

*Επίδραση ξεφυλλίσματος και ελεγχόμενου ποτίσματος στην συγκέντρωση
των φαινολικών συστατικών των σταφυλιών και οίνων της ποικιλίας
Αγιωργίτικο*



*Μεταπτυχιακή εργασία
Παυλίδης Α. Εμμανουήλ*

*Επιβλέπωντας καθηγητής :
Κοτσερίδης Γεώργιος
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα επιστήμης φυτικής
παράγωγης- Τμήμα επιστήμης και
τεχνολογίας τροφίμων
ΔΙΠΜΣ Αμπελουργία- Οινολογία*

Αθήνα 2012

Επίδραση ξεφυλλίσματος και ελεγχόμενου ποτίσματος στην συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των σταφυλιών και οίνων της ποικιλίας Αγιωργίτικο

*Μεταπτυχιακή εργασία
Παυλίδης Α. Εμμανουήλ*

*Επιβλέπωντας καθηγητής :
Κοτσερίδης Γεώργιος*

Αθήνα 2012

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα επιστήμης φυτικής παράγωγης- τμήμα επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων
ΔΠΜΣ Αμπελουργία- Οινολογία

*Επίδραση ξεφυλλίσματος και ελεγχόμενου ποτίσματος στην
συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των σταφυλιών και
οίνων της ποικιλίας Αγιωργίτικο*

Εξεταστική Επιτροπή :
Κοτσερίδης Γεώργιος
Μπινιάρη Κατερίνα
Κωμαίτης Μιχαήλ

*Μεταπτυχιακή εργασία
Παυλίδης Α. Εμμανουήλ*

*Επιβλέπωντας καθηγητής :
Κοτσερίδης Γεώργιος*

Αθήνα 2012

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία έγινε προσπάθεια να μελετηθεί η επίδραση της άρδευσης και του ξεφυλλίσματος στην φαινολική σύσταση των ραγών και των παραγόμενων οίνων της ποικιλίας της αμπέλου *Vitis vinifera* L Αγιωργίτικο. Εφαρμόστηκε συνδυασμός επεμβάσεων άρδευσης και ξεφυλλίσματος της αμπέλου ώστε να έχουμε τέσσερις διαφορετικές επεμβάσεις: μόνο πότισμα(Π10), μόνο ξεφύλλισμα(Ξ10), πότισμα και ξεφύλλισμα(Π/Ξ10), τίποτα από τα δυο (Μ10). Στις επεμβάσεις που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα αυτό ήταν καθολικό στην ζώνη των βοτρύων ενώ το πότισμα εφαρμόστηκε βάση της εξατμισοδιαπνοής.

Για τον προσδιορισμό των πολυφαινολών εφαρμόστηκαν διάφορες αναλυτικές μέθοδοι. Αρχίζοντας από τα σταφύλια, η εφαρμογή ποτίσματος και ξεφύλλισμα είχε σαν αποτέλεσμα την καλύτερη εκχυλισματικότητα ανθοκυανών, ενώ η εφαρμογή μόνο ξεφυλλίσματος μας έδωσε ράγες με τις περισσότερες εν δυνάμει ανθοκυάνες. Η ίδια επέμβαση είχε σαν αποτέλεσμα και την υψηλότερη συγκέντρωση τανινών που προέρχονται από τους φλοιούς.

Πραγματοποιήθηκαν οινοποιήσεις σύμφωνα με την κλασική μέθοδο ερυθρής οινοποίησης. Οι οίνοι στους οποίους εφαρμόστηκε μόνο ξεφύλλισμα είχαν μεγαλύτερη ένταση χρώματος περισσότερες τανίνες και καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Οι οίνοι στους οποίους εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα πιθανόν να έχουν δυνατότητα για μεγαλύτερη παλαίωση. Η εφαρμογή και των δύο επεμβάσεων, ποτίσματος και ξεφυλλίσματος έδωσε οίνους με την υψηλότερη συγκέντρωση του μονογλυκοζιτη της μαλβιδίνης.

Λέξεις κλειδιά : Αγιωργίτικο, πότισμα, ξεφύλλισμα, ανθοκυάνες, τανίνες, φλοιοί, ένταση χρώματος, αντιοξειδωτική ικανότητα.

Abstract

In the present study was investigated the effect of irrigation and leaf removal on the phenolic composition of cv Agiorgitiko grapes as also to the produced wines. Combination of irrigation and leaf removal vine was applied so that we have four different conditions: irrigation, leaf removal, irrigation plus leaf removal, and control. For the determination of polyphenols various analytic methods were applied. The irrigation in combination with the leaf removal resulted to best anthocyanin extractability from the berries, while the application of just leaf removal resulted to higher total anthocyanins. The same application resulted to the higher skin tannins concentrations.

Wine making was carried out according to the classical red vinification method. The wines produced using the grapes under leaf removal condition presented higher colour intensity and tannins and as also better antioxidant capacity. The leaf removal samples presented higher ageing ability. Application of both, irrigation and leaf removal conditions, resulted to wines with higher malvidin concentration.

Key words: cv Agiorgitiko, irrigation, leaf removal, anthocyanin extractability, colour intensity, antioxidant capacity

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ABSTRACT	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ I	8
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1 Η ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ	9
1.2 Ο ΟΙΝΟΣ ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ	9
1.3 ΟΙ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ	9
1.3.1 ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ	11
1.3.2 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ	12
1.3.2.1 Φλαβονόλες	13
1.3.2.2 Φλαβανόνες	13
1.3.2.3 Φλαβανονόλες	13
1.3.2.4 Κατεχίνες	13
1.3.2.5 Προκυανιδίνες	14
1.3.2.6 Ταννίνες	16
1.3.2.7 Ανθοκυάνες	18
1.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ	22
1.4.1 ΠΟΙΚΙΛΙΑ	22
1.4.2 ΒΑΘΜΟΣ ΩΡΙΜΟΤΗΤΑΣ	23
1.4.3 ΚΛΙΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	24
1.4.4 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ	24
1.4.5 ΤΕΧΝΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ	25
1.5 ΆΡΔΕΥΣΗ	25
1.6 ΞΕΦΥΛΛΙΣΜΑ	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ II	33
2. ΥΛΙΚΑ - ΜΕΘΟΔΟΙ	34
2.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	34
2.1.1 Ο ΑΜΠΕΛΩΝΑΣ	34
2.1.2 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ - ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ	35
2.2 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΟΙΝΟΥΣ	35
2.2.1 ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ	36
2.2.2 ΔΕΙΚΤΗΣ ΙΟΝΙΣΜΟΥ	36
2.2.3 ΈΝΤΑΣΗ-ΑΠΟΧΡΩΣΗ	37
2.2.4 ΔΕΙΚΤΗΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ (Δ.Φ.Ο.)	38
2.2.5 ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN-CIUCALTEU	38
2.2.6 ΔΕΙΚΤΗΣ ΥΔΡΟΧΛΩΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (Δ HCL%)	38
2.2.7 ΟΛΙΚΕΣ ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΒΡΑΣΜΟΥ (ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΣΕ ΑΝΘΟΚΥΑΝΙΔΙΝΕΣ)	39
2.2.8 ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ BSA (ΣΤΥΠΤΙΚΟΤΗΤΑ)	40

2.2.9 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ DPPH	41
2.2.10 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΟΝΟΜΕΡΩΝ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΜΕ HPLC	41
2.3 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΙΣ ΡΑΓΕΣ	43
2.3.1 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΕ ΟΛΟΚΛΗΡΕΣ ΡΑΓΕΣ	43
2.3.1.1 Προσδιορισμός των ανθοκυανών και των ολικών φαινολικών με τη μέθοδος Iland	43
2.3.1.2 Εκχυλισματικότητα ανθοκυανών και τανινών (Ribereau Gayon & Stonestreet, 1966)	44
2.3.2 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΕ ΦΛΟΙΟΥΣ & ΓΙΓΑΡΤΑ	46
2.3.2.1 Προσδιορισμός ανθοκυανών σε εκχυλίσματα φλοιών με HPLC	46
2.3.2.2 Προσδιορισμός φαινολικής σύστασης και αντιοξειδωτικής ικανότητας σε εκχυλίσματα φλοιών & γιγάρτων	46
2.4 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ III	48
<hr/>	
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ	49
3.1 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ	49
3.1.1 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΕ ΟΛΟΚΛΗΡΕΣ ΡΑΓΕΣ	49
3.1.2 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΕ ΓΙΓΑΡΤΑ & ΦΛΟΙΟΥΣ	52
3.2 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΟΙΝΟΥΣ	56
3.2.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΟΙΝΩΝ	56
3.2.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΤΩΝ ΟΙΝΩΝ	58
3.2.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΟΙΝΩΝ & ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΠΑΛΑΙΩΣΗΣ	59
ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV	60
<hr/>	
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	61
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	64
<hr/>	

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η ποικιλία Αγιωργίτικο

Πρόκειται για ποικιλία η οποία καλλιεργείται σχεδόν αποκλειστικά στη ζώνη της Νεμέας ενώ θεωρείται η ευγενέστερη ερυθρή ποικιλία της Νότιας Ελλάδας. Η σταφυλή είναι μέτρια, η ράγα είναι μικρή έως μέτρια, σφαιρική. Έχει φλοιό μετρίως παχύ έως παχύ, πλούσιο σε ανθοκυάνες και καλυμμένο, ενώ η σάρκα της είναι χυμώδης, γλυκιά έως ελαφρώς υπόξινη και μετρίως μαλακή. (Σταυρακάκης, 2009). Το Αγιωργίτικο είναι ποικιλία μετρίως ζωνηρή έως ζωνηρή, εύρωστη, όψιμης ωρίμανσης και πολύ παραγωγική. Παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στο οίδιο και τις ιώσεις και μέτρια ευαισθησία στον περονόσπορο, στους ανοιξιάτικους παγετούς και στη ξηρασία (Σταυρακάκης, 2009).

1.2 Ο οίνος Αγιωργίτικο

Η ποικιλία Αγιωργίτικο θεωρείται πολυδυναμική, δηλαδή παρουσιάζει περισσότερους του ενός βαθμούς τεχνολογικής ωριμότητας, και ως εκ τούτου η σταφυλική της παραγωγή προσφέρεται για την παρασκευή πολλών τύπων οίνων (ερυθρός ξηρός, ροζέ, ερυθροί οίνοι λικέρ). Είναι μια από τις πιο πλούσιες σε χρώμα ελληνικές ερυθρές ποικιλίες και επιδέχεται παλαιώση, που οδηγεί στην ανάπτυξη ενός πλούσιου μπουκέτου όπου κυριαρχούν αρώματα μπαχαρικών, όπως μοσχοκάρυδο, ή ακόμα και βαλσάμικα αρώματα, όπως δενδρολίβανο. Η συγκέντρωση των ανθοκυανών κυμαίνεται μεταξύ 900-1.000 mg/Kg ραγών, των ολικών φαινολών μεταξύ 2.400-2.500 mg/Kg ραγών, ενώ παρουσιάζει σχετικά μικρό βαθμό ιονισμού, ο οποίος εκφράζει το ποσοστό των μορίων των ανθοκυανών που απαντούν υπό έγχρωμη μορφή (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1981).

1.3 Οι Πολυφαινόλες

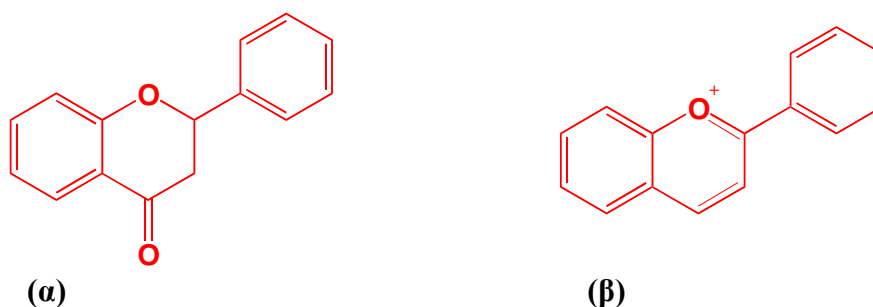
Τα πολυφαινολικά συστατικά αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα κεφάλαια της οινολογίας, καθώς παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξασφάλιση της ποιότητας των οίνων. Συμβάλλουν στη διαμόρφωση του χρώματος, καθορίζουν τους ιδιαίτερους γευστικούς χαρακτήρες, ενώ πολλά φαινολικά παράγωγα υπεισέρχονται και στους αρωματικούς χαρακτήρες. Επιπλέον, τα πολυφαινολικά συστατικά είναι οι κύριοι

υπεύθυνοι για τις θετικές ή αρνητικές μεταβολές της οινικής ποιότητας κατά τις διάφορες φάσεις της παραγωγής, της ωρίμανσης, της συντήρησης και της παλαίωσης των οίνων (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Οι φαινολικές ενώσεις βρίσκονται στις σταφυλές και μάλιστα, το μεγαλύτερο ποσοστό αυτών βρίσκεται στους φλοιούς και στα γίγαρτα. Η παρουσία τους στον οίνο οφείλεται λόγω της εκχύλισης ή διάχυσής τους από τα στέμφυλα κατά την οινοποίηση ή λόγω της εκχύλισής τους από δρύινα βαρέλια. Πολύ μικρές ποσότητές τους, τέλος, σχηματίζονται κατά τον μεταβολισμό των ζυμών (Jacson, 1994). Η εφαρμοζόμενη τεχνική οινοποίησης καθορίζει την εκχύλισή τους και τις μετέπειτα αντιδράσεις των εν λόγω μορίων, συνεισφέροντας έτσι με ουσιαστικό τρόπο στην πολυφαινολική σύσταση των οίνων.

Ο όρος φαινολικές ενώσεις περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό φυτικών συστατικών τα οποία έχουν στο μόριο τους έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο υποκατεστημένο με ένα ή περισσότερα υδροξύλια. Ταξινομούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τις φλαβονοειδείς και τις μη φλαβονοειδείς φαινόλες. Οι πρώτες είναι ουσιαστικά οι πολυμοριακές φαινόλες που προέρχονται από την ίδια μητρική ένωση που είναι η φλαβόνη και διακρίνονται σε δύο μεγάλες ομάδες:

- α) στα παράγωγα της φλαβόνης (κυρίως φλαβονοειδή)
- β) στα παράγωγα του κατιόντος φλαβυλίου (ανθοκυάνες ή ανθοκυανίνες) (Σχ. 1).



Σχ:1 Οι δομές της Φλαβόνης (α) και του κατιόντος φλαβυλίου (β)

Οι μη φλαβονοειδείς φαινόλες είναι ουσιαστικά οι μονομοριακές φαινόλες, όπως το γαλλικό και το καφεϊκό οξύ. (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982, Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Ο όρος πολυφαινόλες περιλαμβάνει επίσης και τα παράγωγα των φαινολικών συστατικών (εστέρες, μεθυλεστέρες, γλυκοζίτες κ.ά.) που προκύπτουν με υποκατάσταση της βασικής τους δομής.

1.3.1 Μη Φλαβονοειδείς Φαινόλες

Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει τα φαινολικά οξέα ή φαινολοξέα, που είναι μονομοριακά φαινολικά παράγωγα και διακρίνονται σε :

- Βενζοϊκά οξέα (απλή μονοκυκλική φαινόλη)
- Κινναμωμικά οξέα (ένας αρωματικός δακτύλιος πάνω στον οποίο είναι συνδεδεμένη μια πλευρική αλυσίδα τριών ανθράκων)
- Στιλβένια.

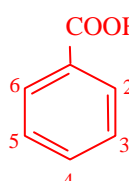
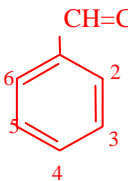
Οι κύριοι εκπρόσωποι της κατηγορίας αυτής στις σταφυλές είναι τα παράγωγα του βενζοϊκού και κινναμωμικού οξέος, των οποίων ένα ή περισσότερα υδρογόνα των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου έχουν αντικατασταθεί με υδροξυλομάδες και μεθόξυ ομάδες (Πίν. 1.1). Τα φαινολοξέα απαντούν στα χυμοτόπια των κυττάρων του φλοιού και της σάρκας των ραγών ως ετεροζίτες ή εστέρες. Έρευνες έδειξαν ότι το κλάσμα των μη φλαβονοειδών φαινολών είναι μεγαλύτερο στη σάρκα παρά στους φλοιούς και ομοίως μεγαλύτερο σε ερυθρές ποικιλίες απ' ότι σε λευκές. Στους ερυθρούς οίνους, η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται μεταξύ 100-200 mg/L, ενώ στους λευκούς μεταξύ 10-20 mg/L (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Τα φαινολικά οξέα μάλιστα, είναι το κυριότερο φαινολικό συστατικό της σάρκας της ράγας (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Τα **βενζοϊκά οξέα** δε βρίσκονται ελεύθερα στη σταφυλή, αλλά με μορφή σύνθετων χημικών ενώσεων στις οποίες συμμετέχουν και ανθοκυάνες. Συμμετέχουν επίσης στη δομή των ταννινών, αποτελώντας ένα από τα κύρια συστατικά τους. Η σταφυλή περιέχει κυρίως το γαλλικό οξύ, το οποίο βρίσκεται συνήθως, υπό τη μορφή εστέρων των 3-φλαβανολών (κατεχίνες). Τα **κινναμωμικά οξέα** δε βρίσκονται επίσης ελεύθερα στη σταφυλή, αλλά απαντώνται υπό μορφή ενώσεων με τις ανθοκυάνες και με το τρυγικό οξύ (Κοτσερίδης, 2005/β).

Στην τρίτη κατηγορία των μη φλαβονοειδών φαινολών ανήκουν τα **στιλβένια**, ενώσεις με δύο βενζολικούς δακτυλίους, οι οποίοι συνδέονται συνήθως με ένα αιθάνιο ή πιθανώς με μια αιθυλενική αλυσίδα. Από τα στιλβένια αξίζει να αναφερθεί η ρεσβερατρόλη (3,5,4-τρι-υδροξυ-στιλβένιο) που βρίσκεται υπό τη μορφή trans, καθώς και το παράγωγό της με τη γλυκόζη. Θεωρείται το σπουδαιότερο στιλβένιο της σταφυλής, καθώς στην εν λόγω ουσία αποδίδονται θεραπευτικές, αντικαρκινικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες, αλλά φαίνεται πως παίζει ρόλο και στην αντίσταση των

σταφυλών στην προσβολή τους από κρυπτογαμικές ασθένειες, όπως π.χ. ο *Botrytis cinerea*. Η ρεσβερατρόλη βρίσκεται μόνο στους φλοιούς της σταφυλής, συνεπώς μόνο σε ερυθρούς οίνους και εκχυλίζεται κυρίως κατά την αλκοολική τους ζύμωση σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 1 έως 3 mg/L, ανάλογα την ποικιλία (Κοτσερίδης, 2005/β, Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Πίν.: 1.1 Τα κυριότερα φαινολοξέα των σταφυλών
(Πηγή: Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982)

βασικό οξύ	βασικός τύπος	ονομασία φαινολοξέων	θέση πρόσθετων ομάδων	
			- OH	- OCH ₃
Βενζοϊκό		σαλικυλικό οξύ	2	
		π-υδροξυβενζοϊκό οξύ	4	
		γαλλικό οξύ	3, 4, 5	
		πρωτοκατεχινικό οξύ	3, 4	
		βανιλικό οξύ	4	3
		συριγγικό οξύ	4	3, 5
		γεντισικό οξύ	2, 5	
Κινναμωμικό		π-κουμαρικό οξύ	4	
		καφεϊκό οξύ	3, 4	
		χλωρογενικό οξύ	3, 4	
		φερουλικό οξύ	4	3

1.3.2 Φλαβονοειδείς Φαινόλες

Τα φλαβονοειδή χαρακτηρίζονται από ένα βασικό σκελετό με 15 άτομα άνθρακα του τύπου της φλαβόνης. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται οι φλαβονόλες, οι φλαβανόνες, οι φλαβανονόλες, οι κατεχίνες, οι προκυανιδίνες, οι ανθοκυάνες και τα πολυμερισμένα τους παράγωγα, οι ταννίνες (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982, Κοτσερίδης, 2005/β).

1.3.2.1 Φλαβονόλες

Οι φλαβονόλες απαντούν μόνο στους φλοιούς των ραγών, τόσο των ερυθρών όσο και των λευκών σταφυλών, υπό μορφή γλυκοζιτών στη θέση 3 ή μονογλυκουρονοζιτών-3. Σχηματίζονται με την προσκόλληση στη θέση -3 του κεντρικού δακτυλίου (βενζοπυρόνη) ενός μορίου μονοζαχαρίτη (κυρίως γλυκόζης) ή ενός μορίου γλυκουρονικού οξέος. Αποτελούν τις κίτρινες χρωστικές των φυτών. Στον Πίν. παρουσιάζεται ο χημικός τύπος της άγλυκης μορφής των τεσσάρων βασικών φλαβονολών της σταφυλής (Κουράκου-Δραγώνα, 1998, Κοτσερίδης, 2005/β).

