

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΠΜΣ ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ – ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ CHIPS ΞΥΛΟΥ ΣΕ ΟΙΝΟΥΣ
ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ
ΣΤΗΝ ΤΕΛΙΚΗ ΤΟΥΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑ



Ελένη Κ. Τζανακούλη

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Σταματίνα Καλλίθρακα

ΑΘΗΝΑ 2014

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΠΜΣ ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ – ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ CHIPS ΞΥΛΟΥ ΣΕ ΟΙΝΟΥΣ
ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ
ΣΤΗΝ ΤΕΛΙΚΗ ΤΟΥΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑ

Ελένη Κ. Τζανακούλη

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Σταματίνα Καλλίθρακα

ΑΘΗΝΑ 2014

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ CHIPS ΞΥΛΟΥ ΣΕ ΟΙΝΟΥΣ
ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ
ΣΤΗΝ ΤΕΛΙΚΗ ΤΟΥΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑ**

Ελένη Κ. Τζανακούλη

Εξεταστική Επιτροπή

Καλλίθρακα Στ., Επίκουρος Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης & Τεχνολογίας Τροφίμων

Κοτσερίδης Γ., Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης & Τεχνολογίας Τροφίμων

Μπινιάρη Αικ., Επίκουρος Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οινολογίας του τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Αμπελουργία - Οινολογία», κάτω από την επίβλεψη της επίκουρου καθηγήτριας του τμήματος δρ. Καλλίθρακα Σταματίνας, την οποία και θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα για την εμπιστοσύνη, την υπομονή και την ανοχή που μου έδειξε, αλλά και για το φιλικό κλίμα που δημιούργησε βοηθώντας τους φοιτητές να λειτουργήσουν αποτελεσματικότερα.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ χρωστώ στον επίκουρο καθηγητή του τμήματος κ. Κοτσερίδη Γεώργιο, εξαιτίας του οποίου αποφάσισα να κάνω αίτηση στο συγκεκριμένο πρόγραμμα σπουδών και τελικά αποδείχθηκε σοφή επιλογή. Τον ευχαριστώ, λοιπόν, τόσο για τη συμβουλή του, όσο και για τις γνώσεις που μου παρείχε κατά τη διάρκεια του προγράμματος, αλλά και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην υποψήφια διδάκτορα Κυραλέου Μαρία, χωρίς τη βοήθεια και την υποστήριξη της οποίας η ολοκλήρωση αυτής της διατριβής θα ήταν πάρα πολύ δύσκολη. Οποιαδήποτε στιγμή χρειάστηκα τη βοήθεια και τις γνώσεις της ήταν εκεί και μου τις προσέφερε χωρίς δεύτερη σκέψη.

Επίσης, ευχαριστώ την κ. Προξενιά Νίκη, τόσο για την πολύτιμη βοήθειά της και τις γνώσεις που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια του προγράμματος, όσο και για τη γνωριμία μου μαζί της καθώς είναι από τους πιο αξιόλογους, ηθικούς, ανιδιοτελείς και επικοινωνιακούς ανθρώπους που έχω γνωρίσει στη ζωή μου.

Ευχαριστώ επίσης την κ. Μπινιάρη Αικατερίνη και ως μέλος της επιτροπής, αλλά και ως άνθρωπο για τη στήριξη που μου προσέφερε με τον τρόπο της.

Τέλος, ευχαριστώ όλους όσους ενεπλάκησαν στην καθημερινότητά μου κατά τη διάρκεια του προγράμματος, καθηγητές, προσωπικό, συμφοιτητές και λοιπούς, αλλά και φίλους που απέκτησα και με στήριξαν με τον τρόπο τους καθ' όλη την πορεία των σπουδών μου.

Ελένη Κ. Τζανακούλη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης τεμαχιδίων (τσιπς) ξύλου πέντε διαφορετικών προελεύσεων, κατά την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης σε ερυθρούς οίνους της ποικιλίας Αγιωργίτικο. Συγκεκριμένα, προστέθηκαν τσιπς από ξύλο αμερικανικής, γαλλικής, σλαβονικής δρυός, 50% αμερικανικής – 50% γαλλικής δρυός και τσιπς από ξύλο ακακίας.

Η προσοχή εστιάστηκε κυρίως στα φαινολικά συστατικά, τα οποία είναι υπεύθυνα για το χρώμα, τη λιπαρότητα της γεύσης και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Εφαρμόστηκαν δώδεκα διαφορετικές τεχνικές για κάθε δείγμα, με μικρές τροποποιήσεις σε σχέση με τον τρόπο που αναφέρονται στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, οι οποίες χρησιμοποιούνται αρκετά χρόνια σε έρευνες αυτού του αντικείμενου και έχει φανεί ότι δίνουν καλά αποτελέσματα. Επιπλέον, στο τελικό προϊόν ακολούθησε οργανοληπτικός έλεγχος με χρήση κλίμακας από μη εκπαιδευμένο πάνελ.

Με το πέρασμα τριών μηνών από την προσθήκη των τσιπς ξύλου παρατηρήθηκε ότι το δείγμα με την **αμερικανική δρυ** περιείχε μεγάλη ποσότητα ολικών τανινών και είχε χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα. Το δείγμα με τη **γαλλική δρυ** εμφάνισε υψηλό ποσοστό ολικών τανινών και την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Η **ανάμιξη αμερικανικής και γαλλικής δρυός** έδωσε στον οίνο ένταση χρώματος χαμηλότερη από ότι τα δύο ξύλα ξεχωριστά, παρά τις υψηλές συγκεντρώσεις έγχρωμων ανθοκυανών και πολυμερισμένων τανινών, ενώ είχε και την πιο μεγάλη στυπτικότητα. Η **σλαβονική δρυς** εκχύλισε μεγάλη ποσότητα ολικών τανινών, τη μεγαλύτερη συγκέντρωση προανθοκυανιδινών και το μικρότερο ποσοστό πολυμερισμένων τανινών. Επίσης, ο οίνος όπου προστέθηκε η σλαβονική δρυς εμφάνισε υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα και την υψηλότερη ένταση χρώματος μετά το μάρτυρα. Τέλος, το δείγμα με την **ακακία** ξεχώρισε ως προς την υψηλή απόχρωση, την υψηλότερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών και ελλαγικών τανινών και ως προς τη στυπτικότητα που ήταν η μεγαλύτερη από αυτή που παρουσίασαν τα υπόλοιπα δείγματα σε αυτό το στάδιο.

Όσον αφορά τον οργανοληπτικό έλεγχο, το δείγμα με την **ανάμιξη αμερικανικής και γαλλικής δρυός** έλαβε τον μεγαλύτερο μέσο όρο βαθμολογίας από το πάνελ.

Λέξεις κλειδιά : Αγιωργίτικο, ερυθρός οίνος, ζύμωση, τσιπς ξύλου, φαινολικά, HPLC

EFFECTS OF WOOD CHIPS ADDITION IN WINES AT THE BEGINNING OF ALCOHOLIC FERMENTATION ON THEIR FINAL QUALITY

ABSTRACT

The effect of wood chips addition on selected quality parameters of red wines from Agiorgitiko variety was studied in the current postgraduate dissertation. More specifically, four different wood chips and a mixture (american, french, slavonian, acacia chips and 1/1 mixture of American and French chips) were added in the wines at the beginning of the alcoholic fermentation.

Attention was focused mainly in phenolic compounds, since they are responsible for color, and other important organoleptic characteristics of the wine. Different techniques were implemented for each sample, with minor modifications regarding the way referred to in the existing literature, which have been used for several years in the research of this subject. Moreover, sensory analysis of the finished wines took place by an untrained panel.

After three months of the addition of wood chips, it was observed that the sample with the **american oak** chips was characterized by high total tannin content low antioxidant activity. The sample with the **french oak** chips also contained high tannin content and was characterized by the highest antioxidant activity. The mixture of **american and french oak** chips resulted in a wine with lower colour intensity than the two woods separately, despite the high concentrations of coloured anthocyanins and polymerised tanins, while it had also the highest measured chemical astringency. **Slavonian oak** resulted in the extraction of a large quantity of total tanins, the highest concentration of proanthocyanins and the lowest percentage of polymerised tanins. In addition, the wine in which slavonian oak was added, showed a strong antioxidant activity and the highest colour intensity after Control. Finally, the sample with **acacia** chips was characterized by high hue values, the highest concentration of total phenolics and ellagic tanins and the highest chemical astringency.

Regarding the outcomes of sensory analysis, the sample which contained the **mixture of american and french** oak chips received the highest average grade from the panel.

Key words : Agiorgitiko, red wine, fermentation, wood chips, phenolics, HPLC

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο – ΟΙΝΟΣ	
1.1 Ερυθρή Οινοποίηση	7
1.1.1 Αλκοολική Ζύμωση	10
1.1.2 Μηλογαλακτική Ζύμωση	12
1.2 Φαινολική σύσταση του οίνου	14
1.2.1 Φαινολικά οξέα	15
1.2.2 Φλαβόνες	15
1.2.3 Ανθοκυάνες	16
1.2.4 Τανίνες	17
1.3 Αγιωργίτικο	
1.3.1 Η ποικιλία	19
1.3.2 Ο οίνος	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο – ΞΥΛΟ	22
2.1 Είδη ξύλου	22
2.2 Διαφορές μεταξύ αμερικανικής και γαλλικής δρυός	24
2.3 Επιδράσεις στον οίνο	25
2.4 Εναλλακτικά προϊόντα	26
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο – HPLC	
3.1 Γενικά	29
3.2 Λειτουργία	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	
4.1 ΣΤΟΧΟΣ ΚΑΙ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	34
4.2 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ	
4.2.1 Έλεγχος AZ και ΜΓΖ	37
4.2.2 Εκτίμηση χρώματος ερυθρών οίνων	
4.2.2.1 Ένταση – Απόχρωση	37

4.2.3 Εκτίμηση φαινολικών συστατικών	
4.2.3.1 Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)	38
4.2.3.2 Μέθοδος Folin – Ciocalteau (FC)	38
4.2.4 Εκτίμηση ανθοκυανών	
4.2.4.1 Ολικές ανθοκυάνες	39
4.2.4.2 Ανθοκυάνες με HPLC	40
4.2.4.3 Δείκτης Ιονισμού	41
4.2.5 Εκτίμηση τανινών	
4.2.5.1 Τανίνες με βρασμό (Ολικές τανίνες)	42
4.2.5.2 Μέθοδος Harbertson	42
4.2.5.3 Δείκτης Υδροχλωρικού Οξέος	43
4.2.5.4 Ελλαγικές τανίνες με HPLC	43
4.2.6 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας	45
4.2.7 Εκτίμηση φλαβονολών και προανθοκυανιδινών	46
4.2.8 Οργανοληπτική ανάλυση	46

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 Πορεία Ζύμωσης	47
5.2 pH	48
5.3 Ένταση Χρώματος	49
5.4 Απόχρωση	51
5.5 Ολικές Ανθοκυάνες	53
5.6 Ανθοκυάνες με HPLC	55
5.7 Δείκτης Ιονισμού	57
5.8 Ολικά Φαινολικά	59
5.9 ΔΦΟ	61
5.10 Ολικές Τανίνες	63
5.11 Στυπτικότητα	65
5.12 Δείκτης HCL	67
5.13 Ελλαγικές Τανίνες	69
5.14 Αντιοξειδωτική Ικανότητα	71

5.15	Φλαβανόλες	73
5.16	Οργανοληπτικός Έλεγχος	75
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	76
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	82
	ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ	84
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	85

Εισαγωγή

Η παλαίωση του οίνου αποτελεί εδώ και χρόνια μια τεχνική που χρησιμοποιείται στα οινοποιεία με σκοπό την αύξηση της σταθερότητας των οίνων και για να επιτευχθούν πιο πολύπλοκα αρώματα. Κανονικά, χρησιμοποιούνται δρύινα βαρέλια, καθώς η σύνθεση του οίνου που έρχεται σε άμεση επαφή με το βαρέλι τροποποιείται, αφού ο οίνος εκχylίζει τα συστατικά του ξύλου, όπως τανίνες, φαινολικά οξέα και πτητικές ενώσεις. Επιπλέον, τα χρωματικά στοιχεία στον οίνο σταθεροποιούνται εξαιτίας της μικροοξυγόνωσης που παράγεται όταν ο αέρας διαπερνά τις δούγιες του βαρελιού, βελτιώνοντας την ποιότητα του οίνου. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος είναι ακριβή και απαιτεί μακρύ χρονικό διάστημα. Τα τελευταία χρόνια, η πρακτική της προσθήκης μικρών κομματιών ψημένης δρυός στον οίνο γίνεται όλο και πιο κοινή, καθώς προσδίδει παρόμοιες γεύσεις και αρώματα στον οίνο, όπως αυτά που αποκτούνται με την παραδοσιακή παλαίωση στο βαρέλι, αλλά γρηγορότερα και με μικρότερο κόστος. Ένας οίνος στον οποίο έχει γίνει προσθήκη τέτοιων κομματιών μπορεί να φτάσει έως και δέκα φορές μικρότερο κόστος, από ότι αν αυτός ο ίδιος οίνος παλαιώσει σε βαρέλι. Η επιφάνεια των κομματιών που έρχονται σε επαφή με τον οίνο επιταχύνει την εκχύλιση των συστατικών.

Η χρήση τέτοιων κομματιών για τη διαβροχή του οίνου αποτελεί πλέον μία εναλλακτική λύση ως προς την παλαίωση σε βαρέλι. Οι νέες οινοπαραγωγικές χώρες όπως η Χιλή, Αργεντινή, Ν. Αφρική, Αυστραλία και οι ΗΠΑ χρησιμοποιούν αυτή την τεχνική εδώ και αρκετά χρόνια. Μία μεγάλη ποικιλία συστημάτων χρησιμοποιείται με σκοπό την ανάλυση τέτοιων οίνων, βασισμένων στην προσθήκη κομματιών διαφορετικών μεγεθών, ξύλων και τυπού και βαθμού καψίματος στον οίνο. Κάποια από αυτά εισάγονται απευθείας στη δεξαμενή και κάποια για την επαναχρησιμοποίηση παλιών βαρελιών.

Τα κομμάτια ξύλου συναντώνται σε ποικίλες μορφές οι οποίες περιλαμβάνουν ροκανίδια, κύβους, πούδρα, κόκκους, ντόμινο και τούβλα. Επιπλέον, για τοποθέτηση σε δεξαμενές κυκλοφορούν μεγαλύτερα κομμάτια, συνήθως με τη μορφή σανίδων, ενώ σε παλιά βαρέλια μπορεί επίσης να γίνει προσθήκη κομματιών ξύλου όπως αλυσίδες, ράβδοι και άλλα. Όλα τα παραπάνω προϊόντα κατασκευάζονται από διαφορετικά είδη ξύλου (αμερικανική, γαλλική, σλαβονική δρυς, ακακία κλπ) και υπόκεινται σε διάφορες μεθόδους καψίματος (φλόγα, θερμό αέρα, υπέρυθη ακτινοβολία) και βαθμούς καψίματος (ελαφρύ,

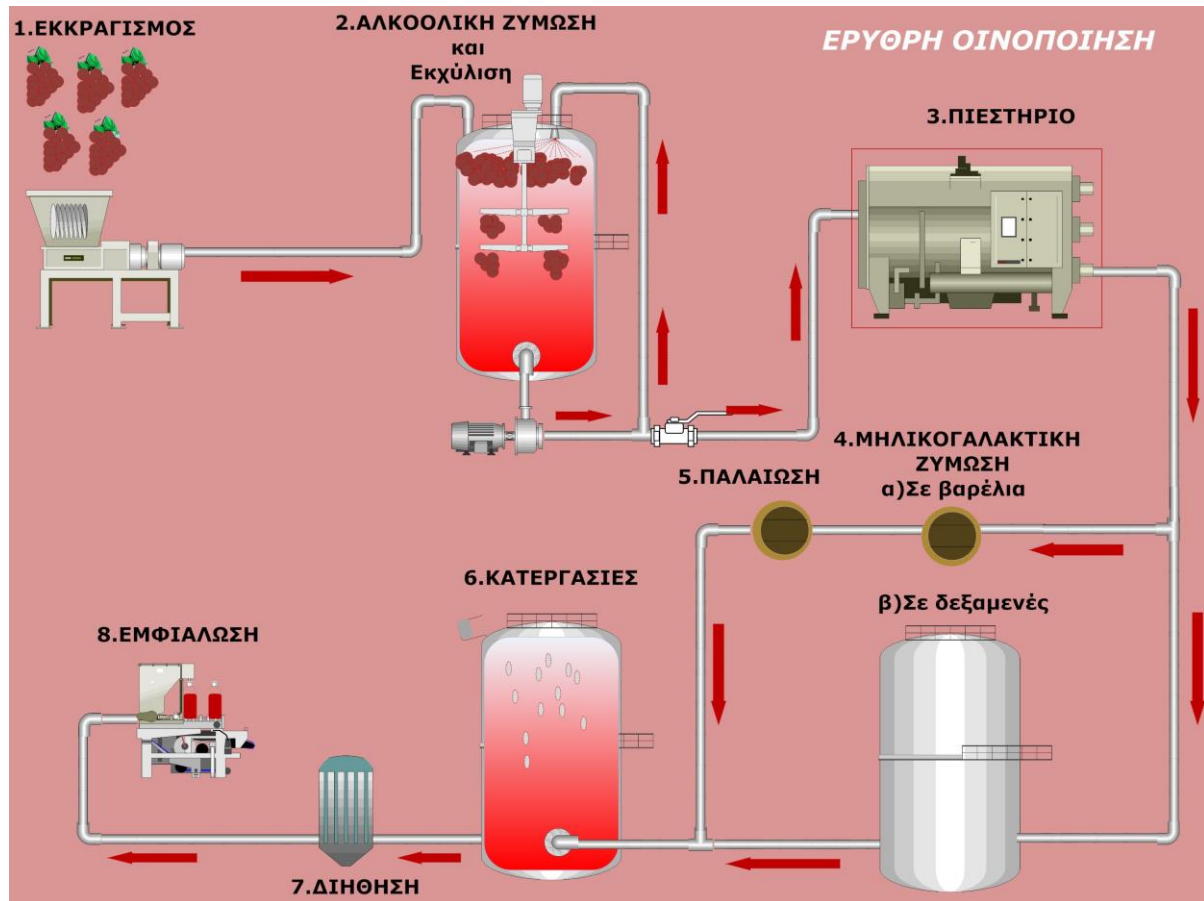
μεσαίο, έντονο, αλλά και απλό, διπλό ή επεξεργασμένο σε συγκεκριμένες θερμοκρασίες).

Οι επιδράσεις που προκαλούνται από την προσθήκη κομματιών ξύλου στον οίνο εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, οι οποίοι καθορίζουν και τα χαρακτηριστικά του οίνου. Αυτοί περιλαμβάνουν την προέλευση του ξύλου, τον τύπο στεγνώματος, τη διαδικασία καψίματος, την ποσότητα κομματιών που προστίθενται στον οίνο, το χρόνο επαφής των ξύλων με τον οίνο, το στάδιο οινοποίησης στο οποίο προστίθενται τα ξύλα, το μέγεθος των κομματιών κλπ.

Από τη στιγμή που δεν υπάρχουν αρκετές αναφορές που να αφορούν την προσθήκη τσιπς ξύλου κατά το στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης σε κόκκινο οίνο και να είναι διαφορετικής προέλευσης, εκτός από τη συνηθισμένη γαλλική και αμερικάνικη δρυ, η μελέτη αυτή διεξήχθη για να διερευνήσει τις επιδράσεις που προκαλούνται στο ερυθρό Αγιωργίτικο όταν γίνει επέμβαση σε αυτό με διάφορα τσιπς που προέρχονται από πέντε διαφορετικά είδη ξύλου. Το κύριο ενδιαφέρον εστιάστηκε στον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών, στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, στην επιρροή του κάθε ξύλου στις χρωματικές παραμέτρους κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και, τελικά, στην βελτιστοποίηση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων του οίνου. Κύριος σκοπός ήταν να παραχθεί ένα βελτιωμένο τελικό προϊόν με τα καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο - ΟΙΝΟΣ

1.1 Ερυθρή Οινοποίηση



Εικόνα 1. Βασικά στάδια της ερυθρής οινοποίησης (www.samartziswines.gr)

Αρχικά, ως **οινοποίηση**, θεωρείται η παραγωγή οίνου μέσω κάποιων διαδικασιών, οι οποίες ξεκινούν από τη συλλογή των σταφυλιών μέχρι την εμφιάλωση του «τελειωμένου» οίνου, εννοώντας το προϊόν στο οποίο έχει τελειώσει η μετατροπή των σακχάρων σε αιθανόλη. Είναι αυτονόητο, ότι η παραγωγή ερυθρών οίνων προϋποθέτει τη χρησιμοποίηση κόκκινων σταφυλιών ικανών να δώσουν το χρώμα τους στον οίνο. (Τσακίρης, 1998)

Το κύριο χαρακτηριστικό της **ερυθρής οινοποίησης** είναι ότι η ζύμωση γίνεται παρουσία στεμφύλων, τα οποία είναι υπεύθυνα για την απόδοση των επιθυμητών χρωστικών, γευστικών και αρωματικών συστατικών στον οίνο μέσω εκχύλισης. Αυτό σημαίνει ότι η ποιότητα του σταφυλιού σε αυτό το είδος της οινοποίησης αποτελεί τον πιο σημαντικό παράγοντα και είναι συνάρτηση τόσο της ποσότητας των ερυθρών χρωστικών

που περιέχονται στο φλοιό της ράγας όσο και της σύνθεσής τους. Επιπλέον, η ποιότητα του φλοιού εξαρτάται περισσότερο από τις κλιματολογικές συνθήκες από ότι η ποιότητα της σάρκας των σταφυλιών και προϋποθέτει μεγαλύτερη ηλιοφάνεια και θερμοκρασία από αυτή που είναι απαραίτητη για την ωρίμανση του εσωτερικού της ράγας. (Σουφλερός, 2012)

Τα βασικά στάδια της ερυθρής οινοποίησης (Εικ. 1), γενικά, είναι τα εξής:

- **έκθλιψη σταφυλιών** για σπάσιμο της ρόγας και απελευθέρωση του χυμού,
- **αποβοστρύχωση ή απορραγισμός σταφυλιών**, η οποία δεν είναι πάντα αναγκαία και πραγματοποιείται προς αποφυγή μεγάλης εκχύλισης τανινών από τους βοστρύχους, καθώς οι τανίνες αυτές είναι κακής ποιότητας, "σκληρές" και δύσκολα μαλακώνουν κατά την παλαίωση, ενώ παράλληλα μειώνουν και το χρώμα δεσμεύοντας ανθοκυάνες,
 - **μεταφορά γλεύκους** σε δεξαμενές ζύμωσης μαζί με τους φλοιούς,
 - **διαχωρισμός από τα στερεά συστατικά (στέμφυλα)** του γλεύκους εν ζυμώσει ή του οίνου ανάλογα με τη διάρκεια εκχύλισης. Η διακοπή της εκχύλισης και ο διαχωρισμός των στεμφύλων γίνεται όταν αποκτηθεί το απαιτούμενο χρώμα και η περιεκτικότητα τανινών.
 - **μεταφορά στεμφύλων σε πιεστήριο** για την εξαγωγή του οίνου που περιέχουν, ο οποίος είναι πλούσιος σε χρώμα και τανίνες και οινοποιείται είτε ξεχωριστά είτε σε ανάμιξη με τον υπόλοιπο οίνο,
 - **παραμονή οίνου σε δεξαμενή ή μεταφορά σε δρύινο βαρέλι**, όπου θα ολοκληρωθεί η αλκοολική ζύμωση, εάν δεν έχει ήδη τελειώσει και πιθανή πραγματοποίηση μηλογαλακτικής ζύμωσης,
 - **διαύγαση οίνου**, με στόχο την απαλλαγή του από αιωρούμενα σωματίδια που προκαλούν διάφορα θολώματα,
 - **εμφιάλωση οίνου**. (Ronald, 2008)

1.1.1 Αλκοολική ζύμωση (AZ)

Ως **αλκοολική ζύμωση** χαρακτηρίζεται το βιοχημικό φαινόμενο κατά το οποίο πραγματοποιούνται πολλαπλασιασμός και ανάπτυξη ζυμών (βιολογικό φαινόμενο) και μετατροπή σακχάρων σε αλκοόλη (χημικό φαινόμενο) και οφείλεται στα ένζυμα (ζυμάση) που περιέχουν τα κύτταρα των ζυμών. Συγκεκριμένα, οι ζυμομύκητες καταναλώνουν τα σάκχαρα του γλεύκους (γλυκόζη, φρουκτόζη κ.ά.) και παράγουν αιθανόλη, CO₂ και μια σειρά δευτερευόντων προϊόντων (γλυκερόλη, οξικό οξύ, ακεταλδεΐδη, ανώτερες αλκοόλες, γαλακτικό οξύ κ.ά.). (Σουφλερός, 2012)

Η AZ είναι μια μεταβολική διαδικασία με πολλά ενδιάμεσα στάδια, η οποία πραγματοποιείται κάτω από αναερόβιες συνθήκες, είτε αυθόρμητα από τις ιθαγενείς ζύμες που υπάρχουν στα σταφύλια και κατά συνέπεια και στο γλεύκος είτε ελεγχόμενα με εμβολιασμό στελέχους επιλεγμένης ζύμης (συνήθως είδη του *Saccharomyces cerevisiae*). Σκοπός του εμβολιασμού είναι η γρήγορη εκκίνηση της AZ ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι πιθανότητες αλλοιώσεων από την ανάπτυξη επιβλαβών βακτηρίων και στην ερυθρή οινοποίηση απαιτεί πολύ καλή ομογενοποίηση. (Τσακίρης, 1998)

Καθώς η AZ γίνεται παρουσία των στεμφύλων, ιδανικές θερμοκρασίες ζύμωσης θεωρούνται μεταξύ 25 – 30 °C ώστε να επιτευχθεί γρηγορότερη εκχύλιση συστατικών – τανινών και χρωστικών ουσιών όπως οι ανθοκυάνες, υπεύθυνες για το ερυθρό χρώμα που αποκτά το γλεύκος. Ωστόσο, μία υπερβολική αύξηση της θερμοκρασίας του γλεύκους μπορεί να οδηγήσει στη διακοπή της ζύμωσης και την αλλοίωση του οίνου. Συνεπώς, ιδανική λύση είναι η ψύξη του γλεύκους ή η λήψη μέτρων όπως :

- **αερισμός** (ανακύκλωση) στην αρχή της AZ για μεγαλύτερη ανθεκτικότητα των ζυμών προς το τέλος της AZ, παραλαβή ανθοκυανών και τανινών και ομογενοποίηση του γλεύκους,
- **γρήγορος διαχωρισμός** του γλεύκους από τα στέμφυλα για επιβράδυνση της ζύμωσης και μείωση της θερμοκρασίας,
- **ελαφρύτερο σπάσιμο** των ραγών,
- **διαδοχικές αναμειξείς** φρέσκου με σταφυλοπολλτό σε ζύμωση,
- **θείωση** για επιβράδυνση της ζύμωσης.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι ερυθροί οίνοι είναι οίνοι εκχύλισης, συνεπώς η εκχύλιση πρέπει να επιτρέπει την παραλαβή από τα σταφύλια, μόνο των συστατικών που είναι χρήσιμα και στην επιθυμητή ποσότητα, δηλαδή που έχουν ευχάριστο άρωμα και μαλακή γεύση. Το πέρασμα στο γλεύκος των συστατικών που περιέχουν τα στέμφυλα, εξαρτάται από διάφορους παράγοντες και διευκολύνεται από την έκθλιψη και κάθε άλλο παράγοντα που επιφέρει διάρρηξη των κυττάρων όπως η θείωση, η παρουσία αιθανόλης, η αύξηση του χρόνου επαφής και η θερμοκρασία και εξασφαλίζεται χάρη στις κινήσεις του εν ζυμώσει γλεύκους και με την κυκλοφορία του γλεύκους ανάμεσα στα στέμφυλα. Ωστόσο, τα ήδη διαχυθέντα συστατικά μπορούν να επαναπροσροφηθούν από τα στέμφυλα ή τις ζύμες μετά την περίοδο της έντονης αύξησής τους. Η περιεκτικότητα ενός οίνου σε χρωστικές συνδέεται με την αρχική περιεκτικότητά τους στο σταφύλι. Συνήθως, το 20-30% των συστατικών που υπάρχουν αρχικά στα στέμφυλα θα βρεθεί στον οίνο. (Ronald, 2008)

Ο χρόνος συμπαραμονής του γλεύκους με τα στέμφυλα είναι βασικός παράγοντας της ποιότητας του οίνου και των χαρακτηριστικών του. Ο βέλτιστος χρόνος παραμονής είναι συνάρτηση του τύπου του προς παραγωγή οίνου, της ωρίμανσης, της θερμοκρασίας, της εκχύλισης, κ.λπ. Για παραγωγή οίνου που θα καταναλωθεί φρέσκος, η συμπαραμονή πρέπει να είναι σύντομη (3-4 ημέρες), αντίθετα από τους οίνους παλαίωσης που έχουν ανάγκη μεγαλύτερου χρόνου συμπαραμονής για μεγαλύτερο χρόνο εκχύλισης. Η απόφαση για το διαχωρισμό του οίνου από τα στέμφυλα αποτελεί κρίσιμο σημείο στην ερυθρή οινοποίηση και πρέπει να λαμβάνεται βάσει δεδομένων που προκύπτουν από μετρήσεις που αφορούν κυρίως την περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις, αλλά και μέσω οργανοληπτικής δοκιμασίας.

Η πορεία της αλκοολικής ζύμωσης παρακολουθείται με καθημερινή μέτρηση του βαθμού μπομέ ή του ειδικού βάρους και όταν αυτό περάσει κάτω από το 1 είναι απαραίτητη η ακριβής μέτρηση των σακχάρων, ώστε να προσδιοριστεί το τέλος της κατανάλωσης των σακχάρων που μπορούν να ζυμωθούν, δηλαδή το τέλος της ΑΖ. (Τσακίρης, 1998)

1.1.2 Μηλογαλακτική ζύμωση (ΜΓΖ)

Οι ερυθροί οίνοι, συνήθως, υποβάλλονται σε μηλογαλακτική ζύμωση, δηλαδή μία δευτερογενή ζύμωση κατά την οποία συμβαίνει μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό μέσω των γαλακτικών βακτηρίων. Εφαρμόζεται κατά ή κυρίως αμέσως μετά το τέλος της ΑΖ είτε αυθόρμητα, αν το επιτρέπουν οι συνθήκες, είτε με εμβολιασμό με καθαρές καλλιέργειες γαλακτικών βακτηρίων ή με προσθήκη οίνου στον οποίο πραγματοποιείται ή μόλις πραγματοποιήθηκε ΜΓΖ, σε ποσοστό 25-50% της ολικής ποσότητας. Η ΜΓΖ ενδείκνυται ιδιαίτερος για οίνους που έχουν υψηλή οξύτητα. (Σουφλερός, 2012)

Τα γαλακτικά βακτήρια μεταφέρονται από τους φλοιούς των σταφυλιών στο γλεύκος όπου αναπτύσσονται ταχύτατα τις πρώτες ώρες, παράλληλα με την ανάπτυξη των ζυμών οι οποίες είναι ανταγωνιστικές, κι έπειτα ο πληθυσμός τους μειώνεται ώσπου μηδενίζεται με την εμφάνιση της αιθανόλης στο εν ζυμώσει γλεύκος. Τα πιο ανθεκτικά είδη γαλακτικών βακτηρίων που επιζούν, αναπτύσσονται προς το τέλος της ΑΖ κι εξασφαλίζουν την έναρξη της ΜΓΖ.

