παράγει είναι 12, 15 και 18 ετών αντίστοιχα. Το αποστακτήριο Glenlivet βρίσκεται στην περιοχή του Tomintoul. Είναι γνωστό για την απαλή υφή του και τα ανθώδη αρώματα του.

Το Glenlivet12 ετών είναι ένα από τα πολλά ούισκι που περιλαμβάνει η γκάμα του (4).

## Αρχές Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

### 2.1 Εισαγωγή

Το NMR είναι μια σύγχρονη αναλυτική τεχνική η οποία αποτελεί μια ευέλικτη λύση στο προσδιορισμό και στην ανάλυση συστατικών τροφίμων και ποτών. Πλέον η βιβλιογραφία για την χρήση του NMR είναι εκτενής όσον αφορά τη μεταβολομική μελέτη τροφίμων και στην ταυτοποίηση μεταβολιτών σε αλκοολούχα ποτά, οίνου, μπίρας και αποσταγμάτων (π.χ. τσίπουρου, τσικουδιάς).

Παρακάτω θα αναφερθούν τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της χρήσης Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού για το ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό σε τρόφιμα και ποτά (7).



Εικόνα 1: NMR φασματογράφος 600Mhz

**Πίνακας 1:** Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της εφαρμογής NMR

<b>Πλεονεκτήματα</b>	<b>Μειονεκτήματα</b>
Εύκολη παρασκευή δείγματος (δεν χρειάζεται κάποιος χημικός διαχωρισμός)	Χαμηλότερη ευαισθησία σε σχέση με τις τεχνικές Φασματομετρίας μάζας (π.χ. δύσκολη ανίχνευση φαινολικών συστατικών στο τσίπουρο,οίνο)
το δείγμα είναι διαθέσιμο για αποθήκευση και επαναχρησιμοποίηση (δεν καταστρέφεται)	Το κόστος του επιστημονικού εξοπλισμού είναι υψηλό
Σύντομος χρόνος λήψης (συνολικά της τάξης των λεπτών)	
Εύκολη ποσοτικοποίηση και ανίχνευση πολλών οργανικών συστατικών ακόμα και χαμηλής συγκέντρωσης (π.χ. φαινολικά)	
Αδιασφισβητίσιμος διαχωρισμός νέων μεταβολιτών με χρήση 2D NMR,COSY,NOESY,TOSCY,HSQC,HMBC.	

## 2.2 Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός

Ο συσχετισμός στο NMR γίνεται με την αλληλεπίδραση της πυρηνικής μαγνητικής διπολικής ροπής σε εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο. Η πυρηνική μαγνητική διπολική ροπή προκαλείται από την ιδιοστροφή (spin) του πυρήνα. Μαγνητική ροπή ( $\mu$ ) και πυρηνική ιδιοπεριστροφή ( $I$ ) συνδέονται μεταξύ τους

με το τύπο :

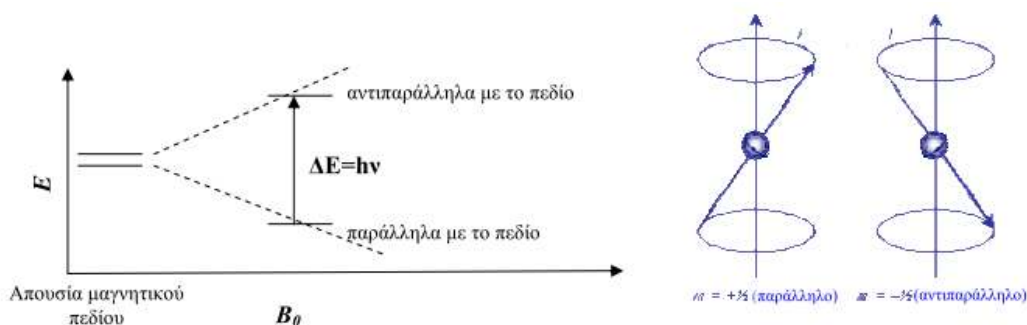
$$\mu = \gamma I \frac{h}{2\pi} \quad (1)$$

Όπου  $\gamma$  ο **γυρομαγνητικός λόγος**, όπου γίνεται ο συσχετισμός μεταξύ της κατανομής της μάζας και του φορτίου στον πυρήνα, επομένως ο πυρήνας εξαρτάται δίνει τη τελική τιμή .

Ένας πυρήνας με πυρηνικό μαγνητικό spin  $I$  μπορεί να λάβει  $(2I+1)$  προσανατολισμούς ίσης ενέργειας. Εφαρμογή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου άρει τον ενεργειακό αυτό εκφυλισμό και διαχωρίζει τις ενεργειακές στάθμες (διάσχιση Zeeman). Οι πυρήνες που συνήθως παρατηρούνται με φασματοσκοπία NMR είναι του πρωτονίου  $^1\text{H}$  και του άνθρακα  $^{13}\text{C}$  και σπανιότερα  $^{31}\text{P}$  με πυρηνικό spin  $I=1/2$ . Με εφαρμογή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου  $B_0$ , παράλληλα ή αντιπαράλληλα προς τη φορά του πεδίου έχει τις δυνατότητες προσανατολισμού να λάβει η ροπή στο μαγνητικό πεδίο ενώ επίσης εξαναγκάζεται σε μεταπτωτική κίνηση γύρω από το άνωσμα του μαγνητικού πεδίου με χαρακτηριστική για τον κάθε πυρήνα συχνότητα ιδιοπεριστροφής (συχνότητα Larmor).

$$\omega = \gamma \cdot B_0 \quad (2)$$

Οι δύο αυτοί προσανατολισμοί αντιστοιχούν σε δύο ενεργειακές στάθμες, τη βασική και τη διεγερμένη (εικόνα 3).



**Εικόνα 2:** (αριστερά) Ενεργειακή διαφορά ( $3E$ ) μεταξύ των καταστάσεων πυρηνικού spin συναρτήσει της έντασης του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου (δεξιά): Μεταπτωτική κίνηση του πυρήνα γύρω από το άνωσμα του μαγνητικού πεδίου.

Η ενεργειακή διαφορά των δύο σταθμών είναι ανάλογη της έντασης του μαγνητικού πεδίου

$$\Delta E = \frac{h\gamma B_0}{2\pi} = h\nu \quad (3)$$

και η κατανομή του πληθυσμού στις στάθμες ακολουθεί την κατανομή Boltzmann:

$$\frac{n_2}{n_1} = e^{\frac{-\Delta E}{kT}} \quad (4)$$

όπου ( $n_1$ ) ο πληθυσμός της βασικής στάθμης και ( $n_2$ ) αυτός της διεγερμένης.

Έτσι ο πληθυσμός των δύο σταθμών θα εξισωθεί με απορρόφηση ενέργειας ίσης προς την ενεργειακή διαφορά των δύο σταθμών  $\Delta E$ . Την ενέργεια αυτή παρέχει ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία συχνότητας ίση με τη συχνότητα Larmor του πυρήνα (έτσι κατανοείται ο χρησιμοποιούμενος όρος

“συντονισμός” ) (7)

$$\nu = \left| \frac{\gamma}{2\pi} \right| B_0 \quad (5)$$

Η ευαισθησία της φασματοσκοπίας NMR εξαρτάται από την πληθυσμιακή διαφορά μεταξύ των δύο σταθμών, η οποία με τη σειρά της εξαρτάται από το μέγεθος του ενεργειακού χάσματος μεταξύ των σταθμών.

Από τις σχέσεις 3 και 4 καταδεικνύεται ότι :

- η αύξηση εξωτερικού μαγνητικού πεδίου οδηγεί σε αύξηση του ενεργειακού χάσματος άρα και σε αύξηση της πληθυσμιακής διαφοράς μεταξύ των δύο σταθμών με αποτέλεσμα την ενίσχυση του σήματος του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού και παράλληλα την αύξηση της ευαισθησίας του πειράματος (εικόνα3).
- πυρήνες με μεγάλη τιμή **γυρομαγνητικού λόγου** (άρα αντίστοιχα μεγάλη τιμή  $\Delta E$ ) εμφανίζουν αυξημένη ευαισθησία και παρατηρούνται εύκολα ενώ εκείνοι που έχουν μικρή τιμή  $\gamma$  εμφανίζουν μικρότερη ευαισθησία και είναι δύσκολο να παρατηρηθούν.

Επιπλέον, η ευαισθησία της φασματοσκοπίας NMR εξαρτάται και από την ισοτοπική αναλογία του παρατηρούμενου πυρήνα. Για παράδειγμα, οι πυρήνες  $^1\text{H}$  με μεγάλη φυσική αφθονία και μεγάλη τιμή  $\gamma$  ανιχνεύονται εύκολα

ενώ αντίθετα οι πυρήνες  $^{13}\text{C}$  που έχουν μικρή ισοτοπική αναλογία και μικρή τιμή είναι δύσκολο να παρατηρηθούν (7)

Συνοψίζοντας όλα τα προηγούμενα προκύπτει η σχέση (5) όπου για μια δεδομένη τιμή  $B_0$ , η τιμή του **γυρομαγνητικού λόγου** καθορίζει τη συχνότητα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που απαιτείται για τη διέγερση και παρατήρηση του κάθε πυρήνα. Έτσι, σε μαγνητικό πεδίο 7.1 T, για το συντονισμό των πυρήνων πρωτονίου απαιτείται ακτινοβολία συχνότητας  $\nu_H = 300 \text{ MHz}$

$$(6) \quad \frac{\nu_H}{\nu_C} = \frac{\gamma_H}{\gamma_C} = \frac{4}{1}$$

**Χημική Μετατόπιση** Εντός ενός μαγνητικού πεδίου, όπου όλοι οι πυρήνες πρωτονίου ενός μορίου θα έπρεπε να συντονίζονται στην ίδια συχνότητα. Στην πραγματικότητα όμως προκύπτουν δυσκολίες για να συμβεί διότι ο πυρήνας βρίσκεται σε διαφορετικό χημικό περιβάλλον και «αισθάνεται» ελαφρά διαφοροποιημένη ένταση μαγνητικού πεδίου. Πιο συγκεκριμένα, λόγω της κίνησης των ηλεκτρονίων σθένους που περιβάλλουν τον πυρήνα επάγεται ένα πολύ μικρότερου μεγέθους μαγνητικό πεδίο  $B_0$ , το οποίο αντιτίθεται στο εξωτερικά εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο  $B_0$ . Η πραγματική ένταση του μαγνητικού πεδίου που αισθάνεται κάθε ενεργός πυρήνας δίνεται από τη σχέση:

$$(6) \quad B_{eff} = B_0 - B' = B_0(1 - \sigma)$$

όπου  $\sigma$ , η σταθερά προάσπισης, η οποία είναι συνάρτηση του ηλεκτρονιακού περιβάλλοντος του πυρήνα. Με αντικατάσταση της εξίσωσης (6) στη σχέση (2) προκύπτει η πραγματική συχνότητα συντονισμού του κάθε πυρήνα, που ονομάζεται **χημική μετατόπιση**.

$$\omega = \gamma B_0 - \sigma \quad (7)$$



Προκειμένου η χημική μετατόπιση των φασματικών κορυφών μίας ένωσης να είναι ανεξάρτητη της έντασης του πεδίου του χρησιμοποιούμενου φασματογράφου, αυτή εκφράζεται με βάση την ακόλουθη σχέση:

$$(8) \quad \delta = \frac{\omega_I - \omega_{REF}}{\gamma_I \cdot B_0} \cdot 10^6$$

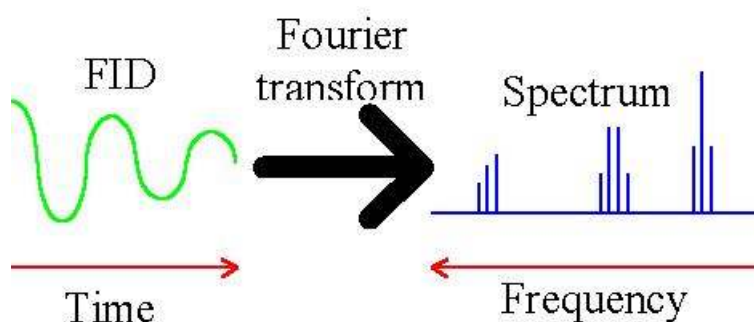
Δηλαδή ως η διαφορά, μεταξύ της συχνότητας συντονισμού του κάθε πυρήνα και της συχνότητας συντονισμού ενός πυρήνα αναφοράς (REF) προς τη συχνότητα λειτουργίας του φασματογράφου για το συγκεκριμένο πυρήνα. Η χημική μετατόπιση είναι αδιάστατο μέγεθος και εκφράζεται σε ppm (parts per million).

**Σταθερά Σύζευξης** Η spin-spin σύζευξη περιγράφει την αλληλεπίδραση μεταξύ γειτονικών πυρηνικών spin που απέχουν 1,2 ή και 3 δεσμούς μέσω των δεσμικών ηλεκτρονίων. Η αλληλεπίδραση αυτή οδηγεί σε διάσχιση της φασματικής κορυφής ενός πυρήνα A ανάλογα με τον αριθμό των δυνατών προσανατολισμών της μαγνητικής ροπής του γειτονικού πυρήνα X. Για παράδειγμα, οι δύο δυνατοί προσανατολισμοί που μπορεί να λάβει ένας πυρήνας X με πυρηνικό spin  $I=1/2$ , επιδρούν στο τοπικό μαγνητικό πεδίο που υφίσταται ο πυρήνας A σχάζοντας τη φασματική κορυφή σε διπλή. Η σταθερά σύζευξης  $J$ , εκφράζεται από την απόσταση μεταξύ των χημικών μετατοπίσεων της διασχισμένης κορυφής και μετράται σε μονάδες συχνότητας Hz ενώ ο μέγεθος της εξαρτάται από τον αριθμό των δεσμών οι οποίοι μεσολαβούν μεταξύ των αλληλεπιδρώντων πυρήνων.

Η διάσχιση μιας κορυφής συντονισμού δίνει επιπλέον πληροφορίες για τη δομή του οργανικού μορίου. Για παράδειγμα, από την πολλαπλότητα μιας απορρόφησης πρωτονίου ή ομάδας πρωτονίων, είναι δυνατό να διαπιστωθεί το πλήθος των υδρογόνων που συνδέονται στο γειτονικό ή στα γειτονικά άτομα άνθρακα.

### 2.2.1 Φασματοσκοπία πρωτονίου μίας διάστασης (1H-NMR)

Γίνεται η ακτινοβολήση του δείγματος με παλμό (p1) διάρκειας ελάχιστων μικροδευτερολέπτων ( $\mu\text{s}$ ), ο οποίος εκτρέπει τη μαγνήτιση των πυρήνων υδρογόνου από τη θέση ισορροπίας. Η FID (Free Induction Decay) που λαμβάνεται κατά την διέγερση των πυρήνων μετασχηματίζεται κατά Fourier αποδίδοντας μία Lorentzian καμπύλη αποδιέγερσης σε συχνότητα χαρακτηριστική για το μελετούμενο πυρήνα και το περιβάλλον του. Επειδή η φασματοσκοπία πρωτονίου είναι ποσοτική, είναι δυνατός ο υπολογισμός του αριθμού των πρωτονίων σε ένα μόριο μέσω της ολοκλήρωσης των φασματικών κορυφών (6).



Εικόνα 3: ακολουθία 1D

## Κεφάλαιο 3

# Χημειομετρία και πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση

### 3.1 Εισαγωγή

Ως χημειομετρία έχει ορισθεί η ικανότητα ερμηνεύσης χημικών πληροφοριών από δεδομένα χημικών πειραμάτων. Πρόκειται για συνδυασμό γνώσεων από διεπιστημονικά πεδία (στατιστικής, εφαρμοσμένων μαθηματικών και πληροφορικής) με σκοπό την επίλυση προβλημάτων χημείας στην παρούσα έρευνα αλλά και σε άλλους τομείς.

Με το συνδυασμό μαθηματικών και στατιστικών μεθόδων δίνεται η δυνατότητα στη χημειομετρία να δώσει απαντήσεις σε ένα χημικό πρόβλημα απεικονίζοντας το γραφικά.

Η πολυμεταβλητή ανάλυση δεδομένων είναι μια από τις διαδικασίες που εφαρμόζονται για την τελική στατιστική ανάλυση μιας χημικής πληροφορίας. Χρησιμοποιώντας περισσότερες από μια μεταβλητή επιτρέπει την ερμηνεία πολύπλοκων δεδομένων που παρουσιάζονται κατά τη μεταβολομική μελέτη.

Στη συγκεκριμένη μεταπτυχιακή έρευνα η μέθοδος της ανάλυσης σ κύριες συνιστώσες (Principal Components Analysis, PCA ) είναι η κύρια εφαρμογή στη για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων.

Η βασική λειτουργία της PCA είναι προβολή σημείων από ένα πολυδιάστατο χώρο πολλών μεταβλητών σε ένα χώρο μικρότερων διαστάσεων (6)

### 3.2 Βασικές αρχές πολυμεταβλητής στατιστικής ανάλυσης

Ο μεγάλος αριθμός πληροφοριών σε τρόφιμα/ποτά που περιέχεται σε ένα NMR αποτύπωμα καθιστά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων πολύ δύσκολη έως και αδύνατη.

Γι' αυτό το λόγο ανακαλύφθηκε η εφαρμογή τεχνικών ανίχνευσης προτύπων για την αξιολόγηση των δεδομένων.

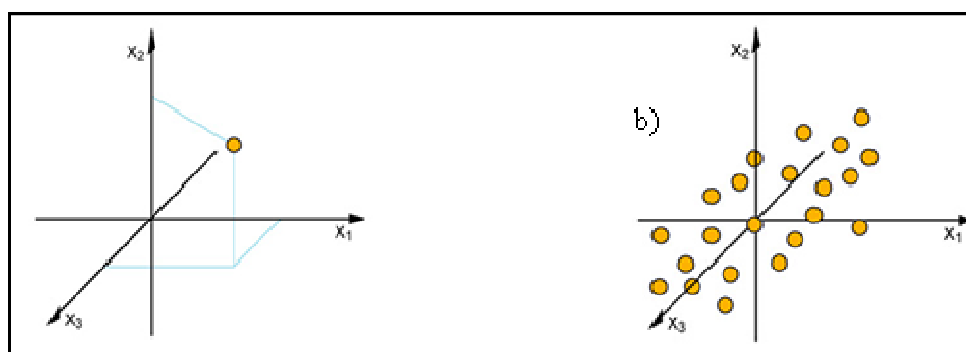
#### 3.2.1 Επεξήγηση της ανάλυσης των κυρίων συνιστώσεων

Έστω ότι η μήτρα δεδομένων ονομάζεται  $X$  του Σχ. 6, όπου  $N$  οι

παρατηρήσεις (φάσματα) και  $K$  οι μεταβλητές. Για την συγκεκριμένη μήτρα δημιουργήθηκε ένας διανυσματικός χώρος διάστασης ίσης με τον αριθμό των μεταβλητών ενώ κάθε μεταβλητή αποτελεί έναν άξονα συντεταγμένων (6)

Για κάθε παρατήρηση ( $x_n = \sum_{k=1}^K x_k$ ,  $n$ -γραμμή του Πίνακα  $\mathbf{X}$ ) υπάρχει μια αναπαράσταση όντας ένα σημείο στο χώρο των  $K$ -διαστάσεων και με συντεταγμένες τις τιμές των μεταβλητών. Για λόγους απλούστευσης θα θεωρείται  $K=3$  έτσι ώστε η επισκόπηση να γίνει στον τρισδιάστατο διανυσματικό χώρο (εικόνα 5).

Κατά αυτόν τον τρόπο, όλες οι παρατηρήσεις προβάλλονται στο διανυσματικό χώρο  $K$ -διάστασης.



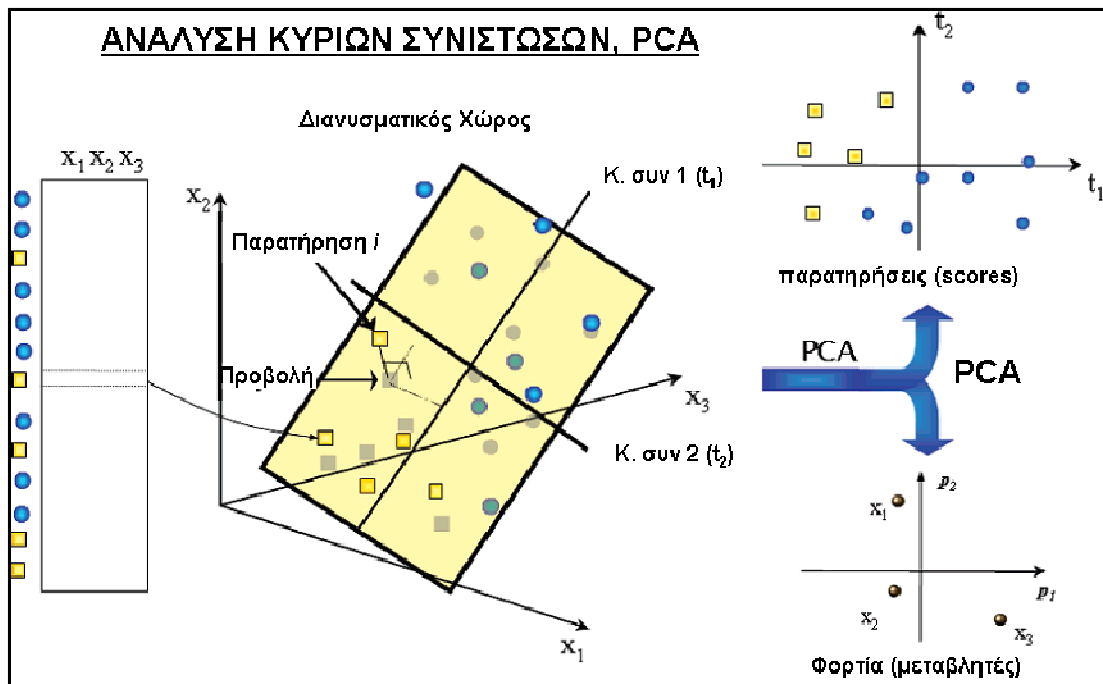
**Εικόνα 4 (α)** Η κουκίδα που ορίζεται με συντεταγμένες τις τιμές των μεταβλητών σε Πίνακα  $\mathbf{X}$  (οπού  $K=3$ ) αναπαριστώντας τις στο χώρο των  $K$ -διαστάσεων. **(β)** Προβολή όλων των παρατηρήσεων στο διανυσματικό χώρο  $K$ -διάστασης

Στο (Σχήμα 1.b) χρησιμοποιείται και μια δεύτερη Κύρια συνιστώσα διότι μια συνιστώσα δεν αρκεί για την σωστή απεικόνιση της συστηματικής διακύμανσης του συνόλου των δεδομένων. Έτσι η δεύτερη συνιστώσα η οποία έχει το ρόλο της βέλτιστης διακύμανσης των δεδομένων αναπαριστάται ως μία ευθεία στο διανυσματικό χώρο διάστασης  $K$ , ορθογώνια ως προς τη πρώτη.

Οι παρατηρήσεις προβάλλονται στο επίπεδο που ορίζουν οι δύο Κύριες Συνιστώσες που αποτελεί ένα "παράθυρο" στον αρχικό χώρο  $K$ -διάστασης ενώ δίνεται η δυνατότητα να πραγματοποιηθεί η ομαδοποίηση στο σύνολο των δεδομένων. Οι προβολές των παρατηρήσεων στο νέο σύστημα

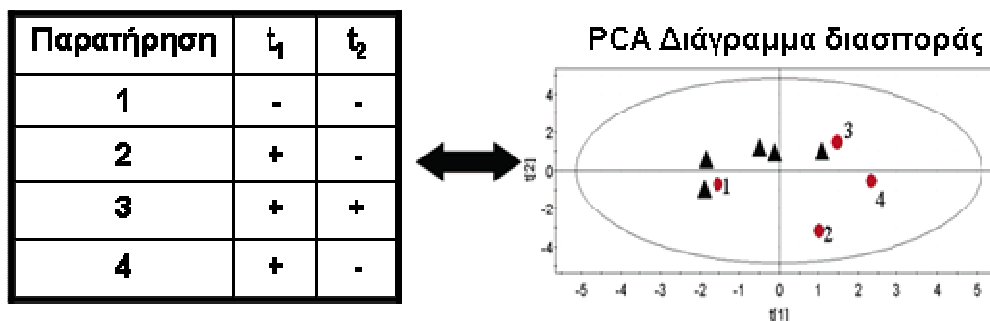


κανονικοποιημένου βάρους, συγκριτικά με ένα άλλο όρο ή ομάδα παρατηρήσεων.



