

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Φυτικής Παραγωγής
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων
Δ.Π.Μ.Σ. Αμπελουργία - Οινολογία

Μεταπτυχιακή Διατριβή

«Επίδραση της άρδευσης
στα φαινολικά συστατικά των γιγάρτων
της ποικιλίας Syrah (*Vitis vinifera* L.)»

Δρούκας Ν. Αναστάσιος
Γεωπόνος Γ.Π.Α.

Κοτσερίδης Γ.
Επιβλέπων καθηγητής



Αθήνα
2014

Μεταπτυχιακή Διατριβή

«Επίδραση της άρδευσης
στα φαινολικά συστατικά των γιγάρτων
της ποικιλίας Syrah (*Vitis vinifera* L.)»

Αναστάσιος Ν. Δρούκας
Γεωπόνος Γ.Π.Α.

Επιβλέπων Καθηγητής : Κοτσερίδης Γ.

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

Κοτσερίδης Γ.
Καλλίθρακα Σ.
Μπινιάρη Κ.

Αθήνα
2014

*“ Μικρό πουλί χαμένο,
απ’ τη φωλιά πεσμένο,
αργοπεθαίνει μες το δρόμο -
το βλέπεις, συλλογιέσαι,
μα εύκολα ξεχνιέσαι
και δραπετεύεις απ’ τον πόνο...”*

*...καλό κρασί,
κι ό,τι βρέξει κι ό,τι πάρει,
μοίρα κρυφή, αχ, σε πήραμε χαμπάρι -
ό,τι κι αν πεις σου σηκώνω το ποτήρι
έτσι κι αλλιώς θα σου κάνω το χατίρι...”*

Περίληψη

Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια διερεύνησης της επίδρασης της άρδευσης στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των γιγάρτων, σε δείγματα ραγών της ποικιλίας Syrah (*Vitis vinifera* L.), σοδειάς 2012, στα οποία εφαρμόστηκαν 3 διαφορετικά επίπεδα άρδευσης : μηδενική (0%), μέτρια (50%) και υψηλή (100%), βάσει της εξατμισοδιαπνοής της καλλιέργειας (ET_c), ενώ λήφθησαν δείγματα σε 4 διαφορετικές χρονικές στιγμές από το στάδιο του περκασμού έως την πλήρη ωρίμανση, εξετάζοντας παράλληλα τη πιθανότητα διαφοροποίησης δειγμάτων διαφορετικού βαθμού ωριμότητας.

Για τον προσδιορισμό των πολυφαινολών εφαρμόστηκαν διάφορες αναλυτικές μέθοδοι, από τις οποίες προέκυψε ότι η άρδευση επηρεάζει τη συγκέντρωση των ενώσεων αυτών στη ράγα, τους φλοιούς και τα γίγαρτα.

Ειδικότερα, η εφαρμογή υψηλότερων επιπέδων άρδευσης φαίνεται να οδηγεί σε αύξηση του μεγέθους και του μέσου βάρους της ράγας, σε μείωση της συγκέντρωσης των ανθοκυανών των φλοιών και αύξηση της συγκέντρωσης των ταννινών των γιγάρτων.

Λέξεις κλειδιά: Άρδευση, Γίγαρτα, Ταννίνες, Φαινολικά συστατικά, Φλαβαν-3-όλες, Syrah.

Abstract

In the present study an effort was made in order to investigate the effect of irrigation on the concentration of phenolic compounds of the seeds, of the grapevine variety Syrah (*Vitis vinifera* L.), harvest 2012, by applying 3 different irrigation treatments : non- (N), demi- (D) & full- (F), in 3 levels 0%, 50% & 100% of the crop evapotranspiration (ET_c) while samples were taking at 4 different times, from the veraison to the harvest.

For the determination of polyphenols different analytical methods were applied, from which was concluded that the irrigation affects the concentration of these compounds at the grapes, the skins and the seeds.

In particular, the application of higher levels of irrigation seems to lead to an increase of berry size and berry weight, a decrease of skin anthocyanin concentration and also, an increase of seed tannins concentration.

Keywords: Irrigation, Seeds, Tannins, Phenolic compounds, Flavan-3-ols, Syrah.

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της μελέτης αυτής, ολοκληρώνεται η φοίτηση μου στο ΔΜΠΣ Αμπελουργίας – Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών – ένας ακόμα κύκλος κλείνει.

Μέσα από αυτές τις γραμμές θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές και τις καθηγήτριες του προγράμματος για όλα όσα έμαθα από αυτούς /ες. Ιδιαίτερα θα ήθελα να μνημονεύσω τον κ. Κοτσερίδη και την κ. Καλλίθρακα που ήταν και οι βασικοί διδάσκοντες.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την, υποψήφια για διδακτορικό – συνάδελφο, Μαρία Κυραλέου που υπήρξε η βασική οδηγός και πάντα πρόθυμη σύμβουλος κατά τη διεξαγωγή του πειράματος καθώς επίσης και κατά την συγγραφή της μελέτης αυτής, καθώς επίσης και την κ. Προξενιά, για την πολύτιμη βοήθεια της στο εργαστήριο, την κατανόηση και τις συμβουλές.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές μου, ιδιαίτερα την Ελένη Βοσκίδη για τη βοήθεια της στα 2 πρώτα εξάμηνα φοίτησης καθώς επίσης και τον Δημήτρη Μουρτίκα που δουλέψαμε μαζί στο εργαστήριο οινολογίας στο πειραματικό κομμάτι αυτής της μελέτης, καθώς επίσης και τους υπόλοιπους προπτυχιακούς, μεταπτυχιακούς φοιτητές για την αρμονική (στις περισσότερες περιπτώσεις) συνύπαρξη στα λίγα τετραγωνικά μέτρα του εργαστηρίου οινολογίας, την καλή διάθεση που εισέπραξα από πολλούς και πολλές και τη μεταξύ μας αλληλοβοήθεια.

Η φοίτηση στο ΔΜΠΣ αυτό δεν θα είχε ενδεχομένως προχωρήσει, στους δύσκολους καιρούς που ζούμε, χωρίς την ανάληψη της υποτροφίας από το ΙΚΥ. Να ευχαριστήσω τη φίλη Ράνια Θεοδώρου για την επιμονή της να αιτηθώ και τη συμβολή της στην ανάληψη της υποτροφίας αυτής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, που στήριξε την επιλογή μου αυτή, ιδιαίτερα τον πατέρα μου ο οποίος επωμίστηκε και το μεγαλύτερο βάρος.

Ιούνιος 2014,
Δρούκας Α.

Η ολοκλήρωση της εργασίας αυτής έγινε στο πλαίσιο της υλοποίησης του μεταπτυχιακού προγράμματος το οποίο συγχρηματοδοτήθηκε μέσω της Πράξης « Πρόγραμμα χορήγησης υποτροφιών ΙΚΥ με διαδικασία εξατομικευμένης αξιολόγησης ακαδημαϊκού έτους 2012-2013» από πόρους του Ε.Π. «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου (ΕΚΤ) και του ΕΣΠΑ(2007-2013).

Περιεχόμενα

Μέρος Α (Θεωρία) : Εισαγωγή

Κεφ.

1. Η ράγα της σταφυλής.....	8
1.1. Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Χημική σύσταση.....	8
1.2. Στάδια ανάπτυξης.....	10
2. Τα φαινολικά συστατικά των ραγών.....	12
2.1. Φαινολικές ενώσεις.....	13
2.1.1. Φαινόλες.....	13
2.1.2. Μη φλαβονοειδείς φαινόλες.....	13
2.1.3. Φλαβονοειδείς φαινόλες.....	14
2.1.4. Κατεχίνες και προκυανιδίνες.....	14
2.1.5. Ταννίνες.....	14
2.1.6. Ανθοκυάνες.....	15
2.2. Ο σχηματισμός των φαινολικών συστατικών και η εξέλιξη τους κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης.....	19
3. Η άρδευση των αμπελώνων και η επίδραση της στη συσσώρευση των φαινολικών συστατικών.....	22
3.1. Η άρδευση των αμπελώνων : ένας καθοριστικός παράγοντας.....	22
3.2. Η επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των ραγών.....	25
4. Η ποικιλία : Syrah.....	27

Μέρος Β (Πείραμα) : Μέθοδοι και Υλικά

1. Το πείραμα.....	30
1.1. Τα δείγματα.....	30
1.2. Σχεδιασμός και στόχος του πειράματος.....	31
2. Οι αναλύσεις.....	33
2.1. Αναλύσεις σε ολόκληρες ράγες.....	33
2.1.1. Η μέθοδος Υ. Glories.....	33
2.2. Αναλύσεις σε εκχυλίσματα γιγάρτων.....	42
2.2.1. Φωτομετρικές μέθοδοι.....	43
2.2.1.1. Η μέθοδος Folin-Ciocalteu.....	43
2.2.1.2. Η μέθοδος Ribereau-Gayon και Stonestreet.....	43
2.2.1.3. Η μέθοδος Harbertson / BSA.....	44
2.2.1.4. Η μέθοδος DPPH.....	45
2.2.1.5. Η μέθοδος DMAC.....	46
2.2.2. Προσδιορισμός ολιγομερών και πολυμερών ταννινών στα γίγαρτα των ραγών με ανάλυση HPLC.....	47
2.3. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	49

Μέρος Γ (Πείραμα) : Αποτελέσματα

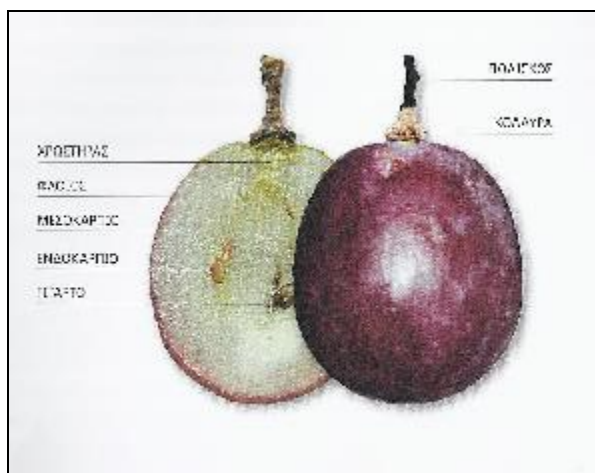
1. Αποτελέσματα / Συζήτηση.....	51
1.1. Αποτελέσματα αναλύσεων στις ράγες των σταφυλών.....	51
1.1.1. Μεταβολή του βάρους των ραγών.....	52
1.1.2. Μεταβολή του λόγου γιγάρτα / ράγα.....	52
1.1.3. Μεταβολή του λόγου φλοιοί / ράγα.....	52
1.1.4. Μεταβολή του λόγου φλοιοί / σάρκα.....	53
1.2. Αποτελέσματα αναλύσεων σε ολόκληρες ράγες.....	54
1.2.1. Οι ολικές ανθοκυάνες των ραγών.....	54
1.2.2. Η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών.....	55
1.2.3. Η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά που εκχυλίζονται.....	56
1.2.4. Η συγκέντρωση των ταννινών που προέρχονται από τους φλοιούς.....	57
1.2.5. Η συνεισφορά των ταννινών των φλοιών.....	58
1.2.6. Η συγκέντρωση των ταννινών που προέρχονται από τα γιγάρτα.....	59
1.2.7. Η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων.....	60
1.3. Αναλύσεις σε εκχυλίσματα γιγάρτων.....	61
1.3.1. Φωτομετρικές μέθοδοι.....	61
1.3.1.1. Η μέθοδος Folin-Ciocalteu.....	62
1.3.1.2. Η μέθοδος Ribereau-Gayon και Stonestreet.....	62
1.3.1.3. Η μέθοδος Harbertson / BSA.....	63
1.3.1.4. Η μέθοδος DPPH.....	64
1.3.1.5. Η μέθοδος DMAC.....	65
1.3.2. HPLC.....	66
2. Συμπεράσματα.....	73
Παράρτημα.....	75
Βιβλιογραφία.....	78

Μέρος Α (Θεωρία) : Εισαγωγή

1. Η Ράγα της σταφυλής

1.1. Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Χημική σύσταση

Ο καρπός της αμπέλου είναι γνήσια ράγα, καθώς στη διαμόρφωση της συμμετέχουν αποκλειστικά οι ιστοί της ωθήκης. Πρόκειται για καρπό σαρκώδη ο οποίος, μετά τη φυσιολογική γονιμοποίηση και την καρπόδεση, αποτελείται από 3 μέρη : το φλοιό που αποτελεί το περικάρπιο, τη σάρκα που αποτελείται από το μεσοκάρπιο και το ενδοκάρπιο και τα γίγαρτα που περιβάλλει το ενδοκάρπιο (Σταυρακάκης, Μ., 2010).



Εικ. 1.1. Μορφολογία και ανατομία της ράγας (Σταυρακάκης, Μ., 2010).

Η παραπάνω καταγραφή ακολουθεί την σειρά που ακολουθείται κατά την περιγραφή της ανατομίας της ράγας στα βιβλία Αμπελουργίας.

Όταν όμως η ράγα εξετάζεται από τη σκοπιά της οινοποιίας, είναι φυσικό να προτάσσεται η περιγραφή της σάρκας, γιατί μόνο από αυτήν παράγεται στη πραγματικότητα ο οίνος , ενώ όλα τα άλλα μέρη της ράγας απλώς συμβάλουν στη διαμόρφωση των χαρακτήρων του (Κουράκου, Σ., 1998).

Η **σάρκα** της ράγας αποτελεί το 78% του συνολικού της βάρους και αποτελείται κυρίως όσον αφορά τη χημική της σύσταση, η οποία είναι κατά 99,5% ίδια με αυτή του γλεύκους, από νερό (65-80%) και σάκχαρα (10-30%) και δευτερευόντως από άλλες ουσίες (5-6%) όπως οργανικά οξέα, ανόργανα συστατικά, αζωτούχες ενώσεις, πηκτινικές ύλες, αρωματικές ουσίες, χρωστικές, ταννίνες κλπ. Τα φαινολικά συστατικά της σάρκας αποτελούν το 10% του συνόλου των φαινολικών συστατικών των ραγών (Watson, B., 2003, Κοτσερίδης, Γ. 2005).

Τα κύρια συστατικά της σάρκας είναι τα ζυμώσιμα σάκχαρα και τα οργανικά οξέα. Οι ουσίες αυτές, παρόλο που δεν προσδίδουν στον οίνο τις ιδιαιτερότητες που διαχωρίζουν τους οίνους από ευγενείς και κοινές ποικιλίες αμπέλου – όπως συμβαίνει με τις ουσίες του φλοιού – του εξασφαλίζουν την υδραλκοολική δομή του και τον πρωταρχικό χαρακτήρα ποιότητας : τη γευστική ισορροπία (Κουράκου, Σ., 1998).

Ο φλοιός αποτελεί το 15% του συνολικού βάρους της ράγας και αποτελείται, όσον αφορά τη χημική του σύσταση, από νερό (75-80%) ενώ υπάρχουν ακόμη ταννίνες (1-2%), όξινες ενώσεις (1-1,5%), ανόργανες ενώσεις (1,5-2%), αζωτούχες ενώσεις (1,5-2%), λοιπές ουσίες (10-15%). Αποτελεί την κύρια πηγή αρωματικών ουσιών και πρόδρομων της γεύσης συστατικών. Στον φλοιό εμπεριέχονται φλαβονοειδή φαινολικά συστατικά (ανθοκυάνες, φλοβονόλες και ταννίνες). Τα φαινολικά συστατικά του φλοιού αποτελούν το 30% του συνόλου των φαινολικών συστατικών των ραγών (Watson, B., 2003, Κοτσερίδης, Γ. 2005).

Παρόλο που ο φλοιός αντιπροσωπεύει μικρό ποσοστό επί του βάρους της ράγας, είναι το μέρος της σταφυλής όπου απαντούν οι ειδικές εκείνες οργανικές ουσίες που χαρακτηρίζουν τις διάφορες ποικιλίες αμπέλου και διαμορφώνουν, κατ' ακολουθία, τους οργανοληπτικούς χαρακτήρες των διαφόρων ποικιλιακών οίνων (Κουράκου, Σ., 1998).

Τα **γίγαρτα** αποτελούν το 4% του βάρους της ράγας. Όσον αφορά τη χημική τους σύσταση αποτελούνται από νερό (25-45%), σάκχαρα και πολυσακχαρίτες (34-36%), ελαιώδεις ουσίες (13-20%), φαινολικά συστατικά (κυρίως ταννίνες) (4-6%), αζωτούχες ουσίες (4-6,5%), ανόργανες ουσίες (2-4%) και λιπαρά οξέα (1%). Τα φαινολικά συστατικά των γιγάρτων αποτελούν το 60% του συνόλου των φαινολικών συστατικών των ραγών (Watson, B., 2003, Κοτσερίδης, Γ. 2005).

Η υψηλή συγκέντρωση φαινολικών στα γίγαρτα καθιστά τα τελευταία πολύ σημαντικά κυρίως για την ερυθρή οινοποίηση όπου τα στέμφυλα και τα γίγαρτα παραμένουν με το γλεύκος εν ζύμωσει.

Το κέλυφος του γιγάρτου ανατομικά αποτελείται από 3 στρώματα. Από αυτά το μεσαίο στρώμα είναι αρκετά σκληρό και συγχρόνως πολύ πλούσιο σε ταννίνες. Το στρώμα αυτό είναι το πιο σκληρό τμήμα του κελύφους του γιγάρτου και είναι αδιαπέραστο στο νερό, αλλά διαπερατό στην αλκοόλη που παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση. Έτσι κατά τη διάρκεια της ερυθρής οινοποίησης οι ταννίνες των γιγάρτων εκχυλίζονται προσδίδοντας στον οίνο στυφή γεύση (Κοτσερίδης, Γ., 2005).

Από τα προηγούμενα διαφαίνεται η τεχνολογική σημασία των γιγάρτων κατά την τεχνική της ερυθρής οινοποίησης και κατ' επέκταση το ενδιαφέρον για τη μελέτη της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών σε αυτά κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και σε συνάρτηση με διάφορες καλλιεργητικές τεχνικές όπως για παράδειγμα με τον βαθμό ποτίσματος που μας απασχολεί στην παρούσα μελέτη.

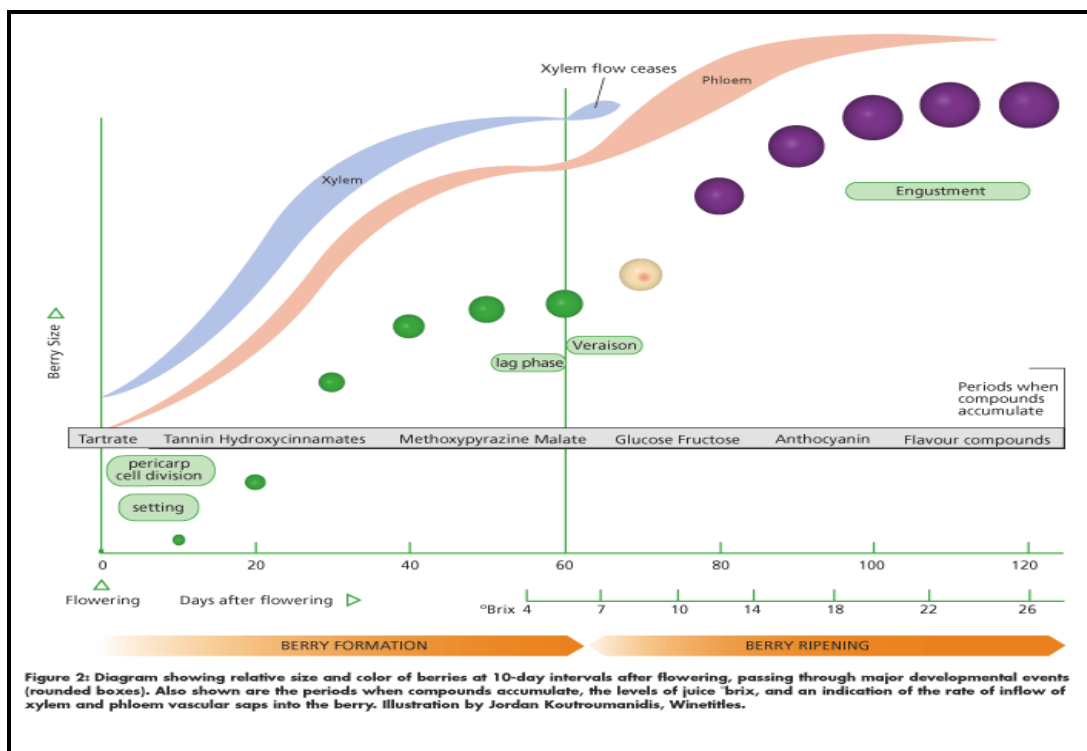
1.2. Στάδια ανάπτυξης

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της ράγας αλλά και η χημική της σύσταση μεταβάλλονται κατά τη διάρκεια ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών. Σε γενικές γραμμές η ανάπτυξη χαρακτηρίζεται από την αύξηση του όγκου των ραγών σε συνδυασμό με την εξέλιξη των φυσικών χαρακτηριστικών (π.χ. αλλαγή χρώματος) και τη μεταβολή της χημικής σύνθεσης των ραγών (αυξομειώσεις των βασικών χημικών συστατικών οπ. σάκχαρα, οξέα, φαινολικά συστατικά).

Ο αριθμός των κυττάρων κατά την πορεία ανάπτυξης της ράγας αυξάνεται κατά 3-4 φορές, ενώ ο όγκος των κυττάρων αυξάνεται περίπου κατά 300 φορές (Mullins et al., 1992).

Στις εγγίγαρτες ποικιλίες, ο ρυθμός ανάπτυξης των ραγών ακολουθεί μια σιγμοειδή καμπύλη (s), όπου είναι δυνατόν να διακρίνουμε 3 φάσεις ανάπτυξης χρησιμοποιώντας ως παραμέτρους τον όγκο ή βάρος, τη διάμετρο και το μήκος των ραγών (Ribereau-Gayon et al., 1998). Οι φάσεις αυτές είναι οι εξής :

- Φάση 1^η, είναι περίοδος ταχύτατης ανάπτυξης της ράγας, η οποία χαρακτηρίζεται από έντονη κυτταροδιαίρεση.
- Φάση 2^η, είναι περίοδος επίσχεσης του ρυθμού ανάπτυξης (lag phase) κατά την οποία μειώνεται ο ρυθμός αύξησης και ανάπτυξης των ραγών και αυξάνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των γιγάρτων.
- Φάση 3^η, είναι περίοδος ταχύτατης ανάπτυξης της ράγας, όπου ο ρυθμός ανάπτυξης της ράγας ακολουθεί μια ανοδική πορεία μέχρι την ωρίμανση.



Εικ.1.2. Πορεία ανάπτυξης των ραγών. Παρουσιάζονται επίσης οι χρόνοι συσσώρευσης των διαφόρων συστατικών της ράγας (Kennedy, J.A., 2002).

Η πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των σταφυλιών μπορεί επίσης να χωριστεί σε 4 ευδιάκριτα στάδια, με βάση τις διάφορες φυσικοχημικές μεταβολές αλλά και το ρυθμό αύξησης των ραγών, τα οποία βρίσκονται σε αντιστοιχία με τις παραπάνω φάσεις ανάπτυξης :

- Το στάδιο του πράσινου σταφυλιού ή της άγουρης ράγας
- Το στάδιο του περκασμού
- Το στάδιο της ωρίμανσης
- Το στάδιο της υπερωρίμανσης

Το **στάδιο της άγουρης ράγας** αρχίζει από την καρπόδεση και φθάνει ως τον περκασμό, τη στιγμή δηλαδή που η ράγα αρχίζει να γυαλίζει και να αλλάζει χρώμα. Σε όλο το διάστημα της περιόδου αυτής οι ράγες είναι πράσινες λόγω της άφθονης χλωροφύλλης που υπάρχει στο φλοιό τους, έχουν σκληρή υφή και αναπτύσσονται με βραδύ ρυθμό. Κατά τη διάρκεια του σταδίου αυτού οι ράγες λειτουργούν όπως τα φύλλα αφομοιώνοντας τον άνθρακα και συνθέτοντας μέρος από τα απαραίτητα για την ανάπτυξη τους συστατικά. Εμφανίζονται τα πρώτα σάκχαρα, κυρίως η γλυκόζη, και τα πρώτα οργανικά οξέα. Το στάδιο αυτό αντιστοιχεί στην 1^η και στην 2^η φάση ανάπτυξης των ραγών.

Το **στάδιο του περκασμού** αρχίζει με τη βαθμιαία διάσπαση της χλωροφύλλης του φλοιού των ραγών και την προοδευτική εμφάνιση της χρώσης που χαρακτηρίζει την κάθε ποικιλία. Το πράσινο χρώμα των ραγών αλλάζει σε κίτρινο στις λευκές ποικιλίες ενώ στις ερυθρές σε ερυθρό ανοιχτό και ερυθρό σκούρο στη συνέχεια. Οι ράγες γίνονται πιο μαλακές και ελαστικές ενώ αυξάνεται απότομα η περιεκτικότητα τους σε σάκχαρα, η οποία προκαλεί την ωσμωτική έλξη του νερού με αποτέλεσμα την γρήγορη διόγκωση των ραγών που συνεπάγεται και τη σημαντική μείωση της οξύτητας λόγω αραίωσης αλλά και εξουδετέρωσης των οξέων από το νερό και τα περιεχόμενα σε αυτό ανόργανα στοιχεία.

Το **στάδιο ωρίμανσης** εκτείνεται από τον περκασμό μέχρι την ωριμότητα, όρο ωστόσο σχετικό καθώς διακρίνουμε διάφορα είδη ωριμότητας. Κατά την περίοδο αυτή οι μορφολογικές μεταβολές που παρατηρούνται είναι η προοδευτική ξυλοποίηση των βοστρύχων και ο διπλασιασμός του όγκου των ραγών. Όσον αφορά τη χημική τους σύσταση οι ράγες εξακολουθούν να εμπλουτίζονται σε σάκχαρα και να χάνουν οξύτητα αλλά με ρυθμό πιο αργό από το προηγούμενο στάδιο. Το στάδιο αυτό αντιστοιχεί στην 3^η φάση ανάπτυξης των ραγών.

Τέλος, το **στάδιο της υπερωρίμανσης** ακολουθεί τη φάση της ωριμότητας και είναι μια περίοδος όπου το σταφύλι δε δέχεται πρακτικά τίποτα από το φυτό. Κατά τη διάρκεια του σταδίου αυτού η ράγα παρουσιάζει μια φαινομενική αύξηση της συγκέντρωσης των σακχάρων η οποία οφείλεται στην απώλεια ύδατος που έχει επίσης ως αποτέλεσμα την μείωση του όγκου της ράγας. Όταν το στάδιο αυτό παραταθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα, τελειώνει με συρρίκνωση της ράγας και νέκρωση όλων των ιστών αυτής, εξαιρουμένων βεβαίως των γιγάρτων που συνεχίζουν να διατηρούν τη βλαστική τους ικανότητα (Reynier, A., 1997, Κοτσερίδης, Γ., 2005).

2.

Τα Φαινολικά συστατικά των ραγών

Τα φαινολικά παράγωγα αποτελούν σημαντικό κεφάλαιο της οινολογίας, γιατί από αυτά εξαρτάται το χρώμα και οι αποχρώσεις των έγχρωμων οίνων καθώς επίσης καθορίζουν σημαντικά τους ιδιαίτερους γευστικούς τους χαρακτήρες. Τα φαινολικά παράγωγα υπεισέρχονται στους αρωματικούς χαρακτήρες των οίνων και είναι οι κύριοι υπεύθυνοι για τις θετικές ή αρνητικές μεταβολές της οινικής ποιότητας κατά τη συντήρηση και παλαίωση. Τέτοιες μεταβολές είναι ο εξευγενισμός κατά την ωρίμανση υπό κατάλληλες συνθήκες, αλλά και το καφέτιασμα των λευκών οίνων και η εμφάνιση του καστανού θολώματος, όταν δεν έχουν ληφθεί μέτρα προστασίας των φαινολικών συστατικών από την επίδραση του οξυγόνου. Οι αλλοιώσεις του χρώματος και των οργανοληπτικών χαρακτήρων των οίνων είναι αποτέλεσμα των χημικών και ενζυμικών οξειδωτικών δράσεων στα φαινολικά συστατικά (Κουράκου, Σ., 1998).

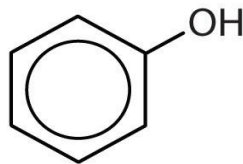
Τα φαινολικά συστατικά των οίνων προέρχονται κυρίως από το σταφύλι, ενώ μια ακόμη δευτερεύουσα πηγή τους είναι το ξύλο των βαρελιών. Επίσης, μικρές ποσότητες τους σχηματίζονται και κατά τον μεταβολισμό των ζυμών. Ο ρόλος τους στο σταφύλι είναι κυρίως αντιμικροβιακός ενώ παρέχουν σε μικρότερο βαθμό προστασία από τις προσβολές από τα έντομα και την κατανάλωση από τα ζώα (Jackson, R.S., 2008).

