

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ – ΤΜΗΜΑ**  
**ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**  
**ΔΠΜΣ ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ- ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ**

**Επίδραση άρδευσης και διαφυλλικής λίπανσης με απενεργοποιημένους  
ζυμομύκητες στη χημική σύσταση δειγμάτων σταφυλιών και οίνων *Vitis Vinifera*  
L. cv. Αγιωργίτικο**

**Μεταπτυχιακή ερευνητική μελέτη**

**Χαρίκλεια Σ. Κόγκου**

**ΑΘΗΝΑ 2014**

**Επιβλέπων: Επ. Καθ. Κοτσερίδης Γεώργιος**

## Μεταπτυχιακή ερευνητική μελέτη

Επίδραση άρδευσης και διαφυλλικής λίπανσης με απενεργοποιημένους ζυμομύκητες στη χημική σύσταση δειγμάτων σταφυλιών και οίνων *Vitis Vinifera* L. cv. Αγιωργίτικο

Χαρίκλεια Σ. Κόγκου

2014

### Μέλη τριμελούς εξεταστικής επιτροπής:

**Κοτσερίδης Γεώργιος**, Επίκουρος Καθηγητή Οινολογίας, Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

**Καλλίθρακα Σταματίνα**, Επίκουρη Καθηγήτρια Οινολογίας, Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

**Μπινιάρη Αικατερίνη**, Επίκουρη Καθηγήτρια Αμπελουργίας, Τμήματος Επιστήμης και Φυτικής Παραγωγής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση διαφυλλικής λίπανσης απενεργοποιημένων ζυμομυκήτων και άρδευσης στα φαινολικά συστατικά των ραγών της ποικιλίας *Vitis vinifera* L. cv Αγιωργίτικο καθώς και στον παραγόμενο οίνο, τρύγου 2013. Ο αμπελώνας που διενεργήθηκε το πείραμα βρίσκεται εντός της αμπελουργικής ζώνης ΠΟΠ Νεμέα, στο Δ.Δ. Λεόντιο. Δημιουργήθηκαν τέσσερις συνθήκες στον αμπελώνα, στις οποίες διενεργήθηκαν αργότερα οι αναλύσεις: με λίπανση και με άρδευση, με λίπανση και χωρίς άρδευση, χωρίς λίπανση και χωρίς άρδευση, και τέλος χωρίς λίπανση και με άρδευση. Για κάθε συνθήκη εφαρμόστηκε τριπλή επανάληψη στον αμπελώνα και στο εργαστήριο. Κατά τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις σε ράγες και σε εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων των ραγών και στον οίνο έπειτα από μικροοινοποίηση στο εργαστήριο Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Ο σκοπός της διπλωματικής είναι ο προσδιορισμός των τανινών, των ανθοκυανών και των φαινολικών ουσιών σε ολόκληρη τη ράγα, στους φλοιούς και στα γίγαρτα και στον οίνο. Τέλος έγινε οργανοληπτικός έλεγχος των οίνων για να προσδιοριστεί ο ποιοτικός τους χαρακτήρας αλλά και να συνδυαστεί με τα αποτελέσματα των μεθόδων που εφαρμόστηκαν.

Από την έρευνα προέκυψε ότι παρόλο που οι αναλύσεις στους φλοιούς και στα γίγαρτα έδειξαν ότι η παρουσία λίπανσης δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα παρά μόνο η παρουσία άρδευσης, στους οίνους είχαμε το αντίθετο αποτέλεσμα. Η συνδυαστική χρήση διαφυλλικής λίπανσης και άρδευσης εκχυλίζει περισσότερες ανθοκυάνες, κατ' επέκταση προσδίδει καλύτερο χρώμα και υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών. Συνεπώς ο οίνος έχει ποιοτικότερα χαρακτηριστικά οργανοληπτικά.

**Λέξεις - κλειδιά:** ανθοκυάνες, φαινολικά συστατικά, ράγες, φλοιοί, γίγαρτα, απενεργοποιημένοι ζυμομύκητες, άρδευση

## ABSTRACT

In the current study it was investigated the possible effect of irrigation and foliar inactive yeast application on the phenolic concentration of *Vitis vinifera* L. cv. Agiorgitiko grapes and wines. The experimental vineyard is located in the region of Leontio in Nemea. There were four treatments applied in the vineyard on which later several analyses were applied: unsprayed and irrigated, unsprayed and non-irrigated, sprayed and irrigated and sprayed and non-irrigated. The different treatments were applied in triplicate both in the vineyard and laboratory. During the experimental phase, analyses were applied to grapes, skin and seed extracts and to the wine that was made in microvinification in the Oenology laboratory of the Agricultural University of Athens. The objective was the determination of the phenolic compounds, the anthocyanins and the tannin concentration through different analyses on the whole grapes, skins and seeds and on the wine. Lastly, a sensory analysis of the wines took place, in order for their qualitative character to be specified and to be combined with the results of the methods applied.

The study found that in the analyses of skins and seeds, the presence of foliar yeast application doesn't affect the results itself, but only with the presence of irrigation. However, in the analyses made in wine we had the opposite results. The combined use of foliar fertilization and irrigation extract more anthocyanins, thus gives better colour and higher concentration of phenolics. Hence, the wine that comes from the grapes that both foliar fertilization and irrigation have been applied, gives better organoleptic characteristics.

**Key – words:** anthocyanins, phenolic content, berries, skin, seed, inactive yeast, yeast derivatives, irrigation

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση της παρούσας ερευνητικής μεταπτυχιακής μελέτης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που απαρτίζουν το εργαστήριο Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, και πιο συγκεκριμένα τον επίκουρο καθηγητή και επιβλέποντα της μελέτης, κ.Κοτσερίδη Γεώργιο για την καθοδήγηση και υπομονή του. Επίσης, την επίκουρο καθηγήτρια Καλλίθρακα Σταματίνα, την επίκουρο καθηγήτρια Κατερίνα Μπινιάρη, την υποψήφια διδάκτωρ Κυραλέου Μαρία και φυσικά την κα. Προξενιά Νίκη για τη συνεχή καθοδήγηση και βοήθεια.

Τέλος, τους συμφοιτητές μου Φωτεινή Κολυβά, Ελένη Τζανακούλη και Δημήτρη Μουρτίκα καθώς και τους μεταπτυχιακούς φοιτητές του τμήματος Οινολογίας-Αμπελουργίας για τη συμμετοχή τους στον οργανοληπτικό έλεγχο των οίνων της μελέτης.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη .....	3
Abstract .....	4
Ευχαριστίες .....	5
Πίνακας Περιεχομένων .....	6
1. Νεμέα.....	10
1.1. Οινολογικές πρακτικές.....	11
1.2. Καλλιεργητικές πρακτικές.....	11
1.3. Γεωγραφικό περιβάλλον και γεωγραφική προέλευση .....	11
1.4. Λεόντιο .....	12
1.5. Αγιωργίτικο.....	12
1.5.1. Αμπελογραφικοί χαρακτήρες και φαινολικά στάδια.....	13
1.5.2. Ιδιότητες και καλλιεργητική συμπεριφορά .....	14
1.5.3. Το γλεύκος της ποικιλίας .....	14
1.6. Φαινολικές ενώσεις και τανίνες.....	15
1.6.1. Γενικά .....	15
1.6.2. Παράγοντες που επηρεάζουν την φαινολική σύσταση των ραγών .....	16
2. Εισαγωγή.....	19
2.1. Ζυμομύκητες .....	19
2.2. Προϊόν .....	20
3. Υλικά και μέθοδοι.....	22
3.1. Πείραμα.....	22
3.2. Ο αμπελώνας.....	23
3.3. Οينوποίηση .....	24
3.4. Αναλύσεις σε ολόκληρη τη ράγα .....	25