Εικόνα 6: Μοντέλο ανάλυσης κύριων συνιστωσών.

Συνοψίζοντας, η PCA έχει την δυνατότητα να προβάλλει εντός ενός Πίνακα δεδομένων πολλών μεταβλητών σε ένα διανυσματικό χώρο λίγων διαστάσεων (2 έως 5) ώστε να είναι δυνατή η επισκόπηση των δεδομένων και να αναδειχτούν πιθανές ομαδοποιήσεις των παρατηρήσεων, τάσεις καθώς και έκτροπες παρατηρήσεις (outliers) (3). Επιπλέον η επισκόπηση αυτή αποκαλύπτει τη συσχέτιση μεταξύ παρατηρήσεων και μεταβλητών (Εικόνα 7).



Εικόνα 7: Συσχέτιση παρατηρήσεων και μεταβλητών

# ΠΕΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### Ποσοτική ανάλυση- ταυτοποίηση κύριων μεταβολιτών

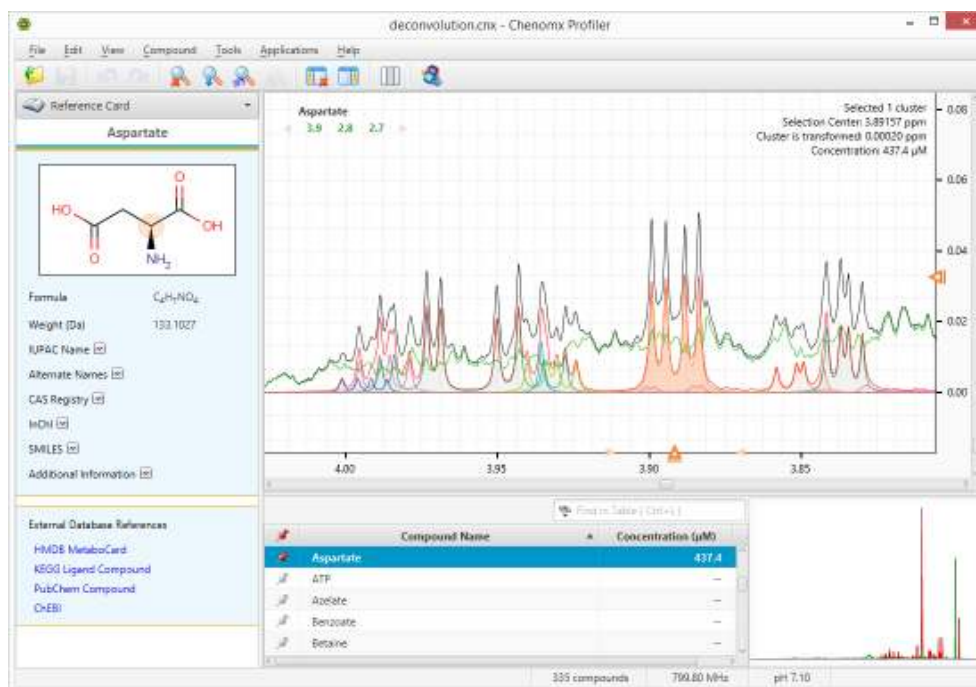
#### Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά στις 4.1 Εισαγωγή

Βασικές κατηγορίες ενώσεων (αλκοόλες, αμινοξέα, οργανικά οξέα, φαινολικά, σάκχαρα) που απαντώνται στα αλκοολούχα ποτά και παρουσιάζεται ο τρόπος ποσοτικοποίησής τους από τα φάσματα NMR με χρήση του λογισμικού Chenomx.

Συγκεκριμένα, η βάση δεδομένων κύριων μεταβολιτών του λογισμικού Chenomx NMR Suite 6.0 παρέχει τη δυνατότητα στο χρήστη να ανιχνεύσει, ταυτοποιήσει και ποσοτικοποιήσει ενώσεις σε ένα φάσμα NMR ενός μίγματος το οποίο ή δεν θα έχει δεχθεί κάποια επεξεργασία ή θα έχει προέλθει από συμπύκνωση ή λυοφιλοποίηση του δείγματος προτού γίνει η ανάλυση. Στηρίζεται σε βάση δεδομένων με πρότυπα φάσματα NMR μεταβολιτών (που απαντώνται κυρίως σε βιολογικά υγρά), που βρίσκεται ενσωματωμένη στο λογισμικό. Ο χρήστης μπορεί να εστιάσει σε συγκεκριμένη περιοχή του φάσματος και να αναζητήσει μεταβολίτες από τη βάση των οποίων οι φασματικές κορυφές ταιριάζουν με το πειραματικό φάσμα. Σημαντικό πλεονέκτημα του λογισμικού είναι ότι λαμβάνει υπόψη τις μεταβολές στις χημικές μετατοπίσεις που επιφέρει η αλλαγή στο pH. Οι επιμέρους υπολογιστικές ρουτίνες που χρησιμοποιήθηκαν από το Chenomx είναι το Profiler και το Proseccor. Το Profiler χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει και να ποσοτικοποιήσει τις ζητούμενες ενώσεις. Το proseccor έχει τη δυνατότητα επεξεργασίας των φασμάτων διορθώνοντας τη γραμμή βάσεως και τη φάση, εξασφαλίζοντας έτσι την ορθή βαθμονόμηση των φασμάτων αλλά και την σωστή ποσοτικοποίηση των ενώσεων.

Στη συγκεκριμένη διπλωματική έρευνα οι μεταβολίτες που ανιχνεύτηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν ανήκουν στις ακόλουθες κατηγορίες ενώσεων: αλκοόλες,

σάκχαρα, φαινολικές ενώσεις , καρβονυλικές ενώσεις , αμινοξέα και οργανικά οξέα.



Εικόνα 9 : Με τη χρήση λογισμικού προγράμματος Chemomx πραγματοποιείται ανίχνευση συγκεκριμένων ενώσεων σε ένα πολύπλοκο φάσμα.

Ακολουθως παρουσιάζονται αναλυτικότερα οι κύριες κατηγορίες μεταβολιτών που ανιχνεύθηκαν και τα ποσοτικά τους αποτελέσματα παρουσιάζονται στα επόμενα κεφάλαια.

## 4.2 Αλκοόλες

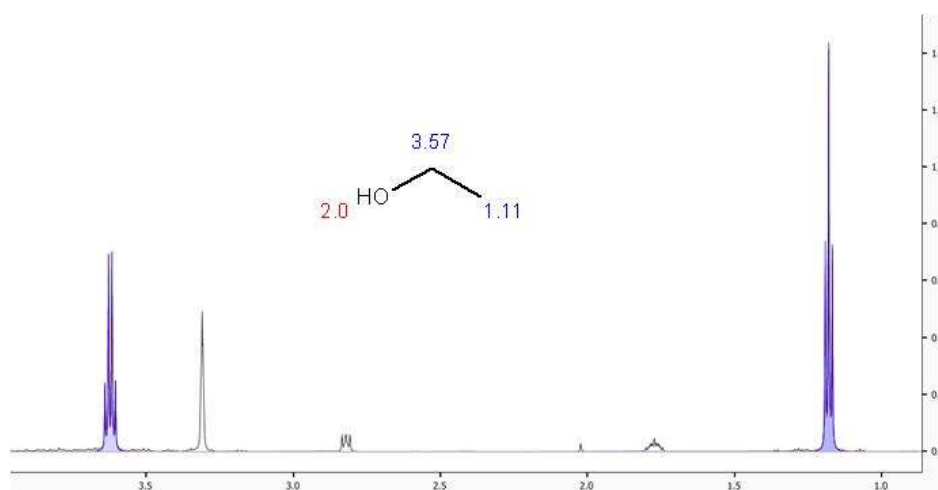
Θεωρούνται ευφορικές ουσίες , προέρχεται από αλκοολική ζύμωση των σακχάρων που βρίσκονται στα σταφύλια. Οι αλκοόλες χωρίζονται σε απλές μονοαλκοόλες, ανώτερες αλκοόλες και πολυαλκοόλες (αλλιώς πολυόλες) .

Στις μονοαλκοόλες ανήκει η μεθανόλη και αιθανόλη.



Ανώτερες μονοαλκοόλες: Οι διαφορές τους από τις μονοαλκοόλες είναι ότι περιέχουν στο μόριό τους πάνω από δύο μόρια άνθρακα, θεωρούνται ότι είναι δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης και οι εστέρες τους ασκούν σημαντική επίδραση στη διαμόρφωση του μπουκέτου των οίνων.

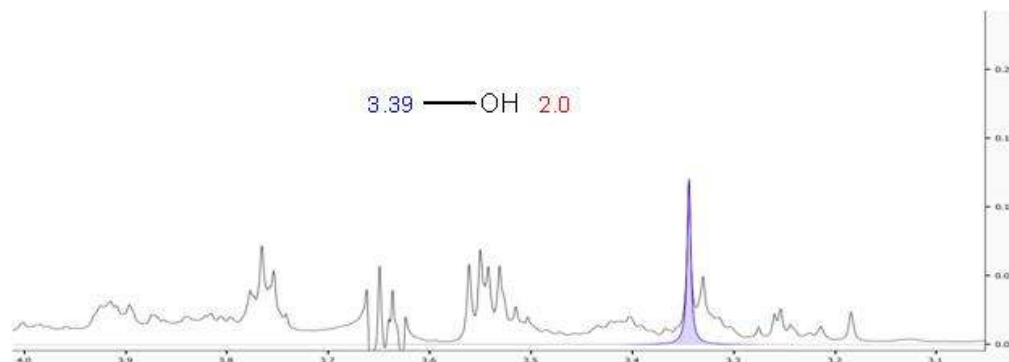
**Αιθανόλη:** Είναι μια αλκοόλη που βρίσκεται σε μεγάλη περιεκτικότητα συγκριτικά με όλες τις ουσίες του οίνου. Υψηλή συγκέντρωση αλκοόλης μπορεί να προκαλέσει φλεγμονή του ρινικού, ερεθισμό του δέρματος μέχρι και δηλητηρίαση (28). Σύμφωνα με πηγές κυμαίνεται από 7-21% v/v (29). Στην εικόνα 9 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 1,16 έως 3,7 ppm. όπου διακρίνονται οι κορυφές της αιθανόλης



Εικόνα 9: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αιθανόλης [ 1,16 ppm (t) , 3,6 ppm (q)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Μεθανόλη :** Η μεθανόλη γνωστή και ως μεθυλική αλκοόλη και σπανιότερα ως καρβινόλη , είναι η απλούστερη αλειφατική αλκοόλη. Είναι προϊόν της απομεθυλίωσης των πηκτινών (πολυσακχαρίτες) που βρίσκονται σε μεγάλη συγκέντρωση στις φλούδες της ρόγας και σε μικρότερη στη σάρκα του σταφυλιού. Η κατανάλωση πάνω από τα όρια μπορεί να προκαλέσει τοξικότητα πέρα από τη μέθη (9). Η συγκέντρωση της μεθανόλης κυμαίνεται μεταξύ 2,0 – 20 mg/mL (9) στον οίνο. Θανατηφόρα δόση για τον άνθρωπο είναι μια ποσότητα πάνω από 340 mg/kg. Στην εικόνα 10 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στα 3,39 ppm. όπου διακρίνεται η κορυφή της

μεθανόλης. Έρευνες έχουν δείξει ότι η προσθήκη προτεολυτικών ενζύμων επάγει μια αύξηση στα επίπεδα της μεθανόλης στον οίνο .(19)

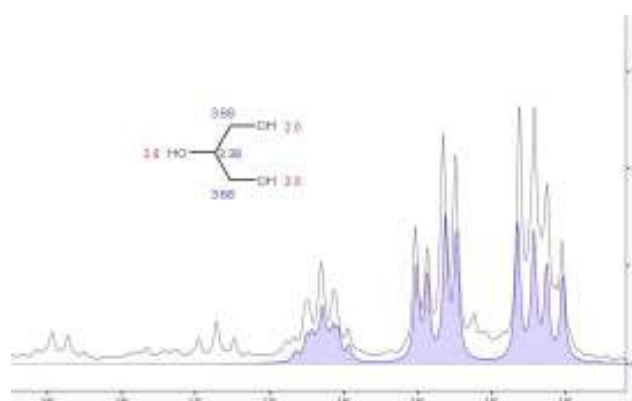


Εικόνα 10: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Μεθανόλης [ 3.39 (s)]

όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

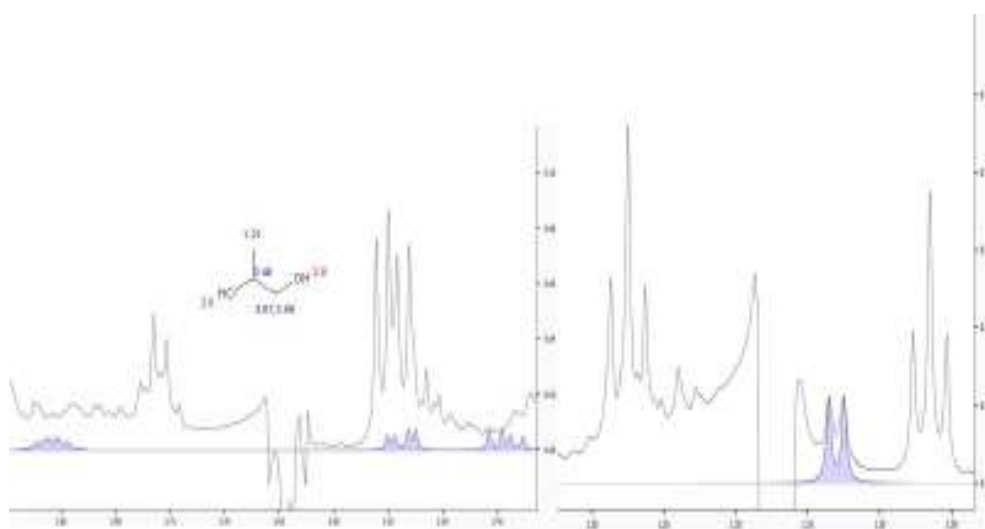
**Γλυκερόλη:** ανήκει στις αλκοόλες και συγκεκριμένα στις πολυόλες. Σχηματίζεται ως ένα υποπροϊόν της ζύμωσης της αλκοολικής ζύμωσης. Η περιεκτικότητα της εξαρτάται από το pH, τη θειώδες συγκέντρωση, θερμοκρασία ζύμωσης, είδος ζύμης, ποικιλία σταφυλιού και τη σύνθεση του αζώτου του κρασιού. Η γλυκερόλη έχει ως χαρακτηριστικό τη γλυκύτητα στον οίνο, προέρχεται από στελέχη ζυμομυκήτων *Saccharomyces cerevisiae*.

Δεν έχει καμία επίπτωση στα αρωματικά χαρακτηριστικά. Περιέχεται σε μεγάλες ποσότητες μέσα στο κρασί όπου η συγκέντρωσης της συγκεκριμένης αλκοόλης στον οίνο κυμαίνεται από 473,28-873,16 mg/dL (17). Στην εικόνα 11 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.58 έως 3.78 ppm. όπου διακρίνεται οι κορυφές της γλυκερόλης.



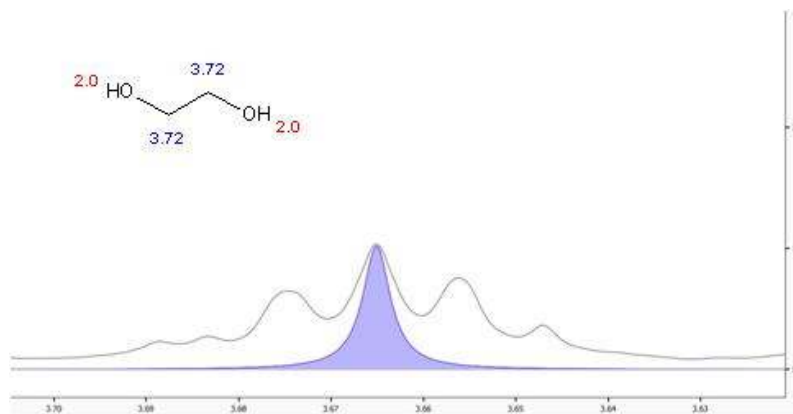
Εικόνα 11: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Γλυκερόλης [ 3.58 ppm (q), 3.68 ppm (q), 3.78 ppm (m)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Προπυλενική γλυκόλη** Είναι μια αλκοόλη που προέρχεται από τη Γλυκερόλη και βρίσκεται σε χαμηλές περιεκτικότητες στα αλκοολούχα ποτά. Φημίζεται κυρίως για την αντιψυκτική του δράση ως συντηρητικό στους οίνους (1). Στην εικόνα 12 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 1,14 έως 3,56 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της προπυλενικής γλυκόλης.



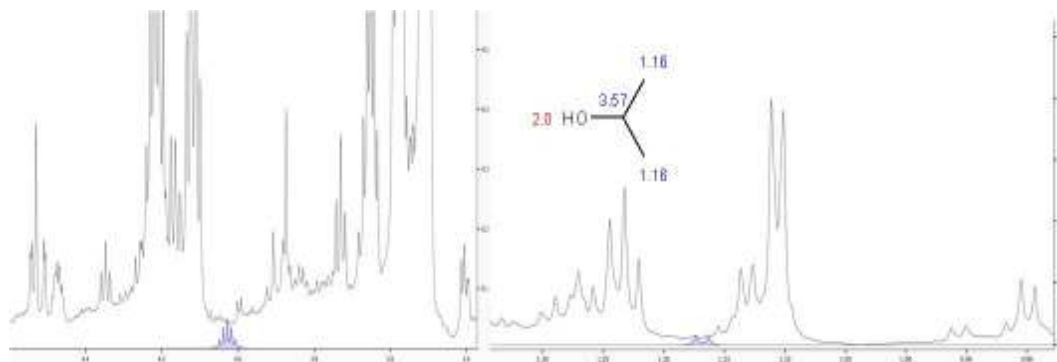
Εικόνα 12: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Προπυλενικής Γλυκόλης [ 1.14 ppm (d) , 3.46 ppm (q) , 3.56 ppm (q)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Αιθυλική γλυκόλη:** Είναι μια αλκοόλη που χρησιμοποιείται και ως συντηρητικό στους οίνους. Στην εικόνα 13 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.7 ppm. όπου διακρίνεται η κορυφή της Αιθυλικής γλυκόλης.



Εικόνα 13: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αιθυλικής γλυκόλης 3.7 (s) όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Ισοπροπανόλη:** Είναι η απλούστερη «δευτεροταγής αλκοόλη», δηλαδή το υδροξύλιο στο μόριο της είναι ενωμένο σε δευτεροταγές άτομο άνθρακα. Η ισοπροπανόλη κυμαίνεται στα 0,03 mg/Dl (23). Στην εικόνα 14 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 1.16 έως 3.57 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της Ισοπροπανόλης.



Εικόνα 14: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Ισοπροπανόλης [ 1.16 ppm (d) , 3.57 ppm (m)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

### 4.3 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ

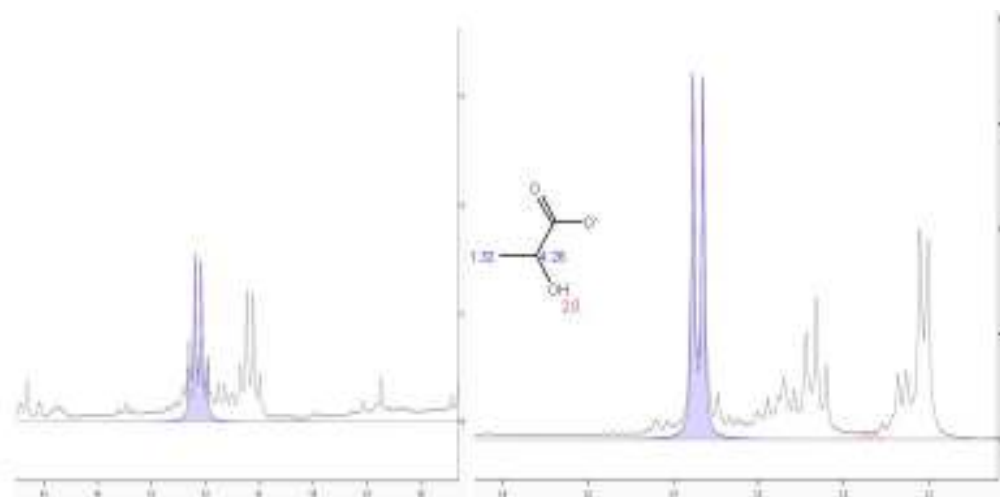
Αποτελούν μια σπουδαία ομάδα συστατικών των οίνων όχι μόνο για την όξινη γεύση αλλά και για την προστασία αυτών από τις μικροβιολογικές ή χημικές προσβολές, καθώς επίσης και για τη διατήρηση του χρώματος. Μέρος των οργανικών οξέων εξουδετερώνεται από ποσότητα βάσεων και το υπόλοιπο

που απομένει ελεύθερο. Επηρεάζει την όξινη αντίδραση του γλεύκους και του οίνου. Τα οργανικά οξέα που περιέχονται στον οίνο έχουν διπλή προέλευση. Ένα μέρος προέρχεται από το σταφύλι ενώ τα υπόλοιπα κατά την διάρκεια των ζυμώσεων του γλεύκους και των τυχόν μικροβιολογικών προσβολών γλεύκους και οίνου.

**Γαλακτικό οξύ:** Προέρχεται από μηλογαλακτική ζύμωση όπου τα γαλακτικά βακτήρια μετατρέπουν το κιτρικό και μηλικό σε γαλακτικό. Ωστόσο και κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης παράγεται γαλακτικό.

Το γαλακτικό είναι οργανικό οξύ που προέρχεται και εκτός από τα γλεύκη και συμβάλλει στην οξύτητα του κρασιού, έχει τριπλή προέλευση: 1) από τις ζύμες κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης, 2) από τα γαλακτικά βακτήρια κατά τη μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό (μηλογαλακτική ζύμωση) και 3) από τα γαλακτικά βακτήρια κατά την προσβολή των ζαχάρων, γλυκερίνης και τρυγικού οξέος.

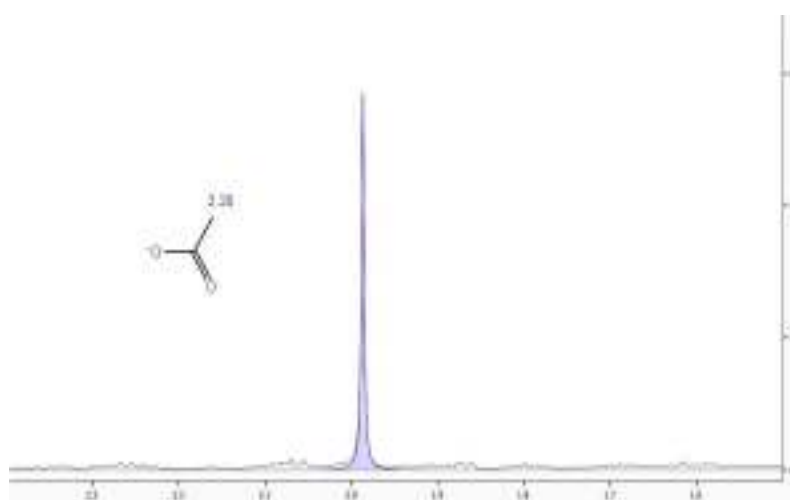
Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η περισσότερη περιεκτικότητα σε γαλακτικό προέρχεται από την ζύμωση και από γαλακτικά βακτήρια παρά από τη καλλιέργεια του σταφυλιού. Βρίσκεται σε περιεκτικότητες 48,92-234,82 (32) mg/Lt. Στην εικόνα 15 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 1.43 έως 4.2 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του γαλακτικού οξέος.



Εικόνα 15: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Γαλακτικού οξεώς [ 1.3 ppm (d), 4.2 ppm (q)]όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

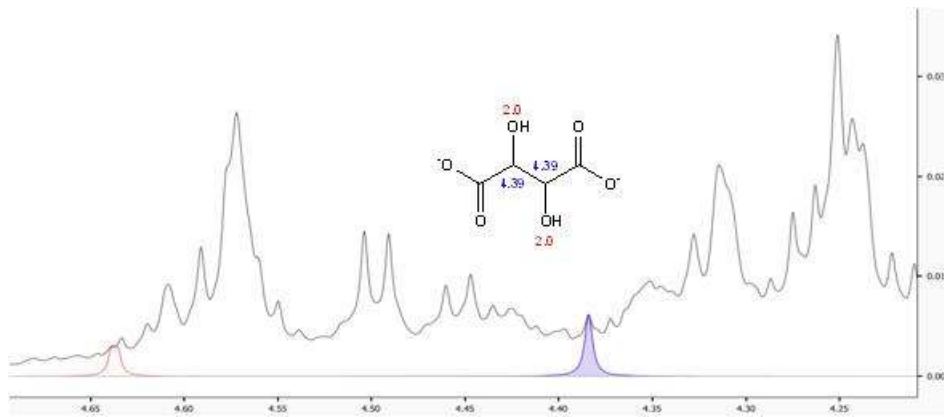
**Οξικό οξύ:** Είναι συστατικό που βρίσκεται στα σταφύλια και στον οίνο. Προέρχεται από οξική ζύμωση (πραγματοποιείται με την ενζυματική δράση των βακτηρίων του γένους *Acet acterobacter* με τη παρουσία οξυγόνου όπου πρόκειται για την οξειδωτική ζύμωση κατά την οποία η αιθυλική αλκοόλη οξειδώνεται προς οξικό και νερό) (8).