Οι ταννίνες (προκυανιδίνες, συμπυκνωμένες και πολυμερισμένες ταννίνες), καθώς και οι ανθοκυάνες, ελεύθερες ή ενωμένες με ταννίνες, αποτελούν τις δύο μεγάλες τάξεις των φαινολικών παραγώγων. Βρίσκονται συγκεντρωμένες στα στερεά μέρη του σταφυλιού και περνούν στον οίνο με εκχύλιση ή διάχυση, κατά τις διάφορες τεχνικές παρασκευής των έγχρωμων οίνων. Τα συστατικά αυτά είναι ουσιαστικά οι αποκλειστικοί υπεύθυνοι όλων των διαφορών που υφίστανται μεταξύ λευκών και ερυθρών οίνων. Στο μόριο των ουσιών αυτών απαντώνται μία η περισσότερες δραστικές φαινολικές ομάδες. Οι ουσίες αυτές κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες τις πολυμοριακές και τις μονομοριακές φαινόλες εκ των οποίων σημαντικότερη κατά πολύ είναι η πρώτη. Οι πολυμοριακές φαινόλες έχουν βασικό σκελετό που περιλαμβάνει 15 άτομα άνθρακα με βασικό τύπο C₆-C₃-C₆ και λέγονται φλαβονοειδείς φαινόλες. Κύριοι εκπρόσωποι των φλαβονοειδών φαινολών είναι οι ταννίνες και οι ανθοκυάνες. Οι μονομοριακές φαινόλες ονομάζονται μη φλαβονοειδείς φαινόλες. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν το γαλλικό και το καφεϊκό οξύ (Κουράκου, Σ., 1998).

2.2. Φαινολικές ενώσεις

2.1.1. Φαινόλες

Φαινόλες ονομάζονται τα υδροξυλιωμένα παράγωγα των αρωματικών υδρογονανθράκων, τα οποία περιέχουν ένα ή περισσότερα υδροξύλια σε αντικατάσταση ισάριθμων υδρογόνων συνδεδεμένων με τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου. Τα βενζολικά παράγωγα που περιέχουν υδροξύλιο σε αντικατάσταση υδρογόνου της πλευρικής αλυσίδας, ονομάζονται αρωματικές αλκοόλες και όχι φαινόλες (Κουράκου, Σ., 1998).



Εικ. 2.1. Φαινολικός δακτύλιος

2.1.2. Μη φλαβονοειδείς φαινόλες

Στην κατηγορία των μη φλαβονοειδών φαινολών υπάγονται μονομοριακά φαινολικά παράγωγα που απαντούν ευρύτατα στους φυτικούς ιστούς και στα διάφορα φυτικά προϊόντα, σε κυμαινόμενες ποσότητες ανά περίπτωση. Η παρουσία τους στον οίνο οφείλεται άλλων στα σταφύλια από τα οποία προήλθε ο οίνος και άλλων στο ξύλο των βαρελιών όπου ο οίνος αποθηκεύτηκε και παλαιώσε.

Οι κύριοι εκπρόσωποι της κατηγορίας αυτής είναι τα φαινολοξέα. Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει τα παράγωγα του βενζοϊκού και του κινναμωνικού οξέος, των οποίων ένα ή περισσότερα υδρογόνα των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου έχουν αντικατασταθεί με υδροξυλομάδες και μεθόξυμομάδες. Στην κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνονται επίσης και τα στιλβένια.

Από τα βενζοϊκά οξέα στο σταφύλι απαντάμε κυρίως το γαλλικό οξύ το οποίο βρίσκεται συνήθως υπό τη μορφή εστέρων των φλαβαν-3-ολών (κατεχίνες).

Τα επικρατέστερα φαινολικά οξέα στο σταφύλι είναι κυρίως τα υδροξυκινναμωνικά, τα οποία βρίσκονται στα χυμοτόπια των κυττάρων του φλοιού και της σάρκας υπό μορφή εστέρων με το τρυγικό οξύ. Πρόκειται για τα καφεοτρυγικό, π-κουμαροτρυγικό και φερουλοτρυγικό.

Το σπουδαιότερο από τα στιλβένια που απαντούν στο σταφύλι είναι η ρεσβερατρόλη καθώς και το παράγωγο της με τη γλυκόζη. Στα είδη των *Vitis Vinifera* και *Vitis Labrusca*, η ρεσβερατρόλη βρίσκεται αποκλειστικά στους φλοιούς απ' όπου εκχυλίζεται στους οίνους κατά την ερυθρά οινοποίηση ενώ δεν απαντάται στα γίγαρτα. Στην εν λόγω ουσία αποδίδονται θεραπευτικές ιδιότητες.

2.1.3. Φλαβονοειδείς φαινόλες

Τα φλαβονοειδή χαρακτηρίζονται από ένα βασικό σκελετό με 15 άτομα άνθρακα (C6-C3-C6) του τύπου 2-φαινυλ-βενζοπυρόνη. Χωρίζονται σε πολλές ομάδες οι οποίες διαφοροποιούνται ανάλογα με το βαθμό οξείδωσης του πυρανικού δακτυλίου. Με την αυστηρή έννοια του όρου και με βάση τη δομή της 2-φαινυλ-βενζοπυρόνης, τα φλαβονοειδή αντιπροσωπεύονται μόνο από τις φλαβονόλες του σταφυλιού ενώ με την ευρεία έννοια του όρου συμπεριλαμβάνονται οι ανθοκυάνες και οι φλαβαν-3-όλες (Κοτσερίδης, Γ., 2006).

2.1.4. Κατεχίνες και προκυανιδίνες

Είναι γνωστό από την οργανική χημεία, ότι το παράγωγο της φλαβανόλης που έχει τον κεντρικό ετεροκυκλικό δακτύλιο υδρογονομένο, λέγεται φλαβαν-3-όλη. Στη φύση απαντούν διάφορα υδροξυλιωμένα παράγωγα της φλαβαν-3-όλης, γνωστά με το όνομα κατεχίνες, από τα οποία τη μεγαλύτερη διάδοση έχει η κατεχίνη, το όνομα της οποίας επεκτάθηκε σε όλη την οικογένεια των φλαβονοειδών φαινολών. Η κατεχίνη έχει δύο ασύμμετρα άτομα άνθρακα και δίνει, ως εκ τούτου, τέσσερα ισομερή : την (+) και (-) κατεχίνη και την (+) και (-) επικατεχίνη, καθώς και δύο ρακεμικά. Όλες αυτές οι μορφές είναι γνωστές στη φύση, αλλά στις σταφυλές και τους οίνους, όπως εξάλλου στα περισσότερα φυτά απαντούν κυρίως η (+) κατεχίνη και η (-) επικατεχίνη (Κουράκου, Σ., 1998).

Εκτός από τις μονομοριακές κατεχίνες, έχουν βρεθεί στη φύση συμπυκνωμένα φαινολικά παράγωγα που όταν απομονώθηκαν και θερμάνθηκαν παρουσία ανόργανων οξέων, έδωσαν κυανιδίνη, κατεχίνη και επικατεχίνη. Εξαιτίας του σχηματισμού κυανιδίνης, τα παράγωγα αυτά ονομάστηκαν προκυανιδίνες.

Κατά την ωρίμανση και παλαίωση των οίνων, οι προκυανιδίνες ενώνονται μεταξύ τους, καθώς και με άλλα μόρια, προς σχηματισμό πολυμερών μεγαλύτερου μοριακού βάρους, που αντιστοιχούν στις συμπυκνωμένες ταννίνες, γιατί οι προκυανιδίνες αποτελούν πρόδρομες ενώσεις των ταννινών.

2.1.5. Ταννίνες

Οι ταννίνες απαντούν στους φλοιούς, τα γίγαρτα και τους βόστρυχους της σταφυλής και από χημική άποψη είναι μεγαλομόρια με φαινολικό δακτύλιο, που προκύπτουν από τον πολυμερισμό στοιχειωδών μορίων με φαινολική ομάδα. Έχει επικρατήσει να ενοποιούνται λοιπόν κάτω από το όνομα αυτό ουσίες φυτικής προέλευσης οι οποίες αν και ενδέχεται να έχουν διαφορετική χημική δομή έχουν εντούτοις μια κοινή ιδιότητα : είναι ικανές να ενώνονται με πρωτεΐνες και με πολυσακχαρίτες και να δίνουν σταθερές ενώσεις. Στην ιδιότητα τους αυτή οφείλεται και η στυφή γεύση των οίνων, η οποία προκύπτει από την ένωση μεταξύ των ταννινών του οίνου και των πρωτεϊνών του σάλιου, προκαλώντας μια αίσθηση ξηρότητας και τραχύτητας στη γλώσσα και σε όλη τη στοματική κοιλότητα.

Ανάλογα με τη φύση της βασικής ομάδας οι ταννίνες διακρίνονται σε υδρολυόμενες και σε συμυκνωμένες. Οι ταννίνες των οίνων ανήκουν στη δεύτερη ομάδα και αποτελούν ουσιαστικά το σώμα του οίνου (Κουράκου, Σ., 1998).

Οι υδρολυόμενες ταννίνες αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου, κυρίως γλυκόζης, ή ένα μόριο πολυσακχαρίτη, του οποίου πολλά υδροξύλια είναι εστεροποιημένα με διάφορα φαινολικά οξέα, από τα οποία τα σημαντικότερα είναι το γαλλικό, το διγαλλικό και το ελλαγικό. Για το λόγο αυτό αναφέρονται συχνά και ως γαλλοταννίνες ή ελλαγικές ταννίνες. Οι ταννίνες αυτής της κατηγορίας δεν απαντούν στα σταφύλια και ως εκ τούτου η παρουσία τους στους οίνους οφείλεται είτε σε τεχνικές που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της οινοποίησης (π.χ. κολλάρισμα) είτε στη μεταφορά τους από το ξύλο δρύνων βαρελιών σε οίνους που παλαιώσαν σε αυτά.

Οι συμυκνωμένες ταννίνες σχηματίζονται από αντιδράσεις πολυμερισμού ενός στοιχειώδους μορίου πολύ δραστικού, της προκυανιδίνης. Με άλλα λόγια οι συμυκνωμένες ταννίνες των σταφυλιών και των οίνων είναι πολυμερή, περισσότερο ή λιγότερο πολύπλοκα, των φλαβαν-3-ολών ή κατεχινών.

Λόγω της μεγάλης διαφοροποίησης στη δομή των ενώσεων αυτών, η χημική ανάλυση των εν λόγω μορίων παρουσιάζει μεγάλο βαθμό πολυπλοκότητας. Η διαφοροποίηση αυτή στη δομή εξηγεί την παρουσία, στα σταφύλια των διαφόρων ποικιλιών και στους αντίστοιχους οίνους, ταννινών με διαφορετικές ιδιότητες, ιδίως γευστικές. Αυτό σημαίνει ότι στην πραγματικότητα αυτό επηρεάζει το τελικό αποτέλεσμα δεν είναι μόνο η περιεκτικότητα σε ταννίνες αλλά και η ποιότητα τους που σχετίζεται με τη δομή τους.

Στα σταφύλια και στους οίνους είναι δυνατόν να απομονώσουμε και να διαχωρίσουμε τα εξής παρακάτω συστατικά : την (+) κατεχίνη, την (-) επικατεχίνη, τις διμερείς, τις τριμερείς και ολιγομερείς προκυανιδίνες και τις συμυκνωμένες προκυανιδίνες.

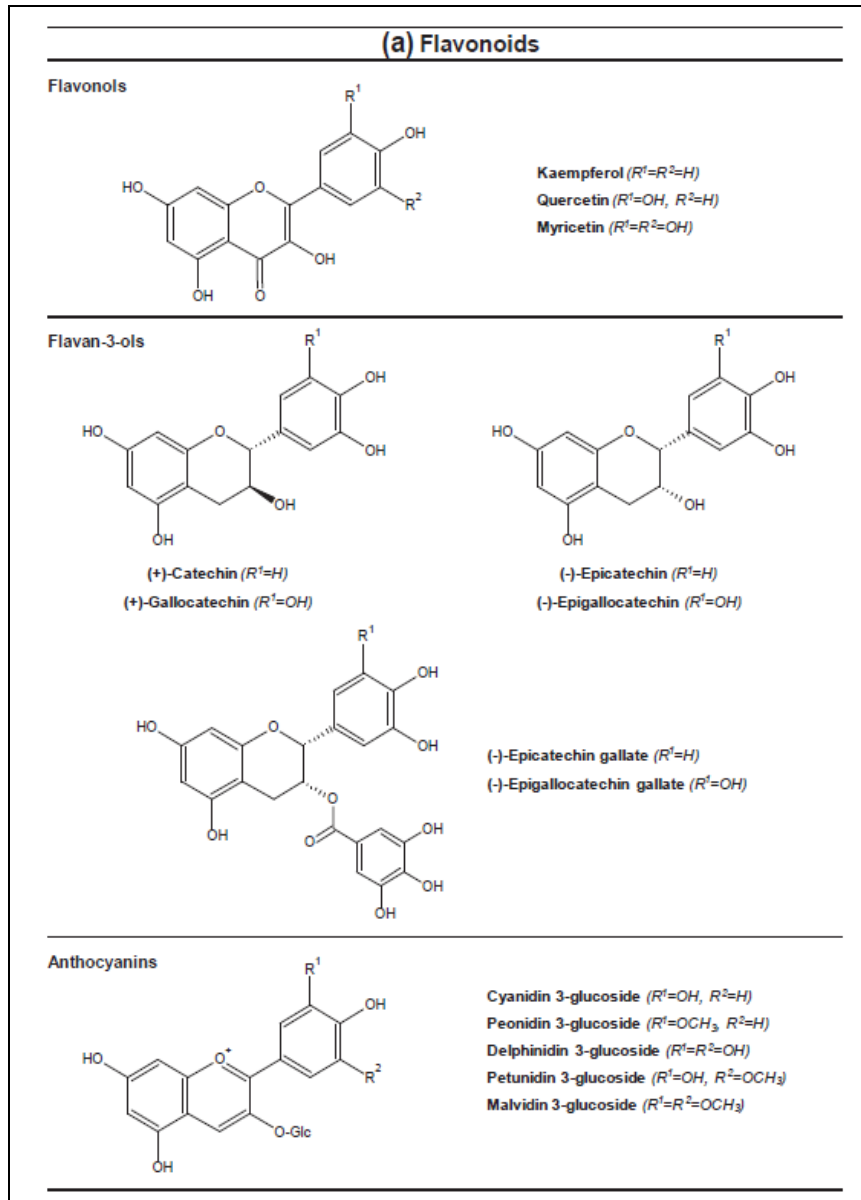
2.1.6. Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι οι ερυθρές χρωστικές των σταφυλιών και βρίσκονται στο φλοιό των ραγών και σε σπάνιες περιπτώσεις στη σάρκα (π.χ. Alicante bouschet) (Κοτσερίδης, Γ., 2006). Είναι επίσης παρούσες σε μεγάλες ποσότητες στα φύλλα, κυρίως κατά το τέλος της περιόδου ανάπτυξης (Ribereau-Gayot, P. et al., 2006).

Οι ανθοκυάνες απαντούν στη φύση με τη μορφή ετεροζιτών οι οποίοι υδρολύονται εύκολα προς ένα άγλυκο μόριο και ένα ή περισσότερα μόρια σακχάρων. Τα άγλυκα τμήματα λέγονται ανθοκυανιδίνες κι έχουν γενικό τύπο C3-C6-C3. (Brouillard, R., et al., 2003)

Το άγλυκο μέρος έχει τη βασική δομή του φλαβυλίου. Το μόριο τους αποτελείται από δύο βενζολικούς δακτυλίους που περιβάλουν ένα δακτύλιο πυρυλίου. Στα σταφύλια και στους οίνους απαντούν, ανάλογα με την υποκατάσταση του πλευρικού δακτυλίου, πέντε είδη ανθοκυανών : η κυανιδίνη, η παιονιδίνη, η δελφινιδίνη, η πετουνιδίνη και η μαλβιδίνη (Κοτσερίδης, Γ., 2006).

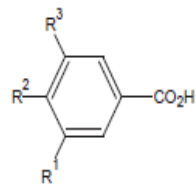
Από αυτές η πιο διαδεδομένη στη φύση είναι η κυανιδίνη, παρόλο που είναι – όπως και η δελφινιδίνη – η πιο ασταθής. Οι δύο αυτές μορφές φαίνεται να είναι πρόδρομοι ανθοκυανιδίνων σταθερότερων μορφών, όπως η παιονιδίνη και η μαλβιδίνη. Έτσι ενώ στα σταφύλια των έγχρωμων ποικιλιών εμφανίζεται αμέσως μετά τον περκασμό η κυανιδίνη, της οποίας η συγκέντρωση αυξάνεται - όπως και της δελφινιδίνης – κατά τις πρώτες 15 περίπου μέρες της ωρίμανσης των σταφυλών τελικά επικρατεί κατά πολύ η μαλβιδίνη που είναι η κύρια ανθοκυανιδίνη όλων σχεδόν των σταφυλιών και των έγχρωμων οίνων (Κουράκου, Σ., 1998).



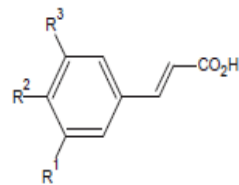
Εικ. 2.2. Φλαβονοειδείς φαινόλες

(b) Non - Flavonoids

Derivates of benzoic and cinnamic acid

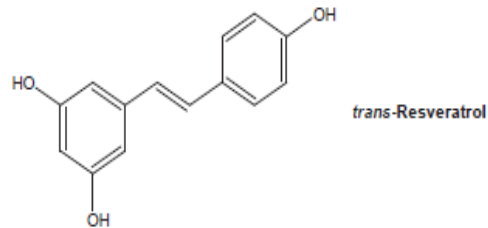


	R ¹	R ²	R ³
Benzoic acid	H	H	H
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	H	OH	H
Protocatechuic acid	OH	OH	H
Vanillic acid	OCH ₃	OH	H
Gallic acid	OH	OH	OH
Syringic acid	OCH ₃	OH	OCH ₃

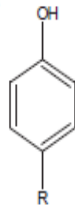


Cinnamic acid
<i>p</i> -Coumaric acid
Caffeic acid
Ferulic acid
Sinapic acid

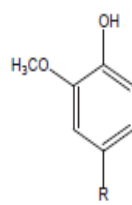
Stilbenes



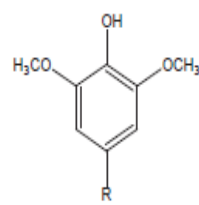
Volatile Phenols



Ethylphenol ($R=CH_2CH_3$)
Vinylphenol ($R=CHCH_2$)



Guaiacol ($R=H$)
Methylguaiacol ($R=CH_3$)
Ethylguaiacol ($R=CH_2CH_3$)
Vinylguaiacol ($R=CHCH_2$)



Syringol ($R=H$)
Methylsyringol ($R=CH_3$)

Εκ. 2.3. Μη φλαβονοειδείς φαινόλες

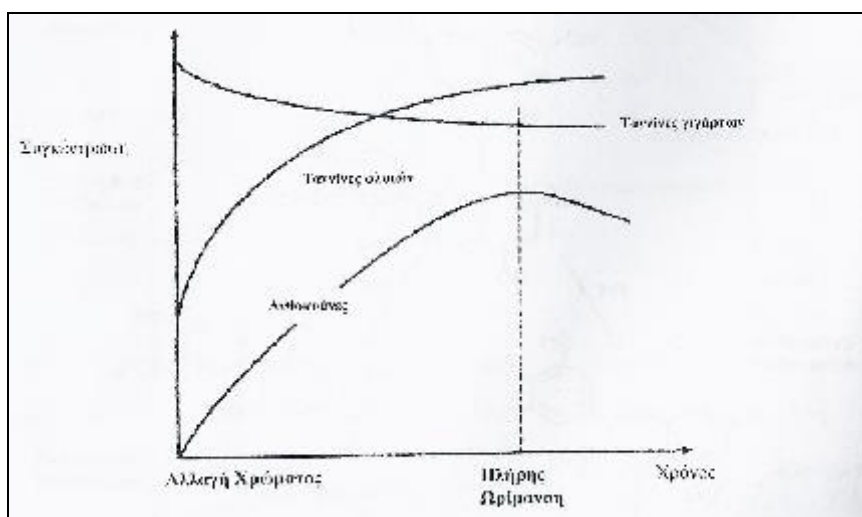
2.2. Ο σχηματισμός των φαινολικών συστατικών και η εξέλιξη τους κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης

Οι χρωστικές ουσίες των σταφυλών αρχίζουν να εμφανίζονται στο στάδιο του περκασμού όπου οι πράσινοι καρποί χάνουν τη χλωροφύλλη και αρχίζουν να χρωματίζονται.

Ο μηχανισμός σχηματισμού των φλαβονοειδών φαινολών είναι παρόμοιος. Τα διάφορα στάδια του σχηματισμού – ιδίως τα πρώτα – δεν είναι γνωστά στο σύνολο τους, παρόλα αυτά υπάρχει μια ενδιάμεση ουσία κοινή για όλες τις φλαβονοειδείς φαινόλες. Πρόκειται για μια χαλκόνη που κυκλοποιείται με τη βοήθεια του ενζύμου χαλκονο-ισομεράση, προς μια φλαβανόνη, από την οποία σχηματίζονται διάφορες φλαβόνες, φλαβονόλες, ισοφλαβόνες και ανθοκυάνες, με διάφορες αντιδράσεις υδροξυλίωσης, μεθοξυλίωσης, εστεροποίησης με σάκχαρα και ακυλίωσης του σακχαρικού μορίου, που καταλύονται από συγκεκριμένα ένζυμα (Κουράκου, Σ., 1998).

Η δραστηριότητα σύνθεσης της χαλκόνης φαίνεται να αυξάνεται ταχέως κατά τον περκασμό και μειώνεται απότομα αμέσως μετά (Ribereau-Gayon, P., et al., 1998).

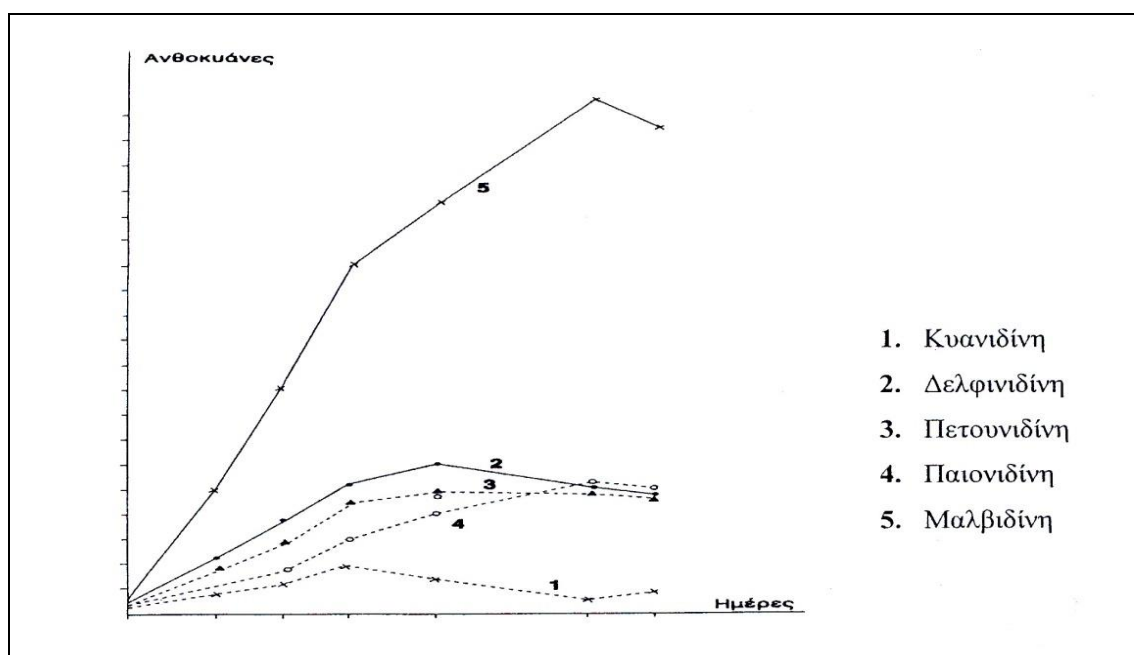
Από την αλλαγή του χρώματος μέχρι την πλήρη ωριμότητα, όπως ορίζεται από την αναλογία σακχάρων / ολικής οξύτητας, τα φαινολικά συστατικά που περιέχονται στο φλοιό σε γενικές γραμμές αυξάνονται. Οι ανθοκυάνες εμφανίζονται καθώς το χρώμα αλλάζει και συγκεντρώνονται κατά την πορεία ωρίμανσης φθάνοντας στο μέγιστο στην πλήρη ωριμότητα. Εν, συνέχεια, στην περίπτωση που τα σταφύλια αφεθούν να υπερωριμάσουν, μειώνονται. Η συγκέντρωση των ταννινών αυξάνεται με παρόμοιο τρόπο αν και είναι ήδη πολύ υψηλή κατά την αλλαγή χρώματος (Ribereau-Gayon, P., et al., 2006, Perez-Magarino, S., et al., 2006).



Εικ. 2.4. Η μεταβολή των ανθοκυανών και των ταννινών στους φλοιούς και τα γίγαρτα κατά την ωρίμανση των σταφυλιών (Glories, Y., 1986).

Σε πρόσφατη έρευνα (2011) στη Δημοκρατία της Μακεδονίας, μελετήθηκαν οι μεταβολές των πολυφαινολικών ενώσεων στη σάρκα, το φλοιό και τα γίγαρτα τοπικών και διενθών ποικιλιών, κατά τη πορεία ωρίμανσης της ράγας, και ειδικότερα σε 3 διαφορετικά στάδια : τον περκασμό, τη φυσιολογική ωρίμανση και την υπερωρίμανση. 31 φαινολικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των ανθοκυανών, φλαβονολών και φλαβαν-3-ολών, καθώς επίσης και φαινολικών οξέων, ταυτοποιήθηκαν / προσδιορίστηκαν στα εκχυλίσματα που προέκυψαν από την επεξεργασία των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα της παραπάνω έρευνας επιβεβαίωσαν για μια ακόμα φορά τα όσα ειπώθηκαν προηγουμένως. Οι ανθοκυάνες φαίνονται να αυξάνονται κατά τη διάρκεια της πορείας ωρίμανσης, ενώ οι φλαβα-3-όλες (ταννίνες) των γιγάρτων παρουσίασαν ένα μέγιστο συγκέντρωσης στο στάδιο του περκασμού ακολουθώντας στη συνέχεια μια πτωτική πορεία (Ivanova, I. et al., 2011).

Η πορεία εξέλιξης των επιμέρους ανθοκυανών φαίνεται, βάσει μελετών που έχουν γίνει, να είναι παρόμοια και να μην εξαρτάται από την ποικιλία.. Οι διαφορές που παρατηρούνται από ποικιλία σε ποικιλία έχουν σχέση με ποσοτικά μεγέθη, που εξαρτώνται από τον ανθοκυανικό πλούτο της κάθε ποικιλίας, ενώ παράγοντες όπως οι καιρικές – περιβαλλοντικές συνθήκες και το κλίμα φαίνεται να επηρεάζουν την ολική ποσότητα ανθοκυανών από τρύγο σε τρύγο, στο ίδιο πάντα αμπέλι (Kennedy, J. A., et al., 2002, Ribereau-Gayon, P., et al., 2006).