Η ΜΓΖ ξεκινάει όταν τα βακτήρια αυτά (κυρίως των γενών *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*) φτάσουν ένα συγκεκριμένο πληθυσμό (10^6 / ml) και κατά τη διάρκειά της παρατηρούνται διάφορες μεταβολές στον οίνο, όπως:

- ✓ απότομη μείωση της ολικής οξύτητας (έως 3g/L), η οποία είναι συνάρτηση του αρχικά περιεχόμενου μηλικού οξέος και οφείλεται στο CO₂ που σχηματίζεται και στο ότι το μηλικό οξύ έχει δύο καρβοξυλομάδες, ενώ το γαλακτικό μόνο μία,
- ✓ μικρή αύξηση της πτητικής οξύτητας (0,1 – 0,2 g/L), η οποία οφείλεται κυρίως στην προσβολή του κιτρικού οξέος από τα βακτήρια,
- ✓ βιολογική σταθερότητα του οίνου καθώς το γαλακτικό οξύ είναι βιολογικά σταθερότερο από το μηλικό οξύ,
- ✓ μείωση του χρώματος του οίνου μετά τη ΜΓΖ, εξαιτίας της αύξησης του pH,
- ✓ γευστικές μεταβολές που οφείλονται στη μείωση της οξύτητας και στο γεγονός ότι το γαλακτικό οξύ είναι λιγότερο επιθετικό από το μηλικό οξύ,
- ✓ ανάπτυξη νέων αρωμάτων που επιταχύνουν το σχηματισμό αρωματικού μπουκέτου στον οίνο. (Ronald, 2008)

Τα γαλακτικά βακτήρια προκαλούν διάφορες επιθυμητές και ανεπιθύμητες μεταβολές στα συστατικά του οίνου. Κάτω από κάποιες συνθήκες, είναι ικανά να αποικοδομούν και άλλα συστατικά του οίνου εκτός του μηλικού οξέος, μεταξύ των οποίων και τα αζύμωτα σάκχαρα της ΑΖ. Σε αυτή την περίπτωση, τα βακτήρια μετατρέπονται σε επιβλαβή και μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση ασθενειών στον οίνο, γι' αυτό πρέπει με την εξαφάνιση του μηλικού οξέος να απομακρύνονται και τα βακτήρια. Ωστόσο, πρόωρη απομάκρυνση των βακτηρίων, δηλαδή πριν από τη ΜΓΖ, δεν εξασφαλίζει βιολογική σταθερότητα καθώς υπάρχει πάντα ο κίνδυνος επαναμόλυνσης του οίνου με βακτήρια. (Τσακίρης, 1998)

Γενικά, από όλες τις βακτηριακές μετατροπές (μηλογαλακτική ζύμωση και γαλακτικές ζυμώσεις σακχάρων, οξέων και γλυκερόλης) που υφίστανται οι οίνοι, μόνο η ΜΓΖ είναι χρήσιμη και επιζητείται για συγκεκριμένους τύπους οίνου, ενώ κάθε άλλη βακτηριακή δράση είναι επικίνδυνη και πρέπει να αποφεύγεται.

Η πορεία του πολλαπλασιασμού των βακτηρίων και η εξέλιξη της ΜΓΖ επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες κάποιιοι εκ των οποίων είναι:

- ✓ pH, θερμοκρασία, οξυγόνο
- ✓ φυσιολογικά χαρακτηριστικά
- ✓ διάρκεια παραμονής του οίνου με τα στέμφυλα
- ✓ ύπαρξη ορισμένων αμινοξέων, βιταμινών, ανόργανων στοιχείων
- ✓ αλκοόλη
- ✓ συγκέντρωση ανυδρίτη θειώδους οξέος (SO₂)
- ✓ χρήση αντιβιοτικών και αντισηπτικών
- ✓ ανταγωνισμός μεταξύ ζυμών και βακτηρίων (Σουφλερός, 2012)

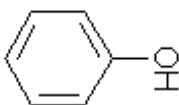
Κρίσιμο σημείο στην ερυθρή οινοποίηση σε σχέση με τη ΜΓΖ αποτελεί η προσθήκη θειώδη ανυδρίτη (SO₂), η οποία πρέπει να γίνεται μετά το τέλος της ΜΓΖ, ειδικά η βιαστική προσθήκη μπορεί να οδηγήσει σε καθυστέρηση ή διακοπή της ΜΓΖ.

Η παρακολούθηση και το τέλος της ΜΓΖ ελέγχονται με χρωματογραφία επί χάρτου ή με ενζυμική μέθοδο, όπου μετρώνται το μηλικό και γαλακτικό οξύ. Όταν η ΜΓΖ ολοκληρωθεί είναι σκόπιμο να γίνει μετάγγιση και θείωση του οίνου ώστε να αποτραπούν παραπέρα δυσμενείς βακτηριακές επιδράσεις. (Τσακίρης, 1998)

1.2 Φαινολική σύσταση του οίνου

Ο οίνος αποτελείται από μία πληθώρα συστατικών από τα οποία μόνο τα γνωστά σήμερα ανέρχονται σε κάποιες εκατοντάδες. Τα συστατικά του οίνου μπορούν να διακριθούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες που περιέχουν το **νερό**, τα **οργανικά συστατικά** εντός των οποίων συγκαταλέγονται και οι φαινολικές ενώσεις και τα **ανόργανα συστατικά** (ανιόντα και κατιόντα).

Ως φαινολικές χαρακτηρίζονται οι ενώσεις που στο μόριό τους περιέχουν τη χαρακτηριστική ομάδα φαινόλης



και σύμφωνα με τον Σουφλερό διακρίνονται σε τέσσερις κύριες οικογένειες:

1. Φαινολικά οξέα
2. Φλαβόνες
3. Ανθοκυάνες
4. Τανίνες

Οι ουσίες αυτές, οι οποίες προέρχονται από τα στερεά μέρη των σταφυλιών, είναι υπεύθυνες για το χρώμα των οίνων, εμπλέκονται στη διαμόρφωση των γευστικών χαρακτηριστικών των οίνων, όπως η στυφάδα, η τραχύτητα και η λιπαρότητα, προσδίδουν αντιοξειδωτική και αντιβακτηριακή προστασία (Monagas et al, 2005, Ronald, 2008), ενώ παίζουν και καθοριστικό ρόλο στην παλαίωση και στις διάφορες τεχνολογικές επεξεργασίες των οίνων.

Όσον αφορά την παλαίωση, το χρώμα μεταβάλλεται με ρυθμό συναρτήσει του είδους του οίνου και των συνθηκών συντήρησης. Τα ποσοστά των φαινολικών ουσιών διαμορφώνονται ανάλογα με την ποικιλία των σταφυλιών, τον χρόνο του τρύγου και τον τρόπο της οινοποίησης, ενώ και η ωρίμανση των σταφυλιών επηρεάζεται από τις συγκεντρώσεις αυτών. (Τσακίρης, 1998)

1.2.1 Τα φαινολικά οξέα

Οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν αντιβιοτικές και αντισηπτικές ιδιότητες, γι' αυτό χρησιμοποιούνται και στη συντήρηση των τροφίμων. Στον οίνο παίζουν ρόλο στη μικροβιολογική κατάστασή του και κυρίως των βακτηρίων (Monagas et al, 2005, Waterhouse, 2002). Καθώς κάποια από τα φαινολοξέα (γαλλικό και καφεϊκό οξύ) οξειδώνονται εύκολα, παίζουν ρόλο στην οξειδωτική μετρατροπή του χρώματος των λευκών γλευκών και οίνων σε φαιό. Στους ερυθρούς οίνους τα συστατικά αυτά βρίσκονται σε συγκεντρώσεις **100 - 150 mg/L**, είτε ελεύθερα είτε με τη μορφή ενώσεων. Γενικά, χωρίζονται σε δύο κατηγορίες.

Τα **βενζοϊκά οξέα** βρίσκονται στα σταφύλια με τη μορφή σύνθετων χημικών ενώσεων στις οποίες φαίνεται να συμμετέχουν και ανθοκυάνες, η μερική αποικοδόμηση των οποίων οδηγεί στην εμφάνιση ελεύθερων βενζοϊκών οξέων. Στην ελεύθερη κατάσταση συναντώνται επίσης κατά τη διάρκεια της παλαίωσης των οίνων, όπου και παρατηρείται αύξηση της περιεκτικότητάς τους, ενώ τέλος αποτελούν και βασικά συστατικά της δομής των τανινών.

Τα **κινναμωμικά οξέα** περιέχονται επίσης στα σταφύλια και στους οίνους με τη μορφή ενώσεων με ανθοκυάνες και τρυγικό οξύ.

1.2.2 Οι φλαβόνες

Οι ενώσεις αυτές (**καμπφερόλη, κερκετίνη, μυρισετίνη**) περιέχονται στο φλοιό των ραγών των σταφυλιών με τη μορφή των μονογλυκοζιτών-3 και όχι μόνο, και αποτελούν τις κίτρινες χρωστικές των φυτών. Στους ερυθρούς οίνους, λόγω της εύκολης υδρόλυσης αυτών των συστατικών, συναντώνται ελεύθερα τα άγλυκα συστατικά τους και οι συγκεντρώσεις τους διαφοροποιούνται σε σχέση με τις αντίστοιχες των σταφυλιών (Zafrilla et al, 2003), πλησιάζοντας περίπου τα **10 mg/L**. Οι ποικιλίες σταφυλιών που έχουν παχύ φλοιό ή μεγάλη τιμή λόγου φλοιού / όγκο ράγας οδηγούν στην παραγωγή οίνων με μεγάλη περιεκτικότητα σε αυτές τις ουσίες, η παρουσία των οποίων συμβάλλει σημαντικά στην σταθερότητα του χρώματος του οίνου. (McDonald et al, 1998)

1.2.3 Οι ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι οι ερυθρές χρωστικές του σταφυλιού, οι οποίες, εκτός ελαχίστων εξαιρέσεων, βρίσκονται μόνο στο φλοιό των ραγών. Από αυτές προκύπτουν οι διάφορες ανθοκυανιδίνες του σταφυλιού όπως η κυανιδίνη, πεονιδίνη, δελφινιδίνη, πετουνιδίνη και η μαλβιδίνη (οινιδίνη) που είναι η σημαντικότερη, από άποψη ποσότητας, χρωστική των ερυθρών σταφυλιών.

Καθώς οι ανθοκυανιδίνες στη φύση συναντώνται ενωμένες με κάποιο σάκχαρο στο μόριό τους, που στην περίπτωση των σταφυλιών αυτό το σάκχαρο είναι η γλυκόζη, ονομάζονται ανθοκυανίνες. Η γλυκόζη προσκολλάται στη θέση 3 του μορίου της ανθοκυανιδίνης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό του μονογλυκοζιτη-3... ή στις θέσεις 3 και 5, σχηματίζοντας το διγλυκοζιτη-3,5....., ενώ σπανιότερα συναντώνται και ακυλιωμένες ανθοκυανιδίνες, με προσκόλληση ενός κινναμωμικού οξέος (κυρίως π-κουμαρικού) στη θέση ενός OH της γλυκόζης.

Ο διαχωρισμός μεταξύ μονογλυκοζιτών και διγλυκοζιτών παρουσιάζει πρακτικό ενδιαφέρον, διότι επιτρέπει τη διαφοροποίηση μεταξύ οίνων που προέρχονται από ευρωπαϊκές ποικιλίες σταφυλιών, στις οποίες υπάρχουν αποκλειστικά μονογλυκοζίτες, κι από υβρίδια όπου εμπλέκονται αμερικάνικες ποικιλίες.

Οι ανθοκυάνες χαρακτηρίζονται από κάποιες φυσικοχημικές ιδιότητες, οι οποίες έχουν πρακτικό ενδιαφέρον στην οινολογία.

✓ Σε ισχυρά όξινο περιβάλλον οι ανθοκυανιδίνες και ιδιαίτερα η μαλβιδίνη, έχουν ερυθρό χρώμα, όταν όμως το pH αυξάνεται και το περιβάλλον γίνεται λιγότερο όξινο αποκτούν μία άγρωμη μορφή και αυτό το φαινόμενο μπορεί να επαναλαμβάνεται συνεχώς ανάλογα με το pH. Στο pH του οίνου, το ποσοστό της άγρωμης μαλβιδίνης είναι σχετικά υψηλό, ενώ σε χαμηλό pH οι ερυθροί οίνοι έχουν εντονότερο χρώμα.

✓ Κάποιες από τις ανθοκυάνες, όπως η κυανιδίνη, δελφινιδίνη και πετουνιδίνη, λόγω της δομής τους, όταν βρεθούν στο ίδιο περιβάλλον με τον τρισθενή σίδηρο και το αλουμίνιο δημιουργούν σύμπλοκα κυανού χρώματος, ιδιαίτερα όσο υψηλότερο είναι το pH. Αυτό εξηγεί και την αύξηση του χρώματος των ερυθρών οίνων κατά την οινοποίηση, όταν πραγματοποιείται προοδευτική οξειδωση του δισθενή σιδήρου σε τρισθενή.

✓ Τα όξινα θειώδη ιόντα δημιουργούν με τις ανθοκυάνες άχρωμες ενώσεις κι αυτό εξηγεί τον αποχρωματισμό των ερυθρών οίνων που ακολουθεί έπειτα από την προσθήκη θειώδη ανυδρίτη, καθώς όμως με το χρόνο μειώνεται ο ελεύθερος SO₂ ο κανονικός χρωματισμός του οίνου επανέρχεται.

✓ Οι ανθοκυάνες αποχρωματίζονται και με αναγωγή, κι αυτό το φαινόμενο πιθανόν να εξηγεί τον ασθενή χρωματισμό των οίνων αμέσως μετά την αλκοολική ζύμωση. Η μετέπειτα οξειδωση των ανθοκυανών και των τανινών αποκαθιστά το κανονικό χρώμα των ερυθρών οίνων. Το αρχικό χρώμα των οίνων οφείλεται αποκλειστικά στις ανθοκυάνες, αντίθετα από το χρώμα των παλαιωμένων οίνων και η περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες στους νέους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται από **200 έως 500mg/L**, ενώ κατά τη διάρκεια της παλαίωσης ελαττώνεται μέχρι να σταθεροποιηθεί στα **10 έως 20 mg/L**. (Σουφλερός, 2012, Ronald, 2008, Ribéreau-Gayon, 2006)

1.2.4 Οι τανίνες

Οι τανίνες είναι προϊόντα πολυμερισμού των απλών φαινολών και το μοριακό τους βάρος πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 500 και 3.500, ώστε να χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες ιδιότητες, ειδάλως είτε σχηματίζουν ασταθείς ενώσεις είτε ο σχηματισμός ενώσεων παρεμποδίζεται. Οι ιδιότητες των τανινών συνίστανται στο ότι συνενώνονται με πρωτεΐνες ή άλλα πολυμερή και σχηματίζουν αδιάλυτες ενώσεις. Κάποιες από τις ιδιότητες τους είναι ότι καθιζάνουν τις πρωτεΐνες και γλυκοπρωτεΐνες της σιέλου δημιουργώντας το αίσθημα της στυφής και πικρής γεύσης των οίνων, συμμετέχουν στη διαύγαση των οίνων σχηματίζοντας μεγαλομοριακά σύμπλοκα τα οποία καθιζάνουν λόγω βάρους και παρασύρουν τα διάφορα αιωρήματα, ενώ παρεμποδίζουν και τη δράση των ενζύμων. (Ribéreau-Gayon, 2006)

Ανάλογα με τη δομή τους, οι τανίνες διακρίνονται σε:

α) υδρολυμένες, οι οποίες αποτελούνται από ένα γλυκίδιο επάνω στο οποίο προσκολλώνται φαινολικές ενώσεις όπως το γαλλικό και ελλαγικό οξύ. Αυτές δεν περιέχονται στα σταφύλια, αλλά συναντώνται στους οίνους καθώς αποτελούν τις κύριες εμπορικές τανίνες που χρησιμοποιούνται στην κατεργασία των οίνων. Επίσης, τανίνες αυτής της κατηγορίας προέρχονται και από το ξύλο της δρυός, το οποίο χρησιμοποιείται με διάφορους τρόπους κατά την οινοποίηση, παράδειγμα αποτελούν οι ελλαγικές τανίνες η παρουσία των οποίων ανιχνεύθηκε από τους Chen (1070) και Seikel et al. (1971) σε ξύλο δρυός,

β) συμπυκνωμένες, οι οποίες προέρχονται από τον πολυμερισμό της κατεχίνης και λευκοανθοκυανιδίνης και συναντώνται φυσικώς στα στερεά μέρη των σταφυλιών και στους οίνους. (Roediger, 2006)

Η συμπεριφορά των τανινών εξαρτάται τόσο από το μοριακό τους βάρος όσο και από τον αριθμό των πολυμερών, γι' αυτό είναι αναγκαίος τόσο ο ποσοτικός υπολογισμός τους, όσο και ο προσδιορισμός της κατάστασης πολυμερισμού (συμπύκνωσης). Από την ποσότητα των τανινών που περιέχονται στα σταφύλια (μέχρι 65% στα γίγαρτα, 22% στους βόστρυχες, 12% στους φλοιούς και 1% στη σάρκα) ελάχιστο ποσοστό μεταφέρεται στους οίνους, το οποίο στους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται μεταξύ **1,5 και 4g/L**. (Σουφλερός, 2012, Τσακίρης, 1998)

Οι τανίνες συμμετέχουν στα διάφορα στάδια της παλαίωσης των ερυθρών οίνων δρώντας αντιοξειδωτικά και προστατεύοντας τον οίνο από τις επιδράσεις του οξυγόνου, ενώ συμμετέχουν και στο ανεπιθύμητο σιδηρικό θόλωμα των οίνων μέσω των ενώσεων που σχηματίζουν με το Fe. Κατά τη διατήρηση και παλαίωση εξακολουθούν να πολυμερίζονται δημιουργώντας μεγαλομοριακά σύμπλοκα βάσει των οποίων διαμορφώνονται τα ιζήματα των χρωστικών ουσιών. Παράλληλα, αυξάνει η ένταση των ιδιοτήτων τους μέχρι ορισμένου σημείου, πέρα από το οποίο η ένταση αυτή μειώνεται. Παράδειγμα αποτελεί η μείωση της στυφής γεύσης κατά την παλαίωση του οίνου. Τέλος, η μεταβολή του χρώματος στους οίνους από ζωηρό ερυθρό σε κεραμιδί είναι αποτέλεσμα του πολυμερισμού των τανινών σε συνδυασμό με την επίδραση του O₂, του Fe αλλά και άλλων παραγόντων. (Ribéreau-Gayon, 2006)

1.3 Αγιωργίτικο

1.3.1 Η ποικιλία

Το Αγιωργίτικο αποτελεί μία από τις πιο ευγενείς, εκλεκτές και πλούσιες σε χρώμα, ερυθρές ποικιλίες οινοποιίας που καλλιεργούνται στην Ελλάδα εδώ και πάρα πολλά χρόνια και πιο συγκεκριμένα στην ευρύτερη περιοχή της Νεμέας, περιοχή η οποία χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλομορφία όσον αφορά τις εδαφοκλιματικές συνθήκες (υψόμετρο 250 – 850 μ.). Εκτός από τη Νεμέα από όπου προέρχεται, απαντάται επίσης σε πολλά αμπελουργικά διαμερίσματα της Πελοποννήσου, τη Στερεά Ελλάδα, τη Θεσσαλία, την Εύβοια κ.α. (www.wikipedia.gr)

Μεταξύ των ιδιοτήτων που χαρακτηρίζουν το Αγιωργίτικο είναι η ζωνρότητα, ευρωστία, όψιμη ωρίμανση και η έντονη παραγωγικότητα, αλλά και η ευαισθησία που παρουσιάζει στο ωίδιο, τις ιώσεις και τον περονόσπορο, καθώς και στην ξηρασία, στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες και στον ανοιξιότικο παγετό.

Η ποιότητα των παραγόμενων οίνων όπως και οι γλευκογραφικοί χαρακτήρες της ποικιλίας παρουσιάζουν έντονη διαφοροποίηση, η οποία οφείλεται στην πολυκλωνικότητα της ποικιλίας σε συνδυασμό με το μεγάλο αριθμό μικροκλιματικών περιοχών στις οποίες ευδοκιμεί η συγκεκριμένη ποικιλία. Ειδικότερα, η διαμόρφωση του εδαφικού αναγλύφου και η υψηλή ατμοσφαιρική υγρασία υπό την επίδραση καταβατικών ανέμων, συμβάλλουν στην ομαλή ωρίμανση με όλες τις ευεργετικές επιδράσεις στην ποιότητα των σταφυλιών και των παραγόμενων οίνων. Επιπλέον, λοφώδεις περιοχές με υψόμετρο άνω των 300μ. και χαλικώδη, μέσης σύστασης, γόνιμα εδάφη, όπου τα πρέμνα παρουσιάζουν κανονική ευρωστία και η διακύμανση της θερμοκρασίας συμβάλλει στην ωρίμανση του φορτίου με αργό ρυθμό, δίνουν αμπελοοινικά προϊόντα υψηλής ποιότητας, καθώς οι συνθήκες αυτές επιδρούν θετικά στην απόκτηση του επιθυμητού βαθμού τεχνολογικής ωρίμανσης ανάλογα με τον τύπο του οίνου. (Σταυρακάκης, 2010)

Όσον αφορά το γλεύκος της ποικιλίας, χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα (220 – 240 g/L), χαμηλή οξύτητα (4,4 – 6,4 g/L σε τρυγικό οξύ) και έχει pH 3,4 – 3,8, ενώ η ποικιλία αποτελεί μία από τις πλουσιότερες ελληνικές ποικιλίες σε ανθοκυάνες (900 – 1.000 mg/Kg ραγών) και ολικές φαινόλες (2.400 – 2.500 mg/Kg ραγών), οι τιμές των οποίων επηρεάζονται έντονα από τον κλώνο, την καλλιεργητική τεχνική και τις εδαφοκλιματικές συνθήκες. (Σταυρακάκης, 2010)

1.3.2 Ο οίνος

Η ποικιλία Αγιωργίτικο συχνά αναφέρεται ως «πολυδύναμη», επειδή μπορεί να οδηγήσει σε ευρύ φάσμα τύπων και στυλ κρασιών, όπως δροσιστικά ροζέ, φρέσκα ή παλαιωμένα ερυθρά, ημίγλυκα, γλυκά και Nouveau κρασιά. Ωστόσο, τα πιο γνωστά στυλ κρασιών από Αγιωργίτικο είναι δύο: τα νεαρά, ξηρά ερυθρά δεξαμενής και τα ερυθρά που έχουν ωριμάσει σε βαρέλι, τουλάχιστον για ένα έτος.

Γενικά, οι οίνοι που παράγονται από την ποικιλία Αγιωργίτικο έχουν πλούσιο και βαθύ ερυθρό χρώμα με ιώδεις αποχρώσεις και επιδέχονται παλαίωση, έπειτα από την οποία αποκτούν άρωμα και σώμα. Τα νεαρά κρασιά έχουν μετρίως βαθύ ερυθρό χρώμα, έντονα αρώματα φρέσκων κόκκινων φρούτων, μέτρια οξύτητα και μαλακές τανίνες. Τα κρασιά που έχουν ωριμάσει σε βαρέλι έχουν βαθύ χρώμα, ενώ η μύτη τους αποκαλύπτει συμπυκνωμένα και πολυσύνθετα αρώματα κόκκινων φρούτων. Στο στόμα είναι πλούσια, με ώριμες τανίνες υψηλής ποιότητας. Το Αγιωργίτικο είναι μια ποικιλία που μπορεί να δώσει και άλλους τύπους κρασιών, όπως ροζέ ή επιδόρπια κρασιά από λιαστά σταφύλια. Πολλοί παραβάλλουν το Αγιωργίτικο με την ιταλική ποικιλία Sangiovese, που δίνει τα κρασιά Chianti. Η ανάμιξη του με Cabernet Sauvignon, έχει δώσει πολλά ενδιαφέροντα κρασιά. (www.newwinesofgreece.com)

Όσον αφορά την περιοχή της Νεμέας, οι αμπελώνες της χωρίζονται σε 3 υποπεριοχές ανάλογα με το υψόμετρο, με συνέπεια οι οίνοι που προκύπτουν να διαφέρουν ως προς τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά, καθώς το υψόμετρο επιδρά έμμεσα στον αλκοολικό τίτλο, την οξύτητα, τη φαινολική σύσταση και το άρωμα.

Οι οίνοι που προέρχονται από τη χαμηλή ζώνη (200 - 320μ.) από αμπελώνες με πρόωμη ωρίμανση, εμφανίζουν πολλά σάκχαρα, υψηλό αλκοολικό τίτλο, χαμηλή οξύτητα και συνήθως είναι ημίγλυκοι και γλυκοί. Γενικά όμως, είναι μία ζώνη από την οποία οι παραγόμενοι οίνοι παρουσιάζουν μεγάλη ανομοιομορφία και μπορεί είτε να έχουν ιδιαίτερο ποιοτικό δυναμικό με βαθυκόκκινο χρώμα, μαλακή ισορροπημένη γεύση και έντονα αρώματα, είτε να είναι ουδέτεροι, χωρίς σώμα, με όξινη, στυφή γεύση και φτωχά αρώματα.

Στη μεσαία ζώνη (320-550μ) παράγονται υψηλής ποιότητας ερυθροί οίνοι με πλούσιο βαθυκόκκινο χρώμα, μαλακές τανίνες, αλλά και οίνοι που επιδέχονται παλαίωση έως 10 χρόνια και χαρακτηρίζονται από σύνθετο μπουκέτο (μπαχάρια - κανέλα, γαρίφαλο,

μοσχοκάρυδο και βαλσαμικά αρώματα - δενδρολίβανο), ισορροπημένη οξύτητα, ευγενείς τανίνες και υψηλούς αλκοολικούς τίτλους (13-14% vol.)

Από την ορεινή ζώνη (550-850μ) προκύπτουν οίνοι φρέσκοι (εκχύλιση μέχρι 6 μέρες) ερυθροί ή ροζέ με πλούσιο ρουμπινί χρώμα, πλούσια αλλά όχι δυνατά αρώματα φρέσκων φρούτων (κεράσι, δαμάσκηνο) και λουλουδιών, χαμηλό αλκοολικό τίτλο και υψηλή οξύτητα. (www.nemeawines.gr)

1.3.3 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο - ΞΥΛΟ

Το ξύλο ως μη αδρανές υλικό, μεταβάλλει τη σύσταση του οίνου. Οι διάφορες θερμικές κατεργασίες που υφίσταται ένα βαρέλι κατά τη διάρκεια της κατασκευής του, τροποποιούν σημαντικά τη σύστασή του σε αρωματικά συστατικά, τα οποία στη συνέχεια επηρεάζουν τους οργανοληπτικούς χαρακτήρες του οίνου. Το συχνότερα χρησιμοποιούμενο είδος ξύλου είναι η δρυς. (Τσακίρης, 1998)

Η χρήση της δρυός, η οποία άρχισε να εξαπλώνεται εδώ και δύο χιλιετίδες, από τον καιρό ακόμη της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας, συμβάλλει σημαντικά στην οινοποίηση καθώς επηρεάζει το χρώμα, τη γεύση, τις τανίνες και την υφή του παραγόμενου οίνου. Η δρυς έρχεται σε επαφή με τον οίνο είτε με τη χρήση βαρελιών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ή της ωρίμανσης είτε με την εισαγωγή τσιπς, σανίδων ή ράβδων κλπ στη δεξαμενή ζύμωσης. Η χρήση των βαρελιών, ωστόσο, μπορεί να προσδώσει άλλα χαρακτηριστικά στον παραγόμενο οίνο μέσω της εξάτμισης και του χαμηλού επιπέδου έκθεσης στο οξυγόνο. (Robinson, 2003)

2.1 Είδη ξύλου

Η δρυς (βαλανιδιά) είναι δένδρο που φτάνει τα 25-30 μέτρα σε ύψος, ζει περισσότερο από 300 χρόνια και συνήθως κόβεται στα 180-250 έτη. Υπάρχουν πολλά είδη δρυός που είτε φύονται είτε καλλιεργούνται σε διάφορες περιοχές του κόσμου, δίνοντας ξύλο διαφορετικής ποιότητας. Οι περισσότερο χρησιμοποιούμενες στη βαρελοποιία είναι γαλλικής προέλευσης, αλλά και από Πορτογαλία, Τσεχοσλοβακία, Πολωνία, Ουγγαρία, Αυστρία, Γιουγκοσλαβία, Η.Π.Α., Ρωσία κ.λπ. Από τα πολλά είδη, μόνο λίγα είναι κατάλληλα για την κατασκευή βαρελιών. (Τσακίρης, 1998)

Τα είδη δρυός που χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή αμερικάνικης δρυός είναι το *Quercus alba*, το οποίο είναι λευκή δρυς που χαρακτηρίζεται από σχετικά γρήγορη ανάπτυξη, πλατείς ιστούς και χαμηλή συγκέντρωση τανινών στο ξύλο. Εντοπίζεται κυρίως στις περισσότερες ανατολικές ΗΠΑ από όπου προέρχονται πολλά βαρέλια, ενώ στο Oregon η λευκή δρυς *Quercus garryana* έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται εξαιτίας των κοντινότερων ομοιοτήτων της με την ευρωπαϊκή δρυ.

Στη Γαλλία, τόσο η *Quercus robur* (κοινή δρυς) όσο και η *Quercus petraea* (λευκή δρυς) θεωρούνται κατάλληλες για οινοποίηση, ωστόσο η δεύτερη θεωρείται μακράν ανώτερη για τη λεπτότερη υφή της και την πλουσιότερη συνεισφορά της σε αρωματικά συστατικά όπως η βανιλίνη και τα παράγωγά της, και η μεθυλ-οκταλακτόνη, αλλά και σε τανίνες, φαινόλες και πτητικές αλδεΐδες. Η γαλλική δρυς προέρχεται από ένα ή περισσότερα δάση που βρίσκονται σε περιοχές της Γαλλίας και το ξύλο καθενός από αυτά τα δάση εμφανίζει ελαφρώς διαφορετικά χαρακτηριστικά. Πολλοί οινοποιοί χρησιμοποιούν βαρέλια κατασκευασμένα από διαφορετικά βαρελοποιεία, περιοχές και βαθμό καψίματος στην ανάμιξη των οίνων τους για να ενισχύσουν την πολυπλοκότητα του παραγόμενου οίνου. (Stevenson, 2005)

Στην Ιταλία χρησιμοποιούν σλοβένικη δρυ του είδους *Quercus robur*, το οποίο είναι γνωστό για την σφιχτή του υφή, τη χαμηλή συγκέντρωση αρωματικών και τις τανίνες μεσαίου επιπέδου. Η σλοβένικη δρυς τείνει να χρησιμοποιείται σε μεγαλύτερου μεγέθους βαρέλια (με μικρότερη επιφάνεια σε σχέση με τον όγκο), με τα ίδια βαρέλια να επαναχρησιμοποιούνται για πολλά περισσότερα χρόνια πριν την αντικατάστασή τους.