Τόσο οι λευκές όσο και οι ερυθρές ποικιλίες αμπέλου περιέχουν τις ίδιες ποσότητες φλαβονολών, διαφέρουν όμως στην ποιοτική τους σύσταση (Κοτσερίδης, 2005/β). Η περιεκτικότητα των φλαβονολών στις σταφυλές ποικίλει από 10–100 mg/Kg ραγών. Στους λευκούς οίνους, λόγω της απουσίας φλοιών κατά την οινοποίηση, απαντούν στην ποσότητα των 1-3 mg/L ανάλογα με την ποικιλία της σταφυλής (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

1.3.2.2 Φλαβανόνες

Οι φλαβανόνες διαφέρουν από τις φλαβονόλες κυρίως λόγω της απουσίας του δραστικού -OH στη θέση 3. Στον Πίν.1.2 παρουσιάζονται οι δύο σημαντικότερες. Οι φλαβανόνες είναι ελάχιστα διαδεδομένες στη φύση και τα παράγωγά τους δεν είναι συστατικά των σταφυλών, αλλά ανήκουν στα φαινολικά συστατικά του ξύλου της δρυός. Επομένως, η παρουσία τους έχει διαπιστωθεί μόνο σε οίνους που παλαιώσαν σε δρύινα βαρέλια. (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

1.3.2.3 Φλαβανονόλες

Οι ενώσεις που ανήκουν στην οικογένεια των φλαβανονολών είναι γλυκοζίτες και ταυτοποιήθηκαν σε φλοιούς λευκών ποικιλιών. Πρόκειται για τη διυδροκερκετίνη και τη διυδροκαμφερόλη και έχουν πολύ ανοιχτό κίτρινο χρώμα. Οι φλαβανονόλες απαντούν επίσης και στους βοστρύχους (Κοτσερίδης, 2005/β).

1.3.2.4 Κατεχίνες

Το σύνολο των φυσικών ουσιών που έχουν τη δομή της 3-φλαβανόλης με δύο -OH στον πλευρικό πυρήνα, είναι γνωστές ως κατεχίνες. Οι ενώσεις αυτές έχουν δύο ασύμμετρα άτομα άνθρακα στις θέσεις 2 και 3 και επομένως παρουσιάζουν τέσσερις

οπτικώς ισομερείς μορφές, την (+) και (-) κατεχίνη και την (+) και (-) επικατεχίνη. Όλες οι μορφές είναι γνωστές στη φύση, αλλά στις σταφυλές και στους οίνους, απαντούν κυρίως η (+) κατεχίνη και η (-) επικατεχίνη. Οι κατεχίνες απαντούν κυρίως στους φλοιούς και στα γίγαρτα των ραγών. Στους λευκούς οίνους η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται μεταξύ 10-50 mg/L, ενώ στους ερυθρούς μπορεί να φθάσει 200 mg/L (Zoecklein et al., 1995).

1.3.2.5 Προκυανιδίνες

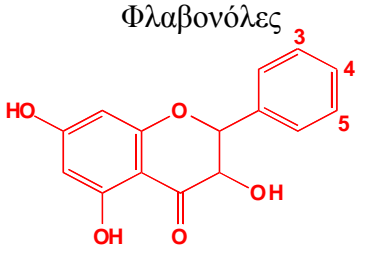
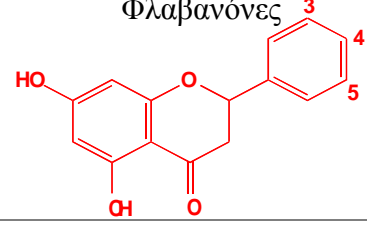
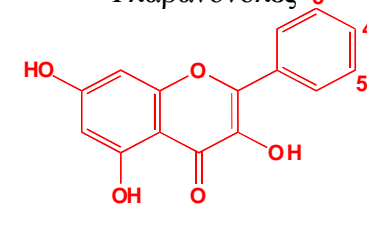
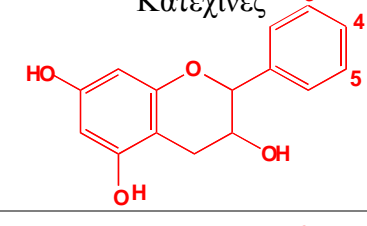
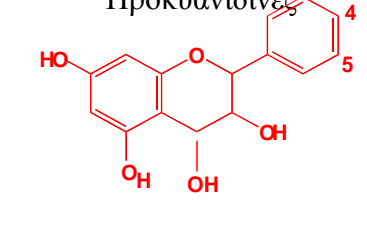
Από το 1910, ο Laborde επισήμανε την παρουσία άχρωων ουσιών στις σταφυλές και τους οίνους, οι οποίες μετατρέπονται σε ανθοκυάνες με θέρμανση σε όξινο περιβάλλον. Γι' αυτό και τις ονόμασε λευκοανθοκυάνες. Αργότερα, καθορίστηκε η δομή τους και αποδείχθηκε ότι πρόκειται για τις 3,4-φλαβανοδιόλες, οι οποίες είναι αφυδρογονωμένες κατεχίνες (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982). Επικράτησε για τις ουσίες αυτές ο όρος προκυανιδίνη, λόγω του σχηματισμού κυανιδίνης. Οι αφυδρογονώσεις μπορούν να συνεχισθούν με συνενώσεις περισσότερων μορίων προς σχηματισμό συμπυκνωμένων προκυανιδινών. Τα μόρια της κατεχίνης έχουν την τάση να ενώνονται μεταξύ τους ή με μόρια της επικατεχίνης προς διμερείς προκυανιδίνες, οι οποίες με τη σειρά τους ενώνονται προς μεγαλύτερα μόρια. (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Οι ενώσεις αυτές απαντούν στους φλοιούς, κυρίως όμως στα γίγαρτα των ραγών. Κατά την ωρίμανση και παλαίωση των οίνων, οι προκυανιδίνες ενώνονται μεταξύ τους, καθώς και με άλλα μόρια, προς σχηματισμό πολυμερών μεγαλύτερου μοριακού βάρους (2000-3000), που αντιστοιχούν στις συμπυκνωμένες ταννίνες (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982, Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Αντίθετα από τις ανθοκυάνες και φλαβονόλες, δεν έχουν τη μορφή γλυκοζιτών, μπορούν όμως να ενωθούν με πολυσακχαρίτες των σταφυλών και να εκχυλιστούν ως σύμπλοκα κατά την οινοποίηση (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Από έρευνες που έγιναν σχετικά με την παρουσία κατεχινών και προκυανιδινών σε σταφυλές, διαπιστώθηκε ότι από όλα τα μέρη της σταφυλής, τα γίγαρτα είναι αυτά που περιέχουν τις περισσότερες κατεχίνες (Μ.Ο. 65%) και προκυανιδίνες (Μ.Ο. 56%). Οι βόστρυχοι και οι φλοιοί δεν παρουσιάζουν μεταξύ τους μεγάλες διαφορές από πλευράς μέσων όρων (περίπου 20% και για τις κατεχίνες και για τις προκυανιδίνες), ενώ ο χυμός είναι απαλλαγμένος αυτών των ουσιών. Επομένως, είναι φανερό ότι οι πρόδρομοι των συμπυκνωμένων ταννινών που

διαμορφώνουν τη δομή και το 'σώμα' των ερυθρών οίνων και καθορίζουν την αντοχή τους στο χρόνο, βρίσκονται στα γίγαρτα (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Πίν.: 1.2 Οι φλαβονοειδείς φαινόλες της σταφυλής
(Πηγή: Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982)

βασική ένωση	βασικός τύπος	άγλυκο φαινολικό παράγωγο	θέση πρόσθετων ομάδων	
			- OH	- OCH ₃
 <p>Φλαβονόλες</p>		καμφερόλη	4	
		κερκετίνη	3, 4	
		μυρικετίνη	3, 4, 5	
		ισοραμνετόλη	4	3
 <p>Φλαβανόνες</p>		Ναριγγενίνη	4	
		Εσπεριτίνη	3	4
 <p>Φλαβανονόλες</p>		διυδροκαμφερόλη	4	
		διυδροκερκετίνη	3, 4	
 <p>Κατεχίνες</p>		κατεχίνη	3, 4	
		γαλλοκατεχίνη	3, 4, 5	
 <p>Προκυανιδίνες</p>		προκυανιδίνη	3, 4	
		προδελφινιδίνη	3, 4, 5	
		προμαλβιδίνη	4	3, 5
		προπετουνιδίνη	4, 5	3

Οι κατεχίνες και οι προκυανιδίνες που απαντούν στα διάφορα μέρη της σταφυλής δεν έχουν την ίδια σύσταση. Έτσι, οι βόστρυχοι περιέχουν σχεδόν αποκλειστικά (+) κατεχίνη, και ενώ δεν είναι πλούσιοι σε προκυανιδίνες, επικρατούν οι ακυλωμένες προκυανιδίνες, που αντιπροσωπεύουν 50-74% των ολικών προκυανιδινών των βοστρύχων και είναι υπεύθυνες για τη στυφή γεύση τους. Στα γίγαρτα η (-) επικατεχίνη συναγωνίζεται σε μεγάλο βαθμό την (+) κατεχίνη και είναι το πλουσιότερο στερεό μέρος της σταφυλής σε προκυανιδίνες. Στους φλοιούς βρίσκεται σε υψηλό ποσοστό η (+) κατεχίνη, διμερείς προκυανιδίνες, καθώς και τριμερή και τετραμερή παράγωγά τους, που σε ορισμένες ποικιλίες αντιπροσωπεύουν υψηλό ποσοστό της ολικής περιεκτικότητας σε προκυανιδίνες (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

1.3.2.6 Ταννίνες

Οι ταννίνες απαντούν στα στερεά μέρη της σταφυλής (γίγαρτα μέχρι 65%, βόστρυχοι μέχρι 22%, φλοιοί μέχρι 12% και σάρκα μόλις 1%) και από χημική άποψη είναι μεγαλομόρια με φαινολικό δακτύλιο, που προκύπτουν από τον πολυμερισμό στοιχειωδών μορίων με φαινολική ομάδα. Είναι ουσίες ικανές να δώσουν σταθερές ενώσεις με πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Για να δώσουν σταθερές ενώσεις με τις πρωτεΐνες θα πρέπει να είναι ογκώδεις όχι όμως υπερβολικά, γιατί σ' αυτή την περίπτωση ενδέχεται να μη μπορούν να ενωθούν με τις δραστικές θέσεις των πρωτεϊνών. Τα M.B. των δραστικών ταννινών κυμαίνονται από 600 έως 3.500 (Ribéreau-Gayon et al., 2000, Κοτσερίδης, 2005/β).

Στις ταννίνες των σταφυλών γίνεται διαχωρισμός μεταξύ των ταννινών των γιγάρτων και του φλοιού. Στο φλοιό οι ταννίνες είτε εντοπίζονται στα χυμοτόπια, σχηματίζοντας πυκνά συμπλέγματα στα κύτταρα που είναι κοντά στην επιδερμίδα, είτε είναι ισχυρά συνδεδεμένες με την πρωτεΐνο-φωσφολιπιδική μεμβράνη, είτε είναι ενωμένες με το κυτταρικό τοίχωμα. Στα γίγαρτα βρίσκονται στην εφυμενίδα και στον κερατοειδή ιστό του κελύφους και αποδεσμεύονται στο περιβάλλον μόνο όταν η επιδερμίδα γίνει διαλυτή (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Ανάλογα με τη φύση της βασικής μονάδας, οι ταννίνες διακρίνονται σε συμπυκνωμένες (ή ταννίνες της κατεχίνης) και σε υδρολυόμενες (ή ταννίνες του γαλλικού οξέος). Η μεγάλη διαφοροποίηση στη δομή των ενώσεων – διμερείς, τριμερείς, ολιγομερείς, συμπυκνωμένες – εξηγεί την παρουσία, στις σταφυλές των διαφόρων ποικιλιών και στους αντίστοιχους οίνους, ταννινών με διαφορετικές

ιδιότητες, ιδίως γευστικές. Η θέρμανση των ταννινών σε όξινο περιβάλλον οδηγεί στο σχηματισμό κυρίως ερυθρής κυανιδίνης, αποδίδοντάς τους τον όρο προκυανιδίνες (Κοτσερίδης, 2005/β).

Οι **υδρολυόμενες ταννίνες** αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου, κυρίως γλυκόζη, πάνω στο οποίο προσκολλώνται διάφορες φαιολικές ενώσεις, κυρίως γαλλικό και ελλαγικό οξύ. Αναφέρονται συχνά και σαν γαλλοταννίνες ή ελλαγικές ταννίνες. Δεν περιέχονται στη σταφυλή, αλλά βρίσκονται στους οίνους, καθώς αποτελούν τις κύριες εμπορικές ταννίνες που χρησιμοποιούνται στις διάφορες κατεργασίες τους και αφθονούν στο ξύλο της δρυός (Σουφλερός, 2000/α). Η σύνθεση γενικά των ελλαγικών ταννινών που εκχυλίζονται από το ξύλο εξαρτάται από τα είδη βελανιδιάς. Στα είδη της ευρωπαϊκής βελανιδιάς υπάρχουν τέσσερα μονομερή και τέσσερα διμερή ελλαγικών ταννινών, ενώ στο αμερικάνικο είδος δεν ανιχνεύονται διμερή (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Οι **συμπυκνωμένες ταννίνες** είναι οι φυσικές ταννίνες της σταφυλής, που απαντώνται σε όλα τα στερεά μέρη της και προέρχονται από τον πολυμερισμό της 3-φλαβανόλης (κατεχίνης). Η περιεκτικότητα ενός ερυθρού οίνου σε ταννίνες εξαρτάται από την ποικιλία και τις συνθήκες οινοποίησης και κυμαίνεται μεταξύ των 1-4 g/L. Στην περίπτωση των λευκών οίνων επηρεάζεται από την ένταση της απολάσπωσης και είναι της τάξης των 100 mg/L ή 200-300 mg/L σε μη απολασπώμενα γλεύκη (Ribéreau-Gayon et al., 2000, Κοτσερίδης, 2005/β).

Οι συμπυκνωμένες ταννίνες αποτελούν ουσιαστικά το 'σώμα' του οίνου. Αντιπροσωπεύουν το 30-60 % των ολικών φαιολικών παραγώγων και το ποσοστό τους αυξάνεται με την ηλικία του οίνου. Οι αλυσίδες τους σχηματίζουν ένα είδος σκελετού, στον οποίο προστίθενται και άλλα μόρια, όπως πολυσακχαρίτες, ανόργανα στοιχεία ή μόρια νερού (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Τα χαρακτηριστικά των ταννινών είναι επομένως το M.B., ο αριθμός και το είδος των πολυμερών. Η ομάδα έρευνας του Ribéreau-Gayon (2000), ταυτοποίησε τους διαφορετικούς τύπους των ταννινών στους φλοιούς, στα γίγαρτα και στους βοστρύχους για διάφορες ποικιλίες και για τα τρία στάδια ανάπτυξης της ράγας. Βρέθηκε ότι οι ταννίνες των γιγάρτων είναι προκυανιδίνες με σχετικά μικρό βαθμό πολυμερισμού στο στάδιο του περκασμού, που αυξάνεται κατά την πορεία ωρίμανσης και είναι χαρακτηριστικές για την έντονη στυπτικότητα τους. Οι ταννίνες των φλοιών έχουν πιο πολύπλοκη δομή και η μεταβολή του βαθμού πολυμερισμού είναι μικρή.

Είναι στην πλειονότητά τους διμερείς και τριμερείς προκυανιδίνες και κατά την πορεία ωρίμανσης βαθμιαία απενεργοποιούνται με πρωτεΐνες, χάνοντας την στυπτικότητα και επιθετικότητά τους. Βρέθηκαν επίσης, αξιοσημείωτες συγκεντρώσεις συμπλοκών ταννινών – πολυσακχαριτών και ταννινών – πρωτεϊνών που δίνουν την αίσθηση της στρογγυλότητας, ενώ ο συνδυασμός ανθοκυανών και ταννινών τους δίνει μια ιδιαίτερη πικράδα. Οι ταννίνες των βοστρύχων είναι πολυμερισμένες προκυανιδίνες με παρόμοια συμπεριφορά των ταννινών των γιγάρτων και παρόμοιας έντονης στυπτικότητας.

1.3.2.7 Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες αποτελούν ίσως τη σημαντικότερη κατηγορία των φαινολικών συστατικών της σταφυλής, καθώς είναι οι ερυθρές χρωστικές στις οποίες οφείλουν το πορφυρό, ερυθρό, πορτοκαλί, κυανό ή ιώδες χρώμα τους. Απαντούν μόνο στο φλοιό των ραγών των cv *vinifera*, πλην των ‘βαφικών ποικιλιών’ στις οποίες βρίσκονται στη σάρκα των ραγών (π.χ. *Alicante bouschet*) ή ορισμένων ραγών σε στάδιο υπερωρίμανσης, λόγω γήρανσης κυττάρων και διάχυσης χρωστικών στη σάρκα. Είναι επίσης παρούσες στα φύλλα, κυρίως κατά το τέλος της περιόδου ανάπτυξης, όπου και χρωματίζονται ερυθρά. Στις περισσότερες λευκές ποικιλίες, οι ανθοκυάνες απουσιάζουν τελείως (π.χ. *Sauvignon blanc*, *Chardonnay*), ενώ σε ορισμένες απαντούν σε ίχνη (π.χ. *Pinot blanc*, *Ugni blanc*) (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Από τον ποσοτικό προσδιορισμό των ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς των πιο διαδεδομένων ελληνικών ερυθρών ποικιλιών, προέκυψε ότι αυτές κυμαίνονται από 100 mg μέχρι 1.500 mg/Kg ραγών (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Οι ανθοκυάνες αρχίζουν να εμφανίζονται στο στάδιο του περκασμού. Τη στιγμή αυτή, οι πράσινοι καρποί χάνουν τη χλωροφύλλη και αρχίζουν να χρωματίζονται. Καθώς οι σταφυλές ωριμάζουν καταλαμβάνουν αυξανόμενο χώρο στο κυτόπλασμα. Η συγκέντρωση των ανθοκυανών παρουσιάζει μια θετική μεταβολή από το εξωτερικό προς το εσωτερικό μέρος της ράγας, καθώς τα γειτονικά κύτταρα της σάρκας είναι περισσότερο χρωματισμένα από αυτά της επιδερμίδας (Amrani-Joutei and Glories, 1995).

Οι ανθοκυάνες είναι ετεροζίτες, των οποίων το άγλυκο μέρος είναι υδροξυλιωμένο και μεθυλιωμένο παράγωγο του φαινυλ-2-βενζοπυρυλίου και το σάκχαρο είναι πάντα αλδόζη, κυρίως, γλυκόζη (ενίοτε αραβινόζη, ραμνόζη, γαλακτόζη, ξυλόζη). Στα σταφύλια και στους οίνους απαντούν ανάλογα με την

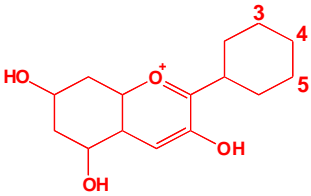
υποκατάσταση του πλευρικού δακτυλίου, πέντε είδη ανθοκυανών (Πίν. 1.3) (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Αυτά τα μόρια είναι πολύ πιο σταθερά υπό μορφή γλυκοζιτών (ανθοκυάνες) από ότι υπό μορφή άγλυκου (ανθοκυανιδίνες), ώστε τα τελευταία να μην απαντούν ελεύθερα στη φύση. Οι ανθοκυανιδίνες διαφέρουν μεταξύ τους μόνο ως προς τον αριθμό των –OH και –CH₃ που υπεισέρχονται στον πλευρικό δακτύλιο. Ο αριθμός αυτός επηρεάζει τόσο τη σταθερότητα της ανθοκυάνης όσο και το χρώμα της (Κουράκου-Δραγώνα, 1998, Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Από τις ανθοκυανιδίνες, η πιο διαδεδομένη στη φύση είναι η κυανιδίνη, παρ' όλο που είναι, όπως και η δελφινιδίνη, ασταθής λόγω φαινολικών –OH σε ο-θέση. Η μαλβιδίνη επικρατεί σε ποσοστό που ανάλογα με την ποικιλία κυμαίνεται από 50% (Sangiovese) μέχρι 90% (Grenache) (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Δικαιολογημένα λοιπόν θεωρείται η βάση του χρώματος των ερυθρών σταφυλιών και οίνων.