Έχει γεύση ξυδιού, σε περιεκτικότητα άνω του ορίου το οξικό δίνει μια ανεπιθύμητη σε άρωμα και γεύση στον οίνο. κυμαίνεται μεταξύ 33,5-62,3 mg/Lt (26). Στην εικόνα 16 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 1.2 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του γαλακτικού οξέος.



Εικόνα 16: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Οξικό οξέως [2.0 ppm (s) όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

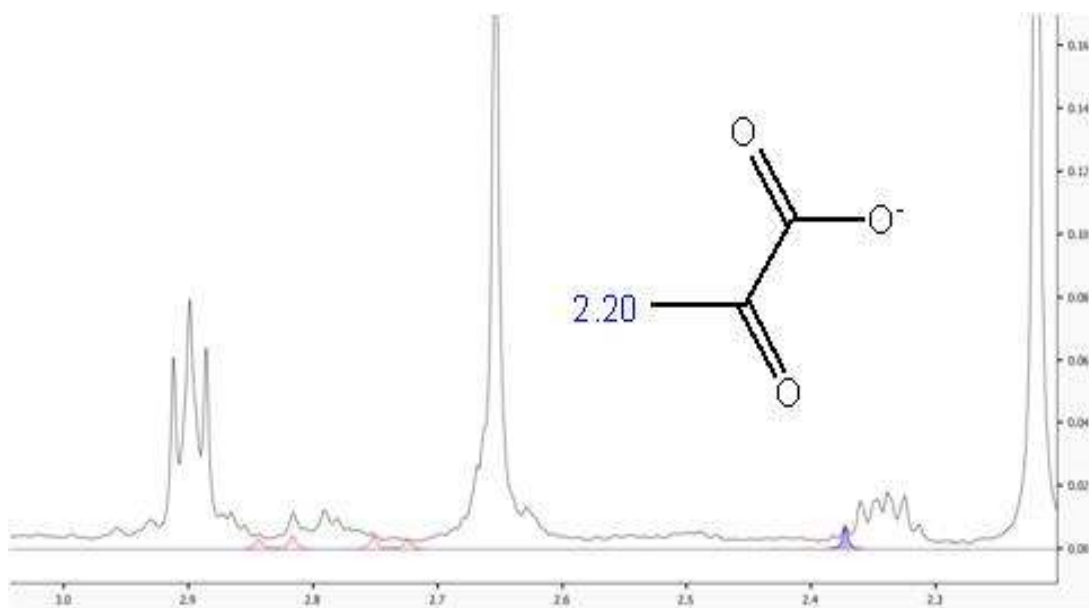
**Τρυγικό οξύ:** Αλλιώς (D-τρυγικό) είναι ένα από τα σημαντικότερα οξέα στον οίνο και συμβάλει στον όξινο χαρακτήρα. Βρίσκεται στο σταφύλι και μας δείχνει πληροφορίες για τον έλεγχο των διαδικασιών της ωρίμανσης, είναι μια παράμετρος για τη σταθεροποίηση του κρασιού και ανίχνευση μεταβολών , εξαρτάται από διάφορους παράγοντες οινοποίησης όπως βροχόπτωση θερμοκρασία συγκέντρωση ασβεστίου και καλίου (18). Σε υψηλή συγκέντρωση σε αλκοολούχα ποτά δίνει δυσάρεστη γεύση . Σε διάφορες μελέτες μέσω ανάλυσης σε HPLC ανιχνεύτηκε σε ποσότητες από 1,20-3,00 mg/dL (25). σε Στην εικόνα 17 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 4.4 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του τρυγικού οξέος.



Εικόνα 17: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Τρυγικού οξέως [ 4.4 ppm (s)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

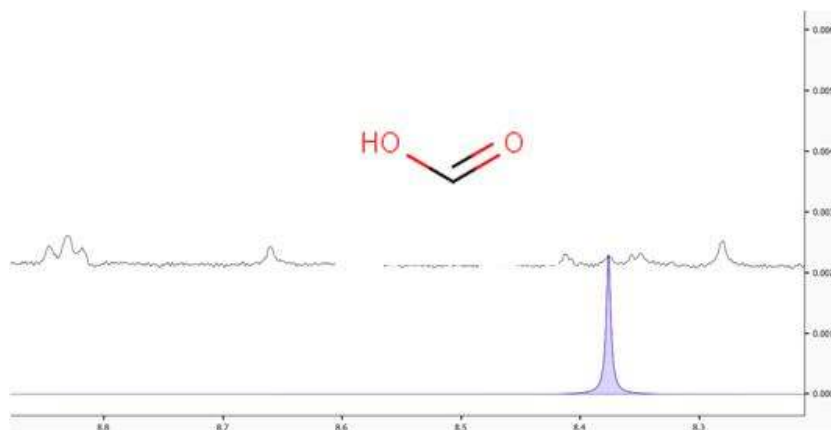
**Πυροσταφυλικό οξύ:** Το συγκεκριμένο κετονικό οξύ είναι αποτελεί κυρίως ενδιάμεσο προϊόν του μεταβολισμού των υδατανθράκων όπου εμφανίζεται στα κύτταρα και στους ιστούς. Απελευθερώνεται μέσα στο μούστο από το μεταβολισμό της ζύμης κατά τη διάρκεια αλκοολικής ζύμωσης, επίσης απελευθερώνεται και από γαλακτικά βακτήρια κατά την μηλογαλακτική ζύμωση. (8)

Η συγκέντρωσης της κυμαίνεται μεταξύ 0,81 – 2,2 mg/dL (18). Στην εικόνα 18 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 2.4 ppm όπου διακρίνεται η κορυφή του πυροσταφυλικού οξέος.



Εικόνα 18: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Πυροσταφυλικού οξέως [ 2.4 ppm (s)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Φορμικό οξύ:** Είναι ένα ευώδης συστατικό του κρασιού που δημιουργείται κατά τη παραγωγή της ζύμωσης . Έχει βρεθεί επίσης σε παλαιωμένα κρασιά. 0.026-2.2 mg/dL (16). Στην εικόνα 19 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 8.4 ppm. όπου διακρίνεται η κορυφή του φορμικού οξέος.

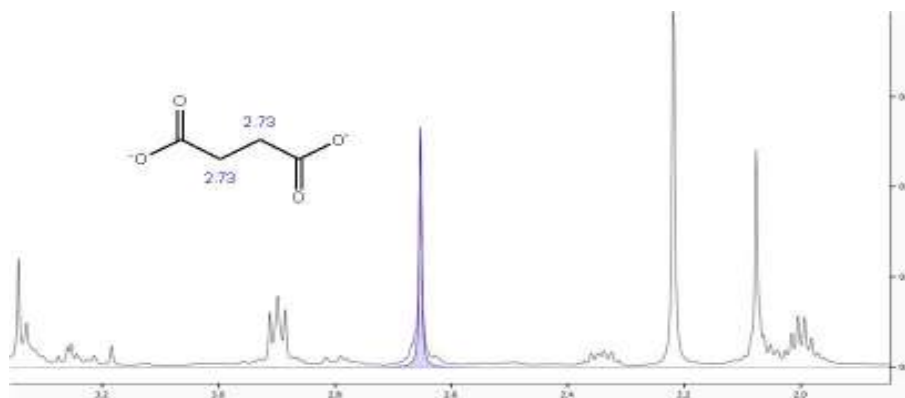


Εικόνα 19: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Φορμικού οξέως [ 8.4 ppm (s)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Ηλεκτρικό οξύ:** Το συγκεκριμένο μη πτητικό - δикаρβονικό οξύ προέρχεται από το γλεύκος των σταφυλιών και περιέχεται σε μεγάλη ποσότητα στον οίνο. Παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση των κυττάρων και την αναγωγή του μηλικού, ασκεί μεγάλη επίδραση στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στον οίνο (8) , επίσης έχει συνδεθεί με τη ποικιλία του σταφυλιού και το “vintage factor” (10) .

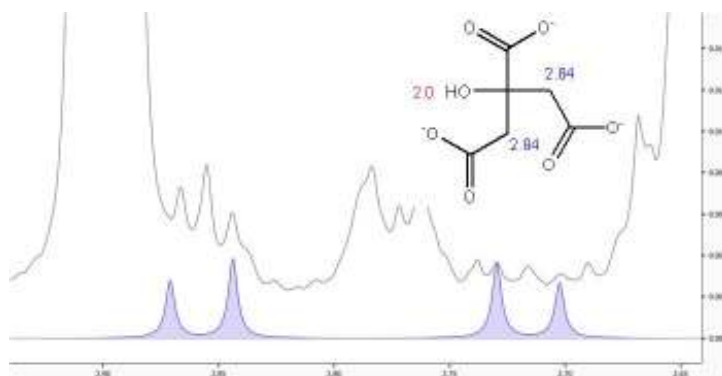
Είναι σταθερό και δεν μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της παλαίωσης και επηρεάζεται από την συγκέντρωση αλκοόλ. Το ηλεκτρικό οξύ κυμαίνεται μεταξύ 0,4 – 1,11 mg/mL (18). Στην εικόνα 20 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 2.74 ppm. όπου διακρίνεται η κορυφή του ηλεκτρικού οξέος.





Εικόνα 20: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Ηλεκτρικού οξέως [ 2.74 ppm (s)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Κιτρικό οξύ** Είναι βασικό συστατικό στα σταφύλια, επίσης είναι χαρακτηριστικό οξύ στα εσπεριδοειδή και στο λεμόνι. Ελάχιστη ποσότητα δημιουργείται κατά τη ζύμωση το οποίο μεταβολίζεται κατά τη επεξεργασία του οίνου και προσφέρει μια γεύση από εσπεριδοειδή (18) (24), είναι γνωστό για την επιρροή του στο Ph του κρασιού (23), Το κιτρικό οξύ χωρίς προσθήκη συντηρητικού κυμαίνεται στα 0,56-2,86 mg/dL. Στην εικόνα 21 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 2.7 έως 2.9 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του κιτρικού οξέος.

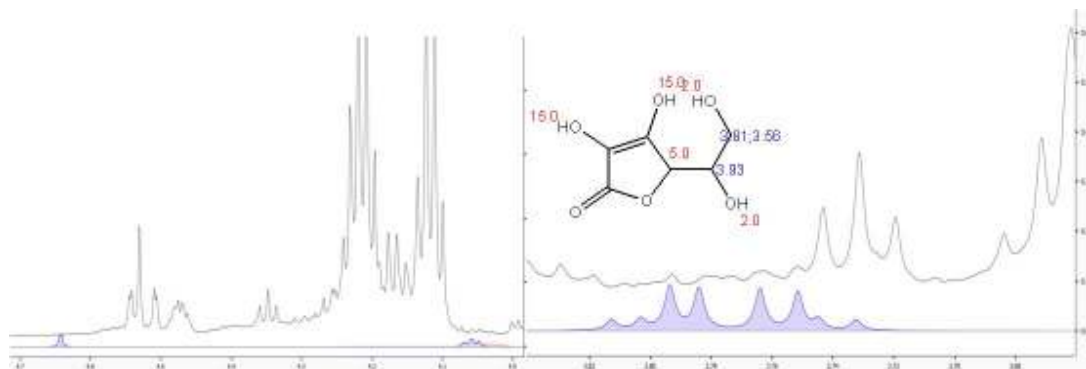


Εικόνα 21: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο το Κιτρικού οξέως [ 2.7 (d) ppm, 2.9(d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Ασκορβικό οξύ:** είναι η γνωστή βιταμίνη C, ένα πολύ ισχυρό φυσικό αντιοξειδωτικό το οποίο βρίσκεται και στο γλεύκος. Κατά τη ζύμωση του εξαφανίζεται και γίνεται η προσθήκη της κατά την οινοποίηση πριν τη

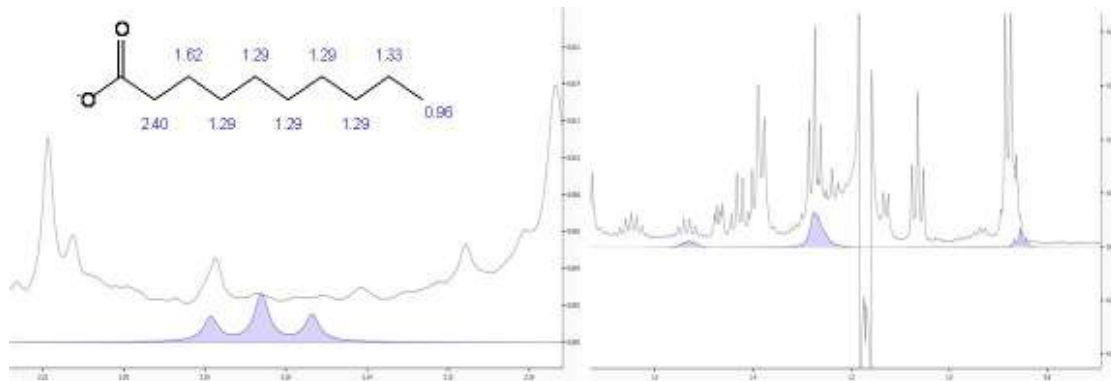
εμφιάλωση ώστε να προστατεύει από την οξείδωση τα αρωματικά του οίνου με αποτέλεσμα να διατηρείται η φρεσκάδα και το άρωμα του σταφυλιού.

Βοηθάει στην αύξηση του χρόνου ζωής κατά την εμπορευματοποίηση του και αποτρέπει την οξειδωτική αλλοίωση που έχει αρνητικό αντίκτυπο στην γεύση και στο χρώμα. Κυμαίνεται από 1-200 mg/Lt (25). Στην εικόνα 22 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.7 έως 4.6 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του κιτρικού οξέος.



Εικόνα 22 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Ασκορβικού οξέως [ 3.7 ppm (q) , 3.8 ppm (q) , 4.1 ppm (t), 4.6 ppm (d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

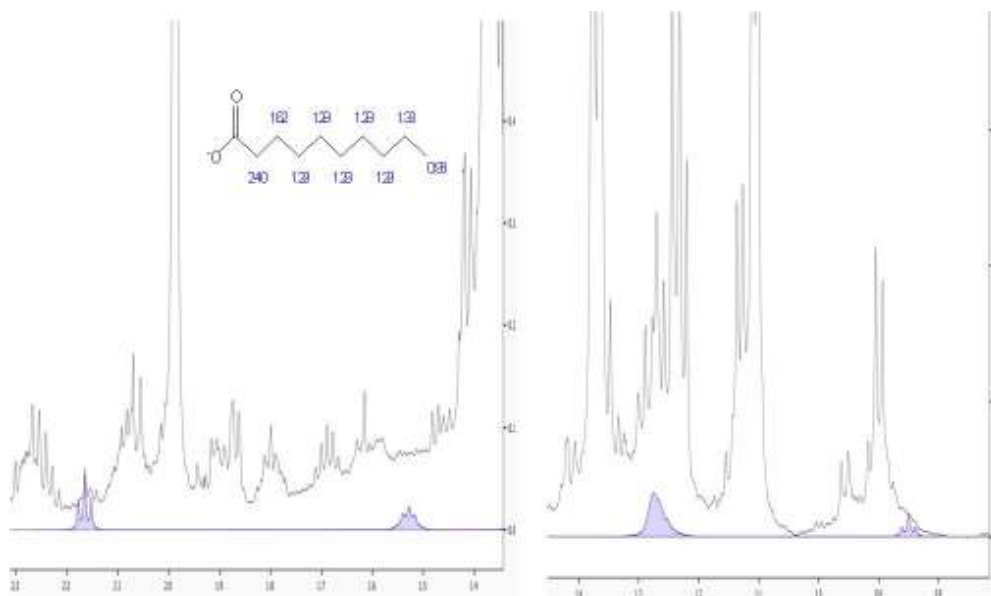
**Καπρικό οξύ:** Αλλιώς ονομάζεται δεκαονικό οξύ και είναι πτητικό μικρού μοριακού βάρους. Το καπρικό οξύ ονομάστηκε έτσι λόγω της δυσάρεστης οσμής (τράγου), όπου στα λατινικά προέρχεται από τη λέξη *Caper* (11). Σύμφωνα με έρευνες σε αέρια φασματογραφία η περιεκτικότητά του κυμαίνεται μεταξύ 0,26-0,92 mg/dL (17). Στην εικόνα 23 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 0.9 έως 2.2 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του καπρικού οξέος.



Εικόνα 23 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του καπρικού οξέως [ 0.9 ppm (t) , 1.3-1.5 ppm (m), 2.2 ppm (t) όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

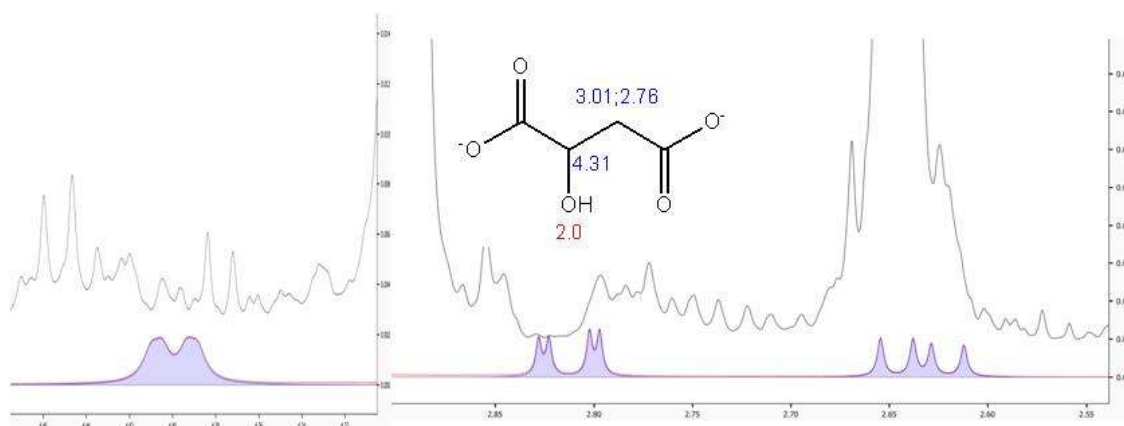
**Καπρυλικό οξύ :** Αλλιώς οκτανοϊκό οξύ, είναι μικρού μοριακού βάρους οξύ και συμβάλει στον αρωματικά με την παρουσία του. Το καπρυλικό οξύ έχει την ίδια γεύση (κατσικίσια) με το καπρικό οξύ (12). Δρα στους μύκητες. Χρησιμοποιείται στα γλυκά κρασιά μαζί με τον θειώδη ανυδρίτη. Σύμφωνα με έρευνες σε αέρια φασματογραφία κυμαίνεται μεταξύ 0,38-1,18 mg/Dl (17)

Στην εικόνα 24 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στη περιοχή 0.9 έως 2.2 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του καπρυλικού οξέος.



Εικόνα 24 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Καπρυλικού οξέως [ 0.8 ppm (t) , 1.3-1.5 ppm (m), 2.2 ppm (t)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Μηλικό οξύ:** Είναι ένα από τα βασικά οξέα που περιέχεται σε υψηλή περιεκτικότητα στο σταφύλι . Μεταβολίζεται από τη γλυκόζη κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Επηρεάζεται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες όπως την έκθεση του στο φως και τη θερμοκρασία, επίσης σημαντικός παράγοντας είναι και η ποικιλία του σταφυλιού (18). Επίσης ασκεί σημαντική επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου δίνοντας μια χορτώδη οσμή και γεύση. Η γεύση του στο κρασί προσδιορίζεται ως στυφνή . Το μηλικό οξύ έχει μεγάλη διακύμανση (23-150 mg/dL) (24) διότι επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες Στην εικόνα 25 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 2.6 έως 4.4 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του Μηλικού οξέος.



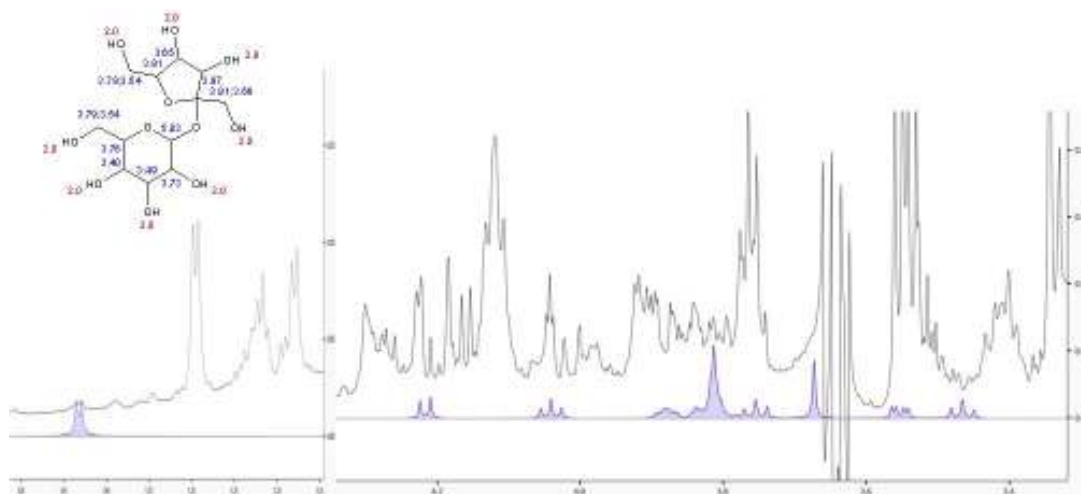
Εικόνα 25: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Μηλικού οξέως [ 2.6 ppm (d) 2.80 & 2.82 ppm (d) , 4.4 ppm (d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

#### 4.4 ΣΑΚΧΑΡΑ

Είναι ενώσεις που αποτελούνται από μια ανθρακική αλυσίδα, η οποία περιέχει αλκοολικές ομάδες και επιπλέον μια αλδεϋδική ή μια κετονική ομάδα. Περιέχονται στο σταφυλοχυμό και με την μετατροπή τους κατά την αλκοολική ζύμωση. Διακρίνονται σε αναγωγικά και μη αναγωγικά.

Τα αναγωγικά σάκχαρα είναι η γλυκόζη, φρουκτόζη, γαλακτόζη, αραβινόζη, ξυλόζη ενώ στα μη αναγωγικά ανήκει η σουκρόζη

**Σουκρόζη:** Είναι ένας ολιγοσακχαρίτης που προσδίδει γλυκιά γεύση σε αλκοολούχα ποτά (20). Από NMR ανάλυση κυμαίνεται μεταξύ 7,3-25,4 mg/dL (20). Στην εικόνα 26 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.5 έως 5.4 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του σουκρόζης .

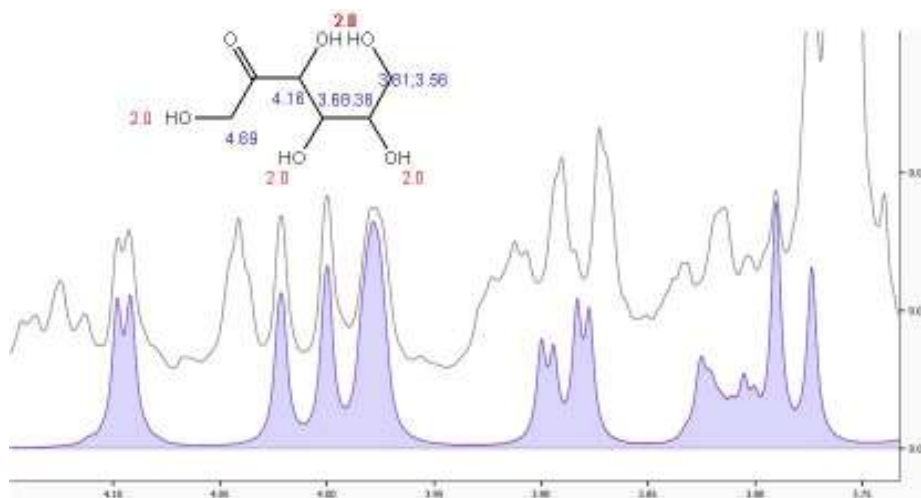


Εικόνα 26: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Σουκρόζης [ 5.4 ppm (d) , 4.2 ppm (d), 4.0 ppm (t), 3.7-3.9 (m) , 3.6 (t) , 3.5 ppm (t)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Φρουκτόζη :** Είναι αναγωγικό σάκχαρο, μονοσακχαρίτης και δεν προτιμάται από τις ζύμες. Η Φρουκτόζη είναι πιο γλυκιάς σε γεύση ως προς τη Γλυκόζη και θεωρείται πιο υγιεινό προς κατανάλωση διότι έχει λιγότερες θερμίδες (20) .