Εικ. 2.5. Η μεταβολή των ανθοκυανών κατά την πορεία ωρίμανσης των ραγών (Χαρβαλιά, Α., Τζούρου, Ε., 1982)

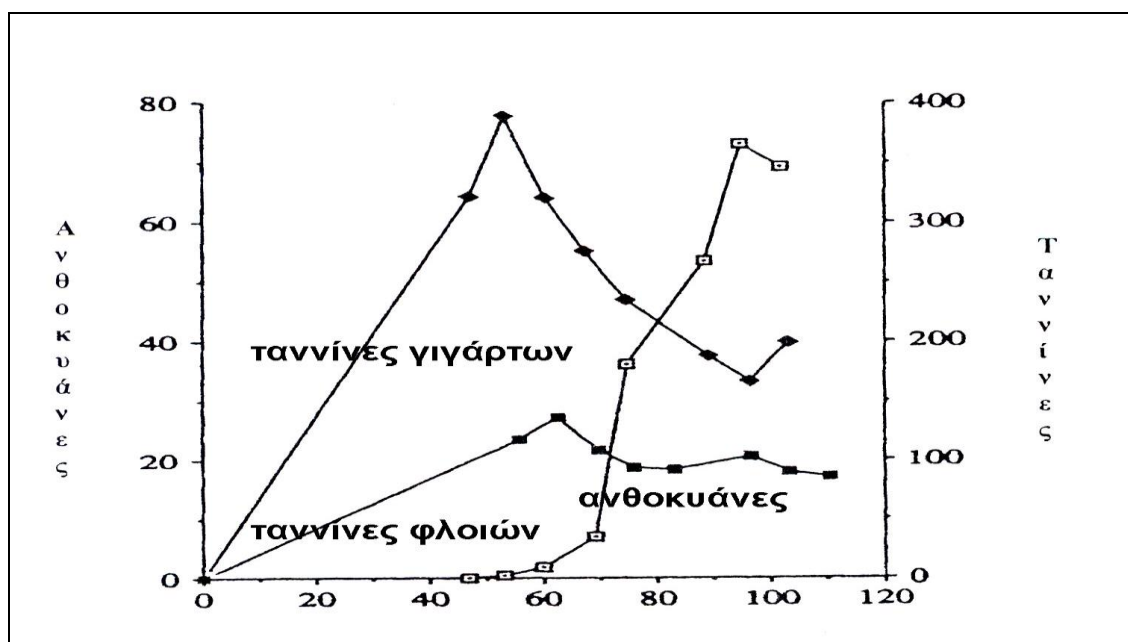
Από την άλλη πλευρά, οι ταννίνες που προέρχονται από τον πολυμερισμό των προκυανιδινών, εμφανίζουν μια μέγιστη συγκέντρωση στα γίγαρτα, κατά την περίοδο πριν τον περκασμό. Στη συνέχεια επέρχεται μια απότομη μείωση, φθάνοντας μια σχετικά σταθερή τιμή όταν τα γίγαρτα είναι ώριμα. Η μείωση μπορεί να έχει μεγαλύτερη ή μικρότερη έκταση, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν κατά την ωρίμανση και προφανώς εξαρτάται από την συγκέντρωση των ανθοκυανών στους

φλοιούς. Σε ορισμένες περιπτώσεις η μείωση πραγματοποιείται σε προωμότερο στάδιο, πριν την αλλαγή του χρώματος, και τότε η συγκέντρωση παραμένει πρακτικά σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια ωρίμανσης (Kennedy, J. A., et al., 2002, Ribereau-Gayon, P., et al., 2006).

Όσον αφορά τις ταννίνες των φλοιών, κατά τον περκασμό η συγκέντρωσή τους έχει φτάσει σε μια πολύ υψηλή τιμή η οποία αντιστοιχεί στο μισό περίπου της συγκέντρωσης κατά την πλήρη ωρίμανση.

Η μεταβολή των ταννινών τέλος, ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία των σταφυλιών. Μερικές ποικιλίες έχουν μια φυσικά χαμηλή συγκέντρωση, ενώ άλλες χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα ταννινών (Ribereau-Gayon, P., et al., 2006).

Η ποικιλία Syrah, θεωρείται ότι έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε ταννίνες.



Εικ. 2.6. Η εξέλιξη των φαινολικών συστατικών (Darne, 1991) – αποτελέσματα εκφρασμένα σε mg/g ξηρού βάρους.

3.

Η άρδευση των αμπελώνων & η επίδραση της στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών

3.1. Η άρδευση των αμπελώνων : ένας καθοριστικός παράγοντας

Μια σειρά παραγόντων φαίνεται να επηρεάζουν τόσο την ωρίμανση όσο και την ποιότητα των σταφυλιών και κατ' επέκταση των παραγόμενων οίνων. Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να διακριθούν σε σταθερούς παράγοντες, των οποίων η επίδραση δεν αλλάζει από τη μια χρονιά στην άλλη και σε μεταβλητούς παράγοντες, που δύναται να παραλλάσσουν.

Από το σύνολο των παραπάνω παραγόντων η ποικιλία, οι καλλιεργητικές τεχνικές καθώς επίσης και οι εδαφοκλιματικές συνθήκες φαίνεται να μπορούν να επηρεάσουν ειδικότερα την συσσώρευση των φαινολικών συστατικών.

Ο ρόλος της **άρδευσης** που μας απασχολεί στην συγκεκριμένη μελέτη φαίνεται να προβληματίζει καθώς το επίδικο δεν είναι η αναμφισβήτητη ανάγκη των πρέμνων σε μια κάποια ποσότητα νερού αλλά το ποια ακριβώς θα είναι η ποσότητα αυτή που συνδυαστικά θα μας δώσει ένα ποιοτικό αποτέλεσμα.

Η σημασία και ο ρόλος του νερού στην ανάπτυξη και τις λειτουργίες των φυτών γενικότερα και κατ' επέκταση της αμπέλου ειδικότερα είναι θέματα τα οποία θα πρέπει να θεωρηθούν γνωστά. Το νερό θεωρείται ένας από τους πλέον βασικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των πρέμνων, αφού είναι το μέσον με το οποίο τα θρεπτικά στοιχεία εισέρχονται δια των ριζών στα φυτικά όργανα. Τα πρέμνα έχουν ανάγκη ορισμένης ποσότητας νερού σε καθορισμένες περιόδους κατά τον ετήσιο κύκλο βλάστησης. Η διαθεσιμότητα του νερού στο πρέμνο επηρεάζει τέλος τη σύσταση της ράγας (Roby, G., et al., 2004).

Το ζήτημα της άρδευσης των αμπελώνων θα πρέπει να προσεγγιστεί εκκινώντας από τις εξής 2 βασικές παραδοχές. Αφενός, την φυσική αναγκαιότητα της απαραίτητης εδαφικής υγρασίας για την ομαλή ανάπτυξη και εκτέλεση των βασικών λειτουργιών των πρέμνων και αφετέρου, της γενικής αρχής ότι η διαθέσιμη εδαφική υγρασία και κατ' επέκταση η άρδευση επιδρά καθοριστικά επ' αυτών με τρόπο τέτοιο ώστε δύναται να καθορίσει τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά το παραγόμενο φορτίο.

Στα παραπάνω θα πρέπει να προστεθεί το γεγονός ότι οι ανάγκες των πρέμνων παραλλάσσονται κατά τη διάρκεια του ετήσιου κύκλου βλάστησης, καθώς επίσης και το γεγονός ότι επηρεάζονται από παράγοντες όπως η καλλιεργούμενη ποικιλία και οι ιδιαίτερες εδαφοκλιματικές συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή, αυτό που οι Γάλλοι αποκαλούν, και χρησιμοποιείται πλέον διεθνώς, *terroir*.

Όσον αφορά ζητήματα φυσιολογίας του φυτού της αμπέλου, έλλειψη ή περίσσεια νερού προκαλεί ανεπιθύμητες καταστάσεις πέραν ενός ορίου, καθιστώντας το ζήτημα της άρδευσης των αμπελώνων κρίσιμο.

Η ανεπάρκεια ύδατος εκδηλώνεται με χαρακτηριστικά συμπτώματα. Κατά την περίοδο από την έναρξη της βλάστησης έως τη καρπόδεση η έλλειψη ύδατος εμφανίζεται με τη μείωση του ρυθμού αύξησης των βλαστών, οι κορυφές των οποίων παίρνουν χρώμα μαυροπράσινο και ξηραίνονται και πέφτουν εάν η απώλεια ύδατος συνεχιστεί (Σταυρακάκης, Μ., 2004). Εάν οι υδατικές συνθήκες αυτές παρουσιαστούν κατά την περίοδο ταχείας αύξησης των ραγών τότε περιορίζεται ο τελικός τους όγκος (Ojeda H. et al., 2001), ενώ κατά την ωρίμανση παρατηρείται ανάπτυξη σκοτεινού χρώματος των ραγών. Αλλά και η περίσσεια ύδατος δημιουργεί πρόβλημα είτε ασφυξίας των ριζών, είτε συνεχούς βλάστησης σε βάρος της καρποφορίας (Σταυρακάκης, Μ., 2004).

Η άρδευση φαίνεται να επιδρά επί του φορτίου των πρέμνων ποσοτικά αλλά και ποιοτικά. Έτσι για παράδειγμα αρδεύσεις πριν την καρπόδεση μπορεί να προκαλέσουν ανθόρροια με αποτέλεσμα την μείωση της ποσότητας του παραγόμενου φορτίου ενώ όσον αφορά τις ποιοτικές μεταβολές μπορούμε να αναφέρουμε ότι ο βαθμός ποτίσματος φαίνεται να επιδρά στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στη ράγα, το γλεύκος και κατ' επέκταση τον παραγόμενο οίνο με τρόπο που θα μας απασχολήσει στην παρούσα μελέτη.

Σε κάθε περίπτωση φαίνεται να ισχύει κι εδώ ο γενικός κανόνας βάσει του οποίου για την εξασφάλιση προϊόντων ποιότητας, δεν θα πρέπει να παραβιάζεται η σχέση φυλλικής επιφάνειας προς καρποφορία, που απαιτείται για την ομαλή θρέψη και κανονική ωρίμανση των σταφυλιών.

Οι ποσότητες νερού που χορηγούνται τελικά στους αμπελώνες είναι ένα σημαντικό ζήτημα προς επίλυση γι αυτό και αποτελεί αντικείμενο πολλών ερευνών και πειραμάτων στα οποία λαμβάνεται υπ' όψιν μια σειρά παραγόντων, που απαιτούν συνδυαστική γνώση.

Ο όρος, Regulated Deficit Irrigation (RDI) - ελεγχόμενη ελλειμματική άρδευση - χρησιμοποιείται συχνά σε μελέτες για να χαρακτηρίσει κάθε στρατηγική άρδευσης η οποία υποβάλει τα φυτά σε έναν κάποιο βαθμό υδατικής καταπόνησης για κάποια /ες χρονικές περιόδους με σκοπό να ελέγξει την αναπαραγωγική και βλαστική ανάπτυξη και/ή να προωθήσει την αποδοτικότερη χρήση του νερού (Santesteban, L. G., et al., 2011).

Όροι, όπως η εξατμισοδιαπνοή¹ (Evapotranspiration) επιστρατεύονται συχνά σε τέτοιες μελέτες για να διαμεσολαβήσουν τις ανταλλαγές ύδατος μεταξύ εδάφους και περιβάλλοντος, διαμέσου (και) των φυτών.

¹ Εξατμισοδιαπνοή, οι συνολικές απώλειες του εδαφικού ύδατος λόγω εξάτμισης και διαπνοής.

Εξατμισοδιαπνοή αναφοράς (ET_a), είναι η εξατμισοδιαπνοή μιας καλλιέργειας η οποία αναπτύσσεται σε συνθήκες επάρκειας νερού, κάτω από ιδανικές συνθήκες.

Εξατμισοδιαπνοή καλλιέργειας (ET_k), είναι η εξατμισοδιαπνοή μιας καλλιέργειας κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες ενός χωραφιού, όπως η πλήρης ή ελλειμματική διαθεσιμότητα εδαφικής υγρασίας, η προσβολή ή όχι από ασθένειες και οι επικρατούσες μετεωρολογικές συνθήκες.

Η Εξατμισοδιαπνοή αναφοράς (ET_a) και η Εξατμισοδιαπνοή καλλιέργειας (ET_k), συνδέονται μεταξύ τους με τον τύπο : $ET_k = ET_a \times K_k$, όπου K_k φυτικός συντελεστής που εμπεριέχει τις επιδράσεις του φυτού και του εδάφους.

Η στρατηγική της ελεγχόμενης ελλειμματικής άρδευσης (RDI), αναφέρεται από πολλούς ερευνητές ως ικανή να προωθήσει τη βελτίωση των χαρακτηριστικών ποιότητας στο τελικό στάδιο της ωρίμανσης δίνοντας ράγες μικρότερου μεγέθους με περισσότερα σάκχαρα και φαινολικά.

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την έλλειψη ύδατος και η σοβαρότητα / σημασία τους, φαίνεται να διαφέρουν και εξαρτώνται τόσο από το στάδιο ανάπτυξης στο οποίο βρίσκονται τα πρέμνα όσο και από τη διάρκεια και την ένταση του υδατικού ελλείμματος (Coombe, B. G. & Dry, P. R., 1992, Ginestar, C. et al., 1998, Ojeda, H. et al., 2001, Deloire, A. et al., 2003).

Κατά τη διάρκεια των δύο τελευταίων δεκαετιών η στρατηγική ελλειμματικής άρδευσης έχει εφαρμοστεί επιτυχώς σε αμπελώνες με σκοπό τη διατήρηση των αμπελιών σε ένα κάποιο βαθμό υδατικού περιορισμού για μια προκαθορισμένη χρονική περίοδο (Santesteban, L. G. et al., 2011). Συνήθως, η περίοδος αυτή τοποθετείται χρονικά αμέσως μετά την καρπόδεση έτσι ώστε να επιτευχθεί μια σχετική ανασχεση της ανάπτυξης της βλάστησης και του μεγέθους των ραγών.

Συνθήκες υδατικού ελλείμματος πριν το στάδιο του περκασμού φαίνεται να ασκούν μεγαλύτερη επίδραση λόγω της ευαισθησίας που παρουσιάζουν τα υπό ανάπτυξη άνθη και σταφυλές ενώ, συγκριτικά, μετά το στάδιο αυτό η επίδραση δεν φαίνεται να είναι το ίδιο σημαντική (Ginestar, C. et al., 1998, Ojeda H. et al., 2001).

Η επανάληψη της άρδευσης μετά το στάδιο του περκασμού αποσκοπεί στην αποφυγή της εμφάνισης υπερβολικής έλλειψης νερού με τα συνεπακόλουθα αποτελέσματα στις φυσιολογικές λειτουργίες της φωτοσύνθεσης των φύλλων κλπ (Intrigliolo, D. S. και Castel, J. R., 2010).

Παρόλα αυτά, τα υδατικά ελλείμματα πριν από το στάδιο του περκασμού συνήθως συσχετίζονται με σημαντικές απώλειες στην απόδοση (Shellie, K. C., 2006).

Σημαντικός περιορισμός της διαθέσιμης ποσότητας νερού μεταξύ άνθισης και καρπόδεσης μπορεί να οδηγήσει στη μείωση του αριθμού των ραγών ανά σταφυλή μέσω της αποκοπής και ξήρανσης των ανθέων (Hardie W. J. και Considine J. A., 1976), ενώ η υδατική καταπόνηση κατά την αρχική περίοδο της αύξησης της ράγας προκαλεί μη αναστρέψιμες αρνητικές συνέπειες στο μέγεθος της ράγας (Ojeda H. et al., 2001).

Επιπρόσθετα, οι Ojeda H. et al. (2001), υποστήριξαν ότι η μείωση του βάρους των ραγών λόγω της μείωσης του διαθέσιμου νερού δεν οφείλεται στην μείωση της κυτταρικής διαίρεσης αλλά στην μείωση του μεγέθους του περικαρπίου, ενώ υπογράμμισαν επίσης ότι η μείωση του όγκου των κυττάρων είναι μη αναστρέψιμη ακόμα και αν τα πρέμνα αρδευτούν στο στάδιο της ωρίμανσης.

3.2. Η επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των ραγών

Η επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των ραγών είναι ένα θέμα οινολογικού ενδιαφέροντος το οποίο έχει μελετηθεί από πολλούς ερευνητές με αποτελέσματα τα οποία άλλοτε συγκλίνουν και συμφωνούν κι άλλοτε όχι.

Σε γενικές γραμμές μπορούμε να πούμε ότι η άρδευση πριν τον τρυγητό φαίνεται να οδηγεί στην αραίωση των διαλυτών συστατικών (σάκχαρα, οξέα, ταννίνες, ανθοκυάνες) και στο σχίσσιμο του φλοιού της ράγας, γι αυτό και συστήνεται να μην εφαρμόζεται υπερβολικό πότισμα πριν τον τρυγητό (Conde, C. et al., 2007).

Πολλοί ερευνητές αναφέρουν ότι η καλλιέργεια των πρέμνων υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική η οποία αποσκοπεί στην βελτίωση της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών (Coombe, B. G. & Dry, P. R., 1992, Wample, R. L. 2000, Van Leeuwen, K. et al., 2003).

Σε πρόσφατη έρευνα (2012) σχετικά με την επίδραση της υδατικής καταπόνησης σε πρέμνα της ποικιλίας Αγιωργίτικο (*Vitis vinifera* L.) στην περιοχή της Νεμέας, η οποία εφαρμόστηκε μετά το στάδιο του περκασμού αποδείχτηκε βάσει των αποτελεσμάτων ότι υπήρξε σημαντική για τις ανθοκυάνες των φλοιών και ειδικά για τις ταννίνες των γιγάρτων χωρίς να αλλοιώνει παραμέτρους που σχετίζονται με την ανάπτυξη των ραγών. Ειδικά για τις ταννίνες των γιγάρτων η επίδραση αυτή φαίνεται να κυριαρχεί επί των αλλαγών των κλιματικών συνθηκών χρόνων (Koundouras, S. et al., 2012). Το συμπέρασμα της παραπάνω έρευνας ήταν ότι για την ποικιλία εκείνη και κάτω από τις δεδομένες εδαφοκλιματικές συνθήκες η στρατηγική της μηδενικής άρδευσης από το στάδιο του περκασμού και μετά φαίνεται να οδηγεί σε βελτίωση του φαινολικού δυναμικού (αύξηση της περιεκτικότητας των ραγών σε ανθοκυάνες, αλλά και αύξηση των ολικών φαινολών - υψηλότερα ποσοστά χρώματος με χαμηλότερη συνεισφορά ταννίνων προερχόμενων από τα γίγαρτα) χωρίς σημαντικές απώλειες στην τελική παραγωγή.

Ο ίδιος ερευνητής σε προηγούμενη μελέτη σημειώνει ότι οι μεταβολές της συγκέντρωσης των ανθοκυανών οφείλονται πιθανότατα στην άμεση επίδραση του υδατικού ελλείμματος στην βιοσύνθεση των ανθοκυανών και είναι μάλλον ανεξάρτητη από την επίδραση της άρδευσης στο βάρος των ραγών (Koundouras, S. et al., 2006)

Σε άλλη σχετική πρόσφατη έρευνα (2009-2011) στην Ισπανία μελετήθηκε η επίδραση 3 διαφορετικών στρατηγικών ελλειμματικής άρδευσης πριν και μετά το στάδιο του περκασμού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η στρατηγική της ήπιας υδατικής καταπόνησης αρχικά και μέτριας υδατικής καταπόνησης πριν και κατά το στάδιο του περκασμού οδήγησε σε βελτίωση των χαρακτήρων ποιότητας των ραγών και κατ' επέκταση και των οίνων, συγκριτικά με την στρατηγική της παρατεταμένης υδατικής καταπόνησης. Η ίδια αυτή στρατηγική από το στάδιο του περκασμού ως την αρχή της ωρίμανσης φάνηκε να σχετίζεται με την αύξηση των ανθοκυανών και την βελτίωση του χρώματος των ραγών (Romero, P. et al., 2013).

Παρόμοια έρευνα (2007-2008) στην Ισπανία πάλι, σε αμπελώνες όπου καλλιεργείται η ποικιλία Aragonez (Syn. Tempranillo, *Vitis vinifera* L.) ανέδειξε για μια ακόμα φορά τα θετικά αποτελέσματα της ελλειμματικής άρδευσης για την ποιότητα των ραγών, συγκριτικά με αυτά των μη αρδευόμενων (ξηρικών) αμπελώνων αυτή τη φορά. Εφαρμόστηκαν 3 διαφορετικές στρατηγικές ελλειμματικής άρδευσης από μηδενική, ως μέτρια και τέλος ήπια υδατική καταπόνηση. Η συγκέντρωση των φαινολικών στις περισσότερες δειγματοληψίες ήταν υψηλότερη στις ράγες των σταφυλών όπου η έλλειψη ύδατος κυμαίνονταν σε επίπεδα που διέφεραν από αυτά των μη αρδευόμενων αμπελιών (Zarrouk, O. et al., 2012).

Σε παλιότερη έρευνα (2000), που διεξήχθη στην Καλιφόρνια των Η.Π.Α., πάνω στην εξέλιξη των φαινολικών των γιγάρτων της ποικιλίας Cabernet Sauvignon, κατά την διάρκεια ωρίμανσης της ράγας, εξετάστηκαν δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν διαφορετικοί βαθμοί άρδευσης. Μελετήθηκαν η ποσότητα και οι χαρακτήρες των εκχυλισμάτων των φλαβαν-3-ολών μονομερών και των προανθοκυανιδίων. Η έρευνα κατέληξε στα εξής συμπεράσματα. Η εκχυλισματικότητα των ολικών πολυφαινολών μειώθηκε με τη ωρίμανση. Οι φλαβαν-3-όλες των γιγάρτων της ποικιλίας Cabernet Sauvignon μειώθηκαν δραστικά κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης ενώ ο ρυθμός της μείωσης αυξήθηκε υπό την επίδραση χαμηλών διαθέσιμων ποσοτήτων νερού. Οι φλαβαν-3-όλες μειώθηκαν ταχύτερα, ενώ οι προανθοκυανιδίνες ακολούθησαν. Η σχετική αναλογία των προκυανιδινών δεν μεταβλήθηκε με την ωρίμανση. Αντιθέτως, σημειώνεται ότι οι ταννίνες των γιγάρτων έδειξαν μια ακαθόριστη συμπεριφορά σε σχέση με τον παράγοντα άρδευση, οπότε δεν μπόρεσε να υπάρξει και κάποια συσχέτιση με την επίδραση της ελλειμματικής άρδευσης (Kennedy J. A., et al., 2000).

4.

Η ποικιλία : Syrah

Η ποικιλία Syrah θεωρείται η κορυφαία ερυθρά ποικιλία των θερμών κλιμάτων, αν και μέχρι το 1960 είχε περιορισμένη διάδοση (περίπου 40.000 στρέμματα στη Γαλλία). Από το 1990 σημειώθηκε σημαντική αύξηση των καλλιεργούμενων εκτάσεων τόσο στη Γαλλία όσο και στις άλλες αμπελουργικές χώρες, όπως στην Αυστραλία, την Αργεντινή, τις Η.Π.Α. (Καλιφόρνια) κ.α.

Στην Ελλάδα καλλιεργούνται σήμερα περί τα 9.500 στρέμματα στα αμπελουργικά διαμερίσματα της Πελοποννήσου, της Στερεάς Ελλάδας, της Θεσσαλίας, της Μακεδονίας, της Θράκης, της Κρήτης και της Δωδεκανήσου.



Εικ. 4.1. Η ποικιλία Syrah

Ως προς τις αμπελογραφικές ιδιότητες θεωρείται ποικιλία πολύ ζωνρή, μέτριας παραγωγικότητας, εξαιτίας και του μικρού έως μέτριου μεγέθους τόσο των ραγών όσο και των σταφυλών. Είναι ποικιλία σχετικά όψιμης εκβλάστησης των λανθανόντων οφθαλμών αλλά μεσοπρώιμης ωρίμανσης.

Ως προς τους αμπελογραφικούς χαρακτήρες αξίζει να σημειώσουμε το μικρό έως μέτριο μέγεθος τόσο της σταφυλής όσο και της ράγας, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, και το λεπτό έως μέτριο πάχος του φλοιού της ράγας, χαρακτήρες οι οποίοι επηρεάζουν την ποσότητα αλλά και την ποιότητα της παραγωγής.

Σε σχέση με τις εδαφοκλιματικές απαιτήσεις, η ποικιλία Syrah παρουσιάζει ευαισθησία τόσο στις υψηλές όσο και στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, στην ξηρασία, τους ανέμους και την γλώρωση σιδήρου που προκαλείται από υψηλά ποσοστά συγκέντρωσης ασβεστίου έδαφος. Προσαρμόζεται άριστα σε εδάφη μικρής

έως μέσης γονιμότητας, χαλικώδη, γρανιτικά, σχιστολιθικά, μέσου βάθους, όχι πολύ υγρά, με καλό αερισμό και καλώς αποστραγγιζόμενα. Αντίθετα, δεν προσαρμόζεται σε ξηρά εδάφη, κυρίως πεδινών περιοχών, όπου για την ομαλή παραγωγή και ωρίμανση του φορτίου είναι απαραίτητη η εφαρμογή άρδευσης.

Συμβιώνει αρμονικά με τα υποκείμενα που χρησιμοποιούνται στην ελληνική αμπελουργία (1103 P, 41 B, SO 4, 140 Ru και 110R), αλλά άριστα αποτελέσματα δίνει με τα υποκείμενα 110 R, 5 BB, 101 – 14, 3309 C, ιδίως με το SO 4, εκτός από τον κλώνο Νο 5, στον οποίο ο εμβολιασμός με τον κλώνο Νο 101 της ποικιλίας Syrah αποτυγχάνει (επέρχεται ξήρανση) ύστερα από παρέλευση 3-4 ετών.

Πρόκειται για πολυδυναμική ερυθρά ποικιλία αμπέλου, η οποία δίνει οίνους υψηλής ποιότητας που χαρακτηρίζονται από έντονο, βαθύ ερυθρό χρώμα, πλούσιο σώμα, μεγάλη περιεκτικότητα σε ταννίνες, έντονα αρώματα, υψηλό αλκοολικό βαθμό και μέτρια οξύτητα.

Αν και η εκβλάστηση των λανθανόντων οφθαλμών είναι σχετικά όψιμη, όπως ειπώθηκε προηγουμένως, εντούτοις η πορεία ωρίμανσης ακολουθεί ταχείς ρυθμούς που επιβάλλουν συνεχή παρακολούθηση ώστε ο τρυγητός να γίνει στον κατάλληλο βαθμό τεχνολογικής ωριμότητας και να αποφευχθεί η υπερωρίμανση. Κατά το τέλος της περιόδου ωρίμανσης, όταν η περιεκτικότητα των ραγών σε σάκχαρα είναι 220g/L περίπου, οι ράγες είναι ευαίσθητες στην αφυδάτωση, με αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα και την ποσότητα της παραγωγής.

Στην Ελλάδα, η περιεκτικότητα του γλεύκους της ποικιλίας σε σάκχαρα κυμαίνεται μεταξύ 210-220 g/L, η οξύτητα του μεταξύ 6,8-7,5 g/L σε τρυγικό οξύ ενώ το pH μεταξύ 3,3-3,5 (Σταυρακάκης, 2010).

Μέρος Β (Πείραμα) : Μέθοδοι και Υλικά

1. Το πείραμα

1.1. Τα δείγματα

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα πάρθηκαν από αμπελώνα 15 ετών του κτήματος Γεροβασιλείου. Πρόκειται για αμπελώνα φυτεμένο με 4166 πρέμνα ανά εκτάριο (1.0 m x 2,4 m), ποικιλίας Syrah (*Vitis vinifera* L.) εμβολιασμένα σε υποκείμενο 1103P.

Το Κτήμα Γεροβασιλείου βρίσκεται στην περιοχή Παπαμόλα στην Επανομή, 25 χλμ περίπου νοτιοανατολικά από την πόλη της Θεσσαλονίκης (40° 45' N, 22° 92' E). Στον αμπελώνα του κτήματος συνολικής έκτασης 560 στρεμμάτων καλλιεργούνται τόσο ελληνικές όσο και διεθνείς ποικιλίες, οι οποίες προορίζονται για οινοποίηση.



Εικ. 1.1. Αμπελώνας / Κτήμα Γεροβασιλείου

Το κλίμα της περιοχής της Επανομής χαρακτηρίζεται μεσογειακό, με ήπιους χειμώνες και θερμά καλοκαίρια που μετριάζονται από τις θαλάσσιες αύρες. Ο αμπελώνας γειτνιάζει στις τρεις πλευρές με τη θάλασσα σε απόσταση τριών περίπου χιλιομέτρων, ενώ από τη δυτική του πλευρά είναι ορατός ο Θερμαϊκός Κόλπος και ο ορεινός όγκος του Ολύμπου με τις ακτές της Πιερίας. Το έδαφος είναι κυρίως αμμώδες με κάποια πηλώδη υποστρώματα και ασβεστολιθικά πετρώματα (44% άμμος, 31% πηλός, 25% άργιλος). Είναι πλούσιο σε θαλασσινά απολιθώματα, καθώς όλη η γύρω λοφώδης έκταση σχηματίστηκε από προσχώσεις της θαλάσσιας περιοχής. (Ιστοσελίδα Κτήματος Γεροβασιλείου, <http://www.gerovassiliou.gr/el/>)

1.2. Σχεδιασμός και στόχος του πειράματος

Στόχος της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της επίδρασης της άρδευσης στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των γιγάρτων της ποικιλίας Syrah ερευνώντας παράλληλα τις ενδεχόμενες διακυμάνσεις στα διάφορα στάδια ωρίμανσης.

Τα φαινολικά συστατικά των σταφυλιών αποτελούν όπως είναι γνωστό, κατά γενική ομολογία, έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που δύνανται να καθορίσουν ποιοτικά τους παραγόμενους οίνους.

Το νερό αποτελεί σημαντικότερο επίσης παράγοντα ο οποίος επιδρά καθοριστικά στο φυτό της αμπέλου και γι αυτό σχετίζεται άμεσα με την παραγωγική κατεύθυνση που θέλουμε να δώσουμε σε έναν αμπελώνα. Κατά γενική ομολογία υψηλά επίπεδα άρδευσης συντελούν σε υψηλά επίπεδα παραγωγής ενώ χαμηλά επίπεδα οδηγούν σε μικρότερη μεν παραγωγή με αναβαθμισμένα όμως ποιοτικά χαρακτηριστικά.