3.4.1.	Ανθοκυάνες και ολικά φαινολικά στις ράγες (Πρωτόκολλο Iland) .....	26
3.4.2.	Ανθοκυάνες και τανίνες στις ράγες (Πρωτόκολλο Y.Glories) .....	28
3.5.	Αναλύσεις σε φλοιούς και γιγάρτα.....	29
3.5.1.	Εκχυλίσσεις ανθοκυανών των φλοιών για HPLC .....	30
3.5.2.	Εκχυλίσσεις φαινολικών των φλοιών και των γιγάρτων .....	31
3.5.3.	Φωτομετρικές Μέθοδοι .....	31
3.5.4.	Ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin-Ciocalteau .....	32
3.5.5.	Ολικές τανίνες με τη μέθοδο του Ribereau-Gayon & Stonestreet (1966)...	33
3.5.6.	Τανίνες με τη μέθοδο Harbertson .....	34
3.5.7.	Αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH).....	35
3.6.	Αναλύσεις στον οίνο.....	35
3.6.1.	Ενεργός οξύτητα – pH .....	36
3.6.2.	Ολική οξύτητα .....	36
3.6.3.	Πτητική Οξύτητα .....	37
3.6.4.	Αλκοολικός Τίτλος.....	37
3.6.5.	Ένταση – Απόχρωση.....	38
3.6.6.	Ολικές ανθοκυάνες .....	39
3.6.7.	Δείκτης ιονισμού – I% .....	40
3.6.8.	Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ).....	41
3.6.9.	Ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin-Ciocalteau .....	41
3.6.10.	Ολικές τανίνες με τη μέθοδο Ribereau-Gayon & Stonestreet (1966).....	41
3.6.11.	Δείκτης Υδροχλωρικού οξέος – HCl% .....	41
3.6.12.	Τανίνες με τη μέθοδο Harbertson .....	42
3.6.13.	Αντιοξειδωτική Ικανότητα (DPPH) .....	42
3.6.14.	Προσδιορισμός ανθοκυανών με HPLC.....	42

3.7.	Οργανοληπτικός έλεγχος .....	43
4.	Αποτελέσματα.....	44
4.1.	Αναλύσεις σε ολόκληρη τη ράγα .....	44
4.1.1.	Μετρήσεις – Αναλύσεις στις Ράγες .....	44
4.1.2.	Ανθοκυάνες και ολικά φαινολικά στις ράγες (Πρωτόκολλο Iland) .....	45
4.1.3.	Ανθοκυάνες και τανίνες στις ράγες (Πρωτόκολλο Y.Glories) .....	47
4.2.	Αναλύσεις σε φλοιούς και γίγαρτα.....	51
4.2.1.	Συγκέντρωση ανθοκυανών φλοιών με HPLC .....	51
4.2.2.	Ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu .....	53
4.2.3.	Ολικές τανίνες με τη μέθοδο Ribereau-Gayon & Stonestreet (1966) .....	54
4.2.4.	Τανίνες με τη μέθοδο Harbertson .....	55
4.2.5.	Αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH).....	56
4.3.	Αναλύσεις στον οίνο.....	57
4.3.1.	Ενεργός οξύτητα – pH .....	57
4.3.2.	Ολική οξύτητα .....	58
4.3.3.	Πτητική Οξύτητα .....	59
4.3.4.	Αλκοολικός Τίτλος.....	59
4.3.5.	Ένταση – Απόχρωση.....	60
4.3.6.	Ολικές ανθοκυάνες με μέθοδο Ribereau-Gayon & Stonestreet (1965).....	62
4.3.7.	Δείκτης ιονισμού – I% .....	63
4.3.8.	Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ).....	64
4.3.9.	Ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu .....	65
4.3.10.	Ολικές τανίνες με τη μέθοδο των Ribereau-Gayon & Stonestreet (1966).....	66
4.3.11.	Δείκτης Υδροχλωρικού οξέος – HCl% .....	67
4.3.12.	Τανίνες με τη μέθοδο Harbertson .....	68



4.3.13.	Αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH) .....	69
4.3.14.	Συγκέντρωση ανθοκυανών οίνου με HPLC .....	70
4.3.15.	Οργανοληπτικός Έλεγχος .....	73
4.4.	Στατιστική Επεξεργασία .....	73
5.	Συμπεράσματα .....	74
6.	Παράρτημα .....	77
7.1.	Πίνακες για τον οίνο .....	77
7.2.	Πίνακες για φλοιούς .....	79
7.3.	Πίνακες για γίγαρτα .....	80
7.4.	Πίνακες για ολόκληρη ράγα .....	80
7.5.	Πίνακες συσχέτισης Pearson .....	82
7.	Βιβλιογραφία.....	87
8.1.	Ελληνική Βιβλιογραφία .....	87
8.2.	Ξένη Βιβλιογραφία .....	87
8.3.	Ιστοσελίδες.....	91

# 1. ΝΕΜΕΑ

Η ιστορία της εδραίωσης του ονόματος Αγιωργίτικο ξεκινά τον 13ο αιώνα όπου εξαιτίας των επιδρομών των Γοτθαίων και των Σλαύων, οι πληθυσμοί στην πόλη Φλύα αποσύρθηκαν από τις πεδινές περιοχές και μετακινήθηκαν πιο βόρεια δημιουργώντας έτσι δύο οικισμούς: τον πάνω και κάτω Άγιο Γεώργιο. Το αμπέλι ήταν η κύρια καλλιέργεια της περιοχής και το κρασί, το κύριο προϊόν. Κατ' επέκταση, ο Φλιάσιος οίνος και η Φλιασία άμπελος μετονομάστηκαν σε Αγιωργίτικο κρασί και αμπέλι αντίστοιχα.

## ΠΟΠ Νεμέα

Η οριοθετημένη περιοχή για την παραγωγή οίνων Π.Ο.Π. Νεμέα (Nemea) καθορίστηκε με το Βασιλικό Διάταγμα αριθμ.539 /4-8-1971 (ΦΕΚ 159/Α/14-8-1971) το οποίο στη συνέχεια τροποποιήθηκε με το Προεδρικό Διάταγμα αριθμ 446/10.6.1974 (ΦΕΚ 174/Α/25.6.1974), με το Προεδρικό Διάταγμα αριθμ. 457/15.9.1988 ( ΦΕΚ 210/Α/26.9.1988) και με το Προεδρικό Διάταγμα αριθμ. 21/21.1.1995 ( ΦΕΚ 16/Α/31.1.1995).



Η αμπελουργική ζώνη της Νεμέας βρίσκεται στη βορειοανατολική πλευρά της Πελοποννήσου και περιλαμβάνει τις κοινότητες: Αηδόνια, Αρχαίες Κλεωνές, Αρχαία Νεμέα, Ασπρόκαμπος, Γαλατάς, Δάφνη, Καστράκι, Κεφαλάρι, Κούτσι, Λεόντιο, Μποζικά, Νεμέα, Πετρί, Τιτάνη και Ψάρι που ανήκουν στο Νομό Κορινθίας και τις κοινότητες Γυμνό και Μαλανδρένι που ανήκουν στο Νομό Αργολίδας.