Στις σταφυλές των ποικιλιών *Vinifera* βρίσκονται μόνο μονογλυκοζίτες των ανθοκυανιδινών,. Αντίθετα, σε είδη και ποικιλίες των διαφόρων γενών της βορειο-αμερικανικής ηπείρου, όπως τα είδη *Vitis riparia* και *Vitis rupestris*, οι παραπάνω ενώσεις απαντούν ως διγλυκοζίτες. Η προσκόλληση του σακχάρου γίνεται στη θέση 3 του μορίου της ανθοκυανιδίνης ή για την περίπτωση των διγλυκοζιτών στις θέσεις 3 και 5 (Κουράκου-Δραγώνα, 1998, Σουφλερός, 2000/α). Η παρουσία των διγλυκοζιτών σε οίνους αποκαλύπτει και την προέλευσή τους (ευρωπαϊκές ποικιλίες ή διάφορα υβρίδια). Από τις ελληνικές ποικιλίες αμπέλου έχει αναφερθεί η παρουσία διγλυκοζιτών μόνο στη cv Κολλινιατικό (Σταυρακάκης, 1999).

Πίν.: 1.3 Οι ανθοκυανιδίνες της σταφυλής

(Πηγή: Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982)

βασική ένωση	βασικός τύπος	άγλυκο φαινολικό παράγωγο	θέση πρόσθετων ομάδων		
			- OH	- OCH ₃	
		κυανιδίνη	3		
		δελφινιδίνη	3, 5		
		μαλβιδίνη		3, 5	
		πετουνιδίνη	5	3	
		παιονιδίνη		3	

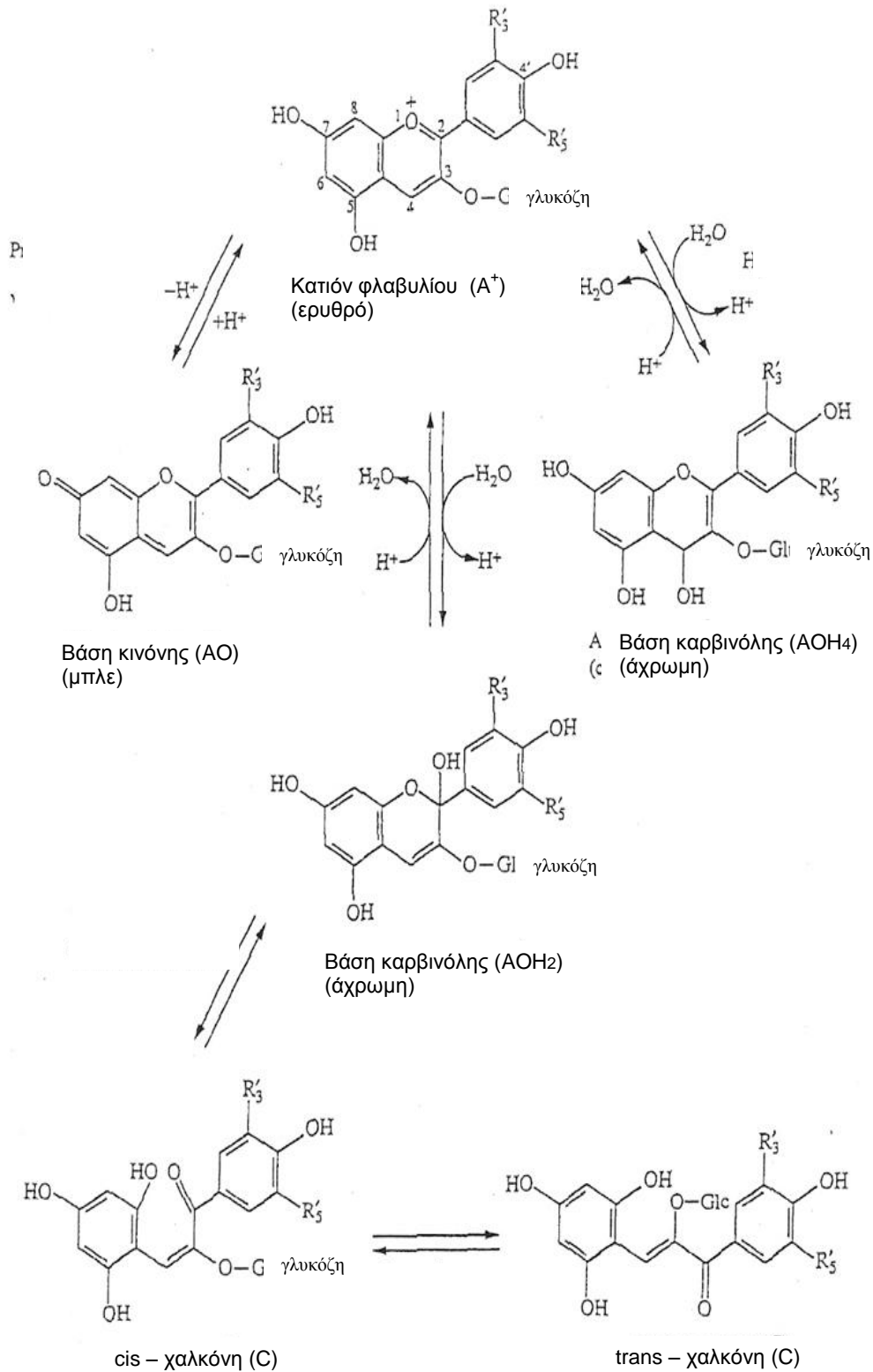
Κατά τα τελευταία στάδια ωρίμανσης της σταφυλής, σχηματίζονται και οι ακυλιωμένες μορφές των ανθοκυάνων, που είναι αρκετά διαδεδομένες στη φύση. Σε αυτές τις χρωστικές, το –OH της θέσης 6 του σακχάρου, είναι εστεροποιημένο με ένα οργανικό οξύ της αλειφατικής σειράς (π.χ. οξικό οξύ) ή της αρωματικής (π.χ. π-κουμαρικό οξύ, καφεϊκό οξύ). Συνήθως στις ελληνικές ερυθρές ποικιλίες αμπέλου είναι η παρουσία του μονογλυκοζίτη-3 της μαλβιδίνης, ακυλιωμένου με οξικό οξύ, κυρίως όμως με π-κουμαρικό οξύ (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Συγκεκριμένα για την ποικιλία Αγιωργίτικο απαντώνται και οι δύο ακυλιωμένες μορφές της μαλβιδίνης (Kallithraka et al., 2006).

Οι ελεύθερες ανθοκυάνες απαντούν στα χυμοτόπια με τέσσερις διαφορετικές μορφές που βρίσκονται σε ισορροπία μεταξύ τους (Σχ. 1.2).

Οι μορφές αυτές διακρίνονται σε:

- κατιόντα του φλαβυλίου με ερυθρό χρώμα (A⁺)
- άνυδρες βάσεις, χρώματος ιώδους (AO)
- άχρωμες ψευδοβάσεις (AOH)
- χαλκόνες, πολύ ανοιχτού κίτρινου χρώματος (C)

Κάθε ένα από τα παραπάνω μοριακά είδη έχει έναν αριθμό ταυτομερών μορφών στις οποίες μετατρέπεται ταχέως. Επιπλέον, οι χαλκόνες εμφανίζονται είτε με την –cis είτε με την –trans μορφή, κάτι που δημιουργεί ακόμη μεγαλύτερη πολυπλοκότητα (Ribéreau-Gayon et al., 2000).



Σχ. 1.2 Ισορροπία ανάμεσα στις διαφορετικές μορφές των ελεύθερων ανθοκυανών : (Πηγή: Ribéreau-Gayon et al., 2000).

1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τη σύνθεση των πολυφαινολικών συστατικών

Είναι σημαντικό για παραγωγή προϊόντων, σταφυλών και κυρίως οίνων, να καθορίζεται το φαινολικό δυναμικό των σταφυλών. Μια ώριμη, καλής ποιότητας σταφυλή χαρακτηρίζεται από φλοιούς πλούσιους σε ανθοκυάνες και ταννίνες με πολύπλοκη δομή και σχετικά ανενεργές με τα άλλα συστατικά, με μεγάλο βαθμό εκχυλισματικότητας, και από γίγαρτα με μικρό ποσοστό πολυμερισμένων ταννινών που αντιδρούν ισχυρά με πρωτεΐνες.

Γενικά, η αναλογία των φαινολικών συστατικών της ράγας και κατ' επέκταση του οίνου, εξαρτάται από την ποικιλία, το βαθμό ωριμότητας της σταφυλής, τις εδαφο-κλιματικές συνθήκες, τις καλλιεργητικές τεχνικές, αλλά και την τεχνική οινοποίησης (Arozarena et al., 2000).

1.4.1 Ποικιλία

Ο χρόνος ωρίμανσης των σταφυλών, καθώς και η ποιότητα και η σύσταση αυτών, αλλά και του παραγόμενου οίνου, εξαρτώνται σημαντικά από την ποικιλία της σταφυλής και ειδικότερα από τον καλλιεργούμενο κλώνο. Έτσι, οι επιμέρους χαρακτήρες ποιότητας θα προσδιορίζονταν ακριβέστερα αν αναφέρονταν σε κάθε συγκεκριμένο κλώνο. Μέχρι σήμερα όμως, δεν έχει πραγματοποιηθεί κλωνική επιλογή.

Σε γενικές γραμμές, η περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών είναι μεγαλύτερο σε ερυθρές ποικιλίες απ' ότι σε λευκές. Όσον αφορά τις φλαβονόλες, από ποικιλία σε ποικιλία διαφέρει η ποσοτική και η ποιοτική τους σύσταση (Andrade et al., 2001), για παράδειγμα η μυρικετίνη απαντά μόνο στις ερυθρές ποικιλίες. Η συγκέντρωση επίσης, των κατεχινών και προκυανιδινών διαφέρει σημαντικά, με ιδιαίτερα πλούσιες τις ποικιλίες με μεγάλο ποσοστό γιγάρτων λόγω μικρών ραγών, όπως το Pinot noir ή με μεγάλο αριθμό γιγάρτων ανά ράγα σταφυλών, όπως το Ξινόμαυρο (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Κάθε ποικιλία χαρακτηρίζεται από τον ανθοκυανικό της πλούτο, αλλά και από το ποσοστό και το είδος των πολυμερισμένων ταννινών, καθώς ο βαθμός πολυμερισμού εξαρτάται από την ποικιλία της σταφυλής. (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Άλλες ποικιλίες έχουν μία φυσική χαμηλή συγκέντρωση (Cabernet Sauvignon) και άλλες χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα ταννινών (Cabernet Franc, Pinot noir) (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Για παράδειγμα, το Αγιωργίτικο, η

Μανδηλαριά και η Μαυροδάφνη χαρακτηρίζονται από έντονο χρώμα και ως πλούσιες ανθοκυανικά ερυθρές ποικιλίες, ενώ από λευκές ποικιλίες το Ασύρτικο και η Βηλάνα παρουσιάζουν μεγάλη περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες σε σχέση με το Σαββατιανό και το Sauvignon blanc (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982).

1.4.2 Βαθμός ωριμότητας

Σημαντικό ρόλο στη φαινολική σύσταση παίζει και ο βαθμός ωριμότητας των σταφυλών. Αρχικά, λαμβάνει χώρα συσσώρευση φαινολικών συστατικών μέχρι ενός βαθμού ωριμότητας χαρακτηριστικού της κάθε ποικιλίας. Ακολουθεί μία περίοδος στασιμότητας και εν συνεχεία, αρχίζει να μειώνεται η περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες, ενώ η ποσότητα των ολικών φαινολών ουσιαστικά δε μεταβάλλεται. Η συγκέντρωση των ταννινών του φλοιού ακολουθεί ίδια πορεία με αυτή των ανθοκυανών, αλλά ξεκινά από υψηλότερη συγκέντρωση στην περίοδο του περκασμού, ενώ την ίδια περίοδο, η συγκέντρωση των ταννινών των γιγάρτων φθάνει σε μέγιστη τιμή και εν συνεχεία μειώνεται φθάνοντας μια σταθερή τιμή (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982, Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Συγκεκριμένα για τις ταννίνες, ο βαθμός ωριμότητας των σταφυλών επηρεάζει σημαντικά και το βαθμό πολυμερισμού τους, που είναι υπεύθυνος για το σχηματισμό διαφόρων ενώσεων, τη διαφοροποίηση του χρώματος και τη στυφή τους γεύση. Καθώς η σταφυλή ωριμάζει ο βαθμός πολυμερισμού αυξάνεται. Για το λόγο αυτό οι άωρες σταφυλές είναι ιδιαίτερα στυφές σε σχέση με τις ώριμες (Σταυρακάκης, 1999).

Σταφυλές με μη καλή ωριμότητα, έχουν χαμηλή τιμή εκχυλισματικότητας ανθοκυανών και προκυανιδινών των φλοιών και υψηλή τιμή εκχυλισματικότητας προκυανιδινών των γιγάρτων. Έτσι, οίνοι από μη ώριμες σταφυλές είναι ιδιαίτερα στυφοί (Del Laudy et al., 2008). Από την άλλη, ο βαθμός ωριμότητας επηρεάζει σημαντικά και την ένταση του χρώματος του παραγόμενου οίνου και τις αποχρώσεις του (Pérez-Magariño and González-San José, 2006).

Επίσης, η υγιεινή κατάσταση των σταφυλών επηρεάζει σε πολύ μεγάλο βαθμό την περιεκτικότητα των οίνων σε ανθοκυάνες και ειδικότερα τη σταθερότητα του χρώματος. Είναι γνωστό ότι από σάπιες σταφυλές λαμβάνονται ερυθροί οίνοι, φτωχοί σε χρώμα και ολικές φαινόλες και χαρακτηρίζονται από έντονα καφέ απόχρωση (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982).

1.4.3 Κλιματικές συνθήκες

Η εξέλιξη της σύνθεσης των ανθοκυανών και των ταννινών των σταφυλών επηρεάζεται σε πολύ σημαντικό βαθμό από τις κλιματικές συνθήκες, όχι μόνο αυτές που διαμορφώνουν το μεσοκλίμα της περιοχής, αλλά κυρίως, αυτές που καθορίζουν το μικροκλίμα του αμπελώνα της κάθε χρονιάς. Οι κλιματικές συνθήκες φαίνεται να είναι ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει την κατάσταση του φλοιού της ράγας και επομένως, το συντελεστή εκχυλισματικότητας ανθοκυανών των ραγών, που ουσιαστικά αντικατοπτρίζει την ικανότητα των ραγών να κατακρατούν τις ανθοκυάνες και να μην τις διαχέουν στο γλεύκος. Ο συντελεστής εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών παρουσιάζει διαφορετικές τιμές από το ένα έτος στο άλλο για τους ίδιους αμπελώνες και λαμβάνει μεγαλύτερες τιμές όταν οι σταφυλές είναι φτωχότερες σε ανθοκυάνες (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Οι παράμετροι του κλίματος που ενδιαφέρουν περισσότερο είναι η ηλιακή ακτινοβολία, η θερμοκρασία και η υγρασία, και είναι αυτές που συμβάλλουν στον καθορισμό των *millesimes* (χρονιές με εξαιρετική ποιότητα πρώτης ύλης). Αυτοί οι παράγοντες σε συνδυασμό με το έδαφος και το υψόμετρο στο οποίο βρίσκεται ο αμπελώνας καθορίζουν το μικροκλίμα του αμπελώνα και παίζουν σημαντικότατο ρόλο στην πορεία ωρίμανσης των ραγών και στη σύσταση των φαινολικών συστατικών τους (Koundouras et al., 2006).

1.4.4 Καλλιεργητικές τεχνικές

Οι καλλιεργητικές τεχνικές επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό, θετικά ή αρνητικά τη σύνθεση των φαινολικών συστατικών. Άλλωστε, το σχήμα μόρφωσης και το μέγεθος της φυλλικής επιφάνειας των πρέμων, καθώς και η κατεύθυνση και οι αποστάσεις των γραμμών φύτευσης επηρεάζουν σημαντικά την πρόσληψη της ηλιακής ακτινοβολίας από τον αμπελώνα.

Επίσης είναι γνωστό, πως η ποιότητα των ερυθρών σταφυλών συνδυάζεται με χαμηλές στρεμματικές αποδόσεις. Μεγάλες στρεμματικές αποδόσεις έχουν ως αποτέλεσμα, τη μείωση των σακχάρων των σταφυλών και τη μείωση των κατεχινών και προκυανιδινών (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Έτσι, η αύξηση της απόδοσης και της ζωηρότητας έχει ως αποτέλεσμα η ωρίμανση να καθυστερεί και οι παραγόμενες σταφυλές να έχουν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες και ταννίνες (Σταυρακάκης, 1999). Σημαντικό ρόλο επομένως, στη φαινολική σύσταση παίζει το

χειμωνιάτικο κλάδεμα, τα χλωρά κλαδέματα, η λίπανση, η άρδευση αλλά και η επιλογή του υποκειμένου και του συστήματος μόρφωσης.

1.4.5 Τεχνική οινοποίησης

Είναι λογικό διαφορετικές οινοποιήσεις της ίδιας ποικιλίας της ίδιας σοδειάς, να επιφέρουν διαφορετικά αποτελέσματα ως προς τη σύσταση των φαινολικών συστατικών στο τελικό προϊόν.

1.5 Άρδευση

Το νερό είναι από τους πλέον βασικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των πρέμων, αφού είναι το μέσον με το οποίο τα θρεπτικά στοιχεία εισέρχονται δια των ριζών στα φυτικά όργανα. Τα πρέμνα έχουν ανάγκη ορισμένης ποσότητας νερού σε καθορισμένες περιόδους κατά τον ετήσιο κύκλο βλάστησης. Η κατάσταση του νερού στο πρέμνο επηρεάζει την σύσταση της ράγας (Roby et al., 2004).

Η εφαρμογή άρδευσης επιδρά με άμεσο και έμμεσο τρόπο στην φυσιολογία του πρέμνου και εξαρτάται από τη σχέση φυλλική επιφάνει προς βάρος ραγών (Lakso et al., 1992). Κατά άμεσο τρόπο επιδρά, επηρεάζοντας την ανάπτυξη και την πυκνότητα του φυλλώματος του πρέμνου μεταβάλλοντας έτσι τα χαρακτηριστικά του μικροκλίματος. Ο έμμεσος τρόπος έχει θετικά αποτελέσματα στην συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών λόγω της μείωσης του βάρους των ραγών ενώ η άμεση επίδραση στην βιοσύνθεση των φαινολικών μπορεί να είναι είτε θετική είτε αρνητική ανάλογα με τον τύπο του φαινολικού συστατικού, την περίοδο ποτίσματος και το βαθμό του υδατικού ελλείμματος (Esteban et al., 2001, Ojeda et al., 2002).

Η υπερβολική άρδευση οδηγεί στην ανάπτυξη πλούσιας κόμης με αποτέλεσμα να δημιουργείται σκίαση στα σταφύλια, διαταράσσοντας τη λειτουργία της βιοσύνθεσης των ανθοκυανών, με συνέπεια τη μείωση του χρώματος των ραγών (Esteban et al., 2001, Ojeda et al. 2002). Εφαρμογή υπερβολικής άρδευσης λίγο πριν τον τρυγητό οδηγεί σε αραίωση των διαλυτών συστατικών (σάκχαρα, οξέα, ταννίνες, ανθοκυάνες) και σε σχίσιμο του φλοιού της ράγας (Conde et al., 2007).

Η υδατική καταπόνηση έχει επιπτώσεις για το φυτό, η σοβαρότητα των οποίων εξαρτάται από το χρόνο εφαρμογής (ή το στάδιο ανάπτυξης των πρέμων), τη διάρκεια και την ένταση του υδατικού ελλείμματος (Coombe, 1992, Ginestar et al., 1998, Ojeda et al., 2001, Deloire et al., 2003). Όταν επικρατούν συνθήκες υδατικού

ελλείμματος μετά τον περκασμό τότε οι συνέπειες είναι πολύ μικρότερες συγκριτικά με το αν επικρατούσε πριν το στάδιο του περκασμού, λόγω της μεγάλης ευαισθησίας που παρουσιάζουν τα υπό ανάπτυξη άνθη και σταφυλές στο υδατικό έλλειμμα (Ginestar et al., 1998, Ojeda et al., 2001). Επίσης, στο στάδιο αυτό, επηρεάζει ελάχιστα την συσσώρευση των σακχάρων. Ωστόσο, όταν επικρατούν συνθήκες έλλειψης νερού κατά την περίοδο της κυτταρικής διαίρεσης, αλλά κυρίως κατά την περίοδο που παρατηρείται η επιμήκυνση των κυττάρων, τότε αναπτύσσονται μικρότερες ράγες (Roby et al., 2004).

