

# **Ανάλυση του αρωματικού προφίλ οίνων από γηγενείς κυπριακές ποικιλίες**

**Χ. Δρούζα\*, Ε. Μιχαηλίδου , Κ. Τσαούση,**

*Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου  
Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων  
Αρχιεπισκόπου Κυπριανού 31, 3036 Λεμεσός, Κύπρος  
chryssoula.drouza@cut.ac.cy*

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Σκοπός της εργασίας είναι η καταγραφή του αρωματικού μπουκέτου των οίνων από κυρίαρχες γηγενείς ποικιλίες της Κύπρου. Έτσι, προσδιορίστηκαν τα ιδιαίτερα πτητικά συστατικά που χαρακτηρίζουν τις ποικιλίες αυτές.

Αναλύθηκαν οίνοι από τις ποικιλίες: Μαραθεύτικο, Ξυνιστέρι και Μαύρο. Η απομόνωση των πτητικών ουσιών πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο Μικρο-Εκχύλισης Στερεής Φάσης (SPME), ο διαχωρισμός με την αέρια χρωματογραφία και η ταυτοποίηση με τη βοήθεια της των βιβλιοθηκών της βάσης δεδομένων φασμάτων μάζας, πρότυπων ουσιών και με το Kovats Index(KI). Οι κυριότερες χημικές ομάδες των αρωματικών ουσιών οι οποίες καταγράφηκαν ήταν εστέρες, αλκοόλες, οργανικά οξέα, καρβονυλικές ενώσεις και τερπενοειδή.

## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Η μελέτη των αρωματικών ουσιών αποτελεί σημαντικό αντικείμενο έρευνας για τις Κυπριακές γηγενείς ποικιλίες λόγω της σημαντικής συνεισφοράς των συστατικών αυτών στην ποιότητα του οίνου και επειδή μέχρι σήμερα δεν έχει καταγραφεί το άρωμά τους. Μέχρι στιγμής, η ταυτοποίηση των εμπορικών οίνων γίνεται αποκλειστικά γευσιγνωστικά αφού δεν υπάρχουν θεμελιωμένες μεθοδολογίες ανάλυσης για το σκοπό αυτό. Επιπλέον το Υπουργείο Γεωργίας αποδέχεται τον χαρακτηρισμό ΟΕΟΠ για κάθε εμπορικό κρασί βάση αποδείξεων αγοράς των

σταφυλιών από τους οινοποιούς. (ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1234/2007, Ν. 226(I)/2004 και ΚΔΠ 294/2010, Ε.Ε. Παρ. ΙΙΙ(Ι) Αρ. 4437,9.7.2010 της Κυπριακής Δημοκρατίας)

Οι γηγενείς ποικιλίες της Κύπρου παρατίθενται στον Πίνακα 1.

**Πίνακας 1.** Γηγενείς Οινοποιήσιμες Ποικιλίες του Κυπριακού Αμπελώνα

<b>α/α</b>	<b>Ποικιλία</b>	<b>Χαρακτηριστικά</b>
1.	<b>Μαύρο</b>	Κυρίαρχη ερυθρή ποικιλία
2.	<b>Ξυνιστέρι</b>	Κυρίαρχη λευκή ποικιλία
3.	<b>Μαραθεύτικο ή Παμπακάδα</b>	Ερυθρή ποικιλία
4.	<b>Όθαλμο</b>	Ερυθρή ποικιλία
5.	<b>Πρωμάρα</b>	Λευκή ποικιλία
6.	<b>Κανέλλα</b>	Λευκή ποικιλία που κινδυνεύει προς εξαφάνιση
7.	<b>Σπούρτικο</b>	Λευκή ποικιλία γνωστή για την μεγάλη ευαισθησία της στο σπάσιμο της ρώγας λόγω της εύθραυστης επιδερμίδας
8.	<b>Μωροκανέλλα</b>	Λευκή ποικιλία
9.	<b>Γιαννούδι</b>	Ερυθρή ποικιλία

(Πηγή Υπουργείο Γεωργίας, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος)

Τα πτητικά συστατικά έχουν αποτελέσει τη βάση για το διαχωρισμό οίνων από διαφορετικές ποικιλίες [Carone et al., 2013; Metafa and Economou, 2013]. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να αναδείξει τα συστατικά που είναι στενά συνυφασμένα με την κάθε ποικιλία ώστε να αποτελέσουν δείκτες βοτανικής προέλευσης.