Τα δείγματα που μελετήθηκαν πάρθηκαν σε διαδοχικούς χρόνους, στον τρύγο του 2012.

Στον αμπελώνα εφαρμόστηκαν τρεις (3) διαφορετικές επεμβάσεις όσον αφορά τα επίπεδα άρδευσης – υψηλή (100%), μέτρια (50%) και μηδενική (0%) άρδευση, βάσει των επιπέδων εξατμισοδιαπνοής της καλλιέργειας (ET_c), όπως αυτά υπολογίστηκαν με τη μέθοδο Penmann-Monteith – ενώ οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε τέσσερις (4) διαφορετικούς χρόνους όσον αφορά τα επίπεδα ωρίμανσης – ανά διαστήματα 15 περίπου ημερών – την 196^η, την 211^η, την 225^η και την 236^η μέρα του έτους (Day Of the Year / DOY) αντίστοιχα. Εδώ, η 1^η μέτρηση είναι στο στάδιο του περκασμού ενώ η 4^η είναι στην πλήρη ωρίμανση. Σε κάθε δειγματοληψία πάρθηκαν τρία (3) δείγματα από κάθε επέμβαση. Έτσι, προέκυψαν 36 στο σύνολο δείγματα τα οποία παρατίθενται κωδικοποιημένα στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.1.).

	Δειγματοληψίες			
Επεμβάσεις	1 ^η	2 ^η	3 ^η	4 ^η
FI (Full Irrigation)	FI ₁ (1)	FI ₁ (2)	FI ₁ (3)	FI ₁ (4)
	FI ₂ (1)	FI ₂ (2)	FI ₂ (3)	FI ₂ (4)
	FI ₃ (1)	FI ₃ (2)	FI ₃ (3)	FI ₃ (4)
DI (Demi Irrigation)	DI ₁ (1)	DI ₁ (2)	DI ₁ (3)	DI ₁ (4)
	DI ₂ (1)	DI ₂ (2)	DI ₂ (3)	DI ₂ (4)
	DI ₃ (1)	DI ₃ (2)	DI ₃ (3)	DI ₃ (4)
NI (Non Irrigation)	NI ₁ (1)	NI ₁ (2)	NI ₁ (3)	NI ₁ (4)
	NI ₂ (1)	NI ₂ (2)	NI ₂ (3)	NI ₂ (4)
	NI ₃ (1)	NI ₃ (2)	NI ₃ (3)	NI ₃ (4)

Πίνακας 1.1. Η Κωδικοποίηση των 36 δειγμάτων.

Όπως φαίνεται και στον παραπάνω πίνακα με την ένδειξη FI (Full Irrigation) κωδικοποιούνται τα δείγματα που προέρχονται από τα αμπέλια στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης, με την ένδειξη DI (Demi Irrigation) τα δείγματα που προέρχονται από τα αμπέλια στα οποία εφαρμόστηκαν μέτρια επίπεδα άρδευσης, ενώ με NI (Non Irrigation) τα δείγματα στα οποία δε εφαρμόστηκε άρδευση. Οι δείκτες 1-3 αναφέρονται στις 3 επαναλήψεις, ενώ οι ενδείξεις 1-4 εντός των παρενθέσεων στις αντίστοιχες επεμβάσεις.

Η χορήγηση του νερού έγινε με αυτόματο σύστημα ποτίσματος – στάγδην – με σταλάκτες παροχής 4 L h^{-1} .

Η συνολική ποσότητα που χορηγήθηκε κατά την περίοδο διεξαγωγής του πειράματος ήταν 137 mm στην περίπτωση που εφαρμόστηκαν μέτρια επίπεδα άρδευσης (DI) και 432 mm στην περίπτωση που εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης (NI).

Η μέση θερμοκρασία το έτος αυτό από τον Απρίλιο έως τον Σεπτέμβρη ήταν 22°C , ενώ το συνολικό ύψος των βροχοπτώσεων για την ίδια χρονική περίοδο ήταν 93,2 mm.

Για τον προσδιορισμό της εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών των ραγών και της συνεισφοράς των ταννινών των γιγάρτων, εφαρμόστηκε η μέθοδος Glories (Glories, Y., 1984).

Για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών των γιγάρτων εφαρμόστηκαν οι εξής μέθοδοι :

1. Η μέθοδος Folin-Ciocalteu, για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών.
2. Η μέθοδος Ribereau-Gayon και Stonestreet, για τον προσδιορισμό των ταννινών.
3. Η μέθοδος Harbertson / BSA, για τον προσδιορισμό των ταννινών.
4. Η μέθοδος DPPH, για την μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.
5. Η μέθοδος DMAC, για την εκτίμηση των φλαβονολών και προανθοκυανιδινών.

Οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε κάθε δείγμα έγιναν εις διπλούν.

Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά και παρουσιάζονται παρακάτω στο μέρος Γ'.

2. Οι αναλύσεις

2. 1. Αναλύσεις σε δείγματα ολόκληρων ραγών

2.1.1. Η μέθοδος Y. Glories

Η μέθοδος που περιγράφεται από τον Y. Glories (Glories, Y., 1990) και ακολουθεί παρακάτω αποτελεί δείκτη της πολυφαινολικής ωρίμανσης των σταφυλιών, μέσω του προσδιορισμού του **Δείκτη εκχυλισματικότητας των ανθοκυάνων των ραγών (AE %)** και του **Δείκτη συνεισφοράς των ταννίνων των γιγάρτων (MP %)**. Βασίζεται στην παραδοχή, ότι σε pH1 παρατηρείται πλήρης αποδιοργάνωση των μεμβρανών και επομένως ολική εκχύλιση των ανθοκυανών από τα χυμοτόπια. Παράλληλα σε pH3,6 εκχυλίζεται το ποσοστό των ανθοκυανών που θα εκχυλίζονταν στο εν ζυμώσει γλεύκος υπό φυσιολογικές συνθήκες οινοποίησης.

Σύμφωνα με το πρωτόκολλο εφαρμογής της μεθόδου δείγμα 50 ραγών ζυγίζεται και ομογενοποιείται (24.000 rpm, για 30 sec). Στη συνέχεια σε 2 κωνικές φιάλες προστίθενται 20g από το δείγμα και 20 mL διαλύματος pH1 και pH3,6 αντίστοιχα. Οι φιάλες παραμένουν σε σκοτεινό μέρος για τέσσερις (4) ώρες. Μετά το πέρας των τεσσάρων ωρών γίνεται φυγοκέντρηση για 10 min σε 4000 στροφές.

Από το υπερκείμενο λαμβάνεται 1mL εκχυλίσματος pH3,6 και αραιώνεται σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL. Ανακινείται και γίνεται μέτρηση της απορρόφησης στα 280nm με λάμπα δευτερίου και κυψελίδες χαλαζία πάχους 10mm. Ο μηδενισμός γίνεται με απιονισμένο H₂O (Ribereau-Gayon, 1965). Η παραπάνω μέτρηση αποτελεί τον **Δείκτη φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ)**. Πρόκειται για μια εύκολη και γρήγορη ένδειξη των ολικών φαινολικών συστατικών που βρίσκονται στον οίνο και στο δείγμα μας κατ' επέκταση.

Στη συνέχεια προσδιορίζονται οι ανθοκυάνες με τη μέθοδο αποχρωματισμού με SO₂ στα εκχυλίσματα pH1 και pH3,6.

Δημιουργούνται 2 κύρια διαλύματα. Το κύριο διάλυμα εκχυλίσματος pH1 : με 1mL εκχυλίσματος pH1, 1 mL αλκοολικού διαλύματος HCl 0,1% και 20 mL υδατικού διαλύματος HCl 2% και το κύριο διάλυμα εκχυλίσματος pH3,6 : με 1mL εκχυλίσματος pH3,6 , 1 mL αλκοολικού διαλύματος HCl 0,1% και 20 mL υδατικού διαλύματος HCl 2%.

Από τα κύρια διαλύματα βάζουμε σε δοκιμαστικούς σωλήνες – 4 για κάθε διάλυμα εκχυλίσματος : 5 mL από το κύριο διάλυμα εκχυλίσματος και 2mL H₂O στους 2 σωλήνες και 2 mL διαλύματος Na₂SO₃ 15% στους άλλους 2 σωλήνες, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2.1.).

Οι δοκιμαστικοί σωλήνες κλείνονται με parafilm (vortex).

Μετά από 20 min γίνεται vortex και μετρώνται οι απορροφήσεις όλων των δειγμάτων στα 520 nm σε κυψελίδες πλαστικές πάχους 10 mm. Ο μηδενισμός γίνεται με απιονισμένο H₂O .

δοκιμαστικός σωλήνας	κύριο διάλυμα εκχυλίσματος pH1	κύριο διάλυμα εκχυλίσματος pH3,6	H ₂ O	διάλυμα Na ₂ SO ₃ 15%
pH1-H ₂ O (x2)	5 mL	-	2 mL	-
pH1- SO ₂ (x2)	5 mL	-	-	2 mL
pH3,6-H ₂ O (x2)	-	5 mL	2 mL	-
pH3,6- SO ₂ (x2)	-	5 mL	-	2 mL

Πίνακας 2.1. Παρασκευή δειγμάτων

Η ποσότητα των ανθοκυανών δίνεται από τη σχέση :

$$A_{pH1} \text{ (g /L)} = (OD_2 - OD_1) * 885,3 / 1000$$

$$A_{pH3,6} \text{ (g /L)} = (OD_2 - OD_1) * 885,3 / 1000$$

όπου για κάθε εκχύλισμα **pH1** και **pH3,6** αντίστοιχα

OD₁ = η απορρόφηση του δείγματος στο οποίο προστέθηκε το διάλυμα Na₂SO₃ 15%

OD₂ = η απορρόφηση του δείγματος στο οποίο προστέθηκε το H₂O

Αποτελέσματα:

1. οι ολικές ανθοκυάνες

$$TA = A_{pH1}$$

2. η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών στον οίνον εκφράζεται με τη σχέση

$$AE\% = (A_{pH1} - A_{pH3,6}) * 100 / A_{pH1}$$

3. η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά που εκχυλίζονται

$$MP\% = [(OD_{280} - (A_{pH3,6} * 40 * 0,001)) / OD_{280}] * 100$$

(όπου OD₂₈₀ = A₂₈₀ x 100)

4. συγκέντρωση ταννινών που προέρχονται από τους φλοιούς

$$dpell = A_{pH3,6} * 40 / OD_{280}$$

και συνεισφορά των ταννινών των φλοιών **dpell%** = (dpell / A₂₈₀) * 100

5. συγκέντρωση ταννινών που προέρχονται από τα γιγάρτα

$$dTrep = A_{280} - dpell$$

και συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων **dTrep%** = (dTrep / A₂₈₀) * 100

Ο δείκτης εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών (**AE%**), κυμαίνεται από 70 – 20 ανάλογα με την ποικιλία και το βαθμό ωριμότητας. Όσο χαμηλότερη είναι η τιμή του δείκτη, τόσο πιο εκχυλίσσιμες είναι οι ανθοκυάνες των ραγών και τόσο πιο πολυφαινολικά ώριμες είναι οι ράγες. Ο δείκτης συνεισφοράς των ταννινών των γιγάρτων (**MP%**), κυμαίνεται από 0 – 60, ανάλογα με την ποικιλία, τον αριθμό των γιγάρτων και την ωριμότητα τους. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή αυτού του δείκτη, τόσο μεγαλύτερη είναι και η περιεκτικότητα των γιγάρτων σε ταννίνες και ενδεχομένως τόσο μεγαλύτερη είναι και η αρνητική επίδραση στη στυφή γεύση του οίνου. Κατά την πορεία ωρίμανσης, ο δείκτης MP μειώνεται (Ribereau-Gayon, P. et al., 2006).



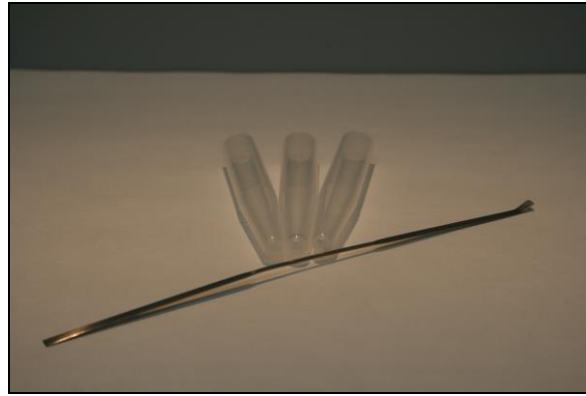
Εικ. 2.1. Δείγμα ραγών



Εικ. 2.2. Ο ομογενοποιητής, Ultra Turex



Εικ. 2.3. Δείγμα μετά την ομογενοποίηση



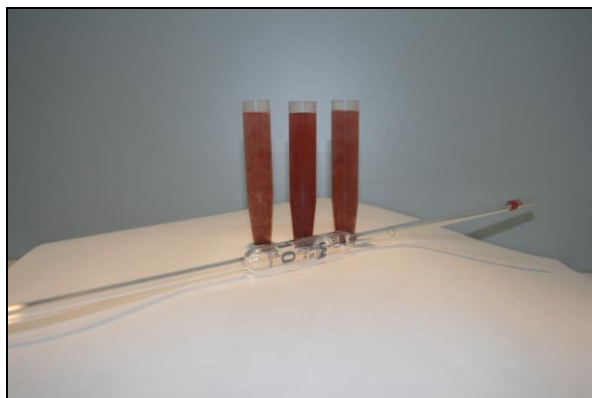
Εικ. 2.4. Υλικά



Εικ. 2.5. Λήψη ποσότητας του δείγματος



Εικ. 2.6. Ζύγισμα σε ζυγό ακριβείας



Εικ. 2.7. Προσθήκη διαλύματος



Εικ. 2.8. Τα δείγματα μετά την προσθήκη του διαλύματος



Εικ. 2.9. Τοποθέτηση αλουμινοχαρτου για προστασία από το φως



Εικ. 2.10. Αναμονή με παράλληλη ανάδευση



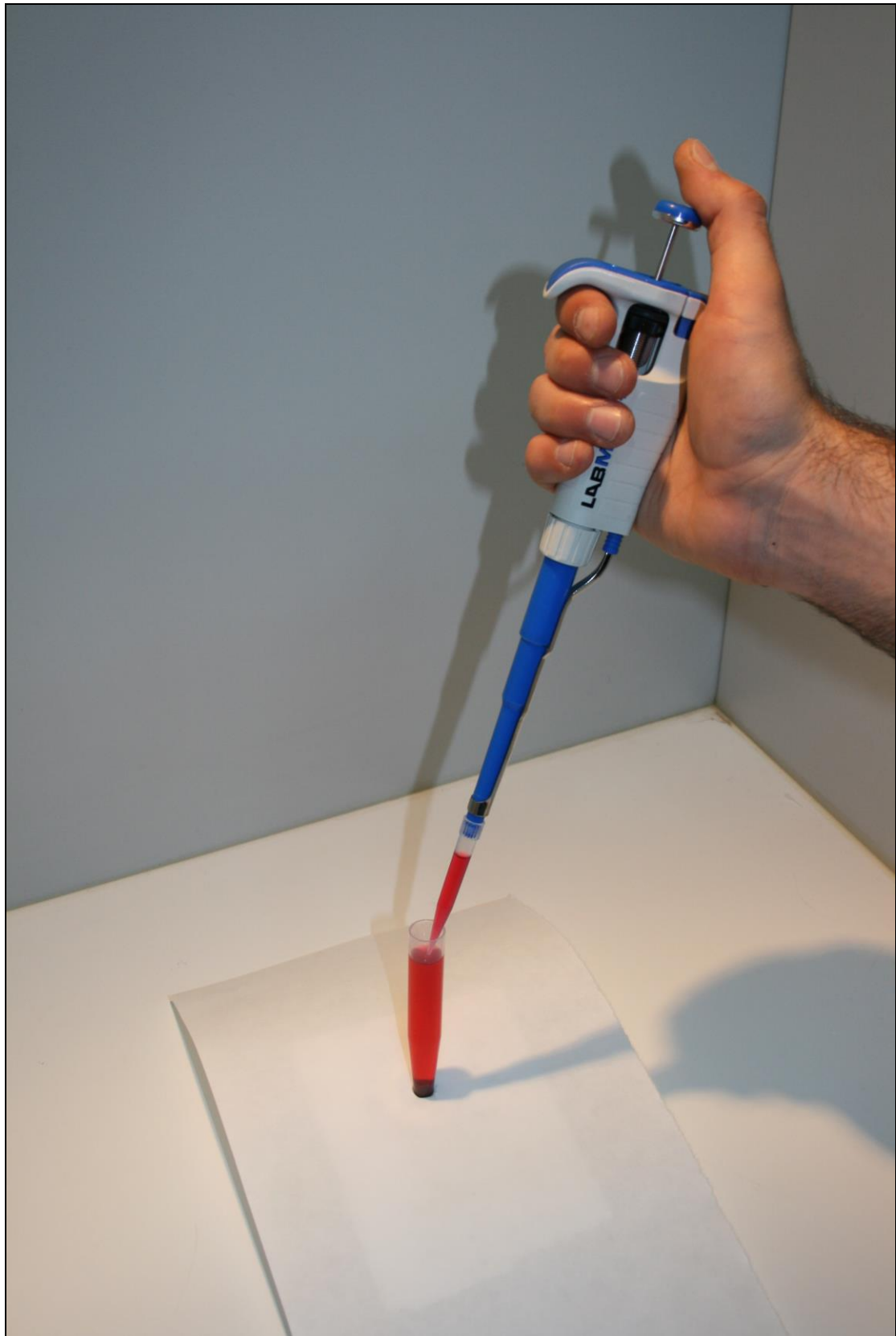
Εικ. 2.11. Η φυγόκεντρος



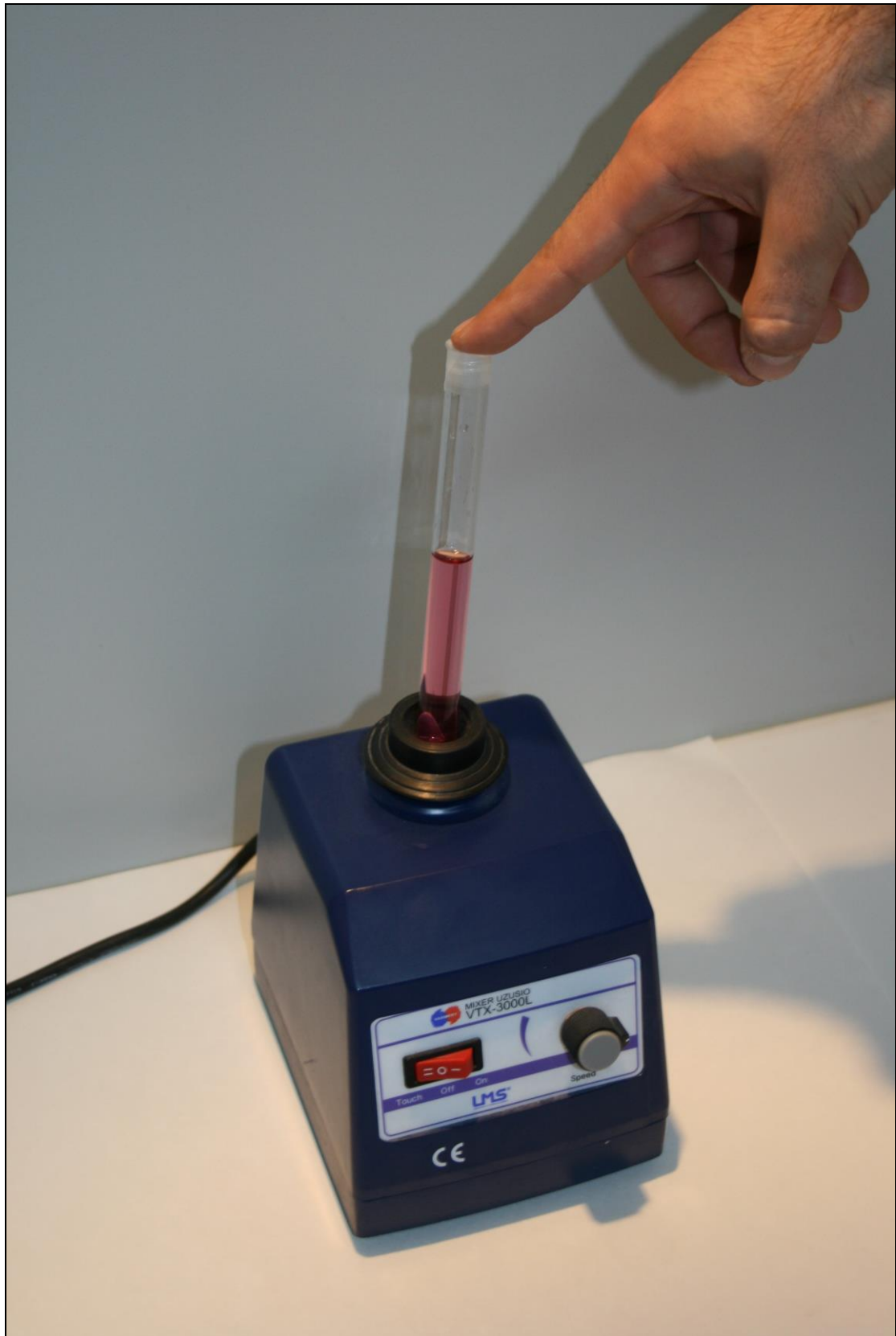
Εικ. 2.12. Τα δείγματα στη φυγόκεντρο



Εικ. 2.13. Το δείγμα μετά τη φυγοκέντρηση



Εικ. 2.14. Λήψη ποσότητας υπερκείμενου μετά τη φυγοκέντρηση



Εικ. 2.15. Ανάδευση με Vortex, πριν τη μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο



Εικ. 2.16. Μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο

2. 2. Αναλύσεις σε εκχυλίσματα γιγάρτων

Από δείγμα 100 ραγών απομονώνονται τα γιγάρτα. Γίνεται λυοφιλίωση γιγάρτων για 24ώρες, στη συνέχεια σπάσιμο με μύλο μέχρι να γίνει σκόνη και ξανά λυοφιλίωση για 24ώρες.

Σε σωλήνα φυγοκέντρου προστίθενται 3g σκόνης γιγάρτων, 25ml 80/20 ακετόνη/νερό (προσθήκη N για να αποφύγουμε την οξείδωση) και παραμένει για 3ώρες σε shaker στις 70rpm στους 25° C. Γίνεται φυγοκέντρωση για 15 λεπτά στις 8000 στροφές στους 20° C. Συλλέγουμε το εκχύλισμα (A).

Στη συνέχεια στην σκόνη των γιγάρτων προσθέτουμε 25 mL του δεύτερου διαλύτη 60/40 μεθανόλη/νερό, με προσθήκη N και παραμένει για 2,5 ώρες σε shaker στις 70rpm στους 25° C. Γίνεται φυγοκέντρωση για 15 λεπτά στις 8000 στροφές στους 20° C. Συλλέγουμε το εκχύλισμα (B)

Τα δύο εκχυλίσματα (A+B) αναμιγνύονται και παίρνουμε 20mL τα οποία τα συμπυκνώνουμε μέχρι να φύγουν οι διαλύτες (έλεγχος μέσω οσμής). 30 λεπτά στους 40° C. Το διάλυμα που προκύπτει μεταγγίζεται σε vial (του οποίου έχουμε μετρήσει το βάρος με το καπάκι) , προστίθεται λίγο H₂O, παραμένει στην κατάψυξη για μια μέρα και λυοφιλιώνεται μέχρι ξηρού για 24ώρες. Μετράμε πάλι το βάρος του vial με το καπάκι για να προσδιορίσουμε το ξηρό βάρος των εκχυλισμάτων.

Από τη σκόνη που προκύπτει δημιουργούνται διαλύματα :

- Σε model solution (90:10, v/v H₂O /αιθανόλη με 5g/L τρυγικό οξύ και διόρθωση σε pH 3,5 με NaOH 1N). Διάλυμα 2,5 g/L σκόνης γιγάρτων (0,02 g σε περιέκτη όπου προστίθενται 8 mL model solution) για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, των ταννινών που δεσμεύονται από πρωτεΐνες με τη μέθοδο BSA, της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH, των ταννινών με βρασμό και της μεθόδου εκτίμησης των φλαβονολών και προανθοκυανιδινών με το αντιδραστήριο DMAC. Τα διαλύματα φυγοκεντρώνονται και διατηρούνται στο ψυγείο.
- Ζυγίζονται επίσης 400 mg σκόνης γιγάρτων (που προέκυψε μετά την εκχύλιση Ακετόνη/Νερό και Μεθανόλη/Νερό) σε vial με καπάκι των 40 mL και θα χρησιμοποιηθούν για τις εκχυλίσεις με χλωροφόρμιο που αναφέρονται στην παράγραφο 2.2.2.

2. 2. 1. Φωτομετρικές μέθοδοι

2.2.1.1. Η μέθοδος Folin-Ciocalteu

Για τον προσδιορισμό των **ολικών φαινολικών συστατικών** των γιγάρτων εφαρμόστηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu (Waterman & Mole, 1994). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην οξείδωση των φαινολών σε αλκαλικό περιβάλλον με μίγμα φωσφοροβολφραμικού και φωσφορομολυβδαινικού οξέος. Την ίδια αντίδραση δίνουν και άλλα συστατικά, όπως τα ανάγοντα σάκχαρα και τα νουκλειικά οξέα, χωρίς να δημιουργείται πρόβλημα όταν η μέθοδος εφαρμόζεται σε δείγματα ξηρών οίνων, όπου η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα είναι της τάξης των 20 mg/L, οπότε η συνεισφορά τους στην τιμή της μέτρησης μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα.

Όπως περιγράφεται στο σχετικό πρωτόκολλο εφαρμογής της μεθόδου, σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL με περίπου 10 mL H₂O τοποθετούνται:

	δείγμα	Folin-Ciocalteu	Na ₂ CO ₃ 20%
εκχύλισμα	25 μL	0,5 mL	1,5 mL
blank	-	0,5 mL	1,5 mL

Πίνακας 2.2. Παρασκευή δειγμάτων

Συμπληρώνουμε με H₂O μέχρι τα 10ml.

Μετά από παραμονή 30 min μετράται η απορρόφηση στα 765nm με πλαστική κυψελίδα πάχους 10 mm και με χρήση λάμπας αλογόνου, μηδενίζουμε με το blank.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών γίνεται μέσω της πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος.

Ολικά φαινολικά : C x αραίωση mg/L γαλλικού οξέος

Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mg γαλλικού οξέος / g ν.β. γιγάρτων.

2.2.1.2. Η μέθοδος Ribereau-Gayon και Stonestreet

Η μέθοδος αυτή (Ribereau-Gayon και Stonestreet, 1965) , που εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό των **ταννίνων**, βασίζεται στην ιδιότητα των ταννινών να μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες με θέρμανση σε όξινο περιβάλλον.

Όπως περιγράφεται στο σχετικό πρωτόκολλο εφαρμογής της μεθόδου, τα δείγματα αραιώνονται 1/50 (100 μL στα 5 mL με H₂O) και φέρονται:

d1 : σε απλό δοκιμαστικό σωλήνα :

2 mL αραιωμένου εκχυλίσματος + 1 mL H₂O + 3 mL πυκνού HCl 37%

d2 : σε γυάλινο σωλήνα εφοδιασμένο με πώμα :

2 mL αραιωμένου εκχυλίσματος + 1 mL H₂O + 3 mL πυκνού HCl 37%

Ο γυάλινος σωλήνας πωματίζεται και παραμένει σε βρασμό για 45 min (100°C).

Αφού ψυχθεί, προστίθεται και στους δύο σωλήνες 500 μL αιθανόλης 95% για τη σταθεροποίηση του χρώματος.

Μετρώνται οι οπτικές πυκνότητες των δύο δειγμάτων στα 550 nm, σε κυψελίδες πλαστικές πάχους 10 mm με λάμπα αλογόνου και μηδενισμός με H_2O . Το ποσό των ταννινών δίνεται από τη σχέση:

$$\text{ταννίνες (g/L)} = (d_2 - d_1) \times 19,35$$

d_1 = απορρόφηση στα 550 nm του δείγματος χωρίς θέρμανση

d_2 = απορρόφηση στα 550 του δείγματος που θερμάνθηκε

Αν βρεθεί $(d_2 - d_1) \leq 0,07$ τότε η σχέση γίνεται : ταννίνες (g/L) = $(d_2 - d_1) \times 20,83$

Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mg / g v.β. γιγάρτων.