Στο στάδιο της ωρίμανσης των ραγών, ο βαθμός της επίδρασης της άρδευσης εξαρτάται από το βάθος του ριζικού συστήματος, την διαθέσιμη υγρασία του εδάφους και από τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής. Για παράδειγμα, αμπελώνες με βαθιά εδάφη και πρέμνα με εκτενή ριζικά συστήματα έχουν ικανοποιητική παραγωγή με απουσία ή με μικρό ποσοστό άρδευσης, δεδομένου ότι το έδαφος μπορεί να παρέχει ικανοποιητική υγρασία στο πρέμνο κατά την πορεία ανάπτυξης, ενώ η αναλογία των ριζικών τριχιδίων και η κατακόρυφη ανάπτυξη των ριζών αποτελούν τους κύριους παράγοντες που καθορίζουν την αντοχή των υποκειμένων στο υδατικό έλλειμμα (Coombe και Dry, 1992). Οι Coombe και Dry (1992) επισημαίνουν, εν συνεχεία, ότι η εφαρμογή μέτριας ή ελεγχόμενης υδατικής καταπόνησης κατά το στάδιο της ωρίμανσης των ραγών βελτιώνει την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το υδατικό έλλειμμα ελέγχει την βλαστική ανάπτυξη των πρέμνων και προλαμβάνει την υπερβολική σκίαση και οψίμιση της παραγωγής.

Τα πρέμνα μπορούν να προσαρμοστούν στο υδατικό έλλειμμα αλλάζοντας μορφολογικά και ανατομικά τους χαρακτηριστικά. Παρατηρήσεις ερευνητικών εργασιών έδειξαν ότι, διαφοροποιείται η φυλλική επιφάνεια (Gómez et al., 2003) και η αγωγιμότητα των αγγείων του ξύλου (Lovisollo και Schubert, 1998). Η αύξηση της πυκνότητας των φυτικών ιστών αποτελεί μηχανισμό που καθιστά τα πρέμνα ικανά να μειώσουν την διαπνοή κατακρατώντας το νερό εντός του μεσόφυλλου. Έλλειψη ύδατος οδηγεί στην μείωση της φωτοσύνθεσης, του ρυθμού ανάπτυξης των διαφόρων οργάνων του πρέμνου και στον περιορισμό του μεγέθους των ραγών. Από την άλλη, προωθεί την σύνθεση των φαινολικών συστατικών ενώ ένα μέτριο υδατικό έλλειμμα αυξάνει τον ρυθμό ωρίμανσης εξαιτίας της μείωσης ανταγωνισμού μεταξύ των πόλων έλξης των θρεπτικών συστατικών και του μικρότερου όγκου των ραγών και συνεπώς προωμίζει την παραγωγή. Επιπλέον, αυξάνεται η συγκέντρωση του αμιπισισικού οξέος (ABA), το οποίο ευνοεί την ωρίμανση των ραγών. Όμως σε έντονο υδατικό στρες τα

φυτά αδυνατούν να φωτοσυνθέσουν και οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην ωρίμανση των ραγών αδρανοποιούνται (Van Leeuwen et al., 2003).

Η καλλιέργεια των πρέμων υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης χρησιμοποιείται ως καλλιεργητική τεχνική που αποσκοπεί στην βελτίωση της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών (Coombe et al., 1992, Wample, 2000, Van Leeuwen et al., 2003).

Οι Roby et al. (2004) υποστηρίζουν ότι η αύξηση των συγκεντρώσεων των ανθοκυανών και των ταννινών των φλοιών της ποικιλίας Cabernet Sauvignon με την εφαρμογή υδατικού ελλείμματος οφείλεται πρωτίστως στην διαφοροποίηση του ρυθμού αύξησης του εσωτερικού μεσοκαρπίου και του φλοιού και δευτερευόντως σε κάποια άμεση διαφοροποίηση του μεταβολικού μονοπατιού της βιοσύνθεσης. Βέβαια, παρατήρησαν σε ράγες ίδιου μεγέθους αλλά που δέχθηκαν διαφορετικό επίπεδο άρδευσης, παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανθοκυανών και ταννινών του φλοιού στις ράγες που είχαν το μεγαλύτερο υδατικό έλλειμμα. Ομοίως οι Kennedy et al. (2002) διαπίστωσαν ότι η μικρή αύξηση των συγκεντρώσεων των ανθοκυανών, λόγω της αύξησης του υδατικού ελλείμματος, οφείλεται πρωτίστως στην αλλαγή του μεγέθους των ραγών και δευτερευόντως σε κάποια αλλαγή της βιοσύνθεσης τους.

Ομοίως και οι Castellarin et al. (2007) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αύξηση των ανθοκυανών οφείλεται στην γραμμική έκφραση του γονιδίου UFGT και της συγκέντρωσης των μεταβολιτών, όταν από τον περκασμό και μετά επικρατήσουν συνθήκες υδατικού ελλείμματος. Άμεση συσχέτιση φαίνεται να έχουν και τα γονίδια CHS και F3H. Οι Koundouras et al. (2006) υποστηρίζουν ότι οι μεταβολές της συγκέντρωσης των ανθοκυανών οφείλονται πιθανότατα στην άμεση επίδραση του υδατικού ελλείμματος στην βιοσύνθεση των ανθοκυανών και μάλλον είναι ανεξάρτητη από την επίδραση του ποτίσματος στο βάρος των ραγών.

Αντίθετα, οι Deloire et al. (2003), υποστηρίζουν ότι η υδατική κατάσταση των πρέμων της ποικιλίας Grenache noir επηρεάζει στενά την βιοσύνθεση των ανθοκυανών και συγκεκριμένα το ήπιο με ισχυρό υδατικό έλλειμμα την ευνοεί. Σύμφωνα με τις παρατηρήσεις των Ojeda et al. (2002) η αύξηση της συγκεντρώσεως των ανθοκυανών με την μείωση του επιπέδου άρδευσης, φαίνεται να είναι ανεξάρτητη με την επίδραση του υδατικού ελλείμματος στο βάρος των ραγών. Οι παρατηρήσεις τους έδειξαν ότι η βιοσύνθεση των 3-φλαβονολών μειώθηκε όταν το υδατικό έλλειμμα εφαρμόστηκε στα αρχικά στάδια ανάπτυξης των ραγών ενώ η

βιοσύνθεση συγκεκριμένα, των προανθοκυανιδών και των ανθοκυανών αυξήθηκε μόνο όταν εφαρμόστηκε υδατικό έλλειμμα μετά τον περκασμό. Παρατήρησαν επίσης, ότι ο λόγος βάρους φλοιών/βάρους ραγών αυξάνεται με την αύξηση του υδατικού ελλείμματος. Έτσι, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η άρδευση δρα και με άμεσο και με έμμεσο τρόπο ως προς τη βιοσύνθεση των φαινολικών συστατικών.

1.6 Ξεφύλλισμα

Το ξεφύλλισμα είναι ένα από τα χλωρά κλαδέματα, το οποίο εφαρμόζεται για την διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ βλάστησης και καρποφορίας. Με τον όρο ξεφύλλισμα, εννοείται η αφαίρεση αριθμού φύλλων (ανάλογα της αυστηρότητας) στη βάση των κύριων βλαστών. Γενικά, μπορεί να εφαρμοστεί από την έναρξη βλάστησης μέχρι την ωρίμανση φορτίου. Όταν η επέμβαση γίνει πριν την καρπόδεση χαρακτηρίζεται ως πρόωμη και όταν γίνει μετά τον περκασμό, όψιμη.

Με το ξεφύλλισμα αποβλέπουμε κυρίως στην παραγωγή προϊόντων ποιότητας. Αν και είναι επίπονη διαδικασία είναι αρκετά σημαντικό. Κυρίως επιτυγχάνουμε καλύτερο αερισμό της ζώνης καρποφορίας του πρέμνου (Koblet et al. 1994), δημιουργούνται ευνοϊκότερες συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας. Με την απ'ευθείας έκθεση των βοτρύων στον ήλιο παρατηρείται αύξηση της περιεκτικότητας των ραγών σε σάκχαρα και μείωση της ολικής οξύτητας. Επίσης παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών (Crippen e Morrison, 1986; Reynolds et al., 1986; Smart et al., 1990).

Οι Bavaresco et al, (2008) υποστηρίζουν ότι η επίδραση του ξεφυλλίσματος στα σάκχαρα και την οξύτητα των ραγών των ποικιλιών Barbera και Croatina εξαρτάται από την ποικιλία και τις μετεωρολογικές συνθήκες της χρονιάς, ενώ οι Chorti et al, 2010 αναφέρουν ότι σε συνθήκες υπερβολικής ηλιακής έκθεσης προκαλούνται εγκαύματα στις ράγες.

Η έκθεση των σταφυλιών στον ήλιο θα αυξήσει τη θερμοκρασία τους μαζί με τις ενζυματικές δραστηριότητες. Συνεπώς, όταν συγκρίνονται σκιασμένα και εκτεθειμένα σταφύλια, τα εκτεθειμένα περιέχουν τη χαμηλότερη συγκέντρωση μηλικού οξέος (Lakso και Kliewer, 1976), λιγότερες μεθοξυπυραζίνες (Allen et al., 1991), υψηλότερες ανθοκυάνες και φαινόλες (Crippen και Morrison, 1986b), υψηλότερα μονοτερπένια (Reynolds και Wardle, 1989b), και περιστασιακά υψηλότερα διαλυτά στερεά (Kliewer και Lider, 1968b). Εντούτοις, υπάρχουν δύο

κύριοι παράγοντες της έκθεσης, το φως και η θερμοκρασία των σταφυλιών, και είναι υπερβολικά δύσκολο να χωριστούν τα αποτελέσματα αυτών των παραγόντων.

Η κατανόηση της σημασίας του φωτός και της θερμοκρασίας στη σύνθεση σταφυλιών ξεκίνησε κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του '50. Οι πρώτες μελέτες για τα αποτελέσματα του φωτός εστίασαν στα διαλυτά στερεά και τα οργανικά οξέα. Οι Ribéreau-Gayon (1959a,b) έδειξαν πειραματικά ότι αμπελώνες με μειωμένη ηλιοφάνεια οδηγούν σε άνοδο της ογκομετρούμενης οξύτητα και μείωση στα διαλυτά στερεά του καρπού.

Οι Kliewer and Schultz (1964) εξέτασαν την επίδραση του φωτός σε τρία επίπεδα (20, 30 , και 100 %) και βρήκαν υψηλότερη ογκομετρούμενη οξύτητα και υψηλότερες συγκεντρώσεις στα περισσότερα οργανικά οξέα στα σκιαζόμενα σταφύλια. Οι συγκεντρώσεις τρυγικού και κιτρικού οξέος ήταν υψηλότερες στα εκτεθειμένα σταφύλια.

Παρόμοιες μελέτες στη Γερμανία από τον Klenert (1974, 1975), βάση της οποίας και η ένταση του φωτός και η θερμοκρασία αέρα μειώθηκαν, ανέφερε ότι λόγω της σκίασης, πριν την έναρξη της ωρίμανση μειώθηκαν τα διαλυτά στερεά στην φάση III της ανάπτυξης της ράγας, και καθυστέρησε τη σύνθεση των οξέων. Η σκίαση μετά την έναρξη της ωρίμανσης οδήγησε σε ποιο αργή υποβάθμιση του μηλικού. Ομοίως, Hofäcker και Alleweldt (1976) και Hofäcker et al. (1976) έδειξαν θετική συσχέτιση μεταξύ της έντασης του φωτός και των διαλυτών στερεών και αρνητική συσχέτιση της ογκομετρούμενη οξύτητα.

Μελέτες σε ελεγχόμενο περιβάλλον επέτρεψαν στους Kliewer (1971) και Kliewer and Lider (1970) να ερευνήσουν την επίδραση του φωτός στην σύνθεση του σταφυλιού. Αυτοί απέτυχαν να αποδείξουν ότι η επίδραση του φωτός ήταν ανεξάρτητη από τη θερμοκρασία, εκτός από την μείωση της συγκέντρωσης του τρυγικού οξέος κάτω από συνθήκες υψηλού φωτισμού. Αμπέλια που καλλιεργούνται κάτω από υψηλές θερμοκρασίες είχαν χαμηλότερη συγκέντρωση μηλικού και χαμηλότερη ογκομετρούμενη οξύτητα καθώς και χαμηλότερο pH , ανεξαρτήτως της έντασης του φωτός. Ο Kliewer (1971) έδειξε ότι σε χαμηλό φωτισμό αυξάνει η ογκομετρούμενη οξύτητα λόγω αύξησης των συγκεντρώσεων του μηλικού και του τρυγικού οξέος.

Οι Crippen και Morrison (1986b) βρήκαν διαφορές μεταξύ εκτεθειμένων και σκιασμένων ραγών της ποικιλίας Cabernet Sauvignon στην περιεκτικότητα των ολικών φαινολών ανά ράγα όπως και στις συγκεντρώσεις των ανθοκυανών. Οι ολικές

φαινόλες αυξήθηκαν μέχρι την έναρξη της ωρίμανση, και έπειτα μειώθηκαν μέχρι τη συγκομιδή. Το ποσοστό των πολυμερισμένων φαινολών έδειξε αύξηση μέχρι τη συγκομιδή.

Η θερμοκρασία έχει βρεθεί επίσης να έχει επιπτώσεις στην παραγωγή ανθοκυανών στις ράγες των σταφυλιών. Γενικά, οι υψηλές θερμοκρασίες (επάνω από 35 °C) είναι ανασταλτικές στην σύνθεση των ανθοκυανών (Kliewer 1970, 1977 Kliewer και Torres 1972 Kataoka et Al, 1984 Sprayd et al., 2002). Οι Kliewer και Torres (1972) καθόρισαν ότι η ημερήσια διακύμανση της θερμοκρασίας έχει επιπτώσεις στο χρωματισμό των ραγών. Διαφορές θερμοκρασίας ημέρας και νύχτας μεγαλύτερες από 10 °C βρέθηκαν να είναι ανασταλτικός παράγοντας στη δημιουργία του χρώματος, πέρα από τα καταστρεπτικά αποτελέσματα της υψηλής θερμοκρασίας στο χρωματισμό των ραγών.

Ο Bergqvist et al. (2001) αξιολόγησε την επίδραση της ηλιακής έκθεσης και τη σχετική επίδραση της θερμοκρασίας στα φαινολικά ανεξάρτητα από το μέγεθος των ραγών και τη σύνθεση τους στις ποικιλίες Cabernet Sauvignon και Grenache. Οι ανθοκυάνες αυξήθηκαν γραμμικά καθώς αυξήθηκε η ηλιακή ακτινοβολία στην καλλιέργεια, αλλά μειώθηκαν όταν η έκθεση των ραγών υπερέβη τα 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\text{s})$. Τα φαινολικά συστατικά ακολούθησαν παρόμοια πορεία. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι επιδράσεις του φωτός στη σύνθεση των φαινολικών, εξαρτάται σημαντικά από την υψηλή θερμοκρασία των ραγών λόγω της αυξανόμενης έκθεσης στο ηλιακό φως. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η παρατεταμένη έκθεση των σταφυλιών στο άμεσο φως πρέπει να αποφευχθεί για να επιτευχθεί η μέγιστη χρωματική ένταση των ραγών στην κοιλάδα San Joaquin και σε άλλες θερμές περιοχές. Οι Hunter et al., 1991; Staff et al., 1997 αναφέρουν ότι το ξεφύλλισμα βελτίωσε το χρώμα του παραγόμενου οίνου. Το χρώμα των σταφυλιών εξαρτάται από το βαθμό έκθεσης τους στην ηλιακή ακτινοβολία και τη θερμοκρασία των σταφυλιών (Haselgrove et al., 2000 Bergqvist et al., 2001 Sprayd et al., 2002).

Οι Smith et al., 1988 στη Νέα Ζηλανδία, έδειξαν σε μια μελέτη ότι η αφαίρεση βασικών φύλλων (είτε 50% είτε 100% των φύλλων στο ύψος των σταφυλιών) αύξησε τις συνολικές συγκεντρώσεις φαινολών και ανθοκυανών στο Cabernet Sauvignon, με μέγιστη αύξηση να πραγματοποιείται όταν το ξεφύλλισμα έγινε πέντε εβδομάδες μετά την άνθιση. Οι Mazza et al. (1999) επίσης διαπίστωσαν ότι η αφαίρεση φύλλων οδήγησε στην υψηλότερη φαινολική συγκέντρωση και πυκνότητα χρώματος από τον μάρτυρα. Αντιθέτως, οι Iacono et al. (1994)

διαπίστωσαν ότι όταν αφαιρέθηκαν 40% των βασικών φύλλων γύρω από τα σταφύλια υπήρξε μείωση των διαλυτών στερεών, ενώ δεν υπήρξε καμία αλλαγή στο μηλικό και στο τρυγικό οξύ. Δεν παρατηρήθηκε καμία διακύμανση των ανθοκυανών ακόμα κι όταν η ακτινοβολία στα σταφύλια αυξήθηκε κατά πολύ σε σχέση με τον μάρτυρα. Η υπερβολική αφαίρεση φύλλων μείωσε τη σκίαση των σταφυλιών αλλά ταυτόχρονα και τη φωτοσυνθετική ικανότητα, καταλήγοντας στα αποτελέσματα που προαναφέρθηκαν.

Οι Tardaguila et al (2008) αναφέρουν ότι το ξεφύλλισμα κατά την καρπόδεση ή κατά την ωρίμανση δεν είχαν καμία σημαντική επίδραση στον αλκοολικό τίτλο στην ογκομετρούμενη οξύτητα, στο pH, στο τρυγικό οξύ και συνολικά στα φαινολικά σε οίνους Grenache, ενώ το πρώιμο ξεφύλλισμα προκάλεσε χαμηλότερη συγκέντρωση μηλικού οξέος και υψηλότερη χρωματική ένταση.

Η εκλεκτική αφαίρεση φύλλων στη ζώνη των σταφυλιών είναι μια ισχυρή τεχνική για να ενισχυθεί η έκθεση τους στο φως του ήλιου ώστε να βελτιωθεί η σύσταση σταφυλιών και οίνου (Arnold και Bledsoe, 1990 Morrison και Noble 1990 Hunter et al., 1991 Staff et al., 1997). Είναι αποδεδειγμένο ότι η έκθεση των σταφυλιών επηρεάζει τη σύστασή τους καθώς και την ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών. Η ελεγχόμενη έκθεση των ραγών ελαττώνει τις επιπτώσεις και την δριμύτητα της σήψης (Gubler et al., 1992 Zoecklein et al., 1992 Percival et al., 1994) ενώ παράλληλα βελτιώνει την οργανοληπτική σύστασή τους καθώς παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα περιεκτικότητας σακχάρων, ανθοκυανών και φαινολικών και χαμηλότερες τιμών ογκομετρούμενης οξύτητας, περιεκτικότητας σε μηλικό, συγκέντρωσης K και pH (Crippen και Morrison, 1996 Smart et al., 1985 Morrison και Noble, 1990 Dokoozlian και Kliewer, 1996). Αυτές οι μελέτες καταλήγουν ότι η έκθεση των σταφυλιών στο ηλιακό φως βελτίωσε το σταφύλι και τον οίνο που παράχθηκε από αυτό.

Ο Kliewer (1971) παρατήρησε ότι το ξεφύλλισμα βελτιώνει τη διείσδυση του φωτός στη ζώνη των σταφυλιών, προωθώντας την ωρίμανση ραγών ως αποτέλεσμα υψηλότερης θερμοκρασίας και της αυξανόμενης καύσης του μηλικού οξέος(Ruffner, 1982).

Οι Buttrose et al. (1971) σε ελεγχόμενες συνθήκες έδειξαν ότι χαμηλώνοντας τη θερμοκρασία από τους 30 °C στους 20 °C για 10 ημέρες είτε πριν από είτε μετά από την έναρξη της αύξησης των ραγών, δεν είχαν κανένα αποτέλεσμα της συγκέντρωσης μηλικού οξέος στο Cabernet Sauvignon, ενώ μια προσωρινή αύξηση

στη θερμοκρασία από 20 °C σε 30 °C κατά τη διάρκεια των ίδιων περιόδων οδήγησε σε μείωση του μηλικού οξύ στο τέλος της ωρίμανσης. Οι Poni et al. (2006) βρήκαν ότι το πρώιμο ξεφύλλισμα στην ποικιλία Trebbiano έδωσε μούστους με υψηλότερα διαλυτά στερεά και τρυγικό οξύ, ενώ τιμές του pH και οι συγκεντρώσεις του μηλικού οξέος βρέθηκε για να είναι χαμηλότερες, έναντι των μη ξεφυλλισμένων αμπελώνων.