Αναλυτικότερα το άρωμα του φρέσκου οίνου χαρακτηρίζεται από το άρωμα του σταφυλιού, που αποτελεί ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της ποικιλίας και το άρωμα προερχόμενο από την ζύμωση που συνδέεται με το είδος των ζυμών και των συνθηκών ζύμωσης [Metafa and Economou, 2013]. Τέλος, το μπουκέτο κατά την παλαίωση ενός οίνου προκύπτει από το μετασχηματισμό των συστατικών του αρώματος [Câmara et al., 2006].

#### **A. Μεθοδολογία για την Ανίχνευση Πτητικών Συστατικών**

Η μεθοδολογία που ακολουθείται για την ανίχνευση των πτητικών ουσιών στους οίνους είναι η ακόλουθη:

##### **Υλικά και Μέθοδοι**

Για σκοπούς παρουσίασης της εργασίας μελετήθηκαν είκοσι γηγενείς μόνο-ποικιλιακοί οίνοι και επιπλέον για την ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων επιλεκτικά παρασκευάστηκαν διαλύματα πρότυπων ουσιών σε συγκέντρωση περίπου 1mg/l.

##### **(i) Απομόνωση των πτητικών συστατικών**

Η μέθοδος που επιλέχτηκε να χρησιμοποιηθεί είναι η τεχνική της στερεάς μικροεκχύλισης SPME. Ανάλυση υπερκείμενου χώρου HS/SPME για 55 min με σταθερή ανάδευση στους 60 °C.

##### **(ii) Διαχωρισμός των πτητικών συστατικών / ανίχνευση**

- 2cm, επικαλυμμένη με 50/30mm divinylBenzen/carboxen σε pol-dimethyl-Sloane συνδεδεμένη σε flexible fused silicone core, supelco
- Συσκευή: Shimadzu GC-2010, GCMS QP 2010 Plus
- Φέρον Αέριο : Ήλιο
- Στήλη: Supelco-WAX column 60m, 0.32μm, i.d,0.25mm
- Θερμοκρασία Injector: 220 °C
- Injection Mode : Splitless

### (iii) Πρόγραμμα Θερμοκρασίας Στήλης

Ισόθερμη παραμονή στους 35 °C για τα πρώτα έξι λεπτά, στην συνέχεια αύξηση θερμοκρασίας στους 60 °C με ρυθμό 2 °C / min για ακόμα έξι λεπτά. Θέρμανση στους 200 °C με ρυθμό 5 °C / min και στην συνέχεια θέρμανση στους 240 °C με ρυθμό 25 °C / min με παραμονή 5 λεπτά.

### (iv) Παρασκευή Δειγμάτων Οίνου

Ποσότητα Οίνου 10.00 ml τοποθετήθηκε σε φιαλίδια αέριου χρωματογράφου των 20.00 ml και κλείστηκε αεροστεγώς με septa μετά την προσθήκη 2.000g NaCl.

## B. Η ταυτοποίηση των ενώσεων γίνεται λαμβάνοντας υπόψη τα πιο κάτω:

1. Σύγκριση των χρόνων κατακράτησης με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης με την αντίστοιχη πρότυπη ουσία.
2. GC-MS Library (RT) NIST 107/ NIST 08 /NIST08s/NIST21
3. KI-Kovats Index.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα περισσότερα πτητικά προέρχονται κυρίως από το μεταβολισμό των ζυμομυκήτων, αποτελούν το «βασικό άρωμα» του κρασιού και παράγονται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης γλεύκους σταφυλιών. Εντούτοις, το πιο σημαντικό στην αναγνώριση της ποικιλίας κρασιού είναι το άρωμα που προέρχεται από τα σταφύλια, το πρωτογενές άρωμα. Οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις ενισχύουν τις φρουτώδεις νότες κρασιού ή μπορεί να ενεργούν ως ενισχυτικά αρώματος [Waterhouse and Ebeler, 1998].