Κατά τη διάρκεια των ετών έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλα είδη ξύλου στην κατασκευή μεγάλων δεξαμενών οινοποίησης, συμπεριλαμβανομένων της καστανιάς, του πεύκου, της σεκόγιας και της ακακίας, ωστόσο κανένα από αυτά δεν παρουσιάζει την συμβατότητα με τον οίνο που επιδεικνύει η δρυς, συνδυάζοντας τη δυνατότητα αποθήκευσης και στεγανότητας, αν και ελαφρώς πορώδης, με τα μοναδικά χαρακτηριστικά αρώματος γεύσης και υφής που προσδίδει στον οίνο με τον οποίο έρχεται σε επαφή. Η καστανιά είναι πολύ υψηλή σε τανίνες και είναι πάρα πολύ πορώδης ως βαρέλι αποθήκευσης και πρέπει να επικαλυφθεί με παραφίνη για να αποτραπεί η υπερβολική απώλεια οίνου μέσω της εξάτμισης. Η σεκόγια είναι πάρα πολύ άκαμπτη ώστε να λυγίσει σε μικρότερου σχήματος βαρέλια και μεταδίδει ένα δυσάρεστο άρωμα γεύσης. Η ακακία προσδίδει μία κίτρινη απόχρωση στον οίνο, ενώ άλλα σκληρά ξύλα όπως η μηλιά και η κερασιά έχουν μία απωθητική οσμή. Βαρέλια από ακακία χρησιμοποιούνται από οινοποιούς στην Αυστρία, ενώ ιστορικά, η καστανιά χρησιμοποιήθηκε από Ιταλούς και Πορτογάλους οινοποιούς. (Robinson, 2003, 2006)

Γενικά, σε ορεινές βόρειες περιοχές παρατηρείται πιο κανονική αύξηση και μικροί πόροι, κατάλληλοι για παλαίωση οίνων που έχουν ανάγκη μικρότερης οξυγόνωσης, ενώ οι

δρύες των παραθαλάσσιων, θερμών περιοχών είναι πιο πορώδεις και πιο δύσκολες στην κατεργασία τους, καταλληλότερες για αποστάγματα. Η γεωγραφική προέλευση της περιοχής από όπου προέρχεται η ξυλεία κάθε βαρελιού είναι πολύ δύσκολο να γίνει αντιληπτή, αφού η ξυλεία προέρχεται από διαφορετικά δέντρα και συνεπώς τα βαρέλια διαφέρουν μεταξύ τους. Ο ίδιος οίνος διαφοροποιείται ποιοτικά ωριμάζοντας σε διαφορετικά βαρέλια. Έτσι, δίνεται μεγάλη σημασία τόσο στην χώρα, όσο και στην περιοχή από την οποία προέρχεται το ξύλο, διότι τα ίδια είδη αναπτυσσόμενα σε διαφορετικές κλιματικές, γεωλογικές και γεωγραφικές συνθήκες παρουσιάζουν διαφορετικά χαρακτηριστικά ανάπτυξης και δίνουν κορμούς με διαφορετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, ακόμη και δέντρα από τον ίδιο τόπο. (Τσακίρης, 1998)

2.2 Διαφορές μεταξύ αμερικανικής και γαλλικής δρυός

Η αμερικανική δρυς τείνει να έχει πιο έντονο άρωμα γεύσης από ότι η γαλλική με πιο γλυκιά και χροιά βανίλιας, καθώς η αμερικανική έχει δύο έως τέσσερις φορές περισσότερες λακτόνες. Οι οινοποιοί επιλέγουν συνήθως την αμερικανική δρυ για έντονους, δυνατούς ερυθρούς οίνους, που αποτελούν βάση για ανάμειξη, είτε για οίνους Chardonnay θερμού κλίματος. Εκτός του ότι προέρχονται από διαφορετικά είδη, μια σημαντική διαφορά μεταξύ της αμερικανικής και γαλλικής δρυός προέρχεται από την προετοιμασία του ξύλου. Η σφιχτότερη υφή και η λιγότερο στεγανή φύση της γαλλικής δρυός υποχρεώνει τους βαρελοποιούς να χωρίσουν το ξύλο κατά μήκος της υφής. Το ξύλο τότε παλαιώνει ή "ψήνεται" για 24 έως 36 μήνες στην ύπαιθρο.

Αν και οι Αμερικανοί βαρελοποιοί μπορούν να χρησιμοποιήσουν μια μέθοδο ξήρανσης με κλίβανο για να «ψηθούν» το ξύλο, σχεδόν όλοι οι άλλοι «ψηίνουν» την αμερικανική δρυ ακριβώς με τον ίδιο τρόπο όπως τη γαλλική. Το στέγνωμα στην ύπαιθρο έχει το πλεονέκτημα της έκπλυσης ανεπιθύμητων χημικών συστατικών και των πικρών τανινών, μαλακώνοντας τη δρυ με ένα τρόπο που οι μέθοδοι ξήρανσης με κλίβανο είναι ανίκανοι να τον αντιγράψουν. Ακόμη κι αν ο ήλιος, η βροχή και ο άνεμος αρκούν στις περισσότερες περιπτώσεις για να «ψηθεί» η δρυς, οι βαρελοποιοί σε ξηρότερα κλίματα χρησιμοποιούν έως και 2000 mm νερού το χρόνο στις στοίβες των ξύλων τους προκειμένου να διευκολύνουν τη διαδικασία «ψησίματος».

Από τη στιγμή που η γαλλική δρυς πρέπει να χωριστεί, μόνο το 20 με 25% του δέντρου μπορεί να χρησιμοποιηθεί, ενώ η αμερικανική δρυς μπορεί να πριονιστεί, γεγονός που την καθιστά τουλάχιστον δυο φορές πιο οικονομική. Η εντονότερη οξείδωση και η ταχύτερη απελευθέρωση των αρωμάτων της, βοηθάει τους οίνους να χάσουν τη στυπτικότητα και την τραχύτητα γρηγορότερα, το οποίο καθιστά την αμερικανική δρυ το ξύλο επιλογής για συντομότερες ωριμάνσεις - έξι έως δέκα μήνες. Λόγω της μέτριας συνεισφοράς τανινών από την αμερικανική δρυ, το τέλειο πρώτο γέμισμα είναι ένας οίνος με άφθονες τανίνες και καλή υφή, κάτι που επιτρέπει την αρμονική αλληλεπίδραση με το ξύλο, το οποίο συμβάλει σε ένα ευρύ φάσμα με πολύπλοκα αρώματα και μαλακές, αλλά πολύ εύγευστες τανίνες.

Η γαλλική δρυς, από την άλλη πλευρά, παράγει μεταξένιες, ξεκάθαρες τανίνες, οι οποίες μεταδίδουν μια αίσθηση ελαφράς γλυκύτητας σε συνδυασμό με φρουτώδη αρώματα γεύσης που παραμένουν στο στόμα. Μπαχαρικά και ψημένα αμύγδαλα είναι αξιοσημείωτα, σε συνδυασμό με αρώματα ώριμων κόκκινων φρούτων στους ερυθρούς οίνους, και νότες ροδάκινου, εξωτικών φρούτων και αρώματα λουλουδιών όπως γιασεμί και τριαντάφυλλο στους λευκούς, ανάλογα με την ποικιλία των σταφυλιών που χρησιμοποιείται.

2.3 Επιδράσεις στον οίνο

Η πορώδης φύση ενός βαρελιού δρυός επιτρέπει κάποια επίπεδα εξάτμισης και οξυγόνωσης στον οίνο, όχι όμως σε επίπεδα που θα προκαλούσαν την οξείδωση ή αλλοίωσή του. Κατά τη διάρκεια ενός χρόνου, ένα τυπικό βαρέλι 225 λίτρων μπορεί να χάσει μέσω της πορείας της εξάτμισης από 21 έως 25 λίτρα οίνου. Αυτή η εξάτμιση (κυρίως αλκοόλης και νερού) επιτρέπει στον οίνο να συμπυκνώσει τα συστατικά της γεύσης και του αρώματός του. Μικρά ποσά οξυγόνου περνούν στο βαρέλι και δρουν ως παράγοντας που μαλακώνει τις τανίνες του οίνου.

Οι χημικές ιδιότητες της ίδιας της δρυός μπορούν να έχουν σημαντική επίδραση στον οίνο. Για παράδειγμα, οι φαινόλες εντός του ξύλου αλληλεπιδρούν με τον οίνο και παράγονται αρώματα γεύσης βανίλιας, ενώ μπορούν να δώσουν μία εντύπωση από νότες τσαγιού και γλυκύτητας. Επίσης, ο βαθμός καψίματος του βαρελιού μπορεί να προσδώσει διαφορετικές ιδιότητες επηρεάζοντας τα επίπεδα των τανινών του οίνου καθώς και τα επιθετικά αρώματα γεύσης του ξύλου. Οι υδρολυμένες τανίνες που βρίσκονται στο ξύλο,

γνωστές ως ελλαγικές τανίνες, προέρχονται από τις δομές της λιγνίνης του ξύλου και βοηθούν στην προστασία του οίνου από την οξειδωση και την αναγωγή. (MacNeil, 2001, Robinson, 2006)

Ο οίνος μπορεί είτε να ζυμωθεί είτε να τοποθετηθεί σε δρύινο βαρέλι μετά τη ζύμωση για την περίοδο ωρίμανσης ή παλαίωσης. Ο οίνος που ωριμάζει σε δρυ λαμβάνει περισσότερα από τα αρώματα γεύσης και τις ιδιότητες της δρυός από ότι ένας οίνος που ζυμώνει σε δρυ. Αυτό συμβαίνει διότι τα κύτταρα των ζυμών αλληλεπιδρούν με τη δρυ και προσκολλώνται στα συστατικά της και όταν τα νεκρά κύτταρα των ζυμών απομακρύνονται από τον οίνο ως οινολάσπες, κάποιες από τις ιδιότητες της δρυός χάνονται μαζί τους. Για παράδειγμα, ένας οίνος που ζυμώνει παρουσία δρυός κι έχει ωχρό χρώμα, αν ζυμωθεί πρώτα σε δεξαμενή από ατσάλι και έπειτα ωριμάσει παρουσία δρυός θα αποκτήσει σκουρότερο χρώμα εξαιτίας των υψηλών συγκεντρώσεων φαινολικών που υπάρχουν. (MacNeil, 2001, Robinson, 2006)

Η χρονική διάρκεια που παραμένει ένας οίνος σε βαρέλι εξαρτάται από την ποικιλία και το στυλ του οίνου που επιθυμεί να παρασκευάσει ο οινοποιός. Η πλειονότητα των αρωμάτων γεύσης της δρυός μεταδίδονται τους πρώτους μήνες που ο οίνος βρίσκεται σε επαφή με τη δρυ, αλλά μία μακροχρόνια έκθεση μπορεί να επηρεάσει τον οίνο μέσω του ελαφρού αερισμού που επιτρέπει το βαρέλι, κάτι που βοηθάει στην καθίζηση των φαινολικών συστατικών και κινητοποιεί τη διαδικασία παλαίωσης του οίνου.

2.4 Εναλλακτικά προϊόντα

Παρά το γεγονός ότι δρύινα βαρέλια χρησιμοποιούνται εδώ και πολύ καιρό από τους οινοποιούς, πολλά οινοποιεία χρησιμοποιούν πλέον τσιπς ξύλου δρυός για γρηγορότερη παλαίωση του οίνου και για να προσθέσουν επίσης τα επιθυμητά αρώματα του ξύλου μαζί με αρώματα γεύσης βανίλιας. Η χρησιμοποίηση των τσιπς είναι σχετικά πρόσφατη τεχνική αρωματισμού των οίνων και άρχισε να χρησιμοποιείται στην Αυστραλία και την Καλιφόρνια, με σκοπό την παραγωγή οίνων που θα μιμείτο την επίδραση του ξύλου του βαρελιού στο άρωμα και τη γεύση του οίνου. Η τεχνική αυτή δεν επηρεάζει το σκέλος της παλαίωσης, δηλαδή της αργής επίδρασης που οφείλεται στο οξυγόνο που περνάει μέσα από το ξύλο του βαρελιού και αν και έχει πολλούς πολέμιους που τη θεωρούν ένα είδος τεχνητού αρωματισμού, οι οίνοι αυτού του τύπου βρήκαν θετική ανταπόκριση στους καταναλωτές και

του διεθνούς ανταγωνισμού με αποτέλεσμα η Ευρωπαϊκή Ένωση να επιτρέψει τη χρήση τους. (Τσακίρης, 1998)

Οργανοληπτικά, οι οίνοι αυτοί εντοπίζονται από το άρωμα της ανιλίνης, η οποία δεν συμπληρώνεται από τα αρώματα ωρίμανσης που αποκτούν οι οίνοι μετά από παλαίωση σε δρύινο βαρέλι. Είναι κοινή εσφαλμένη αντίληψη ότι η δρυς προσδίδει αρώματα γεύσης βουτύρου στον οίνο, διότι αυτά προέρχονται από το κιτρικό οξύ, βρίσκονται φυσικά στον οίνο και μετατρέπονται κατά τη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης σε διακετύλιο. Αυτή η διαδικασία αντιστρέφεται, αν και η προσθήκη διοξειδίου του θείου το αποτρέπει, και το διακετύλιο παραμένει. Τα τσιπς ξύλου δρυός μπορούν να προστεθούν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης στη δεξαμενή με τον σταφυλοπολτό, κάτι που είναι δύσκολο να ελεγχθεί, μετά τη ζύμωση οπότε υπάρχει η δυνατότητα ελέγχου με μεγαλύτερη ακρίβεια, ή κατά τη διάρκεια της παλαίωσης. Στην τελευταία περίπτωση, τοποθετούνται σε ευρύχωρους υφασμάτινους σάκους κι αυτοί στον οίνο που παλαιώνει.

Η ποικιλομορφία των τσιπς που διατίθενται στο εμπόριο προσφέρει στους οινοποιούς πολλές επιλογές. Η δόση στην οποία χρησιμοποιούνται είναι 1-4 γραμμάρια ανά λίτρο οίνου, η οποία εξαρτάται τόσο από την ποιότητά τους όσο και από το πόσο επιθυμεί ο οινοποιός να επηρεάσουν το άρωμα του οίνου. Για να αποφευχθεί η κατεργασία μεγαλύτερων ποσοτήτων οίνων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μία αυξημένη δοσολογία π.χ. 10 γραμμαρίων ανά λίτρο σε μικρότερη ποσότητα οίνου, το οποίο θα χρησιμοποιηθεί έπειτα για ανάμειξη με την επιθυμητή ποσότητα που δεν έχει υποστεί επαφή με τα τσιπς ξύλου δρυός. Τα τσιπς έχουν τέτοιο μέγεθος, ώστε με την πρώτη χρήση να εκχυλίζεται το σημαντικότερο μέρος των συστατικών τους κι έτσι δεν έχει νόημα η επαναχρησιμοποίησή τους. Άλλωστε, καθώς απορροφούν κρασί και στη συνέχεια εκτίθενται στον αέρα, αυξάνουν κατακόρυφα τις πιθανότητες ανάπτυξης διαφόρων βακτηρίων. (Τσακίρης, 1998) Έτσι, έχουν το όφελος να προσδίδουν έντονο άρωμα γεύσης δρυός σε λίγες εβδομάδες (1-4), ενώ τα παραδοσιακά δρύινα βαρέλια θα χρειαζόταν ένα έτος ή περισσότερο να μεταφέρουν παρόμοια ένταση. Οι επικριτές ισχυρίζονται ότι το άρωμα γεύσης δρυός από τα τσιπς τείνει να είναι μονοδιάστατο και κλίνει προς το εκχύλισμα βανίλιας με τους οίνους να εξακολουθούν να στερούνται κάποια από τα φυσικά οφέλη που προσδίδει ένα δρύινο βαρέλι.

Η χρήση σκόνης (πούδρας) δρυός είναι λιγότερο συχνή από ότι τα τσιπς, αν και είναι μια πολύ πρακτική εναλλακτική λύση, εάν πρόκειται να εισαχθεί ο δρύινος χαρακτήρας κατά

τη διάρκεια της ζύμωσης. Κάποιες φορές χρησιμοποιούνται σανίδες ή δούγιες δρυός κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ή της παλαίωσης. Οι οίνοι που παράγονται από αυτά τα εναλλακτικά προϊόντα (Εικ. 2) αντί του βαρελιού συνήθως δεν παλαιώνουν όπως αυτοί που ωριμάζουν σε βαρέλια, ωστόσο βελτιώσεις στη μικρο-οξυγόνωση έχουν επιτρέψει στους οινοποιούς να μιμηθούν καλύτερα τον ήπιο αερισμό των δρύινων βαρελιών σε δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα με τσιπ δρυός.

Πριν από το 2006, η πρακτική χρησιμοποίησης τσιπς ξύλου δρυός ήταν εκτός νόμου στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Το 1999, το Εφετείο του Μπορντό επέβαλε πρόστιμα σε τέσσερα οινοποιεία, συμπεριλαμβανομένου του τρίτου σε ανάπτυξη Chateau Giscours, πάνω από 13 χιλιάδες δολάρια Αμερικής για τη χρήση τσιπς ξύλου δρυός σε οίνο τους. (Mann, 1999)



Σκόνη (powder)



Εύσματα (granulates)



Τσιπς (chips)



Κομμάτια (segments)



Δούγιες (staves)



Ράβδοι (sticks)

Εικόνα 2. Εναλλακτικά προϊόντα ξύλου

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο – HPLC

3.1 Γενικά

Η **υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης ή απόδοσης** (High Pressure / Performance Liquid Chromatography) - HPLC είναι μία βελτιωμένη μορφή χρωματογραφίας στήλης και αποτελεί τεχνική, η οποία χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό των συστατικών ενός μίγματος και την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση του καθενός από αυτά. Σε αντίθεση με την υγρή χρωματογραφία χαμηλής πίεσης, όπου ο διαλύτης για να περάσει από τη στήλη βασίζεται στη δύναμη της βαρύτητας, στην HPLC ο διαλύτης ωθείται μέσω υψηλών πιέσεων (50 – 400 bar) κι αυτό την κάνει ταχύτερη. Εξαιτίας της μικρής ποσότητας δείγματος που χρησιμοποιείται προς διαχωρισμό στην HPLC, οι τυπικές διαστάσεις της στήλης είναι 2,1 – 4,6 διάμετρος και 30–250 mm μήκος. Επίσης, οι στήλες είναι κατασκευασμένες με μικρότερα σωματίδια προσρόφησης (2–50 μm σε μέγεθος σωματιδίου) κι αυτό δίνει στην HPLC ανώτερη αναλυτική ικανότητα στο διαχωρισμό μιγμάτων, που αποτελεί και το λόγο του γιατί είναι δημοφιλής τεχνική χρωματογραφίας. (www.xtremepapers.com)

Ο διαχωρισμός των συστατικών του υπό εξέταση δείγματος στηρίζεται στην ύπαρξη αντλιών από τις οποίες περνάει υπό πίεση ο υγρός διαλύτης (κινητή φάση) του μίγματος μέσω μίας στήλης πλήρους με ένα στερεό προσροφητικό υλικό (στατική φάση).

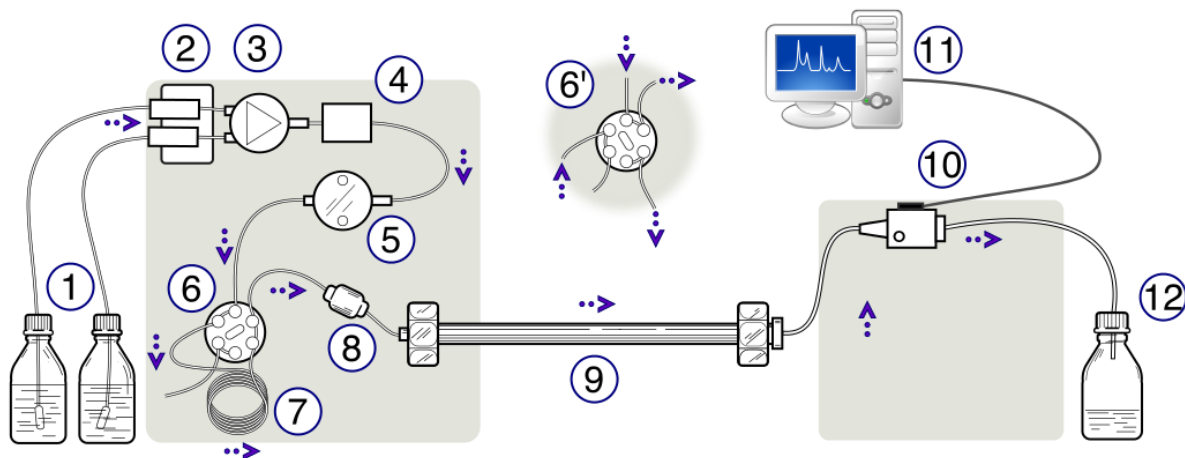
Η **στατική φάση** είναι στερεό πορώδες υλικό ή υγρό καθηλωμένο σε στερεό υπόστρωμα και αποτελείται από σωματίδια υψηλής διαχωριστικής ικανότητας, δηλαδή μικρής διαμέτρου 2-50 μm και μεγάλης αντίστασης (π.χ. σιλικόνη, πολυμερή κ.λπ.).

Η **κινητή φάση** είναι υγρό, διαλύτης ή σύστημα από δύο έως τέσσερις διαλύτες, π.χ. νερό, ακετονιτρίλιο και / ή μεθανόλη, και η διαβίβασή της γίνεται με τη χρήση αντλιών υψηλής πίεσης, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη σταθερότητα της παροχής της κινητής φάσης (ταχύτητα ροής). Η σύνθεσή της και η θερμοκρασία παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία διαχωρισμού καθώς επηρεάζουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών του δείγματος και του μέσου προσρόφησης. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις συμβαίνουν φυσικά στην φύση, όπως υδρόφοβες, διπόλου – διπόλου και ιοντικές, και πιο συχνά συνδυασμός αυτών.

Κάθε συστατικό του δείγματος του μίγματος αλληλεπιδρά ελαφρώς διαφορετικά με το προσροφητικό υλικό, προκαλώντας διαφορετικούς ρυθμούς ροής για τα διάφορα συστατικά και οδηγώντας στο διαχωρισμό τους καθώς αυτά ρέουν έξω από τη στήλη. Συνεπώς, η HPLC στηρίζεται στην ισορροπία κατανομής του δείγματος μεταξύ στατικής και κινητής φάσης (διαλύτης). Οι μηχανισμοί διαχωρισμού σε αυτό το είδος χρωματογραφίας είναι τα φαινόμενα προσρόφησης, κατανομής και ιονανταλλαγής. Απαραίτητη προϋπόθεση για επιτυχή διαχωρισμό είναι το δείγμα να μοιάζει χημικά, π.χ. ως προς την πολικότητα, με τη στατική φάση και να διαφέρει ως προς αυτή με την κινητή φάση. (Snyder L.S. et al, 1997)

Η HPLC χρησιμοποιείται για ιατρικούς, νομικούς και ερευνητικούς σκοπούς, καθώς και στη βιομηχανία. Όσον αφορά τον τομέα της οινολογίας, γίνεται χρήση της για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών, σακχάρων, οξέων, αμινοξέων και γενικά συστατικών, τα οποία δεν είναι πτητικά. Γενικά, μπορεί να διαχωρίσει και να μετρήσει ποσοτικά μεγάλο αριθμό ενώσεων χωρίς να τις τροποποιεί. (Gerber et al, 2004, Τσακίρης, 1998)

3.2 Λειτουργία



Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση μίας μονάδας HPLC. (1) Δοχεία διαλυτών, (2) Απαιρωτής διαλύτη, (3) Βαλβίδα βαθμιδωσης, (4) Δοχείο ανάμιξης για διανομή της κινητής φάσης, (5) Αντλία υψηλής πίεσης, (6) Βαλβίδα διακοπτή σε θέση ένεσης, (6') Βαλβίδα διακοπτή σε θέση γεμίματος, (7) Κύκλωμα ένεσης δείγματος, (8) Προ - στήλη (στήλη ασφαλείας), (9) Στήλη ανάλυσης, (10) Ανιχνευτής (π.χ.. IR, UV), (11) Καταγραφή δεδομένων, (12) Συλλέκτης αποβλήτων ή κλασμάτων. (www.wikipedia.org)

Η οργανολογία της HPLC (Εικ. 3) συνήθως περιλαμβάνει ένα σύστημα αυτόματης δειγματοληψίας, τη στήλη, την προστήλη, το σύστημα της αντλίας, έναν ανιχνευτή, το καταγραφικό και έναν υπολογιστή. Ο δειγματολήπτης φέρνει το μίγμα στην έξοδο κινητής φάσης, η οποία το μεταφέρει μέσα στη στήλη. Οι αντλίες διανέμουν την επιθυμητή ροή και σύνθεση της κινητής φάσης μέσω της στήλης. Ο ανιχνευτής παράγει ένα σήμα ανάλογο της ποσότητας του συστατικού του δείγματος που εξέρχεται από τη στήλη, επιτρέποντας έτσι την ποσοτική ανάλυση των συστατικών του δείγματος. Ο χρόνος εξόδου είναι χαρακτηριστικός για κάθε συστατικό και έτσι επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος που αναλύεται. Ένας ψηφιακός μικροεπεξεργαστής και λογισμικό ελέγχουν το όργανο της HPLC και παρέχουν ανάλυση δεδομένων. (www.wikipedia.org)

Με την αντλία μπορεί να συνδυαστεί είτε :

- ✓ **σύστημα βαθμιδωτής έκλουσης** (gradient elution), όπου μπορεί να γίνει ανάμιξη πολλαπλών διαλυτών σε διάφορες αναλογίες οι οποίες αλλάζουν με το χρόνο, συνεπώς αλλάζει βαθμιαία η σύσταση της κινητής φάσης είτε
- ✓ **σύστημα ισοκρατικής έκλουσης** κατά το οποίο η κινητή φάση έχει σταθερή σύσταση.

Ο χρόνος που λαμβάνεται ώστε ένα συγκεκριμένο συστατικό να ταξιδέψει από τη στήλη έως τον ανιχνευτή είναι γνωστός ως **χρόνος συγκράτησής** του και μετράται από τη στιγμή κατά την οποία γίνεται δειγματοληψία (ένεση) έως το σημείο στο οποίο η οθόνη δείχνει το μέγιστο ύψος κορυφής για αυτό το συστατικό. Διαφορετικά συστατικά έχουν διαφορετικούς χρόνους συγκράτησης και για κάθε συστατικό ο χρόνος αυτός εξαρτάται από:

- ✓ την πίεση που χρησιμοποιείται, καθώς επηρεάζει το ρυθμό ροής του διαλύτη,
- ✓ τη φύση της στατικής φάσης, όχι μόνο από τι είναι φτιαγμένο το υλικό αλλά και από το μέγεθος των σωματιδίων,
- ✓ την ακριβή σύσταση του διαλύτη,
- ✓ τη θερμοκρασία της στήλης.

Αυτό σημαίνει ότι στην περίπτωση χρησιμοποίησης χρόνων συγκράτησης ως μέθοδο ταυτοποίησης συστατικών, οι συνθήκες πρέπει να ελέγχονται πολύ προσεκτικά.

Η HPLC ανάλογα με την πολικότητα της στατικής και της κινητής φάσης διακρίνεται σε :

- ✓ **κανονικής φάσης** (normal phase), όπου η υγρή στατική φάση είναι πολική, η κινητή φάση σχετικά μη πολική και χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό πολικών ουσιών, οι οποίες εκκλούνται τελευταίες από την στήλη. Με αύξηση της πολικότητας του διαλύτη, ελαττώνεται ο χρόνος κατακράτησης των συστατικών,

- ✓ **ανεστραμμένης φάσης** (reversed phase), όπου το μέγεθος της στήλης είναι ίδιο με της κανονικής φάσης, αλλά η υγρή στατική φάση (πυρίτιο) είναι μη πολική, η κινητή φάση πολική (π.χ. μίγμα νερού και μεθανόλης) και χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό μη πολικών ουσιών. Αυτή η μορφή HPLC είναι η πιο κοινώς χρησιμοποιούμενη. (www.xtremepapers.com)

Ανάλογα με τη φύση του δείγματος που πρόκειται να αναλυθεί, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν ανιχνευτές: φωτόμετρο UV-Vis, διαφορικό διαθλασίμετρο, φθορισμόμετρο και ηλεκτροχημικός ανιχνευτής.

Το φωτόμετρο UV-Vis είναι ο πιο συνηθισμένος τύπος ανιχνευτή για την HPLC. Οι ουσίες, που αναλύονται με αυτόν τον τύπο, πρέπει να απορροφούν ακτινοβολία στην περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος μεταξύ 190-600 nm. Σε αυτόν τον ανιχνευτή υπάρχουν τρία είδη: ο ανιχνευτής σταθερού μήκους κύματος, ο ανιχνευτής πολλαπλών σταθερών μηκών κύματος και ο ανιχνευτής μεταβαλλόμενου μήκους κύματος. Ο τελευταίος βοηθά στη διαπίστωση της καθαρότητας μιας χρωματογραφικής κορυφής, δηλαδή εάν αυτή οφείλεται σε μια μόνο ουσία. Το διαφορικό διαθλασίμετρο καταγράφει τις διαφορές στο δείκτη διάθλασης μεταξύ καθαρού διαλύτη και προϊόντων, ενώ το φθορισμόμετρο χρησιμοποιείται για ανάλυση ουσιών που φθορίζουν. Τέλος, ο ηλεκτροχημικός ανιχνευτής (αμπερομετρικός) χρησιμοποιείται σε διαχωρισμό ουσιών που ανάγονται ή οξειδώνονται.

Με το καταγραφικό, το σήμα του ανιχνευτή μετατρέπεται σε καμπύλη (χρωματογράφημα). Στα σύγχρονα συστήματα HPLC, ο καταγραφέας έχει αντικατασταθεί από ηλεκτρονικό υπολογιστή και εκτυπωτή. Η θέση της καμπύλης καθορίζεται από το είδος του συστατικού, σε συγκεκριμένο πρόγραμμα του οργάνου, και το εμβαδόν της είναι ανάλογο της συγκέντρωσης του συστατικού αυτού στο δείγμα. Με το χρωματογράφημα δίνονται: ο χρόνος συγκράτησης t_R , το εμβαδόν της καμπύλης και η εκατοστιαία σύσταση των συστατικών του δείγματος. Τα μεγέθη αυτά χρησιμοποιούνται στην ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των δειγμάτων.

Στην HPLC υπάρχουν δυνατότητες για καλύτερο διαχωρισμό ποικιλοτρόπως, όπως με τον κατάλληλο συνδυασμό των δύο φάσεων, την βαθμιδωτή έκλυση, όπου η σύσταση (πολικότητα) της κινητής φάσης μεταβάλλεται βαθμιαία, και με τη χρήση ποικιλίας ανιχνευτών ανάλογα με τη φύση του δείγματος, την επιλογή βέλτιστης ταχύτητας ροής της κινητής φάσης, τη χρήση μικρότερων κόκκων πλήρωσης και πιο ομοιόμορφων στη χρωματογραφική στήλη και την ελάττωση του μεγέθους του δείγματος. (www.wikipedia.org)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

4.1 Στόχος και σχεδιασμός πειράματος

Σκοπός της συγκεκριμένης διατριβής είναι να διερευνηθεί η επίδραση της προσθήκης διαφορετικών ειδών και προέλευσης τσιπς στη χημική σύσταση, κατά το στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης οίνου της ποικιλίας Αγιωργίτικο. Ιδιαίτερη προσοχή δίνεται στη μελέτη των πολυφαινολικών συστατικών, καθώς αποτελούν έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες ποιότητας των οίνων.

Γενικά, εξαιτίας της αυξανόμενης σπουδαιότητας της ποικιλίας, διεξάγονται όλο και περισσότερες έρευνες, οι οποίες αφορούν κυρίως την επίδραση ποικίλων αμπελουργικών πρακτικών σε συγκεκριμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. (Koundouras et al, 2013, 2006, Assimakopoulou et al, 2012, Petropoulos et al, 2011) Ωστόσο, μέχρι σήμερα στην Ελλάδα, στην ποικιλία Αγιωργίτικο, έχει γίνει ελάχιστη μελέτη του φαινολικού προφίλ κατά το συγκεκριμένο στάδιο οινοποίησης, όπου το γλεύκος να έχει υποστεί επέμβαση με τα τσιπς που αναφέρονται στην παρούσα εργασία.

Η οινοποίηση των σταφυλιών πραγματοποιήθηκε στο οινοποιείο του Εργαστηρίου Οινολογίας του ΓΠΑ και τα σταφύλια προήλθαν από τον τρύγο του 2013, από την περιοχή της Νεμέας.