Ενώ πολλές μελέτες έχουν ερευνήσει τα αποτελέσματα του ξεφυλλίσματος στη σύσταση των σταφυλιών και των οίνων σε αρκετές ποικιλίες *Vitis vinifera* (Gubler et al., 1992 Zoecklein et al., 1992 Percival et al., 1994 et al., 1992 Stuff et al., 1997 Smart et al., 1985 Petrie et al., 2000 Hunter et al., 1991 Bledsoe et al., 1988 Petrie et al., 2003) λίγες είναι οι διαθέσιμες πληροφορίες για τη σχέση μεταξύ του μικροκλίματος του βότρυος της σταφυλής και των αλλαγών της ισορροπίας που προκαλούνται από την αφαίρεση των φύλλων με το οργανοληπτικό προφίλ των παραγόμενων οίνων.

Ο οργανοληπτικός έλεγχος των ραγών αναπτύχθηκε αρχικά στη Γαλλία (Rousseau et al., 2000) και έχει προταθεί ως αξιόπιστο εργαλείο για να αξιολογήσει την ωριμότητα των ραγών, το σχεδιασμό της συγκομιδής και την πρόβλεψη των ποιοτικών χαρακτηριστικών του οίνου (Winter et al., 2004). Η γευσιγνωσία των σταφυλιών περιλαμβάνει μια σειρά τεχνικών που σκοπεύουν να παραγάγουν αντικειμενικές περιγραφές των χαρακτηριστικών τους ώστε να γίνει ποιοτική εκτίμηση του αρώματος και της φαινολικής τους σύστασης (Francis et al., 1992 Vilanova et al., 2005).

Οργανοληπτικός έλεγχος έχει εφαρμοστεί σε λίγες μελέτες που αναφέρονται στην επέμβαση του ξεφυλλίσματος ώστε να περιγραφεί η επίδραση στο αρωματικό προφίλ του οίνου (Arnold and Bledsoe, 1990).

Οι Tardaguila et al (2008) σε οίνους της ποικιλίας Grenache βρήκαν ότι αναπτύχθηκε πολυπλοκότερο άρωμα όταν το ξεφύλλισμα στην καλλιέργεια έγινε πρώιμα. Η αίσθηση του στόματος, η ποιότητα των τανινών καθώς και η επίγευση απέσπασαν τις υψηλότερες τιμές από πάνελ δοκιμαστών όταν οι οίνοι προήλθαν από σταφύλια με πρώιμο ξεφύλλισμα.

Οι Arnold and Bledsoe (1990) βρήκαν ότι το όψιμο ξεφύλλισμα ήταν λιγότερο αποτελεσματικό στη μείωση της έντασης των χορτώδη οσμών και του αρώματος του στόματος σε οίνους Sauvignon blanc.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ

2.ΥΛΙΚΑ - ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Σχεδιασμός και στόχος του πειράματος

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία γίνεται προσπάθεια διερεύνησης της επίδρασης της άρδευσης και του ξεφυλλίσματος στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών σταφυλών και οίνων της ποικιλίας Αγιωργίτικο.

.Ελέγχθηκαν τέσσερις επεμβάσεις σε κάποιες από τις οποίες εφαρμόστηκαν οι παράγοντες που μελετήθηκαν, πότισμα και ξεφύλλισμα ως εξής: 1) μάρτυρας (M10) (καμία επέμβαση) 2) πότισμα (Π10) 3) ξεφύλλισμα (Ξ10) 4) πότισμα & ξεφύλλισμα (Π/Ξ10)

Το ξεφύλλισμα έγινε μετά τον περκασμό και αφαιρέθηκαν όλα τα φύλλα γύρω από τη ζώνη καρποφορίας και από τις δύο πλευρές της κόμης με αποτέλεσμα τα σταφύλια να είναι άμεσα εκτεθειμένα στο ηλιακό φως. Το πότισμα εφαρμόστηκε βάση της εξατμισοδιαπνοής και εφαρμόστηκε μια επέμβαση στις 4/8/2010 με 20 mm /στρέμμα. Η έγινε στάγδην άρδευση με σταλάκτες ανά 33 εκ.



Εικόνα 1 ξεφυλλισμένα πρέμνα

2.1.1 Ο αμπελώνας

Ο αμπελώνας, ηλικίας 12 ετών, βρίσκεται στην αμπελουργική ζώνη της Νεμέας σε υψόμετρο 300m, στην περιοχή Λεόντιο. Το έδαφος είναι αργιλώδες

και βαθύ, ικανοποιητικής γονιμότητας και ικανότητας κατακράτησης νερού. Η ποικιλία είναι εμβολιασμένη σε υποκείμενο 1103P με αποστάσεις φύτευσης 2,5X 1,0 μ διαμορφωμένο σε γραμμικό αμφίπλευρο Royat με 4+4 παραγωγικές μονάδες 2 οφθαλμών ανά πρέμνο. Υποστύλωση με τρία διπλά T ανά 35 εκ πάνω από το σταύρωμα. Το ύψος του κορυφολογήματος είναι περίπου στο 1,2μ πάνω από το σταύρωμα.

Μηχανική ανάλυση – Ανθρακικό ασβέστιο

Βάθος εδάφους	Άργιλος %	Ιλύς %	Άμμος %	CaCO ₃
0-30	54	30	16	2,1
30-60	44	22	34	4,2
60-90	46	24	30	2,5

2.1.2 Δειγματοληψία - οινοποίηση

Ο τρυγητός πραγματοποιήθηκε στις 15/9/2012 και την ίδια μέρα έγινε και η δειγματοληψία. Κάθε επέμβαση εφαρμόστηκε με τέσσερις επαναλήψεις μέσα στον αμπελώνα από τις οποίες έγιναν ξεχωριστές δειγματοληψίες των 750 ραγών. Για την οινοποίηση των σταφυλιών ενώθηκε η παραγωγή ανα δυο επαναλήψεις της ίδιας επέμβασης. Έτσι τα δείγματα των οίνων που προέκυψαν ήταν τα μισά σε σχέση με τα δείγματα των ραγών. Έγινε κλασσική ερυθρή οινοποίηση και χρησιμοποιήθηκαν ζύμες red fruit.

2.2 Αναλύσεις στους οίνους

- ολικές ανθοκυάνες
- δείκτης ιονισμού
- ένταση - απόχρωση
- δείκτης ολικών φαινολικών
- ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu
- δείκτης HCL%
- ολικές τανίνες με τη μέθοδο βρασμού (μετατροπή σε ανθοκυανιδίνες)
- τανίνες με τη μέθοδο BSA (στυπτικότητα)
- αντιοξειδωτική ικανότητα με τη μέθοδο DPPH
- προσδιορισμός μονομερών ανθοκυανών με HPLC

2.2.1 Ολικές ανθοκυάνες

Ο προσδιορισμός των ολικών ανθοκυανών γίνεται με τη μέθοδο που περιγράφεται από τους Ribéreau-Gayon and Stonestreet (1965). Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ιδιότητα των ανθοκυανών να δίνουν με το ιόν HS₃, άχρωμες ενώσεις. Μετά από προσθήκη ικανής περιόσεως όξινου θεικού άλατος, η αλλαγή του χρώματος του οίνου είναι ανάλογη προς την περιεκτικότητα των ανθοκυανών. Συγκεκριμένα, σε κωνική φιάλη μεταφέρονται 1 mL οίνου, 10 mL αλκοολικού διαλύματος HCl 1% και 20 mL υδατικού διαλύματος HCl 2%. Από το παρασκευασθέν αυτό κύριο διάλυμα, μεταφέρονται σε δύο δοκιμαστικούς σωλήνες από 10mL και προστίθενται 4 mL αποσταγμένου νερού στον ένα (A1) και 4mL NaHSO₃ στον άλλο (A2). Μετά από χρόνο 20 min μετρώνται οι απορροφήσεις σε μήκος κύματος 520nm και το αποτέλεσμα δίνεται από τη σχέση $(A1 - A2) \cdot 875$ και εκφράζεται σε mg/L (Ribéreau-Gayon, P. et al., 2006).

2.2.2 Δείκτης ιονισμού

Ο δείκτης ιονισμού προσδιορίζεται με τη μέθοδο Glories et al. (1978), η οποία βασίζεται στην ιδιότητα των ανθοκυανών να μετατρέπονται στην έγχρωμη μορφή των φλαβυλίων σε ισχυρά όξινα περιβάλλον. Σύμφωνα με τη μέθοδο, το δείγμα του οίνου αποχρωματίζεται μετά από προσθήκη διαλύματος NaHSO₃ (δε μεταβάλλεται το pH οίνου) και μετά από προσθήκη διαλύματος HCl, (pH οίνου 1,15). Η μέτρηση γίνεται σε φασματοφωτόμετρο στα 520 nm. Το αποτέλεσμα προκύπτει από τις διαφορές των απορροφήσεων μεταξύ των αποχρωματισμένων και μη δειγμάτων (σε pH οίνου) (D1) και των αντίστοιχων αποχρωματισμένων και μη δειγμάτων σε pH 1,15 (D2). Το μέγεθος D1 δίνει τη συμμετοχή των χρωματισμένων ανθοκυανών, ενώ το μέγεθος D2 δίνει το σύνολο των ανθοκυανών. Ο βαθμός ιονισμού των ανθοκυανών δίνεται από τη σχέση: $(D1/D2) \cdot 100$ και εκφράζει το ποσοστό των ολικών ανθοκυανών (ελεύθερων και ενωμένων) που βρίσκονται σε έναν οίνο υπό την ερυθρή τους μορφή (φλαβύλια) και είναι υπεύθυνες για τον ερυθρό χρωματισμό του.

Στους νέους οίνους, οι τιμές του δείκτη Ιονισμού κυμαίνονται από 10-30%. Κατά την παλαίωση αυξάνονται έως και 80-90%. Ο οίνος φυγοκεντρίθηκε για 5 min στις 4000rpm. Οι αναλύσεις έγιναν χρησιμοποιώντας λάμπα αλογόνου στα 520 nm ενώ για τον μηδενισμό του φωτόμετρου χρησιμοποιήθηκε νερό. Τα διαλύματα ετοιμαστήκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες ως εξής:

Δ1: σε 5ml οίνου προστέθηκε 1 ml H₂O και έπειτα από ανάδευση μετρήθηκε η απορρόφηση χρησιμοποιώντας κυψελίδα ύαλου πάχους 1mm

Δ2: σε 5ml οίνου προστέθηκε 1 ml διαλύματος NaHSO₃ και έπειτα από ανάδευση και πέρας 5 λεπτών μετρήθηκε η απορρόφηση χρησιμοποιώντας κυψελίδα ύαλου πάχους 1mm

Δ3: σε 0,5ml οίνου προστέθηκε 1 ml H₂O και 3,5 ml διαλύματος HCL N/10 και επτά από ανάδευση μετρήθηκε η απορρόφηση χρησιμοποιώντας πλαστικές κυψελίδες 10mm.

Δ4: σε 0,5ml οίνου προστέθηκε 1 ml διαλύματος 15% NaHSO₃ και 3,5 ml διαλύματος HCL N/10 και έπειτα από ανάδευση και πέρας 5 λεπτών μετρήθηκε η απορρόφηση χρησιμοποιώντας πλαστικές κυψελίδες 10mm.

Βάση των παραπάνω απορροφήσεων υπολογίζετε η συμμετοχή των χρωματισμένων ανθκυανών $\Delta_{da} = (\Delta_1 - \Delta_2) \times 12/10$ και το σύνολο των μορίων των ανθκυανών $\Delta_{dc} = (\Delta_3 - \Delta_4) \times 100/95$

Ο βαθμός ιονισμού των ανθκυανών δίνετε από τη σχέση

$$I\% = \frac{\Delta_{da}}{\Delta_{dc}} \times 100$$

2.2.3 Ένταση-απόχρωση

Για τον προσδιορισμό της έντασης και της απόχρωσης του χρώματος των οίνων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Glories (1984), κατά την οποία λαμβάνονται οι απορροφήσεις σε μήκος κύματος 420, 520 και 620 nm, από φασματοφωτόμετρο υπεριώδους - ορατού. Η ένταση του χρώματος είναι το άθροισμα και των τριών απορροφήσεων, ενώ η απόχρωση είναι ο λόγος της απορρόφησης στα 420 nm προς αυτής στα 520 nm. Το χρώμα των ερυθρών οίνων είναι το άθροισμα των χρωμάτων κίτρινου, κόκκινου και κυανού. Τα φάσματα απορρόφησής τους παρουσιάζουν ένα μέγιστο στα 520 nm, το οποίο ελαττώνεται με την παλαίωση, και ένα ελάχιστο στα 420 nm, που κατά την παλαίωση αυξάνει ή παραμένει σταθερό. Η ένταση αντιπροσωπεύει την ποσότητα του χρώματος και παρουσιάζει μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των ποικιλιών. Είναι καθαρός αριθμός και οι τιμές της κυμαίνονται από 0.3 έως 1.8.

Η απόχρωση αντιπροσωπεύει την εξέλιξη του χρώματος προς το πορτοκαλί και εκφράζει το βαθμό οξειδωσης των οίνων. Όσο πιο οξειδωμένος είναι ο οίνος,

τόσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της απόχρωσης. Οι νέοι οίνοι παρουσιάζουν τιμές απόχρωσης μεταξύ 0.5 – 0.7 που αυξάνονται κατά την παλαίωση, φθάνοντας σε ένα ανώτερο όριο, περίπου 1.2-1.3 (Χαρβαλιά, Α. και Μπενά-Τζούρου, Ειρ., 1982, Ribéreau-Gayon, P. et al., 2006, Κουράκου, Σ., 1998).

2.2.4 Δείκτης ολικών φαινολικών (Δ.Φ.Ο.)

Ο Δείκτης Ολικών Φαινολών αποτελεί μια γρήγορη και εύκολη ένδειξη των ολικών φαινολικών συστατικών που βρίσκονται στον οίνο. Γίνεται εφαρμογή της μεθόδου ΔΦΟ όπως περιγράφεται από τους Flanzky και Roux (1958) και Ribéreau-Gayon (1966), βάσει της οποίας μετράται η απορρόφηση δείγματος ερυθρού οίνου αραιωμένου 100 φορές με αποσταγμένο νερό, σε μήκος κύματος 280nm του υπεριώδους φωτός. Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως «δείκτης ολικών φαινολικών» πολλαπλασιάζοντας την απορρόφηση επί 100. Η τιμή του δείκτη ολικών φαινολών κυμαίνεται από 6 έως 120 (Ribéreau-Gayon, P. et al., 2006). Τα δείγματα φυγοκεντρίθηκαν για 5 min στις 4000rpm και αραιώθηκε 1/100 με νερό και στη συνέχεια μετρήθηκε η απορρόφηση στα 280 nm χρησιμοποιώντας κυψελίδα χαλαζία.

$$\Delta.\Phi.\text{O} = \text{od}280*100$$

2.2.5 Ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu

20μl δείγματος οίνου αναμιγνύεται με 1ml αντιδραστηρίου Folin–Ciocalteu, 3ml Na₂CO₃ διάλυμα ανθρακικού νατρίου (20%) και συμπληρώνετε ο όγκος με αποσταγμένο νερό στα 20 ml. Μετά από 30 λεπτά, μετράται η απορρόφηση OD στα 765 nm σε κυψελίδες πάχους 10 mm. Το αποτέλεσμα εκφράζεται είτε ως δείκτης FOLIN-CIOCALTEU (F-C) δια πολλαπλασιασμού της απορρόφησης επί 20 και επί την αραιώση, είτε ως mg/L γαλλικού οξέος που προκύπτουν από την καμπύλη αναφοράς, η χάραξη της οποίας γίνεται με διαλύματα γαλλικού οξέος γνωστών συγκεντρώσεων, Ribéreau-Gayon, P. et al., 2006).

2.2.6 Δείκτης υδροχλωρικού οξέος (Δ HCL%)

Ο δείκτης υδροχλωρικού οξέος εκφράζει το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών που υπάρχουν στο κρασί και αποτελεί δείκτη ικανότητας παλαίωσης του οίνου. Ο προσδιορισμός αυτού του δείκτη γίνεται σύμφωνα με τη μέθοδο του Glories (1978) και στηρίζεται στην ιδιότητα των πολυμερισμένων τανινών να καταβυθίζονται σε ισχυρά όξινο με υδροχλωρικό οξύ περιβάλλον. Η ταχύτητα

καταβύθισης εξαρτάται από τον βαθμό πολυμερισμού των ταννινών. Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μέθοδο απαιτείται αναμονή 7ώρες για την επίτευξη της καθίζησης. Ο δείκτης υδροχλωρικού οξέος δίνεται από την διαφορά των φαινολικών (μέτρηση στα 280nm με φασματοφωτόμετρο) πριν και μετά την καταβύθισή τους. Οι τιμές του δείκτη κυμαίνονται από 5 έως 40. Σε τιμές κάτω από 35-40 οι ταννίνες του οίνου καταβυθίζονται, οπότε η τιμή μειώνεται. Στην αρχή της παλαίωσης σε βαρέλι, ένας πολύ ελαφρύς οίνος έχει χαμηλή τιμή, μεταξύ 5 και 10. Αντίθετα, ο οίνος που είναι κατάλληλος για παλαίωση έχει τιμή 10-25, ενώ ο οίνος που έχει υψηλή συγκέντρωση σε πολύ έντονα πολυμερισμένα φαινολικά συστατικά έχει τιμή μεγαλύτερη από 25 (Ribéreau-Gayon, P. et al., 2006).

Ο οίνος φυγοκεντρήθηκε για 5 λεπτά στις 4000 στροφές. Σε δοκιμαστικό σωλίνα τοποθετήθηκαν 2ml οίνου 3ml HCl 37% και 1 ml H₂O. Σε t=0 λαμβάνετε 1 ml του διαλύματος, αραιώνετε 30 φορές και μετριέται η απορρόφηση d₀ στα 280nm χρησιμοποιώντας κυψελίδα χαλαζία.

Το υπόλοιπο διάλυμα αφήνετε σε ηρεμία για 7 ώρες. Στη συνέχεια φυγοκεντρήτε για 5 λεπτά στις 4000 στροφές. Λαμβάνετε 1 ml και γίνετε αραιώση κατά 30 φορές και μετριέται η απορρόφηση d₁ στα 280 nm.

$$\text{Ο δείκτης HCl \%} = \frac{d_0 - d_1}{d_0} \times 100$$

2.2.7 Ολικές τανίνες με τη μέθοδο του βρασμού (μετατροπή σε ανθοκυανιδίνες)

Η μέθοδος στηρίζεται στην ιδιότητα των τανινών να μετατρέπονται σε ανθοκυάνες με θέρμανση σε όξινο περιβάλλον. Κατ' αυτήν, ορισμένη ποσότητα οίνου αραιώνεται με αποσταγμένο νερό, στη συνέχεια θερμαίνεται σε υδατόλουτρο μετά από προσθήκη πυκνού HCl, για ορισμένο χρόνο. Όμοιο δείγμα ετοιμάζεται αλλά δεν υπόκειται σε θέρμανση. Στη διάρκεια του βρασμού, οι τανίνες μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες και, επομένως, το δείγμα που έχει θερμανθεί περιέχει τις αρχικές ανθοκυάνες και τις ανθοκυάνες που σχηματίστηκαν από την υδρόλυση των τανινών. Το δείγμα που δεν θερμάνθηκε περιέχει μόνο τις αρχικές ανθοκυάνες. Η διαφορά τους δίνει τις ανθοκυάνες που σχηματίστηκαν. Αφού πραγματοποιηθεί ο βρασμός, μετρώνται οι οπτικές πυκνότητες των δύο δειγμάτων στα 550 nm. Η διαφορά των απορροφήσεων είναι ανάλογη το ποσό των τανινών.

Ο οίνος φυγοκεντρήθηκε για 5 λεπτά στις 4000 στροφές και έγινε αραιώση 1/50. Σε δοκιμαστικό σωλήνα φέρονται 2 ml αραιωμένου οίνου 1 ml H₂O και 3 ml πυκνού HCl 37% (d1).

Σε πλαστικό σωλήνα με πάμα φέρονται 2 ml αραιωμένου οίνου 1 ml H₂O και 3 ml πυκνού HCl 37%. (d2). Ο σωλήνας παραμένει σε βρασμό για 45 λεπτά στους 100 °C σε υδατομέτρου. Μετά το πέρας των 45 λεπτών και αφού ψηχθεί προστίθεται και στους 2 σωλήνες 500 μl αιθανόλης 95% για την σταθεροποίηση του χρώματος. Στη συνέχεια μετρώνται οι απορροφήσεις των 2 δειγμάτων στα 550 nm με πλαστικές κυψελίδες 10 mm. Το ποσό των τανινών δύνεται από της σχέση:

$$\text{Τανίνες (g/L)} = (d2-d1)*19,35$$

2.2.8 Τανίνες με τη μέθοδο BSA (στυπτικότητα)

Κατά τη μέθοδο Harbertson et al. (2002), γίνεται έμμεσος προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ταννινών σε ένα δείγμα οίνου μέσω του προσδιορισμού της δράσης του ενζύμου αλκαλική φωσφατάση. Η μέτρηση έγινε σε φασματοφωτόμετρο στα 510nm και μέσω της πρότυπης καμπύλης Harbertson et al. (2002), λαμβάνεται το ποσό των ταννινών και εκφράζεται σε mg κατεχίνης.