Οι πληροφορίες σχετικά με τις ενώσεις που είναι παρούσες στο κρασί έχουν ταξινομηθεί σε: εστέρες, οξέα, αλκοόλες, καρβονυλικές ενώσεις, λακτόνες, αλδεΐδες και κετόνες.

Προκαταρκτικά αποτελέσματα για τα πτητικά μικροσυστατικά που αναλύθηκαν στα κρασιά παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Μπορεί να παρατηρηθεί ότι υπάρχουν ενώσεις που ανιχνεύθηκαν μόνο σε μία ποικιλία.

### Πίνακας 2

Πτητικά συστατικά που προσδιορίστηκαν στις κυπριακές γηγενείς ποικιλίες Ξυνιστέρι, Μαραθεύτικο και Μαύρο χρησιμοποιώντας την τεχνική SPME-GCMS.

Πτητικές ενώσεις	Ξυνιστέρι	Μαραθεύτικο	Μαύρο
<b>Εστέρες</b>			
Βουτανοϊκός αιθυλεστέρας	•	•	
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	•	•	•
Οξικός εξυλεστέρας		•	
Επτανοϊκός αιθυλεστέρας			•
Οκτανοϊκός μεθυλεστέρας		•	•
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας			•
7-οκτενοϊκός αιθυλεστέρας	•	•	•
Δεκανοϊκός αιθυλεστέρας			•
Οκτανοϊκός 3-μεθυλβουτυλεστέρας			•
Βενζυλοξικός αιθυλεστέρας			•
Οξικός 2-φαιλυεθυλεστέρας	•		
Δωδεκανοϊκός αιθυλεστέρας	•		
Φθαλικός ισοβουτυλεστέρας			•
Δεκατετρανοϊκός αιθυλεστέρας	•		
Φθαλικός διαιθυλεστέρας	•	•	•
Δεκαεξανοϊκός αιθυλεστέρας	•		•
Δεκαεξανοϊκός μεθυλεστέρας			•
Δεκαοκτανοϊκός αιθυλεστέρας	•		•
9-δεκαοκτενοϊκός αιθυλεστέρας	•		
Λακτικός αιθυλεστέρας		•	•
Παλμιτικός βουτυλεστέρας		•	
Βανιλικός αιθυλεστέρας			•
Λακτικός ισοαμυλεστέρας			•
3-μεθυλοξικός βουτυλεστέρας	•	•	•
<b>Αλκοόλες</b>			
1-βουτανόλη	•	•	
3-μεθυλ-1-βουτανόλη	•	•	•
3-εξεν-1-όλη		•	•
1-εξανόλη	•	•	•
2-εξανόλη	•	•	

2-επτανόλη			•
1-πεντανόλη		•	•
2-πεντανόλη		•	
1-οκτεν-3-όλη			•
1-επτανόλη			•
2-αιθυλ-1-εξανόλη		•	
2,3-βουτανοδιόλη		•	•
1-οκτανόλη		•	•
3-οκτανόλη			•
3-μερκαπτοπροπανόλη			•
1-δεκανόλη	•		•
Δεκανάλη	•		
Δωδεκανόλη	•	•	•
Φαινόλη		•	•
Εννεάνυλ φαινόλη	•		•
2,4-δις(1,1-διμεθυλαιθυλ)φαινόλη	•	•	•
<i>tert</i> -βουτυλδι-3οδροξυ-4-μετηοχβενζαλ δεϋδη			•
n-δεκαεννεανόλη			•
(Z,Z)-3,6 εννδιεν-1-όλη			•
Φαινυλαιθανόλη			•
4-εννεανόλη		•	
4-(1,1-διμεθυλαιθυλ)κυκλοεξανόλη			•
<b>Οργανικά οξέα</b>			
Οξικό οξύ	•		•
Βουτανικό οξύ	•		
Εξανοϊκό οξύ	•	•	
Οκτανοϊκό οξύ	•	•	
Εννεανοϊκό οξύ	•	•	•
Δεκανοϊκό οξύ	•	•	•
10-Εντεκενοϊκό οξύ			•
Δωδεκανοϊκό οξύ	•	•	•
Μυριστικό οξύ	•		•
Οξαλικό οξύ		•	
Προπανοϊκό οξύ			•
Στεαρικό οξύ			•
3-αιθυλεξανοϊκό οξύ		•	
3-μεθυλ-4-οξοπεντανοϊκό οξύ			•
<b>Καρβονυλικές ενώσεις</b>			
Ακεταλδεϋδη	•	•	•
Νονανάλη		•	
β-δαμασκενόνη	•	•	•
γ-εννεανολακτόνη			•
δ-δεκαλακτόνη		•	
<b>Τερπενειδή</b>			
Λιμονένιο	•	•	