Αρχικά, τα σταφύλια αποβοστρωχώθηκαν χειρονακτικά, μεταφέρθηκαν σε εκραγιστήριο - θλιπτήριο και στη συνέχεια με τη βοήθεια αντλίας, στη δεξαμενή οινοποίησης. Ακολούθησε θείωση του γλεύκους, προσθήκη πηκτινολυτικών ενζύμων 3g/hL (Safizym Colour, Fermentis, France), ζυμών *Saccharomyces cerevisiae* 20 gr/hL (SC22, Fermentis, France), αμμωνιακών και αμινοξέων. Καθημερινά γινόταν ανάδευση, ώστε να ομογενοποιείται το γλεύκος και η θερμοκρασία του ρυθμίστηκε στους 18 °C για τις πρώτες ημέρες και για τις επόμενες αφήθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 22 - 24 °C.

Ακολούθησε μετάγγιση του γλεύκους εν ζυμώσει, από το οποίο απομακρύνθηκαν τα στέμφυλα, σε πλαστικούς περιέκτες των 10Lt, οπότε και προστέθηκαν τα τσιπς (2 g/Lt γλεύκους). Ο συνολικός αριθμός των επεμβάσεων είναι έξι. Στις πέντε έχουν προστεθεί τσιπς ενός είδους και προέλευσης (Chene Americain, Chene Slavonia, Chene Francais, 50% Chene Francais - 50% Chene Americain, Acacia) σε κάθε περιέκτη, υπάρχουν άλλοι πέντε περιέκτες που αποτελούν επανάληψη των προηγούμενων και ένας μάρτυρας (Control) ο

οποίος δεν περιέχει τσιπς. Από κάθε περιέκτη συλλέχθηκαν 3 δείγματα σε διαφορετικό χρονικό στάδιο,

- ✓ ένα δείγμα στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης (AZ),
- ✓ ένα δείγμα στο τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης (ΜΓΖ),
- ✓ ένα δείγμα ένα μήνα μετά το τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης

Τα δείγματα που ελήφθησαν, τοποθετήθηκαν σε πλαστικά μπουκάλια των 500mL και διατηρούνταν σε συντήρηση ψυγείου. Οι απαραίτητες αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν είτε άμεσα με την παραλαβή των δειγμάτων, είτε αργότερα. Η εκάστοτε μέτρηση για κάθε δείγμα έγινε εις διπλούν ή εις τριπλούν. Για την κατανόηση της κωδικοποίησης των δειγμάτων ακολουθεί ο παρακάτω πίνακας (Πίν. 1).

A/A	ΔΕΙΓΜΑ	1 ^η δειγματοληψία	2 ^η δειγματοληψία	3 ^η δειγματοληψία
1	Control	C1	C2	C3
2	American oak MT	AM1	AM2	AM3
3	Slavonian oak MT	SL1	SL2	SL3
4	French oak MT	FR1	FR2	FR3
5	50% AO - 50% FO	AM/FR1	AM/FR2	AM/FR3
6	Acacia	AC1	AC2	AC3

Πίνακας 1. Κωδικοποίηση δειγμάτων (MT = Medium Toast, τα τσιπς προέρχονται από την εταιρία Nadalié, Ludon – Medoc, France)

Σε όλες τις παραπάνω μικροοινοποιήσεις πραγματοποιήθηκαν οι κλασικές μετρήσεις:

- | | |
|--|--------------------|
| ✓ pH | ✓ πτητική οξύτητα |
| ✓ ολική οξύτητα | ✓ % Alc |
| ✓ ελεύθερος και ολικός SO ₂ | ✓ ανάγοντα σάκχαρα |

αλλά και πιο εξειδικευμένες αναλύσεις, όπου μετρήθηκαν τα παρακάτω :

- | | |
|---------------------------|---------------------------------------|
| ✓ ένταση | ✓ τανίνες με τη μέθοδο Harbertson |
| ✓ απόχρωση | ✓ δείκτης HCL |
| ✓ ολικές ανθοκυάνες | ✓ αντιοξειδωτική ικανότητα με DPPH |
| ✓ δείκτης ιονισμού | ✓ φλαβανόλες με το αντιδραστήριο DMAC |
| ✓ δείκτης ολικών φαινολών | ✓ ανθοκυάνες με HPLC |
| ✓ ολικά φαινολικά με FC | ✓ ελαγγικές τανίνες με HPLC |
| ✓ τανίνες με βρασμό | |

Η μηλογαλακτική ζύμωση έγινε με προσθήκη γαλακτικών βακτηρίων *Oenococcus oeni*. Στο τέλος προστέθηκε επιπλέον θειώδης ανυδρίτης, έγινε φιλτράρισμα και αφού ολοκληρώθηκαν και οι τρεις δειγματοληψίες κατά την παραμονή των οίνων στους πλαστικούς περιέκτες, ακολούθησε μετάγγισή τους σε ασκούς των 10 Lt, αφού απομακρύνθηκαν οι οινολάσπες και τα τσιπς. Στο τέλος, πραγματοποιήθηκε οργανοληπτικός έλεγχος, με δείγματα από τους ασκούς, που αφορούσαν μόνο το τελικό προϊόν.

Τα δεδομένα αναλύθηκαν στατιστικά με την ανάλυση της διακύμανσης (analysis of variance - ANOVA) για έναν παράγοντα, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$, του προγράμματος Statistica V.7 (Statsoft Inc., Tulsa, Ok). Για τη σύγκριση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το Fisher's LSD (Least Significant Difference) test.

4.2 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

4.2.1 Έλεγχος ΑΖ και ΜΓΖ

Για την παρακολούθηση της αλκοολικής ζύμωσης γινόταν καθημερινά μέτρηση της πυκνότητας, του Βέ και της θερμοκρασίας του γλεύκους. Επίσης, γινόταν μέτρηση του pH και της ολικής οξύτητας του γλεύκους, ώστε αν ήταν απαραίτητο να γίνει προσθήκη τρυγικού οξέος, όπως και έγινε.

Η ΜΓΖ στο συγκεκριμένο πείραμα καθυστέρησε να εκδηλωθεί, πιθανότατα εξαιτίας του πρώιμου αποχωρισμού των στεμφύλων από το εν ζυμώσει γλεύκος. Γι' αυτό πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός με την προσθήκη άλλου δείγματος οίνου σε ποσοστό 10%, στον οποίο ήδη πραγματοποιούνταν ΜΓΖ. Ωστόσο, δεν υπήρξε πρόοδος και για το λόγο αυτό ακολούθησε επιπλέον, εμβολιασμός με εμπορικό σκεύασμα γαλακτικών βακτηρίων.

Για την παρακολούθηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης των οίνων γινόταν έλεγχος με την τεχνική της χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας (TCA) και τακτικά μέτρηση του pH και της πτητικής οξύτητας. (Κοτσερίδης κá, 2012)

4.2.2 Εκτίμηση χρώματος ερυθρών οίνων

4.2.2.1 Ένταση – Απόχρωση

Οι διαφορές στην εμφάνιση του χρώματος ερμηνεύονται με τη λήψη της οπτικής πυκνότητας μετρούμενη στα 420, 520 και 620 nm σε οπτική διαδρομή 1mm, καθώς το φάσμα των ερυθρών οίνων παρουσιάζει ελάχιστο και μέγιστο στην περιοχή των 420nm και 520nm, αντίστοιχα. Η χρωματική ένταση και το χρώμα προσδιορίζονται λαμβάνοντας υπόψη μόνο τη συμβολή του κίτρινου και ερυθρού χρώματος από όλο το χρωματικό φάσμα. Ωστόσο, οι δύο αυτές αποχρώσεις δεν καλύπτουν το σχετικά βαθύ χρώμα των φρέσκων οίνων, παρά μόνο τη μελέτη οίνων κάποιας ηλικίας, για το λόγο αυτό, στην αξιολόγηση του χρώματος των οίνων, λαμβάνεται υπόψη και το μπλε χρώμα με μέγιστο στα 620nm.

Το κίτρινο χρώμα οφείλεται στις συμπυκνωμένες τανίνες και αυξάνεται με τον πολυμερισμό και την οξειδωσή τους. Το ερυθρό χρώμα οφείλεται στο καθαρό ερυθρό χρώμα των ελεύθερων ανθοκυανών που βρίσκονται με τη μορφή φλαβυλίου. Το κυανό χρώμα των νέων ερυθρών οίνων οφείλεται στις ανθοκυάνες που βρίσκονται με τη μορφή άνυδρης βάσης.

Η ένταση χρώματος (**EX**) εκφράζει το σύνολο του χρώματος, το οποίο διαφέρει ανάλογα με το κρασί και την ποικιλία, και είναι καθαρός αριθμός που κυμαίνεται από 0,3 – 1,8. Υπολογίζεται με το άθροισμα των απορροφήσεων στα 420, 520 και 620 nm από φασματοφωτόμετρο υπεριώδους – ορατού.

Η απόχρωση (**A**) δείχνει την εξέλιξη του χρώματος σε σχέση με το κίτρινο και εκφράζει το βαθμό οξειδωσης των οίνων. Στους φρέσκους οίνους οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ 0,5 – 0,7 και αυξάνονται κατά της διάρκεια της παλαίωσης με ανώτερο όριο 1,2 – 1,3. Υπολογίζεται με τον λόγο της απορρόφησης στα 420 nm προς αυτής στα 520 nm. (Κοτσερίδης κά, 2012)

4.2.3 Εκτίμηση φαινολικών συστατικών

4.2.3.1 Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)

Ο ΔΦΟ βασίζεται στην χαρακτηριστική απορρόφηση του βενζολικού δακτυλίου που περιέχουν οι περισσότερες από τις φαινόλες. Η οπτική απορρόφηση μετράται στα 280 nm σε οπτική διαδρομή 10 mm, εφόσον έχει γίνει αραίωση του ερυθρού οίνου στο 1/100 με απιονισμένο νερό. Οι τιμές είναι καθαροί αριθμοί που προκύπτουν πολλαπλασιάζοντας την απορρόφηση επί 100 και κυμαίνονται από 6 έως 120. Τιμές 60 – 80 χαρακτηρίζουν έναν πλούσιο, με βαθύ ερυθρό χρώμα οίνο.

Η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί ως προς την ταχύτητα και την επαναληψιμότητα, ενώ απαιτείται φασματοφωτόμετρο UV αντί ορατού. Επίσης, κάποιες φαινολικές ενώσεις, όπως το κινναμωμικό οξύ και οι χαλκόνες, δεν εμφανίζουν τη μέγιστη απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος, αλλά βρίσκονται σε τόσο χαμηλές συγκεντρώσεις που το σφάλμα που προκύπτει είναι αμελητέο. (Ribéreau – Gayon et al., 2006)

4.2.3.2 Μέθοδος Folin – Ciocalteu (FC)

Η μέθοδος βασίζεται στην οξειδωση των φαινολικών ενώσεων σε αλκαλικό περιβάλλον μέσω της χρήσης μίγματος φωσφοροβόλφραμικού και φωσφορομολυβδαινικού οξέος. Τα οξέα ανάγονται από τις φαινολικές ενώσεις σε ένα μίγμα κυανών οξειδίων και η ένταση του κυανού χρώματος είναι ανάλογη της ποσότητας και του είδους των φαινολικών ενώσεων που περιέχονται στον οίνο. Τα ανάγοντα σάκχαρα και τα νουκλεϊκά οξέα δίνουν

επίσης την ίδια αντίδραση, καθώς όμως η περιεκτικότητά τους στους ξηρούς οίνους είναι σε χαμηλές συγκεντρώσεις, η συμβολή τους κατά τη μέτρηση της μεθόδου μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα.

Σε ογκομετρική φιάλη των 100ml προστίθενται 100μL φυγοκεντρημένου δείγματος οίνου, 5mL αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu, 15mL διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3) 20% και ο υπόλοιπος όγκος συμπληρώνεται με απεσταγμένο νερό. Κατά τον ίδιο τρόπο ετοιμάζεται το τυφλό με απεσταγμένο νερό αντί δείγματος οίνου. Αφού ομογενοποιηθεί, αφήνεται σε ηρεμία και μετά από 30 min μετράται η οπτική απορρόφηση στα 765nm σε οπτική διαδρομή 10mm (πλαστική κυψελίδα) με χρήση λάμπας αλογόνου. Το αποτέλεσμα εκφράζεται είτε ως δείκτης FC πολλαπλασιάζοντας την απορρόφηση επί 20 και επί την αραιώση (εάν έχει γίνει), είτε ως mg/L γαλλικού οξέος που προκύπτουν από την καμπύλη αναφοράς, η οποία γίνεται με διαλύματα γαλλικού οξέος γνωστών συγκεντρώσεων (0 – 50 – 100 – 250 – 500 mg γαλλικού οξέος/L). Η τιμή κυμαίνεται μεταξύ 10 και 100. (Ribéreau – Gayon et al., 2006)

4.2.4 Εκτίμηση ανθοκυανών

4.2.4.1 Ολικές ανθοκυάνες

Η μέθοδος προσδιορισμού των ολικών ανθοκυανών στηρίζεται στην ιδιότητά τους να δίνουν άχρωμες ενώσεις με το HSO_3^- . Μετά την προσθήκη ικανής περισσειας όξινου θειικού άλατος, η αλλαγή του χρώματος του οίνου είναι ανάλογη της περιεκτικότητας των ανθοκυανών.

Αρχικά, δημιουργείται ένα κύριο διάλυμα με 1mL οίνου, 1mL αλκοολικού διαλύματος HCL 0,1% και 20mL υδατικού διαλύματος HCL 2%. Από το κύριο διάλυμα παρασκευάζονται δύο δείγματα, το μεν πρώτο αποτελείται από 5mL κύριου διαλύματος και 2mL απεσταγμένου νερού, το δε δεύτερο από 5mL κύριου διαλύματος και 2mL διαλύματος όξινου θειώδους νατρίου (NaHSO_3) 15%. Έπειτα από 20min μετρώνται οι απορροφήσεις (d_1 , d_2) των δύο δειγμάτων στα 520nm σε οπτική διαδρομή 10mm. Η συγκέντρωση των ανθοκυανών δίνεται από τη σχέση $(d_2 - d_1) * 885,3$ και εκφράζεται σε mg/L. (Ribéreau – Gayon et al., 2006)

4.2.4.2 Ανθοκυάνες με τη μέθοδο HPLC

Αρχικά, παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα της υπό μελέτη ουσίας σε διάφορες συγκεντρώσεις και αναλύονται κάτω από τις ίδιες συνθήκες με το άγνωστο δείγμα. Έπειτα, κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη αναφοράς, όπου η συγκέντρωση της ουσίας είναι συνάρτηση του εμβαδού της κορυφής της. Από την καμπύλη αυτή και μετρώντας το εμβαδόν της κορυφής της άγνωστης ουσίας βρίσκεται η ποσότητά της στο δείγμα. Για την ποσοτική ανάλυση των ανθοκυανών κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη του μονογλυκοζιτη -3 της μαλβιδίνης και όλες οι ανθοκυάνες εκφράστηκαν ως προς την μαλβιδίνη σε mg/L οίνου. Ακολουθεί ταυτοποίηση, η οποία γίνεται βάση πρότυπων ουσιών των ανθοκυανών, συγκρίνοντας τους χρόνους συγκράτησης (t_R) (Παράρτημα, χρωματογράφημα 1). Το δείγμα οίνου που χρησιμοποιείται φιλτράρεται με φίλτρο 0,2 μ m πριν τη χρωματογραφία.

Οι ανθοκυάνες που ταυτοποιήθηκαν είναι οι :

- | | |
|---------------|---------------------------------|
| ✓ κυανιδίνη | ✓ μαλβιδίνη |
| ✓ δελφινιδίνη | ✓ οξικός εστέρας μαλβιδίνης |
| ✓ πετουνιδίνη | ✓ κουμαρικός εστέρας μαλβιδίνης |
| ✓ παιονιδίνη | |

Για την παρούσα μελέτη ο εξοπλισμός του οργάνου HPLC αποτελείται από:

- ✓ αντλία Jasco PU-980,
- ✓ στήλη Nova-Pack C₁₈, διαστάσεων 250 x 47,6 mm και διαμέτρου 4 μ m,
- ✓ ανιχνευτή υπεριώδους - ορατού πολλαπλής δέσμης (diode array).

Η κινητή φάση αποτελείται από τον διαλύτη A (υδατικό διάλυμα 10% v/v μυρμηγκικού οξέος) και τον διαλύτη B (μεθανόλη). Ο ρυθμός ροής είναι 1 mL/min με όγκο δείγματος 10 μ L (αυτόματη έγχυση), ανίχνευση στα 520nm και το πρόγραμμα έκλυσης είναι το εξής:

- ✓ 95% διαλύτης A για 1min
- ✓ από 95% διαλύτη A σε 50% σε διάστημα 26 min
- ✓ από 50% διαλύτη A σε 5% σε διάστημα 29 min, όπου διατηρήθηκε ισοκρατικά για επιπλέον 3 min. (Kallithraka et al, 2005)

4.2.4.3 Δείκτης Ιονισμού

Ο δείκτης ιονισμού δίνει το ποσοστό των ανθοκυανών που βρίσκεται σε ερυθρά μορφή, καθώς τα φλαβύλια των ανθοκυανών, όταν βρίσκονται σε ισχυρό όξινο περιβάλλον, παίρνουν έγχρωμη μορφή.

Για τον προσδιορισμό της τιμής του δείκτη, ο οίνος αποχρωματίζεται με την προσθήκη διαλύματος όξινου θειώδους νατρίου (NaHSO_3) 15% στο κανονικό pH του οίνου και σε pH 1,2, έπειτα από προσθήκη διαλύματος HCL 0.1N επιτυγχάνεται μετατροπή του συνόλου των ανθοκυανών σε έγχρωμη μορφή.

Αρχικά, 5 mL δείγματος οίνου αναμειγνύονται με 1 ml απεσταγμένου νερού και μετράται η οπτική πυκνότητα στα 520nm σε οπτική διαδρομή 10 mm (d_1). Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται αντικαθιστώντας το νερό με 1ml διαλύματος όξινου θειώδους νατρίου (NaHSO_3) 15% και μετράται η οπτική απορρόφηση έπειτα από 5 min (d_2). Η τιμή (Δda) που προκύπτει από τη διαφορά των δύο επί 12/10 δίνει την οπτική πυκνότητα που οφείλεται στη συμβολή των χρωματισμένων στο pH του οίνου ελεύθερων και ενωμένων ανθοκυανών.

Κατά τον ίδιο τρόπο γίνονται δύο παρόμοιες μετρήσεις σε pH 1,2, όπου το 95% των ανθοκυανών που είναι παρούσες είναι έγχρωμες. Δηλαδή, δημιουργείται ένα μίγμα με 0,5 ml δείγματος οίνου, 1 ml νερού και 3,5 ml διαλύματος HCL 0.1N και μετράται η οπτική απορρόφηση στα 520nm σε οπτική διαδρομή 10mm (d_3). Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται αντικαθιστώντας το νερό με 1ml διαλύματος όξινου θειώδους νατρίου (NaHSO_3) 15% και μετράται η οπτική απορρόφηση έπειτα από 5 min (d_4). Η τιμή (Δdy) που προκύπτει από τη διαφορά των δύο επί 100/95 δίνει την οπτική πυκνότητα που οφείλεται στη συμβολή του συνόλου των μορίων των ανθοκυανών.

Ο δείκτης ή βαθμός ιονισμού των ανθοκυανών δίνεται από τη σχέση ($\Delta da - \Delta dy$) * **100** και όπως ήδη ειπώθηκε, εκφράζει το ποσοστό των ολικών ανθοκυανών (ελεύθερων και ενωμένων) που βρίσκονται σε έναν οίνο με την ερυθρή μορφή (φλαβύλια) και συνεπώς είναι υπεύθυνες για τον ερυθρό χρωματισμό του. Οι τιμές του δείκτη ιονισμού κυμαίνονται στο 10 - 30% στους νέους οίνους και στο 80 - 90% στους παλαιωμένους, καθώς η τιμή ιονισμού αυξάνεται σε όλη τη διάρκεια της παλαίωσης, διότι οι χρωστικές που παράγονται όταν οι ανθοκυάνες ενώνονται με τις τανίνες είναι λιγότερο ευαίσθητες στον αποχρωματισμό με τη μετοβολή του pH και την προσθήκη όξινου θειώδους νατρίου. Εάν οι χρωστικές ενός

ερυθρού οίνου αποτελούνταν μόνο από ελεύθερες ανθοκυάνες, στο συνηθισμένο pH (3,4 - 4,0) και με ελεύθερο SO₂ σε περιεκτικότητα 10 – 30 mg/L η τιμή ιονισμού θα ήταν χαμηλότερη (3 – 14%). (Ribéreau – Gayon et al., 2006)

4.2.5 Εκτίμηση τανινών

4.2.5.1 Τανίνες με βρασμό (Ολικές τανίνες)

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ιδιότητα των τανινών να μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες όταν θερμαίνονται σε όξινο περιβάλλον.

Η διαδικασία απαιτεί την προετοιμασία δύο δειγμάτων, καθένα από τα οποία περιέχει 2mL οίνου αραιωμένου 1/50, 1mL απεσταγμένου νερού και 3mL πυκνού HCL 37%. Το ένα από τα δύο δείγματα θερμαίνεται στους 100°C σε υδατόλουτρο για 45min και αφού ψυχθεί προστίθεται 0,5mL αιθανόλης 95% για τη σταθεροποίηση του χρώματος. Το άλλο δείγμα δεν θερμαίνεται, αλλά δέχεται την προσθήκη 0,5mL αιθανόλης 95%. Μετράται η διαφορά στην οπτική πυκνότητα στα 550nm σε οπτική διαδρομή 10mm και η συγκέντρωση των τανινών προκύπτει από τη σχέση $(d_2 - d_1) * 19,35$ αν $(d_2 - d_1) \geq 0,07$ και $(d_2 - d_1) * 20,83$ αν $(d_2 - d_1) \leq 0,07$, εκφρασμένη σε mg/L.

Η μέθοδος αυτή είναι εξαιρετικά αξιόπιστη, αφού δίνει αποτελέσματα με μικρές διακυμάνσεις, ωστόσο δίνει ένα αποτέλεσμα κατ'εκτίμηση καθώς δε λαμβάνει υπόψη τη διαφορά των δομών των τανινών του οίνου, το βαθμό πολυμερισμού, ούτε τα άλλα συστατικά του οίνου που αντιδρούν με το χρησιμοποιούμενο αντιδραστήριο. (Ribéreau – Gayon et al., 2006)

4.2.5.2 Μέθοδος Harbertson

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ιδιότητα των τανινών να κατακρημνίζουν το ένζυμο αλκαλική φωσφατάση και την αλβουμίνη βόειου ορού (BSA) κι έμμεσα προσδιορίζεται η συγκέντρωση των τανινών.

Αρχικά, γίνεται αραιώση του δείγματος σε πρότυπο ρυθμιστικό διάλυμα, από το οποίο παίρνουμε 0,5mL και προσθέτουμε 1mL πρωτεϊνικού διαλύματος BSA. Ακολουθεί ανάδευση για 15min και φυγοκέντρωση για 5min στις 12000rpm. Στο ίζημα που μένει

προσθέτουμε 875μL διαλύματος TEA – SDS, αφήνεται σε ηρεμία 10min σε θερμοκρασία δωματίου και αναδεύεται μέχρι να διαλυθεί το ίζημα. Παραμένει επιπλέον 10 λεπτά σε ηρεμία και μετράται η απορρόφηση στα 510nm. Έπειτα προστίθενται 125μL διαλύματος FeCl₃ και μετά από 10min μετράται πάλι η απορρόφηση στα 510nm.

Η συγκέντρωση των τανινών υπολογίζεται από τη διαφορά των δύο απορροφήσεων και με τη χρήση πρότυπης καμπύλης αναφοράς επί την αραιώση και εκφράζεται σε mg/L οίνου. (Harbertson and Sprayd, 2006)

4.2.5.3 Δείκτης Υδροχλωρικού Οξέος

Ο δείκτης υδροχλωρικού οξέος αντιστοιχεί στο ποσοστό των τανινών που βρίσκονται σε κατάσταση πολυμερισμού στον οίνο και στηρίζεται στην ιδιότητά τους να είναι ασταθείς και να καταβυθίζονται σε ισχυρά όξινο περιβάλλον. Η ταχύτητα καταβύθισης εξαρτάται από τον βαθμό του πολυμερισμού. Επιπλέον, αποτελεί και δείκτη ικανότητας παλαίωσης του οίνου.

Η μέθοδος απαιτεί την παρασκευή δείγματος, το οποίο αποτελείται από 2mL οίνου, 3mL πυκνό HCL 37% και 1mL νερό. Μετά από αραιώση με νερό σε αναλογία 1/30 μετράται αμέσως η οπτική πυκνότητα d_0 στα 280nm σε οπτική διαδρομή 10mm (κυψελίδα χαλαζία). Η ίδια μέτρηση επαναλαμβάνεται έπειτα από 7 ώρες ηρεμίας κι αφού το δείγμα φυγοκεντρηθεί πρώτα, οπότε και λαμβάνεται η τιμή d_1 .

Ο δείκτης υδροχλωρικού οξέος προκύπτει από τη σχέση $((d_0 - d_1) / d_0) * 100$ και οι τιμές του κυμαίνονται μεταξύ 5 – 40. Πιο συγκεκριμένα, κατά την έναρξη της παλαίωσης ένας οίνος φτωχός σε τανίνες έχει τιμές 5 – 10, ενώ ένας πλούσιος, κατάλληλος για παλαίωση, έχει τιμές 10 – 25. Τιμές μεγαλύτερες του 25 εμφανίζουν οι οίνοι με υψηλή συγκέντρωση πολυμερισμένων τανινών. Τέλος, σε τιμές μεταξύ 35 – 40, οι τανίνες καταβυθίζονται σταδιακά με αποτέλεσμα να αρχίσει να μειώνεται η τιμή τους. (Ribéreau – Gayon et al., 2006)

4.2.5.4 Εκτίμηση ελλαγωγικών τανινών με HPLC

Η διαδικασία έχει ως εξής : 50ml δείγματος οίνου, το οποίο δεν είναι απαραίτητο να φυγοκεντρηθούν, εξατμίζονται υπό κενό στους 50°C με τη χρήση συσκευής περιστροφικού αποστακτήρα (rotary evaporation) μέχρι ξηρού και το υπόλειμμα επαναδιαλύεται σε μικρή ποσότητα MeOH, μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη 20 mL και συμπληρώνεται ο όγκος με MeOH. Το αιώρημα μπαίνει σε λουτρό υπερήχων για 10 min.

Για τον μάρτυρα, μεταφέρονται 2mL δείγματος σε ογκομετρική φιάλη των 5mL, και ο υπόλοιπος όγκος συμπληρώνεται με MeOH. Για το δείγμα, τοποθετούνται από το αιώρημα σε 2 σωλήνες pyrex με πώμα από teflon (ο ένας χρησιμοποιείται ως επανάληψη) από 4ml στον καθένα και προστίθενται από 1mL πυκνό HCL 37%. Οι σωλήνες παραμένουν σε ελαιόλουτρο στους 100°C για 2 ώρες. Στο τέλος, αφού κρυώσουν, το κάθε δείγμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 10mL και συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με MeOH.

Στο τέλος, ακολουθεί φιλτράρισμα των τριών παραπάνω δειγμάτων με φίλτρο σύριγγας 0,2μm, τοποθέτηση σε φιαλίδια του αυτόματου δειγματολήπτη για HPLC και ακολουθεί η χρωματογραφία. Η ταυτοποίηση του ελλαγωγικού οξέος γίνεται βάση πρότυπης καμπύλης συγκρίνοντας τον χρόνο συγκράτησης. (Viriot et al, 1994)

Η στήλη της HPLC είναι Pinnacle II C18 (5 μm, 4.6x250mm) (Restek). Η κινητή φάση αποτελείται από τον διαλύτη A (υδατικό διάλυμα 0,4% μυρμηγκικού οξέος) και τον διαλύτη B (διάλυμα 0,4% μυρμηγκικού οξέος σε μεθανόλη). Ο ρυθμός ροής είναι 1mL/min με όγκο δείγματος 20μL (αυτόματη έγχυση), ανίχνευση στα 370nm και το πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης (Πίν. 2) είναι το εξής:

Χρόνος (min)	Διαλύτης A (0,4% μυρμηγκικό οξύ σε dH ₂ O)	Διαλύτης B (0,4% μυρμηγκικό οξύ σε MeOH)
αρχικές συνθήκες	100	0
1	99	1
5	65	35
30	59	45
35	100	0
40	100	0
44	99	1

Πίνακας 2. Πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης HPLC

Για τη βαθμονόμηση παρασκευάζεται πρότυπο διάλυμα ελλαγικού οξέος 100 mg/L σε οξινισμένη μεθανόλη (διαλύτης Β) και αραιώνεται ως εξής σε τελικό όγκο 1 mL (Πίν. 3).

Τελική συγκέντρωση ελλαγικού οξέος (mg/L)	Πρότυπο διάλυμα ελλαγικού οξέος μL	Διαλύτης Β (0,4% φορμικό οξύ σε MeOH) μL
2	20	980
5	50	950
10	100	900
20	200	800

Πίνακας 3. Βαθμονόμηση HPLC για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης ελλαγικού οξέος

Αντιστοιχίζοντας τις συγκεντρώσεις του ελλαγικού με το εμβαδό των κορυφών που προκύπτουν από την HPLC (Παράρτημα, χρωματογράφημα 2) κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη και από την ευθεία που την περιγράφει υπολογίζεται η συγκέντρωση του ελλαγικού στα δείγματα του κρασιού αφού αφαιρεθεί η συμμετοχή του μάρτυρα του κάθε δείγματος. (τροποποιημένη μέθοδος Chira & Teissedre, 2013)

4.2.6 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας

Για να εκτιμηθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα του οίνου χρησιμοποιήθηκε μέθοδος η οποία στηρίζεται στην ικανότητα των φαινολικών ουσιών να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα του 1,1 διφαινυλο-2-πικρυλ-υδραζυλίου (DPPH). Το χρώμα της ρίζας αυτής είναι βαθύ ιώδες με φάσμα απορρόφησης τα 515nm, κατά την αναγωγή της όμως η ρίζα χάνει σταδιακά το χρώμα της καταλήγοντας σε ανοικτό κίτρινο. Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση της αναγωγικής ικανότητας των υπό εξέταση δειγμάτων ως προς τη ρίζα DPPH. Η μείωση της απορρόφησης είναι αντιστρόφως ανάλογη της ποσότητας των ελευθέρων ριζών στο διάλυμα.

Αρχικά, παρασκευάζεται ένα διάλυμα το οποίο αποτελείται από 25μL αραιωμένου με νερό οίνου 1/10 έως 1/20, ανάλογα με τη συγκέντρωση των φαινολικών, και 975μL μητρικού διαλύματος DPPH. Ακολουθεί ανάδευση και μέτρηση της απορρόφησης στα 515nm. Έπειτα από 30min η μέτρηση της απορρόφησης επαναλαμβάνεται και υπολογίζεται το ποσοστό των ελευθέρων ριζών που έχουν απομείνει στο διάλυμα από τον τύπο $((A_0 - A_{30}) / A_0) * 100$ και μέσω της καμπύλης αναφοράς εκφράζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα σε mM trolox επί την αραιώση. (Carmona-Jiménez et al, 2014)

4.2.7 Εκτίμηση φλαβονολών και προανθοκυανιδινών

Για να εκτιμηθεί η συγκέντρωση των φλαβονολών και προανθοκυανιδινών στα δείγματα του οίνου χρησιμοποιήθηκε το αντιδραστήριο DMAC (4 - Dimethyl - amino - cinnam - aldeyde) το οποίο αντιδρά μόνο με την τερματική ομάδα των προανθοκυανιδινών και παρουσιάζει μέγιστο απορρόφησης σε μήκος κύματος 640nm, το οποίο βρίσκεται εκτός του φάσματος απορρόφησης των ανθοκυανών.