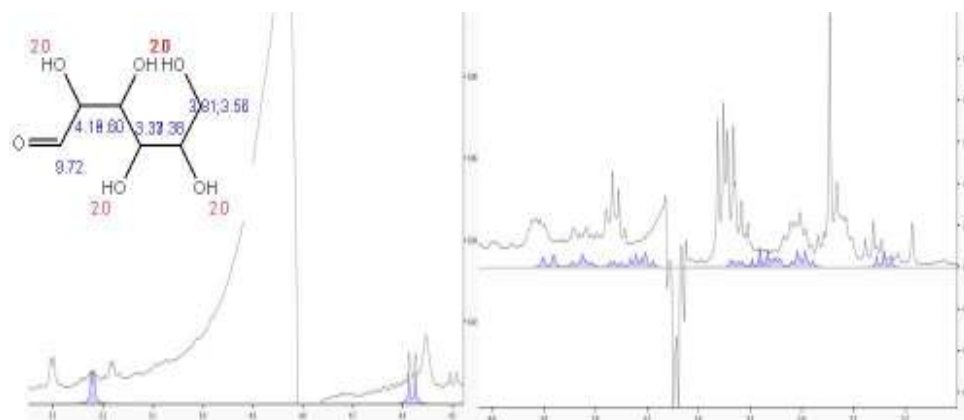
Στους ερυθρούς οίνους βρίσκεται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα (2.3-31.5 mg/dL) ενώ στους λευκούς οίνους με μικρότερη (2,5-17,8 mg/dL) (20)

Στην εικόνα 27 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.2 έως 5.2 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της φρουκτόζης



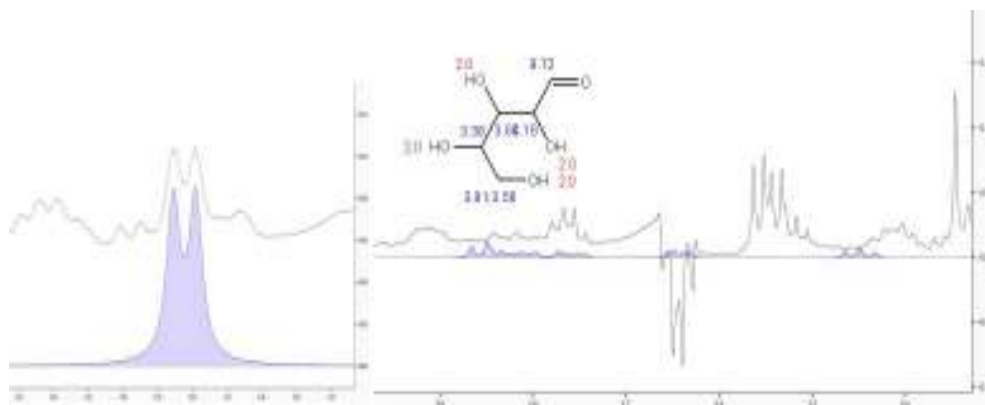
Εικόνα 27: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Φρουκτόζης [ 3.5-3.8 ppm (m) 3.88 ppm (d) , 3.98 ppm (s) , 4.0 ppm (s) , 4.02 ppm (s) , 4.1 ppm (s) όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Γλυκόζη:** Είναι αναγωγικό σάκχαρο και μονοσακχαρίτης όπως και η φρουκτόζη. Οι διαφορές τους βρίσκονται στις φυσικοχημικές ιδιότητες και οι ζύμες δείχνουν προτίμηση στη γλυκόζη (20). Σε NMR πειράματα βρέθηκε ότι κυμαίνεται από 17,67–133,09 mg/dL.(20) Στην εικόνα 28 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.2 έως 5.2 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της γλυκόζης.



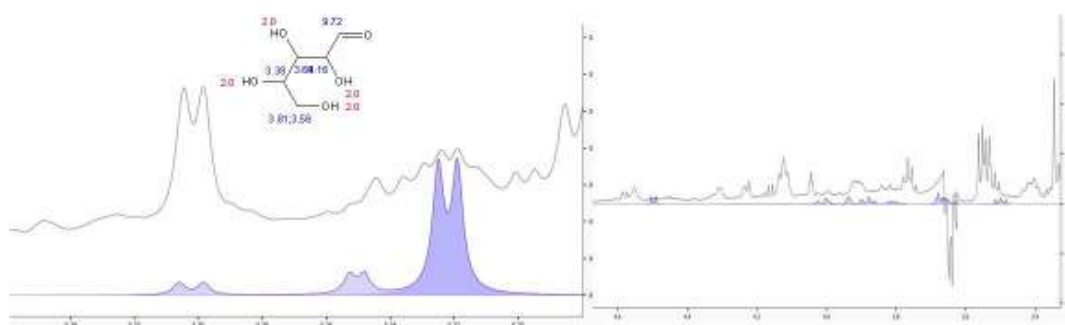
Εικόνα 28 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Γλυκόζης [ 3.2-3.9 ppm (m) 4.6 ppm (d) , 5.2 ppm (d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Τρεαλόζη:** Συνδέεται στη δράση της μαγιάς κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Οι κύριοι ρόλοι της είναι η προστασία των κυττάρων ενάντια στο stress και την αποθήκευση των υδατανθράκων. Από βιβλιογραφία βρέθηκε ότι η τρεαλόζη στα ερυθρά και ροζέ οίνους κυμαίνεται από 0,34 έως 2,6 mg/dL (21). Στην εικόνα 29 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.4 έως 5.18 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της Τρεαλόζης



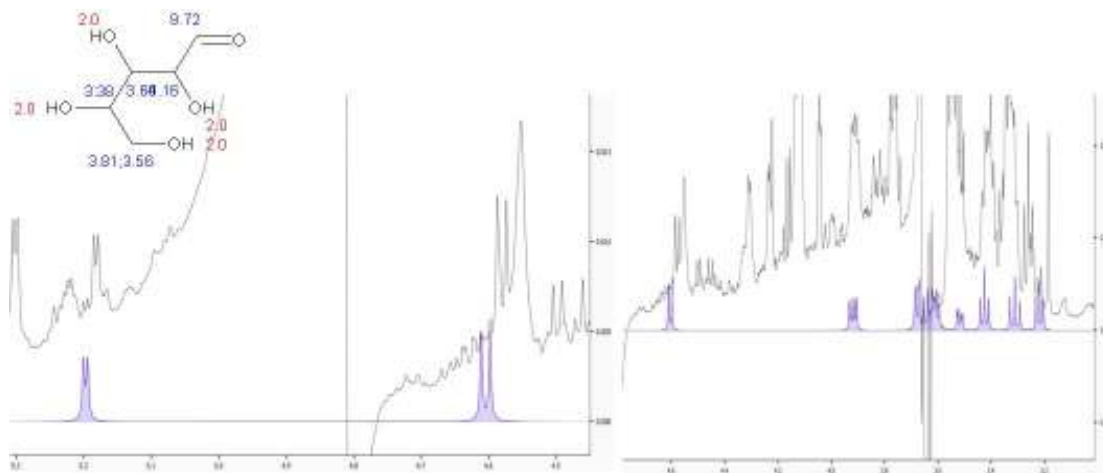
Εικόνα 29: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Τρεαλόζης [3.4 ppm (t) 3.6-3.9 ppm (m) 4.6 ppm (d) , 5.18 ppm (d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Αραβινόζη :** Βρίσκεται στα υπερώριμα σταφύλια σε περιεκτικότητες 0,3-1,0 g/Lt. Στην εικόνα 30 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.4 έως 5.18 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της αραβινόζης.



Εικόνα 30: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αραβινόζης [3.5-4.1 ppm (m) 4.5 ppm (d) , 5.2 ppm (d), 5.3 ppm (d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Ξυλόζη:** Είναι μια πεντόζη-μονοσακχαρίτης. Βρίσκεται στο μούστο και στον οίνο. Τα στελέχη ζυμομυκήτων *Saccharomyces cerevisiae* δεν μπορούν να αξιοποιήσουν τη ξυλόζη λόγω της έλλειψης ενζύμου που μεταβολίζει τη ξυλόζη. Σε HPLC ανάλυση βρέθηκε σε ερυθρούς οίνους σε περιεκτικότητα από 0,5-4,5 mg/dL (30), ενώ σε λευκούς οίνους από 0,5- 2,7 mg/dL. Στην εικόνα 31 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.2 έως 5.2 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της ξυλόζης



Εικόνα 31: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Ξυλόζης [3.2-3.7 ppm (m), 3.9 ppm (q), 4.6 ppm (d), 5.2 ppm (d) όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

#### 4.5 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Αποκαλούνται οι ενώσεις που περιέχουν στο μόριο τους την χαρακτηριστική ομάδα της φαινόλης. Είναι υπεύθυνα για το χρώμα των οίνων, συμβάλουν οργανοληπτικά, προσφέρουν αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση. Διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες (φαινολικά οξέα, φλαβόνες, ανθοκυάνες, ταννίνες) Η κάθε κατηγορία φαινολικών αποτελείται από τις εξής ουσίες :

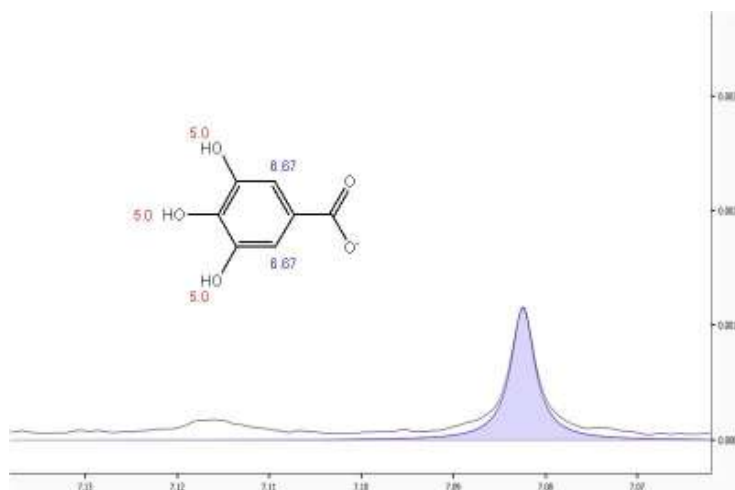
Στα **Φαινολικά:** ( βανιλλικό, συριγγικό, κουμαρικό, καφεϊκό, φερουλικό), στις

**Φλαβόνες:** ( καμφερόλη, κερκετίνη), στις **Ταννίνες:** ( Γαλλικό οξύ, κατεχίνη, επικατεχίνη)

**Γαλλικό οξύ :** Ένα από τα πιο σημαντικά φαινολικά στον οίνο με μεγάλη αντιοξειδωτική δράση. Η συγκεκριμένη πολυφαινόλη επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες, γεωγραφικοί παράγοντες και τη ποικιλία του

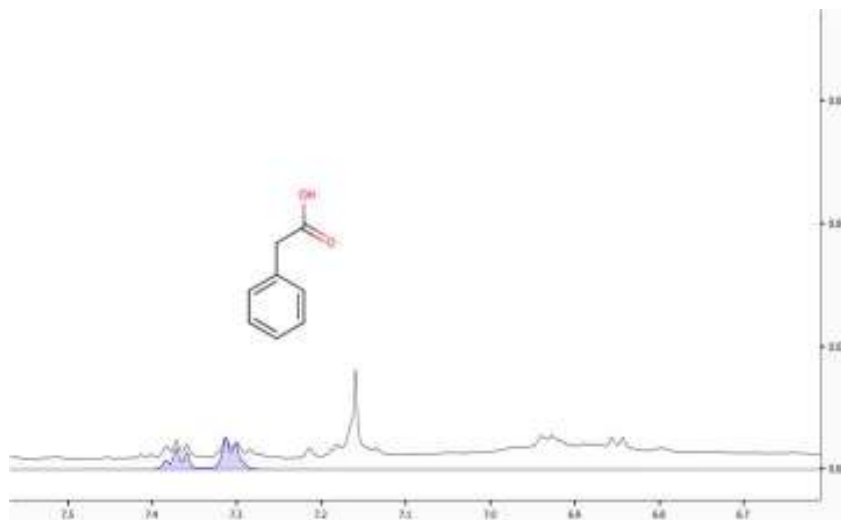


σταφυλιού. Βρίσκεται κυρίως στα κόκκινα κρασιά και λιγότερο στα λευκά, αυτό συμβαίνει λόγω της υδρόλυσης του γαλλικού εστέρα το οποίο απουσιάζει από το λευκό κρασί εξαιτίας της έλλειψης του από τη φλούδα του σταφυλιού. (20) (21). Έχουν αναφερθεί σε έρευνες ότι έχει είναι δραστικό κατά αλλεργιών, φλεγμονών, υπέρτασης, αρθρίτιδας και καρκινογόνων (22). Στην εικόνα 32 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 7.08 ppm όπου διακρίνεται η κορυφή του γαλλικού οξέος.



Εικόνα 32 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Γαλλικού οξέος [ 7.08 ppm (s) όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Φαινυλοξικό** : Είναι ένα αρωματικό καρβοξυλικό οξύ. Οργανοληπτικά η παρουσία του συγκεκριμένου μορίου σε αλκοολούχα ποτά δίνει γεύση από μέλι. Χρησιμοποιείται επίσης και ως αρωματικό πρόσθετο. Στην εικόνα 33 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 7.3 έως 7.4 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές του φαινυλοξικού οξέος.



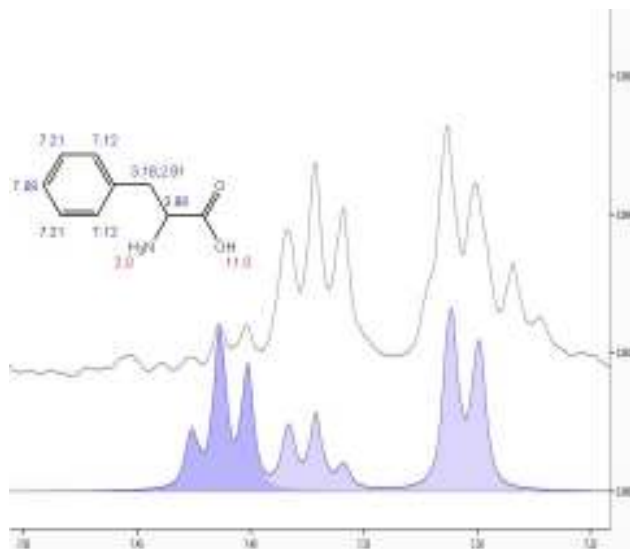
Εικόνα: 33 Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο του Φαινυλοξικού [ 7.3 ppm (t) , 7.4 (d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

#### 4.6 ΑΜΙΝΟΞΕΑ

Ενώσεις του τύπου  $\text{NH}_2\text{-R-COOH}$  με μοριακό βάρος συχνά κάτω από 200, αποτελούν τους στοιχειώδεις δακτυλίους από τους οποίους συνθέτονται τα μακρομόρια των πρωτεϊνών και των πολυπεπτιδίων. Υπάρχουν 34 αμινοξέα στα γλεύκη και στους οίνους και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως ποικιλία σταφυλιών, οξύτητα γλεύκους κλπ

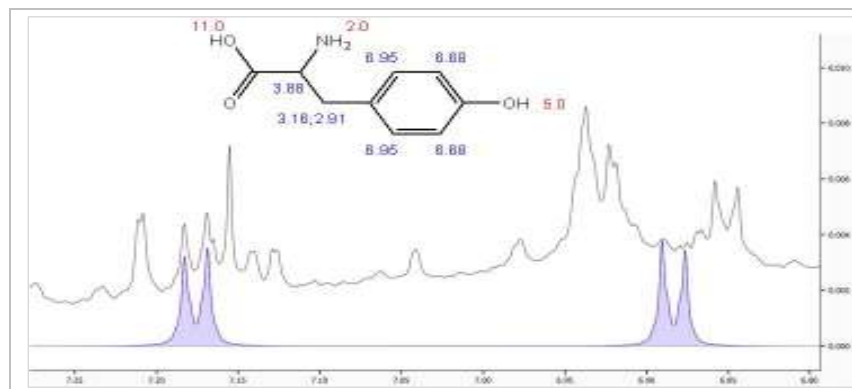
Στη παρούσα μεταπτυχιακή έρευνα έγινε η ποσοτικοποίηση των εξής: αλανίνη ,βανιλίνη άκυκλο αμινοξύ-μονοαμινοκαρβοξυλικό οξύ, γλουταμίνη (μονοαμινοδικαρβοξυλικό οξύ), ισολευκίνη, λευκίνη, προλίνη (αμινοξύ ετεροκυκλικής σειράς), τυροσίνη, φαινυλαλανίνη (κυκλικό αμινοξύ αρωματικής σειράς), θρεονίνη (άκυκλο αμινοξύ υδροξυοξύ)

**Φαινυλαλανίνη:** Είναι αμινοξύ που το χρειάζεται ο ανθρώπινος οργανισμός διότι δεν μπορεί να τη συνθέσει. Το συγκεκριμένο οξύ όταν προσλαμβάνεται, μετατρέπεται σε ντοπαμίνη και νορεπινεφρίνη στο σώμα. έχει γλυκιά γεύση και στους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται από 0,1-2,04 mg/dL (13) Στην εικόνα 34 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 7.3 έως 7.4 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές φαινυλαλανίνης.



Εικόνα 34: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο τη Φαινυλαλανίνη [ 7.3 ppm (d) , 7.4 (t)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

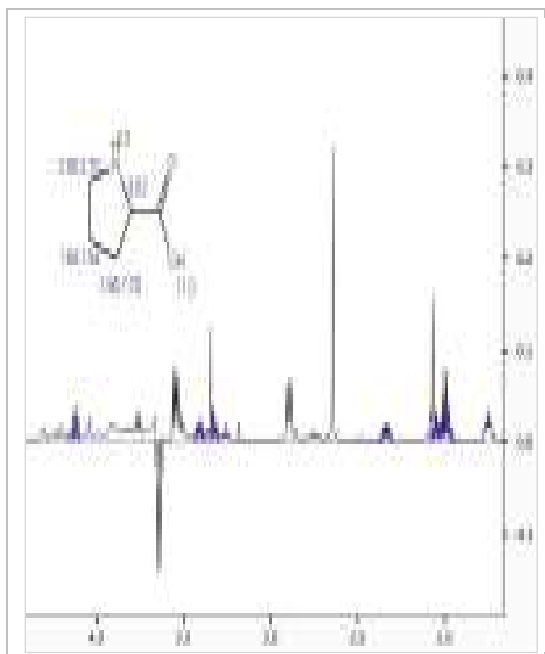
**Τυροσίνη:** Το πρωτεϊνικό αμινοξύ της τυροσίνης κάτω από συνθήκες στρες συνδέεται με το ένζυμο TyrRS που βοηθά τα γονίδια να δημιουργούν πρωτεΐνες με τελικό αποτέλεσμα την αντιγηραντική δράση(14). Από HPLC ανάλυση σε ερυθρούς οίνους φαίνεται να κυμαίνεται από 0,11-4,36 mg/dL. Στην εικόνα 35 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 6.8 έως 7.2 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές τυροσίνης.



Εικόνα 35: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Τυροσίνης [ 6.8 ppm (d) , 7.2 ppm (d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

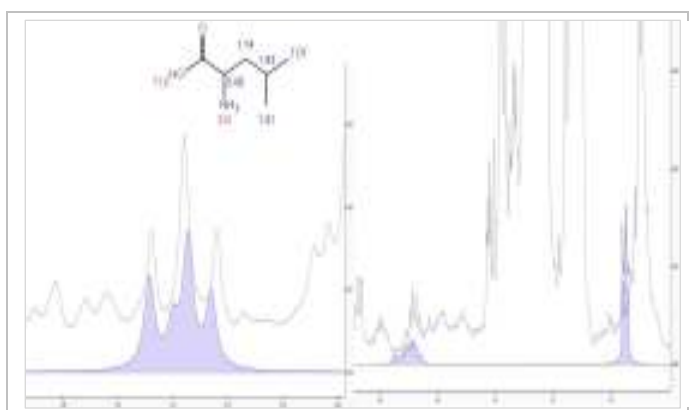
**Προλίνη:** Είναι ένα από τα βασικά αμινοξέα που περιέχεται σε μεγάλη ποσότητα στο κρασί, προέρχεται στα σταφύλια. Επηρεάζεται από τη ποικιλία σταφυλιού και τις κλιματικές συνθήκες ( ετήσια βροχόπτωση, έκθεση στον ήλιο). Επίσης αναγνωρίζεται από την κολλώδη γεύση στη στοματική κοιλότητα (27). Σε HPLC ανάλυση φαίνεται χαρακτηριστικά η ποσοτική

διαφορά σε ερυθρούς (4,7-11,9 mg/dL) και λευκούς (16,8-28,6 mg/dL) (27) οίνους . Στην εικόνα 36 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 2.0 έως 4.1 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές προλίνης.



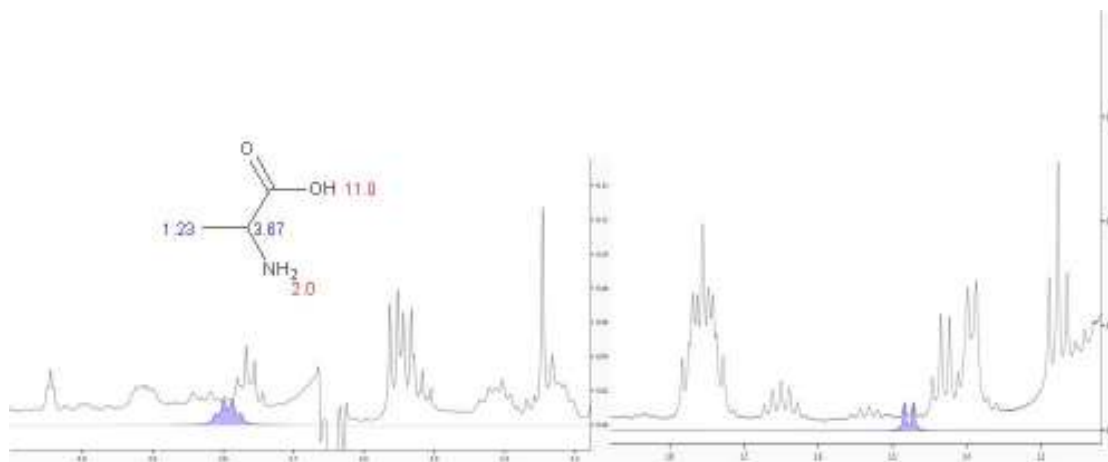
Εικόνα 36: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο τη Προλίνη [ 2.0-3.4 ppm (m) , 4.1 ppm (q)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Λεύκινη:** Είναι α-αμινοξύ που περιέχεται στους οίνους. 5,97-18,92 mg/dL (27) είναι η διακύμανση στους ερυθρούς οίνους. Στην εικόνα 37 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 0,9 έως 3,7 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της λευκίνης.



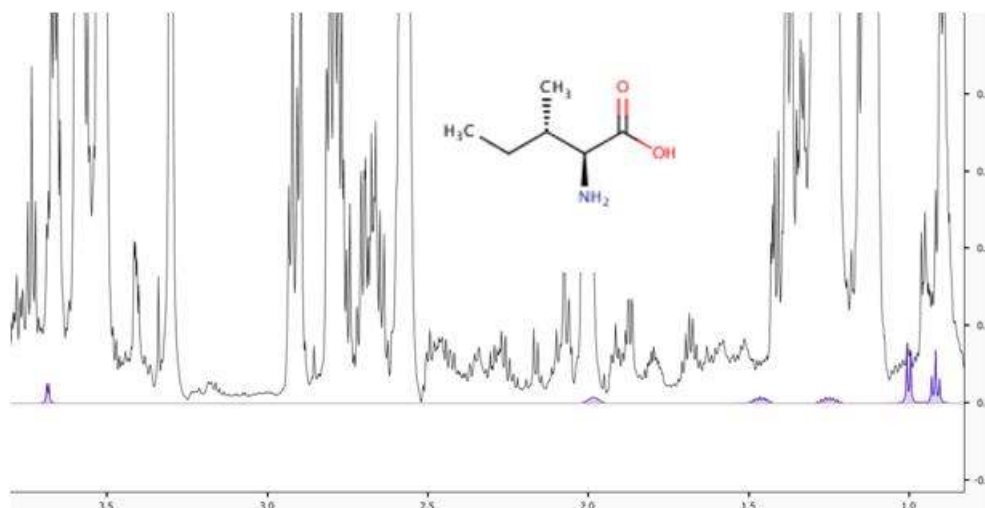
Εικόνα 37: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο τη Λευκίνης [0.9 ppm (d) , 1.7 ppm (m) , 3.7 ppm (q)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Αλανίνη:** Αμινοξύ που περιέχεται στους οίνους. Σε NMR ανάλυση κυρίως σε ερυθρούς οίνους εμφανίζεται να περιέχεται σε ποσότητες από 2,3 έως 22,08 mg/dL (27). Στην εικόνα 38 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 1.5 έως 3.8 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της αλανίνης.