*Εικόνα 1. Χάρτης Ν.Ελλάδας (Πηγή: Google Earth)*

## 1.1. ΟΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ

Οι ερυθροί ξηροί οίνοι Π.Ο.Π. Νεμέα παράγονται με την κλασική μέθοδο ερυθράς οινοποίησης. Η αλκοολική ζύμωση του σταφυλοπολλτού και του οίνου σε ζύμωση μετά το διαχωρισμό από τα στέμφυλα γίνεται σε ελεγχόμενες θερμοκρασίες μικρότερες των 30° C.

Οι ερυθροί ημίγλυκοι οίνοι Π.Ο.Π. Νεμέα παράγονται είτε με διακοπή της ζύμωσης είτε με προσθήκη στο ξηρό οίνο ανακαθορισμένου ή συμπυκνωμένου γλεύκους. (ΚΑΝ. 606/2009 Παράρτημα ΙΔ ).

Οι ερυθροί γλυκείς οίνοι (Vin Doux) Π.Ο.Π. Νεμέα παράγονται με την προσθήκη στο γλεύκος, πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, αλκοόλης αμπελοοινικής προελεύσεως αλκοολικού τίτλου τουλάχιστον 95% vol., ώστε το τελικό προϊόν να έχει το νομοθετημένο κτηθέντα και ολικό αλκοολικό τίτλο. Ο οίνος του τύπου αυτού περιέχει το σύνολο των σακχάρων του γλεύκους. Παρά ταύτα είναι ανεκτή για τα γλεύκη βάσης είναι ανεκτή περιεκτικότητα σε αιθυλική αλκοόλη τουλάχιστο 1% vol.

## 1.2. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ

Οι οίνοι ΠΟΠ Νεμέα προέρχονται από σταφύλια αμπελώνων οι οποίοι έχουν μορφωθεί σε κυπελλοειδή ή γραμμικά σχήματα και δέχονται βραχύ κλάδεμα.

## 1.3. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ

Η αμπελοοινική ζώνη της Νεμέας εκτείνεται σε υψόμετρο 200-850 μέτρα. Το κλίμα της ευρύτερης περιοχής είναι το τυπικό μεσογειακό κλίμα, με μέση ετήσια θερμοκρασία 17°C, και μέση ετήσια βροχόπτωση 750mm. Η ζώνη διαιρείται σε τρεις υποζώνες, την ορεινή στην οποία οι αμπελώνες βρίσκονται σε υψόμετρο 550-850 μέτρα και παρατηρείται οψίμιση της παραγωγής, την ημιορεινή όπου περιλαμβάνει τις πλαγιές και εκτείνεται σε υψόμετρο 320-550 μέτρα και την πεδινή σε υψόμετρο 200-320 μέτρα. Ο τρύγος ξεκινάει περίπου μετά τα μέσα του Σεπτεμβρη στην πεδινή ζώνη όπου τότε έχει ολοκληρωθεί και η ωρίμανση των σταφυλιών. Ακολουθεί η ημιορεινή και 20-25 αργότερα μέρες η ορεινή ζώνη.

Τα εδάφη των αμπελώνων είναι μέσης περιεκτικότητας σε οργανική ουσία, με μέτρια αλκαλικά pH, και με σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε ανθρακικό ασβέστιο.

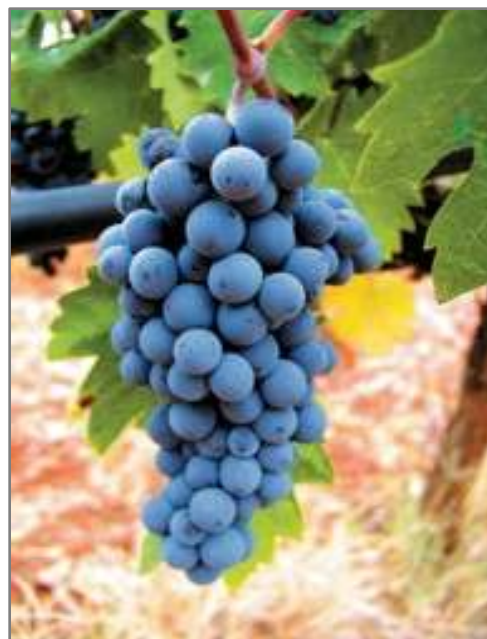
## 1.4. ΛΕΟΝΤΙΟ

Το Λεόντιο ανήκει στον δήμο Νεμέας της Περιφερειακής Ενότητας Κορινθίας της Περιφέρειας Πελοποννήσου. Έχει υψόμετρο 351 μέτρα από την επιφάνεια της θάλασσας, σε γεωγραφικό πλάτος 37,7946972103 και γεωγραφικό μήκος 22,591969915.

## 1.5. ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ

Η ποικιλία Αγιωργίτικο καλλιεργείται στην ευρύτερη περιοχή της Νεμέας (27.000 στρ. περίπου). Γνωστή και ως Μαύρο Νεμέας ή Μαυρούδι (Νεμέας) αν και βάσει βιοχημικών μεθόδων (Σταυρακάκης 1990), το συνώνυμο Μαυρούδι είναι διαφορετική ποικιλία.

Η αμπελουργική ζώνη παραγωγής ερυθρών ΟΠΑΠ (Οίνοι Ονομασίας Προελεύσεως Ανωτέρας Ποιότητας) «Νεμέα» είναι η μεγαλύτερη στην Ελλάδα και χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια εδαφικών και κλιματικών συνθηκών (υψόμετρο 250-850μ.) λόγω της μεγάλης έκτασης της. Η καλλιέργεια του Αγιωργίτικου καλύπτει το 80% των αμπελώνων της περιοχής. Συνίσταται για τα αμπελουργικά διαμερίσματα της Πελοποννήσου, της Ν.Α. Αττικής, Πειραιώς, τους νομούς Αιτωλοακαρνανίας, Βοιωτίας και Εύβοιας και επιτρέπεται στους νομούς Δράμας, Πέλλας, Πιερίας.



**Εικόνα 2.** Αγιωργίτικο σταφύλι. (Πηγή [www.biozo.gr](http://www.biozo.gr))

### 1.5.1. ΑΜΠΕΛΟΓΡΑΦΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΤΑΔΙΑ

*Κορυφή νεαρής βλάστησης:* Μετρίως ανοιχτή έως ανοιχτή, κιτρινοπράσινη, χνοώδης, κατά τόπους βαμβακώδης, με πόδινη παρυφή.

*Νεαρά φύλλα:* Πράσινα, χνοώδη-βαμβακώδη στην κάτω επιφάνεια σιλπινά, με μικρές ροδόχροες και οριχάλκινες περιοχές, μεταξώδη στην άνω επιφάνεια του ελάσματος.

*Πωδης βλαστός:* Οριζόντιος, αραχνουφής, πράσινος έως κιτρινοπράσινος στην κοιλιακή πλευρά, πράσινος με ερυθρές ραβδώσεις στην νωτιαία πλευρά. Κόμβοι αραχνουφής, ερυθροί με πράσινα στίγματα. Οφθαλμοί πράσινοι με ερυθρές περιοχές.