Η μέθοδος απαιτεί την παρασκευή δύο διαλυμάτων, όπου το πρώτο αποτελείται από 40μL, αραιωμένου ή μη με μεθανόλη, οίνου, 4,7mL MeOH και 200μL αντιδραστηρίου DMAC, και το δεύτερο (μάρτυρας) αποτελείται από 40μL, αραιωμένου ή μη με μεθανόλη, οίνου, και 4,9mL MeOH. Ακολουθεί ανάδευση και παραμονή σε ηρεμία για 15min ακριβώς σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, μετράται η απορρόφηση τους στα 640nm, και η διαφορά τους επί την αραιώση (εάν έχει γίνει) δίνει τη συγκέντρωση των φλαβονολών μέσω της καμπύλης αναφοράς, εκφρασμένη σε mg κατεχίνης / L οίνου. (Vivas et al, 1994)

4.2.8 Οργανοληπτική ανάλυση

Έντεκα δείγματα ερυθρού οίνου, ποικιλίας Αγιωργίτικο, τα οποία προέκυψαν από οινοποίηση με προσθήκη, κατά την αλκοολική ζύμωση, διαφορετικών τσιπς ανά δείγμα, δοκιμάστηκαν από ένα πάνελ είκοσι δοκιμαστών. Η διεξαγωγή του οργανοληπτικού ελέγχου έλαβε χώρα στο εργαστήριο Οινολογίας του ΓΠΑ, σε κατάλληλα διαμορφωμένο χώρο, εξοπλισμένο με ξεχωριστούς λευκούς πάγκους και ποτήρια δοκιμής οίνων.

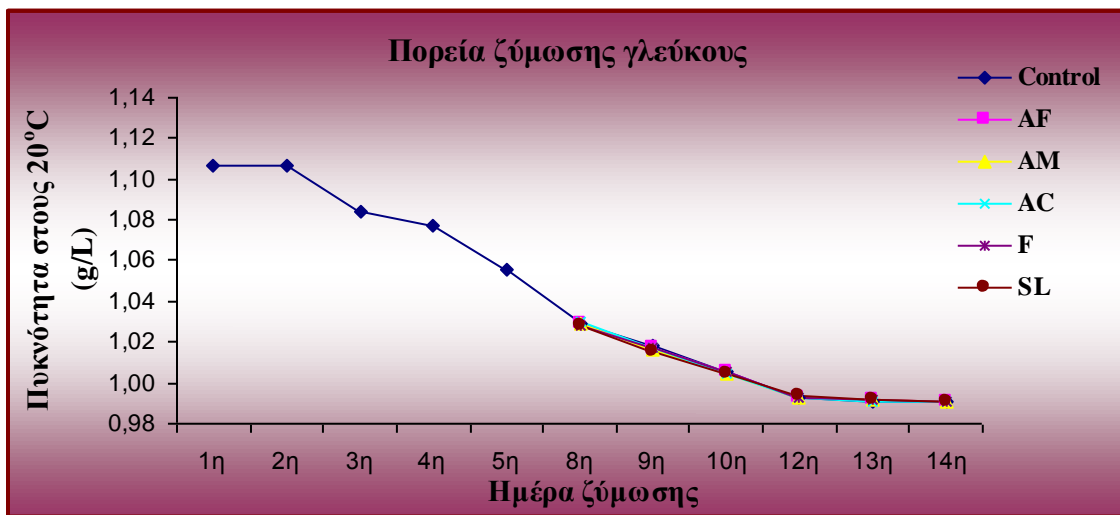
Σε κάθε δοκιμαστή δόθηκε ένα φύλλο με τα χαρακτηριστικά του οίνου (εμφάνιση, άρωμα, οξύτητα, ισορροπία, εξέλιξη, άρωμα γεύσης, επίγευση, σύνολο) και την κλίμακα με βάση την οποία θα γινόταν η βαθμολόγηση. Οι δοκιμαστές χρησιμοποίησαν μία κλίμακα 0 – 5 για να βαθμολογήσουν την ένταση του κάθε χαρακτηριστικού. Όλα τα δείγματα οίνων δοκιμάστηκαν εις τριπλούν.

Για τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου υπολογίστηκε ο μέσος όρος των επαναλήψεων της συνολικής βαθμολογίας όλων των χαρακτηριστικών για κάθε δείγμα, ενώ από τους αρχικά 20 δοκιμαστές επιλέχθηκαν οι 12 που εμφάνισαν την καλύτερη επαναληψιμότητα. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο Statistica V. 7.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

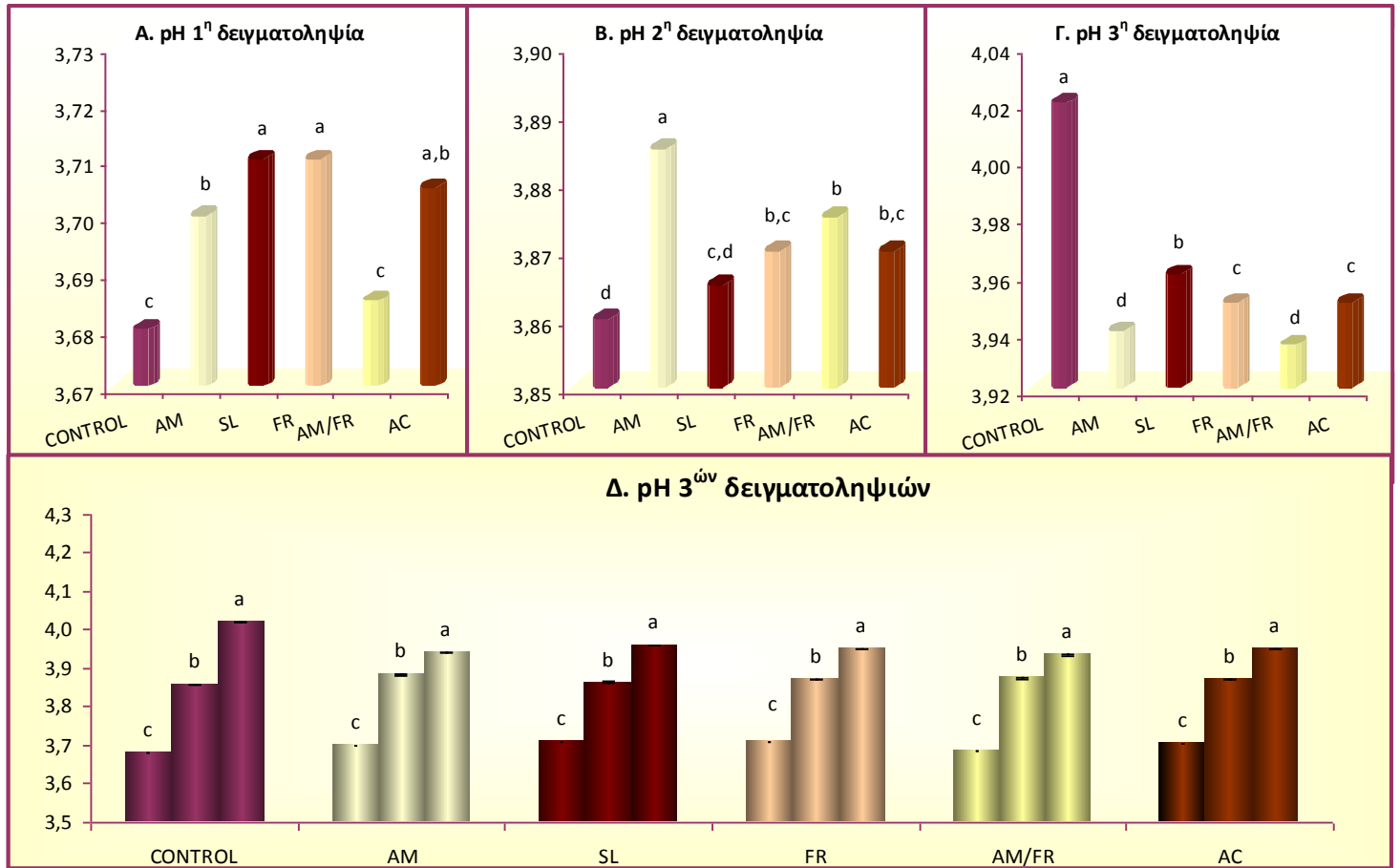
5.1 Πορεία Ζύμωσης

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η πορεία της ζύμωσης του γλεύκους έγινε με την παρακολούθηση της εξέλιξης της πυκνότητας του μετρώντας το ειδικό βάρος, η οποία παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 1. Την 7^η ημέρα έγινε μετάγγιση του γλεύκους από την κύρια δεξαμενή στους πλαστικούς περιέκτες όπου και προστέθηκαν τα τσιπς.



Διάγραμμα 1. Πορεία ζύμωσης του γλεύκους

5.2 pH



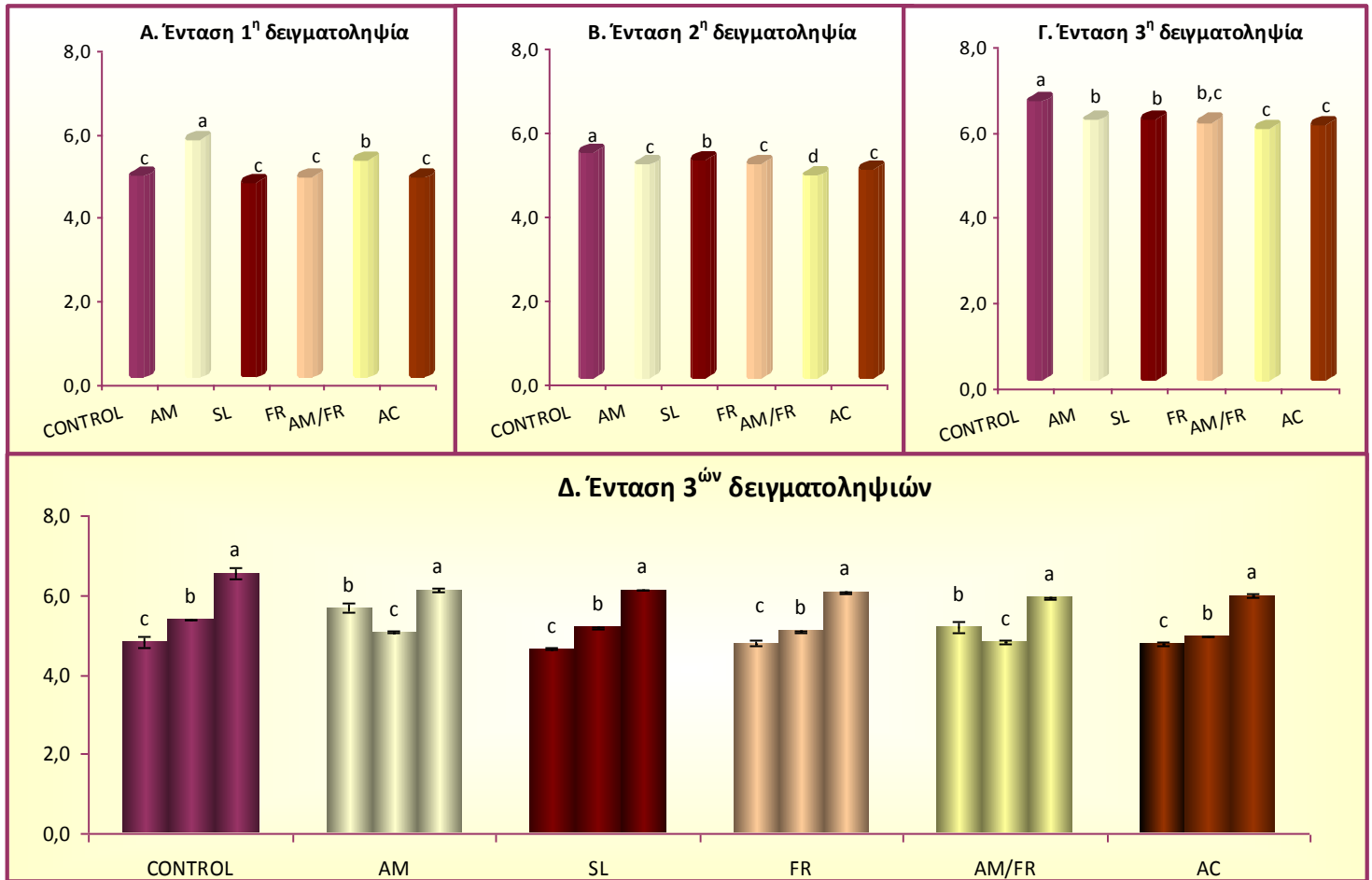
Γράφημα 1. pH δειγμάτων

(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c,d είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Στα παραπάνω γραφήματα παρουσιάζεται το pH των δειγμάτων μετρημένο στους 20°C κάθε επέμβασης ανά δειγματοληψία (Γράφ. 1Α, Β, Γ) καθώς και οι τρεις δειγματοληψίες συγκεντρωτικά (Γράφ. 1Δ).

Το pH ή ογκομετρούμενη οξύτητα, παίζει σημαντικό ρόλο στο χρώμα των οίνων κι όταν είναι μικρό ασκεί ευνοϊκή επίδραση στη ζωρότητα του χρώματος. Στη συγκεκριμένη περίπτωση οι τιμές των δειγμάτων κυμαίνονται μεταξύ 3,7 και 4 και παρατηρώντας το Γράφ. 1Δ φαίνεται ξεκάθαρα ότι αυξάνεται από δειγματοληψία σε δειγματοληψία. Η ποικιλία του Αγιωργίτικου χαρακτηρίζεται από υψηλές τιμές οξύτητας.

5.3 Ένταση Χρώματος



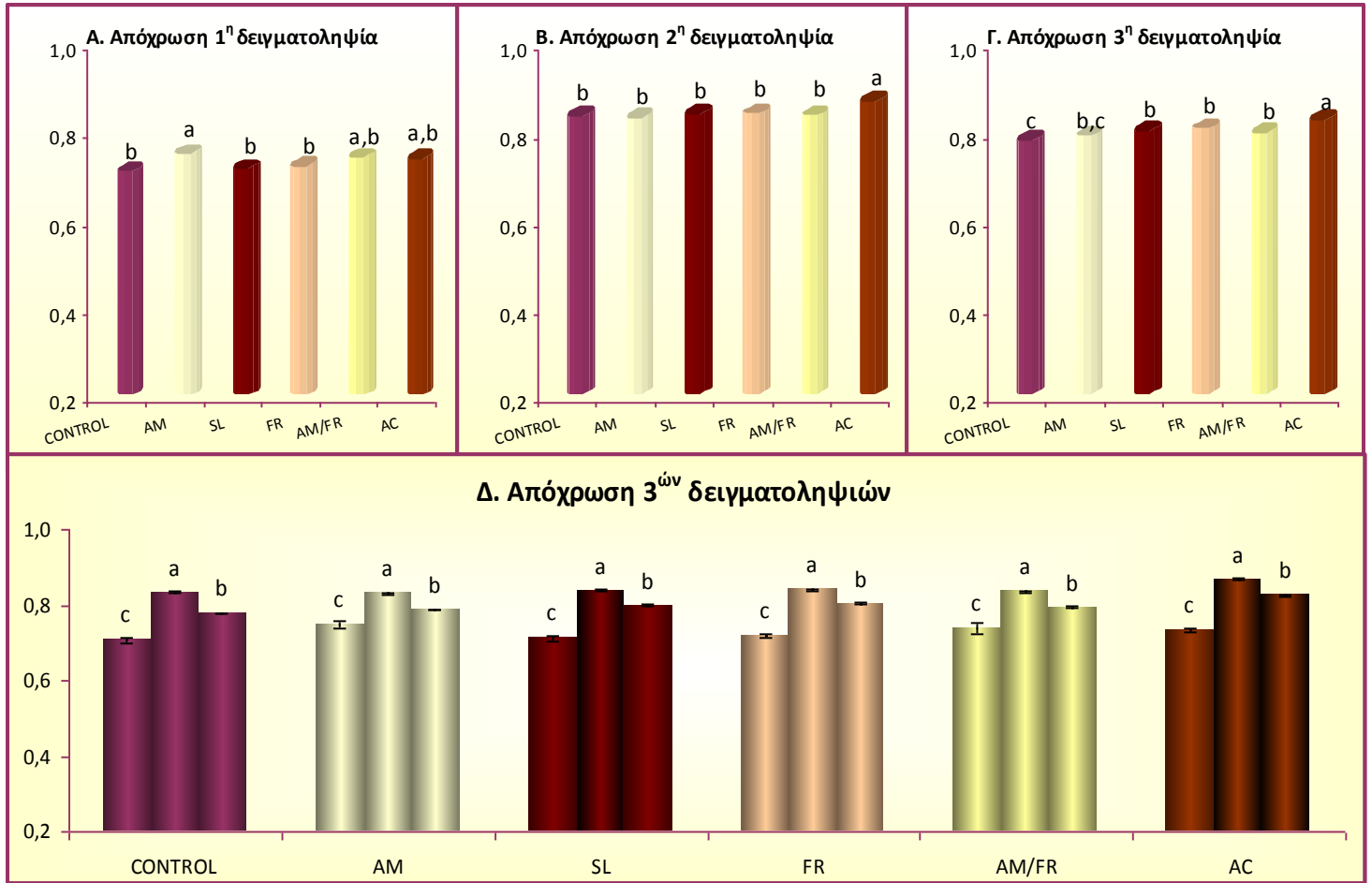
Γράφημα 2. Ένταση χρώματος οίνων
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c,d είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Στα παραπάνω γραφήματα παρουσιάζεται η ένταση του χρώματος των δειγμάτων κάθε επέμβασης ανά δειγματοληψία (Γράφ. 2Α, Β, Γ) καθώς και οι τρεις δειγματοληψίες συγκεντρωτικά (Γράφ. 2Δ).

Στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης (1^η δειγματοληψία) τα δείγματα **AM** και **AM/FR** παρουσιάζουν με διαφορά τις μεγαλύτερες τιμές έντασης σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα δείγματα, τα οποία δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους. Στις άλλες δύο δειγματοληψίες τη μεγαλύτερη ένταση χρώματος εμφανίζει ο **μάρτυρας** (Control), ο οποίος διαφέρει σημαντικά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις, όπου το χρώμα του οφείλεται κυρίως στις ανθοκυάνες, ενώ στα δείγματα με την προσθήκη τσιπς πιθανόν έχουν αρχίσει να εμπλέκονται και οι τανίνες.

Συγκρίνοντας τις τρεις δειγματοληψίες κάθε επέμβασης (Γράφ. 2Δ) παρατηρείται μία γενική τάση αύξησης της έντασης με την πάροδο του χρόνου, με εξαίρεση τα δείγματα **AM** και **AM/FR** όπου από την 1^η στη 2^η δειγματοληψία η ένταση μειώνεται. Οι τρεις δειγματοληψίες σε όλες τις περιπτώσεις διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους.

5.4 Απόχρωση



Γράφημα 3. Απόχρωση οίνων
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

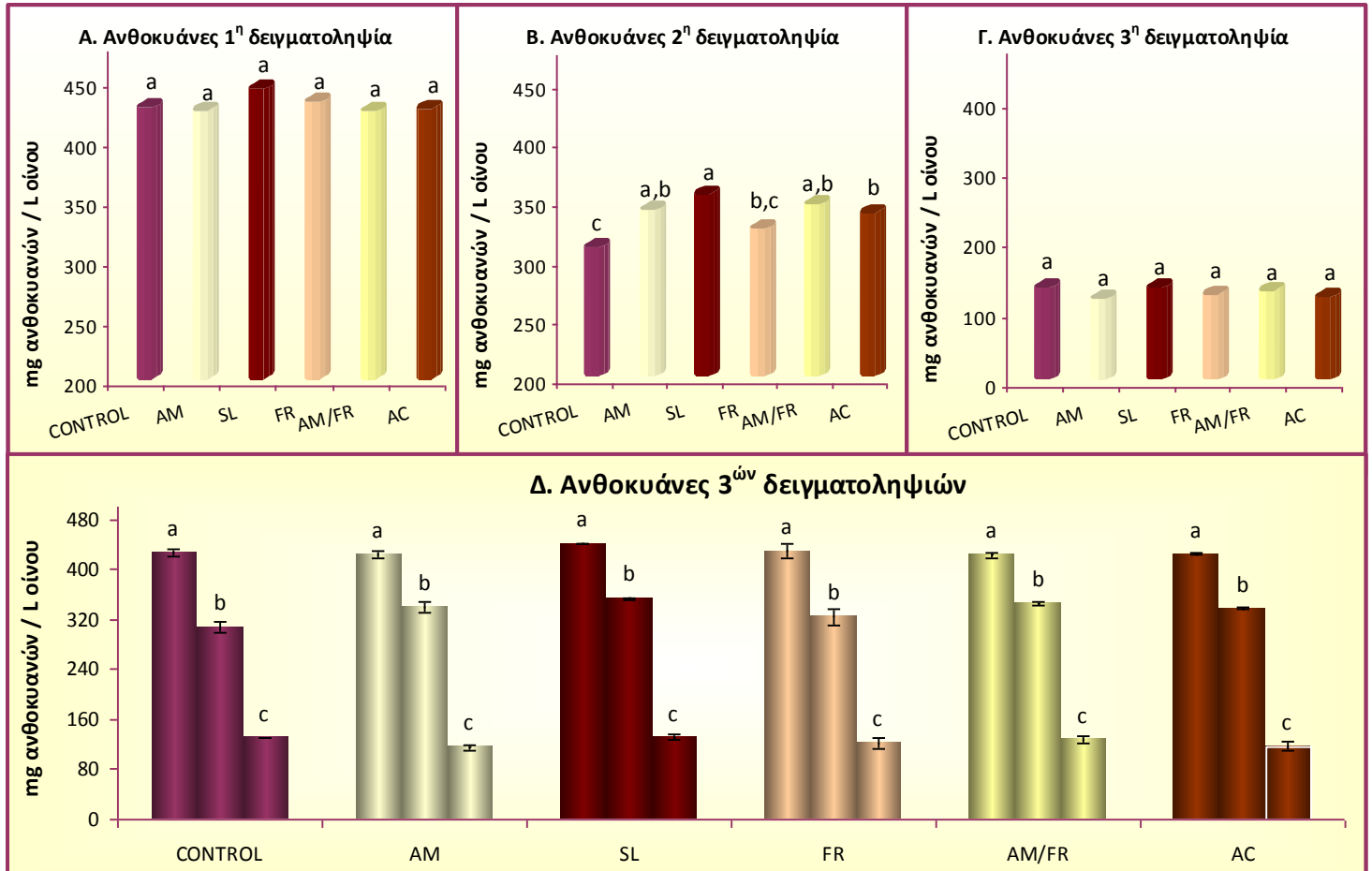
Ως προς την απόχρωση, οι αναλύσεις (Γράφ. 3Α, Β, Γ) έδειξαν ότι στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης τη μεγαλύτερη απόχρωση εμφάνισε η **αμερικανική δρύς (0,75)**, ενώ τη μικρότερη ο **μάρτυρας** και η **σλαβονική δρύς (0,71)**.

Στο τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης τη μεγαλύτερη απόχρωση εμφανίζει η **ακακία** με στατιστική διαφορά σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις που δεν διαφέρουν μεταξύ τους. Η **ακακία (0,83)** συνεχίζει να έχει αυξημένη απόχρωση ακόμη κι ένα μήνα μετά το τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης, διαφέροντας από τα υπόλοιπα δείγματα, σε αντίθεση με τον **μάρτυρα (0,78)** που εμφανίζει τη χαμηλότερη.

Συγκρίνοντας την εξέλιξη της απόχρωσης κάθε δείγματος (Γράφ. 3Δ), φαίνεται πως η τιμή της απόχρωσης αυξάνεται με μεγάλη διαφορά μέχρι το τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης, ενώ ένα μήνα αργότερα επέρχεται μείωση της απόχρωσης, κάτι που ισχύει για όλα τα δείγματα. Η αύξηση της απόχρωσης στη 2^η δειγματοληψία πιθανόν οφείλεται στη φυσική πτώση της ολικής οξύτητας που επέρχεται από τη ΜΓΖ.

Γενικά, μία μικρή υπερίσχυση εμφανίζει η **ακακία** έναντι του **μάρτυρα** που κυμαίνεται σε χαμηλότερες τιμές και από τα υπόλοιπα δείγματα, τα οποία δεν εμφανίζουν διαφορές μεταξύ τους.

5.5 Ολικές Ανθοκυάνες

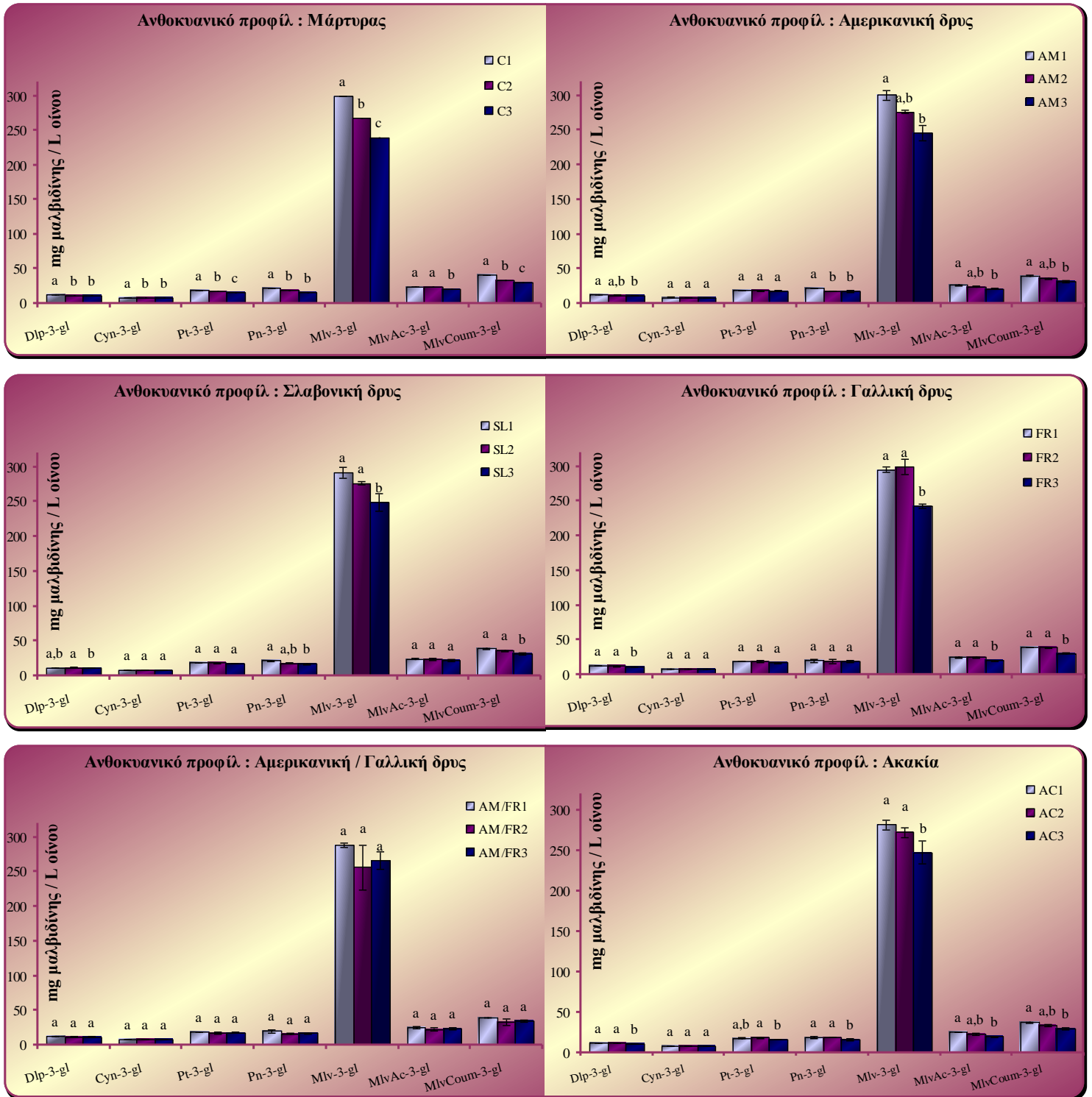


Γράφημα 4. Συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών οίνων (mg/L)
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Τα αποτελέσματα προσδιορισμού των ολικών ανθοκυανών παρουσιάζονται στο Γραφήματα 4Α, Β, Γ, όπου φαίνεται ότι κατά την 1^η και 3^η δειγματοληψία δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, ενώ τη μεγαλύτερη τιμή σε ολικές ανθοκυάνες δίνει και στις τρεις δειγματοληψίες το δείγμα με τη **σλαβονική δρυ**. Στο τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης (2^η δειγματοληψία) παρατηρούνται στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, με το δείγμα του **μάρτυρα** να έχει την χαμηλότερη συγκέντρωση ανθοκυανών και αμέσως μετά ακολουθεί η **γαλλική δρυς**.

Από το Γράφημα 4Δ φαίνεται ξεκάθαρα σε όλες τις περιπτώσεις ότι με την πάροδο του χρόνου η συγκέντρωση των ανθοκυανών στον οίνο μειώνεται και μάλιστα οι διαφορές μεταξύ των τριών δειγματοληψιών είναι στατιστικά σημαντικές σε κάθε περίπτωση. Η μείωση αυτή των ανθοκυανών είναι αναμενόμενη, εφόσον ο προσδιορισμός τους αφορά τις ελεύθερες μονομερείς ή απλές ανθοκυάνες που μετέχουν σε αντιδράσεις συμπύκνωσης και διάσπασης, οπότε η συγκέντρωσή τους μειώνεται με το χρόνο. (Bautista – Ortin et al, 2007, Cliff et al, 2007)

5.6 Ανθοκυάνες με HPLC



Γράφημα 5. Συγκεντρώσεις μονογλυκοζιτών-3 των ανθοκυανών των οίνων (mg/L) (τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Το Γράφημα 5 δείχνει τις συγκεντρώσεις του ανθοκυανικού προφίλ για κάθε επέμβαση κατά τη διάρκεια των τριών σταδίων και ο Πίνακας 5 τη σύγκριση μεταξύ των ξύλων για κάθε δειγματοληψία.