2.2.1.3. Η μέθοδος Harbertson / BSA

Η μέθοδος αυτή (Harbertson J. F. et al., 2002), που εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό των **ταννίνων**, βασίζεται στην μέθοδο των Hagerman και Butler (1978) και στηρίζεται στην ταυτόχρονη καθίζηση της BSA (Bovine Serum Albumin) και του ενζύμου αλκαλική φωσφατάση, το οποίο συμμετέχει στην υδρόλυση των φωσφορικών εστέρων. Ο βαθμός της δράσης της αλκαλικής φωσφατάσης φαίνεται να είναι ανάλογος του ποσοστού των ταννινών που περιέχει το εκάστοτε δείγμα. Κατ' επέκταση η συγκέντρωση των ταννινών σε ένα άγνωστο δείγμα μπορεί να προσδιοριστεί έμμεσα μέσω του προσδιορισμού της δράσης της αλκαλικής φωσφατάσης.

Όπως περιγράφεται στο σχετικό πρωτόκολλο εφαρμογής της μεθόδου, τα δείγματα αραιώνονται με model wine 1/5 (1 mL σε 5 mL model wine).

Ακολούθως τοποθετούνται σε erpendorf 500 μL αραιωμένου δείγματος (ή π.χ. 100 μL οίνου και 400 μL model wine - ανάλογα με την αραιώση) με 1 mL πρωτεϊνικού διαλύματος BSA. Γίνεται ήπια ανάδευση για 15min και το δείγμα φυγοκεντρείται για 10 min στις 12000 rpm υπό ψύξη.

Κρατάμε το ίζημα και προσθέτουμε 250 μL μη πρωτεϊνικού διαλύματος (διάλυμα A). Κάνουμε πάλι φυγοκέντρωση για 5 min στις 12000 rpm υπό ψύξη και παίρνουμε το ίζημα.

Στο ίζημα προσθέτουμε 875 μL διαλύματος TEA-SDS και το αφήνουμε σε ηρεμία για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια αναδεύεται σε vortex για να διαλυθεί το ίζημα.

Μετά την ανάδευση σε vortex παραμένει για 10 min και μετράμε την απορρόφηση (A1) στα 510 nm σε κυψελίδα μικρής στένωσης σε φασματοφωτόμετρο με λάμπα αλογόνου. Χρησιμοποιούμε ως blank TEA-SDS. Στη συνέχεια προσθέτουμε 125 μL

διαλύματος FeCl_3 και μετά από 10 min μετράμε ξανά την απορρόφηση (A2) στα 510 nm.

Υπολογισμός αποτελεσμάτων : Υπολογίζουμε τη διαφορά $A = (A_2) - (A_1)$. Από την καμπύλη αναφοράς βρίσκουμε τη συγκέντρωση που αντιστοιχεί στη διαφορά των απορροφήσεων, έστω C1. Η τελική συγκέντρωση ταννινών είναι :

$$C = C1 * (\text{αραίωση}) \text{ mg/L οίνου}$$

Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mg κατεχίνης / g v.β. γιγάρτων.

2.2.1.4. Η μέθοδος DPPH – Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας

Η μέθοδος αυτή που εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών που βρίσκονται στα εκχυλίσματα των γιγάρτων, βασίζεται στην μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Η φωτομετρική αυτή μέθοδος χρησιμοποιεί την 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl ελεύθερη ρίζα (DPPH), η οποία έχει χαρακτηριστικό φάσμα UV-vis με μέγιστη απορρόφηση στα 515 nm σε μεθανόλη. Η προσθήκη συστατικού που δρά ως αντιοξειδωτικό έχει ως αποτέλεσμα την μείωση στην απορρόφηση, η οποία είναι ανάλογη με την συγκέντρωση και την αντιοξειδωτική ικανότητα της αντιοξειδωτικής ουσίας που προστίθεται (Brand-Williams et al 1995, Villano et al 2007). Η μέθοδος αυτή έχει το πλεονέκτημα της χρήσης μιας ελεύθερης ρίζας, που είναι σταθερή και εμπορικά διαθέσιμη, ευρέως χρησιμοποιούμενη για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας στον ευρύτερο τομέα των τροφίμων.

Όπως περιγράφεται στο σχετικό πρωτόκολλο εφαρμογής της μεθόδου, σε erpendorf προστίθενται 25 μL αραιωμένου δείγματος (1/10) και 975 μL μητρικού διαλύματος DPPH.

Μετά την ανάδευση σε vortex για 30 δευτερόλεπτα μετράται η απορρόφηση σε μήκος κύματος 515 nm ($t=0$) σε κυβελίδες με στένωση και λάμπα αλογόνου.

Το δείγμα επιστρέφεται στο erpendorf και μετά από 30 λεπτά μετράται η απορρόφηση ξανά ($t=30$). Το φωτόμετρο μηδενίζεται με απιονισμένο H_2O .

Από τις δύο απορροφήσεις υπολογίζεται η % διαφορά στην απορρόφηση

$$\% \Delta A (515) = [A(0) - A(30)] / A(0) \times 100$$

και μέσω της καμπύλης εκφράζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα σε mM trolox.

Έστω C η τιμή από την καμπύλη αναφοράς, τότε

$$\text{αντιοξειδωτική ικανότητα δείγματος : } C * \text{αραίωση mM trolox}$$

Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mM trolox / g v.β. γιγάρτων.

2.2.1.5. Η μέθοδος DMAC

Η μέθοδος DMAC (4-Dimethylaminocinnamaldehyde Assay) θεωρείται μια νέα και ακριβής μέθοδος προσδιορισμού του ποσοστού των φλαβονολών και των προανθοκυανιδών που βρίσκονται σε οίνους και άλλες φυτικές τροφές.

Οι φλαβανόλες και τα πολυμερή παράγωγά τους, οι προανθοκυανιδίνες (συμπυκνωμένες ταννίνες) αποτελούν μια ομάδα πολυφαινολών που προσδίδουν πικρότητα και στυπτικότητα σε οίνους και άλλες κατηγορίες τροφών (Peleg and others, 1999). Εξαιτίας της ευρείας διαφορετικότητας και πολυπλοκότητας της στερεοχημίας τους και λόγω του πολυμερισμού των προανθοκυανιδών, η απομόνωση, ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση τους είναι ιδιαίτερα δύσκολη και πολλές φορές ανακριβής.

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στο αντιδραστήριο DMAC το οποίο επιλέγει την θέση C8 του δακτυλίου A και αντιδρά μόνο με την τερματική μονάδα της προανθοκυανιδίνης (Ozmanski and Bourzeix, 1996). Επιπρόσθετα το αντιδραστήριο DMAC παρουσιάζει ένα μέγιστο απορρόφησης στα 640 nm που βρίσκεται εκτός του φάσματος απορρόφησης των ανθοκυανών, ελαχιστοποιώντας έτσι την πιθανότητα λανθασμένων εκτιμήσεων. Οι Treutter and others (1994) και Pascual – Teresa and others (1998) αναφέρουν ότι η DMAC UV – Vis φωτομετρική μέθοδος είναι πιο ακριβής και επιλεκτική σε σχέση με άλλες φωτομετρικές μεθόδους.

Όπως περιγράφεται στο σχετικό πρωτόκολλο εφαρμογής της μεθόδου, για κάθε δείγμα χρησιμοποιούνται 2 γυάλινοι μικροί δοκιμαστικοί σωλήνες. Στον πρώτο, προστίθενται 40 μ L εκχυλίσματος (αραιωμένου ή μη 1/20 με μεθανόλη), 4,7 mL MeOH και 200 μ L αντιδραστηρίου DMAC. Στον δεύτερο σωλήνα ο οποίος χρησιμεύει ως μάρτυρας (blank) προστίθενται 40 μ L εκχυλίσματος (αραιωμένου 1/20) και 4,9 mL MeOH. Γίνεται ανάδευση με vortex και οι σωλήνες παραμένουν σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min ακριβώς. Στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση των δειγμάτων στα 640 nm, με λάμπα αλογόνου και πλαστικές κυψελίδες. Μηδενισμός γίνεται με μεθανόλη.

Η διαδικασία παρατίθενται συνολικά στον παρακάτω πίνακα.

DMAC					
είδος δείγματος	όγκος δείγματος	MeOH	δ/μα DMAC	παραμονή για 15min	Abs640 nm λάμπα αλογόνου πλαστικές κυψελίδες
treatment	40 μ L	4,7 mL	200 μ L		
blank	40 μ L	4,9 mL	0		

Πίνακας 2.3. Παρασκευή δειγμάτων

Υπολογίζεται η διαφορά των απορροφήσεων στα 640nm :

$$A^{640} = A_c - A_t$$

και στη συνέχεια μετατρέπεται σε mg/L κατεχίνης μέσω της καμπύλης αναφοράς ($C_{\text{φλαβDMAC}}$)

Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mg κατεχίνης / g v.β. γιγάρτων.

2. 2. 2. Προσδιορισμός ολιγομερών και πολυμερών ταννινών στα γίγαρτα των ραγών με ανάλυση HPLC

Ζυγίζονται 400 mg σκόνης γιγάρτων (που προέκυψε μετά την εκχύλιση Ακετόνη/Νερό και Μεθανόλη/Νερό, όπως αναφέρεται στην παράγραφο 2.2.) σε vial με καπάκι των 40 mL και προσθέτουμε 10 mL 5% αιθανόλη σε νερό και το δείγμα αναδεύεται σε vortex.

Γίνονται διαδοχικές εκχυλίσεις :

1. Η πρώτη με χλωροφόρμιο (η διαδικασία επαναλαμβάνεται 3 φορές).

Προστίθενται 10 mL χλωροφόρμιο και αφού αναδευθεί σε vortex για 1min φυγοκεντρείται, στις 4000 rpm για 10min.

Μετά την φυγοκέντριση λαμβάνεται το υπερκείμενο διάλυμα (η πρώτη από 2 διακριτές φάσεις του διαλύματος) στο ίδιο vial και το χλωροφόρμιο το πετάμε.

Η προσθήκη του χλωροφορμίου πραγματοποιείται για την απομάκρυνση του λιπόφιλου μέρους του δείγματος.

Επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία στο vial άλλες 2 φορές.

Κρατάμε το υπερκείμενο μετά την τελευταία εκχύλιση.

2. Στο υπερκείμενο που κρατήσαμε γίνεται εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα (η διαδικασία επαναλαμβάνεται πάλι 3 φορές).

Προστίθενται 10 mL οξικός αιθυλεστέρας και αφού αναδευθεί σε vortex για 1 min τοποθετείται το μίγμα σε δοκιμαστικούς σωλήνες έως ότου διαχωρισθούν οι δύο φάσεις (οργανική φάση και υδατική φάση). Λαμβάνεται η υπερκείμενη οργανική φάση σε vial και στην εναπομείναν επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία 2 φορές.

Η χρήση του οξικού αιθυλεστέρα γίνεται για την λήψη μικρού μοριακού βάρους προανθοκυανιδών (ολιγομερών ταννινών) στην οργανική φάση. Η οργανική φάση περιέχει κυρίως ολιγομερή ενώ η υδατική φάση περιέχει πολυμερή.

Συγκεντρώνουμε τις φάσεις του οξικού αιθυλεστέρα (3 x 10 mL) (ανώτερη φάση) σε ένα vial και την υπερκείμενη μετά την τελευταία εκχύλιση σε ένα άλλο. (πρέπει και τα δύο να είναι ζυγισμένα).

Τα 30 mL του οξικού αιθυλεστέρα τα συμπυκνώνουμε με Rotary evaporator αφού προσθέσουμε 1-2 mL νερού και το vial τοποθετείται στην κατάψυξη.

Η υδατική φάση τοποθετείται κατευθείαν στην κατάψυξη.

Τα δείγματα λυοφιλιώνονται επί 2 ημέρες.

Στη σκόνη που προκύπτει από την λυοφιλίωση δημιουργούνται διαλύματα γιγάρτων: 5 g/L σε μεθανόλη (0,005 g σε eppendorf και 1 mL μεθανόλη)

Τα δείγματα γιγάρτων αραιώνονται 1/10 με MeOH και στην συνέχεια αναλύονται με HPLC με όγκο δείγματος 20 μ L, αφού φιλτραριστούν με φίλτρο 0,2 μ m.

Το πρόγραμμα έκλουσης που ακολουθείται καθώς και οι διαλύτες

Ο εξοπλισμός της HPLC αποτελείται από έναν αυτόματο δειγματολήπτη Jasco AS-1555 Intelligent Sampler, αντλία Jasco PU 2089 Plus Quaternary Gradient Pump, ανιχνευτή Jasco MD-910 Multiwavelength Detector, αντάπτορα Jasco LC-Net II / ADC, το Software του υπολογιστή Jasco ChromPass Chromatography Data System Version 1.7.403.1 και στήλη Nova - Pak, C-18, διαστάσεων 3,9 X 150mm, 4 μ m.

- Διαλύτης A: 1mL / L perchloric acid (υπερχλωρικό οξύ) σε HPLC H₂O
- Διαλύτης B: MeOH (μεθανόλη) για HPLC
- Οι πρότυπες καμπύλες κατασκευάστηκαν με την χρήση πρότυπων ουσιών (κατεχίνης, επικατεχίνης, επιγαλλοκατεχίνης, επικατεχίνης του γαλλικού εστέρα, επιγαλλοκατεχίνης του γαλλικού εστέρα, B1, B2, C1, γαλλικού οξέος), σε γνωστές συγκεντρώσεις. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg ουσίας / g νωπού βάρους γιγάρτων.
- Η ανάλυση εκτελέστηκε με όγκο δείγματος 20 μ L, στα 280 nm και με το ακόλουθο πρόγραμμα έκλουσης:

Time	A	B
0	100	0
5	90	10
15	87,5	12,5
25	82,5	17,5
45	75	25
60	40	60
70	0	100
80	0	100
85	100	0

- Η ταυτοποίηση των φαινολικών βασίζεται στην σύγκριση των τιμών κατακράτησης των κορυφών που προσδιορίστηκαν με τις κορυφές των πρότυπων ουσιών στα 280nm. Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε μέσω των πρότυπων καμπυλών αναφοράς.

2. 2. 3. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

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

Μέρος Γ : Αποτελέσματα

1. Αποτελέσματα / Συζήτηση

1.1. Αποτελέσματα αναλύσεων στις ράγες των σταφυλών

Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις στις ράγες των σταφυλών παρατίθενται παρακάτω έτσι όπως προέκυψαν μετά από τη στατιστική επεξεργασία.

DOY	FI			DI			NI		
Μέσο βάρος ράγας (g)		Std Error			Std Error			Std Error	
196 ⁿ	1,53	0,21	a	1,23	0,06	a	1,04	0,06	b
211 ⁿ	1,53	0,01	a	1,43	0,06	a	1,15	0,05	b
225 ⁿ	1,61	0,05	a	1,51	0,02	a	1,19	0,02	b
236 ⁿ	1,46	0,04	a	1,30	0,03	a	1,09	0,05	b
DOY	FI			DI			NI		
% γίγαρτα /ράγα		Std Error			Std Error			Std Error	
196 ⁿ	5,64	0,08	b	5,97	0,24	a,b	6,48	0,13	a
211 ⁿ	4,83	0,07	a,b	4,41	0,16	b	5,67	0,31	a
225 ⁿ	4,19	0,14	a	4,56	0,12	a	5,08	0,48	a
236 ⁿ	4,45	0,10	b	4,38	0,29	b	5,35	0,16	a
DOY	FI			DI			NI		
% φλοιοί / ράγα		Std Error			Std Error			Std Error	
196 ⁿ	8,85	0,47	b	9,72	0,66	a	10,13	1,09	a
211 ⁿ	12,29	0,58	a	11,41	0,31	a	12,14	0,34	a
225 ⁿ	11,40	0,73	a	11,23	0,81	a	10,25	1,40	a
236 ⁿ	9,59	1,80	b	14,13	1,48	a	15,07	1,48	a
DOY	FI			DI			NI		
% φλοιοί / σάρκα		Std Error			Std Error			Std Error	
196 ⁿ	10,38	1,17	a	11,61	1,15	a	12,28	1,78	a
211 ⁿ	14,84	0,78	a	13,55	0,44	a	14,78	0,53	a
225 ⁿ	13,53	0,98	a	13,36	1,10	a	12,14	1,79	a
236 ⁿ	11,26	1,39	b	17,41	1,08	a	19,03	1,21	a

Πίνακας 1.1. Αποτελέσματα μετρήσεων μετά από στατιστική επεξεργασία.

1.1.1. Μεταβολή του βάρους των ραγών

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 1.1.), όπου συγκεντρώνονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων μετά από στατιστική επεξεργασία, το μέσο βάρος της ράγας (g) όπως άλλωστε ήταν αναμενόμενο παρουσιάζεται εμφανώς αυξημένο στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης, ακολουθούν τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν μέτρια (D) επίπεδα άρδευσης, χωρίς σημαντική στατιστική διαφορά, ενώ τέλος τα δείγματα στα οποία η άρδευση ήταν μηδενική (N), με σημαντική στατιστική διαφορά συγκριτικά με τις τιμές των αποτελεσμάτων των 2 άλλων επεμβάσεων (F και D).

Κατά την διάρκεια της πορείας ωρίμανσης παρατηρείται, αρχικά, κατά την 1^η και την 2^η μέτρηση (196^η και 211^η μέρα) μια αυξητική τάση, η οποία παρουσιάζει ένα μέγιστο κατά την 225^η μέρα (3^η μέτρηση) και στη συνέχεια μια ελαφρά πτωτική τάση στις τιμές των μέσων βαρών των ραγών, όπως άλλωστε ήταν αναμενόμενο με βάση τις γνώσεις μας από μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα.

1.1.2. Μεταβολή του λόγου γιγάρτα / ράγα

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 1.1.), ο λόγος (%) των γιγάρτων / ράγα, φαίνεται να μειώνεται με την αύξηση των επιπέδων άρδευσης. Ειδικότερα, ανεξάρτητα από την πτωτική τάση που φαίνεται να παρουσιάζει ο λόγος κατά την διάρκεια της πορείας ωρίμανσης στο σύνολο των (3) επεμβάσεων, οι υψηλότερες τιμές εμφανίζονται πάντα στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκε η στρατηγική της μηδενικής άρδευσης (N) ενώ οι χαμηλότερες πάντα στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης. Στις 3 από τις 4 μετρήσεις (1^η, 2^η και 4^η) εμφανίζεται σημαντική στατιστική διαφορά ενώ κατά την 225^η μέρα (3^η μέτρηση) η διαφορά δεν θεωρείται σημαντική στατιστικά.

1.1.3. Μεταβολή του λόγου φλοιοί / ράγα

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 1.1.), ο λόγος (%) των φλοιών / ράγα, εμφανίζεται αρχικά, κατά την 196^η μέρα (1^η μέτρηση), αυξημένος στα δείγματα στα οποία τα επίπεδα άρδευσης που εφαρμόστηκαν ήταν από μηδενικά (N) έως μέτρια (D), χωρίς σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους με τα πρώτα όμως (N) να προηγούνται. Για το διάστημα από την 211^η έως την 225^η μέρα (μεταξύ δηλ. 2^{ης} και 3^{ης} μέτρησης) οι τιμές των αποτελεσμάτων κυμαίνονται στα ίδια περίπου επίπεδα για το σύνολο των (3) επεμβάσεων και δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά. Τέλος, κατά την 236^η μέρα (4^η μέτρηση), ο λόγος εμφανίζεται κατά πολύ αυξημένος στα δείγματα στα οποία τα επίπεδα άρδευσης που εφαρμόστηκαν ήταν από μηδενικά (N) έως μέτρια (D), χωρίς σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους με τα πρώτα όμως (N) να προηγούνται.

1.1.4. Μεταβολή του λόγου φλοιοί /σάρκα

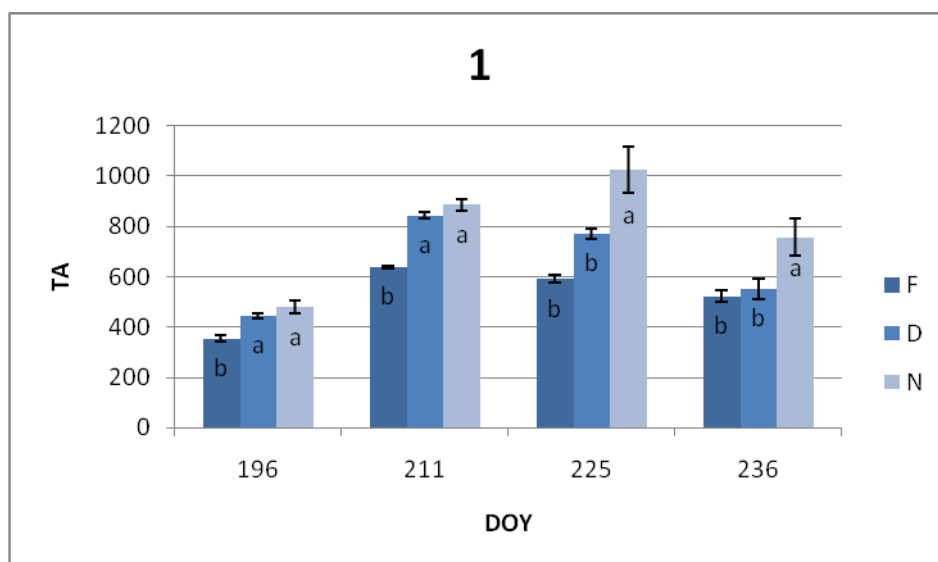
Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 1.1.), ο λόγος (%) φλοιών / σάρκας, εμφανίζεται ιδιαίτερα αυξημένος κατά την 236^η μέρα (4^η μέτρηση) στα δείγματα στα οποία τα επίπεδα άρδευσης που εφαρμόστηκαν ήταν από μηδενικά (N) έως μέτρια (D), χωρίς σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους με τα πρώτα όμως (N) να προηγούνται, ενώ εμφανίζεται αρκετά χαμηλός στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (N) επίπεδα άρδευσης, αναφερόμενοι στην ίδια πάντα μέτρηση. Στο σύνολο των υπολοίπων μετρήσεων (1^η, 2^η και 3^η) τα αποτελέσματα κυμαίνονται στα ίδια περίπου επίπεδα και δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά.

Τα αποτελέσματα που παρατέθηκαν στις παραπάνω παραγράφους φαίνεται να συμφωνούν με τα αποτελέσματα αντίστοιχων ερευνών που έχουν γίνει στο παρελθόν και έχουν δημοσιοποιηθεί, που σημειώνουν μεταξύ άλλων την αύξηση του μεγέθους και του βάρους των ραγών με την αύξηση της άρδευσης (Koundouras S. et al., 2008, Reynolds A. G. et al., 2005, Peyrot des Gachons C. et al., 2005) ή / και τα υψηλότερα σε αναλογία ποσοστά των φλοιών και των γιγάρτων στις ώριμες ράγες - των (μικρότερου μεγέθους) καρπών - στις περιπτώσεις όπου τα επίπεδα της άρδευσης ήταν μειωμένα (Kennedy J. A. et al., 2002, Roby G. et al., 2004).

1.2. Αποτελέσματα αναλύσεων σε ολόκληρες ράγες

Η εφαρμογή της μεθόδου Glories για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών των ραγών, έδωσε τα αποτελέσματα που παρατίθενται στο παράρτημα (Παράρτημα 1.1.). Στα παρακάτω διαγράμματα, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα έτσι όπως διαμορφώθηκαν μετά από τη στατιστική επεξεργασία.

1.2.1. Οι ολικές ανθοκυάνες των ραγών



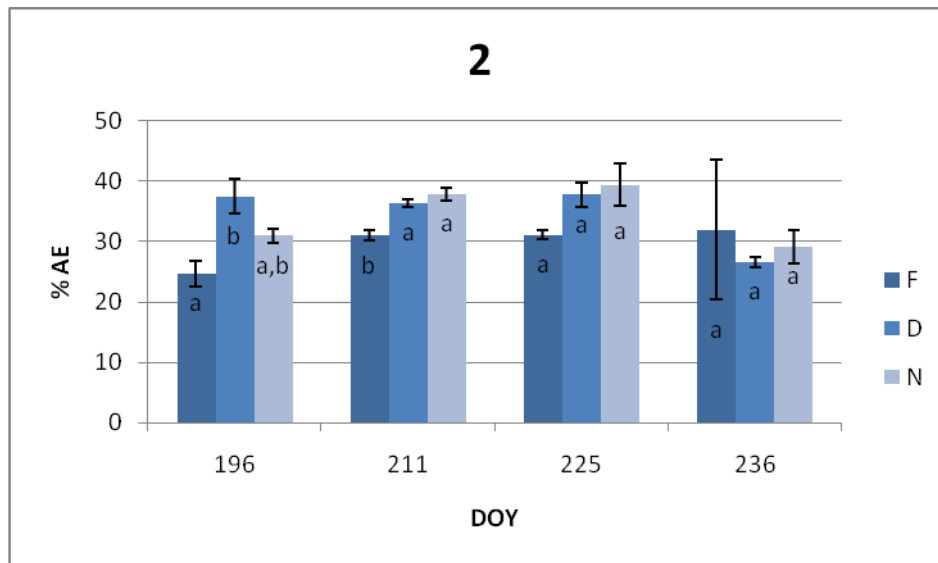
Διάγραμμα 1.2.1. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών των ραγών (mg / L).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Η συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών, όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.2.1.), εμφανίζεται να ακολουθεί την ίδια πρακτικά εξελικτική πορεία, για το σύνολο των 3 επεμβάσεων, η οποία συμφωνεί με τα θεωρητικά δεδομένα που παρουσιάστηκαν στην παράγραφο 2.2. στο Α' μέρος. Η αρχική συγκέντρωση κατά την 196^η μέρα (1^η μέτρηση) παρουσιάζεται αυξημένη την 211^η μέρα (2^η μέτρηση) για να πιάσει μια μέγιστη τιμή μεταξύ 211^{ης} και 225^{ης} μέρας (2^{ης} και 3^{ης} μέτρησης) ενώ στη συνέχεια φαίνεται να ακολουθεί μια ελαφρά πτωτική τάση.

Η εξελικτική αυτή πορεία της συγκέντρωσης των ολικών ανθοκυανών φαίνεται να επηρεάζεται ποσοτικά από τις 3 επεμβάσεις καθώς στο σύνολο των (4) μετρήσεων η συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών εμφανίζεται μεγαλύτερη στα δείγματα στα οποία η άρδευση ήταν μηδενική (N), ακολουθούν αυτά στα οποία εφαρμόστηκαν μέτρια επίπεδα άρδευσης (D) ενώ τέλος η μικρότερη συγκέντρωση είναι αυτή των ραγών των πρέμνων στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης (F). Στα αποτελέσματα των επεμβάσεων της μηδενικής (N) και της μέτριας (D) άρδευσης, στις 2 από τις 4 μετρήσεις (3^η και 4^η) φαίνεται να υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά.

1.2.2. Η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών



Διάγραμμα 1.2.2. Επίδραση της άρδευσης στην εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών, όπως εκφράζεται μέσω του AE%.

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

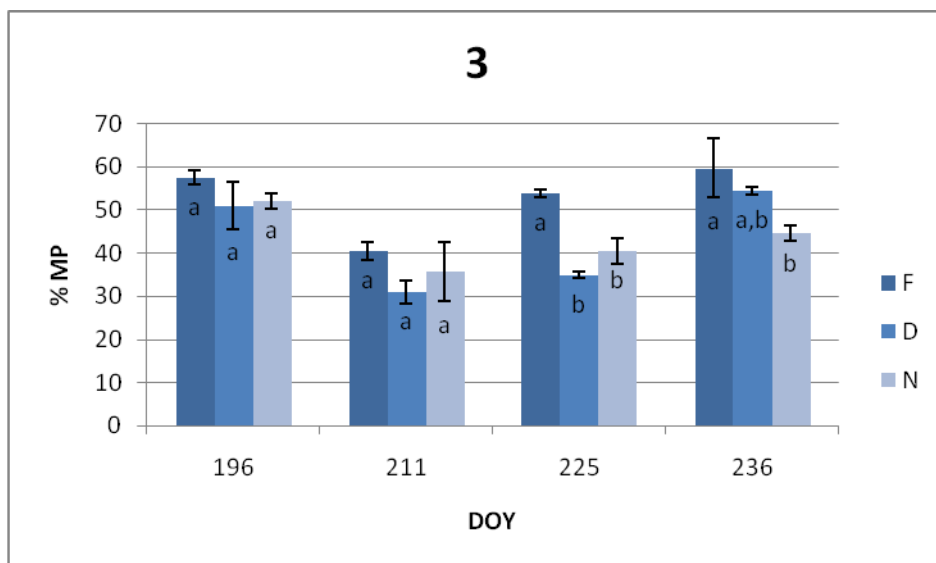
Η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών εκφράζεται, όπως είδαμε, από τον δείκτη εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών (AE%). Όσο χαμηλότερη είναι η τιμή του δείκτη αυτού τόσο πιο εύκολα εκχυλίζονται οι ανθοκυάνες στον οίνο.

Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.2.2.), η μικρότερη τιμή του δείκτη εντοπίζεται την 196^η μέρα (1^η μέτρηση) της επέμβασης στην οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης, με σημαντική στατιστική διαφορά, και η μεγαλύτερη τιμή του δείκτη εντοπίζεται την 225^η μέρα (3^η μέτρηση) της επέμβασης στην οποία η άρδευση ήταν μηδενική (N), ενώ η αμέσως επόμενη μεγαλύτερη τιμή εμφανίζεται κατά την 211^η μέρα (2^η μέτρηση) της ίδιας πάντα επέμβασης (N) και παρουσιάζει επίσης σημαντική στατιστική διαφορά με τα αποτελέσματα της, της επέμβασης όπου η άρδευση ήταν μηδενική.

Συγκριτικά, μεταξύ των 3 επεμβάσεων, παρατηρούμε ότι οι τιμές του δείκτη είναι οι μικρότερες στις 3 από τις 4 μετρήσεις (1^η, 2^η και 3^η) της επέμβασης στην οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης (F) ενώ είναι οι μεγαλύτερες στις 3 από τις 4 μετρήσεις (2^η, 3^η και 4^η) της επέμβασης στην οποία η άρδευση ήταν μηδενική (N).

Συμπερασματικά, βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου αυτής, θα μπορούσαμε συνεπώς να ισχυριστούμε ότι η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών υποβοηθάται από την εφαρμογή μιας στρατηγικής υψηλότερων (F) επιπέδων άρδευσης.

1.2.3. Η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά που εκχυλίζονται



Διάγραμμα 1.2.3. Επίδραση της άρδευσης στην συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά συστατικά που εκχυλίζονται, όπως εκφράζεται μέσω του MP%.

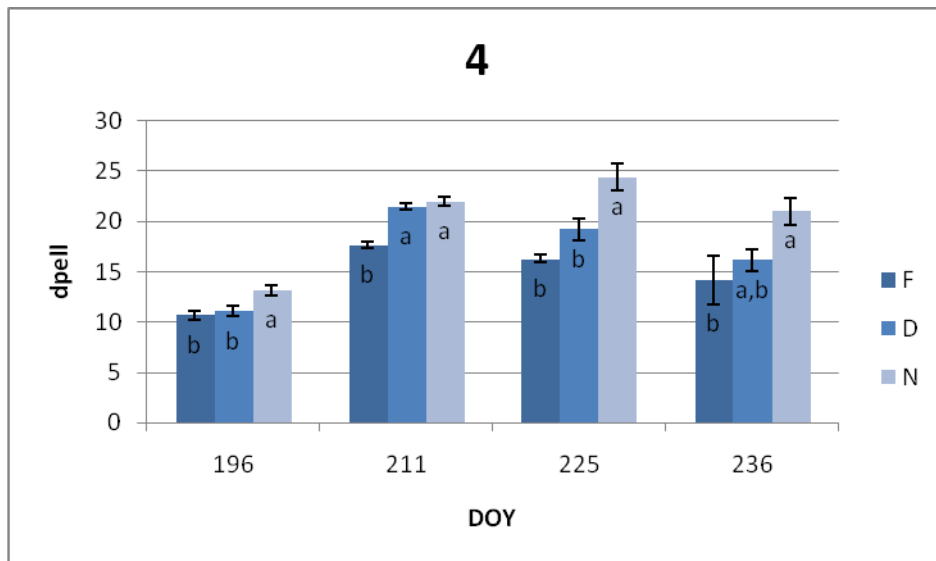
F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά που εκχυλίζονται εκφράζεται, όπως είδαμε, από τον δείκτη συνεισφοράς των ταννινών των γιγάρτων (MP%). Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή αυτού του δείκτη, τόσο μεγαλύτερη είναι και η περιεκτικότητα των γιγάρτων σε ταννίνες.

Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.2.3.), η τιμή του δείκτη εμφανίζεται εμφανώς αυξημένη στο σύνολο των (4) μετρήσεων της επέμβασης στην οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης, ενώ στις 2 από τις 4 επεμβάσεις (3^η και 4^η) φαίνεται να υπάρχει και σημαντική στατιστική διαφορά.

Συμπερασματικά, βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου αυτής, θα μπορούσαμε συνεπώς να ισχυριστούμε ότι η εφαρμογή μιας στρατηγικής υψηλότερων (F) επιπέδων άρδευσης δρα ενισχυτικά ως προς την συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά συστατικά που εκχυλίζονται.

1.2.4. Η συγκέντρωση των ταννινών που προέρχονται από τους φλοιούς



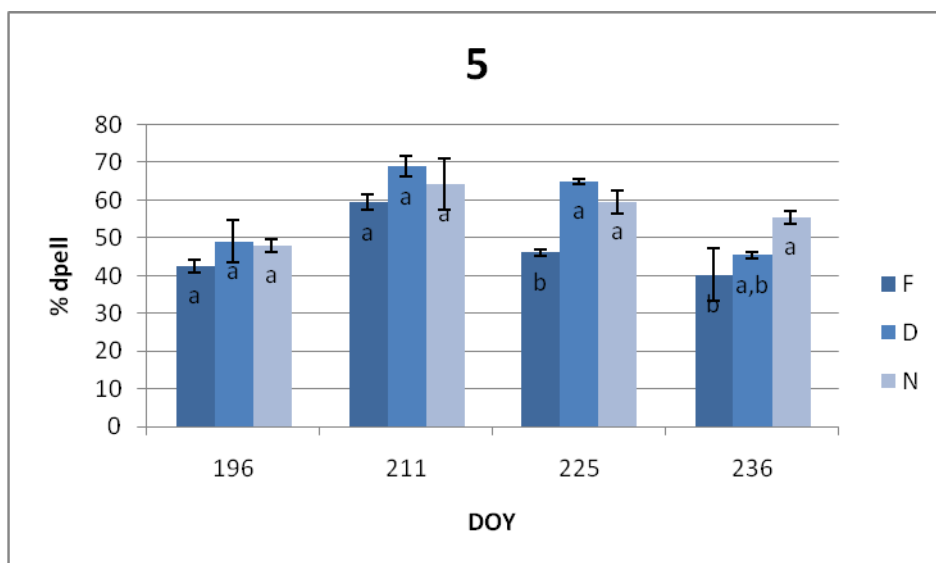
Διάγραμμα 1.2.4. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των ταννινών που προέρχονται από τους φλοιούς (mg / L).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.2.4.), η συγκέντρωση των ταννινών που προέρχονται από τους φλοιούς παρουσιάζεται εμφανώς αυξημένη ποσοτικά στο σύνολο των (4) μετρήσεων στους φλοιούς των ραγών των δειγμάτων που προέρχονται από τα πρέμνα στα οποία εφαρμόστηκε η στρατηγική της μηδενικής (N) άρδευσης, συγκριτικά με τις άλλες 2 επεμβάσεις, ενώ στις 3 από τις 4 επεμβάσεις (1^η, 3^η και 4^η) φαίνεται να υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά με τα αποτελέσματα των 2 άλλων επεμβάσεων τα οποία κυμαίνονται σε μικρότερες τιμές. Τα ακριβώς αντίθετα αποτελέσματα φαίνεται να ισχύουν στο σύνολο των (4) επεμβάσεων για τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης, τα οποία παρουσιάζουν τις μικρότερες και με σημαντική στατιστική διαφορά τιμές, σε κάθε περίπτωση.

Συμπερασματικά, βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου αυτής, θα μπορούσαμε συνεπώς να ισχυριστούμε ότι οι μέγιστες συγκεντρώσεις των ταννινών που προέρχονται από τους φλοιούς επιτυγχάνονται μέσω μιας στρατηγικής μηδενικής (N) άρδευσης.

1.2.5. Η συνεισφορά των ταννινών των φλοιών



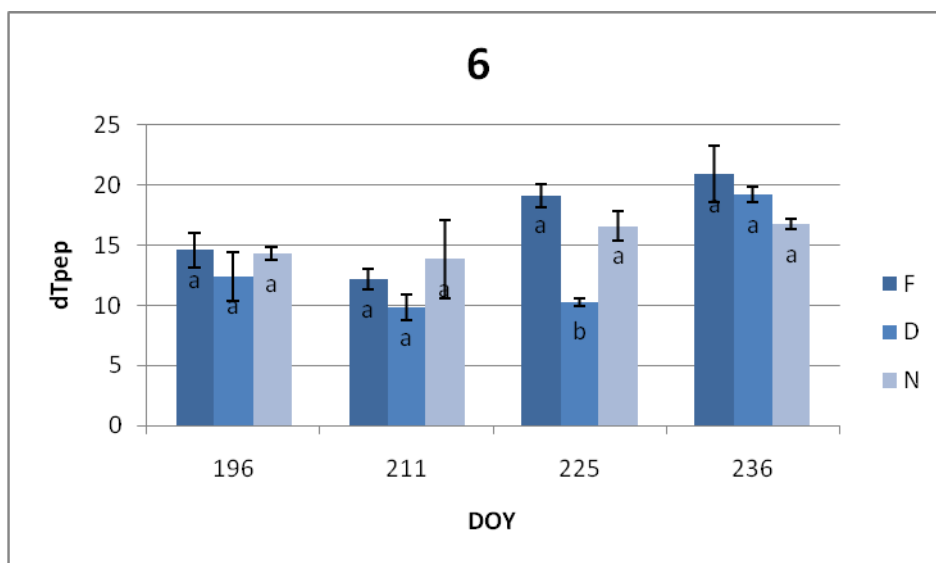
Διάγραμμα 1.2.5. Επίδραση της άρδευσης στη συνεισφορά των ταννινών των φλοιών.

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.2.5.), η συνεισφορά των ταννινών των φλοιών εμφανίζεται ελαφρώς αυξημένη ποσοτικά στις 3 από τις 4 επεμβάσεις (1^η, 2^η και 3^η) στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν μέτρια (D) επίπεδα άρδευσης, χωρίς όμως να υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά με τα αποτελέσματα των 2 άλλων επεμβάσεων για τις 2 από τις 3 μετρήσεις (1^η και 2^η). Σχετικά αυξημένα είναι όμως και τα αποτελέσματα των δειγμάτων στα οποία η άρδευση ήταν μηδενική (N).

Συμπερασματικά, βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου αυτής, θα μπορούσαμε εδώ να ισχυριστούμε ότι η συνεισφορά των ταννινών των φλοιών μεγιστοποιείται μέσω μιας στρατηγικής μέτριων (D) επιπέδων άρδευσης.

1.2.6. Η συγκέντρωση των ταννινών που προέρχονται από τα γίγαρτα



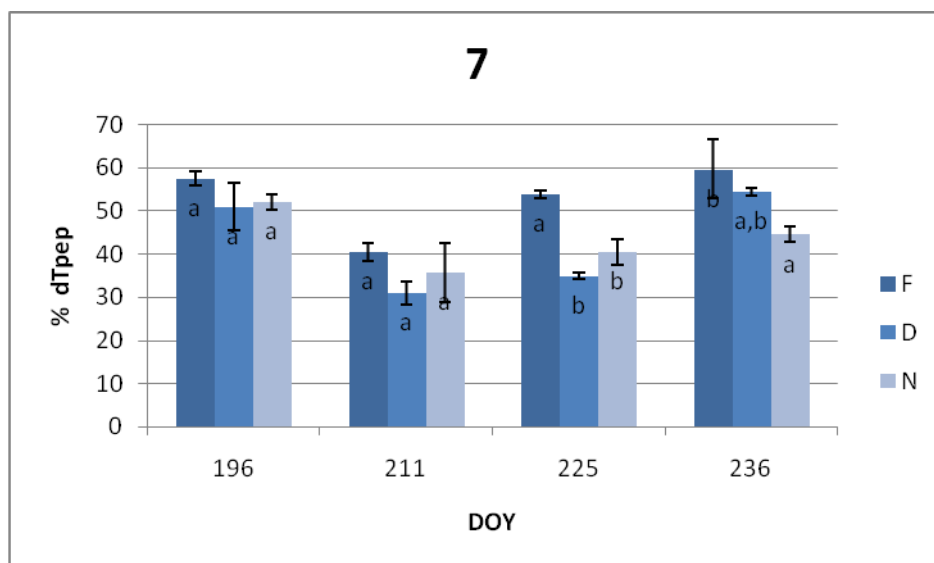
Διάγραμμα 1.2.6. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των ταννινών που προέρχονται από τα γίγαρτα (mg / L).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196:1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.2.6.), η συγκέντρωση των ταννινών που προέρχονται από τα γίγαρτα παρουσιάζεται αυξημένη ποσοτικά στο σύνολο των (4) μετρήσεων, στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης, χωρίς όμως να υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά των αποτελεσμάτων στις 3 από τις 4 επεμβάσεις (1^η, 2^η και 4^η).

Συμπερασματικά, βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου αυτής, θα μπορούσαμε εδώ να ισχυριστούμε ότι οι μέγιστες συγκεντρώσεις των ταννινών που προέρχονται από τα γίγαρτα επιτυγχάνονται μέσω μιας στρατηγικής υψηλών (F) έως μέτριων (D) επιπέδων άρδευσης.

1.2.7. Η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων



Διάγραμμα 1.2.7. Επίδραση της άρδευσης στη συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων.

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.2.7.), η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων παρουσιάζεται αυξημένη ποσοτικά στο σύνολο των (4) μετρήσεων, στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης, ενώ στις 2 από τις 4 επεμβάσεις (3^η και 4^η) φαίνεται να υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά των αποτελεσμάτων της πρώτης (F) με τις άλλες 2 (D και N).

Συμπερασματικά, βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου αυτής, θα μπορούσαμε εδώ να ισχυριστούμε ότι η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων μεγιστοποιείται μέσω μιας στρατηγικής υψηλών (F) επιπέδων άρδευσης.

Τα αποτελέσματα που παρατέθηκαν στις παραπάνω παραγράφους φαίνεται να συμφωνούν σε γενικές γραμμές με τα αποτελέσματα προηγούμενων ερευνών όπου μεταξύ άλλων σημειώνεται ότι η υδατική καταπόνηση, ειδικά πριν από το στάδιο του περκασμού, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των ανθοκυανών των φλοιών, ενώ η επίδραση αυτή φαίνεται να μην σχετίζεται άμεσα με τη μείωση του βάρους των ραγών που προκαλείται από την έλλειψη νερού (Koundouras, S., et al, 2009, Koundouras, S., et al, 2012), ενώ άλλη μελέτη συμπληρώνει σημειώνοντας ότι η υδατική καταπόνηση αμέσως μετά το στάδιο του περκασμού, όταν λαμβάνει χώρα η σύνθεση των περισσοτέρων ανθοκυανών, οδήγησε σε υψηλότερα ποσοστά ανθοκυανών στους φλοιούς κατά την ωρίμανση (Santesteban, L. G., et al., 2011).

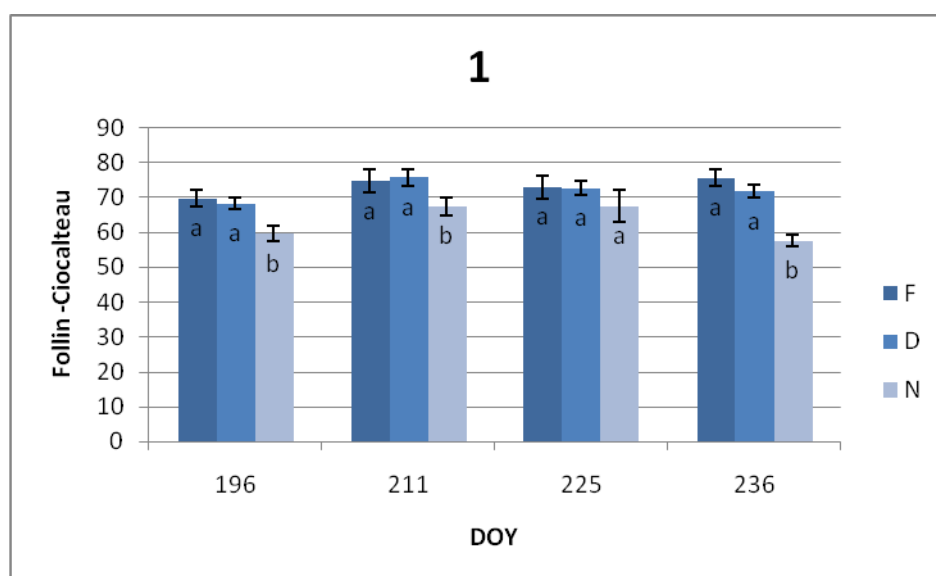
1.3. Αναλύσεις σε εκχυλίσματα γιγάρτων

1.3.1. Φωτομετρικές μέθοδοι

1. Η μέθοδος Folin-Ciocalteu

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών των γιγάρτων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, έγινε χάραξη πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος, αφού τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg / L γαλλικού οξέος. Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mg γαλλικού οξέος / g ν.β. γιγάρτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα (Παράρτημα 1.2.) μετά από την στατιστική επεξεργασία.



Διάγραμμα 1.3.1.1. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών των γιγάρτων (mg γαλλικού οξέος / g ν.β. γιγάρτων) με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

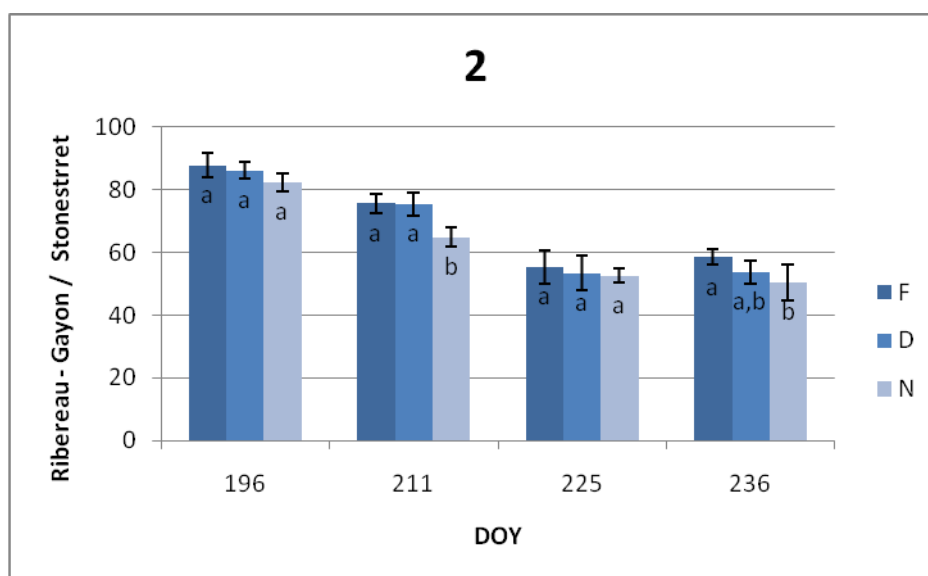
Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών των γιγάρτων, όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.1.1.), παρουσιάζεται αυξημένη ποσοτικά στα δείγματα των 2 εκ των 3 επεμβάσεων και συγκεκριμένα στις επεμβάσεις όπου εφαρμόστηκαν από μέτρια (D) έως υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης συγκριτικά με την συγκέντρωση των δειγμάτων στα οποία η άρδευση ήταν μηδενική (N). Η παρατήρηση αυτή ισχύει για το σύνολο των (4) μετρήσεων. Να σημειωθεί επίσης ότι μεταξύ των 2 πρώτων επεμβάσεων (D και F) δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά στο σύνολο των (4) μετρήσεων. Τέλος, παρότι έχουμε κάποιες μέγιστες τιμές (η D την 221^η, F την 236^η μέρα κ.α.) δεν φαίνεται σε καμία από τις (4) μετρήσεις σημαντική ποσοτική διαφοροποίηση που να επιτρέπει την διεξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την ενδεχόμενη διαφοροποίηση κατά την πορεία ωρίμανσης των ραγών.

Οι παρατηρήσεις αυτές φαίνεται να συμφωνούν με τα θεωρητικά δεδομένα σχετικά με την εξέλιξη την φαινολικών συστατικών, τα οποία σε γενικές γραμμές αυξάνονται κατά την ωρίμανση, όπως αυτά παρουσιάστηκαν στο κεφάλαιο 2.2. του μέρους Α'.

2. Η μέθοδος Ribereau-Gayon / Stonestreet

Στον προσδιορισμό των ολικών ταννινών των γιγάρτων με βρασμό, μέσω της μετατροπής τους σε ανθοκυανιδίνες, με τη μέθοδο Ribereau-Gayon / Stonestreet, τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg / L. Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mg / g v.β. γιγάρτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα (Παράρτημα 1.2.) μετά από την στατιστική επεξεργασία.



Διάγραμμα 1.3.1.2. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των ολικών ταννινών των γιγάρτων (mg / g v.β. γιγάρτων) με τη μέθοδο Ribereau-Gayon και Stonestreet.

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

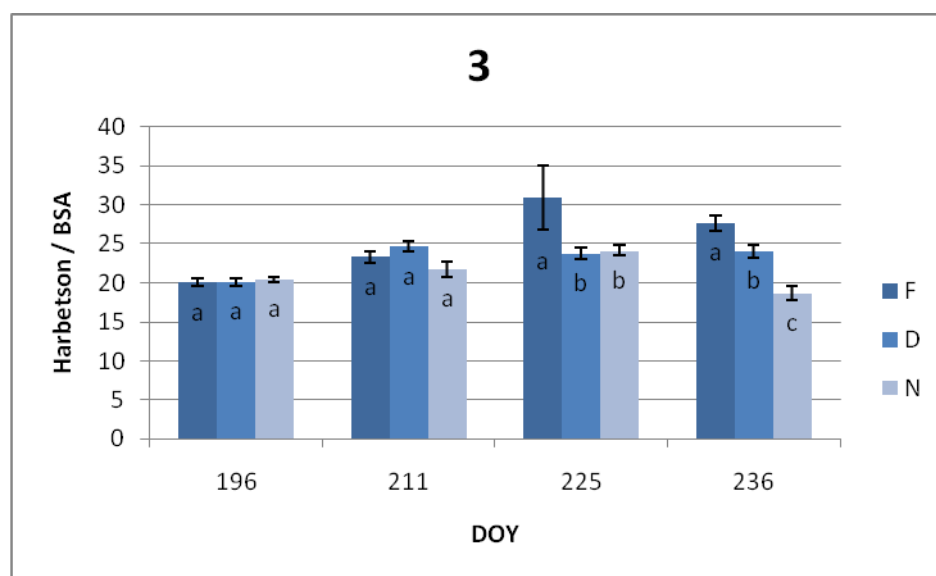
Η συγκέντρωση των ολικών ταννινών των γιγάρτων, όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.1.2.), παρουσιάζεται εμφανώς αυξημένη ποσότητα κατά την 196^η μέρα (1^η μέτρηση) στα δείγματα και των 3 επεμβάσεων, ενώ τα αποτελέσματα δεν διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά, στατιστικά. Στη συνέχεια φαίνεται να εμφανίζουν μια πτωτική τάση (2^η και 3^η μέτρηση) η οποία τείνει να σταθεροποιηθεί σε μια τελική τιμή (4^η μέτρηση), ελαφρώς αυξημένη. Αυτό ισχύει και για τις 3 επεμβάσεις με τη διαφορά ότι στις επεμβάσεις όπου εφαρμόστηκαν από μέτρια (D) έως υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης οι τιμές των αποτελεσμάτων εμφανίζονται ελαφρώς αυξημένες και χωρίς σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους, συγκριτικά με την συγκέντρωση των δειγμάτων στα οποία η άρδευση ήταν μηδενική (N), όπου στο σύνολο των (4) μετρήσεων παρουσιάζουν τις χαμηλότερες τιμές συγκριτικά, είτε υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά, είτε όχι.

Οι παρατηρήσεις αυτές φαίνεται να συμφωνούν με τα θεωρητικά δεδομένα σχετικά με την εξέλιξη των φαινολικών συστατικών όπως αυτά παρουσιάστηκαν στο κεφάλαιο 2.2. του μέρους Α' και ειδικά στην περίπτωση αυτή των ταννινών των γιγάρτων, οι οποίες εμφανίζουν μια μέγιστη συγκέντρωση κατά την περίοδο πριν τον περκασμό ενώ στη συνέχεια επέρχεται μια απότομη μείωση, φθάνοντας μια σχετικά σταθερή τιμή όταν τα γίγαρτα είναι ώριμα.

3. Η μέθοδος Harbertson / BSA

Για τον προσδιορισμό των ταννινών των γιγάρτων με τη μέθοδο Harbertson, έγινε χάραξη πρότυπης καμπύλης κατεχίνης, αφού τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg / L κατεχίνης. Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mg κατεχίνης / g v.β. γιγάρτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα (Παράρτημα 1.2.) μετά από την στατιστική επεξεργασία.



Διάγραμμα 1.3.1.3. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των ταννινών των γιγάρτων (mg κατεχίνης / g v.β. γιγάρτων) με τη μέθοδο Harbertson / BSA.

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

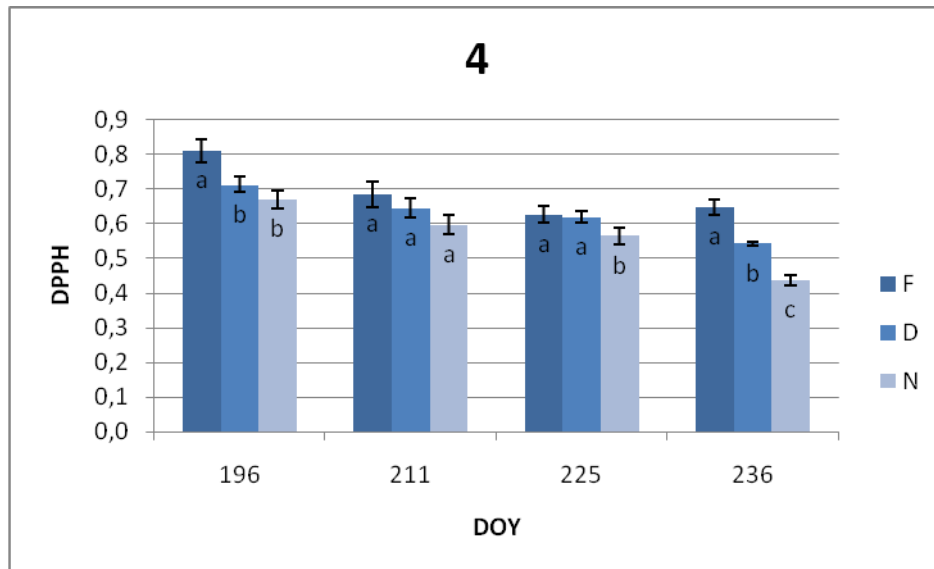
Η συγκέντρωση των ταννινών των γιγάρτων, όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.1.3.), παρουσιάζεται εμφανώς αυξημένη ποσοτικά κατά την 225^η μέρα (3^η μέτρηση) στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης ενώ τα αποτελέσματα των 2 άλλων επεμβάσεων (D και N), για την ίδια πάντα μέτρηση, τα οποία κυμαίνονται μεταξύ τους στα ίδια επίπεδα εμφανίζονται μειωμένα και παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά με τα πρώτα (F). Η αμέσως μεγαλύτερη τιμή είναι αυτή της 236^{ης} μέρας (4^η μέτρηση), πάλι για τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης, ενώ εδώ οι 2 άλλες επεμβάσεις (D και N), παρουσιάζουν μειωμένες τιμές και διαφέρουν στατιστικά σημαντικά τόσο μεταξύ τους όσο και με τα επίπεδα των τιμών της πρώτης (F).

Συμπερασματικά, βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου αυτής, θα μπορούσαμε εδώ να ισχυριστούμε ότι, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις των ταννινών των γιγάρτων εμφανίζονται όταν οι ράγες εισέρχονται τελικά στο στάδιο της ωρίμανσης (225^η μέρα και μετά) σε πρέμνα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης. Ο ισχυρισμός αυτός ενδεχομένως να σχετίζεται με τον ισχυρισμό ότι η συγκέντρωση των ταννινών των γιγάρτων αυξάνεται όταν αυξάνεται το μέγεθος της ράγας και η δόση άρδευσης, τον οποίο διατύπωσαν μετά από σχετική έρευνα οι Roby et al (2004).

4. Η μέθοδος DPPH

Για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών των γιγάρτων, μέσω της μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH, έγινε χάραξη πρότυπης καμπύλης αναφοράς σε trolox, αφού τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mM trolox. Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mM trolox / g v.β. γιγάρτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα (Παράρτημα 1.2.) μετά από την στατιστική επεξεργασία.



Διάγραμμα 1.3.1.4. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών των γιγάρτων (mM trolox / g v.β. γιγάρτων) με τη μέθοδο DPPH.