*Ανεπτυγμένο φύλλο:* Μέτριο έως μεγάλο, σφηνοειδές, πεντάκολλο (135-3-58). Έλασμα κυματώδες, ελαφρώς πομφολυγώδες, παχύ με αναδιπλώσεις κατά μήκος των κυρίως νευρώσεων, βαθυπράσινο και λείο στην άνω επιφάνεια. Μισχικός κόλπος κλειστός, σχήματος V, με επικαλυπτόμενους λοβούς. Ανώτεροι κόλποι βαθείς, κλειστοί, σχήματος V, με επικαλυπτόμενους λοβούς. Κατώτεροι κόλποι μέτριου βάθους, με συγκλίνοντα χείλη, σχήματος U ή V. Νευρώσεις κιτρινοπράσινες, χνοώδεις στην κάτω επιφάνεια του ελάσματος. Οδόντες μέτριοι έως μεγάλοι, με τις πλευρές σχεδόν ευθείες. Μίσχος μέτριου μήκους και πάχους, πράσινος με ερυθροιώδεις ραβδώσεις, χνοώδης, με αραιά όρθια τριχίδια.

*Έλικες:* Διαλείπουσες, λείες, πράσινες, δισχιδείς και πολυσχιδείς, μέτριου έως και μεγάλου μήκους.

*Σταφυλή:* Μέτρια, κωνική ή κυλινδροκωνική, συχνά διπλή, πυκνή έως πολύ πυκνή. Ποδίσκος βραχύς έως μέτριος που κατά κανόνα ξυλοποιείται πλήρως, δυσχερούς αποκοπής.

*Ράγα:* Μικρή έως μέτρια, σφαιρική ενίοτε ωοειδής. Φλοιός μετρίως παχύς έως παχύς, μετρίως ανθεκτικός, κυανομέλας, πλούσιος σε ανθοκυάνες, καλυμένος με άφθονη ανθηρότητα. Σάρκα χυμώδης, γλυκιά έως ελαφρά υπόξινη, μετρίως μαλακή. Ποδίσκος βραχύς, πράσινος, χαλαρής πρόσφυσης και ευχερούς απόσπασης.

*Γίγαρτα:* 2-3, συνήθως δύο ανά ράγα, μέτρια, απιοειδή, με ράμφος παχύ.

*Κληματίδα:* Ερυθροκάστανη έως ερυθροιώδης με φακίδια, κυκλικής έως ελλειψοειδούς τομής, γωνιώδης, λεία.

*Έναρξη βλάστησης:* Τέλη 3<sup>ου</sup> δεκαημέρου του Μαρτίου. *Πλήρης βλάστηση:* Αρχές 3<sup>ου</sup> δεκαημέρου του Απριλίου. *Έναρξη άνθησης- Πλήρης άνθηση:* 2<sup>ο</sup> δεκαήμερο του Μαΐου. *Έναρξη ωρίμανσης:* Τέλη του 3<sup>ου</sup> δεκαημέρου του Ιουλίου. *Πλήρης ωρίμανση:* 3<sup>ο</sup> δεκαήμερο του Σεπτεμβρίου, ενίοτε και νωρίτερα.

---

### 1.5.2. ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ

Ποικιλία μετρίως ζωηρή έως ζωηρή, εύρωστη, όψιμης ωρίμανσης, πολύ παραγωγική. Ο τυφλός οφθαλμός είναι γόνιμος. Στους νέους αμπελώνες τα πρέμνα μορφώνονται σε γραμμικά σχήματα, το κλάδεμα καρποφορίας είναι βραχύ.

Ιδιαίτερο ρόλο στην ποιότητα των παραγόμενων οίνων φαίνεται να παίζει η διαμόρφωση του ανάγλυφου του εδάφους και η αυξημένη ατμοσφαιρική υγρασία υπό την επίδραση των καταβατικών ανέμων, ειδικά στους ημιορεινούς αμπελώνες που επηρεάζουν σημαντικά το βαθμό της υδατικής καταπόνησης των πρέμνων συμβάλλοντας στην ομαλή ωρίμανση με όλες τις ευεργετικές επιπτώσεις στην ποιότητα των σταφυλιών και των παραγόμενων οίνων.

Η ποικιλία Αγιωργίτικο καλλιεργείται σε διαφόρων ειδών εδάφη, αργιλώδη, αργιλοπηλώδη, μαργώδη, σχιστολιθικά, όπως είναι τα περισσότερα εδάφη της αμπελοργικής ζώνης της Νεμέας.

Η συμπεριφορά της ποικιλίας Αγιωργίτικο στους επιτραπέζιους και επιτόπιους εμβολιασμούς είναι ικανοποιητική και δεν παρουσιάζει προβλήματα μη αρμονικής συμβίωσης με τα αντιφυλλοξηρικά υποκείμενα της 110 R και 41 B που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά την πρώτη αναμπέλωση αλλά και με τα 1103 P, 140 Ru.

---

### 1.5.3. ΤΟ ΓΛΕΥΚΟΣ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ

Το γλεύκος της ποικιλίας χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα (220-240 g/L), χαμηλή οξύτητα (4,4-4,6 g/L σε τρυγικό οξύ) και έχει pH 3.4-3.8. Από τις πλουσιότερες ελληνικές ποικιλίες αμπέλου σε ανθοκυάνες (900-1.000mg/Kg ραγών) και ολικές φαινόλες (2.400-2.500 mg/Kg ραγών), (*Χαρβαλιά και Μπένα- Τζούρου, 1981*). Σύμφωνα με την Χαρβαλιά, (Κουράκου, 1998), πρόκειται για μία από τις τέσσερις πιο πλούσιες σε ανθοκυάνες καλλιεργούμενες γηγενείς ποικιλίες (Αγιωργίτικο, Βερτζαμί, Μανδηλαριά, Μαυροδάφνη) στη χώρα μας. Η ποικιλία Αγιωργίτικο περιέχει περίπου 600 mg ανθοκυανών ανά kg ραγών (Λαναρίδης, Μπένα- Τζούρου, 1997). Οι τιμές αυτές επηρεάζονται έντονα από τον κλώνο, την εφαρμοζόμενη καλλιεργητική τεχνική και τις εδαφοκλιματικές συνθήκες.

Οι οίνοι που παράγονται από την ποικιλία Αγιωργίτικο χαρακτηρίζονται από πλούσιο, βαθύ χρώμα με ιώδεις αποχρώσεις και έχουν ικανότητα παλαίωσης. Μετά την παλαίωση αποκτούν άρωμα και χρώμα.

Το αγιωργίτικο είναι ποικιλία που παρουσιάζει περισσότερους του ενός βαθμούς τεχνολογικής ωριμότητας και κατά συνέπεια θεωρείται «πολυδυναμική ποικιλία». Όπως

αναφέρθηκε οι μεγάλες υψομετρικές διαφορές που χαρακτηρίζουν την ζώνη, αλλά και οι διαφορές στο ανάγλυφο και στη σύσταση του εδάφους των αμπελώνων, οδηγούν σε σταφυλική παραγωγή και, κατ' επέκταση, σε οίνους με διαφορετικά χαρακτηριστικά.