Η μεθοδολογία της ανάλυσης των ταννινών στηρίζεται στην ταυτόχρονη καθίζηση του BSA (Bovine serum albumin) και του ενζύμου αλκαλική φωσφατάση, το οποίο συμμετέχει στην υδρόλυση των φωσφορικών εστέρων. 500 μl δείγματος με 1 α διαλύματος BSA αναδεύονται για 15 min. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρούνται για 10 λεπτά στις 12000rpm υπό ψύξη. Κρατάμε το ίζημα και του προσθέτουμε 250μl πρωτεϊνικού διαλύματος. Γίνετε πάλι φυγοκέντριση στις ίδιες συνθήκες για 5 λεπτά. Στο ίζημα προσθέτουμε 875 ml διαλύματος TEA-SDS και το αφήνουμε σε ηρεμία για 10 min. Στη συνέχεια αναδεύουμε έως ότου διαλυθεί το ίζημα. Μετά την ανάδευση μετράμε την απορρόφηση στα 510 nm χρησιμοποιώντας ως τυφλό TEA-SDS. Στο ίδιο διάλυμα προσθέτουμε 124 μl FeCl₃ και μετά το πέρας 10 λεπτών μετράμε ξανά απορρόφηση στα 510 nm. Η μέτρηση γίνεται με φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού στα 510nm και χρησιμοποιώντας πρότυπη καμπύλη αναφοράς (+)-κατεχίνης (Habertson, J. F. et al., 2002). Οι τιμές των ταννινών λαμβάνονται από την καμπύλη αναφοράς και συνεπώς εκφράζονται σε mg κατεχίνης (Habertson, J. F. et al., 2002).

2.2.9 Αντιοξειδωτική ικανότητα με τη μέθοδο DPPH

Η ρίζα *DPPH* (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), είναι μια από τις λίγες σταθερές αζωτούχες οργανικές ρίζες. Το χρώμα της είναι βαθύ ιώδες, και το φάσμα της απορρόφησης της στο UV-Vis παρουσιάζει μέγιστο στα 515 nm. Κατά την αναγωγή της η ρίζα χάνει σταδιακά το χρώμα της καταλήγοντας σε ανοιχτό κίτρινο. Η αντίδραση μπορεί να καταγραφεί από EPR (Electron Spin Resonance) ή φασματοφωτόμετρο. Η μέθοδος *DPPH*, βασίζεται στην μέτρηση της αναγωγικής ικανότητας των υπό εξέταση δειγμάτων, ως προς τη ρίζα *DPPH*. Η μέθοδος αναφέρθηκε αρχικά από Blois (1958). Η τυπική διαδικασία έχει ως εξής:

Η μέθοδος *DPPH* είναι τεχνικά απλή και χρειάζεται μόνο UV spectrophotometer vis για να εκτελέσει. Η *DPPH* εκτελέστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρθηκε από Brand-Williams et al. (1995) με κάποια τροποποίηση. Αρχικά παρασκευάζεται διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης *DPPH*, σε μεθανόλη (25 mg/L). Σε 25 μ L του δείγματος προστέθηκαν 975 μ L *DPPH* μετρήθηκε η απορρόφηση στα 515nm (t=0). Τα διαλύματα αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min., κατόπιν μετρήθηκε η πάλι απορρόφηση στα 515 nm με λάμπα αλογόνου. Από τις δυο απορροφήσεις υπολογίζεται η % διάφορα από τον τύπο:

$$\% \Delta A(515) = \frac{(A0) - (A30)}{A0} \times 100$$

Μέσω της πρότυπης καμπύλης αναφοράς που δημιουργήθηκε με trolox εκφράζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα σε mg trolox.

2.2.10 Προσδιορισμός μονομερών ανθοκυανών με HPLC

Στους οίνους γίνεται φιλτράρισμα από φίλτρα 0,2 μ m και αναλύεται από HPLC. Ο όγκος δείγματος που χρησιμοποιήθηκε ήταν 25 μ l. Ο εξοπλισμός της HPLC αποτελείται από μια αντλία Jasco PU-980, στήλη Nova-Pack C18, 4 μ m, διαστάσεων 47,6x250mm και έναν ανιχνευτή υπεριώδους-ορατού. Η ανάλυση εκτελέστηκε με ρυθμό ροής 1 ml/min, με όγκο δείγματος 25 μ L, στα 520 nm και με το ακόλουθο πρόγραμμα έκλυσης:

πρόγραμμα έκλυσης διαλυτών				
min	0	22	30	35
% διαλύτης A	95	50	5	95
% διαλύτης B	5	50	95	5

95% διαλύτης A για 1 min, μετά από 95% σε 50% μέσα σε 26 min, από 50% σε 5% σε 29 min, όπου και διατηρήθηκε ισοκρατικά για επιπλέον 3 min και τέλος σε 95% στα 38 min όπου και παρέμεινε μέχρι το τέλος της διαδικασίας. Ο διαλύτης A ήταν 10% (v/v) φορμικό οξύ και ο διαλύτης B ήταν μεθανόλη. Η ταυτοποίηση της μαλβιδίνης βασίζεται στην σύγκριση των τιμών κατακράτησης των κορυφών που προσδιορίστηκαν με τις κορυφές των πρότυπης ουσίας σε (UV) Vis on-line spectral data. Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε μέσω πρότυπης καμπύλης αναφοράς, η χάραξη της οποίας γίνεται με διαλύματα μαλβιδίνης γνωστών συγκεντρώσεων.

2.3 Αναλύσεις στις ράγες

2.3.1 Αναλύσεις σε ολόκληρες ράγες

Για τις αναλύσεις που ακολουθούν δείγμα 50 ραγών ζυγίζεται και ομογενοποιείται στις 24.000rpm σε Ultra Turrax T25 μέχρι να πολτοποιηθεί.

- προσδιορισμός των ανθοκυανών και των ολικών φαινολικών με τη μέθοδος Pand
- εκχυλισματικότητα ανθοκυανών και τανινών (Ribereau Gayon & Stonestreet, 1966)



Ultra Turrax T25

2.3.1.1 Προσδιορισμός των ανθοκυανών και των ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Pand

Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των ανθοκυανών και των ολικών φαινολών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Pand et al, 2005. Αρχή της μεθόδου είναι η παραδοχή ότι σε pH 1,0 παρατηρείται πλήρης αποδιοργάνωση των μεμβρανών και ολική εκχύλιση των ανθοκυανών από τα χυμοτόπια των κυττάρων.

1g πολτοποιημένου δείγματος μεταφέρεται σε δοκιμαστικό σωλήνα και προστίθενται 10mL υδατικού διαλύματος αιθανόλης (50% v/v, pH 2.0 με HCl) και αφήνεται 1h για εκχύλιση, υπό ανάδευση. Μετά από φυγοκέντρηση λαβάνεται 0,5mL και αραιώνεται με 10mL υδατικού διαλύματος 1M HCl και μετά το πέρας 3 ωρών

λαμβάνονται οι οπτικές πυκνότητες στα 700, 520, 280 nm. Η πρώτη απορρόφηση λαμβάνεται προκειμένου για την εξασφάλιση αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων (όταν $700\text{nm} > 0,01$ τότε το αποτέλεσμα δεν είναι έγκυρο).

Οι τιμές των απορροφήσεων στα 520nm και στα 280 nm χρησιμοποιούνται στους τύπους:

$$\text{Ανθοκυάνες mg/ράγα} = \frac{A_{520}}{500} * \text{αραιώση} * \frac{\text{τελικός όγκος εκχύλισης (mg)}}{100} *$$

$$\frac{\text{βάρος 50 ραγών (g)}}{\text{Βαροδείγματος που εκχυλίστηκε (g)}} * \frac{1000}{50}$$

$$\text{Ανθοκυάνες / g ράγας} = \frac{\text{ανθοκυάνες mg / ράγα}}{\text{βάρος 50 ραγών / 50}}$$

Ολικά φαινολικά συστατικά ανά ράγα (μονάδες απορρόφησης (au)/ράγα) :

$$= A_{280} \times \text{αραιώση} \times \frac{\text{τελικός όγκος εκχύλισης (ml)}}{100} \times$$

$$\frac{\text{βάρος 50 ραγών}}{\text{βάρος δείγματος που εκχυλίστηκε (g)}} \times \frac{1}{50}$$

Ολικά φαινολικά συστατικά ανά γραμμάριο ράγας (μονάδες απορρόφησης (au)/g ράγας) :

$$= \frac{\text{Ολικά φαινολικά συστατικά ανά ράγα (μονάδες απορρόφησης (au))}}{\text{μέσο βάρος 50 ραγών (g)}}$$

2.3.1.2 Εκχυλισματικότητα ανθοκυανών και τανινών (Ribereau Gayon & Stonestreet, 1966)

Η βασική αρχή της μεθόδου είναι να γίνει γρήγορη εκχύλιση των ανθοκυανών από τους φλοιούς. Η οξύτητα χρησιμοποιείται ως μέσο για να διευκολύνει την εκχύλιση. Επιπλέον, συνίσταται τα σταφύλια να πολτοποιούνται. Το σπάσιμο των γιγάρτων, οδηγεί στη μερική εκχύλιση των τανινών τους, η οποία είναι απαραίτητη για να αξιολογηθούν τα χαρακτηριστικά των σταφυλιών. Τα διαλύματα που χρησιμοποιούνται είναι υδατικά, pH 1 (HCL N/10) και pH 3.6. Όλες οι ανθοκυάνες εκχυλίζονται και διαλυτοποιούνται στο διάλυμα pH 1 καθώς το όξινο μέσο βοηθάει στη διάσπαση των πρωτεϊνικών δεσμών των μεμβρανών των φλοιών,

απελευθερώνοντας το περιεχόμενο των μορίων τους. Στο pH 3,6, η εκχύλιση που λαμβάνει χώρα προσομοιάζει την εκχύλιση στον οίνο και η απελευθέρωση των ανθοκυανών από τον φλοιό των σταφυλιών εξαρτάται από το πορώδες των κυτταρικών μεμβρανών. Η διαφορά που προκύπτει από τις τιμές των ανθοκυανών στα δύο pH, αντικατοπτρίζει την διαπερατότητα της μεμβράνης που εκφράζει τη δυνατότητα εκχύλισης των χρωστικών του φλοιού και σχετίζεται με το επίπεδο ωριμότητας του σταφυλιού.

Σε μια κωνική φιάλη προστίθεται 20 g ομογενοποιημένου πολτού ραγών και 20 ml διαλύματος pH 1 ενώ σε μια άλλη 20 g ομογενοποιημένου πολτού και 20 ml διαλύματος pH 3,6. Οι δυο φιάλες παρέμειναν σε σκοτεινό μέρος για 4 ώρες. Μετά από φυγοκέντρηση για 10 λεπτά γίνεται προσδιορισμός των ολικών ανθοκυανών στα υπερκείμενα διαλύματα με τη μέθοδο του αποχρωματισμού με SO₂ (όπως περιγράφεται στην § 2.2.1). Η συγκέντρωση των ανθοκυανών A pH1 και A pH 3,6 εκφράζονται σε mg/l πολτού. Η συνολική περιεκτικότητα φαινολικών προσδιορίζετε στο δεύτερο διάλυμα χρησιμοποιώντας την OD280.

εν δυνάμει ανθοκυάνες = A pH1.

εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών (AE%) :

$$AE\% = \frac{A_{pH1} - A_{pH3,6}}{A_{pH1}} \times 100$$

Όσο χαμηλότερη είναι η τιμή AE% τόσο πιο εύκολα εκχυλίζονται οι ανθοκυάνες.

συμβολή των τανινών από τα γίγαρτα :

$$MP(\%) = \frac{OD_{280} - (A_{pH3,6} \cdot 40)}{OD_{280}} \times 100$$

Τανίνες που προέρχονται από τους φλοιούς:

$$D_{pell} = A_{pH 3.6} \times 40$$

Τανίνες που προέρχονται από τα γίγαρτα:

$$D_{Trep} = OD_{280} - D_{pell}$$

2.3.2 Αναλύσεις σε φλοιούς & γιγάρτα

Για τις αναλύσεις των φλοιών και των γιγάρτων χρησιμοποιήθηκε δείγμα 150 ραγών. Αρχικά έγινε μέτρηση του συνολικού βάρους και στη συνέχεια έγινε διαχωρισμός των φλοιών και των γιγάρτων από τη σάρκα. Τα δείγματα λυοφιλιώθηκαν για 1 μέρα και στη συνέχεια αλέστηκαν. Η παραληφθείς σκόνη χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των τανινών και των ανθοκυανών



2.3.2.1 Προσδιορισμός ανθοκυανών σε εκχυλίσματα φλοιών με HPLC

Από τις ανθοκυάνες προσδιορίστηκε μόνο ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης. Πραγματοποιήθηκε εκχύλιση σε σκόνη φλοιών με οξινισμένη μεθανόλη 0,1% HCL. Σε 0,5g λυοφιλιωμένης σκόνης φλοιών έγιναν εκχυλίσεις για 4, 18 και 24 ώρες, σε shaker με διαφορετικούς όγκους μεθανόλης 0,1% HCL. Μετά από



φυγοκεντρίσεις έγινε συλλογή των υπερκείμενων διαλυμάτων. Το δείγμα που συλλέχτηκε φιλτραρίστηκε και 0,5 μl χρησιμοποιήθηκαν για ανάλυση από HPLC με το πρόγραμμα προσδιορισμού ανθοκυανών που χρησιμοποιήθηκε για τους οίνους (§2.2.10).

2.3.2.2 Προσδιορισμός φαινολικής σύστασης και αντιοξειδωτικής ικανότητας σε εκχυλίσματα φλοιών & γιγάρτων

3 γραμμάρια της αποκτηθείσας σκόνης φλοιών και γιγάρτων εκχυλίστηκαν με 25 ml διαλύματος ακετόνης/νερού (80 : 20, v/v) για 3 ώρες σε shaker με θερμοκρασία 25 °C. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρίθηκαν για 15 min. Συλλέχθηκε το υπερκείμενο διάλυμα. Στο ίζημα προστεθήκαν 25ml διαλύματος μεθανόλης / νερού (60 : 40, v/v) και παρέμειναν για 3 ώρες σε shaker με θερμοκρασία 25 °C. Ακολούθησε φυγοκέντριση για 15 min.



Εικόνα 2.3 Rotary Evaporator

Το υπερκείμενο συλλέχθηκε και αποθηκεύθηκε στην κατάψυξη μαζί με το προηγούμενο. Τα δείγματα συμπυκνώθηκαν υπό κενό στους 35 °C σε Rotary Evaporator (εικόνα 2.3) και στη συνέχεια λυοφιλιώθηκαν. Από την τελική σκόνη δημιουργήθηκαν διαλύματα φλοιών (5 g/L) και γιγάρτων (2g/L) με model wine. Τα διαλύματα χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των τανινών με τις φασματοφωτομετρικές μεθόδους που προαναφέρθηκαν στους οίνους.

- ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu (§ 2.2.5)
- τανίνες με τη μέθοδο BSA (στυπτικότητα) (§2.2.8)
- αντιοξειδωτική ικανότητα με τη μέθοδο DPPH (§2.2.9)

2.4 Επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με την ανάλυση της διακύμανσης (analysis of variance-ANOVA) του προγράμματος Statistica V.7 (Statsoft Inc., Tulsa,OK). Το Tukey's HSD (honest significant difference) test χρησιμοποιήθηκε για την σύγκριση των δειγμάτων, όταν παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές μετά τη εφαρμογή ANOVA ($p < 0.05$) στα αποτελέσματα των αναλύσεων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Αναλύσεις στα σταφύλια

3.1.1 Μετρήσεις σε ολόκληρες ράγες

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 3.1.α τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα οι ράγες ήταν μικρότερες σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Δεν παρατηρήθηκε στατιστική διαφορά στις υπόλοιπες μετρήσεις που έγιναν.

	M10	Π10	Ξ10	Π/Ξ10
Μέσο βάρος ράγας(g)	1,793±0,02 ^a	1,782±0,04 ^a	1,643±0,03 ^b	1,788±0,02 ^a
Γίγαρτα / ράγα	1,670±0,04 ^a	1,743±0,07 ^a	1,637±0,04 ^a	1,760±0,03 ^a
Μέσο βάρος γιγάρτων(g)	0,039±0,001 ^a	0,040±0,001 ^a	0,041±0,001 ^a	0,042 ^a
Μέσο βάρος φλοιών(g)	0,078±0,004 ^a	0,085±0,005 ^a	0,079±0,003 ^a	0,072±0,004 ^a

Πίνακας 3.1.α μετρήσεις βάρους.

M10:μαρτυρας, Π10: ποτισμένο, Ξ10: ξεφυλλισμένο, Π/Ξ10: ποτισμένο και ξεφυλλισμένο

Στα πρέμνα που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα (Ξ10 & Π/Ξ10) τα σταφύλια παρουσιάζουν αυξημένη συγκέντρωση ανθοκυανών και ολικών φαινολικών ανά ράγα όσο και ανά g ράγας σε σχέση με τα δείγματα των υπόλοιπων επεμβάσεων. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Crippen και Morrison, 1986; Reynolds et al., 1986; Smart et al., 1990, Mazza et al. (1999)

Στο χρώμα των οίνων εκτός από τη συγκέντρωση των ανθοκυανών της πρώτης ύλης, σημαντικό ρόλο παίζει η ευκολία εκχύλισης (δείκτης εκχυλισματικότητας) τους που συνδέεται με την αποδιοργάνωση των κυττάρων του φλοιού και εξαρτάται από το βαθμό ωρίμανσης.

Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 3.1.β) μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι ο **δείκτης εκχυλισματικότητας** εμφανίζει την υψηλότερη τιμή στα δείγματα που εφαρμόστηκε άρδευση (Π10), ενώ την χαμηλότερη στην επέμβαση Π/Ξ10. Παράλληλα παρατηρούμε ότι μεταξύ των δειγμάτων που έχει εφαρμοστεί

ξεφύλλισμα (Π/Ξ10), (Ξ10), παρουσιάζεται στατιστική διαφορά ανάμεσα στο ποτισμένο και στο απότιστο.

	M10	Π10	Ξ10	Π/Ξ10
ανθοκυάνες ανά ράγα σε mg (mg/ράγα)	1,553±0,0222 ^b	1,472±0,0379 ^b	1,714±0,051 ^a	1,558±0,037 ^b
ανθοκυάνες ανά γραμμάριο ράγας σε mg	0,799±0,0133 ^b	0,801±0,0184 ^b	0,973±0,0266 ^a	0,834±0,019 ^b
ολικά φαινολικά συστατικά ανά ράγα (μονάδες απορρόφησης au/ράγα)	2,27±0,053 ^b	2,32±0,062 ^b	2,60±0,078 ^a	2,43±0,048 ^{a,b}
ολικά φαινολικά συστατικά ανά γραμμάριο ράγας (au/g ράγας)	1,168±0,0326 ^c	1,265±0,027 ^{c,b}	1,478±0,0338 ^a	1,303±0,024 ^b
Δ.Ε%(δείκτης εκχυλισματικότητας ή δείκτης κυτταρικής ωριμότητας)	27,012±0,892 ^{b,c}	35,966±1,367 ^a	30,969±1,029 ^b	24,84±0,760 ^c
εν δυνάμει ανθοκυάνες	350,36±2,21 ^{b,c}	342,94±14,24 ^c	448,36±3,97 ^a	374,37±4,07 ^b
Εκχυλίσιμες ανθοκυάνες	255,66±2,81 ^c	219,00±8,01 ^d	309,44±4,77 ^a	281,24±2,74 ^b

Πίνακας 3.1.β : χαρακτηρισμός του φαινολικού δυναμικού των ραγών από μετρήσεις σε σταφυλοπολλτό (μέθοδοι Pand et al, Glories et al)

M10:μαρτυρας, Π10: ποτισμένο, Ξ10: ξεφυλλισμένο, Π/Ξ10: ποτισμένο και ξεφυλλισμένο

Ο ΔΕ% μειώνεται με την ωρίμανση των σταφυλιών και όσο μικρότερη είναι η τιμή του τόσο πιο εύκολα εκχυλίζονται οι ανθοκυάνες συνεπώς αποτελεί δείκτη ωριμότητας των σταφυλιών. Οι Crippen και Morrison, (1986b) αναφέρουν υψηλότερες ανθοκυάνες και φαινόλες σε σταφύλια όπου έχει εφαρμοστεί ξεφύλλισμα ενώ οι Smith et al., (1988) στη Νέα Ζηλανδία, αναφέρουν ότι η αφαίρεση βασικών φύλλων αύξησε τις συνολικές συγκεντρώσεις φαινολών και ανθοκυανών στο Cabernet Sauvignon. Οι Kennedy et al. (2002) αναφέρουν αύξηση στη συγκεντρώσεων των ανθοκυανών, λόγω της μείωσης της άρδευσης.