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

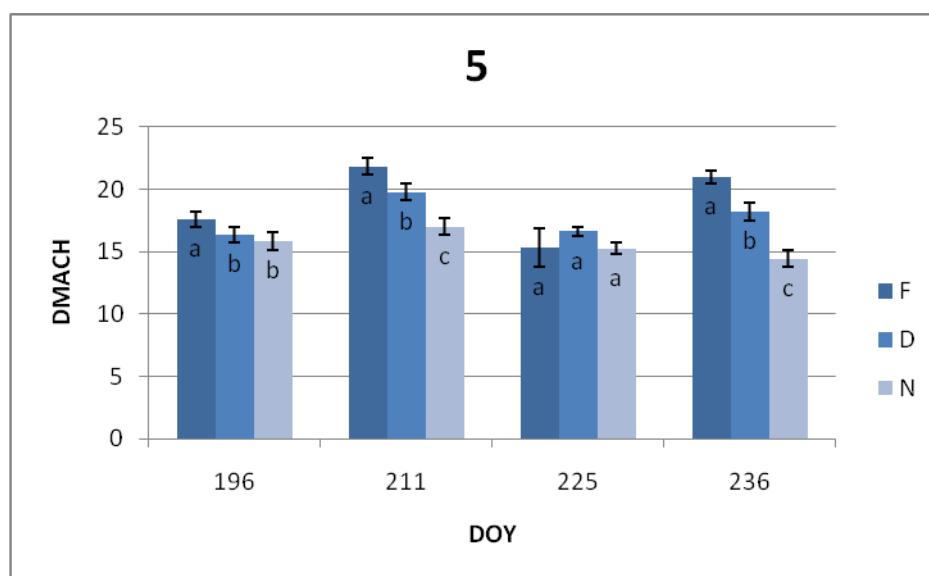
Η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των γιγάρτων, όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.1.4.), παρουσιάζεται εμφανώς αυξημένη ποσοτικά κατά την 196^η μέρα (1^η μέτρηση) στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης ενώ τα αποτελέσματα των 2 άλλων επεμβάσεων (D και N), για την ίδια πάντα μέτρηση, τα οποία κυμαίνονται μεταξύ τους στα ίδια περίπου επίπεδα εμφανίζονται μειωμένα και παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά με τα πρώτα (F). Τα αποτελέσματα των υπόλοιπων 3 μετρήσεων φαίνεται να ακολουθούν μια ελαφρώς πτωτική τάση η οποία τείνει να σταθεροποιηθεί στην τελευταία (4^η) μέτρηση. Στο σύνολο όμως των (4) μετρήσεων παρατηρούμε ότι τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης παρουσιάζουν πάντα τις υψηλότερες τιμές, ακολουθούν τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν μέτρια (D) επίπεδα άρδευσης, ενώ τις χαμηλότερες τιμές εμφανίζουν τα δείγματα στα οποία η άρδευση ήταν μηδενική (N). Στις 2 από τις 4 μετρήσεις υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά.

Συμπερασματικά λοιπόν μπορούμε να ισχυριστούμε ότι, βάσει των αποτελεσμάτων της μεθόδου αυτής, τα υψηλά επίπεδα άρδευσης (F) φαίνεται να αυξάνουν σε γενικές γραμμές τη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών των γιγάρτων.

5. Η μέθοδος DMAC

Για τον προσδιορισμό των φλαβονολών και των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων με τη μέθοδο DMAC, έγινε χάραξη πρότυπης καμπύλης κατεχίνης, αφού τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg / L κατεχίνης. Τα τελικά αποτελέσματα εκφράζονται σε mg κατεχίνης / g ν.β. γιγάρτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα (Παράρτημα 1.2.) μετά από την στατιστική επεξεργασία.



Διάγραμμα 1.3.1.5. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των φλαβονολών και των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων (mg κατεχίνης / g ν.β. γιγάρτων) με τη μέθοδο DMAC.

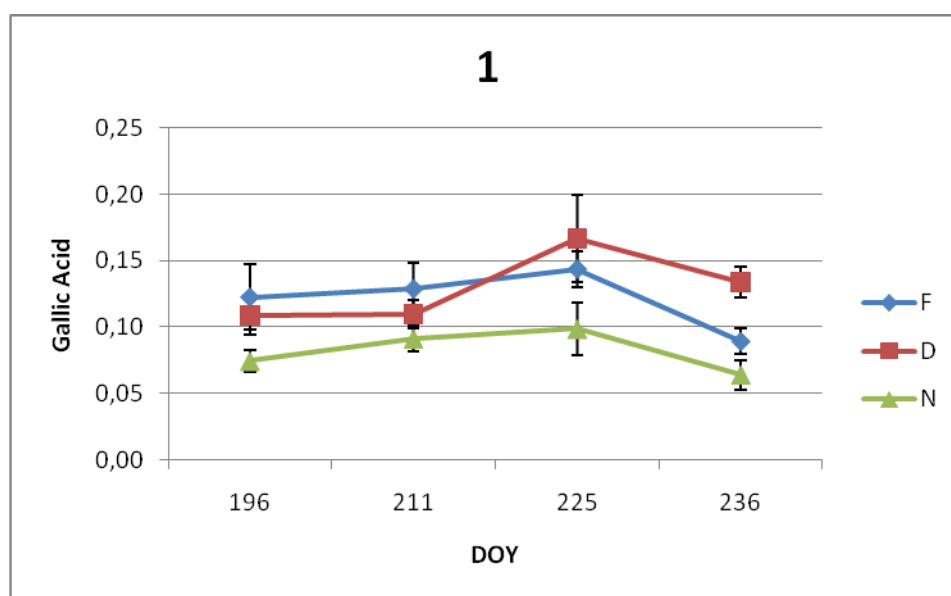
F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Η συγκέντρωση των φλαβονολών και των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων, όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.1.5.), παρουσιάζεται αυξημένη τόσο κατά την 211^η μέρα (2^η μέτρηση), όσο και κατά την 236^η (4^η μέτρηση), πρωτίστως στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης ενώ ακολουθούν τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν μέτρια (D) επίπεδα άρδευσης, με σημαντική όμως στατιστική διαφορά με τα πρώτα (F) σε κάθε περίπτωση. Στο σύνολο των (4) μετρήσεων παρατηρούμε ότι τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά (F) επίπεδα άρδευσης παρουσιάζουν στις 3 από τις 4 μετρήσεις (1^η, 2^η και 4^η) τις υψηλότερες τιμές, ακολουθούν τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν μέτρια (D) επίπεδα άρδευσης, ενώ τις χαμηλότερες τιμές εμφανίζουν σε όλες τις μετρήσεις (4) τα δείγματα στα οποία η άρδευση ήταν μηδενική (N). Στις 3 από τις 4 μετρήσεις που προαναφέρθηκαν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά.

Τα αποτελέσματα που παρατέθηκαν στις παραπάνω παραγράφους φαίνεται να επιβεβαιώνονται από αντίστοιχες μελέτες. Οι Roby et al (2004), βρήκαν ότι η συγκέντρωση των ταννινών των γιγάρτων αυξάνεται όταν αυξάνεται το μέγεθος της ράγας ο αριθμός των γιγάρτων ανά ράγα, η συνολική μάζα των γιγάρτων ανά ράγα και η δόση άρδευσης (Roby et al, 2004).

1.3.2. HPLC

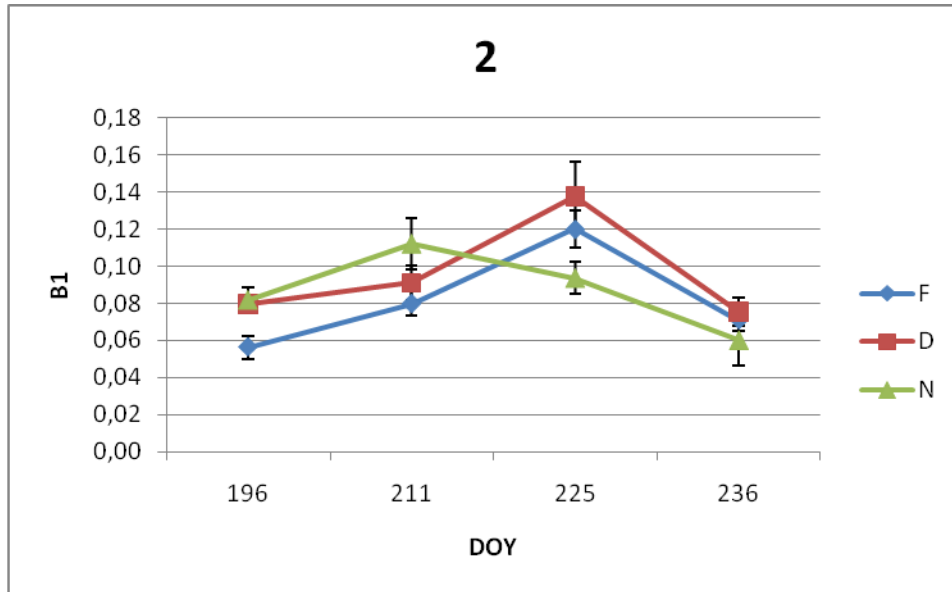
Η εφαρμογή της μεθόδου ανάλυσης HPLC στα εκχυλίσματα των γιγάρτων για τον προσδιορισμό του γαλλικού οξέος (GA), των μονομερών φλαβαν-3-ολών κατεχίνης (C), επικατεχίνης (EC), επιγαλλοκατεχίνης (EGC), επικατεχίνης του γαλλικού εστέρα (ECG), επιγαλλοκατεχίνης του γαλλικού εστέρα (EGCG), των διμερών B1 και B2 και του τριμερούς C1, έδωσε τα αποτελέσματα που παρατίθενται στο παράρτημα (Παράρτημα 1.3.). Στα παρακάτω διαγράμματα, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα έτσι όπως διαμορφώθηκαν μετά από τη στατιστική επεξεργασία. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg /g νωπού βάρους γιγάρτων.



Διάγραμμα 1.3.2.1. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση του Γαλλικού οξέος (mg /g ν.β. γιγάρτων).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

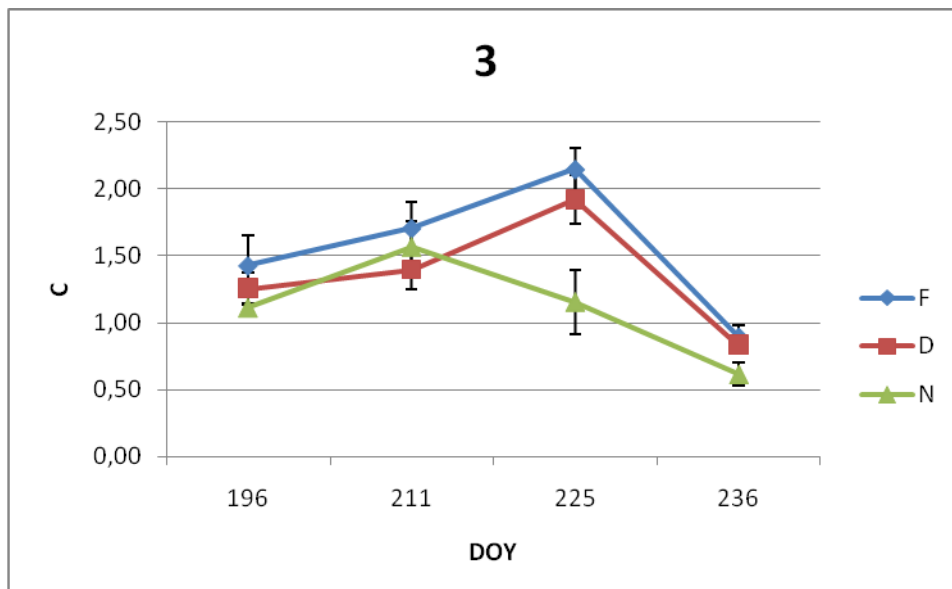
Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.1.) το γαλλικό οξύ παρουσιάζει τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε όλες τις επεμβάσεις την 225^η μέρα (3^η μέτρηση). Ποσοτικά η μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφανίζεται στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκε μέτρια άρδευση και ακολουθεί η επέμβαση στην οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης. Τα αποτελέσματα μεταξύ των 2 αυτών επεμβάσεων δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά, όπως συμβαίνει με την επέμβαση όπου η άρδευση ήταν μηδενική.



Διάγραμμα 1.3.2.2. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση της B1. (mg /g v.β. γιγάρτων).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
 196:1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

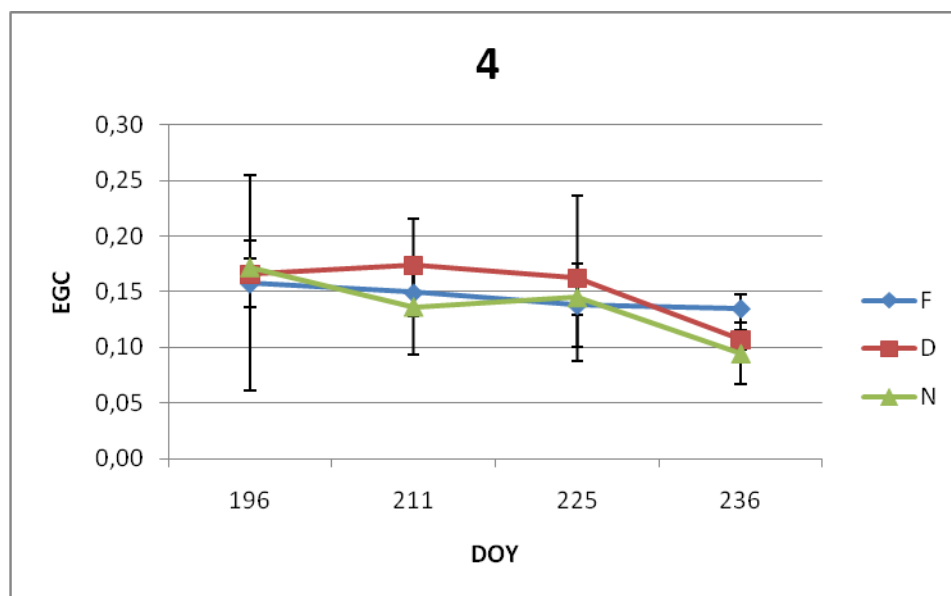
Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.2.), η B1 παρουσιάζει τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις 2 από τις 3 επεμβάσεις την 225^η μέρα (3^η μέτρηση). Ποσοτικά η μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφανίζεται στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκε μέτρια άρδευση και ακολουθεί η επέμβαση στην οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης. Τα αποτελέσματα μεταξύ των 2 αυτών επεμβάσεων δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά.



Διάγραμμα 1.3.2.3. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση της Κατεχίνης. (mg /g v.β. γιγάρτων).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
 196:1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Η κατεχίνη, όπως φαίνεται στο διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.3.), παρουσιάζει και αυτή τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις 2 από τις 3 επεμβάσεις την 225^η μέρα (3^η μέτρηση). Ποσοτικά η μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφανίζεται στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης και ακολουθεί η επέμβαση στην οποία εφαρμόστηκε μέτρια άρδευση. Τα αποτελέσματα μεταξύ των 2 αυτών επεμβάσεων δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά.

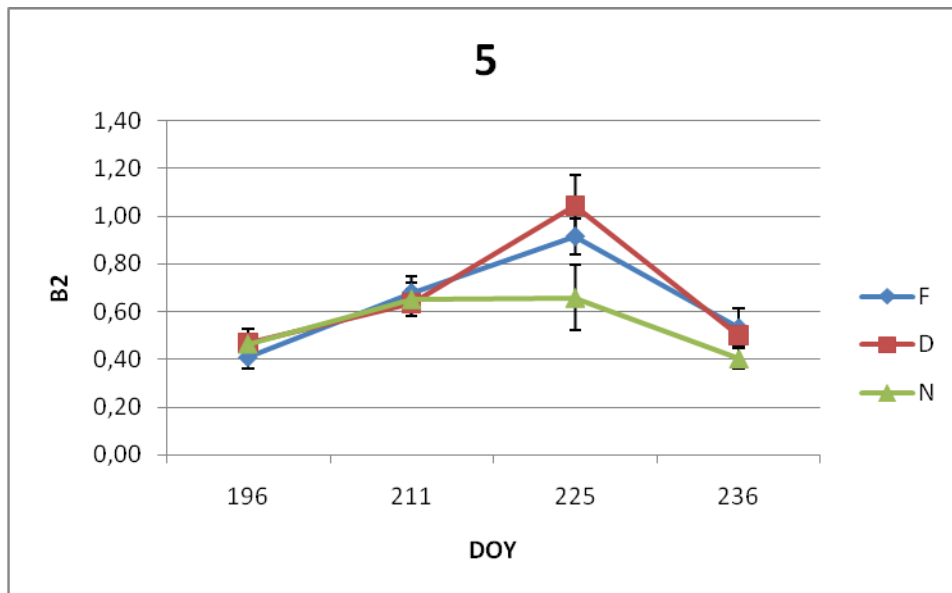


Διάγραμμα 1.3.2.4. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση της Επιγαλλοκατεχίνης. (mg /g v.β. γιγάρτων).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196: 1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Η επιγαλλοκατεχίνη, όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.4.), παρουσιάζει τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ποσοτικά μεταξύ της 211^{ης} και 225^{ης} ημέρας (2^{ης} και 3^{ης} μέτρησης) στα δείγματα της επέμβασης στην οποία εφαρμόστηκε μέτρια άρδευση. Παρόλα αυτά τα αποτελέσματα δεν φαίνεται να διαφέρουν στατιστικά από αυτά των άλλων 2 επεμβάσεων.

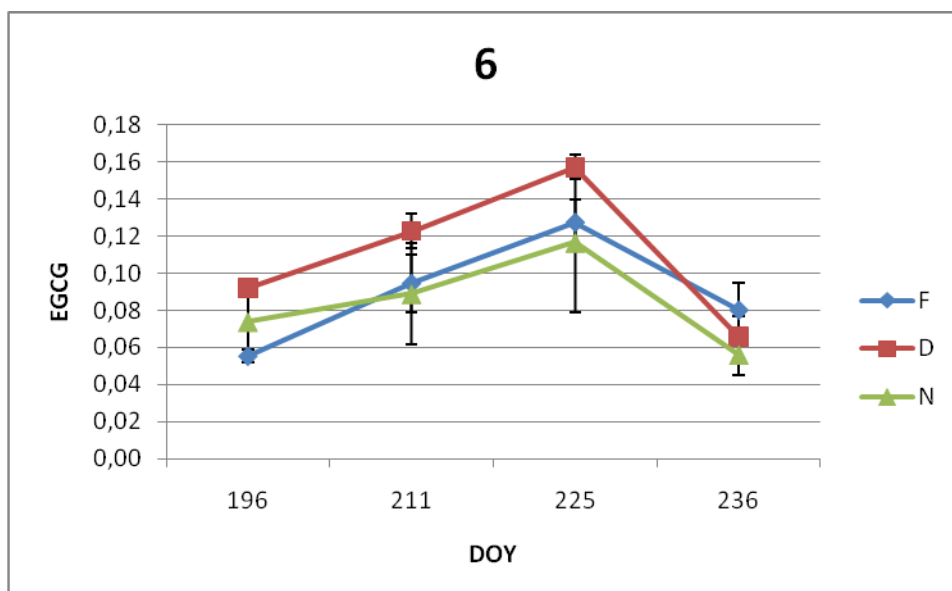
Η B2, όπως φαίνεται στο διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.5.), προσομοιάζει με την B1 και παρουσιάζει τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις 2 από τις 3 επεμβάσεις την 225^η μέρα (3^η μέτρηση). Ποσοτικά η μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφανίζεται στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκε μέτρια άρδευση και ακολουθεί η επέμβαση στην οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης. Τα αποτελέσματα μεταξύ των 2 αυτών επεμβάσεων δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά.



Διάγραμμα 1.3.2.5. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση της B2. (mg /g v.β. γιγάρτων).

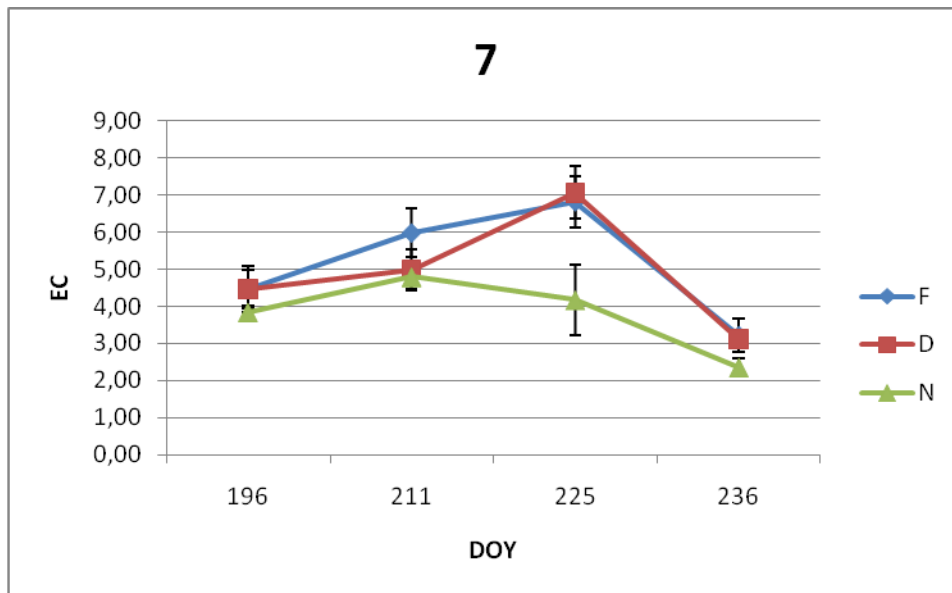
F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
 196:1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Η επιγαλλοκατεχίνη του γαλλικού εστέρα, όπως φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.6.), παρουσιάζει τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε όλες τις επεμβάσεις την 225^η μέρα (3^η μέτρηση). Ποσοτικά η μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφανίζεται στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκε μέτρια άρδευση και ακολουθούν η επέμβαση στην οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης και τέλος η επέμβαση όπου η άρδευση ήταν μηδενική. Τα αποτελέσματα μεταξύ των 3 αυτών επεμβάσεων δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά.



Διάγραμμα 1.3.2.6. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση της Επιγαλλοκατεχίνης του γαλλικού εστέρα (mg /g v.β. γιγάρτων).

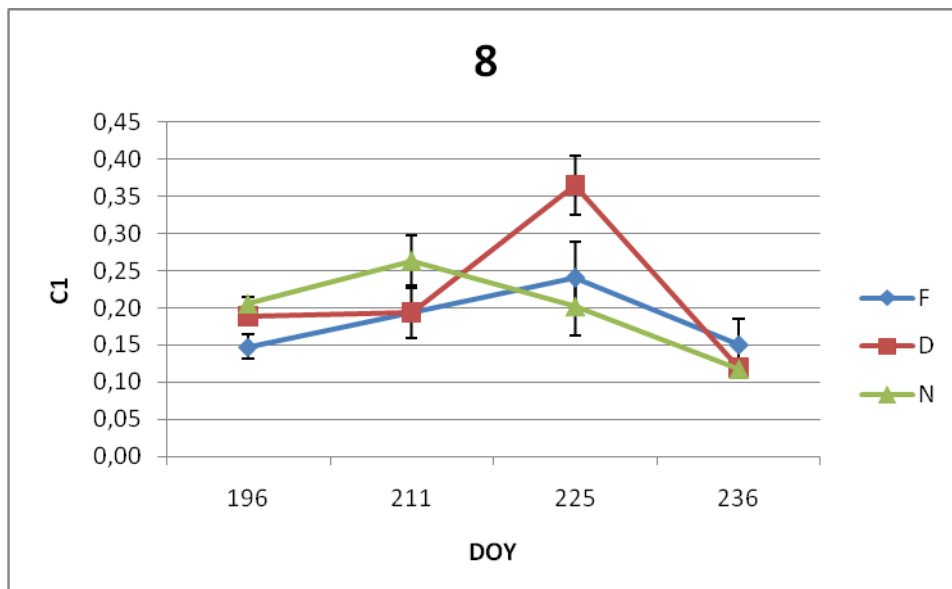
F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
 196:1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση



Διάγραμμα 1.3.2.7. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση της Επικατεχίνης. (mg /g v.β. γιγάρτων).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196:1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

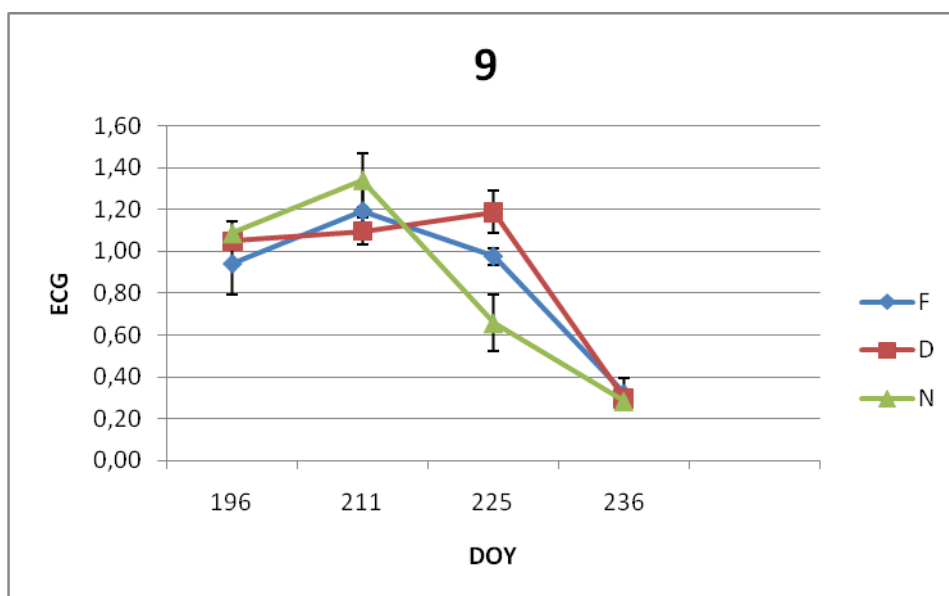
Η επικατεχίνη, όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.7.), παρουσιάζει τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις 2 από τις 3 επεμβάσεις την 225^η μέρα (3^η μέτρηση). Ποσοτικά η μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφανίζεται στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκαν μέτρια επίπεδα άρδευσης και ακολουθεί η επέμβαση στην οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης. Τα αποτελέσματα μεταξύ των 2 αυτών επεμβάσεων δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά.



Διάγραμμα 1.3.2.8. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση της C1. (mg /g v.β. γιγάρτων).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196:1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Η C1, όπως φαίνεται στο διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.8.), παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση την 225^η μέρα (3^η μέτρηση), στην επέμβαση στην οποία εφαρμόστηκαν μέτρια επίπεδα άρδευσης, ενώ φαίνεται να υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά με τα αποτελέσματα των 2 άλλων επεμβάσεων κατά την ίδια μέτρηση.

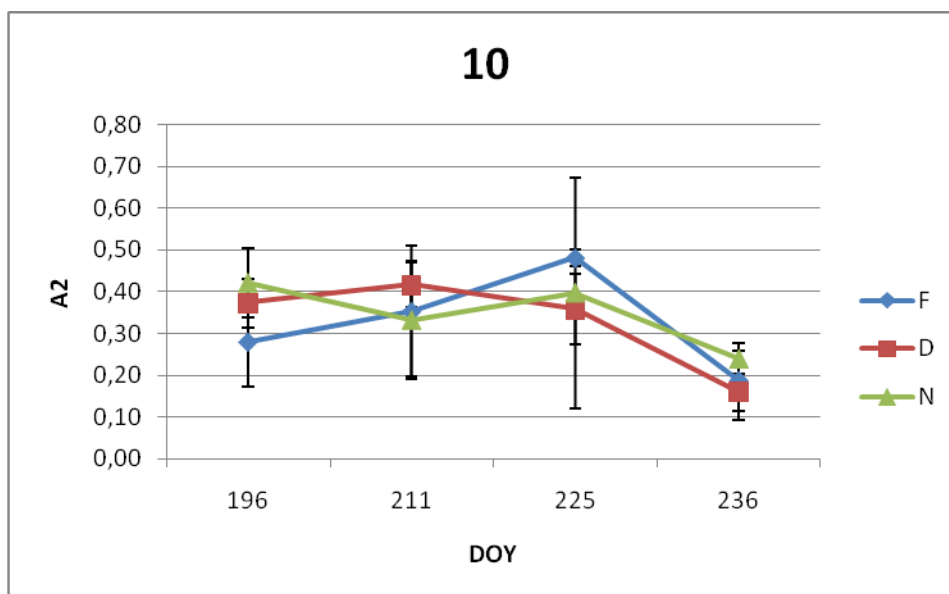


Διάγραμμα 1.3.2.9. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση της Επικατεχίνης του γαλλικού εστέρα.(mg /g v.β. γιγάρτων).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
196:1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Η επικατεχίνη του γαλλικού εστέρα, όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.9.), παραδόξως με τα μέχρι τώρα αποτελέσματα, παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση την 211^η μέρα (2^η μέτρηση) στα δείγματα όπου η άρδευση ήταν μηδενική. Αυξημένες φαίνονται και οι συγκεντρώσεις των 2 άλλων επεμβάσεων την 211^η μέρα (2^η μέτρηση), χωρίς μάλιστα να παρουσιάζουν μεταξύ τους στατιστική διαφορά. Παρόλα αυτά θα πρέπει να σημειώσουμε ότι η 2^η μεγαλύτερη ποσοτικά συγκέντρωση ήταν την 225^η μέρα (3^η μέτρηση) για τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν μέτρια επίπεδα άρδευσης. Στη μέτρηση αυτή (3^η) οι συγκεντρώσεις των 2 άλλων επεμβάσεων είναι εμφανώς μικρότερες, παρουσιάζουν πτωτική τάση και διαφέρουν στατιστικά ως προς την συγκέντρωση της πρώτης.