## 1.6. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΤΑΝΙΝΕΣ

### 1.6.1. ΓΕΝΙΚΑ

Οι φαινολικές ενώσεις παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην ποιότητα των παραγόμενων οίνων καθώς καθορίζουν τη γεύση του (στυφή, πικρή), την αίσθηση που ορίζεται ως το σώμα, το χρώμα, την ένταση και τη σταθερότητά του. Χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα φλαβονοειδή και τα μη φλαβονοειδή. Οι μη φλαβονοειδείς φαινόλες περιλαμβάνουν τα βενζοϊκά και τα υδροξυκιναμωμικά οξέα και τα σιλβένια. Στις σημαντικότερες φλαβονοειδείς ενώσεις εντοπίζονται οι ανθοκυάνες και οι φλαβανόλες που πολυμερισμένες δίνουν τις τανίνες.

Μία από τις σημαντικότερες συνεισφορές των φαινολικών στον οίνο είναι το χρώμα και συγκεκριμένα από τις ανθοκυάνες που δίνουν το κόκκινο χρώμα στους οίνους. Το χρώμα στον ερυθρό και στον λευκό οίνο προέρχεται από ένα μικρό ποσοστό (0,5%) από τα συστατικά του κρασιού. Εκτιμάται ότι το 99,5% των συστατικών του οίνου είναι διαφανές στο ορατό φάσμα του φωτός (Somers 1998).

Οι ανθοκυάνες εντοπίζονται στο φλοιό των ραγών των *cv vinifera*, πλην των «βαφικών ποικιλιών» στις οποίες βρίσκονται στη σάρκα των ραγών (πχ. Alicante bouschet) ή ορισμένων ραγών σε στάδιο υπερωρίμανσης, λόγω γήρανσης κυττάρων και διάχυσης χρωστικών στη σάρκα. Είναι επίσης παρούσες στα φύλλα, κυρίως κατά το τέλος της περιόδου ανάπτυξης, όπου και χρωματίζονται ερυθρά. Από τον ποσοτικό προσδιορισμό των ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς των πιο διαδομένων ελληνικών ερυθρών ποικιλιών, προέκυψε ότι αυτές κυμαίνονται από 100mg μέχρι 1500 mg/Kg ραγών (Κουράκου, Σ., 1998).

Στα είδη *Vitis Vinifera L.* υπάρχουν πέντε τύποι ανθοκυανών – η μαλβιδίνη, η πεονιδίνη, η πετουινιδίνη, η δελφινιδίνη και η κυανιδίνη. Για να τις απομονώσουμε και να τις εμφανίσουμε, γίνεται εκχύλιση των ανθοκυανών και στη συνέχεια μέσω διαφορετικών μεθόδων και πρωτοκόλλων τις υπολογίζουμε.

Οι τανίνες απαντούν στα στερεά μέρη της σταφυλής. Στα γίγαρτα απαντούν σε ποσοστό μέχρι 65%, στους βοστρύχους μέχρι 22%, στους φλοιούς μέχρι 12% ενώ στη σάρκα σε ποσοστό μόλις 1%.

Στις τανίνες των σταφυλιών γίνεται διαχωρισμός μεταξύ των τανινών των γιγάρτων και του φλοιού. Στο φλοιό οι τανίνες είτε εντοπίζονται στα χυμοτόπια σχηματίζοντας πυκνά συμπλέγματα στα κύτταρα που είναι κοντά στην επιδερμίδα, είτε είναι ισχυρά συνδεδεμένες με την πρωτεΐνο-φωσφολιπιδική μεμβράνη, είτε είναι ενωμένες με το κυτταρικό τοίχωμα. Στα γίγαρτα βρίσκονται στην εφυμενίδα και στον κερατοειδή ιστό του κελύφους και αποδεσμεύονται στο περιβάλλον μόνο όταν η επιδερμίδα γίνει διαλυτή (Κουράκου Σ., 1998, Ribereau-Gayon et al., 2000, Castaneda et al., 2009).

Από χημικής άποψης, οι τανίνες είναι μεγαλομόρια με φαινολικό δακτύλιο που προκύπτουν από τον πολυμερισμό στοιχειωδών μορίων με φαινολική ομάδα.

Χωρίζονται σε συμπυκνωμένες ανθοκυανιδίνες και σε υδρολυόμενες τανίνες που όταν αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες σχηματίζονται διαλυτά και αδιάλυτα σύμπλοκα (Makkar, 1989).

#### 1.6.2. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΡΑΓΩΝ

Τα φαινολικά συστατικά αποτελούν δευτερεύοντα συστατικά του καταβολισμού των σακχάρων και τα μονοπάτια βιοσύνθεσής τους είναι ενεργά από την έναρξη ανάπτυξης των ραγών (Κοτσερίδης Γ., 2005).

Ειδικά για τον ερυθρό οίνο, οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοσύνθεση και τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών καθορίζουν την ποιότητα και τη δυνατότητά του για παλαίωση. Ως εκ τούτου είναι σημαντικό να καθορίζεται το φαινολικό δυναμικό των σταφυλιών (Arozarena et al., 2000).

##### 1. Καλλιεργούμενη ποικιλία

Κάθε ποικιλία και συγκεκριμένα κάθε καλλιεργούμενος κλώνος, χαρακτηρίζεται από ένα ξεχωριστό πολυφαινολικό δυναμικό (Arozarena et al., 2000).

##### 2. Βαθμός ωριμότητας

Αρχικά λαμβάνει χώρα συσσώρευσης φαινολικών συστατικών μέχρι ενός βαθμού ωριμότητας χαρακτηριστικού της κάθε ποικιλίας. Ακολουθεί μια περίοδος στασιμότητας και εν συνεχεία, αρχίζει να μειώνεται η περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες, ενώ η ποσότητα των ολικών φαινολών δε μεταβάλλεται ουσιαστικά.

Συγκεκριμένα για τις τανίνες, ο βαθμός ωριμότητας των σταφυλιών επηρεάζει σημαντικά και το βαθμό πολυμερισμού τους που είναι υπεύθυνος για το σχηματισμό διαφόρων ενώσεων, τη διαφοροποίηση του χρώματος και τη στυφή τους γεύση. Καθώς η σταφυλή



ωριμάζει, ο βαθμός πολυμερισμού αυξάνεται, κατ' επέκταση οι άωρες σταφυλές είναι πιο στυφές από τις ώριμες (Σταυρακάκης Μ., 1999).

### 3. Εδαφοκλιματικές συνθήκες

Σημαντικό ρόλο στις επίδραση των φαινολικών παίζει το έδαφος, όπου εδάφη αργιλώδη και συνεκτικά οδηγούν στην παραγωγή σταφυλιών χαμηλής περιεκτικότητας σε σάκχαρα, υψηλής σε οργανικά οξέα και φαινολικά συστατικά. Επίσης, το υψόμετρο όπου στο στάδιο της ωρίμανσης των ραγών, το χαμηλό υψόμετρο επιδρά ευνοϊκά στη βιοσύνθεση μεγαλύτερων συγκεντρώσεων των μονομερών κατεχινών που βρίσκονται στους φλοιούς (Mateus et al. 2001).