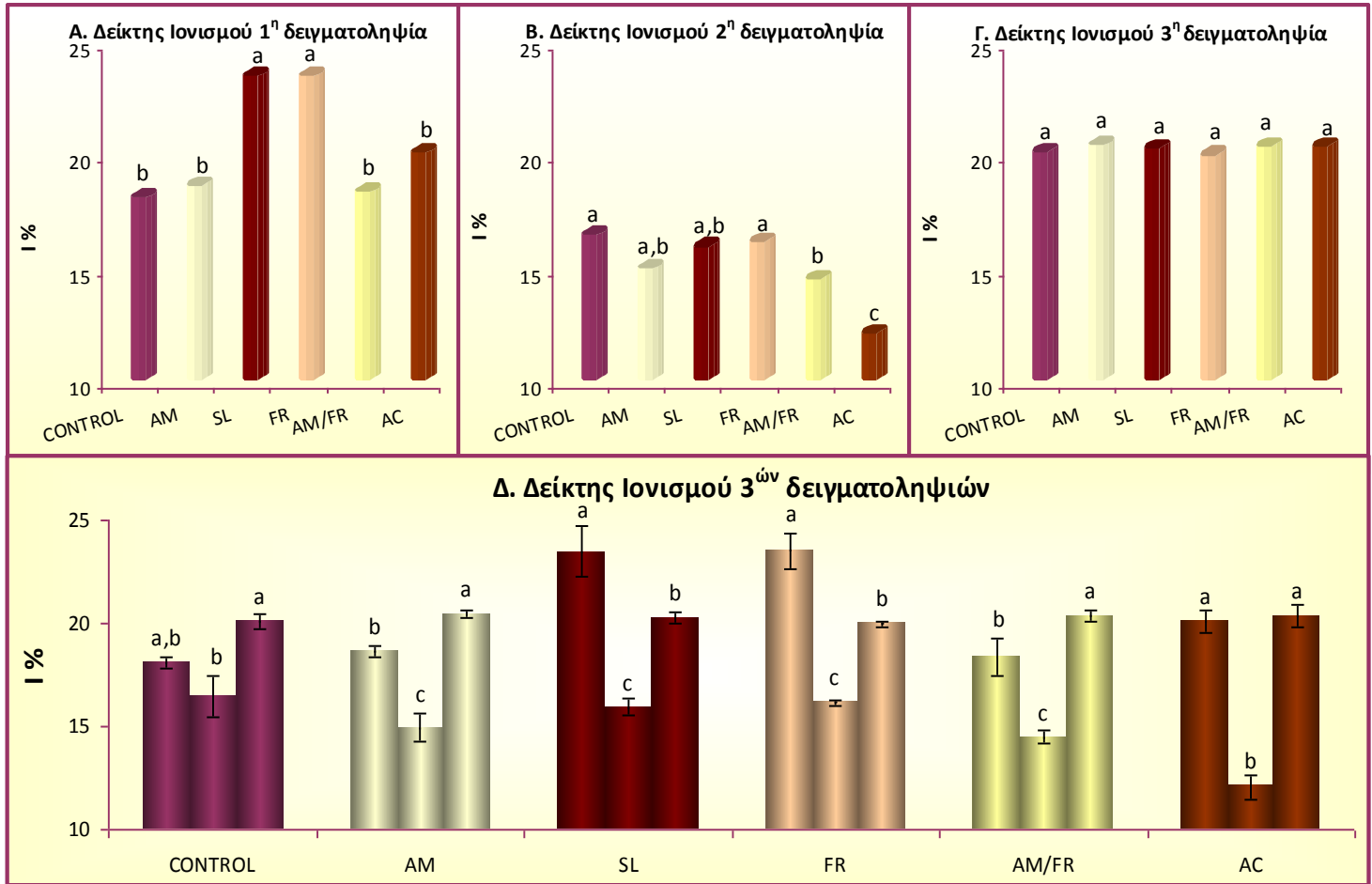
Σε όλες τις επεμβάσεις (Γράφ. 5) παρατηρήθηκε μία πτωτική πορεία των μονομερών ανθοκυανών κατά τα τρία στάδια.

Κατά το 1^ο στάδιο (Πίν. 5) ο οίνος με τα τσιπς **αμερικανικής δρυός** είχε την **υψηλότερη** συγκέντρωση στο σύνολο των ανθοκυανών, ενώ το δείγμα με τα τσιπς ακακίας τη χαμηλότερη. Αυτή η χαμηλή συγκέντρωση πιθανόν να οφείλεται στην υψηλότερη πορότητα της ακακίας σε σχέση με τα υπόλοιπα ξύλα. Στο 2^ο στάδιο, το δείγμα **FR** ήταν το **πλουσιότερο** στο σύνολο των ανθοκυανών και ειδικά στον μονογλυκοζίτη της μαλβιδίνης που είναι και η κύρια ανθοκυάνη, ενώ το AM/FR το φτωχότερο. Στο 3^ο στάδιο, την **υψηλότερη** συγκέντρωση παρουσίασε το δείγμα **AM/FR** και τη χαμηλότερη ο μάρτυρας.

Ανθοκυανίνες (mg μαλβιδίνης / L οίνου)														
Δείγμα	Dlp-3-gl		Cyn-3-gl		Pt-3-gl		Pn-3-gl		Mlv-3-gl		MlvAc-3-gl		MlvCoum-3-gl	
1^η Δειγματοληψία														
C₁	12,25	b	8,52	a	19,09	a	21,89	a	299,58	a,b	23,31	c	40,77	a
AM₁	12,26	b	8,49	a	18,78	a,b	21,52	a	301,01	a	26,63	a	40,09	a
SL₁	11,71	c	8,19	a	18,36	a,b	21,63	a	292,30	a,b	24,30	b,c	38,81	a,b
FR₁	12,08	b,c	8,18	a	18,63	a,b	19,77	a	295,52	a,b	24,70	a,b,c	39,34	a,b
AM/FR₁	12,62	a	8,12	a	18,94	a,b	19,72	a	288,86	a,b	25,20	a,b,c	39,14	a,b
AC₁	11,88	c	8,15	a	17,80	b	18,72	a	281,54	b	25,44	a,b	37,40	b
2^η Δειγματοληψία														
C₂	10,91	a	8,09	a	17,72	a	18,45	a	268,20	a,b	23,38	a	33,29	a
AM₂	11,70	a	8,06	a	18,44	a	17,82	a	276,54	a,b	23,77	a	35,50	a
SL₂	12,03	a	7,93	a	19,41	a	19,32	a	294,66	a	24,33	a	37,64	a
FR₂	11,92	a	8,18	a	18,83	a	18,54	a	299,73	a	24,98	a	38,81	a
AM/FR₂	11,54	a	8,21	a	17,28	a	16,08	a	256,28	b	22,52	a	32,63	a
AC₂	11,81	a	7,95	a	18,26	a	19,03	a	272,15	a,b	22,57	a	33,26	a
3^η Δειγματοληψία														
C₃	10,70	b	8,09	a	15,96	b	16,25	a	239,96	b	21,26	a	30,50	a,b
AM₃	10,76	b	8,15	a	17,64	a,b	17,86	a	246,08	a,b	21,20	a	31,06	a,b
SL₃	11,11	a,b	8,13	a	17,46	a,b	16,92	a	249,17	a,b	21,62	a	31,94	a,b
FR₃	10,78	a,b	8,14	a	16,86	a,b	18,28	a	242,87	a,b	19,75	a	30,72	a,b
AM/FR₃	11,51	a	8,21	a	18,04	a	16,76	a	266,82	a	23,14	a	34,58	a
AC₃	10,81	a,b	8,08	a	16,56	a,b	16,00	a	247,66	a,b	19,74	a	29,59	b

Πίνακας 5. Σύγκριση ανθοκυανών μεταξύ των ξύλων για κάθε δειγματοληψία

5.7 Δείκτης Ιονισμού



Γράφημα 6. Δείκτης ιονισμού οίνων %
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Ο Δείκτης Ιονισμού (I%) προσδιορίζει το ποσοστό των ελεύθερων και ενωμένων ανθοκυανών που μετέχουν στη δημιουργία του χρώματος των οίνων, δηλαδή των ανθοκυανών που βρίσκονται στην έγχρωμη μορφή σε σχέση με τις ολικές ανθοκυάνες και αποτελεί χαρακτηριστικό για βαθύτερη μελέτη των χρωστικών. Για τους φρέσκους οίνους κυμαίνεται μεταξύ 10 - 30%.

Στη συγκεκριμένη περίπτωση, οι τιμές του I% κυμαίνονται από 12 έως 24%, ανάλογα με την επέμβαση και το χρόνο εκχύλισης, τιμές οι οποίες συμφωνούν με την ηλικία των δειγμάτων.

Κατά την 1^η δειγματοληψία (Γράφ. 6Α) οι τιμές του I% παρουσιάζουν ένα εύρος από **18,11 (Control)** έως **23,50 (SL)**. Ενώ και η **γαλλική δρυς (23,48)** δεν παρουσιάζει διαφορά σε σχέση με τη **σλαβονική δρυ**.

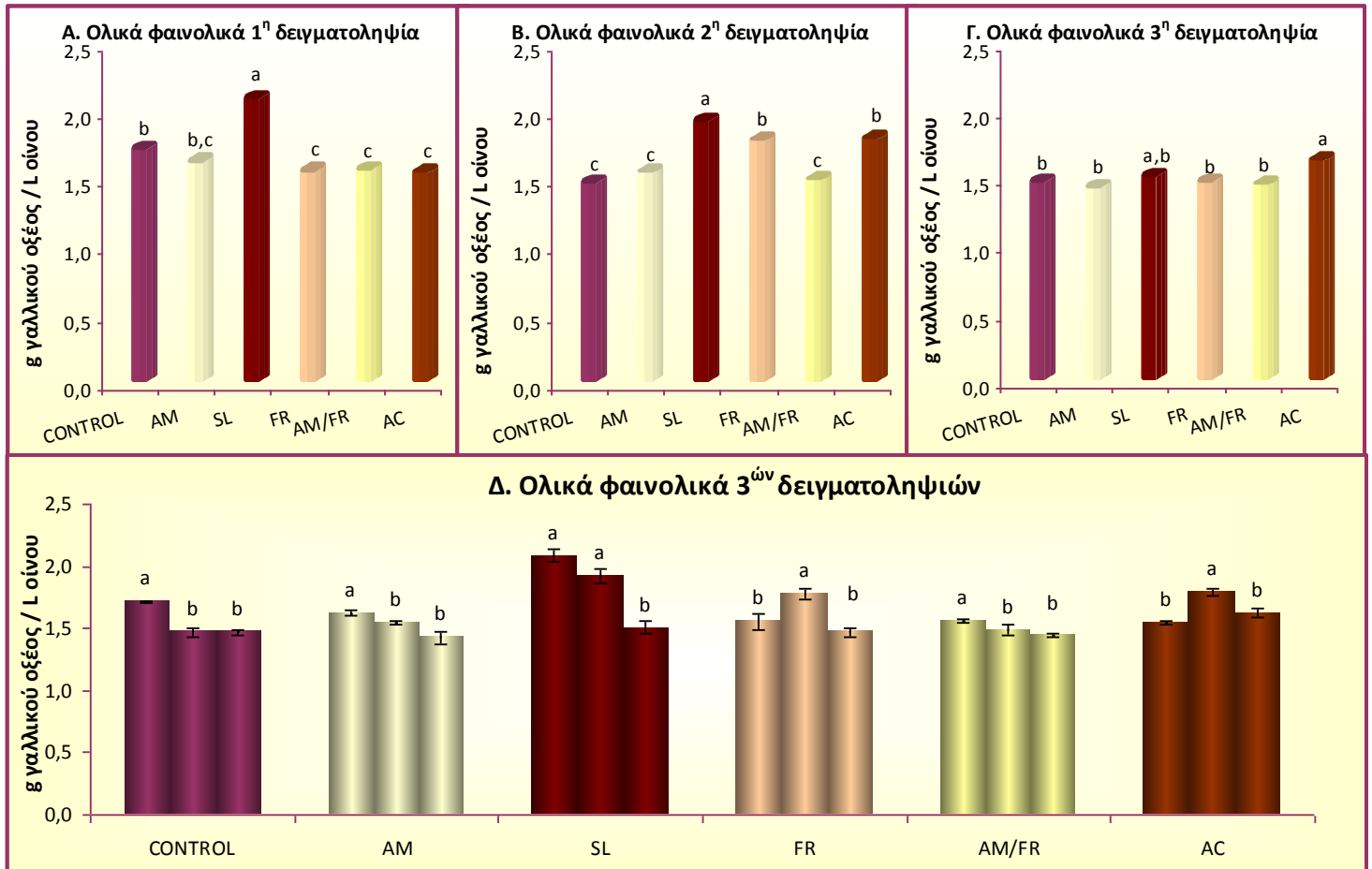
Κατά τη 2^η δειγματοληψία (Γράφ. 6Β) οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ **12,08 (AC)** και **16,44 (Control)** με τις τιμές των **AM, SL** και **AM/SL** να τοποθετούνται μεταξύ των χαμηλότερων και υψηλότεων ορίων που μετρήθηκαν σε αυτή την περίπτωση.

Ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ (Γράφ. 6Γ) παρατηρήθηκε αύξηση σε όλες τις επεμβάσεις, ενώ δεν καταγράφηκε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων, οι τιμές του I% των οποίων βρίσκονται περίπου στο 20%. Καθώς οι Δείκτες Ιονισμού δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά, αναμένεται οι οίνοι που παρουσιάζουν μεγάλες τιμές ολικών ανθοκυανών να παρουσιάζουν αντίστοιχα και μεγάλες τιμές έντασης.

Η πορεία του ποσοστού των ανθοκυανών εμφανίζει το ίδιο μοτίβο σε όλες τις επεμβάσεις (Γράφ. 6Δ), δηλαδή στο τέλος της ΜΓΖ παρατηρείται μία σημαντική πτώση, ενώ ένα μήνα αργότερα το ποσοστό των ανθοκυανών έχει αυξηθεί κατά πολύ.

Επιπλέον, συγκρίνοντας την 1^η με την 3^η δειγματοληψία, ενώ στο τέλος της ΑΖ οι ανθοκυάνες βρίσκονται σε χαμηλότερα ή στα ίδια επίπεδα με αυτά ένα μήνα μετά τη ΜΓΖ σχεδόν σε όλα τα δείγματα, εξαίρεση αποτελούν η περίπτωση της **σλαβονικής** και **γαλλικής δρυός**, όπου το ποσοστό των ανθοκυανών είναι μεγαλύτερο στο τέλος της ΑΖ από ότι ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ.

5.8 Ολικά Φαινολικά



Γράφημα 7. Συγκέντρωση ολικών φαινολικών οίνων (g/L)
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Το Γράφημα 7Δ δείχνει τις συγκεντρώσεις των Ολικών Φαινολικών (ΟΦ) για κάθε επέμβαση κατά τις τρεις χρονικές στιγμές και τη σύγκριση μεταξύ των ξύλων για κάθε δειγματοληψία (Γράφ. 7Α, Β, Γ).

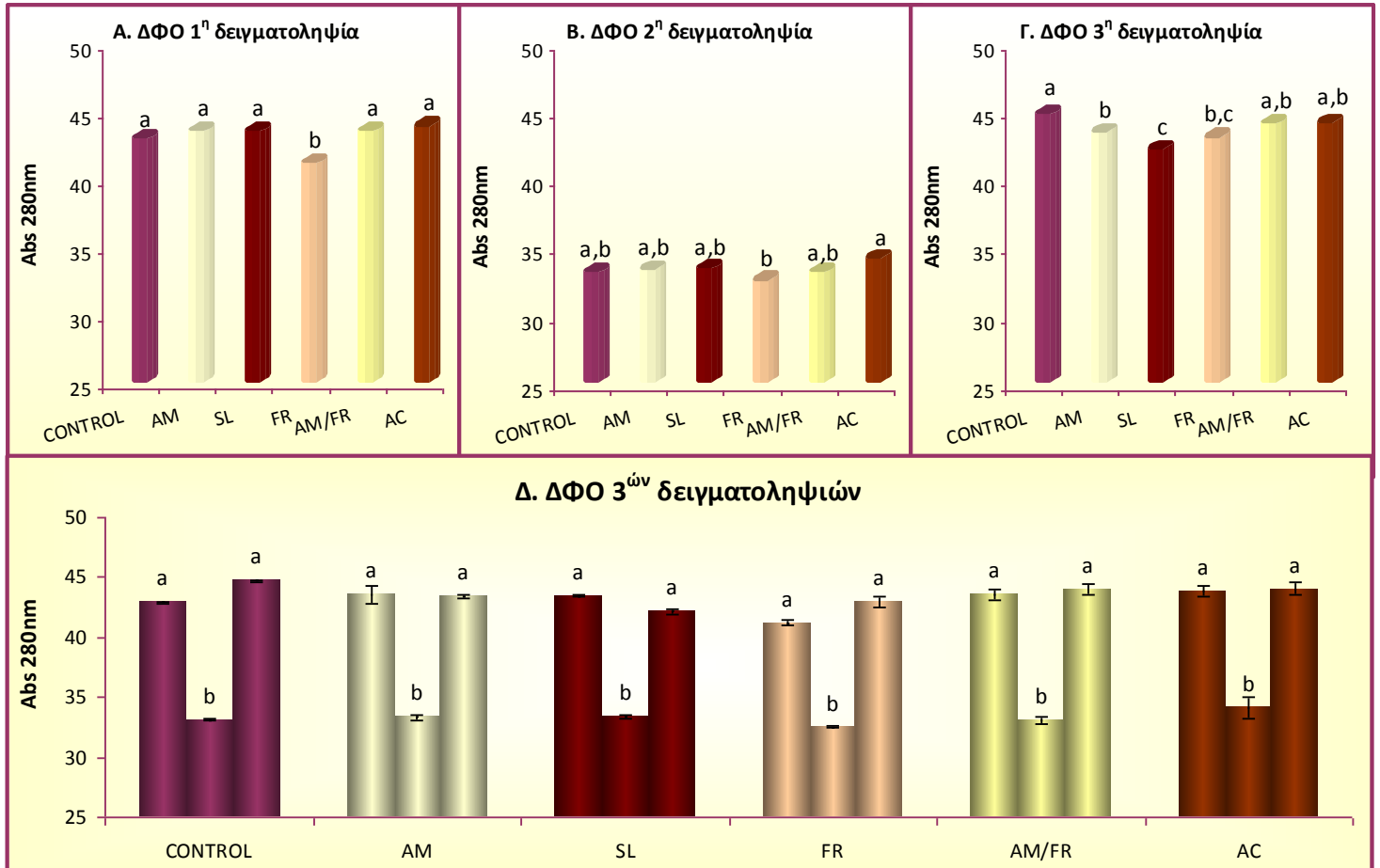
Οι συγκεντρώσεις των ΟΦ κυμαίνονται μεταξύ 1,5 - 2,1 g/L, 1,5 - 2,9 g/L και 1,4 - 1,6 g/L (ισοδύναμα γαλλικού οξέος) για την 1^η, 2^η και 3^η δειγματοληψία αντίστοιχα.

Στο τέλος της ΑΖ (Γράφ. 7Α) το υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο προσδιορίστηκε στη **σλαβονική δρυ (2,09 g/L)**, την οποία ακολουθεί με σημαντική διαφορά ο **μάρτυρας (1,72 g/L)** κι έπειτα όλα τα υπόλοιπα δείγματα, τα οποία δεν εμφανίζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί ότι η ανάλυση των ολικών φαινολικών στερείται επιλεκτικότητας καθώς συνυπολογίζει ανθοκυάνες και άλλα μόρια με αντιοξειδωτική συμβολή.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η αμερικανική δρυς περιέχει λιγότερες τανίνες από τα υπόλοιπα ξύλα δρυός, κάτι που επιβεβαιώνεται και στην παρούσα περίπτωση, όπως φαίνεται και στα Γραφήματα 7Β και 7Γ. Επιπλέον, ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ (Γράφ. 7Γ) τα επίπεδα των φαινολικών κυμαίνονται σχεδόν στο ίδιο επίπεδο για όλα τα δείγματα με εξαίρεση το δείγμα της **ακακίας** που παρουσιάζεται σημαντικά **υψηλότερο** σε σχέση με τα υπόλοιπα.

Γενικά, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων (Γράφ. 7Δ) φαίνεται να παρουσιάζει μείωση κατά τη διάρκεια των τριών σταδίων με μεγαλύτερη ένταση κυρίως από το 1^ο στο 2^ο στάδιο. Κάτι που δε συμβαίνει στην περίπτωση της γαλλικής δρυός και της ακακίας στις οποίες, αντιθέτως, παρατηρείται αύξηση στο τέλος της ΜΓΖ και πτώση των φαινολικών ένα μήνα αργότερα.

5.9 ΔΦΟ



Γράφημα 8. Δείκτης φαινολικών ουσιών οίνων
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Ο Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ) αποτελεί την απλούστερη, ταχύτερη και επαναληψιμότερη μέθοδο εκτίμησης της περιεκτικότητας των φαινολικών συστατικών που περιέχει ένας οίνος, στο σύνολο τους, χωρίς δηλαδή να δίνει πληροφορίες για συγκεκριμένη κατηγορία φαινολικών ουσιών.

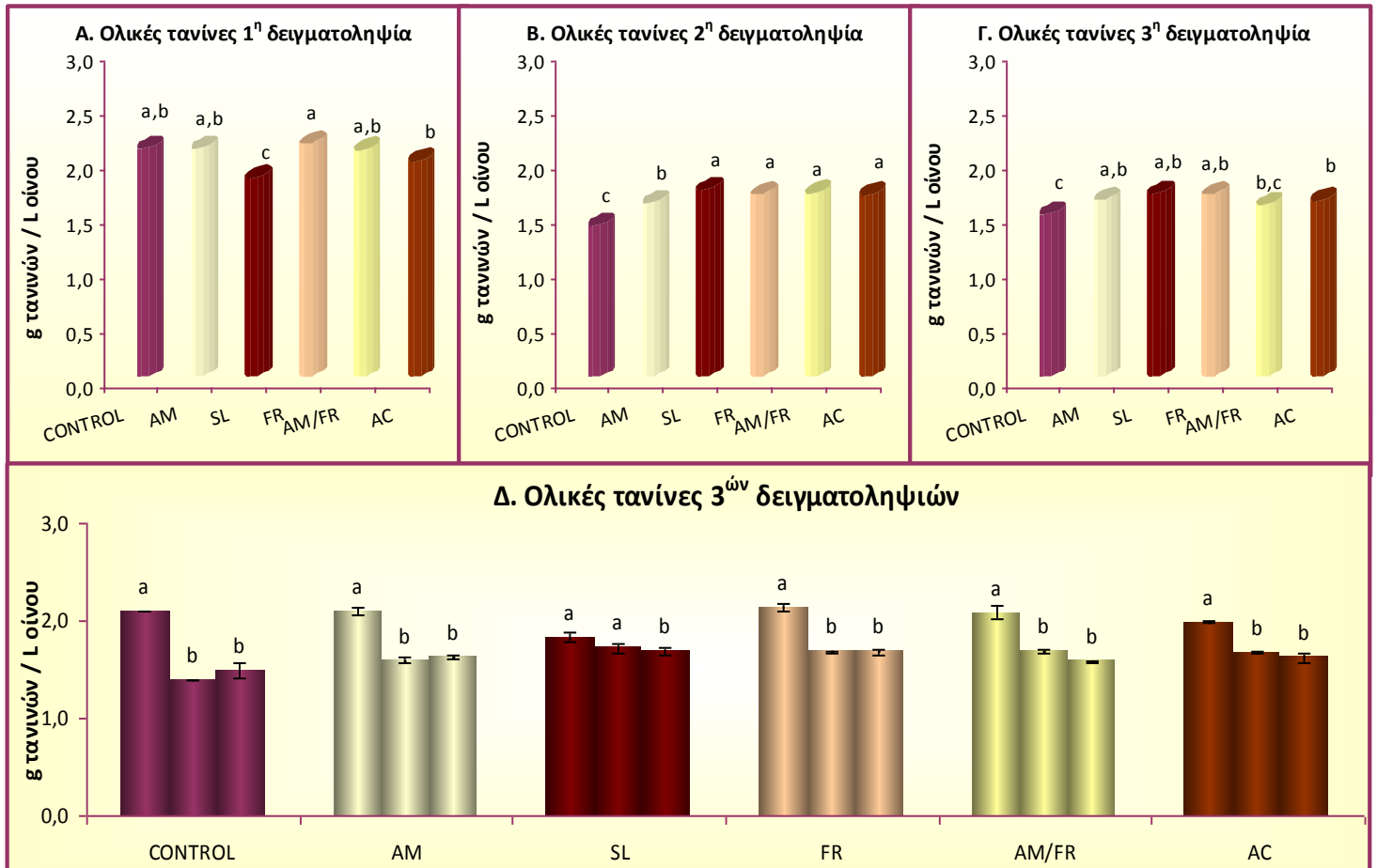
Όπως φαίνεται από το Γράφημα 8Α κατά το τέλος της ΑΖ η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε φαινολικές ουσίες κυμαίνεται μεταξύ 41 και 44 χωρίς να εμφανίζονται σημαντικές διαφορές από δείγμα σε δείγμα, εκτός από την περίπτωση του δείγματος με **γαλλική δρυ**, το οποίο εμφανίζει και το χαμηλότερο ποσοστό φαινολικών ουσιών.

Κατά παρόμοιο τρόπο, στο τέλος της ΜΓΖ (Γράφ. 8Β), οι περιεκτικότητες των φαινολικών ουσιών που πλέον κυμαίνονται από 32 έως 34, δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους εκτός από το δείγμα με την **ακακία** που εμφανίζει την **υψηλότερη** περιεκτικότητα και το δείγμα με τη **γαλλική δρυ** που κατέχει το **χαμηλότερο** ποσοστό ολικών φαινολικών συστατικών.

Τέλος, ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ (Γράφ. 8Γ) αρχίζουν να παρατηρούνται περισσότερες διακυμάνσεις μεταξύ των δειγμάτων με σημαντικές στατιστικές διαφορές, το εύρος φαινολικών συστατικών των οποίων είναι από 42 έως 45. **Μεγαλύτερη** περιεκτικότητα φαινολικών εμφανίζει ο **μάρτυρας** και **χαμηλότερη** το δείγμα της **σλαβονικής δρυός**.

Χαρακτηριστική είναι η πορεία της περιεκτικότητας φαινολικών ουσιών των δειγματοληψιών σε όλα τα δείγματα (Γράφ. 8Δ), όπου παρατηρείται μία πτώση στη 2^η δειγματοληψία και έπειτα μία αύξηση κατά την 3^η δειγματοληψία. Σε όλες τις επεμβάσεις η 1^η με την 3^η δειγματοληψία δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

5.10 Ολικές Τανίνες



Γράφημα 9. Συγκέντρωση ολικών τανινών οίνων (g/L)
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

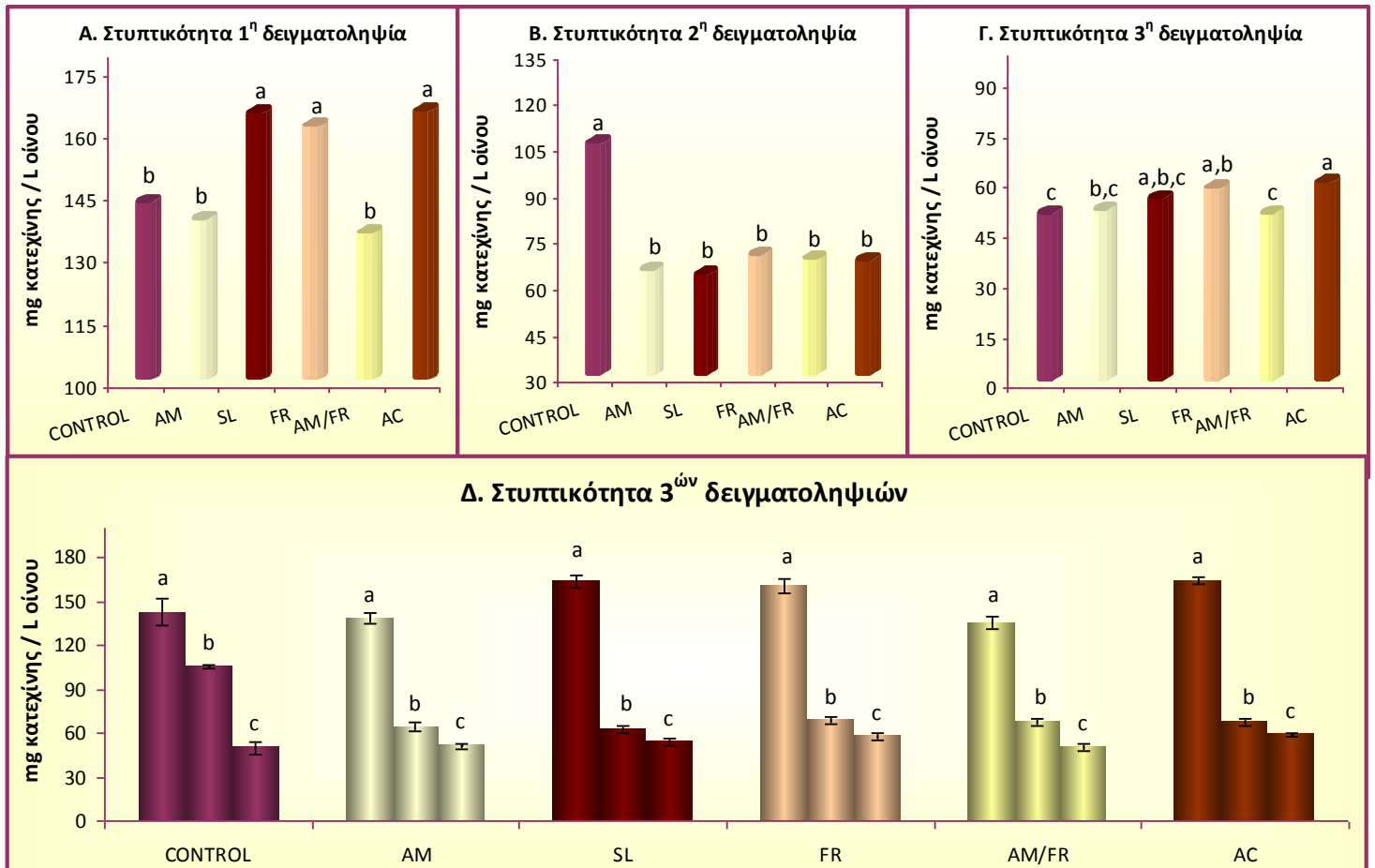
Το Γράφημα 9 δείχνει τη συγκέντρωση των ολικών τανινών (g ο.τ./ L οίνου) για κάθε επέμβαση έπειτα από το 1^ο, 2^ο και 3^ο στάδιο (Γράφ. 9Δ) και τη σύγκριση μεταξύ των ξύλων σε κάθε στάδιο χωριστά (Γράφ. 9Α, Β, Γ). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η ποσότητα των τανινών στους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται μεταξύ 1,5 και 4 g/L.

Στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης (Γράφ. 9Α) τη χαμηλότερη συγκέντρωση τανινών εμφανίζει το δείγμα με τη **σλαβονική δρυ (1,83 g/L)** και τη μεγαλύτερη το δείγμα με τη **γαλλική δρυ (2,14 g/L)**. Στο τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης (Γράφ. 9Β) η χαμηλότερη συγκέντρωση εμφανίζεται στον **μάρτυρα (1,39 g/L)** και η μεγαλύτερη στο δείγμα με τη **σλαβονική δρυ (1,72 g/L)** και το ίδιο μοτίβο συνεχίζεται και ένα μήνα μετά το τέλος της μηλογαλακτικής ζύμωσης (Γράφ. 9Γ) με συγκεντρώσεις **1,49 g/L** και **1,69 g/L** αντίστοιχα. Γενικά, οι τιμές στις οποίες κυμαίνονται οι συγκεντρώσεις των τανινών μεταξύ των επεμβάσεων ανά μήνα είναι πολύ κοντινές και ίσως τυπικές για την ποικιλία του Αγιωργίτικου.

Όσον αφορά τη συγκέντρωση των τανινών κατά τη διάρκεια των 3^{ων} δειγματοληψιών ανά επέμβαση (Γράφ. 9Δ), παρατηρείται μία πτωτική τάση από μήνα σε μήνα σχεδόν σε όλες τις επεμβάσεις, με εξαίρεση τη συγκέντρωση από τον 2^ο προς τον 3^ο μήνα στην περίπτωση του **μάρτυρα** και της **αμερικανικής δρυός**, όπου παρατηρείται μία μικρή αύξηση, ενώ η τιμή για αυτούς τους δύο μήνες, στην περίπτωση της **γαλλικής δρυός**, παραμένει σταθερή.

Τέλος, αυτό που γίνεται εύκολα αντιληπτό, είναι η απότομη μείωση της συγκέντρωσης των ολικών τανινών από το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης έως το τέλος της μηλογαλακτικής σε όλες τις επεμβάσεις, με μεγαλύτερη διαφορά στην περίπτωση του **μάρτυρα** και μικρότερη στην περίπτωση της **σλαβονικής δρυός**.