β-λιναλόλη	•	•	•
α-τερπινεόλη	•	•	•
α-φαρνεσένιο		•	•
Γερανιόλη	•		
β-κιτρονελόλη	•	•	•
β-μυρισένιο			•
p-κιμενένιο			•
<b>Διάφορες ενώσεις</b>			
2-φλορο-1-προπένιο		•	•
n-δεκαπεντάνιο			•

Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι για να απομονώσουμε πτητικές ενώσεις από τους οίνους σύμφωνα πάντα με την βιβλιογραφία. Η κάθε μέθοδος έχει τα δικά της μειονεκτήματα και πλεονεκτήματα οι οποίες μερικές φορές μπορεί να καταλήξουν σε ποσοτικές αλλαγές στα φάσματα των αρωματικών ενώσεων.

Ο διαχωρισμός των πτητικών συστατικών γίνεται με αέριο χρωματογράφο (GC) βάση της διαφορετικής χημικής αλληλεπίδρασης και κατανομής των ουσιών μεταξύ της στατικής φάσης και της κινητής φάσης (φέρων αέριο). Η αποτελεσματικότητα του διαχωρισμού με GC εξαρτάται όχι μόνο από την επιλογή της στήλης (επιλεκτικότητα / διαχωριστική ικανότητα) αλλά και από την σωστή επιλογή των συνθηκών κατά την διάρκεια της ανάλυσης και βελτιστοποίηση αυτών. Με την μέθοδο αυτή συνδυάζονται το θερμοκρασιακό πρόγραμμα της στήλης, το διάστημα παραμονής του δείγματος εντός της στήλης, η θερμοκρασία του δείγματος κατά την είσοδο του στην στήλη, η πηγή ιονισμού, η επιλογή συστήματος split or splitless και η ροή του φέροντος αερίου. Η ανίχνευση των μικροσυστατικών έγινε με ανιχνευτή φασματομετρίας μαζών (MS)[Kandyilis et al., 2010].

Η εισαγωγή δείγματος έγινε με την τεχνική της στερεάς μικροεκχύλισης, που αποτελεί μια νέα τεχνική με εφαρμογή στην αέρια χρωματογραφία. Η παραλαβή του δείγματος γίνεται με απορρόφηση των πτητικών συστατικών του οίνου πάνω στην ίνα σε συγκεκριμένη θερμοκρασία και χρόνο έκθεσης της ίνας στους ατμούς του οίνου.

Με την παραλαβή του δείγματος η μικροσύριγγα εισάγεται στον αέριο χρωματογράφο και η ίνα εκθέτεται για συγκεκριμένο χρόνο δεκαπέντε λεπτών στον φέρον αέριο. Οι ενώσεις εκροφούνται από την ίνα στο θάλαμο απαέρωσης σε υψηλή θερμοκρασία και οδηγούνται στην στήλη προς διαχωρισμό της πίεση του φέροντος αερίου. Η ποσότητα της ένωσης που προσροφείται από την ίνα εξαρτάται από το πάχος της ίνας και από το

συντελεστή κατανομής της ένωσης στη στερεή φάση του υλικού της. Χρήση της ίδιας ίνας για όλα τα πειράματα εξασφαλίζει αυστηρώς συγκρίσιμα αποτελέσματα για όλα τα δείγματα.

Πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής αποτελούν το ότι είναι απλή, ταχεία και μπορεί να παρουσιάζει αυξημένη ευαισθησία λόγω αυξημένης απορρόφησης των προς εξέταση συστατικών πάνω στην ίνα [Paula Barros et al., 2012; Pawliszyn, 1997]. Επιπλέον άλλο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ο περιορισμός της χρήσης διαλυτών.