Η εξέλιξη της σύνθεσης των ανθοκυανών και των τανινών επηρεάζεται σημαντικά από τις εκάστοτε κλιματολογικές συνθήκες. Η ηλιακή ακτινοβολία εμπλέκεται καθοριστικά σε όλα τα στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών (Jackson D., 1993, Coombe B., 1992). Η συγκέντρωση των ανθοκυανών επηρεάζεται από την ένταση της φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολίας και αυξάνεται όταν οι ράγες ωριμάζουν υπό συνθήκες υψηλής έντασης φωτός. Επίσης παρατηρείται αύξηση στη συγκέντρωση των μονοτερπενοεδίων ενώσεων (Razungles et al, 1998, Pereira et al., 2006).

Επιπλέον, σημαντικό ρόλο παίζει η θερμοκρασία που επηρεάζει τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στη ράγα. Ακραίες θερμοκρασίες μεταξύ ημέρας και νύχτας (άνω των 35 και κάτω των 15°C) μειώνουν τη συγκέντρωση των ανθοκυανών (Jackson D., 1993, Coombe B., 1992, Ribereau-Gayon et al., 1998)

### 4. Υγρασία

Η υπερβολική ή η ανεπαρκής υγρασία επηρεάζει αρνητικά την ωρίμανση και την ποιότητα των σταφυλιών (Van Leeuwen et al., 2003). Σε περιοχές με πολλές βροχοπτώσεις παρουσιάζεται καθυστέρηση στην πορεία ωρίμανσης των ραγών, έστω και αν οι θερμοκρασίες που επικρατούν είναι ευνοϊκές, ενώ ο κίνδυνος ανάπτυξης ασθενειών είναι ιδιαίτερα μεγάλος (Jackson et al., 1993).

### 5. Καλλιεργητικές τεχνικές

Η πυκνότητα φύτευσης, η επιλογή συστήματος μόρφωσης, η επιλογή του κατάλληλου υποκειμένου και οι καλλιεργητικές τεχνικές παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη συγκέντρωση φαινολικών ουσιών στη ράγα.

### 6. Άρδευση

Τα πρέμνα έχουν ανάγκη ορισμένης ποσότητας νερού σε καθορισμένες περιόδους κατά τον ετήσιο κύκλο βλάστησης. Η κατάσταση του νερού στο πρέμνο επηρεάζει τη σύσταση της ράγας. (Roby et al., 2004).

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

Έλλειψη ύδατος οδηγεί στη μείωση της φωτοσύνθεσης, του ρυθμού ανάπτυξης των διάφορων οργάνων του πρέμνου και στον περιορισμό του μεγέθους των ραγών. Από την άλλη, προωθεί τη σύνθεση των φαιολικών συστατικών ενώ ένα μέτριο υδατικό έλλειμμα αυξάνει τον ρυθμό ωρίμανσης εξαιτίας της μείωσης ανταγωνισμού μεταξύ των πόλων έλξης των θρεπτικών συστατικών και του μικρότερου όγκου των ραγών και συνεπώς προωμίζει την παραγωγή. Επιπλέον, αυξάνεται η συγκέντρωση του αμπισισικού οξέος (ABA) που ευνοεί την ωρίμανση των ραγών. Όμως σε έντονο υδατικό stress τα φυτά αδυνατούν να φωτοσυνθέσουν και οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην ωρίμανση των ραγών αδρανοποιούνται (Van Leeuwen et al., 2003).

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

## 2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Υψηλής ποιότητας ερυθροί οίνοι έχουν βαθύ ερυθρό χρώμα, γεμάτο σώμα και μαλακές τανίνες. Αυτά τα χαρακτηριστικά συσχετίζονται με την φαινολική ωριμότητα συμπλόκων, τα οποία περιλαμβάνουν τις ανθοκυάνες και τις τανίνες (ή προανθοκυανιδίνες) και βρίσκονται κατά κύριο λόγο στους φλοιούς και στα γίγαρτα των ερυθρών ποικιλιών. (Zamora, 2003).

Οι τανίνες, που είναι στυφές, πολυμερίζονται με τις ανθοκυάνες για να σχηματίσουν πιο αποδεκτά οργανοληπτικά στοιχεία. Ο υψηλός βαθμός πολυμερισμού σχετίζεται με την υψηλή φαινολική ωριμότητα. Γενικά, για αποφυγή της έντονης στυπτικότητας προτιμάται ο τρύγος σταφυλιών με μεγαλύτερη φαινολική ωριμότητα.

Γενικά, τα τελευταία έτη, λόγω της κλιματικής αλλαγής συνήθως τα σταφύλια ωριμάζουν γρηγορότερα που όμως για να υπάρξει αποδεκτή φαινολική ωριμότητα θα πρέπει να υπερβεί ο χρόνος της ωρίμανσης σακχάρων. Δημιουργούνται έτσι οίνοι με υψηλότερο αλκοολικό βαθμό, όχι απαραίτητα θετικό για τα οινοποιεία και τους καταναλωτές. Έτσι λοιπόν, προέκυψε η ανάγκη για γρηγορότερο τρύγο με σταφύλια που έχουν τη αποδεκτή φαινολική ωριμότητα για παραγωγή ερυθρών οίνων υψηλής ποιότητας.

### 2.1. ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΕΣ

Οι ζύμες που απαντώνται στη σταφυλή ανήκουν συνήθως στα γένη *Metschnikowia*, *Hansenula*, *Hanseniaspora*, *Candida* και *Kloeckera* και είναι γνωστές ως άγριες ζύμες (Castelli, 1957, Adams, 1960).

Ο αριθμός των ζυμομυκήτων που βρίσκονται στα σταφύλια ακριβώς πριν τον τρύγο είναι της τάξης του  $10^3$  και  $10^5$  εξαρτώμενο από τη γεωγραφική κατάσταση του αμπελώνα, τις κλιματικές συνθήκες κατά των ωρίμανση και τις παρασιτοκτόνες επεμβάσεις. (Glories, ). Μετά τον τρύγο όμως μειώνονται.

Το είδος *Saccharomyces* απαντάται σε πολύ μικρότερο βαθμό στις σταφυλές, έχει επικρατήσει όμως ως ο κύριος μικροοργανισμός για την περάτωση της αλκοολικής ζύμωσης αφού παρουσιάζει πολύ καλή προσαρμοστικότητα στις αναερόβιες συνθήκες που αναπτύσσονται κατά την αλκοολική ζύμωση. Κατά την αλκοολική ζύμωση λόγω των αναερόβιων συνθηκών, υπάρχει απουσία μικροβιακής δραστηριότητας αερόβιων μικροοργανισμών, όπως είναι οι μύκητες και τα αερόβια βακτήρια. Δεν ισχύει το ίδιο όμως για τις άγριες ζύμες που είναι προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί και έτσι παρευρίσκονται στην αλκοολική ζύμωση και ανταγωνίζονται ως προς τα θρεπτικά συστατικά τον ζυμομύκητα *Saccharomyces*. Ωστόσο, λόγω της μη καλής

προσαρμοστικότητας των ειδών αυτών στις εν λόγω συνθήκες, στο τέλος της ζύμωσης ανιχνεύεται ένας πολύ μικρός αριθμός (Boulton et al., 1996).

Κατά τον Walker (1998), τα μακρομοριακά συστατικά των κυττάρων των ζυμών περιλαμβάνουν τις πρωτεΐνες, τις γλυκοπρωτεΐνες, τους πολυσακχαρίτες, τα πολυφωσφορικά, τα λιπίδια και τα νουκλεϊκά οξέα.