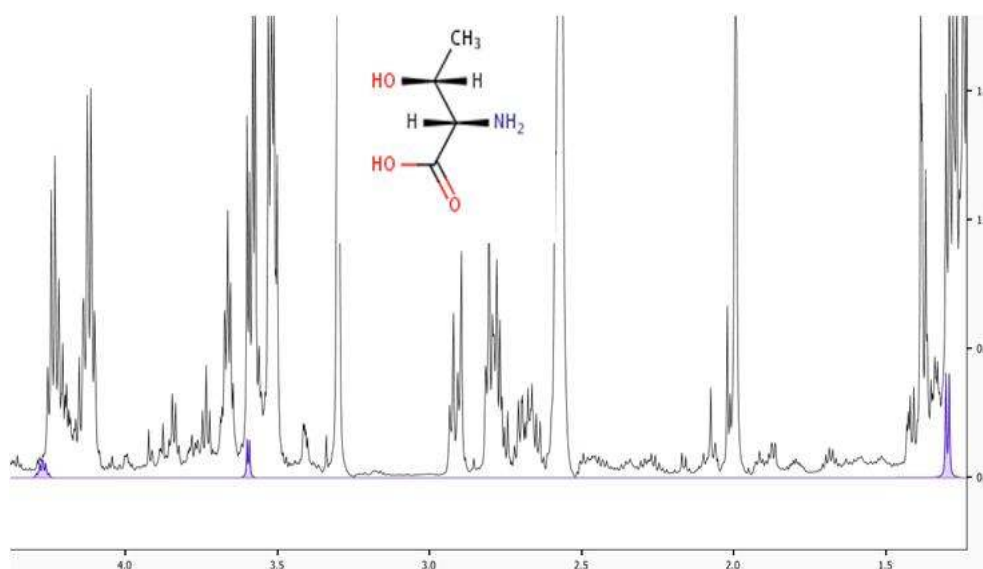
Εικόνα: 38 Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αλανίνης [1.5 ppm (d) , 3.8 ppm (q)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Ισολευκίνη:** Είναι ένα α-αμινοξύ και ανήκει στα πρωτεϊνικά οξέα. Σε NMR ανάλυση κυρίως σε ερυθρούς οίνους εμφανίζεται να περιέχεται σε ποσότητες από 87,7 έως 358,8 mg/dL. Στην εικόνα 39 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 0.9 έως 3.7 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της ισολευκίνης.



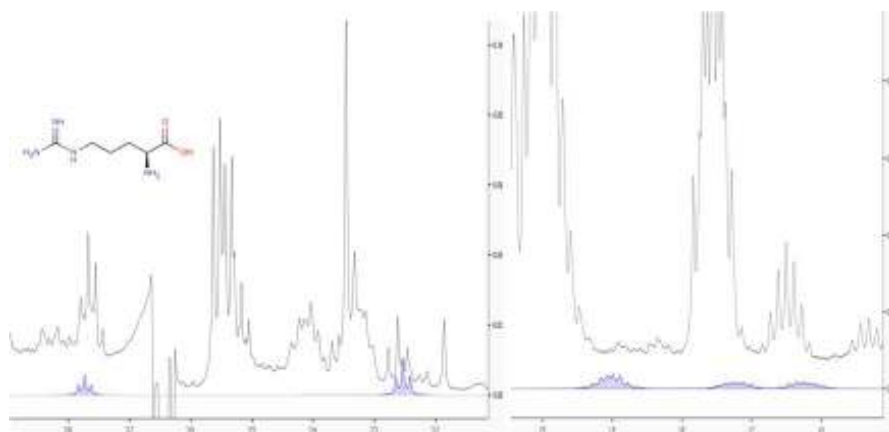
Εικόνα 39: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Ισολευκίνης [0.9 ppm (d) , 1.0 ppm (d) 1.3-1.5 ppm (m) , 3.7 ppm (d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Θρεονίνη** : Είναι ένα απαραίτητο αμινοξύ για τον άνθρωπο. Είναι βιογενής αμίνη η οποία παράγεται από την αποκαρβοξυλίωση των πρόδρομων αμινοξέων. Σε υψηλή περιεκτικότητα έχει ισχυρή τοξικότητα και προκαλεί από διαταραχές και κρίσεις μέχρι και το θάνατο. Συνιστώμενα όρια από την Ευρωπαϊκή ένωση είναι 2-10 mg/l (26).Επίσης είναι δείκτης υγιεινής. Σε HPLC αναλύσεις βρέθηκε πως οι μέγιστες τιμές του είναι στα ίδια επίπεδα (max. περίπου 3,0 mg/dL) Στην εικόνα 40 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 1.3 έως 4.3 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της θρεονίνης.



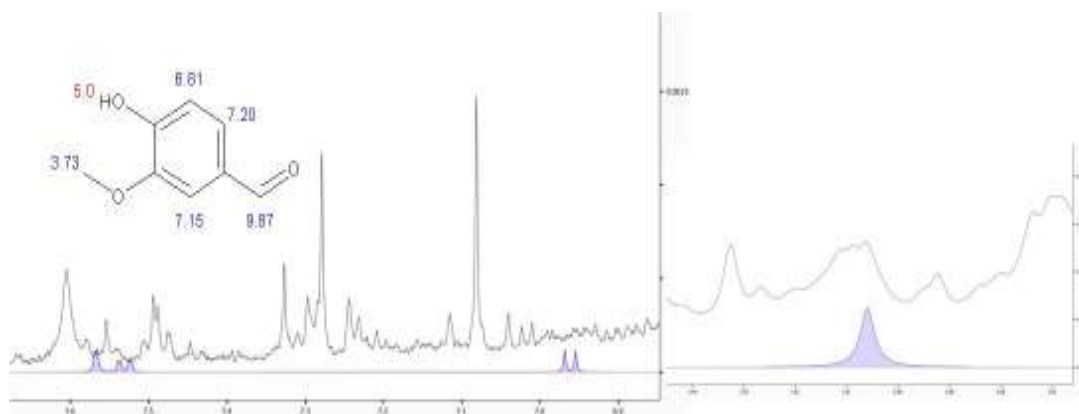
Εικόνα 40: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Θρεονίνη [1.3 ppm (d) , 3.6 ppm (d), 4.3 ppm (m) όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Αργινίνη**: Είναι ένα αμινοξύ το οποίο μεταβολίζεται από τις ζύμες του κρασιού και τα μηλογαλακτικά βακτήρια .Η αργινίνη σε υψηλή ποσότητα έχει τοξικές ιδιότητες. χρησιμοποιείται ως πρόσθετο στα τρόφιμα. Στο κρασί έχει μεγάλη επιρροή στο άρωμα του δίνοντας του μια ευχάριστη γεύση (31) . Κυμαίνεται στους ερυθρούς οίνους μεταξύ 0,02-26,64 mg/dL (31). Στην εικόνα 41 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 1.6 έως 3.8 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της αργινίνης.



Εικόνα 42: Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Αργινίνης [1.6-1.9 ppm (m) , 3.2 ppm (d), 3.8 ppm (d) όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

**Βανιλίνη:** Αλλιώς (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) πηγάζει από την αποικοδόμηση της λιγνίνης και μπορεί να παραχθεί συνθετικά από ευγενόλη ή γουαιακόλη (32). Η βανιλίνη στους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται από 0,09 έως 3,6 mg/dL (32) Στην εικόνα 42 απεικονίζεται ένα τμήμα φάσματος οίνου στην περιοχή 3.9 έως 7.6 ppm όπου διακρίνονται οι κορυφές της βανιλίνης .



Εικόνα 42 : Αντιπροσωπευτικές κορυφές για το μόριο της Βανιλίνης [3.9 ppm (s) , 7.0 ppm (d), 7.5 ppm (d) , 7.6 ppm (d)] όπως εμφανίζονται από το λογισμικό Chenomx σε φάσμα NMR οίνου.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### Αποτελέσματα προσδιορισμού μεταβολιτών στον Οίνο

Στο παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τις ποικιλίες Αγιωργίτικο, Ξινόμαυρο, Syrah, Cabernet Sauvignon και Μοσχοφίλερο που μελετήθηκαν:

#### 5.1 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ

Παρακάτω παρατηρούνται τα κύρια οργανικά οξέα που περιέχονται στους οίνους και διαχωρίζονται σε οξέα σταφυλιού (τρυγικό , μηλικό , κιτρικό και ασκορβικό) και οξέα ζυμώσεων και προσβολών (ηλεκτρικό , γαλακτικό , πυρροβικό και φορμικό).

Πίνακας 2 Αποτελέσματα οργανικών οξέων στον οίνο (mg/Lt)

Δείγμα	Ασκορβικό	Κιτρικό	Φορμικό	Γαλακτικό
Αγιωργίτικο 1	3,5	2,3	0,4	0,9
Αγιωργίτικο 2	3,6	2,5	0,5	0,8
Αγιωργίτικο 3	4	2,7	0,5	0,6
Αγιωργίτικο 4	6,1	2,8	0,4	0,7
Αγιωργίτικο 5	5,6	3,6	0,4	0,7
Αγιωργίτικο 6	5,1	2,3	0,5	0,8
Αγιωργίτικο 7	3,6	4	0,5	1
Ξινόμαυρο 1	3,67	2,85	0,41	0,49
Ξινόμαυρο 2	4,4	2,7	0,4	0,6
Ξινόμαυρο 3	5	3,4	0,5	0,7
Ξινόμαυρο 4	4,5	2,9	0,5	0,9



Ξινόμαυρο 5	4,2	3,6	0,4	0,7
Ξινόμαυρο 6	2,6	2,5	0,4	0,9
Ξινόμαυρο 7	4,5	2,4	0,4	0,8
Ξινόμαυρο 8	5,2	3	0,4	0,6
Ξινόμαυρο 9	3,97	2,25	0,36	0,58
Ξινόμαυρο 10	4,09	3,56	0,42	0,61
Ξινόμαυρο 11	3,2	2,02	0,42	0,57
Ξινόμαυρο 12	3,47	1,94	0,41	0,54
Syrah 1	7,1	1,7	0,6	0,7
Syrah 2	5,5	1,9	0,1	0,7
Syrah 3	4,5	3,6	0,6	0,5
Cabernet Sauvignon 1	7,3	3,3	0,6	0,1
Cabernet Sauvignon 2	3,5	2,6	0,5	0,8
Cabernet Sauvignon 3	4	2,6	0,4	1,4
Cabernet Sauvignon 4	3,9	2,7	0,5	0,8
Μοσχοφίλερο 1	4,7	3,7	0,7	1
Μοσχοφίλερο 2	8,6	2,9	6	0,5
Μοσχοφίλερο 3	7,5	2,9	0,7	0,4
Μοσχοφίλερο 4	5	3,1	0,6	0,5
Μοσχοφίλερο 5	3,9	1,7	0,7	0,7
Μοσχοφίλερο 6	8,8	1,11	1,1	0,6
Μοσχοφίλερο 7	3,6	1,6	0,4	0,3

**Πίνακας 3** αποτελέσματα οργανικών οξέων στον οίνο (mg/Lt)

	Μηλικό	Πυρουβικό	Τρυγικό	ηλεκτρικό
Αγιωργίτικο 1	4,3	1,1	2,6	0,5
Αγιωργίτικο 2	5,6	0,7	1,6	0,4
Αγιωργίτικο 3	6,1	1,9	1,8	0,3
Αγιωργίτικο 4	4,5	1,8	2,5	0,5
Αγιωργίτικο 5	4,5	1,5	2,3	0,4
Αγιωργίτικο 6	3,9	1,3	2,4	0,5
Αγιωργίτικο 7	9,1	1,5	4,2	0,5
Ξινόμαυρο 1	5,21	1,27	2,3	0,27
Ξινόμαυρο 2	4,3	1,4	2,7	0,4
Ξινόμαυρο 3	7	1,7	2,7	0,4
Ξινόμαυρο 4	6,11	1,18	1,5	0,4
Ξινόμαυρο 5	5	2,5	1,2	0,3
Ξινόμαυρο 6	5,3	2,2	1,6	0,3
Ξινόμαυρο 7	5,8	1,5	2	0,4
Ξινόμαυρο 8	8,7	1	1,6	0,2
Ξινόμαυρο 9	4,9	2,02	2,3	0,35
Ξινόμαυρο 10	5,16	1,6	2,6	0,53
Ξινόμαυρο 11	3,64	1,41	2,76	0,27

Ξινόμαυρο 12	4,56	1,18	2,49	0,29
Syrah 1	7,6	1,8	1,5	0,5
Syrah 2	4,5	0,7	2,56	0,5
Syrah 3	4,7	1,4	2,8	0,55
Cabernet Sauvignon 1	6	1	2,7	0,4
Cabernet Sauvignon 2	5,2	1,5	1,9	0,4
Cabernet Sauvignon 3	4,9	0,7	1,4	0,4
Cabernet Sauvignon 4	8,1	1,2	1,4	0,4
Μοσχοφίλερο 1	4,4	0,9	1,9	0,4
Μοσχοφίλερο 2	8,9	0,5	0,8	0,3
Μοσχοφίλερο 3	7,1	0,6	1,1	0,3
Μοσχοφίλερο 4	7,3	1,1	1,1	0,3
Μοσχοφίλερο 5	5	0,8	0,9	0,3
Μοσχοφίλερο 6	7,4	0,7	1,4	0,3
Μοσχοφίλερο 7	6,1	0,8	1	0,2

Το **Ασκορβικό οξύ** βρέθηκε να έχει τις υψηλότερες τιμές στους λευκούς οίνους συγκριτικά με τους ερυθρούς. Κυμαίνεται μεταξύ 2,6 μέχρι 8,8 mg/Lt

Το **κιτρικό οξύ** Παρατηρείται σε διπλάσια και τριπλάσια τιμή στον ερυθρό σε σχέση με το λευκό διότι γίνεται η προσθήκη της μόνο σε ερυθρούς οίνους για τη ρύθμιση της οξύτητας (8) . Κυμαίνεται μεταξύ 1,1 μέχρι 4,0 mg/Lt

Το **μηλικό οξύ** συντελεί θετικά στους ερυθρούς οίνους για τη μείωση της οξύτητας. Οργανοληπτικά δίνει μια χορτώδη οσμή και στυφνή γεύση. Κυμαίνεται μεταξύ 3,9 μέχρι 8,9 mg/Lt

Στους λευκούς οίνους η περιεκτικότητα είναι σε μηλικό οξύ σε υψηλότερη από τους ερυθρούς οίνους πιθανόν λόγω της μηλογαλακτικής ζύμωσης.

Στο **Τρυγικό οξύ**, ο λευκός οίνος έχει περισσότερη περιεκτικότητα συγκριτικά με τον ερυθρό. Πιθανόν να συμβαίνει αυτό διότι ο λευκός οίνος έχει μεγαλύτερη οξύτητα από τον ερυθρό. Κυμαίνεται μεταξύ 0,9 μέχρι 2,8 mg/Lt

Το συγκεκριμένο οξύ επηρεάζει σημαντικά την οξύτητα του οίνου αλλά και την ανθεκτικότητα του από τους μικροοργανισμούς (8).

Οι λευκοί οίνοι έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε **ηλεκτρικό οξύ** σε σχέση με τους ερυθρούς οίνους. Κυμαίνεται μεταξύ 0,2 μέχρι 0,55 mg/Lt

Το **γαλακτικό οξύ** βρίσκεται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε παλαιωμένα κρασιά. Από το πίνακα παρατηρείται ότι το Ξινόμαυρο έχει τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε γαλακτικό οξύ. Οι λευκοί οίνοι είναι σε χαμηλή περιεκτικότητα. Κυμαίνεται μεταξύ 0,3 μέχρι 1,0 mg/Lt

Παρατηρώντας το πίνακα φαίνεται ότι το **πυρουβικό οξύ** έχει την ίδια περιεκτικότητα σε όλους τους οίνους ερυθρούς και λευκούς. Κυμαίνεται μεταξύ 0,5 μέχρι 2,5 mg/Lt

Στην ερυθρή ποικιλία φαίνεται ότι υπερτερεί το κυριότερο οξύ που υπάρχει στο σταφύλι αλλά και στα προϊόντα του (γλεύκος, οίνος, σταφίδα), το **φορμικό οξύ** Κυμαίνεται μεταξύ 0,36 μέχρι 1,1 mg/Lt

## 5.2 ΑΛΚΟΟΛΕΣ

Οι κυριότερες αλκοόλες στον οίνο είναι η γλυκερόλη και η μεθανόλη , και οι δύο βρίσκονται σε μεγάλη περιεκτικότητα στον οίνο.

Πίνακας 4 Αποτελέσματα αλκοόλων στον οίνο (mg/Lt)

	Γλυκερόλη	Μεθανόλη
Αγιωργίτικο 1	28	7
Αγιωργίτικο 2	24,7	4,5
Αγιωργίτικο 3	18,2	5
Αγιωργίτικο 4	15	4,8
Αγιωργίτικο 5	15	5
Αγιωργίτικο 6	25	4,3
Αγιωργίτικο 7	6,7	5,6
Ξινόμαυρο 1	14,03	4,8
Ξινόμαυρο 2	20,2	5,4
Ξινόμαυρο 3	15,5	6,1
Ξινόμαυρο 4	23	5,5
Ξινόμαυρο 5	31,8	5,6
Ξινόμαυρο 6	33,2	5,3
Ξινόμαυρο 7	14,1	4
Ξινόμαυρο 8	28,4	6,7
Ξινόμαυρο 9	16,93	6,7
Ξινόμαυρο 10	21,03	6,8

Ξινόμαυρο 11	11,9	4,21
Ξινόμαυρο 12	13,5	6,19
Syrah 1	26	5,7
Syrah 2	26	6,4
Syrah 3	35,5	8,2
Cabernet Sauvignon 1	26	5,7
Cabernet Sauvignon 2	25,1	6,3
cabernet Sauvignon 3	21,5	4,5
Cabernet Sauvignon 4	25,6	6,3
Μοσχοφίλερο 1	19,7	2,6
Μοσχοφίλερο 2	16,2	2
Μοσχοφίλερο 3	23,7	3,2
Μοσχοφίλερο 4	15,2	1,6
Μοσχοφίλερο 5	14	2
Μοσχοφίλερο 6	28,7	4,3
Μοσχοφίλερο 7	18,5	2,2

Η περιεκτικότητα της **μεθανόλης** εξαρτάται και από το χρόνο παραμονής. Αυτός είναι λόγος που οι ερυθρές ποικιλίες είναι πλουσιότερες σε αλκοόλη από τους λευκούς. Πράγματι και από το πίνακα επιβεβαιώνεται ότι στους ερυθρούς οίνους βρίσκεται σε μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε σύγκριση με τους λευκούς. Συγκεκριμένα από το πίνακα παρατηρείται υψηλή συγκέντρωση στο Syrah και Cabernet Sauvignon. Κυμαίνεται μεταξύ 1,6 μέχρι 6,8 mg/Lt

Η **γλυκερόλη** όπως παρατηρείται από το πίνακα περιέχεται σε υψηλές ποσότητες μέσα στον οίνο. Από το πίνακα παρατηρείται ότι κυμαίνεται σε χαμηλές περιεκτικότητες στις λευκές ποικιλίες αλλά και σε κάποια ξινόμαυρα.

6,7-36,5 mg/Lt είναι οι περιεκτικότητες της γλυκερόλης στον οίνο.

### 5.3 Σάκχαρα

Τα σάκχαρα σημαντικό ρόλο στον οίνο, βρίσκονται και στο σταφύλη αλλά και στο τελικό προϊόν , με τη παρουσία τους επηρεάζεται η γλυκύτητα στους οίνους.

Πίνακας 5 Αποτελέσματα σακχάρων στον οίνο (mg/Lt)

Δείγμα	Αραβινοζη	Φρουκτόζη	Γαλακτόζη	Ξυλοζη	Σουκρόζη	Τρεαλ όζη
Αγιωργίτικο 1	14,3	9,5	10,3	4,5	4,5	6,6
Αγιωργίτικο 2	11,5	10,6	15,5	6,5	4,8	7,3
Αγιωργίτικο 3	8,3	11,2	12,2	7,9	5,4	5,5
Αγιωργίτικο 4	14,9	12	12,4	7,6	3,5	5,2
Αγιωργίτικο 5	13,3	10,8	16,2	6,8	4	5,9
Αγιωργίτικο 6	12,1	14,5	11	3,4	5	5,8
Αγιωργίτικο 7	13,5	18,3	12,8	5	4,5	6,3
Ξινόμαυρο 1	12,5	6,6	10,1	5,46	5,28	8,48
Ξινόμαυρο 2	14,6	11	13,5	4,2	4,7	5
Ξινόμαυρο 3	18	15,2	12,7	7,7	5,8	6,7
Ξινόμαυρο 4	17,5	16,1	14,6	7,3	5,5	5,3
Ξινόμαυρο 5	15,9	17,8	18	3,7	4	6

Ξινόμαυρο 6	16,3	17	17,6	8,5	6,2	10,7
Ξινόμαυρο 7	8,6	17	13,9	8,8	5,4	8
Ξινόμαυρο 8	15,7	16,7	14,8	3,4	6,4	9,8
Ξινόμαυρο 9	14,7	11,89	11,85	6,11	6,69	4,5
Ξινόμαυρο 10	18,46	11,92	11,39	5,16	6,17	6,08
Ξινόμαυρο 11	17,5	11,68	10,38	5,37	5,08	6
Ξινόμαυρο 12	10,52	10,8	12	5,45	6,52	5,76
Syrah 1	14,1	16	13,7	9,3	6,7	6,9
Syrah 2	19,1	9	11,2	8,7	2,95	5,4
Syrah 3	20,4	14,6	17,8	6,4	8,6	8,1
Cabernet Sauvignon 1	26,1	16,7	14,3	7,3	5,6	7,7
Cabernet Sauvignon 2	19,6	12,3	15,1	10,4	6,1	6
Cabernet Sauvignon 3	12,1	14,2	13,1	7,6	5,4	7,6
Cabernet Sauvignon 4	20,7	13,4	19,7	7,2	4,9	8,2
Μοσχοφίλερο 1	10,8	17,5	14,5	5,7	5,7	7,3
Μοσχοφίλερο 2	19,2	9,5	10,2	5,5	6,3	4,7
Μοσχοφίλερο 3	9,4	17,5	11,3	4,3	7,3	8,4
Μοσχοφίλερο 4	7,5	13,1	11,2	5,3	5,9	5,6
Μοσχοφίλερο 5	12,3	27	9,6	6,5	5,5	4,5



Μοσχοφίλερο 6	19,1	20	18,5	5,8	8,1	5,9
Μοσχοφίλερο 7	12,9	11	8,6	5,1	3,7	5,5

Σε υπερώριμα σταφύλια απαντώνται τα μη ζυμώσιμα σάκχαρα **αραβινόζη** και **ξυλόζη**. Συνήθως οι ερυθροί οίνοι έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα και στις δύο πεντόζες πράγμα που δεν επιβεβαιώνεται από το πίνακα διότι οι τιμές κυμαίνονται σε διάφορες τιμές. Στους οίνους με τις υψηλότερες τιμές πιθανόν να υπάρχει προσθήκη υπερώριμων σταφυλιών (8). Η **αραβινόζη** κυμαίνεται μεταξύ 7,5-26,1 mg/Lt ενώ στη **ξυλόζη** 3.4 – 18.5 mg/Lt

Ουσία με την υψηλότερη γλυκύτητα στον οίνο είναι η **φρουκτόζη**. Οι λευκοί οίνοι περιέχουν σε μεγαλύτερη ποσότητα τη φρουκτόζη διότι οι ερυθροί οίνοι φημίζονται για την οξύτητά τους που είναι αντιστρόφως ανάλογη των σακχάρων. Κυμαίνεται μεταξύ 6,6 μέχρι 27,0 mg/Lt Η **γαλακτόζη** βρίσκεται σε λίγο μεγαλύτερη περιεκτικότητα στο κόκκινο οίνο. Κυμαίνεται μεταξύ 8,6 μέχρι 19,8 mg/Lt

Η **σουκρόζη** κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα τόσο στους ερυθρούς όσο και στους λευκούς οίνους και δεν μπορεί να γίνει κάποια σύγκριση παρά μόνο σε μεμονωμένους οίνους . Κυμαίνεται μεταξύ 2,95 μέχρι 8,6 mg/Lt

#### **5.4 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ**

Οι φαινολικές ενώσεις είναι οι πιο σημαντικές ενώσεις που αφορά την υγεία του καταναλωτή .Έστω και σε ελάχιστη ποσότητα είναι ωφέλιμες. Οι μεταβολίτες που συμπεριλαμβάνονται στις φαινολικές ενώσεις είναι οι εξής : Γαλλικό οξύ , Καεμφερόλη , Κερσετίνη , Καφεικό , Κουμαρικό , Ρεσβερατρόλη , Επικατεχίνη .