Πολυάριθμες πτητικές χημικές ουσίες ανιχνεύθηκαν, εκ των οποίων οι περισσότερες αποτελούν τα δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης. Επίσης, προσδιορίστηκαν και τα πρωτογενή αρώματα των μονοποικιλιακών αυτών οίνων. Χαρακτηριστικά αρώματα ανθέων, φρούτων, μπαχαρικών, βοτάνων και φρεσκοκομμένης χλόης αποδόθηκαν στις χημικές ενώσεις που ανιχνεύτηκαν.

Σε όλα τα δείγματα οι εστέρες παρουσίασαν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση. Από τις γηγενείς ποικιλίες, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το Μαραθεύτικο είναι πλούσιο σε εστέρες, αλκοόλες και καρβονυλικές ενώσεις. Όσον αφορά τους λευκούς οίνους, παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση στα οξέα συγκριτικά με αυτή των ερυθρών οίνων, η οποία είναι αναμενόμενη για τα λευκά κρασιά. Η λευκή γηγενής ποικιλία Ξυνιστέρι βρέθηκε ότι περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις εστέρων, αλκοολών και οξέων. Γενικά η πλούσια σύσταση σε πτητικά συστατικά των κρασιών από γηγενείς ποικιλίες είναι μοναδική αποδίδοντας δυνατά και εξευγενισμένα αρώματα.

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Ο αρωματικός χαρακτήρας των οίνων από τα προκαταρκτικά αποτελέσματα μας έδειξαν ότι η μέθοδος HS SPME GC-MS για την ανάλυση του αρώματος πτητικών συστατικών στο κρασί είναι ένας ευέλικτος προσδιορισμού των πτητικών συστατικών του κρασιού και μπορεί να αποτελέσει τη βάση προκειμένου να προσδιοριστούν δείκτες για την διάκριση των διαφορετικών μονοποικιλιακών κρασιών. Επιπλέον, περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για την ποσοτικοποίηση και καταγραφή των πτητικών συστατικών που συνθέτουν το αρωματικό προφίλ των κυπριακών γηγενών ποικιλιών.



## Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς ευχαριστούν τα Διαρθρωτικά Ταμεία της Ευρωπαϊκής Ένωσης και την Κυπριακή Δημοκρατία για τη χρηματοδότηση του προγράμματος μέσω του Ιδρύματος Προώθησης Έρευνας (Infrastructure Project: /0308/32)

## Βιβλιογραφία

Câmara, J. S., M. A. Alves and J. C. Marques **2006**. Changes in volatile composition of Madeira wines during their oxidative ageing. *Analytica Chimica Acta* 563: 188-197.

Capone, Simonetta, Maria Tufariello, Luca Francioso, Giovanni Montagna, Flavio Casino, Alessandro Leone and Pietro Siciliano **2013**. Aroma analysis by GC/MS and electronic nose dedicated to Negroamaro and Primitivo typical Italian Apulian wines. *Sensors and Actuators B: Chemical* 179: 259-269.

Kandylis, Panagiotis, Chryssoula Drouza, Argyro Bekatorou and Athanasios A. Koutinas **2010**. Scale-up of extremely low temperature fermentations of grape must by wheat supported yeast cells. *Bioresource Technology* 101: 7484-7491.

Metafa, Maria and Anastasios Economou **2013**. Chemometrical development and comprehensive validation of a solid phase microextraction/gas chromatography–mass spectrometry methodology for the determination of important free and bound primary aromatics in Greek wines. *Journal of Chromatography A* 1305: 244-258.

Paula Barros, Elisabete, Nathalie Moreira, Giuliano Elias Pereira, Selma Gomes Ferreira Leite, Claudia Moraes Rezende and Paula Guedes de Pinho **2012**. Development and validation of automatic HS-SPME with a gas chromatography-ion trap/mass spectrometry method for analysis of volatiles in wines. *Talanta* 101: 177-186.

Pawliszyn, J. **1997**. *“Solid Phase Microextraction : Theory and Practice”*.

Waterhouse, A., L. and S. E Ebeler **1998**. *“Chemistry of Wine Flavor”*: ACS.