5.11 Στυπτικότητα



Γράφημα 10. Συγκέντρωση τανινών οίνων (mg κατεχίνης /L)
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Το περιεχόμενο των τανινών (mg κατεχίνης / L οίνου) μετρήθηκε επίσης μετά την καταβύθιση με αλβουμίνη βόειου ορού (BSA). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου σχετίζονται έντονα με τη στυφή αίσθηση στο στόμα και γι' αυτό η ανάλυση αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως χημική εκτίμηση της στυπτικότητας ενός οίνου.

Το Γράφημα 10 δείχνει το περιεχόμενο των τανινών, οι οποίες έχουν την ικανότητα να ενώνονται με πρωτεΐνες και εκφράζει τη χημική στυπτικότητα των δειγμάτων. Στα Γραφήματα 10Α, Β, Γ παρουσιάζεται η σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων για κάθε δειγματοληψία αντίστοιχα, ενώ στο Γράφημα 10Δ φαίνεται η πορεία των 3^{ov} σταδίων ανά επέμβαση.

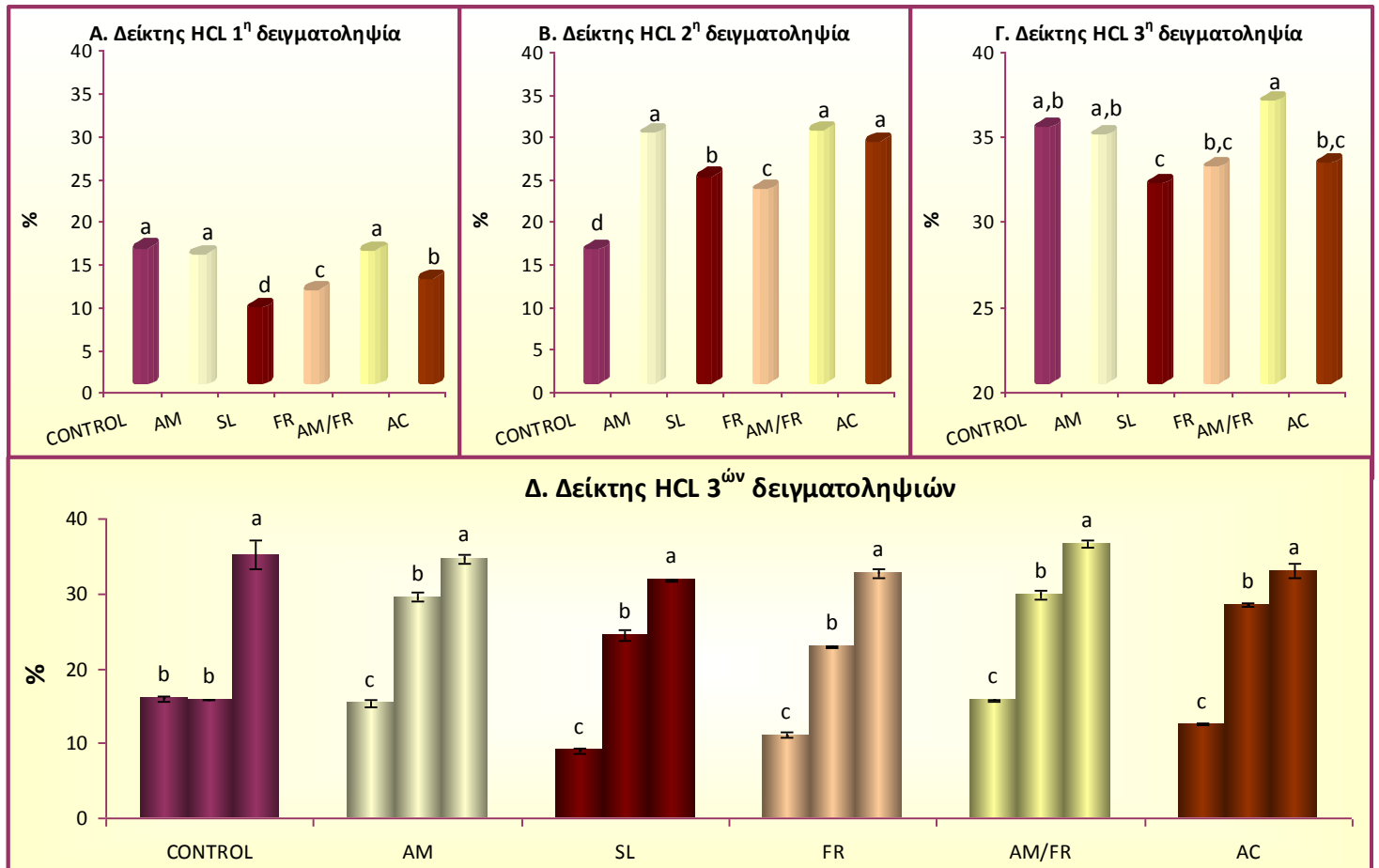
Στο τέλος της ΑΖ (Γράφ. 10Α) τα δείγματα **σλαβονικής** και **γαλλικής δρυός** και της **ακακίας**, χαρακτηρίζονται από υψηλότερες τιμές στυπτικότητας σε σύγκριση με τα υπόλοιπα τρία δείγματα. Είναι φανερό ότι παρόλο που όλες οι επεμβάσεις είχαν ως αποτέλεσμα την εκχύλιση τανινών, κάθε ξύλο εμπλούτισε τον οίνο με διαφορετικές ποσότητες και είδη τανινών.

Στο τέλος της ΜΛΖ (Γράφ. 10Β) είναι εμφανής η υψηλή στυπτικότητα του **μάρτυρα** σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Η εκχύλιση των ελλαγικών τανινών στον οίνο προάγει τον πολυμερισμό και συνεπώς ενισχύει το σχηματισμό λιγότερο στυπτικών πολυμερών.

Στο 3^o στάδιο (Γράφ. 10Γ) οι τιμές της στυπτικότητας κυμαίνονται σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα σε όλες τις επεμβάσεις.

Κατά τη διάρκεια των 3^{ov} δειγματοληψιών (Γράφ. 10Δ) παρατηρήθηκε το ίδιο πτωτικό μοτίβο σε όλες τις επεμβάσεις με σημαντικές διαφορές από στάδιο σε στάδιο. Αξιοσημείωτος σε αυτή την περίπτωση είναι ο μικρότερος ρυθμός μείωσης της στυπτικότητας του **μάρτυρα** από το 1^o στο 2^o στάδιο σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα κατά τα ίδια στάδια.

5.12 Δείκτης HCL



Γράφημα 11. Δείκτης υδροχλωρικού οξέος οίνων %
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, d είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Ο Δείκτης HCL δίνει πληροφορίες για την κατάσταση πολυμερισμού των τανινών στους οίνους και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία οι τιμές του κυμαίνονται μεταξύ 5 έως 40%, όπως παρατηρείται και στη συγκεκριμένη περίπτωση.

Στο τέλος της AZ (Γράφ. 11A) το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών κυμαίνεται από 9 έως 16%. Τα δείγματα Control, AM και AM/FR που κατέχουν τα υψηλότερα ποσοστά δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα τρία δείγματα που διαφέρουν σημαντικά. Το δείγμα SL κατέχει το χαμηλότερο ποσοστό πολυμερισμένων τανινών.

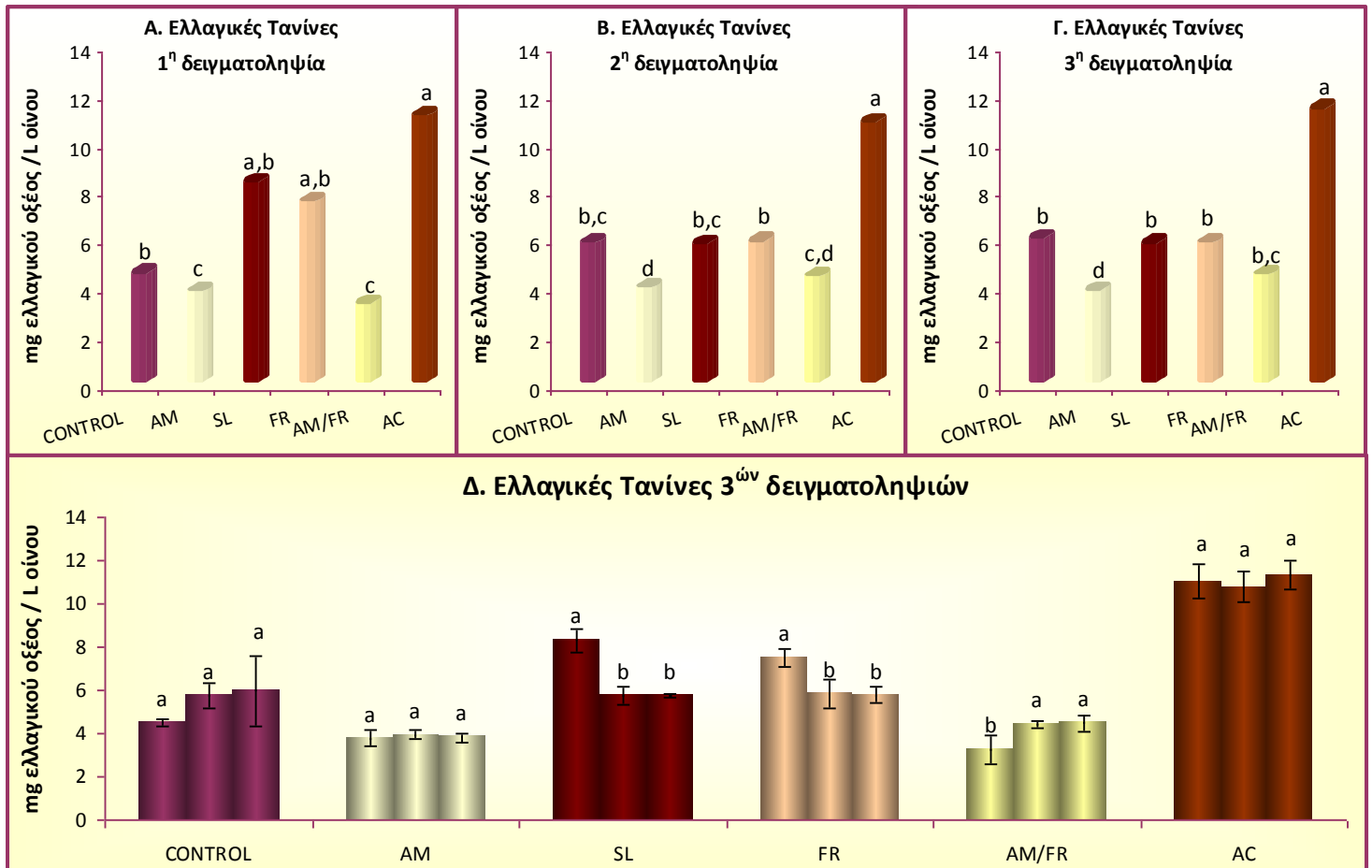
Στο τέλος της ΜΓΖ (Γράφ. 11B) το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών κυμαίνεται από 16 έως 30%. Τα δείγματα AM, AM/FR και AC που κατέχουν τα υψηλότερα ποσοστά δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους. Αντιθέτως τα υπόλοιπα τρία δείγματα διαφέρουν σημαντικά με το δείγμα Control να κατέχει το χαμηλότερο ποσοστό.

Ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ (Γράφ. 11Γ) το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών κυμαίνεται από 32 έως 37%. Το υψηλότερο ποσοστό κατέχει το δείγμα AM/FR και το χαμηλότερο το δείγμα SL. Εκτός από αυτά τα δύο δείγματα που διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους, τα υπόλοιπα δείγματα που βρίσκονται ενδιάμεσα δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές.

Γενικά, παρατηρείται μία ανοδική πορεία (Γράφ. 11Δ) ως προς το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών, κατά τη διάρκεια των 3^{ov} σταδίων, σε όλα τα δείγματα. Εκτός από την περίπτωση του Control, όπου κατά το 1^ο και 2^ο στάδιο παρατηρείται μία σταθερότητα, ενώ στο 3^ο στάδιο υπάρχει απότομη αύξηση του ποσοστού, σε όλα τα υπόλοιπα δείγματα παρουσιάζεται απότομη αύξηση από το 1^ο στο 2^ο στάδιο και η αύξηση συνεχίζεται και στο 3^ο στάδιο, αλλά σε μικρότερο βαθμό. Στατιστικές διαφορές εμφανίζονται, όπως είναι φυσικό, σε όλα τα δείγματα μεταξύ των 3^{ov} σταδίων, εκτός από το 1^ο και 2^ο στάδιο του Control.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τιμές μεγαλύτερες του 25 εμφανίζουν οι οίνοι με υψηλή συγκέντρωση πολυμερισμένων τανινών.

5.13 Ελλαγικές Τανίνες (ΕΤ)



Γράφημα 12. Συγκέντρωση ελλαγικών τανινών οίνων (mg/L)
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a,b,c, d είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Οι υδρολυμένες τανίνες (ελλαγικές τανίνες) μπορούν να βρεθούν σε σημαντικά επίπεδα στο ξύλο, άρα να εκχυλιστούν από τα τσιπς και να συμμετάσχουν σε αλλαγές στον οίνο κατά τα διάφορα στάδια της οινοποίησης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να επηρεάζουν τη στυπτικότητα και την πικρή γεύση ενός οίνου. Η συγκέντρωση των ελλαγικών τανινών (ΕΤ) προσδιορίστηκε σε όλα τα δείγματα με την ποσοτικοποίηση του ελλαγικού οξέος που απελευθερώθηκε κατά τη διάρκεια της όξινης υδρόλυσης.

Το Γράφ. 12 δείχνει τη συγκέντρωση των ελλαγικών τανινών (mg/ L οίνου) για κάθε επέμβαση μετά την 1^η, 2^η και 3^η δειγματοληψία (Γράφ. 12Δ). Η συγκέντρωση των ΕΤ παρουσιάζεται επίσης στα γραφήματα 12Α, Β και Γ, χωριστά για κάθε δειγματοληψία για λόγους σύγκρισης.

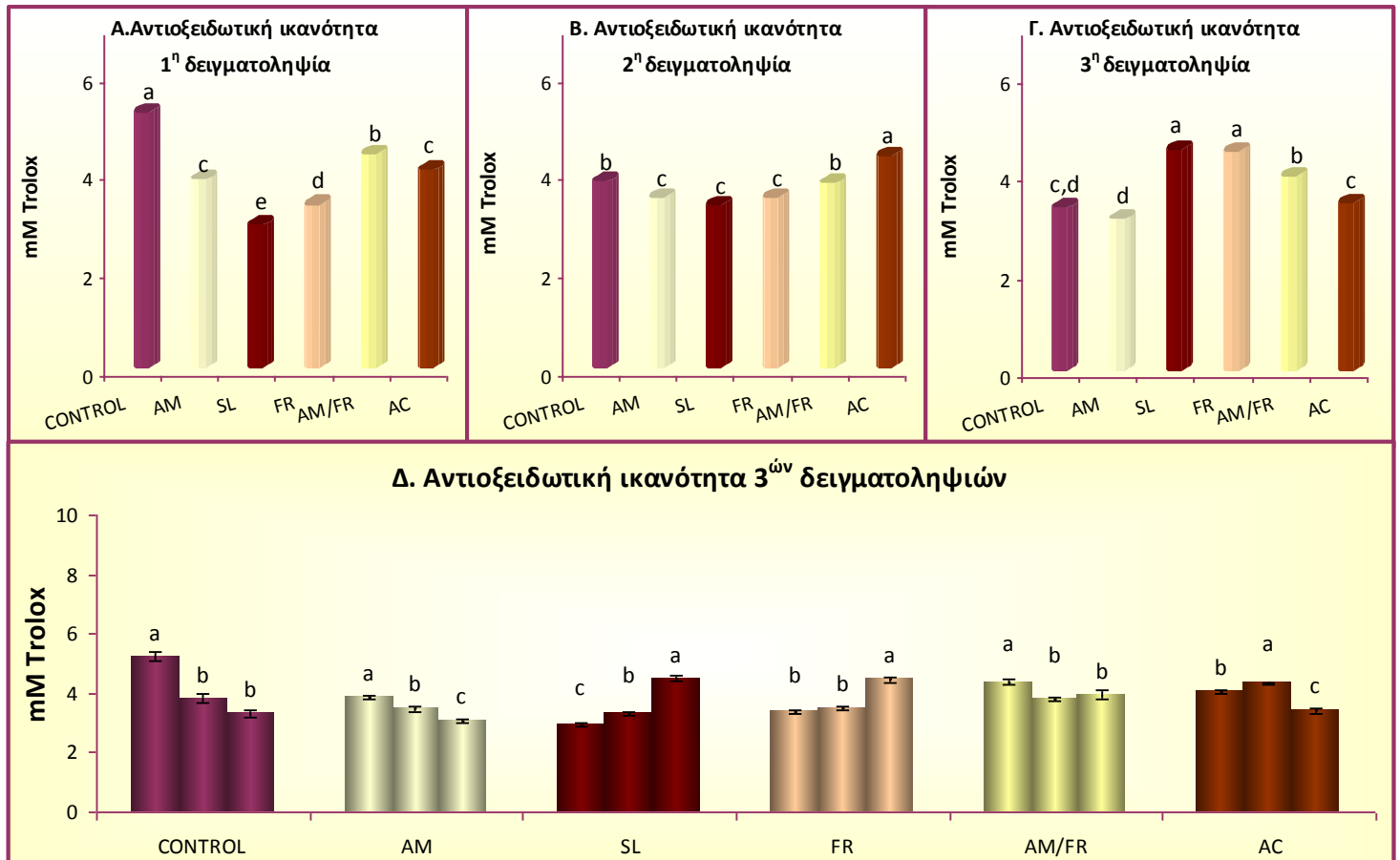
Κατά το 1^ο στάδιο η περιεκτικότητα του οίνου με τα τσιπς **ακακίας** ήταν **υψηλότερη** σε ET (Γράφ. 12Α), ενώ τη χαμηλότερη είχε το δείγμα **AM/FR**. Μεταξύ των δειγμάτων παρατηρούνται στατιστικές διαφορές. Η ύπαρξη των ET στο μάρτυρα σε αυτή την περίπτωση, πιθανόν οφείλεται στην προσθήκη εμπορικών τανινών κατά την οινοποίηση.

Στο 2^ο στάδιο (Γράφ. 12Β) η **ακακία** ήταν ακόμη το **πλουσιότερο** δείγμα σε ET και το **χαμηλότερο** περιεχόμενο ET είχε η **αμερικανική δρυς**. Τα υπόλοιπα δείγματα που βρίσκονται ενδιάμεσα ως προς το περιεχόμενο των ET, δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Στην 3^η δειγματοληψία (Γράφ. 12Γ), ο οίνος με τα τσιπς **ακακίας** παρέμεινε το **πλουσιότερο** δείγμα σε ET και ακολουθούν τα υπόλοιπα δείγματα με το ίδιο μοτίβο όπως και στη 2^η δειγματοληψία, η περιεκτικότητα των οποίων είναι σχεδόν η μισή από την περιεκτικότητα της ακακίας. Οι ελλαγικές τανίνες που ανιχνεύονται στον μάρτυρα, πιθανόν οφείλονται στη μετατροπή του γαλλικού οξέος σε ελλαγικό, το οποίο παρατηρείται κατά την ωρίμανση του οίνου.

Κατά τη διάρκεια των 3^{ων} σταδίων (Γράφ. 12Δ) παρατηρήθηκε ένα διαφορετικό μοτίβο εκχύλισης ET από κάθε ξύλο. Στη **σλαβονική** και **γαλλική δρυ** η **υψηλότερη** συγκέντρωση αποκτήθηκε στο τέλος της AZ, στην **αμερικανική δρυ** στο τέλος της ΜΓΖ και τέλος στα δείγματα AM/FR και AC ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ. Το δείγμα με τα τσιπς **ακακίας** ήταν το **πλουσιότερο** σε ET, ωστόσο η ποσότητα που εκχυλίστηκε έφτασε τη μέγιστη συγκέντρωσή της από το 1^ο στάδιο κι από εκεί κι έπειτα παρέμεινε σταθερή. Αυτό πιθανόν συνέβη εξαιτίας της γρηγορότερης εκχύλισης των ελλαγικών τανινών αυτού του είδους ξύλου συγκρινόμενο με τα ξύλα δρυός. Ωστόσο, και η **αμερικανική δρυς** παρουσίασε **σταθερή** εκχύλιση κατά τα τρία στάδια. Όσον αφορά τη σλαβονική και γαλλική δρυ, και οι δυο παρουσίασαν τη μέγιστη συγκέντρωση ET στο τέλος της AZ, η οποία μειώθηκε στο 2^ο στάδιο κι έπειτα παρέμεινε σταθερή. Σταδιακή αύξηση της συγκέντρωσης παρατηρήθηκε τόσο στο μάρτυρα όσο και στο δείγμα AM/FR, στο οποίο επίσης η εκχύλιση σταθεροποιείται κατά το 2^ο και 3^ο στάδιο. Αυτή η σταδιακή αύξηση φανερώνει ένα χαμηλότερο ρυθμό εκχύλισης, ως προς το χρόνο εκχύλισης.

Η μείωση των ελλαγικών τανινών μπορεί να είναι συνέπεια της συμμετοχής τους σε αντιδράσεις οξειδωσης ή άλλες επιπρόσθετες αντιδράσεις, ενώ σύμφωνα με τον Jordao (2005) η αύξηση του pH σε ένα δείγμα οίνου όπου έχουν προστεθεί ξύλα δρυός, επιφέρει και αύξηση του ελλαγικού οξέος.

5.14 Αντιοξειδωτική Ικανότητα



Γράφημα 13. Αντιοξειδωτική ικανότητα οίνων (mM Trolox)

(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, d, e είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Ως **αντιοξειδωτική ικανότητα** χαρακτηρίζεται η ικανότητα κάποιας ένωσης να αναστέλλει ή να εμποδίζει την οξειδωτική υποβάθμιση. Στη συγκεκριμένη περίπτωση οι ενώσεις αυτές είναι τα φαινολικά συστατικά του οίνου. Για την εκτίμησή της χρησιμοποιήθηκε μία μέθοδος, η οποία στηρίζεται στην ικανότητα των φαινολικών ουσιών να δεσμεύουν μία σταθερή, ελεύθερη, οργανική ρίζα αζώτου, το 1,1 διφαινυλο-2-πικρυλ-υδραζύλιο (DPPH^{*}).

Στο τέλος της AZ (Γράφ. 13A) τα δείγματα εμφάνισαν αντιοξειδωτική ικανότητα με την εξής σειρά, **SL < FR < AM < AC < AM/FR < Control**. Η σλαβονική δρυς εμφάνισε τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα και ο μάρτυρας τη μεγαλύτερη. Στατιστικές διαφορές

υπάρχουν μεταξύ όλων των δειγμάτων εκτός από τα δείγματα AM και AC, τα οποία δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

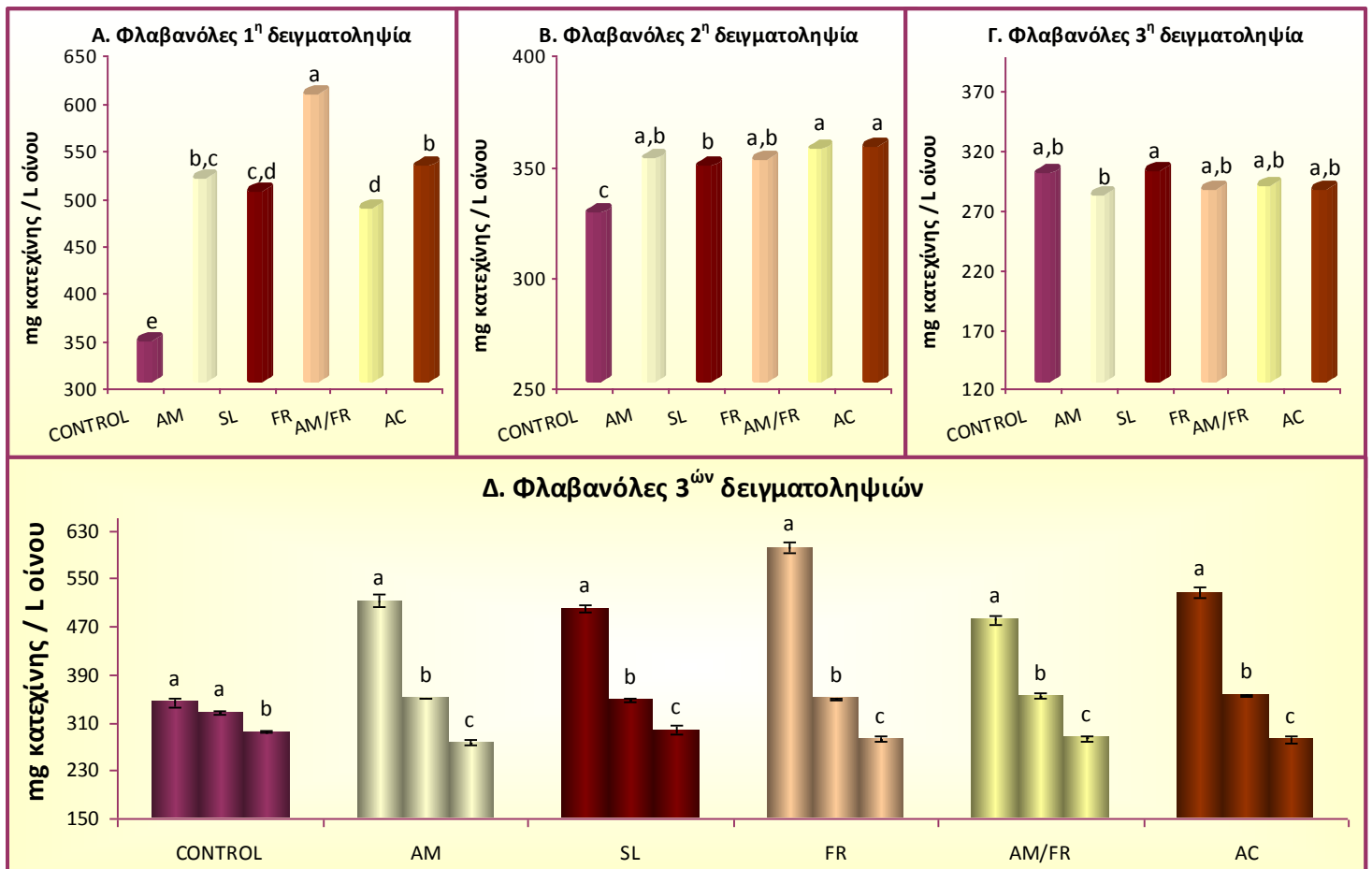
Στο τέλος της ΜΓΖ (Γράφ. 13B) το εύρος της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων έχει περιοριστεί σε σχέση με το προηγούμενο στάδιο και κυμαίνεται από 3,33 έως 4,34 mM Trolox. Το δείγμα **AC** χαρακτηρίζεται από τη **μεγαλύτερη** αντιοξειδωτική ικανότητα, ακολουθούν τα δείγματα **Control** και **AM/FR**, τα οποία δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους και τέλος τα δείγματα **AM**, **FR** και **SL** που επίσης δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Το δείγμα **SL** εμφάνισε τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ (Γράφ. 13Γ) τα δείγματα εμφανίζουν αντιοξειδωτική ικανότητα, ξεκινώντας από το δείγμα με τη χαμηλότερη, με την εξής σειρά, **AM < Control < AC < AM/FR < FR < SL**. Σημαντικές διαφορές υπάρχουν ανάμεσα σε κάποια, όχι όμως μεταξύ όλων των δειγμάτων.

Κατά τη διάρκεια των 3ών σταδίων (Γράφ. 13Δ) το μοτίβο που παρουσιάζεται μεταξύ των δειγμάτων σε κάποια διαφέρει και σε κάποια μοιάζει. Για παράδειγμα, τα δείγματα **Control** και **AM** εμφανίζουν μία καθοδική πορεία ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση σε σχέση με το χρόνο. Συγκρίνοντας αυτά τα δείγματα, γίνεται αντιληπτό ότι ο μάρτυρας έχει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και στα τρία στάδια σε σχέση με την αμερικανική δρυ. Αντιθέτως, στα δείγματα **SL** και **FR** παρατηρείται μία ανοδική πορεία, όπου στο 1^ο και 2^ο στάδιο υπερέχει το δείγμα **FR**, ενώ στο 3^ο το **SL**. Τέλος, στα υπόλοιπα δύο δείγματα **AM/FR** και **AC**, παρατηρείται μία αντίθετη εξέλιξη ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα.

Στατιστικές διαφορές εμφανίζονται σε όλα τα δείγματα μεταξύ των 3^{ων} σταδίων, με εξαίρεση το 2^ο και 3^ο στάδιο του **Control** και του **AM/FR** και το 1^ο και 2^ο στάδιο του **FR**.

5.15 Φλαβανόλες - Προανθοκυανιδίνες



Γράφημα 14. Συγκέντρωση φλαβανολών οίνων (mg/L)
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, d είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Οι φλαβανόλες και τα πολυμερή προϊόντα συμπύκνωσης αυτών, οι προανθοκυανιδίνες, είναι υπεύθυνα για την πικρή και στυφή γεύση, ενώ παράλληλα οι μεταβολές τους επιδρούν και στον χρωματισμό των τανινών, συνεπώς και στο χρώμα του οίνου και είναι υπεύθυνες για το καφέ - κεραμιδί χρώμα των παλαιών οίνων.

Το Γράφημα 14Δ δείχνει το περιεχόμενο των φλαβανολών εκφρασμένο σε mg κατεχίνης/ L οίνου για κάθε επέμβαση μετά την 1^η, 2^η και 3^η δειγματοληψία (στάδιο) και τα Γραφήματα 13Α, Β, Γ τη σύγκριση μεταξύ των ζύλων για κάθε δειγματοληψία (στάδιο).

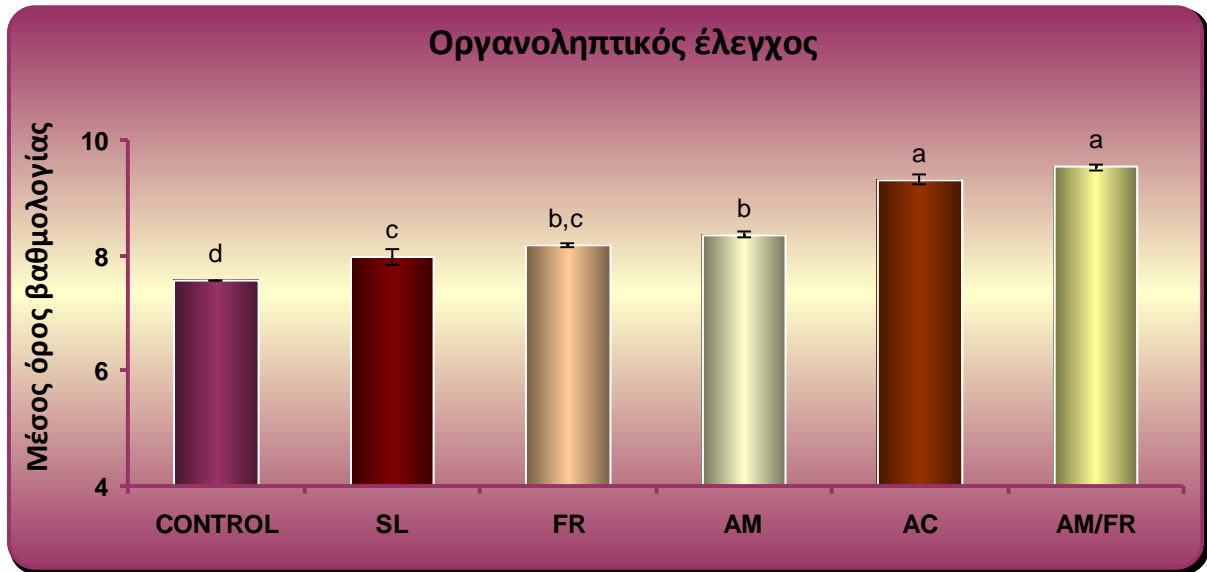
Τα πρωτικά μοτίβα αυτής της παραμέτρου (Γράφ. 14Δ) βρίσκονται σε συμφωνία με τις αντίστοιχες τάσεις που αφορούν τη στυπτικότητα. Μία δραματική μείωση του επιπέδου των προανθοκυανιδινών καταγράφηκε μεταξύ του 1^{ου} και 2^{ου} σταδίου σε όλες τις επεμβάσεις εκτός από το μάρτυρα. Η πτώση αυτή ήταν πιο έντονη στο δείγμα με τη γαλλική δρυ. Ωστόσο, η μεγαλύτερη μείωση στο τέλος των 3^{ων} δειγματοληψιών παρατηρήθηκε στους οίνους που εμπλουτίστηκαν με την **αμερικανική δρυ (277 mg/L)**, τη **γαλλική δρυ (282 mg/L)** και την **ακακία (282 mg/L)**. Εκτός από το δείγμα με τον μάρτυρα όπου μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} δειγματοληψίας δεν παρατηρείται στατιστική διαφορά, σε όλα τα υπόλοιπα δείγματα μεταξύ των 3^{ων} δειγματοληψιών οι διαφορές είναι στατιστικά σημαντικές.