Τέλος, η A2, όπως φαίνεται στο διάγραμμα (Διάγραμμα 1.3.2.10.), παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση την 225^η μέρα (3^η μέτρηση), στην επέμβαση στην οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης. Τα αποτελέσματα των 2 άλλων επεμβάσεων για τη μέτρηση αυτή δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά με αυτά της πρώτης.



Διάγραμμα 1.3.2.10. Επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση της A2. (mg /g ν.β. γιγάρτων).

F: υψηλά επίπεδα άρδευσης, D: μέτρια επίπεδα άρδευσης, N: μηδενική άρδευση
 196:1^η μέτρηση, 211: 2^η μέτρηση, 225: 3^η μέτρηση, 236: 4^η μέτρηση

Συμπερασματικά, με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα, θα μπορούσαμε σε γενικές γραμμές να πούμε ότι οι συγκεντρώσεις των περισσότερων εμφανίζονται μεγαλύτερες κατά την 225^η μέρα (3^η μέτρηση), στα δείγματα τα οποία δέχτηκαν από μέτρια (κυρίως) έως υψηλά επίπεδα άρδευσης.

Αναμφισβήτητα, τα δείγματα στα οποία η άρδευση ήταν μηδενική παρουσιάζονται οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις με εξαίρεση την επικατεχίνη του γαλλικού εστέρα, που φαίνεται ως η εξαίρεση που επιβεβαιώνει τον κανόνα.

Τα αποτελέσματα πρόσφατης έρευνας συνηγορούν σημειώνοντας ότι η ποσότητα των συνολικών φλαβαν-3-ολών (mg /g νωπού βάρους γιγάρτων), υπολογισμένη ως το άθροισμα των επιμέρους μονομερών ήταν υψηλότερη στα δείγματα των αμπελιών στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλότερα επίπεδα άρδευσης, ανεξάρτητα από τα υποκείμενα που χρησιμοποιήθηκαν στην εκάστοτε περίπτωση (Koundouras, S., et al, 2009).

2. Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια διερεύνησης της επίδρασης της άρδευσης στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των γιγάρτων, σε δείγματα ραγών της ποικιλίας Syrah, σοδειάς 2012, στα οποία εφαρμόστηκαν 3 διαφορετικές επεμβάσεις όσον αφορά τα επίπεδα άρδευσης (βαθμοί ποτίσματος), ενώ πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις (λήφθησαν δείγματα) σε 4 διαφορετικές χρονικές στιγμές εξετάζοντας παράλληλα τη πιθανότητα διαφοροποίησης μεταξύ των δειγμάτων κατά την πορεία ωρίμανσης των ραγών.

Στα δείγματα που προέκυψαν από τον αμπελώνα, πραγματοποιήθηκε όπως είδαμε μια σειρά από μετρήσεις και εφαρμόστηκε μια σειρά αναλυτικών μεθόδων από τις οποίες προέκυψαν αποτελέσματα τα οποία παρουσιάστηκαν και συζητήθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο ενώ εδώ επιχειρείται μια πιο μακροσκοπική ανάγνωση / προσέγγιση τους.

Ξεκινώντας με τα αποτελέσματα των αναλύσεων στις ράγες των σταφυλών, τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν μάλλον τα αναμενόμενα. Η αύξηση των επιπέδων άρδευσης φαίνεται ότι έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του μεγέθους και του μέσου βάρους των ραγών, την μείωση του λόγου (%) γίγαρτα / ράγα και την μείωση του λόγου (%) φλοιοί / ράγα.

Τα αποτελέσματα από την εφαρμογή της μεθόδου Glories για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών των ραγών έδειξαν ότι η συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών ήταν μεγαλύτερη στα δείγματα στα οποία η άρδευση ήταν μηδενική, ακολουθούν αυτά στα οποία εφαρμόστηκαν μέτρια επίπεδα άρδευσης ενώ τέλος η μικρότερη συγκέντρωση είναι αυτή των ραγών των πρέμνων στα οποία εφαρμόστηκαν υψηλά επίπεδα άρδευσης. Η παρατήρηση αυτή φαίνεται να ισχύει για το σύνολο των (4) μετρήσεων. Αντίθετα, η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών φαίνεται να υποβοηθάται από την εφαρμογή μιας στρατηγικής υψηλότερων επιπέδων άρδευσης η οποία δρα ενισχυτικά και ως προς την συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά συστατικά που εκχυλίζονται, ενώ οι μέγιστες συγκεντρώσεις των ταννινών που προέρχονται από τους φλοιούς επιτυγχάνονται μέσω μιας στρατηγικής μηδενικής άρδευσης. Η συνεισφορά των ταννινών των φλοιών φαίνεται να μεγιστοποιείται μέσω μιας στρατηγικής μέτριων επιπέδων άρδευσης ενώ οι μέγιστες συγκεντρώσεις των ταννινών που προέρχονται από τα γίγαρτα επιτυγχάνονται μέσω μιας στρατηγικής υψηλών έως μέτριων επιπέδων άρδευσης. Τέλος, η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων φαίνεται να μεγιστοποιείται μέσω μιας στρατηγικής υψηλών επιπέδων άρδευσης.

Τα αποτελέσματα των φωτομετρικών μεθόδων, έδειξαν σε γενικές γραμμές ότι η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών (ταννινών) των γιγάρτων ήταν αυξημένη στα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκαν από μέτρια έως υψηλά επίπεδα άρδευσης.

Τέλος, τα αποτελέσματα από την εφαρμογή της μεθόδου ανάλυσης HPLC στα εκχυλίσματα των γιγάρτων, έδειξαν ότι η συγκέντρωση των φλαβαν-3-ολών, του γαλλικού εστέρα, των διμερών B1 και B2 κλπ, ήταν σε γενικές γραμμές αυξημένη στα δείγματα όπου εφαρμόστηκαν από μέτρια έως υψηλά επίπεδα άρδευσης,

συγκριτικά με τα αποτελέσματα των δειγμάτων όπου η άρδευση ήταν μηδενική, ενώ στις περισσότερες μετρήσεις παρουσίαζε ένα μέγιστο γύρω από την 225^η μέρα (πλήρης ωρίμανση) και στη συνέχεια μειώνονταν.

Παράρτημα 1.1.

Τα αποτελέσματα της μεθόδου Y. Glories μετά από στατιστική επεξεργασία

Γίγαρτα	Επεμβάσεις	TA	TA Std.Err.		%AE	%AE Std.Err.		%MP	%MP Std.Err.		dpell	dpell Std.Err.	
DOY													
196 ⁿ	FI ₁	354	12,10400	b	25	2,09112	a	57	1,573020	a	11	0,461780	b
211 ⁿ	FI ₂	639	5,60261	b	31	0,84271	b	41	2,134631	a	18	0,335755	b
225 ⁿ	FI ₃	591	15,67890	b	31	0,76407	a	54	0,816233	a	16	0,385859	b
236 ⁿ	FI ₄	522	22,26436	b	32	11,60767	a	60	6,843075	a	14	2,433994	b
196 ⁿ	DI ₁	444	9,86912	a	38	2,849379	b	51	5,605713	a	11	0,501402	b
211 ⁿ	DI ₂	844	11,68432	a	36	0,591049	a	31	2,690422	a	21	0,364856	a
225 ⁿ	DI ₃	770	22,55021	b	38	2,034535	a	35	0,679312	b	19	1,052062	b
236 ⁿ	DI ₄	552	40,01466	b	27	0,925460	a	54	0,857837	a,b	16	1,036633	a,b
196 ⁿ	NI ₁	478	26,19151	a	31	1,140863	a,b	52	1,798668	a	13	0,551390	a
211 ⁿ	NI ₂	886	24,00684	a	38	1,045965	a	36	6,937757	a	22	0,472837	a
225 ⁿ	NI ₃	1026	90,72262	a	39	3,449832	a	41	3,037919	b	24	1,337470	a
236 ⁿ	NI ₄	757	74,12803	a	29	2,774554	a	45	1,747323	b	21	1,335910	a

Γίγαρτα	Επεμβάσεις		%dpell	%dpell Std.Err.		dTrep	dTrep Std.Err.		%dTrep	%dTrep Std.Err.	
DOY											
196 ⁿ	F1	b	43	1,573020	a	15	1,432718	a	57	1,573020	a
211 ⁿ	F2	b	59	2,134631	a	12	0,891914	a	41	2,134631	a
225 ⁿ	F3	b	46	0,816233	b	19	1,001731	a	54	0,816233	a
236 ⁿ	F4	b	40	6,843075	b	21	2,364378	a	60	6,843075	b
196 ⁿ	D1	b	49	5,605713	a	12	2,025873	a	51	5,605713	a
211 ⁿ	D2	a	69	2,690422	a	10	1,077002	a	31	2,690422	a
225 ⁿ	D3	b	65	0,679312	a	10	0,347770	b	35	0,679312	b
236 ⁿ	D4	a,b	46	0,857837	a,b	19	0,634932	a	54	0,857837	a,b
196 ⁿ	N1	a	48	1,798668	a	14	0,563000	a	52	1,798668	a
211 ⁿ	N2	a	64	6,937757	a	14	3,238130	a	36	6,937757	a
225 ⁿ	N3	a	59	3,037919	a	17	1,208925	a	41	3,037919	b
236 ⁿ	N4	a	55	1,747323	a	17	0,419603	a	45	1,747323	a

Παράρτημα 1.2.

Τα αποτελέσματα των φωτομετρικών μεθόδων μετά από στατιστική επεξεργασία

Γίγαρτα	Επεμβάσεις	Follin	Follin Std.Err.		Total tannins	Total tannins Std.Err.		BSA	BSA Std.Err.	
DOY										
196 ⁿ	F1	70	2,288172	a	88	3,822303	a	20	0,509715	a
211 ⁿ	F2	75	3,232782	a	76	2,999835	a	23	0,776751	a
225 ⁿ	F3	73	3,301118	a	55	5,218737	a	31	4,148192	a
236 ⁿ	F4	76	2,415397	a	58	2,346894	a	28	0,968074	a
196 ⁿ	D1	68	1,557025	a	86	2,670276	a	20	0,484710	a
211 ⁿ	D2	76	2,422398	a	75	3,680472	a	25	0,630402	a
225 ⁿ	D3	73	1,992243	a	53	5,524064	a	24	0,762434	b
236 ⁿ	D4	72	1,877547	a	54	3,553036	a,b	24	0,807276	b
196 ⁿ	N1	60	2,309116	b	82	2,948860	a	20	0,352160	a
211 ⁿ	N2	67	2,720768	b	65	3,025719	b	22	0,975696	a
225 ⁿ	N3	68	4,495272	a	53	2,092803	a	24	0,661262	b
236 ⁿ	N4	58	1,810646	b	51	5,731277	b	19	0,859199	c

Γίγαρτα	Επεμβάσεις	DMACH	DMACH Std.Err.		DPPH	DPPH Std.Err.	
DOY							
196 ⁿ	F1	18	0,604063	a	0,8	0,032438	a
211 ⁿ	F2	22	0,649072	a	0,7	0,036246	a
225 ⁿ	F3	15	1,524263	a	0,6	0,023177	a
236 ⁿ	F4	21	0,508916	a	0,6	0,021958	a
196 ⁿ	D1	16	0,632472	b	0,7	0,021853	b
211 ⁿ	D2	20	0,652412	b	0,6	0,027281	a
225 ⁿ	D3	17	0,323776	a	0,6	0,016642	a
236 ⁿ	D4	18	0,690364	b	0,5	0,005098	b
196 ⁿ	N1	16	0,692635	b	0,7	0,024790	b
211	N2	17	0,651523	c	0,6	0,026363	a
225	N3	15	0,458569	a	0,6	0,024090	b
236	N4	14	0,667979	c	0,4	0,016037	c

Παράρτημα 1.3.

Τα αποτελέσματα της HPLC μετά από στατιστική επεξεργασία

Γίγαρτα	Επεμβάσεις	Gallic Acid	Gallic Acid Std.Err.	B1	B1 Std.Err.	C	C Std.Err.	EGC	EGC Std.Err.	B2	B2 Std.Err.
DOY											
196 ⁿ	F1	0,12	0,024869	0,06	0,006232	1,43	0,222867	0,16	0,096754	0,41	0,045699
211 ⁿ	F2	0,13	0,019301	0,08	0,006394	1,71	0,196758	0,15	0,020790	0,68	0,068812
225 ⁿ	F3	0,14	0,013479	0,12	0,010096	2,15	0,156373	0,14	0,037721	0,91	0,076873
236 ⁿ	F4	0,09	0,009515	0,07	0,005962	0,89	0,085529	0,13	0,012623	0,53	0,079200
196 ⁿ	D1	0,11	0,014353	0,08	0,002527	1,25	0,121463	0,17	0,030144	0,47	0,060050
211 ⁿ	D2	0,11	0,010353	0,09	0,009422	1,40	0,148498	0,17	0,041413	0,64	0,057612
225 ⁿ	D3	0,17	0,033023	0,14	0,018559	1,92	0,182510	0,16	0,074327	1,04	0,128384
236 ⁿ	D4	0,13	0,011537	0,08	0,007290	0,83	0,056355	0,11	0,009064	0,50	0,025984
196 ⁿ	N1	0,07	0,008012	0,08	0,006697	1,11	0,030557	0,17	0,008003	0,47	0,013028
211 ⁿ	N2	0,09	0,009842	0,11	0,013612	1,57	0,189566	0,14	0,043321	0,65	0,068767
225 ⁿ	N3	0,10	0,019683	0,09	0,008800	1,16	0,240416	0,14	0,015227	0,66	0,137521
236 ⁿ	N4	0,06	0,011003	0,06	0,013578	0,62	0,089598	0,09	0,027170	0,40	0,044782

Γίγαρτα	Επεμβάσεις	EGCG	EGCG Std.Err.	EC	EC Std.Err.	C1	C1 Std.Err.	ECG	ECG Std.Err.	A2	A2 Std.Err.
DOY											
196 ⁿ	F1	0,06	0,003478	4,47	0,625779	0,15	0,016537	0,94	0,147941	0,28	0,107436
211 ⁿ	F2	0,09	0,015571	5,98	0,652765	0,19	0,033856	1,19	0,111055	0,35	0,157734
225 ⁿ	F3	0,13	0,012596	6,82	0,694210	0,24	0,048369	0,97	0,037674	0,48	0,019470
236 ⁿ	F4	0,08	0,014497	3,22	0,434056	0,15	0,034581	0,32	0,071310	0,19	0,071792
196 ⁿ	D1	0,09	0,002564	4,46	0,508533	0,19	0,002230	1,05	0,032856	0,37	0,058533
211 ⁿ	D2	0,12	0,009547	4,99	0,544032	0,19	0,003298	1,10	0,064711	0,42	0,054034
225 ⁿ	D3	0,16	0,006620	7,06	0,708538	0,36	0,040011	1,19	0,102489	0,36	0,083593
236 ⁿ	D4	0,07	0,011537	3,10	0,225350	0,12	0,010389	0,29	0,015644	0,16	0,068455
196 ⁿ	N1	0,07	0,014676	3,84	0,161605	0,21	0,008243	1,09	0,059454	0,42	0,082807
211 ⁿ	N2	0,09	0,027468	4,80	0,371263	0,26	0,033189	1,34	0,129059	0,33	0,141682
225 ⁿ	N3	0,12	0,037475	4,17	0,946321	0,20	0,038611	0,66	0,135401	0,40	0,275919
236 ⁿ	N4	0,06	0,011117	2,35	0,244803	0,12	0,011092	0,28	0,034582	0,24	0,037216

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση

Adams, D. O., (2006), Phenolics and ripening in grape berries, ASEV 2005 Phenolics Symposium, American Journal of Enology and Viticulture, 57 : 3 : 249-256.

Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C., (1995), Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, Lebensm,-Wiss. u.-Technol., 28 : 25-30.

Bucchettia, B., Matthews, M. A., Falginella, L., Peterlungera, E., Castellarin, S. D., (2011), Effect of water deficit on Merlot grape tannins and anthocyanins across four seasons, Scientia Horticulturae, 128 : 297–305.

Cavaliere, C., Foglia, P., Marini, F., Samperi, R., Antonacci, D., Lagana, A., (2010), The interactive effects of irrigation, nitrogen fertilisation rate, delayed harvest and storage on the polyphenol content in red grape (*Vitis vinifera*) berries: A factorial experimental design, Food Chemistry, 122 : 1176-1184.

Chaves, M. M., Santos, T. P., Souza, C. R., Ortuno, M. F., Rodrigues, M. L., Lopes, C. M., Maroco, J. P., Pereira, J. S., (2007), Deficit irrigation in grapevine improves water- use efficiency while controlling vigour and production quality, Annals of Applied Biology, 150 : 2 : 237-252.

Conde, C., Silva, P., Fontes, N., Dias, A. C. P., Tavares, R. M., Sousa, M.J., Agasse, A., Delrot, S., Geros, H., (2007), Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality, Food 1 : 1 : 1-22.

Coombe, B. G. & Dry, P. R., (1992), Viticulture, vol. 2, practices, Wine titles, Adelaide.

De Beer, D., Habertson, J.F., Kilmartin, P.A., Roginsky, V., Barsukova, T., Adams, D. O., Waterhouse, A. L., (2004), Phenolics : A comparison of diverse analytical methods, American Journal of Enology and Viticulture, 55 : 4 : 389-400.

Deloire, A., Silva, P., Martin-Pierrat, S., (2003), Terroirs et etat hydrique du Grenache noir, Progres Agricole et Viticole, 120 : 17 : 367-373.

Esteban, M. A., Villanueva, M. J., Lissarrague, J.R., (2001), Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening, Journal of the Science of Food and Agriculture, 81 : 409-420.

Ginestar, C., Eastham, J., Gray, S., Iland, P., (1998), Use of sap-flow sensors to schedule vineyard irrigation, I. Effects of post-veraison water deficits on water relations, vine growth and yield of Shiraz grapevines, American Journal of Enology and Viticulture, 49 : 4 : 413-420.

Hagerman, A. E., Butler, L. G., (1978), Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins, Journal of Agricultural and Food Chemistry.

Harbertson, J. F., Kennedy, J.A., Adams, D. O., (2002), Tannin in skin and seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah and Pinot Noir berries during ripening, *American Journal of Enology and Viticulture*, 55 : 1 : 54-59.

Hardie W. J., Considine J.A., (1976), Response of grapes to water-deficit stress in particular stages of development, *American Journal of Enology and Viticulture*, 27 : 55-61.

Iland, P., Bruer, N., Edwards, G., Weeks, S. & Wilkes, E., (2004), Chemical analysis of grapes and wine: techniques and concepts, P. Iland Wine Promotions PTY LTD, Campbell town, Australia.

Intrigliolo D. S., Castel J.R., (2008), Effects of irrigation on the performance of grapevine cv. Tempranillo in Requena, Spain, *American Journal of Enology and Viticulture*, 59 : 30-38.

Intrigliolo D. S., Castel J.R., (2011), Interactive effects of deficit irrigation and shoot and cluster thinning on grapevine cv. Tempranillo. Water relations, vine performance and berry and wine composition, *Irrigation Science*, 29 : 443-454.

Ivanova, V., Stefova, M., Vojnoski, B., Dörnyei, A., Márk, L., Dimovska, V., Stafilov, T., Kilár, F., (2011), Identification of polyphenolic compounds in red and white grape varieties grown in R. Macedonia and changes of their content during ripening, *Food Research International* 44 : 2851–2860.

Jackson, R. S., (2008), *Wine Science, Principles and Applications*, 3d Edition, Academic Press, San Diego, California.

Kennedy, J. A., Saucier, C., Glories, Y., (2006), Grape and wine phenolics : history and perspective , ASEV 2005 Phenolics Symposium, *American Journal of Enology and Viticulture*, 57 : 3 : 239-248.

Kennedy, J. A., Matthews, M. A., Waterhouse, A. L., (2002), Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57 : 3 : 268-274.

Kennedy, J. A., Hayasaka, Y., Vidal, S., Waters, E.J., Jones, G. P., (2001), Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 : 5348-5355.

Kennedy, J. A., Matthews, M. A., Waterhouse, A. L., (2000), Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening, Department of Viticulture and Enology, University of California, Davis, USA, *Phytochemistry*, 55 : 77-85.

Koundouras, S., Kanakis, I., Drossou, E., Kallithraka, S., Kotseridis, Y., (2012), Effects of post veraison water regime on the phenolic composition of grapes and wines of cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.), *Vigne et Vin Publications Internationales* (Bordeaux, France), 47 : 1 : 115-128.

Koundouras, S., Hatzidimitriou, E., Karamolegkou, M., Dimopoulou, E., Kallithraka, S., Tsialtas, I.T., Zioziou, E., Nikolaou, N., Kotseridis, Y., (2009), Irrigation and rootstock effects on the phenolic concentration and aroma potential of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon grapes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 : 7805-7813.

Koundouras, S., Tsialtas, I. T., Zioziou, E., Nikolaou, N., (2008), Rootstock effects on the adaptive strategies of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) under contrasting water status: Leaf physiological and structural responses, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 128 : 86-96.

Koundouras S., Bakratsa, G., Zioziou E., Nikolaou, N., Tsialtas, I. T., (2006), influence of irrigation and rootstock cultivar on gas exchange, growth and ripening of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) under the semi-arid conditions of central Greece, 2nd International Conference Ampelos 2006, Santorini island Greece, pp.29-34.

Mc Carthy, M. A., Loveys, B.R., Dry, P. R., Stoll, M., (2000), Regulated deficit irrigation and partial root zone drying as irrigation management techniques for grapevine, In : *Deficit irrigation practices*, Water Reports, vol. 22, FAO, Corporate Document Repository, Rome.

Mulero, J., Pardo, F., Zafrilla, P., (2010), Antioxidant activity and phenolic composition of organic and conventional grapes and wines, *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 : 569-574.

Mullins, M. G., Bouquet, A., Williams, L. E., (1992), *Biology of Horticultural crops*, *Biology of the Grapevine*, Press Syndicate of the University of Cambridge.

Obreque-Slier, E., Pena-Neira, A., Lopez-Solis, R., Zamora-Marin, F., Ricardo-da Silva, J. M., Laureano, O., (2010), Comparative Study of the Phenolic Composition of seeds and skins from Carmenere and Cabernet Sauvignon Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) during Ripening, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 : 3591-3599.

Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A., Deloire, A., (2002), Influence of pre- and post- veraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz, *American Journal of Enology and Viticulture*, 53 : 4 : 261-267.

Ojeda, H., Deloire, A., Carbonneau, A., (2001), Influence of water deficits on grape berry growth, *Vitis*, 40 : 3 : 141-145.

Pedreira dos Santos, T., Lopes, C. M., Rodrigues L. M., , de Souza, C. R., Ricardo da Silva, J. M., Maroco, J. P., Pereira, J. S., Chaves, M. M., (2007), Effects of deficit irrigation strategies on cluster microclimate for improving fruit composition of Moscatel field-grown grapevines, *Scientia Horticulturae*, 112 : 321-330.

Perez-Magarino, S., Gonzalez-San Jose, L. M., (2006), Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade, Food Chemistry 96 : 197–208.

Peyrot des Gachons C., Van Leeuwen, C., Tominaga, T., Soyer, J-P., Gaudillere, J-P., Dubourdiu, D., (2005), Influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potencial of *Vitis vinifera* L. cv.Sauvignon blanc in field conditions, Journal of the Science of Food and Agriculture, 85: 73-85.

Revilla, E., Garcia-Beneytez, E., Cabello, F., Martin-Ortega, G., Ryan, J. M., (2001), Value of High-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them, Journal of Chromatography A, 915 : 53-60.

Reynier, A., (1992), Manuel de Viticulture, Guide Technique du Viticulteur, 7th Edition, Technique & Documentation.

Reynolds, A. G., Lowrey, W. D., de Savigny, C., (2005), Influence of irrigation and fertigation on fruit composition, vine performance and water relations of Concord and Niagara grapevines, American Journal of Enology and Viticulture, 56 : 2 : 110-128.

Ribereau-Gayon, P., Gloire, Y., Maujean, A., Dubourdiu, (2006), Hand book of Enology, vol. 2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments, John Wiley & Sons Ltd.

Ribereau-Gayon, P., Dubourdiu, D., Doneche, B., Lonvaud Al., (1998), Hand book of Enology, vol. 1, The Microbiology of Wine and Vinifications.

Rio Segade, S., Soto Vazquez, E., Diaz Losada, E., (2008), Influence of ripeness grade on accumulation and extractability of grape skin anthocyanins in different cultivars, Journal of Food Composition and Analysis, 21 : 599-607.

Roby, G., Habertson, J. F., Adams, D. A., Matthews, M. A., (2004), Berry size and vine water deficits as factor in winegrape composition : Anthocyanins and tannins, Australian Journal of Grape and Wine Research, 10 : 100-107.

Roggero, J. P., Coen, S., Ragonnet, B., (1986), High Performance Liquid Chromatography survey on changes in pigment content in ripening grapes of Syrah, American Journal of Enology and Viticulture, 37 : 1 : 77-83.

Romero, P., Munoz, R., del Amor, F. M., Valdes, E., Fernandez, J. I., Cutillas, A. M., (2013), Regulated Deficit Irrigation based upon optimum water status improves phenolic composition in Monastrell grapes and wines, Agricultural Water Management, 121 : 85-101.

Sampaio, T. L. B., (2007), Using rootstocks to manipulate vine physiological performance and mediate changes in fruit and wine composition, Dissertation.

Santesteban, L. G., Miranda, C., Royo, J. B., (2011), Regulated deficit irrigation effects on growth, yield, grape quality and individual anthocyanin composition in *Vitis vinifera* L. cv. 'Tempranillo', *Agricultural Water Management* 98 : 1171–1179.

Song, J., Shellie, K. C., Wanga, H., Qian, M. C., (2012), Influence of deficit irrigation and kaolin particle film on grape composition and volatile compounds in Merlot grape (*Vitis vinifera* L.), *Food Chemistry* 134 : 841–850.

Thorngate, J. H., (2006), Methods for analyzing phenolics in research, ASEV 2005 Phenolics Symposium, *American Journal of Enology and Viticulture*, 57 : 3 : 269-279.

Van Leeuwen, C., Tregoat, O., Chone, X., Jaeck, M. E., Rabusseau, S., Gaudillere, J. P., (2003), Regime hydrique, *Bulletin de l' O.I.V.*, 76 : 867-868 : 367-378.

Wample, R. L., (2000), Regulated deficit irrigation as a water management strategy in *Vitis vinifera* production. In : *Deficit irrigation practices, Water Reports*, vol. 22, FAO, Corporate Document Repository, Rome.

Zarrouk, O., Francisco, R., Pinto-Marijuan M., Brossa, R., Santos, R. R., Pinheiro, C., Costa, J. M., Lopes, C., Chaves, M. M., (2012), Impact of irrigation regime on berry development and flavonoids composition in Aragonez (Syn. Tempranillo) grapevine, *Agricultural Water Management*, 114 : 18-29.

Ελληνική

Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά, (1982), Υπουργείο Γεωργίας – Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Αθηνών, Ινστιτούτο οίνου, Τόμος II, Αθήνα.

Κοτσερίδης, Γ., (2005), Σημειώσεις / Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας I, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων, Αθήνα.

Κοτσερίδης, Γ., (2006), Σημειώσεις Οινολογίας II, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων, Αθήνα.

Κουράκου – Δραγώνα Σ., (1998), Θέματα Οινολογίας, εκδ. Τροχαλία.

Κούσουλας, Ι. Κ., (1995), Αμπελουργία, Εκδοτική Αγροτεχνική Α.Ε.

Νταβίδης, Ο. Ξ., (1982), Ελληνική Αμπελολογία – Στοιχεία Αμπελογραφίας, Αθήνα.

Σουφλερός, Ε.Ηρ., (1997), Οινολογία. Επιστήμη και Τεχνογνωσία, Τόμοι I, II & III, Θεσσαλονίκη.

Σταυρακάκης, Μ.Ν., (2010), Αμπελογραφία, εκδ. Τροπή, Αθήνα.

Σταυρακάκης, Μ.Ν., (2004), Γενική Αμπελουργία – Πανεπιστημιακές παραδόσεις, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Αμπελολογίας.

Χαρβαλιά, Α. και Μπενά – Τζούρου, Ε., (1982), Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων, Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα.

Διαδίκτυο

Ιστοσελίδα Κτήματος Γεροβασιλείου
<http://www.gerovassiliou.gr/el/>