Ο *Saccharomyces* είναι ένας ευκαρυωτικός μικροοργανισμός με χαρακτηριστικό λεμονοειδές σχήμα, ο οποίος πολλαπλασιάζεται αγενώς με εκβλαστήσεις. Είναι ένας οξέοφιλος μικροοργανισμός που αναπτύσσεται κυρίως σε ελαφρώς ή μετρίως όξινο περιβάλλον (pH 4,5-6,5) με άριστη θερμοκρασία αύξησης τους 20-25°C.

Ο βιολογικός κύκλος του *Saccharomyces cerevisiae* αποτελείται από δύο φάσεις, την απλοειδή και τη διπλοειδή. Αν υπάρχει αρκετή ποσότητα θρεπτικών στοιχείων, τόσο ο απλοειδής, όσο και ο διπλοειδής τύπος μπορούν να υφίστανται συνεχείς κύκλους αύξησης και μίτωσης. Ο μικροοργανισμός παρουσιάζει ένα μεγάλο αριθμό εναλλακτικών μορφών αύξησης. Το ερέθισμα για τον καθορισμό της εκάστοτε μορφής είναι αποκλειστικά θρεπτικό.

Οι απενεργοποιημένοι ζυμομύκητες είναι ζυμομύκητες που η δράση τους έχει επέλθει σε κατάσταση αδράνειας αλλά δρουν σαν παράγοντες ωρίμανσης των φαινολικών και εμπλουτισμού με βιταμίνες. Περιλαμβάνουν κυρίως τα αμινοξέα που έχουν ήδη συντεθεί από τον ζυμομύκητα.

Για τον λόγο αυτό, χρησιμοποιήθηκαν απενεργοποιημένοι ζυμομύκητες. Η χρήση απενεργοποιημένων ζυμομυκήτων ως είδος βιολογικής διαφυλλικής λίπανσης δεν είναι κάτι καινούριο. Στο παρελθόν, έχει χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της ανάπτυξης των φυτών (US.Pat. App. US2009/0173122 A1 to Stemwedel).

## 2.2. ΠΡΟΪΟΝ

Αξιοποιώντας τους απενεργοποιημένους ζυμομύκητες, η γαλλική εταιρία Lallemand ανέλαβε την παραγωγή και διάθεση ενός νέου καινοτόμου προϊόντος με σκοπό την φαινολική ωριμότητα των κόκκινων σταφυλιών. Τον Φεβρουάριο του 2014 έλαβε την πατέντα υπό τον αριθμό US 2014/0044832 A1, για το νέο της προϊόν. Στους ερευνητές συμπεριλαμβάνονται οι Carlos Suarez Martinez και Jose Maria Heras Manso από την Ισπανία, και οι Bruno Sanchez και Jean-Marc Sanchez από τη Γαλλία.

Σύμφωνα με τις πληροφορίες από την δημοσίευση της πατέντας, το προϊόν αποτελείται από το λιγότερο ένα ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* ή μη- *Saccharomyces*. Τα άλλα στελέχη που το απαρτίζουν μπορεί να είναι *Saccharomyces cerevisiae* ή μη-

Saccharomyces ή πολλοί ζυμομύκητες Saccharomyces ταυτόχρονα. Όσοι προέρχονται από μη- Saccharomyces , μπορεί να αποτελούνται από Candida sp, Hanseniaspora sp, Hansemula sp, Kluyveromyces sp, Metschnikowia sp, Pichia sp, Starmerella sp και Torulaspora sp.

Επίσης, η σύνθεση ζυμομυκήτων μπορεί να περιλαμβάνει τουλάχιστον ένα ζυμομύκητα εμπλουτισμένο με βιταμίνες και θρεπτικά στοιχεία.

Η σύνθεση του είναι ένα συνονθύλευμα από τουλάχιστον ένα από τα ακόλουθα: ζωντανό ζυμομύκητα, απενεργοποιημένο ζυμομύκητα, αυτολυόμενες ζύμες, εκχύλισμα του ζυμομύκητα κυτταρικό τοίχωμα ζυμομύκητα και ό,τι άλλο παράγωγο ζυμομύκητα μπορεί να εξαχθεί μέσω φυσικοχημικής ή ενζυματικής μετατροπής.

Κατά την εφαρμογή της μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε ως αυτοτελές προϊόν είτε συνδυαστικά με άλλα θρεπτικά λιπάσματα και ζιζανιοκτόνα. Επίσης, μπορεί να είναι σε διάφορες φάσεις, όπως υγρή, αέρα, κρεμώδης υφή. Η σύνθεση όμως θα πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον 0,05%κ.β. , προτιμότερο να είναι μεταξύ 0,15 και 0,5% κ.β. απενεργοποιημένου ζυμομύκητα.

Η προτεινόμενη εφαρμογή είναι ο διαφυλλικός ψεκασμός με το λιγότερο δύο επαναλήψεις σε αμπελώνα. Η ποσότητα λίπανσης θα πρέπει να είναι το λιγότερο 0,1Kg/hectare, ειδικότερα 0,25-4kg/hectare. Ο πρώτος ψεκασμός θα πρέπει να γίνεται στην αρχή του περκασμού και να ολοκληρώνεται μέχρι το τέλος του. Ιδανικά, δύο επαναλήψεις με τη δεύτερη να γίνεται 10-16 μέρες μετά την πρώτη.

Η χρήση του προϊόντος ενδείκνυται για παραγωγή σταφυλοχυμού καθώς και προϊόντα ζυμώσεως, δηλαδή οίνο με βελτιωμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Η αλκοολική ζύμωση μπορεί να ξεκινήσει μόνη της ή με τη προσθήκη ζυμών ζυμομύκητα Saccharomyces cerevisiae ή μη- Saccharomyces.

### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Σε αυτό το κεφάλαιο γίνεται αναλυτική περιγραφή όλων των μεθόδων και αναλύσεων που έλαβαν χώρα κατά τη διάρκεια του πειραματικού μέρους της μεταπτυχιακής εργασίας. Περιγράφονται ξεχωριστά οι μέθοδοι για τις αναλύσεις που έγιναν σε ολόκληρη τη ράγα, στους φλοιούς και στα γίγαρτα, στον παραχθέντα οίνο καθώς και ο οργανοληπτικός έλεγχος.

Για τις αναλύσεις που περιγράφονται, χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα μηχανήματα:

<b>Φασματοφωτόμετρο</b>	• V-530 (Jasco)
<b>Ultra-turrax</b>	• T25
<b>Φυγόκετρος</b>	• 4000 prm: Rotofix 32A Hettich Zentrifugen • 12000prm: Hevaeus Pico 17
<b>Αναδευτήρας</b>	• IKA KS 130 basic

#### 3.1. ΠΕΙΡΑΜΑ

Ο σκοπός του πειράματος ήταν η δοκιμή ενός νέου προϊόντος απενεργοποιημένων ζυμομυκήτων στην ποικιλία Αγιωργίτικο για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των απενεργοποιημένων ζυμομυκήτων στα φαινολικά χαρακτηριστικά της ράγας και κατά συνέπεια του παραχθέντος οίνου.