Πίνακας 6 Αποτελέσματα φαινολικών ενώσεων στον οίνο (mg/Lt)

Δείγμα	Γαλλικό οξύ	Καεμφερόλη	Κερσετίνη	Καφεικό	Κουμαρικό	Ρεσβερατόλη	Επικατεχίνη
Αγιωργίτικο 1	1.26	2,23	3,17	2,35	3	3,5	2,36
Αγιωργίτικο 2	0.97	2,47	4,26	3,3	3,3	5	3,8
Αγιωργίτικο 3	1.15	2,23	3,79	3,8	2,8	2,45	3,4
Αγιωργίτικο 4	0.93	2,29	2,4	2,3	2,6	2,8	3,3
Αγιωργίτικο 5	0.54	2,86	2,1	4,2	2,61	5,4	2,67
Αγιωργίτικο 6	2.88	3,32	3,23	2,65	2,8	3	3,7
Αγιωργίτικο 7	2	2,5	2,68	2,76	2,63	3,29	2,76
Ξινόμαυρο 1	3.78	2,07	2,13	2,47	2,16	3,18	2,7
Ξινόμαυρο 2	9,9	2,43	2,52	2,79	2,67	2,76	2,8
Ξινόμαυρο 3	5.05	2,55	2,64	3,4	2,69	2,8	4,14
Ξινόμαυρο 4	2.69	2,65	2,75	3,16	3,36	3	3,34
Ξινόμαυρο 5	2.7	2,55	3,03	3	3,13	3,3	3,48
Ξινόμαυρο 6	3.37	3,28	3,38	3,43	3,3	3,58	4,4
Ξινόμαυρο 7	4.05	2,73	2,79	3	2,9	2,64	3,5
Ξινόμαυρο 8	2.41	2,74	2,67	2,79	2,97	2,59	3,79
Ξινόμαυρο 9	4.54	2,3	2,09	2,15	2,15	2,46	1,9
Ξινόμαυρο 10	6,32	2,49	2,26	2,63	2,62	2,62	2,3
Ξινόμαυρο 11	3,06	2,23	2,1	2,9	2,52	2,21	3,1
Ξινόμαυρο 12	4,35	3,3	2,17	2,3	2,4	2,5	3,63

Syrah 1	2,5	3,74	3,74	3,95	3,8	3,67	3,69
Syrah 2	2,45	1,1	0,8	0,983	0,97	0,94	0,73
Syrah 3		3,12	3,64	3,3	3,52	3,32	4,05
Cabernet Sauvignon 1	3,26	2,6	2,74	2,86	2,85	3,6	3,5
Cabernet Sauvignon 2	3	2,5	2,6	2,603	2,76	2,48	3,15
Cabernet Sauvignon 3	3,71	2,3	2,1	2,1	2,23	2,1	2,46
Cabernet Sauvignon 4	6	2,44	2,44	2,46	2,56	2,42	2,95
Μοσχοφίλερο 1	1,1	2,78	2,1	2,21	2,1	2,14	2,8
Μοσχοφίλερο 2	0,9	2,23	2,25	2,27	2,22	2,14	2,64
Μοσχοφίλερο 3	1,27	3,25	3,19	3,2	3,32	3,14	2,96
Μοσχοφίλερο 4	0,93	2,35	2,49	2,46	2,46	2,2	2,85
Μοσχοφίλερο 5	0,87	2,04	1,85	1,89	1,89	1,81	2,64
Μοσχοφίλερο 6	1,53	3,36	3,47	3,42	3,62	3,38	4,56
Μοσχοφίλερο 7	0,67	1,5	1,52	1,57	1,52	1,45	1,78

Ένα από τα κυριότερα βενζοϊκά οξέα με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση δηλαδή το **γαλλικό οξύ** βρέθηκε να έχει υψηλές τιμές σε δύο οίνους που προέρχονται από το Ξινόμαυρο και Cabernet Sauvignon. Στους λευκούς οίνους βρίσκεται σε πολύ χαμηλές τιμές διότι κατά την παραγωγή του λευκού κρασιού προϋποθέτει την απομάκρυνση του πολτού των σταφυλιών μετά τη σύνθλιψη.

. Κυμαίνεται μεταξύ 0,97 μέχρι 10,0 mg/Lt

Οι **κατεχίνες** σύμφωνα με έρευνες βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στους ερυθρούς οίνους σε σχέση με τους λευκούς. Από τα αποτελέσματα στο πίνακα δεν επιβεβαιώνεται διότι οι τιμές κυμαίνεται σε ίδια επίπεδα. Στους λευκούς οίνους η υψηλή περιεκτικότητα κατεχινών πιθανόν να προκαλέσει "καφέτιασμα των οίνων" όπου είναι ανεπιθύμητη. Κυμαίνεται μεταξύ

1,47 μέχρι 4,08 mg/Lt Παρατηρούνται στα Ξινόμαυρα μεγαλύτερες τιμές απότι στις υπόλοιπες ποικιλίες.

Οι τιμές της **κερσετίνης** είναι σε στα ίδια επίπεδα σε όλες τι ποικιλίες και δεν μπορεί να γίνει κάποια σύγκριση. Κυμαίνεται μεταξύ 1,85 μέχρι 3,47 mg/Lt Ένα από τα πιο σημαντικά παράγωγα του κινναμωμικού οξέος το **καφεικό οξύ**. Οι τιμές στους ερυθρούς οίνους είναι λίγο μεγαλύτερες συγκριτικά με τους λευκούς οίνους. Κυμαίνεται μεταξύ 1,57 μέχρι 4,2 mg/Lt Στις ποικιλίες των ξινόμαυρων βρέθηκε αυξημένη περιεκτικότητα σε **κουμαρικό**. Γενικά κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα τόσο σε ερυθρές όσο και λευκές ποικιλίες. Κυμαίνεται μεταξύ 1,45 μέχρι 3,8 mg/Lt

Στη **ρεσβερατρόλη** για την οποία υπάρχει τεράστιο ενδιαφέρον και έχουν γίνει πολλές έρευνες για την ισχυρή αντιοξειδωτική του δράση. Ανήκει στην κατηγορία των σπιλβενίων. Βρίσκεται κυρίως σε υψηλές συγκεντρώσεις στην φλούδα και ιδιαίτερα των κόκκινων σταφυλιών. Στους λευκούς οίνους βρίσκεται σε μικρότερη ποσότητα διότι λείπουν οι φλούδες από τη ζύμωση των σταφυλιών και παραμένουν οι σάρκες για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης του οίνου. Επιβεβαιώνεται και από το πίνακα ότι οι ερυθρές ποικιλίες έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ρεσβερατρόλη και συγκεκριμένα στο Αγιωργίτικο και το Syrah. Κυμαίνεται μεταξύ 1,47 μέχρι 5,0 mg/Lt

## 5.5 AMINOΞΕΑ

Στον οίνο μπορεί να βρει κανείς πολλές σημαντικές αζωτούχες ενώσεις οι οποίες δεν έχουν κάποια θρεπτική αξία αλλά έχουν άλλο ρόλο στην οινοποίηση.

Πίνακας 7 : Αποτελέσματα αμινοξέων στον οίνο (mg/Lt)

Δείγμα	Αλανίνη	Γλουταμινικό	Λεύκινη	Φαινυλαλανίνη	Γλουταμίνη	Ισολεύκινη
Αγιοργίτικο 1	6,3	3,2	0,7	1,9	4	0,5
Αγιοργίτικο 2	1,5	3,5	0,7	2,2	3,2	0,3
Αγιοργίτικο 3	0,8	3,3	0,5	1,2	2,7	0,4
Αγιοργίτικο 4	1,4	2,4	0,7	1,8	2,5	0,4
Αγιοργίτικο 5	1,4	3,2	0,6	1,8	2,7	0,4
Αγιοργίτικο 6	3,5	2,5	0,6	1,5	2,2	0,4
Αγιοργίτικο 7	3,7	4,2	0,8	2,4	4,1	0,8
Ξινόμαυρο 1	1,57	3,91	0,92	1,78	2,48	0,36
Ξινόμαυρο 2	1,5	2,8	0,7	1,9	3,2	0,4
Ξινόμαυρο 3	1,8	3,1	0,8	2,4	4	0,5
Ξινόμαυρο 4	2,1	2,8	0,4	2,1	2,2	0,4
Ξινόμαυρο 5	1,2	3,2	0,6	1,1	2,9	0,3
Ξινόμαυρο 6	1,3	4,7	0,7	1,9	4,2	0,4
Ξινόμαυρο 7	1,1	2,3	0,6	1,2	3,2	0,4
Ξινόμαυρο 8	1,2	2,5	0,7	2	2,1	0,4
Ξινόμαυρο 9	1,52	4,25	0,86	1,38	3,27	0,4
Ξινόμαυρο 10	2,72	2,46	0,83	1,78	3,64	0,44
Ξινόμαυρο 11	1,58	4,33	0,31	1,32	2,92	0,34
Ξινόμαυρο 12	2,34	4,023	0,61	1,56	2,49	0,35

Syrah 1	1,2	2,9	0,4	2,2	2,5	0,3
Syrah 2	1,6	2,5	0,4	0,4	2	0,4
Syrah 3	1,5	4,2	0,3	1,9	3,9	0,3
Cabernet Sauvignon 1	0,8	3	0,7	1,9	2,2	0,3
Cabernet Sauvignon 2	1,6	3,1	0,6	1,8	2,1	0,3
Cabernet Sauvignon 3	1,3	3,9	0,6	1,5	2,5	0,4
Cabernet Sauvignon 4	4,4	3,3	0,5	2	3	0,5
Λευκός οίνος 1	1,9	3,2	0,5	2,2	3,7	0,5
Λευκός οίνος 2	1,8	2,6	0,7	1,4	2,3	0,3
Λευκός οίνος 3	2,2	2,6	0,5	2,4	2,5	0,3
Λευκός οίνος 4	2,2	2,3	0,5	2,1	2,6	0,3
Λευκός οίνος 5	3,1	2,4	0,5	1,7	2,9	0,3
Λευκός οίνος 6	5,1	3,8	0,5	2,8	3,6	0,4
Λευκός οίνος 7	3,3	1,4	0,5	1,2	1,4	0,3

Πίνακας 8 αποτελέσματα αμινοξέων στον οίνο (mg/Lt)

Δείγμα	Πυρουβικό	Θρεονίνη	Τυρσίνη	Βαλίνη	Προλίνη
Αγιωργίτικο 1	1,1	1,5	2,3	0,4	21,4
Αγιωργίτικο 2	0,7	1,1	2,8	0,3	14
Αγιωργίτικο 3	1,9	1,3	3,5	0,3	16,4
Αγιωργίτικο 4	1,8	1,1	2,4	0,4	30,7
Αγιωργίτικο 5	1,5	1,2	3,3	0,3	24,3
Αγιωργίτικο 6	1,3	1	2,6	0,3	32,5
Αγιωργίτικο 7	1,5	1,5	3,3	0,6	29
Ξινόμαυρο 1	1,27	0,86	3,02	0,4	36,4
Ξινόμαυρο 2	1,4	1,3	3,2	0,4	28,8
Ξινόμαυρο 3	1,7	1,2	5,2	0,4	34,5
Ξινόμαυρο 4	1,18	1,2	4,1	0,4	40
Ξινόμαυρο 5	2,5	1,1	4,2	0,3	44,7
Ξινόμαυρο 6	2,2	0,7	4,5	0,4	47,5
Ξινόμαυρο 7	1,5	1,4	4	0,3	24
Ξινόμαυρο 8	1	1,2	3,8	0,3	35,2
Ξινόμαυρο 9	2,02	1,59	3,31	0,48	40,77
Ξινόμαυρο 10	1,6	1,51	3,68	0,43	49,04
Ξινόμαυρο 11	1,41	1,28	2,69	0,41	32,85
Ξινόμαυρο 12	1,18	1,49	3,24	0,4	35,92
Syrah 1	1,8	1,3	3,8	0,4	28,8

Syrah 2	0,7	0,8	2,23	0,3	23,7
Syrah 3	1,4	0,8	3,9	0,3	26,4
Cabernet Sauvignon 1	0,1	1,9	3,9	0,4	19,5
Cabernet Sauvignon 2	1,5	1,7	2,9	0,4	14,8
Cabernet Sauvignon 3	0,7	1,2	3,2	0,4	19,5
Cabernet Sauvignon 4	1,2	1,2	3,3	0,4	33,2
Μοσχοφίλερο 1	0,9	1,7	2,6	0,6	10
Μοσχοφίλερο 2	0,5	1,3	2,2	0,4	11,7
Μοσχοφίλερο 3	0,6	1,3	2,9	0,3	18,6
Μοσχοφίλερο 4	1,1	0,8	2,5	0,3	9,8
Μοσχοφίλερο 5	0,8	1,1	2,2	0,2	8,1
Μοσχοφίλερο 6	0,7	1	3,3	0,4	14,5
Μοσχοφίλερο 7	0,8	0,7	1,6	0,4	8,3

Η **φαινυλαλανίνη** βρίσκεται σε όλους τους οίνους σε χαμηλές συγκεντρώσεις.



Συναντάται και στο σταφύλι αλλά και στον οίνο, βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στον ερυθρό οίνο σε σχέση με τον λευκό.

Στο πίνακα επαληθεύεται το συμπέρασμα και συγκεκριμένα από τους ερυθρούς οίνους το Ξινόμαυρο και μερικά Αγιωργίτικα είναι σε μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε σχέση με τους υπόλοιπους ερυθρούς. Κυμαίνεται μεταξύ 0,4 μέχρι 2,8 mg/Lt

Οι τιμές στο πίνακα κυμαίνονται στα ίδια ακριβώς επίπεδα με μόνο μερικές εξαιρέσεις (σε Αγιωργίτικα συγκεκριμένα) όπου πιθανόν να έχουν πιο έντονο το άρωμα της βανίλιας. Η **Βανίλινη** εντοπίζεται ως αρωματικό σε συγκεντρώσεις της τάξης του 0.1 ppm. Κυμαίνεται μεταξύ 0,3 μέχρι 0,6 mg/Lt

Σε αρκετές ποικιλίες Ξινόμαυρων τείνουν να έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση **τυροσίνης** από τις υπόλοιπες ποικιλίες. Κυμαίνεται μεταξύ 1,6 μέχρι 3.3 mg/Lt

Σύμφωνα με το πίνακα η θρεονίνη βρίσκεται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις σε όλα τους οίνους.

Το **γλουταμινικό οξύ** συμμετέχει στο μεταβολισμό των υδατανθράκων και των αμινοξέων. Κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα για όλους τους οίνους.

## **5.6 ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ**

Ένας μεγάλος αριθμός καρβονυλικών ενώσεων έχει ανιχνευτεί στους οίνους με την ακετοΐνη και την ακεταλδεΰδη να είναι οι κυριότερες και οι υπόλοιπες σε ίχνη. Η ακετοΐνη σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και προέρχεται από τη συμπύκνωση δύο μορίων ακεταλδεΰδης. Οι επιδόρπιοι οίνοι και τύπου “sherry” περιέχουν υψηλές ποσότητες ακετοΐνης. Θεωρείται αμελητέα η συνεισφορά της στο άρωμα ωστόσο παίζει σημαντικό ρόλο στη βιοσύνθεση του διακετυλίου το οποίο προσδίδει μια δυσάρεστη βουτυρώδης οσμή και έχει χαμηλό όριο ανίχνευσης .

Από το παρακάτω πίνακα η ποικιλία Syrah έχει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε **ακετοΐνη**. Η μονάδα μέτρησης είναι mg/Lt.

Πίνακας 9 Αποτελέσματα καρβονυλικών στον οίνο (mg/Lt)

	ακετοΐνης		ακετοΐνης
Αγιωργίτικο 1	3	Ξινόμαυρο 10	0,83
Αγιωργίτικο 2	0,5	Ξινόμαυρο 11	0,77
Αγιωργίτικο 3	0,3	Ξινόμαυρο 12	0,84
Αγιωργίτικο 4	0,9	Syrah 1	4,4
Αγιωργίτικο 5	0,7	Syrah 2	1,96
Αγιωργίτικο 6	1,2	Syrah 3	6,4
Αγιωργίτικο 7	1,4	Cabernet Sauvignon 1	1,5
Ξινόμαυρο 1	0,7	Cabernet Sauvignon 2	6,1
Ξινόμαυρο 2	1	Cabernet Sauvignon 3	1
Ξινόμαυρο 3	1	Cabernet Sauvignon 4	1,3
Ξινόμαυρο 4	0,6	Μοσχοφίλερο 1	4,5
Ξινόμαυρο 5	0,3	Μοσχοφίλερο 2	0,6
Ξινόμαυρο 6	0,5	Μοσχοφίλερο 3	0,7
Ξινόμαυρο 7	0,9	Μοσχοφίλερο 4	0,5
Ξινόμαυρο 8	0,4	Μοσχοφίλερο 5	0,8
Ξινόμαυρο 9	0,75	Μοσχοφίλερο 6	1
		Μοσχοφίλερο 7	0,4

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### Αποτελέσματα στα αποστάγματα στέμφυλων σταφυλής

Στο παρακάτω κεφάλαιο πραγματοποιήθηκε όλη η διαδικασία της μεταβολομικής μελέτης ώστε να γίνει η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων σε αποστάγματα στέμφυλων σταφυλής (τσίπουρο και τσικουδιά).

#### 6.1 Πίνακας αποτελεσμάτων σε παλαιωμένα δείγματα τσίπουρων

Στους ακόλουθους πίνακες παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ποσοτικοποίησης παλαιωμένων τσίπουρων από τις ποικιλίες Αγιωργίτικο και Μοσχοφίλερο ( 2ετών και 5 ετών αντίστοιχα). Τα συστατικά που ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν στα παλαιωμένα τσίπουρα είναι τα ακόλουθα: οξικό οξύ, φορμικό οξύ , γαλλικό οξύ , μεθανόλη, ηλεκτρικό οξύ , γαλακτικό οξύ , τρυγικό οξύ , μεθανόλη , ακετόνη , βουτανόνη , φαινυλοξικό , φρουκτόζη , γλυκόζη και σουκρόζη. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι μονές κορυφές στα 6.7 , 7.6 και 7.9 ppm αντίστοιχα οι οποίες ωστόσο δεν κατέστη δυνατό να ταυτοποιηθούν για την παρούσα μελέτη.

Πίνακας 10 : Αποτελέσματα σε παλαιωμένα δείγματα τσίπουρων (mg/Lt)

δείγμα	Αγιωργίτικο1	Αγιωργίτικο2	Αγιωργίτικο3	Αγιωργίτικο4	Αγιωργίτικο5	Αγιωργίτικο6
φερουλικό	0,256	0,186	0,035	0,272	0,342	0,097
Άγνωστη ένωση 1 6,7.	0	0	0,0214	0,089	0,107	0,097
Γαλλικό	0	0	0	0,052	0	0

Φαινυλοξικό	0,466	0,427	0,252	0,474	0,505	0,427
Άγνωστη ένωση 1 6,7.	0	0,157	0,058	0	0,854	0,151
Άγνωστη ένωση 1 6,7.	0,1204	0	0,029	0,085	0,149	0
Οξικό	35,91	35,69	26,72	35,95	37,051	35,7
Ακετόνη	0,105	0,091	0,26	0,105	0,142	0,091
Βουτανόνη	0	0,07211	0,0022	0	0,052	0,023
Φορμικό	0,0275	0,026	0,008	0,0207	0,035	0,072
Φρουκτόζη	3,927	5,76	0,198	4,017	0	3,89
Γλυκόζη	1,98	2,065	1,612	2,045	1,82	2,13
Γαλακτικό	0	1,162	0,225	0,167	0,37	1,25
Μεθανόλη	8,164	7,75368	7,167348	8,12214	8,81	7,69
Πυρρουνικό	0,0149	0,013	0,0123	0,014	0	0,03
Σουκινικό	0	0,006	0	0,007	0,013	0
Σουκρόζη	4,52	5,032	1,746	4,62	5,95	5,032
Τρυγικό	0	0,528	0	0	0	0,528

Πίνακας 11 Αποτελέσματα σε παλαιωμένα δείγματα τσίπουρων (mg/Lt)

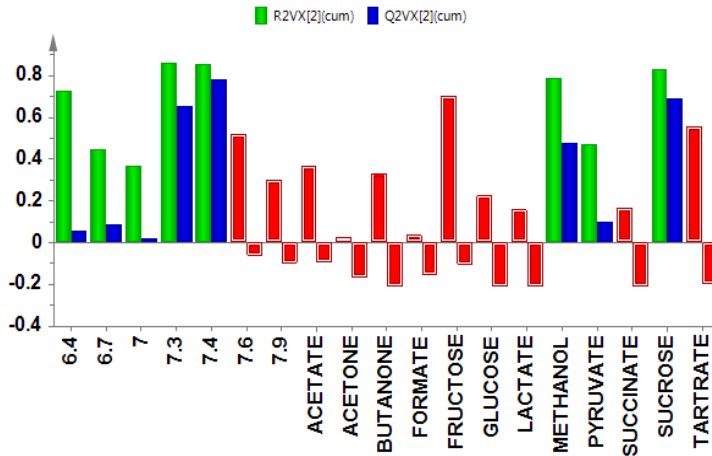
Δείγμα	Αγιωργίτικο7	Αγιωργίτι κο8	Αγιωργίτι κο9	Αγιωργίτι κο10	Αγιωργίτι κο11	Μοσχοφιλε ρο1
φερουλικό	0,058	0,054	0,039	0,214	0,099	0,087
6,7	0,144	0,138	0,095	0,142	0,099	0,159
Γαλλικό	0,119	0,117	0,072	0,159	0	0,34
Φαινυλοξικό	0,118	0,117	0,427	0,505	0,0932	0,35
7,6	0,093	0,087	0,107	0,58	0,101	0,124
7,9	0,027	0,025	0,08	0,159	0,08	0,1611694
Οξικό	0,22	0,22	0,42	37,47	35,25	46,6

Ακετόνη	0,097	0,093	1,29	0,17	0,56	0,45
Βουτανόνη	0,035	0,026	0,038	0,022	0,024	0,022
Φορμικό	0	0	0,16	0,035	0,032	0,024
Φρουκτόζη	0,43	0,414	2,1	2,43	0,58	0,58
Γλυκόζη	0,121	0,13	1,80	2,29	0,36	1,39
Γαλακτικό	0,054	0,04	0,19	0,29	0,29	0,29
Μεθανόλη	0,044	0,04	7,19	8,87	3,48	6,28
Πυρροβικό	0,035	0,018	0,0035	0,029	0,012	0,026
Σουκινικό	0,021	0,016	0,32	0,0047	0,0071	0,012
Σουκρόζη	0,38	0,37	0,92	0,685	0	0,89
Τρυγικό	0,065	0,059	0,018	0	0,145	0,083

Πίνακας 12 Αποτελέσματα σε παλαιωμένα δείγματα τσίπουρων (mg/Lt)

Δείγμα	Μοσχοφίλε ρο2	Μοσχο φίλερο 3	Μοσχοφί λερο4	Μοσχοφί λερο5	Μοσχο φίλερο 6	Μοσχοφ ίλερο7	Μοσχοφίλε ρο8
φερουλικό	0,07	0,053	0,053	0,1243	0,0719	0,0913	0,077
6,7	0,14	0,148	0,373	0,058	0,142	0,152	0,124
Γαλλικό	0,29	0,146	0,35	0,19	0,0913	0,311	0,34
Φαινυλοξικ ό	0,29	0,186	0,42719	0,29	0,311	0,33	0,29
7,6	0,116	0,093	0,144	0,214	0,117	0,136	0,118
7,9	0,122	0,35	0,113	0,214	0,136	0,136	0,118
Οξικό	37,47	0,018	36,6	1,051	36,63	36,751	37,051
Ακετόνη	0,29	0,01	0,622	0,077	0,188	0,168	0,14
Βουτανόνη	0,045	0,023	0,086	0,022	0,28	0,238	0,086
Φορμικό	0,02	0,0014	0,01	0,135	0,027	0,023	0,018
Φρουκτόζη	0	0,505	4,32	0,59	0	0	0,486
Γλυκόζη	17,35	0,014	33,15	2,504	8,94	7	3,6
Γαλακτικό	1,19	0,2	1,35	0,234	0	0,57	0,29
Μεθανόλη	5,35	0,167	5,61	5,158	0,3	5,61	5,543
Πυρροβικό	0	0,03	0,073	0,0053	0	0	0,018
Σουκινικό	0	0,021	0,035	0,0035	0,378	0	0,0106
Σουκρόζη	0	0,045	11,71	0	0	0	0,205
Τρυγικό	0	0,017	0,332	0,015	0	0	0,05





Εικόνα 44 Διάγραμμα σημαντικότητας με τους σημαντικούς μεταβολίτες σε παλαιωμένα τσίπουρα

Οι ενώσεις που βρέθηκαν σε κάθε ποικιλία σε υψηλή περιεκτικότητα απεικονίζεται στη παρακάτω εικόνα. Για το Μοσχοφίλερο βρέθηκε υψηλή συγκέντρωση σε Γαλλικό Οξύ (η πράσινη κουκίδα με τον αριθμό 7) ενώ στο Αγιωργίτικο ουσίες που βρέθηκαν σε υψηλή περιεκτικότητα σύμφωνα με το σχήμα είναι Μεθανόλη και Φαινυλοξικό (οι πράσινες κουκίδες με τους αριθμούς 7.3 και 7.4)



Εικόνα 45 Διαχωρισμός μεταβολιτών σε παλαιωμένα τσίπουρα

### 6.3 Αποτελέσματα και συμπεράσματα για ποικιλίες σε τσίπουρα

Οι ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων στα τσίπουρα είναι οι εξής: Cabernet Sauvignon , Μοσχοφίλερο , Sangiovese , Αγιοργίτικο , Μαλαβουζιά , Ξινόμαυρο , Λιάτικο, Μοσχάτο Αμβούργου

Για την ποσοτικοποίηση και την αξιολόγηση των ποικιλιών χρησιμοποιήθηκαν οι εξής ενώσεις: Οξικό οξύ , Φορμικό οξύ , Γαλλικό οξύ , Μεθανόλη , Ηλεκτρικό οξύ , Ακετόνη , Φρουκτόζη , Γλυκόζη , Πυρρικό οξύ , Σουκρόζη , Βουτανόνη , Φερουλικό οξύ , Γαλακτικό οξύ , Φαινυλοξικό , Τρυγικό οξύ , μονές κορυφές στα 6.7 , 7.6 και 7.9 ppm αντίστοιχα.