Επίσης μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι στις επεμβάσεις που εφαρμόσαμε ξεφύλλισμα (Ξ10 & Π/Ξ10) υπολογίστηκαν οι υψηλότερες εν δυνάμει(pH1) και

εκχυλίσιμες (pH3,6) ανθοκυάνες και μάλιστα με υψηλότερη τιμή σε αυτή που δεν εφαρμόστηκε πότισμα (Ξ10).

	M10	Π10	Ξ10	Π/Ξ10
Μ.ρ.%(δείκτης συνεισφοράς των τανινών των γιγάρτων ή δείκτης ωριμότητας των γιγάρτων	63,07±0,538^b	73,61±0,779^a	75,89±0,668^a	75,58±0,581^a
dpell (τανίνες φλοιού)	10,22±0,112^c	8,76±0,320^d	12,37±0,190^a	11,24±0,109^b
dpell%	18,17±0,154^b	26,38±0,779^a	24,10±0,668^a	24,41±0,581^a
dTrep (ταννίνες γιγάρτων)	46,05±0,522^a	24,43±0,592^d	39,16±1,242^b	34,97±0,975^c

Πίνακας 3.1.γ : χαρακτηρισμός του φαινολικού δυναμικού των ραγών από μετρήσεις σε σταφυλοποπλό (μέθοδοι Pand et al, Glories et al)

M10:μάρτυρας, Π10: ποτισμένο, Ξ10: ξεφυλλισμένο, Π/Ξ10: ποτισμένο και ξεφυλλισμένο

Όσον αφορά τις τανίνες (πίνακας 3.1.γ) στον μάρτυρα (M10) έχουμε τον μικρότερο δείκτη συνεισφοράς τανινών των γιγάρτων αλλά τις περισσότερες τανίνες γιγάρτων. Στην επέμβαση που εφαρμόστηκε μόνο ξεφύλλισμα (Ξ10) παρατηρούμε ότι έχουμε τον μεγαλύτερο δείκτη συνεισφοράς των τανινών των γιγάρτων χωρίς όμως σημαντική στατιστική διαφορά και τις υψηλότερες τανίνες φλοιών με σημαντική διαφορά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις.

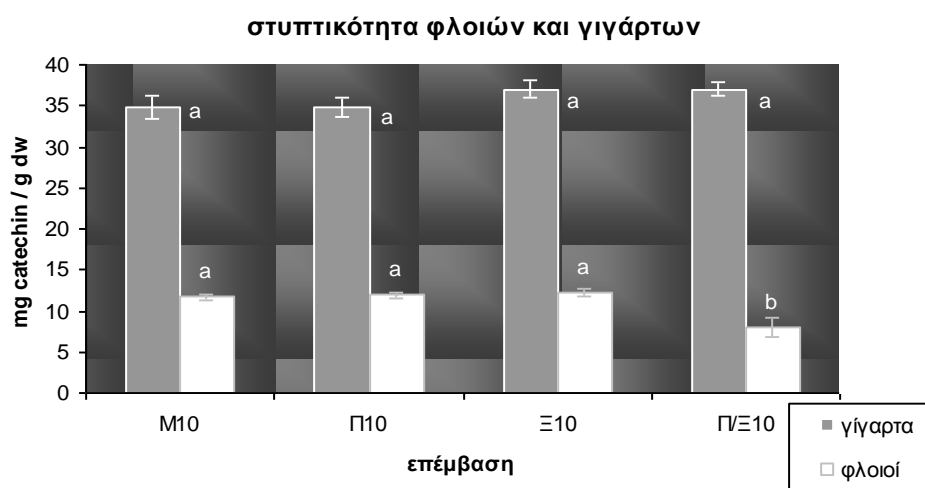
3.1.2 Μετρήσεις σε γίγαρτα & φλοιούς

Οι μετρήσεις που έγιναν στα εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων εκφράστηκαν σε g ξηρού βάρους αντίστοιχα, τα αποτελέσματα αναγράφονται στον πίνακα και απεικονίζονται συγκριτικά στα διαγράμματα που ακολουθούν

		M10	Π10	Ξ10	Π/Ξ10
γίγαρτα	τανίνες/ στυπτικότητα	34,78 ±1,35 ^a	34,85±1,15 ^a	37,05±1,03 ^a	37,01±0,85 ^a
φλοιοί	mg catechin/ g ξηρού βάρους	11,72±0,342 ^a	11,91±0,409 ^a	12,21±0,417 ^a	8,02±1,157 ^b
γίγαρτα	ολικά φαινολικά	96,51±1,75 ^b	105,84±1,33 ^a	94,21±1,63 ^b	97,19±1,13 ^b
φλοιοί	mg gallic acid / g ξηρού βάρους (FC)	54,87±1,116 ^a	56,34±1,912 ^a	55,34±1,616 ^a	51,71±0,908 ^a
γίγαρτα	αντιοξειδωτική ικανότητα	0,175±0,002 ^a	0,179±0,002 ^a	0,181±0,003 ^a	0,183±0,001 ^a
φλοιοί	mmoltrolox/ g ξηρού βάρους	0,20±0,006 ^a	0,21±0,004 ^a	0,20±0,004 ^a	0,1758±0,026 ^a
φλοιοί	mg malv /g ξηρού βάρους	9,65±0,21 ^c	8,43±0,16 ^d	12,91±0,37 ^a	11,02±0,36 ^b

Πίνακας 3.1.δ αναλύσεις σε εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων

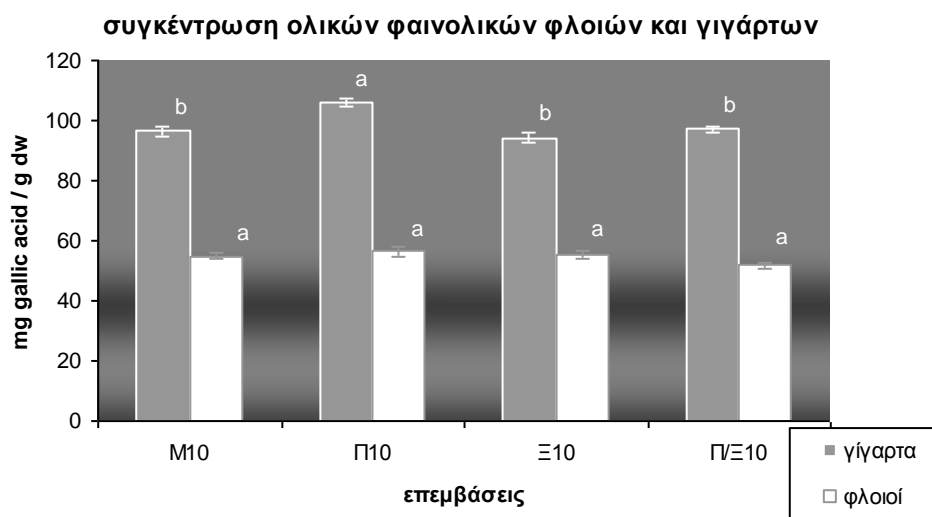
M10:μαρτυρας, Π10: ποτισμένο, Ξ10: ξεφυλλισμένο, Π/Ξ10: ποτισμένο και ξεφυλλισμένο



Διάγραμμα 1

Στα γίγαρτα παρατηρούμε ότι δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές στη συγκέντρωση των τανινών που ενώνονται με πρωτεΐνες και δείχνουν την στυπτικότητα των τανινών άρα η άρδευση και το ξεφύλλισμα δεν επιδρούν στη σύσταση τανινών των γιγάρτων. (πίνακας .3.1.δ) Στους φλοιούς εντοπίζεται η

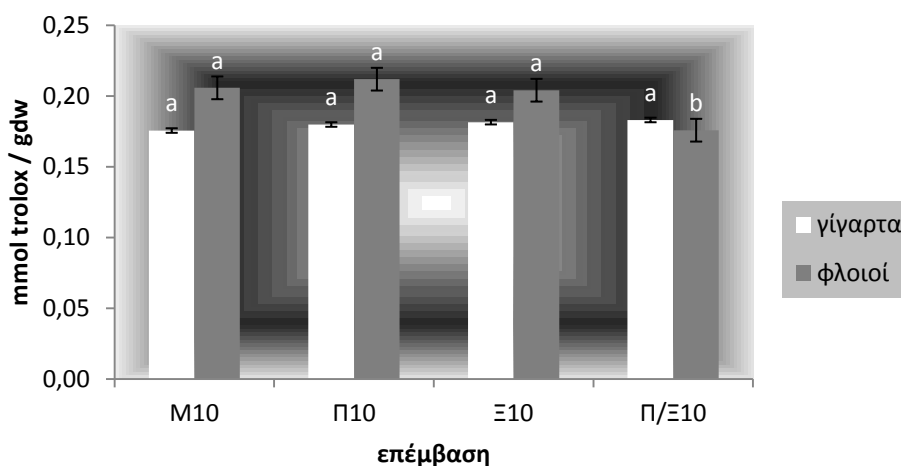
χαμηλότερη συγκέντρωση τανινών που ενώνονται με πρωτεΐνες και δηλώνουν τη στυπτικότητα στα δείγματα που προέρχονται από συνδυασμό των επεμβάσεων (Π/Ξ10). Δεν υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των υπόλοιπων δειγμάτων. Όπως ήταν αναμενόμενο, οι φλοιοί παρουσιάζουν χαμηλότερη συγκέντρωση τανινών που ενώνονται με πρωτεΐνες σε σχέση με τα γίγαρτα και η διαφορά τους φαίνεται έντονα στο διάγραμμα 1.



Διάγραμμα 2

Όσον αφορά τα ολικά φαινολικά στα γίγαρτα υψηλότερη συγκέντρωση παρατηρούμε στην επέμβαση Π10 χωρίς οι υπόλοιπες επεμβάσεις να παρουσιάζουν στατιστική διαφορά από το μάρτυρα. Στους φλοιούς δεν υπάρχει καμία εμφανής επίδραση των επεμβάσεων στα ολικά φαινολικά που εμπεριέχουν. Στο διάγραμμα 2 φαίνεται ότι τα γίγαρτα έχουν σχεδόν διπλάσια ποσότητα φαινολικών συστατικών σε σχέση με τους φλοιούς.

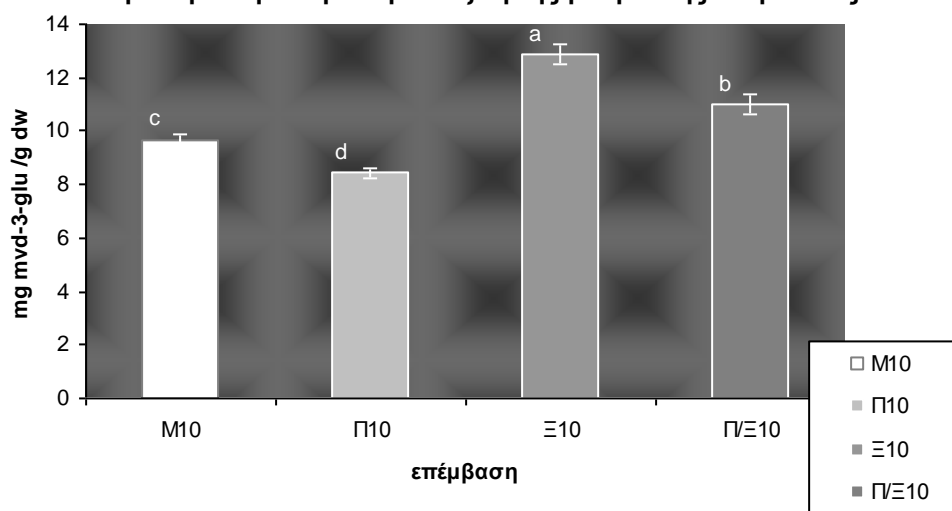
αντιοξειδωτική ικανότητα φλοιών και γίγαρτων



Διάγραμμα 3

Επίσης παρατηρούμε ότι μεγίστη στυπτικότητα έχουμε όταν εφαρμόσαμε μόνο ξεφύλλισμα (Ξ10) χωρίς όμως στατιστική διαφορά από τις επεμβάσεις που δεν εφαρμόσαμε, ενώ ελάχιστη όταν εφαρμόσαμε και πότισμα και ξεφύλλισμα.. Στην αντιοξειδωτική ικανότητα των φλοιών δεν φαίνεται να έχουμε κάποια σημαντική διάφορα ανάμεσα στις επεμβάσεις με μέγιστη να παρατηρείται στην επέμβαση Π10. Στα ολικά φαινολικά έχουμε μέγιστη τιμή στην επέμβαση που εφαρμόστηκε πότισμα (Π10) χωρίς όμως να έχουμε σημαντική διάφορα με τις άλλες τρεις επεμβάσεις.

συγκέντρωση του μονογλυκοζίτη της μαλβιδίνης σε φλοιούς



Διάγραμμα 4

Στο διάγραμμα παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση του μονογλυκοζίτη της μαλβιδίνης είναι υψηλότερη στην επέμβαση Ξ10, στην ίδια επέμβαση στους οίνους παρατηρείται επίσης η μεγαλύτερη συγκέντρωση του μονογλυκοζίτη της μαλβιδίνης.

3.2 Αναλύσεις στους οίνους

3.2.1 Χαρακτηριστικά χρώματος των οίνων

	M10	Π10	Ξ10	Π/Ξ10
ολικές ανθοκυάνες (mg/L)	306,92±11,34 ^b	301,70±4,84 ^b	337,32±11,67 ^a	336,96±4,93 ^a
δείκτης ιονισμού %	12,54±0,56 ^c	12,32±0,41 ^c	22,97±1,47 ^a	16,38±0,39 ^b
απόχρωση	0,690±0,015 ^a	0,698±0,011 ^a	0,634 ^b	0,667±0,012 ^{a,b}
ένταση	4,71±0,08 ^c	4,74±0,02 ^c	7,73±0,34 ^a	5,83±0,12 ^b
mav-3-glu (mg/L)	68,08±2,77 ^b	79,34±0,582 ^{a,b}	77,94±4,581 ^{a,b}	83,69±1,031 ^a
pH	3,635±0,05 ^a	3,655±0,09 ^a	3,485±0,07 ^a	3,555±0,05 ^a

πίνακας 3.2.α

**M10:μαρτυρας, Π10: ποτισμένο, Ξ10: ξεφυλλισμένο, Π/Ξ10:
ποτισμένο και ξεφυλλισμένο**

Στα αποτελέσματα του πίνακα 3.2.α παρατηρούμε ότι οι οίνοι που προέρχονται από την επέμβαση που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα (Ξ10) έχουν μεγαλύτερη ένταση χρώματος, αυξημένο δείκτη ιονισμού και μικρότερη απόχρωση. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Tardaguila et al (2008) σε οίνους Grenache και οι Gubler et al., 1992 Zoecklein et al., 1992 Percival et al., 1994. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι συγκεντρώσεις των ανθοκυανών στο τμήμα του αμπελώνα που έχει εφαρμοστεί ξεφύλλισμα. Παρατηρούμε ότι η μέγιστη συγκέντρωση ανθοκυανών των ραγών (πίνακας 3.1.β) υπολογίστηκε στο κομμάτι που εφαρμόστηκε μόνο ξεφύλλισμα (Ξ10) ενώ στους παραγόμενους οίνους δεν παρατηρείται στατιστική διαφορά όσον αφορά τις ολικές ανθοκυάνες από το Π/Ξ10. Το αποτέλεσμα αυτό πιθανόν εξηγείται από τον καλύτερο δείκτη εκχυλισματικότητας που μετρήθηκε στο Π/Ξ10 και συνεπώς παρά το γεγονός ότι στο αντίστοιχο δείγμα

σταφυλιού είχαμε λιγότερες ανθοκυάνες, κατά την οινοποίηση εκχυλίστηκε μεγαλύτερο ποσοστό αυτών στον οίνο.

Ο βαθμός ιονισμού αποτελεί δείκτη του ποσοστού των ανθοκυανών οι οποίες βρίσκονται στην έγχρωμη μορφή και η τιμή του αυξάνει με την παλαίωση, συνήθως στους νέους οίνους κυμαίνεται από 10% - 30% και φτάνει μέχρι 80% - 90% στους παλαιωμένους Ribereau-Gayon et al (2000). Παρατηρούμε ότι στην επέμβαση που εφαρμόστηκε μόνο ξεφύλλισμα Ξ10 ο δείκτης αυτός παίρνει την υψηλότερη τιμή. Στην ίδια επέμβαση παρατηρείται η υψηλότερη ένταση και το χαμηλότερο pH, όπως και η υψηλότερη συγκέντρωση ανθοκυανών.

Παρατηρούμε ότι οι συγκεντρώσεις των εν δύναμη ανθοκυανών και εκχυλίσμων ανθοκυανών που υπολογίστηκαν στα δείγματα σταφυλιών, είναι ανάλογες με την τελική συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών στους οίνους, την έντασή τους και το βαθμό ιονισμού.

Η απόχρωση κυμαίνεται σε φυσιολογικά για νέους οίνους επίπεδα, χωρίς ιδιαίτερες διαφορές μεταξύ τους. Πάραυτα οι οίνοι που προέρχονται από μη ξεφυλλισμένα σταφύλια παρουσιάζουν υψηλότερη απόχρωση και συνεπώς μεγαλύτερη τάση γήρανσης του χρώματος.

Όσον αφορά την συγκέντρωση του μονογλυκοζίτη της μαλβιδίνης φαίνεται να παίρνει υψηλότερες τιμές στο δείγμα (Π/Ξ10) χωρίς όμως σημαντικές διαφορές από τις επεμβάσεις που εφαρμόστηκε μόνο πότισμα (Π10) ή μόνο ξεφύλλισμα (Ξ10). Παρόλο που είναι η ανθοκυάνη που επικρατεί στους οίνους, δεν είναι ανάλογη με τις ολικές ανθοκυάνες που υπολογίστηκαν στα δείγματα του πειράματος.

3.2.2 Χαρακτηριστικά της γεύσης των οίνων

	M10	Π10	Ξ10	Π/Ξ10
Δ.Φ.Ο	32,53±0,407 ^c	33,425±0,161 ^c	44,115±0,190 ^a	39,6±0,724 ^b
ολικές τανίνες (g/L)	1,432±0,035 ^c	1,414±0,031 ^c	2,027±0,059 ^a	1,862±0,088 ^b
ολικά φαινολικά (mg gallic acid /L)	564,82±22,034 ^a	558,95±14,721 ^a	415,76±12,210 ^b	479,65±15,467 ^b
στυπτικότητα κατεχίνη mg/L	55,17±3,849 ^c	87,45±5,130 ^b	110,50±6,385 ^a	99,66±8,033 ^a

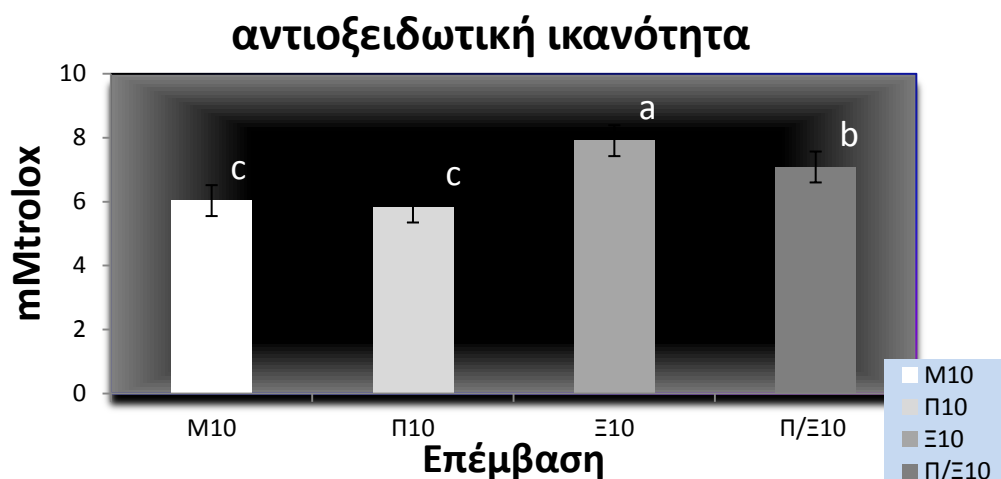
Πίνακας 3.2.β

M10: μάρτυρας, Π10: ποτισμένο, Ξ10: ξεφυλλισμένο, Π/Ξ10: ποτισμένο και ξεφυλλισμένο

Μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών τανινών υπολογίστηκε στα δείγματα οίνων που προήλθαν από την επέμβαση Ξ10, ενώ τις λιγότερες οι οίνοι της επέμβασης Π10. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ο μάρτυρας (M10) καθώς τα δείγματα σταφυλιών από το συγκεκριμένο κομμάτι έχουν τις περισσότερες τανίνες γιγάρτων, που θα αναμέναμε να οδηγήσουν σε οίνους με μεγάλη στυπτικότητα, όμως έχουν τον μικρότερο δείκτη συνεισφοράς τανινών των γιγάρτων. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα να μετρήσουμε στο M10 την μικρότερη στυπτικότητα.