Όσον αφορά τα επιμέρους στάδια, κατά το τέλος της ΑΖ (Γράφ. 14Α) την **υψηλότερη** περιεκτικότητα σε φλαβανόλες έχει η **γαλλική δρυς** και τη **χαμηλότερη** ο **μάρτυρας**. Φαίνεται, δηλαδή, ξεκάθαρα ότι τα τσιπς είναι πλούσια σε φλαβανόλες οι οποίες εκχυλίζονται ταχύτατα κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου, με το δείγμα της γαλλικής δρυός να ξεχωρίζει αμέσως.

Στο 2^ο στάδιο (Γράφ. 14Β), οι συγκεντρώσεις μεταξύ των δειγμάτων έχουν αρχίσει να ισορροπούν πλησιάζοντας η μία την άλλη εκτός από τον **μάρτυρα** ο οποίος συνεχίζει να έχει την **χαμηλότερη** συγκέντρωση και να διαφέρει σημαντικά από τα υπόλοιπα δείγματα.

Στο τελευταίο στάδιο, δηλαδή ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ (Γράφ. 14Γ), οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων σε φλαβανόλες κυμαίνονται μεταξύ 282 και 298 (mg κατεχίνης / L οίνου) με το δείγμα **ΑΜ** να έχει τη **χαμηλότερη** συγκέντρωση και το **SL** τη **μεγαλύτερη**. Αυτά είναι και τα μοναδικά δείγματα που παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

5.16 Οργανοληπτικός Έλεγχος



Γράφημα 15. Μέσος όρος βαθμολογίας οίνων
(τιμές με διαφορετικά γράμματα a, b, c, d είναι σημαντικά διαφορετικές, Fisher's LSD test, $p < 0,05$)

Στο Γράφημα 15 παρουσιάζεται ο μέσος όρος της βαθμολογίας του συνόλου των χαρακτηριστικών των οίνων, από το σύνολο των δοκιμαστών. Αρχικά, το κάθε δείγμα βαθμολογήθηκε για κάθε ένα από τα χαρακτηριστικά του από 12 δοκιμαστές. Η ανώτερη βαθμολογία που μπορούσε να πάρει ένα δείγμα από το άθροισμα όλων των χαρακτηριστικών είναι 21. Η δοκιμασία των δειγμάτων έγινε εις τριπλούν από κάθε δοκιμαστή, αθροίστηκαν οι βαθμολογίες όλων για το κάθε δείγμα και για τις τρεις επαναλήψεις και βγήκε ο μέσος όρος.

Όπως φαίνεται λοιπόν (Γράφ. 15), οι οίνοι στους οποίους είχαν προστεθεί τσιπς **50% αμερικανικής - 50% γαλλικής δρυός (9,54)** και τσιπς ξύλου **ακακίας (9,33)** έλαβαν τις υψηλότερες βαθμολογίες χωρίς σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Ακολουθούν η **αμερικανική (8,38)**, **γαλλική (8,19)** και **σλαβονική δρυς (7,99)** με δείγματα που επίσης δεν διαφέρουν στατιστικώς μεταξύ τους και το δείγμα με τη χαμηλότερη βαθμολογία είναι ο μάρτυρας στον οποίο δεν πραγματοποιήθηκε προσθήκη τσιπς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα εργασία αποτελεί μία προσπάθεια μελέτης της επίδρασης ενός παράγοντα, ο οποίος είναι τα τσιπς ξύλου, στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών, αλλά και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, που στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι το Αγιωργίτικο.

Η ποσότητα των τσιπς που προστέθηκε ήταν η ίδια σε όλες τις περιπτώσεις (2g / L γλεύκους), ενώ τα τσιπς διέφεραν ως προς την προέλευσή τους. Η προσθήκη των τσιπς έγινε κατά την 7^η ημέρα της αλκοολικής ζύμωσης του γλεύκους και ο χρόνος παραμονής των τσιπς εντός του γλεύκους ή οίνου κατά τις τρεις δειγματοληψίες ήταν 9 ημέρες (1^η δειγματοληψία), 58 ημέρες (2^η δειγματοληψία) και 87 ημέρες (3^η δειγματοληψία).

Το ξύλο ως υλικό κι αναλόγως την επεξεργασία που έχει υποστεί (πχ κάψιμο) συμβάλλει σημαντικά στην οινοποίηση, καθώς επηρεάζει το χρώμα, τη γεύση, τις τανίνες, την υφή, αλλά και άλλες ιδιότητες του παραγόμενου οίνου. Επίσης, η επίδραση της προσθήκης τσιπς ξύλου κατά την οινοποίηση είναι γνωστή και ευρέως μελετημένη.

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα των αναλύσεων που χρησιμοποιήθηκαν μπορούν να ειπωθούν τα εξής :

Οι αυξομειώσεις στο **pH** ενός οίνου, αναλόγως τις συνθήκες, έχει φανεί από έρευνες ότι επηρεάζουν είτε άμεσα είτε έμμεσα, τόσο το χρώμα του οίνου, όσο και τα γευστικά χαρακτηριστικά του. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη μελέτη, επειδή η διαφορά του pH από δειγματοληψία σε δειγματοληψία είναι πολύ μικρή με τιμές να κυμαίνονται μεταξύ 3,7 έως 4, είναι αναμενόμενο και η επίδρασή του να είναι επίσης μικρή. Παρ' όλα αυτά, φαίνεται (Παράρτημα) ότι συσχετίζεται θετικά με την ένταση και την απόχρωση και σημαντικά αρνητικά με τις συγκεντρώσεις των ολικών ανθοκυανών, ολικών τανινών, τη στυπτικότητα, τον πολυμερισμό των τανινών και τη συγκέντρωση των προανθοκυανιδινών.

Η **ένταση χρώματος** του οίνου αυξάνεται με διαφορά από μήνα σε μήνα. Ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ τη μεγαλύτερη ένταση στο χρώμα έδωσε η προσθήκη της **αμερικανικής** και της **σλαβονικής** δρυός. Η ένταση συσχετίζεται ισχυρά αρνητικά με τη συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών

Η **απόχρωση του οίνου** επηρεάζεται από την προσθήκη των τσιπς και μάλιστα αυξάνεται. Διαφέρει σημαντικά από μήνα σε μήνα και είναι μεγαλύτερη στο τέλος της ΜΓΖ. Η μεγαλύτερη επίδραση έχει προέλθει από τα τσιπς ξύλου **ακακίας**, ενώ τα υπόλοιπα τσιπς δεν εμφανίζουν κάποια διαφορά μεταξύ τους.

Οι **ολικές ανθοκυάνες** μειώνονται από μήνα σε μήνα, σε σημαντικό βαθμό. Το δείγμα που περιείχε τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ανθοκυανών και στις τρεις δειγματοληψίες ήταν αυτό στο οποίο προστέθηκε η **σλαβονική δρυς**. Ωστόσο, και τα υπόλοιπα δείγματα, εκτός από τη 2η δειγματοληψία, δεν παρουσίασαν διαφορές μεταξύ τους. Η μείωση των ολικών ανθοκυανών πιθανόν οφείλεται σε αντιδράσεις πολυμερισμού που οδηγούν στη δημιουργία συμπλόκων τανινών – ανθοκυανών.

Με τη μέθοδο ανάλυσης της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (**HPLC**) είναι εφικτός τόσο ο ποιοτικός όσο και ο ποσοτικός προσδιορισμός των ανθοκυανών και συγκεκριμένα ο προσδιορισμός των μονογλυκοζιτών της δελφινιδίνης, της κυανιδίνης, της πετουνιδίνης, της παιονιδίνης και της μαλβιδίνης, αλλά και ο προσδιορισμός των ακυλιωμένων με οξικό και π-κουμαρικό οξύ ανθοκυανών, δηλαδή των οξικού και κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης. Το **σύνολο των ανθοκυανών** κάθε δείγματος, ως επί το πλείστον, μειώνεται με την πάροδο του χρόνου, εκτός ελαχίστων εξαιρέσεων και μάλιστα χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} δειγματοληψίας. Επίσης, και μέσω αυτής της μεθόδου φαίνεται ότι γενικά η προσθήκη τσιπς αυξάνει τη συγκέντρωση των ανθοκυανών σε σχέση με ένα δείγμα στο οποίο δεν έχει γίνει προσθήκη. Όσον αφορά τα δείγματα, φαίνεται ότι η **αμερικανική δρυς** διατηρεί περισσότερες μονομερείς ανθοκυάνες τον 1^ο μήνα, το 2^ο μήνα τη μεγαλύτερη συγκέντρωση κατέχει το δείγμα με τη **γαλλική δρυ**, ενώ ο **συνδυασμός των δυο** δίνει οίνους με μεγαλύτερη συγκέντρωση ανθοκυανών τον 3^ο μήνα.

Η χημική εκτίμηση της **στυπτικότητας**, ο δείκτης **HCL %**, ο οποίος δίνει το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών που υπάρχουν σε ένα δείγμα και η **συγκέντρωση των προανθοκυανιδινών** αλληλοσυνδέονται καθώς όσο πολυμερίζονται οι τανίνες, τόσο μειώνεται η ένταση των ιδιοτήτων τους και στη συγκεκριμένη περίπτωση η στυφή και ίσως και πικρή γεύση. Συνεπώς, με την πάροδο των τριών μηνών, το δείγμα με την **ακακία** καταβυθίζει περισσότερη αλβουμίνη, ενώ το δείγμα με τη **μίξη των τσιπς αμερικανικής και γαλλικής δρυός σε ποσοστό 50%** την λιγότερη.

Οι **ελλαγικές τανίνες** της δρυός, σύμφωνα με τους Vivas & Glories (1993), επηρεάζουν το ρυθμό συμπύκνωσης των προανθοκυανιδινών καθώς και την καθίζηση των συμπυκνωμένων τανινών και την καταστροφή των προανθοκυανιδινών, συνεπώς άμεσα ή έμμεσα φαίνεται να συμβάλλουν κι αυτές στη στυπτικότητα καθώς τα δείγματα με τα τσιπς **ακακίας, γαλλικής και σλαβονικής δρυός** τα οποία παρουσίασαν τη μεγαλύτερη εκχυλισματικότητα σε ελλαγικές τανίνες, είχαν και τις υψηλότερες τιμές στυπτικότητας. Αυτό φαίνεται ακόμη πιο ξεκάθαρα κατά την 1^η δειγματοληψία και πιθανόν οφείλεται στο γεγονός ότι ο ερυθρός οίνος, κατά τον πρώτο μήνα της επαφής του με το ξύλο, εκχυλίζει τις ελλαγικές τανίνες με ταχύτερο ρυθμό από τον ρυθμό των αντιδράσεων συμπύκνωσης μεταξύ των ελλαγικών τανινών και των άλλων συστατικών του οίνου (π.χ. κατεχίνη, αιθανόλη κλπ). Οπότε, όταν οι περισσότερες ελλαγικές τανίνες έχουν εξαχθεί από τα πρώτα χιλιοστά του ξύλου, ο οίνος πρέπει να εισχωρήσει βαθύτερα για να εξάγει περισσότερες ελλαγικές και κατά συνέπεια με χαμηλότερο ρυθμό. (Chira, 2013)

Βάσει του **οργανοληπτικού ελέγχου**, αυτό που γίνεται αρχικά εύκολα αντιληπτό είναι ότι η προσθήκη τσιπς βελτιώνει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Πιο συγκεκριμένα, **η μίξη των τσιπς αμερικανικής και γαλλικής δρυός σε ποσοστό 50%** ήταν αυτή που σύμφωνα με το συγκεκριμένο πάνελ δοκιμαστών βελτίωσε περισσότερο το δείγμα του Αγιωργίτικου.

Από την άλλη, αν σκεφτεί κανείς ότι η μεγαλύτερη δυνατή βαθμολογία που θα μπορούσε να λάβει ένα δείγμα είναι 21 και στην παρούσα δοκιμασία το καλύτερο δείγμα έτυχε βαθμολογίας περίπου 9,5, δηλαδή χαμηλότερη κι από το μισό, τότε είναι ένα αποτέλεσμα που δημιουργεί ερωτήματα. Κάποιες πιθανές απαντήσεις είναι να μην έγινε καλή οινοποίηση και συντήρηση των δειγμάτων συμπεριλαμβανομένων και των συνθηκών οινοποίησης που μπορεί να μην ήταν ιδανικές, πιθανόν να μην έγινε σωστή εκπαίδευση του πάνελ και κατανόηση της κλίμακας από το πάνελ ή ακόμη να ήταν και λάθος η χρήση της συγκεκριμένης κλίμακας.

Ερωτήματα που τίθενται σε μία τέτοια έρευνα, όπως πχ το που μπορεί να οφείλεται η βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των οίνων, δηλαδή γιατί ένα είδος τσιπς βελτιώνει κάποιο χαρακτηριστικό του οίνου και γιατί τα διαφορετικά είδη τσιπς προσδίδουν διαφορετικό βαθμό βελτίωσης σε έναν οίνο, για να απαντηθούν με μεγαλύτερη ασφάλεια, θα

πρέπει να γίνει περαιτέρω έρευνα, με τη χρήση ίσως επιπλέον και πιο εξειδικευμένων μεθόδων, τον προσδιορισμό περισσότερων και συγκεκριμένων συστατικών, ενώ για την οργανοληπτική ανάλυση ίσως θα ήταν καλύτερα να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές κλίμακες και πιο εκπαιδευμένο πάνελ, κι όχι μία απλή βαθμολόγηση της έντασης κάποιων χαρακτηριστικών.

Συνεπώς, η σύσταση των οίνων επηρεάστηκε σημαντικά από τα διαφορετικά ξύλα στα διάφορα στάδια και παρατηρήθηκε ότι:

- **Η αμερικανική δρυς**

Στο τέλος της AZ εμφάνισε την υψηλότερη ένταση χρώματος και απόχρωση και μεγάλο ποσοστό πολυμερισμένων τανινών.

Στο τέλος της ΜΓΖ εκτός από τη μέτρια ένταση χρώματος που επέφερε στον οίνο, εμφάνισε υψηλό ποσοστό πολυμερισμένων τανινών, ενώ ταυτόχρονα ξεχώρισε ως προς τη χαμηλότερη συγκέντρωση σε ελλαγικές τανίνες σε σχέση με τα υπόλοιπα ξύλα.

Ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ παρουσίασε μεγάλη ποσότητα ολικών τανινών, ωστόσο σε αυτό που ξεχώρισε έντονα ως προς τα άλλα δείγματα ήταν η χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα.

- **Η γαλλική δρυς**

Στο τέλος της AZ προήγαγε την ταχύτερη εκχύλιση προανθοκυανιδινών, είχε την υψηλότερη συγκέντρωση ολικών τανινών, υψηλό δείκτη ιονισμού και στυπτικότητα.

Στο τέλος της ΜΓΖ ξεχώρισε ως προς το δείκτη ιονισμού που ήταν ο υψηλότερος μαζί με αυτόν του μάρτυρα.

Ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ εμφάνισε υψηλό ποσοστό ολικών τανινών, όμως σε αντίθεση με την αμερικανική δρυ είχε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

- **Η ανάμιξη αμερικανικής και γαλλικής δρυός**

Στο τέλος της AZ απέδωσε μία ενδιάμεση ένταση και απόχρωση, από ότι τα δύο ξύλα χωριστά, το ίδιο υψηλό ποσοστό πολυμερισμένων τανινών όπως η αμερικανική, ενώ

χαρακτηρίζεται κι από την μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα και ελάχιστη συγκέντρωση σε προανθοκυανιδίνες σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα.

Στο τέλος της ΜΓΖ έδωσε επίσης υψηλό ποσοστό πολυμερισμένων τανινών όπως η αμερικανική, αλλά και μεγάλη συγκέντρωση προανθοκυανιδινών.

Ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ έδωσε ένταση χρώματος χαμηλότερη από ότι τα δύο ξύλα ξεχωριστά παρά τα υψηλά ποσοστά έγχρωμων ανθοκυανών και πολυμερισμένων τανινών, ενώ είχε και την πιο μεγάλη στυπτικότητα.

- **Η σλαβονική δρυς**

Στο τέλος της ΑΖ εκχύλισε το μεγαλύτερο ποσοστό ολικών φαινολικών, και όπως και η γαλλική, είχε υψηλό δείκτη ιονισμού και στυπτικότητα.

Στο τέλος της ΜΓΖ εκχύλισε το μεγαλύτερο ποσοστό ολικών φαινολικών και ανθοκυανών, ενώ εμφάνισε και την υψηλότερη ένταση χρώματος μετά το μάρτυρα.

Ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ εκχύλισε μεγάλο ποσοστό ολικών τανινών και τη μεγαλύτερη συγκέντρωση προανθοκυανιδινών, το μικρότερο ποσοστό πολυμερισμένων τανινών, εμφάνισε υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα και την υψηλότερη ένταση χρώματος μετά το μάρτυρα.

- **Η ακακία**

Στο τέλος της ΑΖ εκχύλισε το υψηλότερο ποσοστό ελλαγικών τανινών συνοδευόμενη επίσης από έντονη στυπτικότητα.

Στο τέλος της ΜΓΖ, εμφάνισε υψηλές εντάσεις διαφόρων χαρακτηριστικών. Προσέδωσε μία κίτρινη απόχρωση στον οίνο καθώς είχε το υψηλότερο ποσοστό απόχρωσης σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, αλλά και υψηλό δείκτη φαινολικών συστατικών, ποσοστό πολυμερισμένων, ελλαγικών τανινών και προανθοκυανιδινών, συνοδευόμενη και από την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Ένα μήνα μετά το τέλος της ΜΓΖ ξεχώρισε πάλι ως προς την υψηλή απόχρωση, την υψηλότερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών και ελλαγικών τανινών και ως προς τη στυπτικότητα που ήταν η μεγαλύτερη από αυτή που παρουσίασαν τα υπόλοιπα ξύλα σε αυτό το στάδιο.

Όπως παρατηρείται, κάθε ξύλο επηρεάζει τη σύσταση του οίνου κατά διαφορετικό τρόπο, αναλόγως το στάδιο και το χρόνο παραμονής, στον οποίο έρχεται σε επαφή. Ως προς κάποια χαρακτηριστικά, υπάρχουν ξύλα που επιφέρουν τα ίδια αποτελέσματα, ενώ ως προς άλλα χαρακτηριστικά τα αποτελέσματα αυτά διαφέρουν. Συνεπώς, εξαρτάται πάντα από το στόχο που έχει ο οινοποιός κι από το είδος του οίνου που θέλει να δημιουργήσει, το τι ξύλο θα χρησιμοποιήσει κατά την παραγωγή του οίνου και σε ποιο στάδιο θα γίνει αυτή η προσθήκη, αλλά κι από την ποικιλία από την οποία θα παραχθεί ο οίνος. Φυσικά, απαιτείται εκτενέστερη και πιο διευρυμένη έρευνα.

	Μάρτυρας	Αμερικανική Δρυς	Σλαβονική Δρυς	Γαλλική Δρυς	Αμερικανική Γαλλική Δρυς	Ακακία
Ένταση	***	**	**	**	*	*
Απόχρωση	*	*	**	**	**	***
Ολικές Ανθοκυάνες	***	*	***	**	**	*
Δείκτης Ιονισμού	*	***	**	*	***	***
Ολικά Φαινολικά	**	*	***	**	*	***
Ολικές Τανίνες	*	***	***	***	**	**
Στυπτικότητα	*	*	**	***	*	***
Δείκτης HCL	*	***	**	**	***	***
Ελλαγικές Τανίνες	***	**	*	*	**	***
Αντιοξειδωτική Ικανότητα	*	*	***	***	**	*
Προανθοκυανιδίνες	***	*	***	*	**	*
Οργανοληπτικός Έλεγχος	*	**	**	**	***	***

Πίνακας 6. Συνολικά αποτελέσματα

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Assimakopoulou A., Nifakos K., Agelopoulos K. (2012).** Inorganic nutrition differences between own-rooted and grafted vineyards of the Greek wine grape cultivar ‘Agiorgitiko’. *Acta Hortic* 931:267–272
- Bautista – Ortin A.B., Fernandez – Fernandez, J.I., Lpoez – Roca J.M. and Gomez – Plaza E. (2007).** The effects of enological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 546 – 552.
- Carmona-Jiménez Y., Valme García-Moreno M., Igartuburu Jose, Garcia Barroso C. (2014).** Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chemistry*. Vol. 165. Pg. 198–204
- Chen C.L. (1970).** *Constituents of Quercus alba*. *Phytochemistry* 9,1149.
- Chira K., Teissedre P.-L. (2013).** *Extraction of oak volatiles and ellagitannins compounds and sensory profile of wine aged with French winewoods subjected to different toasting methods: Behaviour during storage*, *Food Chemistry* 140 : 168-177
- Chira K., Teissedre P.-L. (2013).** *Relation between volatile composition, ellagitannin content and sensory perception of oak wood chips representing different toasting processes*. *European Food Research and Technology*, 236 (4) : 735-746
- Cliff M.A., King M.C. and Schlosser J. (2007).** "Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines". *Food Research International*. 40(1), pp. 92-100
- Gerber, F., Krummen, M., Potgeter, H., Roth, A., Siffrin, C., Spöndlin, C. (2004).** "Practical aspects of fast reversed-phase high-performance liquid chromatography using 3µm particle packed columns and monolithic columns in pharmaceutical development and production working under current good manufacturing practice". *Journal of Chromatography A* **1036** (2): 127–133.
- Harbertson J. and Sprayd S. (2006).** *Measuring Phenolics in the Winery*. From the ASEV 2005 Phenolics Symposium. *Am. J. Enol. Vitic.* 57 : 3
- Jordao A.M., Ricardo da Silva J.M., Laureano O. (2005).** Extraction of Some Ellagic Tannins and Ellagic Acid from Oak: Wood Chips (*Quercus pyrenaica* L.) in Model Wine

Solutions: Effect of Time, pH, Temperature and Alcoholic Content. S. Afr. J. Enol. Vitic., Vol. 26, No.2,

Kallithraka S., Mohdaly A.A., Makris D.P., 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, 18: 375 - 386.

Koundouras S., Marinos V., Gkoulioti A., Kotseridis Y., Van Leeuwen C. (2006). Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components. J Agric Food Chem 54:5077–5086

Koundouras S., Kanakis I., Drossou E., Kallithraka S., Kotseridis Y. (2013). Effects of postveraison water regime on the phenolic composition of grapes and wines of cv. Agiorgitiko (*Vitis Vinifera* L.). J Int Sci Vigne Vin 47:115–128

Κοτσερίδης Γ., Καλλίθρακα Σ., Προξενιά Ν. (2012). *Εργαστηριακές Ασκήσεις.* Οινολογία Ι & ΙΙ. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων. Αθήνα.

McDonald M. S., Hughes M., Burns, J., Lean M. E. J., Matthews D., and Croziers A. (1998). *Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins.* J. Agric. Food Chem. 46, 368 - 375.

MacNeil K. (2001). *The Wine Bible.* Workman Publishing

Mann J. (1999). *Bordeaux Chateaus Fined for Use of Wood Chips.* Wine Spectator

Monagas M., Bartolome B. and Gomez-Cordoves C. (2005). *Updated Knowledge About the Presence of Phenolic Compounds in Wine,* Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 45: 85 – 118.

Petropoulos S., Kallithraka S., Paraskevopoulos I. (2011). Influence of some viticultural practices on the polyphenolic content of wines produced from cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). J Int Sci Vigne Vin 45:235–243

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdiou D. (2006). Handbook of Enology. Vol 2: *The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments.* 2nd Edition. John Wiley & Sons Ltd.

Robinson J. (2003). *Jancis Robinson's Wine Course.* Third Edition. Abbeville Press.

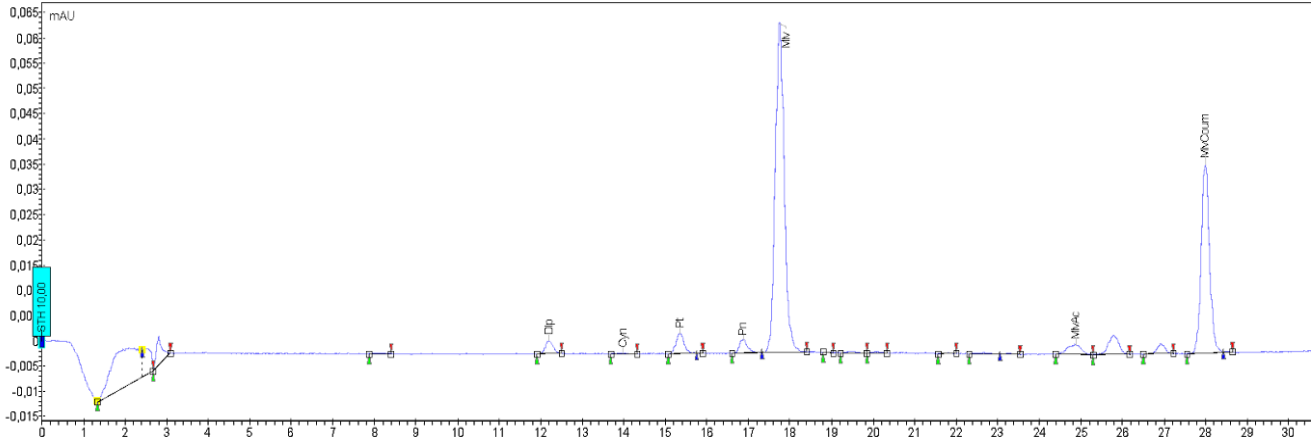
Robinson J. (2006). *The Oxford Companion to Wine.* Third Edition. Oxford University Press.

- Roediger A., (2006).** *Phenolic ripeness in South Africa*. Assignment submitted in partial requirement for Cape Wine Masters Diploma. Stellenbosch.
- Ronald S. Jackson. (2008).** *Wine Science. Principles and Applications*. Third Edition. Elsevier Inc. Canada.
- Seikel, M.K., Hostettler, ED. & Niemann, GJ., (1971).** Phenolics of Quercus robur wood. *Phytochemistry* 10, 2249-2251.
- Snyder L.S., Kirkland J.J. and Glajch J.K. (1997).** *Practical HPLC method development*. Second Edition, John Wiley and Sons. NY.
- Stevenson T. (2005).** *The Sotheby's Wine Encyclopedia*. Dorling Kindersley.
- Σουφλερός Ευ. (2012).** *Οινολογία*. Δεύτερη Έκδοση. Θεσσαλονίκη.
- Σταυρακάκης Μ. (2010).** *Αμπελογραφία*. Εκδόσεις Τροπή. Αθήνα.
- Τσακίρης Α. (1998).** *Οινολογία*. Όγδοη Έκδοση. Εκδόσεις Ψύχαλου. Αθήνα.
- Viriot, C., Scalbert, A., Herve Du Penhoat, C.L. & Moutounet, M. (1994).** *Ellagitannins in woods of sessile oak: and sweet chestnut dimerization and hydrolysis during wood ageing*. *Phytochemistry* 36, 1253-1260.
- Vivas N., Glories Y., Lagune L., Saucier C. & Agustin M. (1994):** *Estimation of the polymerisation level of procyanidins from grapes and wines by use of p-dimethylaminocinnamaldehyde*. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 28, 319-336
- Waterhouse A. L. (2002).** *Wine Phenolics*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* vol. 957: 21 - 36.
- Zafrilla P., Morillas J., Mulero J., Cayuela J. M., Martinez-Cacha A., Pardo F. And Lopez -Nicolas, J. M., (2003).** Changes during storage in conventional and ecological wine: Phenolic content and antioxidant activity, *J. Agric. Food Chem.* 51, 4694 - 4700.

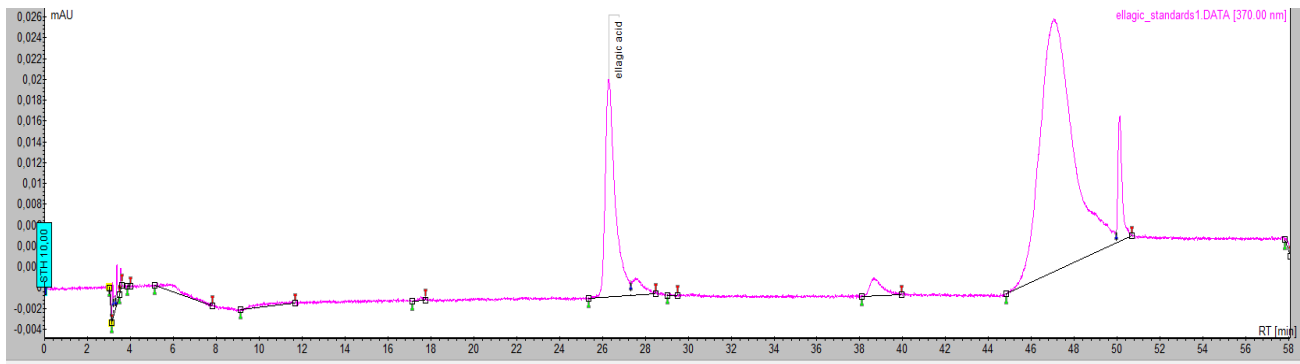
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ

www.nemeawines.gr
www.newwinesofgreece.com
www.samartziswines.gr
www.wikipedia.org
www.winesurveyor.weebly.com
www.xtremepapers.com

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



Χρωματογράφημα 1. Ανθοκυάνες



Χρωματογράφημα 2. Ελλαγικό οξύ για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης

Variable	Correlations (STATISTICA)										
	Marked correlations are significant at $p < ,05000$ N=65 (Casewise deletion of missing data)										
	pH	Intensity	Hue	TPI	TA	I%	TP	TT	Astringency	Antioxidant Activity	HCL%
pH											
Intensity	0,68										
Hue	0,70	0,21									
TPI	-0,15	0,44	-0,68								
TA	-0,89	-0,86	-0,41	-0,26							
I%	-0,17	0,23	-0,70	0,76	-0,15						
TP	-0,35	-0,49	-0,06	-0,23	0,46	-0,07					
TT	-0,84	-0,41	-0,71	0,33	0,66	0,31	0,14				
Astringency	-0,94	-0,60	-0,81	0,30	0,79	0,38	0,29	0,78			
Antioxidant Activity	-0,08	0,06	-0,02	0,11	-0,03	-0,24	-0,25	0,19	-0,01		
HCL%	0,93	0,68	0,66	-0,07	-0,86	-0,25	-0,45	-0,71	-0,94	0,07	
Proanthocyanins	-0,89	-0,61	-0,67	0,15	0,82	0,30	0,27	0,80	0,90	-0,13	-0,88

Πίνακας 7. Συσχέτιση μεθόδων μεταξύ όλων των δειγμάτων και των τριών δειγματοληπιών