Πίνακας 13 Αποτελέσματα σε ποικιλίες τσίπουρου (mg/Lt)

δείγμα	Cabernet Sauvignon	Αγιοργίτικο	Sangiovese	Ξινόμαυρο
φερουλικό	0-0.049	0.021-0.041	0,009-0.07	0-0.025
6,7	0.046-0.052	0.009-0.06	0-0.03	0,013-0.031
Γαλλικό	0.014-0.034	0	0	0.011-0.046
Φαινυλοξικό	0.058-0.085	0,19-0.84	0.122-0.135	0.037-0.15
7,6	0.044-0.073	0,013-0.077	0,009-0.029	0,015-0.033
7,9	0.06-0.85	0.025-0.077	0	0,019-0.041
Οξικό	8.7-42.07	0,9-50.4	8,46-10.87	0.081-1.18
Ακετόνη	0.185-0.21	0,14-0.37	0,039-0.99	0,087-0.133
Βουτανόνη	0.018-0,13	0-0,0887	0	0,0165-0.098
Φορμικό	0.011-0.028	0,009-0.057	0	0-0.018
Φρουκτόζη	0.8-1.3	0,16-0.61	0	0
Γλυκόζη	2.95-7.85	0,774-4.9	0.34-0.68	0,32-1.26
Γαλακτικό	0,21-0.60	0,31-1	0,043-0.07	0,035-0.072
Μεθανόλη	5,85-7.3	4,45-20.8	1,17-3.2	1,82-2.71
Πυρρικό	0.008-0.03	0,013-0.074	0.007-0.35	0,007-0.022
Σουκινικό	0.002-0.011	0-0.017	0	0-0.09
Σουκρόζη	4-4.6	0.16-6.45	0	



Τρυγικό	0.18-0.28	0-0.08	0	0-0.018
---------	-----------	--------	---	---------

Πίνακας 14: αποτελέσματα σε ποικιλίες τσίπουρου (mg/Lt)

δείγμα	Μαλαβουζιά	Λιάτικο	Μοσχάτο Αμβούργου	Μοσχοφίλερο
φερουλικό	0	0-0.012	0	0
6,7	0,013-0.017	0-0.09	0.021-0.68	0.001-0.038
Γαλλικό	0	0	0	0
Φαινυλοξικό	0,033-0.036	1-2.14	0.05-0.029	0.082-0.25
7,6	0.15-0.19	0.04-0.21	0.05-0.1	0-0.74
7,9	0.19-0.21	0.03-0.14	0.025-0.1	0.007-0.027
Οξικό	0.43-0.59	0.06-.16	0.03-3.14	16.5-41.7
Ακετόνη	0.11-0.21	0.06-0.76	0.03-0.056	0.05-0.20
Βουτανόνη	0.15-0.36	0.005-0.035	0.005-0.07	0.008-0.1
Φορμικό	0.166-0.18	0.0017-0.18	0.02-0.039	0-0.0072
Φρουκτόζη	0	0-0.75		0.15-1.2
Γλυκόζη	0.83-1,24	0-1.3	0.9-7.87	1.15-4.15
Γαλακτικό	0.84-0.99	0.18-0.33	0.09-0.032	0.3-0.98
Μεθανόλη	1.72-1.74	1.18-3.23	0.067-7.42	4.2-13.05
Πυρρυνικό	0.05-0,08	0.07-0.34	0.003-0.041	0.011-0.036
Σουκινικό		0.005-0.025	0.004-0.011	0
Σουκρόζη	33.57-33.68	0-0.41	0.12-0.24	0.27-1.37
Τρυγικό	0	0.09-0.27	0.03-0.081	0.12-.028

Η ποικιλία με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε **γαλλικό οξύ** είναι το Ξινόμαυρο (0.011-0.046 mg/l). Τσίπουρα που προέρχονται από λευκές ποικιλίες δεν περιέχουν γαλλικό οξύ σε συγκεντρώσεις που ανιχνεύονται από το NMR.

Η ποικιλία με τη μεγάλη περιεκτικότητα σε **Φαινυλοξικό** είναι το Λιάτικο με

1,0-2,14 mg/Lt. Έρευνες για το Φαινυλοξικό δείξαν ότι η παρουσία του στο κρασί και στα τσίπουρα έχει αρνητική επίδραση διότι συνδέεται με μια "σαν γλυκιά γεύση" και προέρχεται από ξινά σταφύλια (7).

Από το πίνακα παρατηρείται επίσης ότι οι λευκές ποικιλίες έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα της ουσίας απ' ότι οι κόκκινες.

**Οξικό οξύ:** τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα την περιέχει το Αγιωργίτικο (0,9-50,4 mg/Lt).

**Μεθανόλη :** Είναι συστατικό με μεγάλη πτητικότητα και βρίσκεται συνήθως στα αποστάγματα σε υψηλό ποσοστό είναι το βασικό συστατικό της "κεφαλής". Μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε μεθανόλη βρέθηκε στη ποικιλία του Αγιωργίτικου (4,45-20,8 mg/Lt)

**Φερουλικό οξύ:** Η ποικιλία του Μοσχοφίλερου (0,036-0,17 mg/Lt) βρέθηκε να έχει τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φερουλικό οξύ.

Η ποικιλία της Μαλαβουζιάς (0,166-0,18 mg/Lt) παρατηρείται ότι έχει περισσότερο **φορμικό οξύ** απ'ότι οι υπόλοιπες.

**Γλυκόζη :** Το Cabernet Sauvignon (2,95-7,85 mg/Lt) μαζί με το Λιάτικο (0,9-7,87 mg/Lt) έχουν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα με διαφορά από τις υπόλοιπες και κυρίως από τις λευκές ποικιλίες.

**Πυρουβικό οξύ:** αποτελεί τον πιο σημαντικό μεταβολίτη του (αερόβιου-αναερόβιου) μεταβολισμού των υδατανθράκων. Από τα αποτελέσματα η ποικιλία του Λιάτικου (0,07-0,34 mg/Lt) και Sangiovese (0,007-0,35 mg/Lt )

**Γαλακτικό οξύ :** Από τον πίνακα παρατηρείται σε παραπάνω από μια ποικιλία υψηλή περιεκτικότητα τόσο σε λευκές όσο και σε ερυθρές.

**Ηλεκτρικό οξύ:** Η ποικιλία του Μοσχοφίλερου (0,02-0,07 mg/Lt) έχει σύμφωνα με το πίνακα τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα συγκριτικά με τις υπόλοιπες ποικιλίες.

**Τρυγικό οξύ :** Βρίσκεται σε μεγάλη ποσότητα στα σταφύλια αλλά μειώνεται κατά την παλαίωση του (8). Επίσης η συγκέντρωση γλεύκους στους νότιους αμπελώνες είναι χαμηλότερη συγκριτικά με τους βόρειους ( 10). Η ποικιλία

του Λιάτικου περιέχει με μεγάλη διαφορά την μεγαλύτερη περιεκτικότητα (0,09-0,27 mg/Lt)

**Σουκρόζη:** Η ποικιλία της μαλαβουζιάς (33,57-33,68 mg/Lt) περιέχει με μεγάλη διαφορά τη περισσότερη Σουκρόζη.

**Φρουκτόζη :** Μοσχοφίλερο (0,15-1,2 mg/Lt) και Cabernet Sauvignon (0,8-1,3 mg/Lt) παρατηρείται από το πίνακα ότι έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε φρουκτόζη.

#### 6.4 Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης σε δείγματα τσικουδιάς.

Η μοναδική διαφορά από το τσίπουρο είναι ότι στη τσικουδιά γίνεται μονή απόσταξη ενώ στο τσίπουρο είναι διπλή.

Οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν για τη ποσοτική ανάλυση των δειγμάτων είναι οι εξής: Οξικό οξύ , Φορμικό οξύ , Γαλλικό οξύ , Μεθανόλη , Ηλεκτρικό οξύ , Ακετόνη , Φρουκτόζη , Γλυκόζη , Πυρροβικό οξύ , Σουκρόζη , Βουτανόνη , Φερουλικό οξύ , Γαλακτικό οξύ , Φαινυλοξικό , Τρυγικό οξύ , μονές κορυφές στα 6.7 , 7.6 και 7.9 ppm αντίστοιχα.

Για τα συμπεράσματα στον παρακάτω πίνακα χρησιμοποιήθηκαν οι εξής ποικιλίες: Cabernet Sauvignon , Nebiolo , Λιάτικο , Sangiovese

Πίνακας 15 Αποτελέσματα σε ποικιλίες τσικουδιάς (mg/Lt)

Δείγμα	Cabernet Sauvignon	Λιάτικο	Nebiolo	Sangiovese
φερουλικό	0	0	0	0
6,7	0.4-0.55	0.0022-0.003	0	0
Γαλλικό	0	0	0	0
Φαινυλοξικό	0.4-0.6	0.01-0.014	0.007-0.046	0.019-0.054
7,6	0	0.0023-0.0038	0	0
7,9	0	0.0035-	0-0.003	0

		0.0047		
Οξικό	0.6-9	0.32-0.61	1-1.57	0.6-0.65
Ακετόνη	0.19-0.3	0.09-0.21	0.016-0.05	0.012-0.02
Βουτανόνη	0.25-1	0.0013- 0.021	0.0011- 0.0054	0.046-0.054
Φορμικό	0.02-0.08	0.065-0.09	0.002- 0.009	
Φρουκτόζη	0.1-0.17	0.014- 0.041	0.024-0.1	0.0015- 0.0059
Γλυκόζη	0.23-4.2	0.06-10	0.035-0.16	0.02-0.05
Γαλακτικό	0.19-0.3	0.013- 0.036	0.009-0.03	0.01-0.032
Μεθανόλη	5-6.2	1.7-2.0	0.39-2.05	0.93-1.1
Πυρροβικό	0-0.008	0.003- 0.009	0.001- 0.008	0.0018- 0.0032
Σουκινικό	0.01-0.05	0	0.0002- 0.0008	.00002- 0.0005
Σουκρόζη	0	0.016-0.21	0.0002- 0.0008	0
Τρυγικό	0.01-0.06	0	0.001- 0.0014	0.0013- 0.0047

Η ποικιλία του Cabernet Sauvignon βρίσκεται σε πολύ μεγαλύτερες περιεκτικότητες στους περισσότερους μεταβολίτες συγκριτικά με τις υπόλοιπες ποικιλίες.

Η ποικιλία του Λιάτικου έχει περισσότερη περιεκτικότητα σε γλυκόζη και φαινορικά σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες τσικουδιά

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### **Αποτελέσματα της στοχευμένης μεταβολομικής ανάλυσης σε ουίσκι Σκωτίας**

#### **7.1 Αποτελεσμάτα ποσοτικής ανάλυσης για τα αποστάγματα Σκωτίας**

Επιλέξαμε για τη μελέτη 27 δείγματα ουίσκι από διάφορες περιοχές της Σκωτίας (Highlands, Islay )

Συγκεκριμένα, χρησιμοποιώντας το Chenomx έγινε ποσοτική μελέτη σε 23 μεταβολίτες οι οποίοι συνδέονται με τη διαδικασία παλαίωσης και τη γεωγραφική προέλευση. Τα ουίσκι στα οποία έγιναν οι αναλύσεις προέρχονται από τη Σκωτία.

Τα αποστάγματα ουίσκι που χρησιμοποιήθηκαν για τις αναλύσεις των δειγμάτων είναι τα εξής : Glenfiidich 12 Years (2 δείγματα) , Glenfiidich 15 Years (2 δείγματα) , Glenfiidich 18 Years (2 δείγματα) , Lagavulin 16 Years ( 3 δείγματα) , Jura 10 Years (2 δείγματα) , Talisker 10 years (2 δείγματα)

Οι 23 μεταβολίτες που μελετήθηκαν στη ποσοτική ανάλυση και στο διαχωρισμό των ουίσκι είναι οι εξής: Οξικό Οξύ, ισοευγενόλη, Φρουκτόζη, Καεμφερόλη, Φαινόλη, Ακετόνη, Γλυκόλη, Γαλλικό Οξύ, Γαλακτικό οξύ,

Φαινυλοξικό, Αραβινόζη, Φερουλικό, Γλυκερολη, Προπυλενογλυκολη, Ηλεκτρικό, Αιθανόλη, Φορμικό, Γλυκόζη, Πυρρουνικό οξύ, Συρινγκικό, Ο-κρεσόλη, Προπιονικό, Βουτυρικό και Π-κρεσόλη

Μελετήσαμε διαφορετικά υποστρώματα από το κάθε δείγμα [λυοφιλοποιημένα (Lyophilid) και μη επεξεργασμένα (Untreated)]

## 7.2 Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης σε λυοφιλοποιημένα δείγματα

Στο παρακάτω πίνακα απεικονίζονται τα αποτελέσματα από τα λυοφιλοποιημένα δείγματα από ούισκι:

Η ποσοτικοποίηση έγινε μέσω Chenomx.

Πίνακας 16 Αποτελέσματα σε λυοφιλοποιημένα δείγματα ούισκι (mg/Lt)

Δείγμα	Jura1	Jura2	Lagavulin1	Lagavulin2	Lagavulin3	Talisker1
Αιθανόλη	11,52	11,52	145,6	147,42	142,8	82,9
Γαλακτικό οξύ	0,604	0,57	0,11	0,1082	0,117	0,91
Προπυλενογλυκόλη	0,228	0,25	0,495	0,6082	0,38	0,38
Οξικό οξύ	1,021	1,021	3,6	2,4	2,4	1,45
Ακετόνη	2,32	2,78	0,273	0,23	0,23	0,267
Πυρρουνικό	0,29	0,29	0,35	0,317	0,35	0,31
Ηλεκτρικό	0,095	0,118	0,35	0,33	0,35	0,118
Ξυλόζη	0,55	0,45	0,601	0,691	0,60	0,034
Γλυκερόλη	1,75	1,75	6,17	5,53	5,53	2,76
Αιθυλενογλυκόλη	0,375	0,435	0,87	0,577	0,683	0,68
Φρουκτόζη	3	3,1	3,52	3,96	3,6	3,6
Γλυκόζη	7,2	6,85	9,91	10,09	10,089	6,48
Αραβινόζη	0,30	0,30	0,30	0,39	0,39	0,29
Σουκρόζη	0,24	0,21	0,27	0,27	0,3	0,137
Γαλλικό	0,22	0,23	0,3	0,3	0,3	0,187

Φορμικό	0,43	0,35	0,507	0,46	0,46	0,25
Βανιλίνη	0,11	0,12	0,08	0,12	0,147	0,09
Ισοευγενόλη	0,11	0,1	0,08	0,013	0,07	0,012
Φερουλικό	0,11	0,12	0,13	0,11	0,12	0,94
Συρινγκικό	0,095	0,024	0,12	0,14	0,35	0,06
Καεμφερόλη	0,065	0,042		0,042		0,05
Φαινόλη	0,1	0,1	0,13	0,09	0,13	0,071
Φαινυλοξικό	0,09	0,074	0,097	0,09	0,1	0,055
Ο-Κρεσόλη	0,12	0,1	0,175	0,175	0,15	0,1
Π-Κρεσόλη	0,06	0,06	0,13	0,13	0,13	0,086
Προπιονικό	0,17	0,19	0,37	0,35	0,31	0,23
Βουτυρικό	0,35	0,31	0,15	0,16	0,13	0,1

Πίνακας 17 : αποτελέσματα σε λυοφιλοποιημένα δείγματα ούισκι (mg/Lt)

δείγμα	Glen12 (1)	Glen12 (2)	Glen15 (1)	glen15 (2)	Glen18 (1)	Glen18 (2)	Talisker2
Αιθανόλη	230	231	11,84	11,98	31,94	32,34	82,9
Γαλακτικό οξύ	0,9	0,99	1	1,09	0,81	0,81	0,9
Προπυνογλ υκόλη	0,64	0,61	0,761	0,761	0,41	0,41	0,38
Οξικό οξύ	2,78	2,402	1,88	1,861	1,1	1,067	1,2
Ακετόνη	0,084	0,084	0,1	0,1	0,087	0,09	0,278
Πυρρυνικό	0,085	0,095	0,13	0,13	0,11	0,11	0,3
Ηλεκτρικό	0,19	0,2	0,32	0,29	0,09	0,094	0,118
Ξυλόζη	0,45	0,44	0,54	0,52	0,27	0,31	0,035
Γλυκερόλη	4,2	4,1	6,17	5,88	4,1	4	2,3
Αιθυλενογλ υκόλη	0,46	0,48	0,52	0,49	0,3	0,3	0,62
Φρουκτόζη	2,7	2,9	3,18	3,42	3,74	3,89	3,6
Γλυκόζη	0,333	0,34	0,42	0,46	0,38	0,41	6,13
Αραβινόζη	0,1	0,52	0,6	0,6	0,36	0,57	0,30

Σουκρόζη			0,17	0,18	0,11	0,11	0,14
Γαλλικό	0,43	0,49	0,73	0,55	0,41	0,44	0,187
Φορμικό	0,087	0,089	0,23	0,044	0,008	0,006	0,28
Βανιλίνη	0,041	0,063	0,11	0,14	0,14	0,14	0,1
Ισοευγενόλη	0,1	0,11	0,23	0,25	0,16	0,17	0,014
Φερουλικό	0,11	0,11	0,19	0,19	0,16	0,13	0,9
Συρινγικό	0,14	0,17	0,2	0,21	0,15	0,17	0,085
Καεμφερόλη		0,037	0,084	0,095	0,073	0,06	0,065
Φαινόλη	0,092	0,095	0,2	0,15	0,13	0,13	0,085
Φαινυλοξικό	0,06	0,065	0,135	0,121	0,11	0,11	0,07
Ο-Κρεσόλη	0,17	0,18	0,24	0,23	0,18	0,18	0,11
Π-Κρεσόλη	0,08	0,08	0,093	0,09	0,1	0,11	0,076
Προπιονικό	0,13	0,17	0,23	0,25	0,21	0,22	0,23
Βουτυρικό	0,19	0,2	0,2	0,23	0,17	0,15	0,12

### 7.3 Αξιολόγηση αποτελεσμάτων και συμπεράσματα ποσοτικής ανάλυσης λυοφιλοποιημένων αποσταγμάτων

**Jura** Το Jura δεν έχει κάποια μέγιστη τιμή που να ξεχωρίζει από τα υπόλοιπα ούισκι αλλά βρέθηκε να έχει την μικρότερη περιεκτικότητα σε συρινγικό οξύ και γαλακτικό. Το Jura περιέχει φαινολικά αρώματα, φρουτώδης γεύση, βουτυρώδη και τη τυρψώδη γεύση (1), είναι single malt και το συγκεκριμένο ούισκι για το πείραμα είναι 10 ετών. Η περιεκτικότητα του βουτυρικού επιβαιώνει την ύπαρξη του.

**Lagavulin** Το Lagavulin είναι single malt που λαμβάνει αρκετά χρόνια παλαίωσης σε δρύινα βαρέλια για τουλάχιστον 16 χρόνια (2) . Οργανοληπτικά έχει τυρψώδη γεύση και καπνιστή, επίσης είναι πικάντικη, "αιχμηρή" αλλά και γλυκιά. Από το πίνακα επιβεβαιώνονται όλες αυτές οι γεύσεις αφού στις μετρήσεις βρίσκονται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα από τα υπόλοιπα ούισκι. Αυτές είναι η Π-κρεσόλη (δίνει γεύση καπνιστού) Οξικό και Προπιονικό ( δίνουν οξεία και πικάντικη) και γλυκόζη που δίνει γλυκιά γεύση.



## **Talisker**

Το Talisker συνδυάζει θάλασσα και άγρια τοπία (2). Χαρακτηριστικές γεύσεις του είναι γλυκιά, πικάντικη, τυρφώδης και αλμυρή. Από το πίνακα επιβεβαιώνεται η γλυκύτητα (αυξημένη περιεκτικότητα γλυκόζης) τυρφώδης (Π-κρεσόλη) αλλά και η πικάντικη που προέρχεται από το φορμικό που παρατηρείται στη υψηλότερη συγκέντρωση από τα υπόλοιπα ούισκι. Επίσης και η αιθανόλη βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα. Τα φαινολικά βρίσκονται σε πολύ χαμηλή περιεκτικότητα που πιθανόν να σημαίνει ότι οι φαινολικά συστατικά είναι ευαίσθητα σε κάποιους γεωγραφικούς ή κλιματικούς παράγοντες ίσως και ο τυρφώδης χαρακτήρας να επηρεάζει ως ένα βαθμό.

## **Glenfiddich**

Τα Glenfiddich ούισκι προέρχεται από τα Highlands της Σκωτίας και η πρώτη απόσταξη ξεκίνησε το 1887 (3). Το όνομα του προήλθε από τη τοπική διάλεκτο gaelic όπου Glen σημαίνει κοιλάδα και Fiddich σημαίνει ελάφι.

Η τεχνική, το αγνό κριθάρι, το καθαρό νερό της πηγής, το ιδιαίτερο σχήμα αχλαδιού των αποστακτήρων και επιλεγμένα δρύινα βαρέλια δημιουργούν malts μοναδικά και με διαφορετικό χαρακτήρα. Χρησιμοποιήθηκαν τρία διαφορετικά glenfiddich με διαφορετικά έτη παλαίωσης (12,15,18 έτη αντίστοιχα).

Το Glenfiddich12 έχει φρουτώδη γεύση με νότες από αχλάδι. Από το πίνακα εμφανίζει να έχει υψηλές περιεκτικότητες σε αλκοόλες όπως αιθανόλη και προπυλεγλυκόλη.