3.2.3 Αντιοξειδωτική ικανότητα οίνων & δυνατότητα παλαίωσης

Την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα η οποία συνδέεται άμεσα με την περιεκτικότητα των οίνων σε φαινολικά συστατικά παρατηρούμε στην επέμβαση που εφαρμόσαμε μόνο ξεφύλλισμα (Ξ10).



Διάγραμμα 5

Όσον αφορά τον δείκτη HCL μεγαλύτερη τιμή μας έδωσε η επέμβαση που εφαρμόσαμε και τις δύο επεμβάσεις Π/Ξ10 χωρίς όμως να έχει στατιστική διάφορα από την Ξ10. (Πίνακας 3.2.γ) Ο δείκτης HCL μας δείχνει τη δυνατότητα παλαίωσης του οίνου κυμαίνεται από 5% - 40% και εκφράζει το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών που υπάρχουν σε αυτόν.

	M10	Π10	Ξ10	Π/Ξ10
ΔHCL%	22,007±0,943 ^c	27,295±0,681 ^b	45,290±1,339 ^a	46,123±1,196 ^a

Πίνακας 3.2.γ

M10:μάρτυρας, Π10: ποτισμένο, Ξ10: ξεφύλλισμένο, Π/Ξ10: ποτισμένο και ξεφύλλισμένο

Ένας οίνος κατάλληλος για παλαίωση έχει τιμές 10–25 και με αυξημένη συγκέντρωση των υψηλά πολυμερισμένων τανινών έχει >25. Όπως βλέπουμε από το γράφημα οι οίνοι που μελετήθηκαν έχουν υψηλό δείκτη HCL >25, πέραν του μάρτυρα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση συνδυαστικά του ποτίσματος και του ξεφυλλίσματος στην φαινολικά σύσταση σταφυλών και οίνου της ποικιλίας cv. Αγιωργίτικο.

Το νερό είναι ένας βασικός παράγοντας που καθορίζει την κατεύθυνση που πρόκειται να πάρει το αμπέλι. Υψηλές δόσεις άρδευσης στρέφουν την καλλιέργεια σε αυξημένη παραγωγή και στην ανάπτυξη πλούσιας κόμης ενώ χαμηλές οδηγούν στην κατεύθυνση της ποιότητας. Το ξεφύλλισμα εφαρμόζεται για την διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ βλάστησης και καρποφορίας. Όταν η επέμβαση γίνει πριν την καρπόδεση χαρακτηρίζεται ως πρόιμη και όταν γίνει μετά τον περκασμό, όψιμη. Με το ξεφύλλισμα αποβλέπουμε κυρίως στην παραγωγή προϊόντων ποιότητας. Καθώς επιτυγχάνουμε καλύτερο αερισμό της ζώνης καρποφορίας του πρέμνου και δημιουργούνται ευνοϊκότερες συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας.

Όσον αφορά τα σταφύλια το ξεφύλλισμα είχε σημαντική επίδραση στο μέγεθος των ραγών όταν δεν εφαρμόστηκε πότισμα, δίνοντας ράγες μικρότερες.

Επίσης στην επέμβαση που εφαρμόστηκε μόνο ξεφύλλισμα στις ράγες παρατηρήθηκαν καλύτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά, μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανθκυανών και γενικότερα φαινολικών συστατικών. Παρόλα αυτά στην επέμβαση που εφαρμόστηκε και ξεφύλλισμα και πότισμα (Π/Ξ10) τα φαινολικά συστατικά των ραγών παρουσίασαν την μεγαλύτερη εκχυλισματικότητα.

Το ξεφύλλισμα είχε προκαλέσει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις τανινών των φλοιών ενώ στον μάρτυρα βρέθηκε η υψηλότερη συγκέντρωση τανινών των γιγάρτων. Μπορούμε να παρατηρήσουμε επίσης ότι στην επέμβαση που εφαρμόστηκε μόνο ξεφύλλισμα παρατηρείται ο μεγαλύτερος δείκτης συνεισφοράς των τανινών των γιγάρτων. Όπως είναι αναμενόμενο οι τανίνες που προέρχονται από τα γίγαρτα παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση τανινών που ενώνονται με πρωτεΐνες από αυτές που προέρχονται από τους φλοιούς.

Στην παρούσα εργασία έγιναν επίσης χημικές αναλύσεις για τον προσδιορισμό χαρακτηριστικών των οίνων που αφορούν το χρώμα την γεύση την αντιοξειδωτική ικανότητα και την δυνατότητα παλαίωσης αυτών. Οι οίνοι που προέρχονται από την επέμβαση που εφαρμόστηκε μόνο ξεφύλλισμα (Ξ10) έχουν μεγαλύτερη ένταση χρώματος, αυξημένο δείκτη ιονισμού και μικρότερη απόχρωση. Οι οίνοι όπως και οι ράγες της ίδιας επέμβασης παρουσιάζουν και την μεγαλύτερη

συγκέντρωση ανθοκυανών. Στους οίνους που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα ανεξαρτήτου ποτίσματος παρατηρούμε αυξημένες συγκεντρώσεις ολικών ανθοκυανών. Αυτό είναι αναμενόμενο αφού το ξεφύλλισμα επιδρά θετικά στη συγκέντρωση των ανθοκυανών. Συγκρίνοντας τις ολικές ανθοκυανές στις επεμβάσεις που εφαρμόστηκε μόνο ξεφύλλισμα (Ξ10) με αυτές που εφαρμόστηκε και ξεφύλλισμα και πότισμα (Ξ/Π10) παρατηρούμε ότι δεν έχουμε σημαντική στατιστική διάφορα, αν και οι ράγες από την επέμβαση (Ξ10) έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση ανθοκυανών. Πιθανότατα αυτό να οφείλετε στον χαμηλότερο δείκτη εκχυλισματικότητας που παρουσιάζει η επέμβαση (Ξ/Π10).

Οι ολικές τανίνες παρουσιάζουν αυξημένες συγκεντρώσεις στην επέμβαση Ξ10, ενώ τις λιγότερες στην επέμβαση Π10. Ο μάρτυρας (Μ10) αν και στα σταφύλια έχει τις περισσότερες τανίνες γιγάρτων, παρουσιάζει την μικρότερη συγκέντρωση τανινών που ενώνονται με πρωτεΐνες. Αυτό πιθανότατα να οφείλετε στον μικρότερο δείκτη συνεισφοράς τανινών των γιγάρτων.

Το ξεφύλλισμα, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι, βελτιώνει την αντιοξειδωτική ικανότητα των οίνων. Αυτό μπορούμε να το διαπιστώσουμε αφού στα δείγματα που εφαρμόστηκε παρουσιάζετε η μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα με μεγίστη στην επέμβαση που δεν εφαρμόστηκε πότισμα κάτι που άλλωστε είναι λογικό αφού οι τανίνες στα δείγματα αυτά ήταν υψηλότερες. Το ξεφύλλισμα επίσης επηρεάζει την δυνατότητα παλαίωσης των οίνων. Οι οίνοι που προήρθαν από επεμβάσεις που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα παρουσιάζουν μεγαλύτερη δυνατότητα παλαίωσης.

Η άρδευση είναι μια επέμβαση που επιδρά και αυτή άμεσα και έμμεσα στην ποιότητα του τελικού προϊόντος. Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι ο περιορισμός της άρδευσης έδωσε καλύτερα αποτελέσματα στην φαινολικά σύσταση τόσο των ραγών όσο και των παραγόμενων οίνων και ακόμα καλύτερα όταν συνδυάστηκε με ξεφύλλισμα.

Το ξεφύλλισμα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι είναι μια αρκετά σημαντική τεχνική και επηρεάζει σημαντικά την φαινολικά σύσταση των ραγών και των παραγόμενων οίνων αρά και την τελική ποιότητα τους.

Συνολικά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι αν στοχεύουμε στην παραγωγή οίνου πλούσιου σε ανθοκυανές και σε τανίνες, συνεπώς με καλύτερη ικανότητα παλαίωσης θα μπορούσαμε να εφαρμόσουμε ξεφύλλισμα. Όμως πρέπει να παρατηρήσουμε ότι στην περίπτωση εφαρμογής μόνο ξεφυλλίσματος, όπου παρατηρούμε μέγιστες τιμές

ανθκυανών και τανινών έχουμε και την μικρότερη παραγωγή (πίνακας 3.1.α). Στην ίδια επέμβαση μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι αν και έχουμε τις μικρότερες ράγες, δεν έχουμε διαφορά στο μέσο βάρος των φλοιών και των γιγάρτων. Από αυτό μπορούμε να συμπεράνουμε ότι έχουμε μεγαλύτερη επιφάνεια επαφής μεταξύ φλοιών και χυμού αρά και εκχύλιση περισσότερων ανθκυανών.

Ο πειραματισμός θα πρέπει να επαναληφτεί και άλλες χρονιές με διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες ώστε να επαληθευτούν ή όχι τα παραπάνω συμπεράσματα.

Βιβλιογραφία

- Κοτσερίδης, Γ. (2005/α), Σημειώσεις/Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας Ι, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων, Αθήνα
- Κοτσερίδης, Γ. (2005/β), Σημειώσεις Οινολογίας ΙΙ, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων, Αθήνα
- Κουράκου - Δραγώνα, Σ. (1998), Θέματα Οινολογίας, Επιστήμη και Τεχνολογία στον τομέα της οινοποιητικής τεχνικής, Εκδόσεις Τροχαλία, Αθήνα
- Σουφλερός, Ε.Η. (2000/α), Οινολογία Επιστήμη και Τεχνολογία, τόμος Ι, Θεσσαλονίκη
- Σταυρακάκης, Μ.Ν. (1999), Ειδική Αμπελουργία, ΙΙ. Φυσιολογία και οικολογία της αμπέλου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Αμπελολογίας, Αθήνα
- Σταυρακάκης, Μ.Ν. (2009), Αμπελογραφία - Ποικιλίες και Υποκείμενα του ελληνικού αμπελώνα, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Αμπελολογίας, Αθήνα
- Χαρβαλιά, Α. και Μπενά - Τζούρου, Ε. (1981), Το χρώμα των ερυθρών οίνων από διάφορες ποικιλίες και περιοχές της Ελλάδας, *Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά*, τόμος 1, pp. 2-25, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα
- Χαρβαλιά, Α. και Μπενά - Τζούρου, Ε. (1982), Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων, *Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά*, τόμος 2, pp. 1-77, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα
- Amrani - Joutei, K. and Glories, Y. (1995), Tannins and anthocyanins of grape berries: Localization and extraction technique, *Rev. Fr. Oenol.*, Vol. 153, pp. 28-31
- Andrade, P.B., Mendes, G., Falco, V., Valentão, P. and Seabra, R.M. (2001), Preliminary study of flavonols in Port wine grape varieties, *Food Chemistry*, Vol. 73, pp. 397-399

- Arnold R.A. and Bledsoe A.M., 1990. The effect of various leaf removal treatments on the aroma and flavor of Sauvignon blanc wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 41, 74-76.
- Arozarena, I., Casp, A., Marín, R. and Navarro, M. (2000), Multivariate differentiation of Spanish red wines according to region and variety, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 80, pp. 1909-1917
- Bergqvist J., Dokoozlian N. and Ebisuda N., 2001. Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet-Sauvignon and Grenache in the Central San Joaquin Valley of California. *Am. J. Enol. Vitic.*, 52, 1-7.
- Buttrose M.S., Hale C.R. and Kliewer W.M. 1971. Effect of temperature on the composition of Cabernet-Sauvignon berries. *Am. J. Enol. Vitic.*, 22, 71-75.
- Castellarin, S.D., Pfeiffer, A., Sivilotti, P., Degan, M., Peterlunger, E. and Di Gaspero, G., 2007: Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant, Cell and Environment* 30: 1381-1399.
- Conde,C., Silva,P., Fontes,N., Dias,A.C.P., Tavares,R.M., Sousa,M.J., Agasse,A., Delrot, S. and Gerós, H., 2007: Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. *Food (Global Science Book)* 1:1: 1-22.
- Coombe B.G., 1995. Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Aus. J. Grape Wine Res.*, 1, 104-110.
- Coombe, B.G. and Dry, P.R., 1992: *Viticulture. Volume 2. Practices. Winetitles.* Adelaide.
- Crippen DD and Morrison JC (1986a), The effects of sun exposure on the compositional development of Cabernet Sauvignon berries. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37, 235-242.
- Crippen DD and Morrison JC (1986b), The effects of sun exposure on the phenolic content of Cabernet Sauvignon berries during development. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37, 243-247.

- Crippen DD. and Morrison J., 1996. The effects of sun exposure on the phenolic content of Cabernet-Sauvignon berries during development. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37, 243-247.
- Del Laudy, M.C., Canals, R., Canals, J.M. and Zamora, F. (2008), Influence of ripening stage and maceration length on the contribution of grape skins, seeds and stems to phenolic composition and astringency in wine-simulated macerations, *Eur. Food Res. Technology*, Vol. 226, pp. 337-344
- Deloire, A., Silva, P., and Martin-Pierrat, S., 2003 : Terroirs et état hydrique du Grenache noir. *Progrès Agricole et Viticole* 120 :17 : 367-373.
- Dokoozlian N.K. and Kliewer, W.M., 1996. Influence of light on the grape berry growth and composition varies during fruit development. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 121, 869-874.
- Esteban, M.A., Villanueva, M.J and Lissarrague, J.R., 2001: Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 409-420.
- Ginestar, C., Eastham, J., Gray, S. and Iland, P., 1998: Use of sap-flow sensors to schedule vineyard irrigation. I. Effects of post-veraison water deficits on water relations, vine growth, and yield of Shiraz grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* 49:4: 413-420.
- Gómez del Campo, M., Ruiz, C., Baeza, P. and Lissarrague, J.R., 2003: Drought adaptation strategies of four grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.): modification of the properties of the leaf area. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 37 : 131-143.
- Gubler W.D., Bettiga L.J. and Heil D., 1991. Comparisons of hand and machine leaf removal for the control of *Botrytis* cluster rot. *Am. J. Enol. Vitic.*, **42**, 233-236.
- Haselgrove L., Botting D., van Heeswijck R., Hoj P.B., Dry P.R., Ford C. and Iland P.G., 2000. Canopy microclimate and berry composition: The effect

- of cluster exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grape berries. *Aus. J. Grape Wine Res.*, 6, 136-140.
- Hunter J.J., De Villiers O.T. and Watts J.E., 1991. The effect of partial on quality characteristics of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Sauvignon grapes. II. Skin color, skin sugar and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.*, 42, 13-18.
- Jackson, R.S. (1994), *Wine Science, Principles, Practice, Perception*, 2nd Edition, Academic Press, San Diego, California
- Kallithraka, S., Mohdaly, A.A., Makris, D.P. and Kefalas, P. (2005), Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity, *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 18, pp. 375-386
- Kallithraka, S., Tsoutsouras, E., Tzourou, E. and Lanaridis, P (2006), Principal phenolic compounds in Greek red wines, *Food Chemistry*, Vol. 99, Issue 4, pp. 784-793
- Kennedy, J.A., Matthews, M.A. and Waterhouse, A.L., 2002: Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *American Journal of Enology and Viticulture* 53:3: 268-274.
- Koundouras, S., Bakratsa, G., Zioziou, E., Nikolaou, N. and Tsialtas, I.T., 2006: Influence of irrigation and rootstock cultivar on gas exchange, growth and ripening of Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera* L.) under the semi-arid conditions of central Crece. 2nd International Conference Ampelos 2006, Santorini Island, Greece. pp. 29-34.
- Koundouras, S., Marinos, V., Gkoulioti, A., Kotseridis, Y. and Leeuwen, C.V. (2006), Influence of Vineyard Location and Vine Water Status on Fruit Maturation of Nonirrigated Cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.), Effects on Wine Phenolic and Aroma Components, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 54, pp. 5077-5086
- Koundouras, S., Marinos, V., Gkoulioti, A., Kotseridis, Y., and Cornelis van Leeuwen, 2006: Influence of vineyard location and vine water status on

- fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis Vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components. *J. Agric. Food Chem.* 54:5077-5086
- Lakso, A. N., 1992: Interaction of physiology with multiple environmental stresses in horticultural crops. *HortScience* 25(11): 1365-1369.
- Lovisolò, C. and Schubert, A., 1995: Effects of water stress on vessel size and xylem hydraulic activity in *Vitis vinifera* L. *Journal of Experimental Botany* 49: 693-700
- Morrison J.C. and Noble A.C., 1990. The effects of leaf and cluster shading on the composition of Cabernet-Sauvignon grapes and on fruit and wine sensory properties. *Am. J. Enol. Vitic.* 41, 193-199
- Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A. and Deloire, A., 2002: Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture* 53:4: 261-267.
- Ojeda, H., Deloire, A. and Carbonneau, A., 2001 : Influence of water deficits on grape berry growth. *Vitis* 40:3: 141-145.
- Percival D.C., Fisher J.H. and Sullivan J.A., 1994. Use of fruit zone leaf removal with *Vitis vinifera* L. cv. Riesling grapevines. II. Effect on fruit composition, yield and occurrence of cluster rot (*Botrytis cinerea* pers.Fr). *Am. J. Enol. Vitic.*, 45, 133-140.
- Pérez-Magariño, S., González-San José, M.L. (2006), Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade, *Food Chemistry*, Vol. 96, pp. 197-208
- Petrie P.R., Trought C.T. and Howell G.S., 2000. Influence of leaf ageing, leaf area and crop load and photosynthesis, stomatal conductance and senescence of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir) leaves. *Vitis*, 39, 31-36.

- Petrie P.R., Trought C.T., Howell G.S. and Buchan G.D., 2003. The effect of leaf removal and canopy height on whole-vine gas exchange and fruit development of *Vitis vinifera* L. Sauvignon blanc. *Functional Plant Biol.*, 30, 711-717.
- Poni E., Casalini L., Bernizzoni F., Civardi S. and Intrieri C., 2006. Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components, and grape composition. *Am. J. Enol. Vitic.*, 57, 397-407.
- Reynolds AG, Pool RM, and Mattick LR (1986b), Influence of cluster exposure on fruit composition and wine quality of Seyval blanc. *Vitis*, 25, 85-95.
- Ribéreau - Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. (2000), *Handbook of Enology, Vol. 2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*
- Ribéreau-Gayon G (1959a), Influence des facteurs physiques sur la maturation du raisin. *C.R. Acad. Agric. France*, 45, 588-592.
- Ribéreau-Gayon G (1959b), Sur la genèse des acides organiques dans la vigne. *C.R. Acad. Sci. (Paris), Series D*, 248, 3606-3608.
- Roby, G, Habertson, J.F., Adams, D.A. and Matthews, M.A., 2004: Berry size and vine water deficits as factors in winegrape composition: Anthocyanins and tannins. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 10: 100-107.
- Ruffner H.P. 1982. Metabolism of tartaric and malic acid in *Vitis*: A review - Part B. *Vitis*, 21, 346-358.
- Smart R.E., Robinson J.B., Due G.R. and Brien C.J., 1985. Canopy microclimate modification for the cultivar Shiraz II. Effects on must and wine composition. *Vitis*, 24, 119- 128
- Spayd S.E., Tarara J.M., Mee D.L. and Ferguson J.C., 2002. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *Am. J. Enol. Vitic.*, 53, 171-182.

- Staff S.L., Percival D.C., Sullivan, J.A., Fisher K.H., 1997. Fruit zone leaf removal influences vegetative, yield, disease, fruit composition and wine sensory attributes of *Vitis vinifera* L. Optima and Cabernet franc. *Can. J. Plant Sci.*, 77, 149- 153.
- Tardaguila, J.; Diago, M.P.; Martinez de Toda, F.; Poni, S.; Vilanova, M. Effects of timing of leaf removal on yield, berry maturity, wine composition and sensory properties of cv. Grenache grown under non irrigated conditions. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 2008, 42, n°4, 221-229
- Van Leeuwen, K., 2003 : Le régime hydrique de la vigne. Conference de Van Leeuwen, K, Château de la Dauphine, 22/5/2003.
- Wample, R.L., 2000: Regulated deficit irrigation as a water management strategy in *Vitis vinifera* production. In: Deficit irrigation practices. Water reports. Vol. 22. FAO, Corporate Document Repository. Rome
- Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H. and Nury, F.S. (1995), *Wine analysis and production*, The Chapman and Hall Enology Library, New York