Το Glenfiddich15 ωριμάζει σε τρία διαφορετικά είδη δρύινων βαρελιών. Χαρακτηριστικά του είναι η φρουτώδης γεύση, βανίλια και μπαχαρικών (3). Και τα τρία χαρακτηριστικά επιβεβαιώνονται από το πίνακα. Η βανιλίνη βρίσκεται σε υψηλή περιεκτικότητα, τα αρώματα κανέλας επιβεβαιώνονται με την περιεκτικότητα σε ισοευγενόλη, τέλος το φερουλικό έχει ως χαρακτηριστικό τη γεύση των μπαχαρικών.

Το Glenfiddich18 ωριμάζει σε δρύινα βαρέλια για 18 ή περισσότερα χρόνια και γίνεται σε ένα ιδανικό χώρο με χοντρούς πέτρινους τοίχους και χαμηλά ταβάνια, εντός του αποστακτηρίου.

Έχει γεύση μήλου, ξύλου , μπαχαρικού και γαρίφαλου. Από το πίνακα παρατηρείται ότι το φερουλικό απαντάται σε μεγάλη περιεκτικότητα. Άξιο παρατήρησης είναι ουσίες που προκαλούν έντονη γεύση είναι σε πολύ χαμηλά επίπεδα και είναι αυξημένο της γλυκερόλης που δίνει μια βελούδινη γεύση.

Παρακάτω θα συμπεριληφθούν οι ουσίες που επηρεάζουν οργανοληπτικά το ούισκι είναι οι εξής:

1. Η Ο-κρεσόλη προσδίδει οξεία και "καμμένη" γεύση.
2. Η Π-κρεσόλη δίνει στο ούισκι τυρφώδη γεύση.
3. Το προπιονικό οξύ πικάντικη , οξεία και όξινη γεύση.
4. Η Ισοευγενόλη δίνει γεύση από λουλούδι , ξυλώδης και κανέλλα.
5. Το Φερουλικό δίνει γεύση φαρύφαλλου.
6. Το Συριγγικό δίνει γεύση σύκου και καπνού.
7. Το βουτυρικό δίνει γεύση βουτυρώδης
8. Η βανιλίνη δίνει γεύση βανίλια.
9. Το φορμικό οξύ προσδίδει μια γεύση πικάντικη
10. Το φαινυλοξικό δίνει μια γεύση μελιού και λουλουδιού
11. Η γλυκερόλη προσδίδει μια γλυκιά γεύση
12. Το οξικό δίνει μια γεύση ξυδιού
13. Η αιθανόλη είναι το αλκοόλ που περιέχει το ούισκι

### **Κοινά χαρακτηριστικά και διαφορές μεταξύ Glenfiddich**

Τα Glenfiddich που μελετήθηκαν έχουν ως κύρια διαφορά το χρόνο παλαίωσης (12,15,18 χρόνια) αλλά και η αποθήκευση τους έγινε σε διαφορετικά βαρέλια. Οργανοληπτικά όλοι αντιλαμβάνονται ότι υπάρχουν διαφορές μεταξύ των τριών ούισκι, επίσης τα αποτελέσματα δείχνουν ότι υπάρχουν διαφορές μεταξύ τους και αυτό παρατηρείται από τη μείωση ή την αύξηση της συγκέντρωσης ανά ούισκι.

Από το πίνακα παρατηρείται ότι στις περισσότερες ουσίες υπάρχει μια αύξηση της περιεκτικότητας από τα 12 στα 15 χρόνια παλαίωσης και από τα 15 στα 18 χρόνια παλαίωσης υπάρχει μείωση.

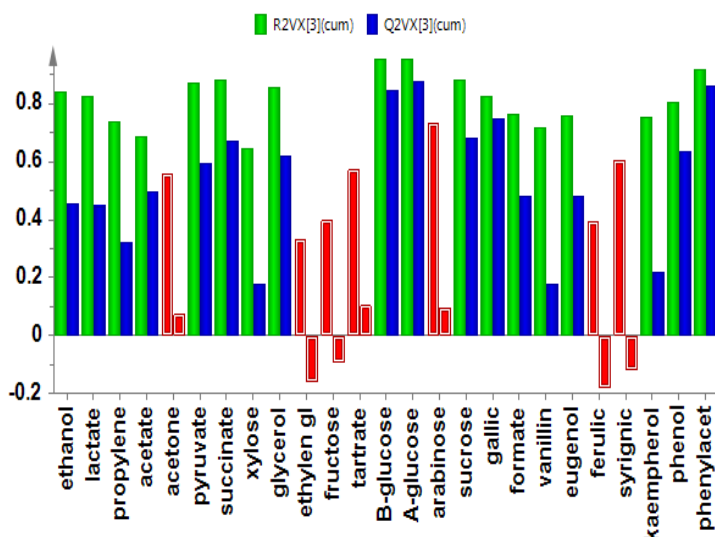
Τρεις ουσίες (οξικό, ξυλόζη, βανιλίνη) βρέθηκε να υπάρχουν σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ούισκι 12 ετών, ενώ κατά την παλαίωση μειώθηκε η συγκέντρωσή τους.

Η μοναδική ουσία που είχε αυξητικές τάσεις είναι η π-κρεσόλη.

#### 7.4 Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων λυοφιλοποιημένων δειγμάτων ούισκι μέσω του SimCa 13

Ουσίες που βοήθησαν στο διαχωρισμό προέλευσης στα λυοφιλοποιημένα δείγματα είναι οι εξής:

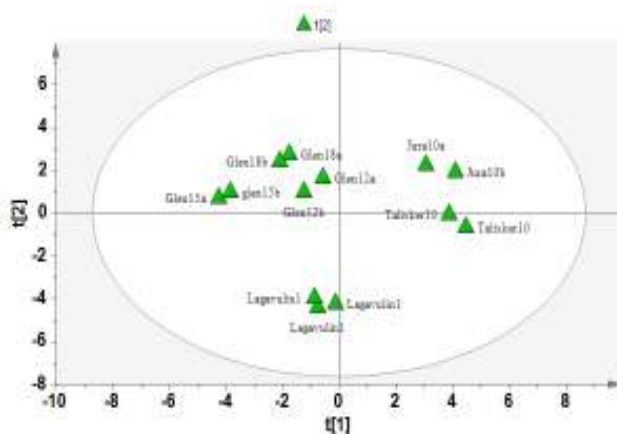
Αιθανόλη, ξυλόζη, Γλυκόζη, Ισοευγενόλη, Γαλακτικό οξύ, Πυρουβικό οξύ, Σουκρόζη, Καεμφερόλη, Προπυνογλυκόλη, Ηλεκτρικό οξύ, Γαλλικό οξύ, Φαινόλη, Οξικό, Γλυκερόλη, Βανιλίνη, Φαινυλοξικό



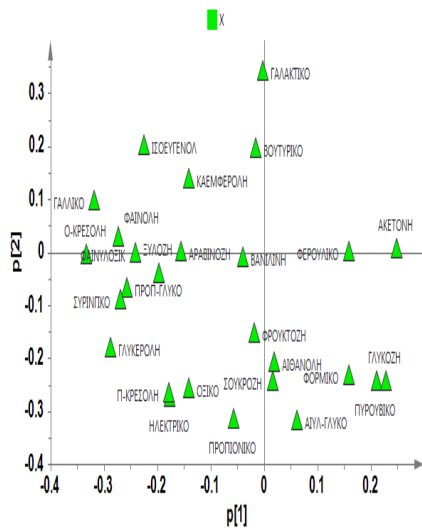
Εικόνα 46 Διάγραμμα σημαντικότητας με τους σημαντικούς μεταβολίτες σε λυοφιλοποιημένα ούισκι

## 7.5 Αποτελέσματα και συμπεράσματα στατιστικής ανάλυσης λυοφιλοποιημένων ούισκι

Παρατηρώντας τις παρακάτω εικόνες διακρίνουμε διαφορές και κατά τη διάρκεια της παλαίωσης ούισκι άλλα κ με τα υπόλοιπα. Ο βασικός διαχωρισμός είναι μεταξύ καπνιστών και μη. Lagavulin Jura & Talisker είναι καπνιστά ούισκι. Επίσης διαφορές έχουν στην προέλευση και στο τρόπο αποθήκευσης. Τα συγκεκριμένα καπνιστά ούισκι προέρχονται από τα Islay της Σκωτίας και αποθηκεύονται σε βαρέλια burbon (5). Όσον αφορά τα μη καπνιστά, προέρχονται από τα Highlands της Σκωτίας και αποθηκεύονται σε Cooper βαρέλια (5).



Εικόνα 47 Διάγραμμα διασποράς σε λυοφιλοποιημένα δείγματα ούισκι

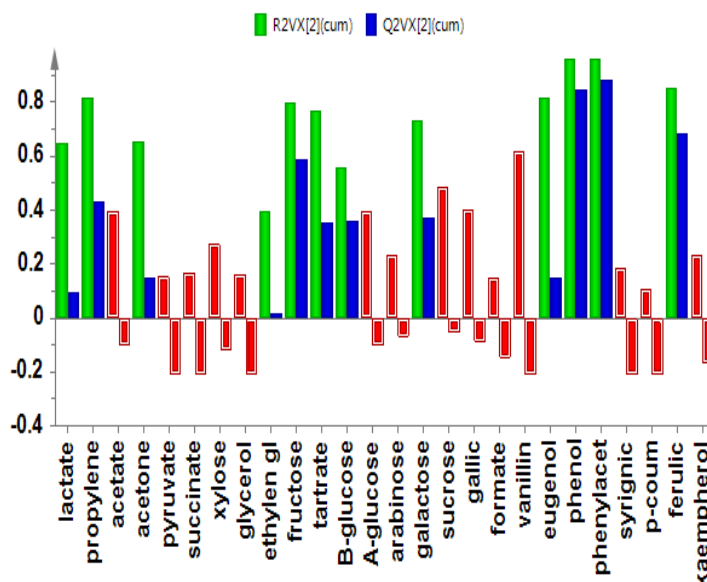


Εικόνα 48: Διαχωρισμός μεταβολιτών σε λυοφιλοποιημένα δείγματα ούισκι μέσω Simca13

### 7.6 Αποτελέσματα σε μη επεξεργασμένα δείγματα ούισκι

Για τα συμπεράσματα των αποσταγμάτων ούισκι σε untreated δείγματα χρησιμοποιήθηκαν τα εξής: Balvenie (3 δείγματα) Caol ila(2 δείγματα) Glenfiddich 15 years (2 δείγματα), Glenfiddich 18 years (1 δείγμα) και Glenlivet (4 δείγματα)

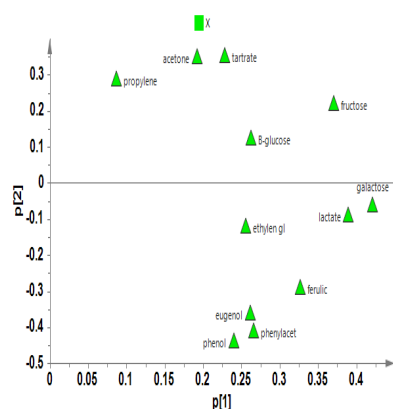
Οι Ουσίες που βοήθησαν στο διαχωρισμό είναι οι εξής: Γαλακτικό οξύ , Προπυλενγλυκόλη , Γλυκερόλη , Αιθυλενογλυκόλη , Ισοευγενόλη , Φαινόλη , Φαινυλοξικό , Γαλακτόζη , Φρουκτόζη , Ακετόνη , Γλυκόζη και Φερουλικό οξύ



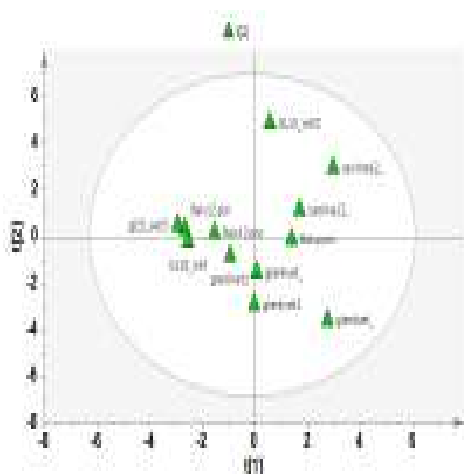
Εικόνα 49 Διάγραμμα σημαντικότητας με τους μεταβολίτες σε μη επεξεργασμένα δείγματα ούισκι

## 7.7 Αξιολόγηση αποτελεσμάτων και συμπεράσματα σε μη επεξεργασμένα δείγματα ούισκι μέσω του SimCa 13

παρατηρώντας το διακρίνουμε διαφορές και κοινά χαρακτηριστικά. Βασική διαφορά είναι ο διαχωρισμός καπνιστών και μη (Caol Ila με τα υπόλοιπα), κοινά χαρακτηριστικά έχουν τα ούισκι Glenfiddich και Balvenie(4). Τα συγκεκριμένα ούισκι προέρχονται από τα Highlands της Σκωτίας, επίσης έχουν κοινές γέυσεις (φρουτώδη και λουλουδάτη), τέλος Μέχρι και πριν μερικά χρόνια είχαν κοινό ιδιοκτήτη (William Grant) πράγμα που σημαίνει ότι υπήρχε ίδιος τρόπος παραγωγής.



Εικόνα 50 μεταβολίτες σε μη επεξεργασμένα δείγματα ούισκι



Εικόνα 51 Διαχωρισμός μεταβολιτών σε μη επεξεργασμένα δείγματα ούισκι

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αλκοολούχα ποτά (οίνος, τσίπουρο, τσικουδιά και ούισκι συγκεκριμένα) εκπροσωπούν ένα πολύπλοκο δείγμα μεταβολικών όντας αποτέλεσμα πολλαπλών παραγόντων (από το είδος της ζύμωσης μέχρι και γενετικοί παράγοντες).

Στη παρούσα μεταπτυχιακή εργασία στόχος ήταν διερεύνηση του μεταβολικού προφίλ σε ελληνικούς και διεθνής οίνους , ελληνικά τσίπουρα και τσικουδιές και σκοτσέζικα single malt ούισκι με χρήση φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση με χρήση του λογισμικού προγράμματος Chemomx και Πολυμεταβλητής Στατιστικής Ανάλυσης Δεδομένων.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, πραγματοποιήθηκε η ανάλυση σε 33 δείγματα οίνου από διαφορετικές ποικιλίες και προέλευση, 114 αποστάγματα στέμφυλων σταφυλής από διαφορετικές ποικιλίες , προέλευση , αριθμό αποστάξεων και διάρκεια παλαίωσης και τέλος 23 ούισκι από διαφορετικά αποστακτήρια , διαδικασία επεξεργασίας και προέλευσης.

Από την μελέτη του προφίλ οι μεταβολίτες που βρέθηκαν κατατάσσονται στα αμινοξέα , σάκχαρα, αλκοόλες, οργανικά οξέα και φαινολικά.

Ο τεράστιος όγκος των δεδομένων στις μεταβολομικές μελέτες προϋποθέτει τη χρήση πολυμεταβλητής στατικής ανάλυσης, με στόχο την ταξινόμηση των δειγμάτων με τεχνικές αναγνώρισης προτύπων όπως η Ανάλυση σε Κύριες Συνιστώσες (PCA).

Από τη ποσοτικοποίηση μέσω του Chemomx επιβεβαιώθηκε σε συμφωνία και με προηγούμενες μελέτες ότι ο ερυθρός οίνος περιέχει περισσότερα φαινολικά συστατικά συγκριτικά με το λευκό οίνο. Τρυγικό οξύ , μηλικό οξύ , ηλεκτρικό οξύ , ασκορβικό οξύ και φρουκτόζη συναντάται σε μεγαλύτερες περιεκτικότητες στους λευκούς οίνους. Τα υπόλοιπα συστατικά από όλες τις

κατηγορίες βρέθηκε ότι είναι με μεγαλύτερες περιεκτικότητες στους ερυθρούς οίνους.

Από το μοντέλο PCA, παρατηρείται στους ερυθρούς οίνους ότι οι ποικιλίες του Αγιωργίτικου και Ξινόμαυρου είναι συγγενείς ποικιλίες, επίσης παρατηρήθηκε ότι Cabernet Sauvignon και Syrah συναντάται πολλά κοινά οργανοληπτικά στοιχεία.

Στα αποστάγματα παλαιωμένων στέμφυλων σταφυλής από τη ποσοτικοποίηση και το διαχωρισμό δεδομένων παρατηρήθηκε σε μερικούς μεταβολίτες ότι υπάρχει διαχωρισμός (σε ποικιλίες 2 και 5 ετών) Οι μεταβολίτες που βοήθησαν στον διαχωρισμό είναι η μεθανόλη , το γαλλικό και το φαινυλοξικό οξύ.

Στα ουίσκι (κυρίως στα λυοφιλοποιημένα δείγματα όπου εμφανίστηκε καλύτερη ποσοτική ανάλυση αλλά και καλύτερος διαχωρισμός) από τη ποσοτικοποίηση των μεταβολιτών στα δείγματα παρατηρήθηκε ότι για κάθε ουίσκι ξεχωριστά αλλά και κατηγοροποιημένα υπήρχαν μεταβολίτες όπου βοήθησαν στον διαχωρισμό, π.χ. η Π-κρεσόλη στα καπνιστά ουίσκι.

Στα καπνιστά μεταβολίτες όπως οξικό οξύ και πολλά άλλα οξέα , η π-κρεσόλη και σουκρόζη φαίνεται να είναι ουσίες-κλειδιά για τα καπνιστά , ενώ για τα μη καπνιστά μεταβολίτες όπως βανιλίνη , φαινυλοξικό , φαινόλη και κάποια σάκχαρα δείχνουν ότι βοήθησαν στην αναγνώριση των μη καπνιστών. Επίσης υπάρχει και ο οργανοληπτικός διαχωρισμός όπου δίνεται η δυνατότητα μέσω του μεταβολομικού προφίλ να γίνει ο διαχωρισμός.

Τέλος, σε μη επεξεργασμένα δείγματα με την διαδικασία τη ποσοτικοποίησης και τον διαχωρισμό δεδομένων υπήρξε η δυνατότητα να γίνει διαχωρισμός μεταξύ καπνιστών και μη, οργανοληπτικά και προελεύσεως ( ουίσκι από το Speyside).





## Βιβλιογραφία

- (1) Hugh Johnson, Hugh Johnson's Modern Encyclopedia of wine
- (2) Πληροφορίες για ποικιλίες και για ενώσεις στους οίνους από το site του Βιοτεχνικού Επιμελητηρίου Πειραιά
- (3) Erikson L , Johansson E. , C. Kettaneh-wold, Trygg, Multi and megavariate Data Analysis, Part 1, Umetrics Academy ,
- (4) πληροφορίες για τα αποστάγματα ούισκι : [www.whiskeyforum.gr](http://www.whiskeyforum.gr)
- (5) Πληροφορίες για τα Malt ούισκι : [www.malts.com](http://www.malts.com)
- (6) R. Consonni and L. R. Cagliani, Nuclear Magnetic Resonance and Chemometrics to Assess Geographical Origin and Quality of Traditional Food Products, *Advances in Food and Nutrition Research*, vol. 59, Elsevier Inc, 2010
- (7) Modern Magnetic Resonance, Graham A. Webb et al., eds., Springer 2008, pp. 1689–1694
- (8) R.J.Ogg, P.B. Kingsley, J.S. Taylor, Wet, a T1- and B1- Insensitive watersuppression method for in vivo localized <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, *Journal of Magnetic Resonance Series B*, vol. 104, 1994, pp.1-10
- (9), M Geroyiannaki M.E. Komaitis , D.E. Stavrakas M. Polysiou P.E. Athanasopoulos, M Spanos, Department of Food Science and Technology, Evaluation of acetaldehyde and methanol in Greek traditional alcoholic beverages from varietal fermented grape pomace (*Vitis Vinifera* L.) , *Food Control* 18 (2007) 988-995
- (10), C. Fotakis , D. Christodouleas , K. Kokkotou, M. Zervou ,P. Zoumpoulakis , P. Moulos, M. Liouni, A. Calokerinos, NMR metabolite profiling of Greek grape marc spirits Institute of Biology, Medicinal Chemistry and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation
- (11) John McMurry (2008). *Organic Chemistry* 7<sup>th</sup> edition. Thompson-Brook/cole. Page 624
- (12) Πληροφορίες για διάφορες ενώσεις στα αλκοολούχα ποτά: [www.chem.uoi.gr](http://www.chem.uoi.gr)
- (13) Schaum's outline series , (Organic Chemistry)
- (14) Σουφλερός Ευάγγελος "Οινολογία και επιστήμη"

- (15) V. Pereira , J. S. Camara , J Cacho and J. C. Marques , HPLC-DAD methology for the quantification of organic acids, furans and polyphenols by direct injection of wines samples, Centro de Quimica da Madeira, Portugal, Laboratory for Flavor Analysis and Enology, ,Spain vol 33
- (16) X.X. Guo ,J. Wang, M. Gulfraz, L Shi , J. Tian, Study of ageing and production of wine from grape fruit by fermentation process,
- (17) F. Remize , J. L. Roustan , J. M. Sablayrolles , P. Barre and S. Dequin , Glycerol Overproduction , by Engineered *Saccharomyces cerevisiae* Wine Yeast Strains leads to Substantial Changes in By-Product Formation and to a Stimylation of fermentation Rate in Stationary Phase,p. 143-49
- (18) F. Shapiro , N. Silanikove , rapid and accurate determination of malate, citrate, pyruvate and oxaloacetate by enzymatic reaction coupled to formation of a fluorochromophore: Application in colorful juices and fermentable food (yogurt, wine) analysis, Institute of Animal Science Food Chemistry 129 (2011) 608-613
- (19) M.-L. Wang , J.-T. Wang, Y.-M. Choong, A rapid and accurate method for determination of methanol in alcoholic beverage by direct injection capillary gas chromatography, (2004) 187-196
- (20) V. Rastija , Goran Srećnik, M.-M.-Saric, Polyphenolic composition of Croatian wines different geographical origins, , (2009) 54-60
- (21) J. Woraratphoka , K.-O. Intarapichet , K. Indrapichate, Phenolic compounds and antioxidative properties of selected wines from the northeast of Thailand , Food Chemistry 104 (2007) 1485-1490
- (22) L. Minuti, R. Pellegrino, Determination of phenolic compounds in wine by novel matrix solid-phase dispersion extraction and gas chromatography/mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 1185 (2008) 23-30
- (23) K. Ali, F. Maltese, R. Toepfer, Y. H. Choi, R. Verpoorte, Metabolomic characterization of Palatinat German white wines according to sensory attributes, varieties and vintages using NMR spectroscopy and multivariate data analyses.
- (24) A.C.T. Biasoto, R.R. Catharino, G.B. Sanvido, M.N. Eberlin, Flavour characterization of red wines by descriptive analysis and ESI mass spectroscopy, Food Quality and Preference 21 (2010) 755-762
- (25) P. Lopes, J. Drinkine, C. Saucier, Y. Glories, Determination of L-ascorbic acid in wines by direct injection liquid chromatography using a polymeric column. Analytica Chimica Acta 555 (2006) 242-245
- (26) R. Mazzoli, C. Lamberti, M. Purrotti, C. Giunta, E. Pessione, J.D. Coisson, M. Arlorio, M.G. Giuffrida, Influence of ethanol, malate and arginine on histamine production of *Lactobacillus Hilgardii* isolated from an Italian red wine, Amino Acids (2009) 36:81-89

## Παράρτημα

Αριθμός δειγμάτων	Ποικιλία	Προέλευση
Οίνος		
Αγιωργίτικο (1-7)	Αγιωργίτικο	Νεμέα
Ξινόμαυρο (1-12)	Ξινόμαυρο	Χαλκιδική
Syrah (1-3)	Syrah	Νεμέα
Cabernet Sauvignon(1-4)	Cabernet Sauvignon	Νεμέα
Μοσχοφίλερο(1-7)	Μοσχοφίλερο	Νεμέα
Απόσταγμα στέμφυλων σταφυλής		
8	Αγιωργίτικο	Νεμέα
8	Μοσχοφίλερο	Νεμέα
8	Μαλαβουζία	Πελοπόννησος
8	Λιάτικο	Κρήτη
8	Μοσχάτο Αμβουργου	Τύρναβος
8	Sangiovese	Κρήτη
	Nebiole	Κρήτη
Τσίπουρο παλαιωμένο		
Αγιωργίτικο (1-11)	Αγιωργίτικο	Νεμέα
Μοσχοφίλερο (1-8)	Μοσχοφίλερο	Νεμέα
Ούισκι		Αποστακτήριο
Jura (1-2)	Jura	Islays
Lagavulin(1-3)	Lagavulin	Islays
Talisker (1-2)	Talisker	Islays
Glenfiddich 12 Years (1-2)	Glenfiddich 12 Years	Highlands
Glenfiddich 15 Years (1-2)	Glenfiddich 15 Years	Highlands
Glenfiddich 18 Years (1-2)	Glenfiddich 18 Years	Highlands