Το πείραμα έλαβε χώρα σε αμπελώνα στο Λεόντιο της Νεμέας κατά το έτος 2013. Έγιναν δύο διαφυλλικοί ψεκασμοί, στις 27 Ιουλίου και στην 1 Αυγούστου του 2013. Η αναλογία της λίπανσης ήταν η διάλυση του προϊόντος σε δέκα φορές το βάρος του σε νερό, για την κάλυψη αναγκών ενός εκταρίου αντιστοιχούν 200-600L νερού.

Δημιουργήθηκαν τέσσερις συνθήκες στον αμπελώνα για σύγκριση αποτελεσμάτων μετά από τις εργαστηριακές αναλύσεις από όπου συλλέξαμε δείγματα από αυτά τα τέσσερα αμπελοτεμάχια. Από το κάθε αμπελοτεμάχιο και κατ' επέκταση συνθήκη, συλλέξαμε τρία δείγματα ώστε να ελέγξουμε την επαναληψιμότητα για ορθότερα αποτελέσματα.

Συγκεκριμένα, οι συνθήκες που δημιουργήθηκαν στα σταφύλια ήταν οι ακόλουθες:

Περιγραφή Συνθήκης	Αρχικά
Ποτισμένο & Μη Ψεκασμένο	Π.ΜΨ
Μη Ποτισμένο & Μη Ψεκασμένο	ΜΠ.ΜΨ
Ποτισμένο & Ψεκασμένο	Π.Ψ
Μη Ποτισμένο & Ψεκασμένο	ΜΠ.Ψ

### 3.2. Ο ΑΜΠΕΛΩΝΑΣ

Το πείραμα εξελίχθηκε σε ιδιόκτητο αμπελώνα του κ.Φασουλή στο Λεόντιο της Νεμέας (γεωγραφικό πλάτος 37° 79' και γεωγραφικό μήκος 22° 61') συνολικής έκτασης 1,2ha και υψομέτρου 302 μέτρων. Η σύσταση του εδάφους είναι 30% αμμώδες, 25% ιλυώδες και 45% αργιλώδες. Η ποικιλία του αμπελώνα όπως έχει προαναφερθεί είναι το Αγιωργίτικο (*Vitis Vinifera L.cv Agiorgitiko*) σε υποκείμενα 1103 Paulsen (*V.Rupestris x V.Berlandieri*). Τα πρέμνα είναι ηλικίας 10 ετών. Οι γραμμές φύτευσης είναι 1m X 2,5m με 400 πρέμνα ανά στρέμμα. Τα πρέμνα είναι διαμορφωμένα με γραμμικό σύστημα υποσύλωσης (αμφίπλευρο Royat). Ο αριθμός των βραχιόνων κυμαίνεται σε οκτώ σε κάθε πρέμνο και εφαρμόζεται βραχύ κλάδεμα καρποφορίας (2-3 οφθαλμούς ανά παραγωγική μονάδα).

Τα κλιματολογικά χαρακτηριστικά για τα έτη 2012 και 2013 απεικονίζονται στο Διάγραμμα 3.1.

	ΜΗΝΑΣ	ΙΑΝ	ΦΕΒ	ΜΑΡ	ΑΠΡ	ΜΑΙ	ΙΟΥΝ	ΙΟΥΛ	ΑΥΓ	ΣΕΠ	ΟΚΤ	ΝΟΕ	ΔΕΚ
2012	ΜΕΣΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ	2,9	5,1	8,7	14,1	17,6	24,1	26,8	25,3	20,6	17,2	11,8	6,7
	Σ.Υ.	77	83	74	61	58	48	45	51	66	74	82	85
	ΒΡΟΧΟΠΤΩΣΗ	41	186	36	32	23	0	1	29	87	33	47	122
2013	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ	6,2	8,1	10,5	14	19,6	22,3	24,8	24,4	21,1			
	Σ.Υ.	82	79	70	57	55	54	47	46	57			
	ΒΡΟΧΟΠΤΩΣΗ	98	75	40	8	28	10	1	0	0			

Διάγραμμα 3.1 Μετεωρολογικά στοιχεία ετών 2012 και 2013 στην περιοχή του Λεοντίου

### 3.3. ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Η οινοποίηση πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Οινολογίας του τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθήνας τον Σεπτέμβριο του 2013.

Η οινοποίηση έγινε ξεχωριστά για δώδεκα δείγματα που συλλέχθηκαν για τις τέσσερις διαφορετικές συνθήκες. Η διαδικασία ξεκίνησε με διαλογή σταφυλιών και πίεση τους σε παραδοσιακό πιεστήριο. Στη συνέχεια, ο μούστος τοποθετήθηκε σε πλαστικά δοχεία των 15 λίτρων και ακολούθησε προσθήκη ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* 22 (Fermentis, France) 16 g/hL, 3,8g/hL πηκτινολυτικών ενζύμων (Safizym Colour, Fermentis, France) και 65 mg/L θειώδους ανυδρίτη. Έπειτα από τέσσερις ημέρες, τα στέμφυλα αφαιρέθηκαν η αλκοολική ζύμωση συνεχίστηκε μέχρι τερματισμό μετά από επτά μέρες.

Ακολούθησε η μετάγγιση τους και η προσθήκη γαλακτικών βακτηρίων *Oenococcus oeni* για να ξεκινήσει έτσι η Μηλογαλακτική Διεργασία.

Σε καθημερινή βάση γίνονταν μετρήσεις στα Baumé, θερμοκρασίας, έντασης και ΔΦΟ για την παρακολούθηση της πορείας της αλκοολικής ζύμωσης. Επίσης, υπήρχε ανάδευση για την χορήγηση επαρκούς οξυγόνου κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Για την πορεία της Μηλογαλακτικής διεργασίας, έγιναν αναλύσεις με τη μέθοδο TLC (Thin Layer Chromatography).

Στο κεφάλαιο που ακολουθεί περιγράφονται αναλυτικά οι αναλύσεις και οι μέθοδο που εφαρμόστηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος.



**Εικόνα 3.** Πιεστήριο (Πηγή: Χ.Κόγκου)



### 3.4. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΕ ΟΛΟΚΛΗΡΗ ΤΗ ΡΑΓΑ

Οι ράγες των επεμβάσεων συντηρούνται στην κατάψυξη. Για τις αναλύσεις σε ολόκληρες ράγες μετρώνται 50 ράγες και τοποθετούνται σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου ξεπαγώσουν. Στη συνέχεια ζυγίζονται και τοποθετούνται σε πλαστικό περιέκτη για να ομογενοποιηθούν. Η ομογενοποίηση γίνεται με το Ultra Turrax T25 και ακολουθήθηκε πρόγραμμα ομογενοποίησης 2 min. Τα πρώτα 30 s οι στροφές του ομογενοποιητή είναι χαμηλές (6500 rpm) για να πολτοποιηθούν οι ράγες, το διάστημα 30 – 60 s οι στροφές ανεβαίνουν χειροκίνητα στις 9500 rpm και οι ράγες υφίσταται πολτοποίηση σε μεγαλύτερο βαθμό και τέλος το διάστημα από 60 – 120 s οι στροφές ρυθμίζονται στις 17000 – 20000 rpm για το τελικό στάδιο της ομογενοποίησης. Όλα τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν με τον τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω. Τα δείγματα παραμένουν στους πλαστικούς περιέκτες που ομογενοποιήθηκαν.

Ακολούθησε ο υπολογισμός των ανθοκυανών και των ολικών φαινολικών ανά ράγα με τη μέθοδο του Hland. Επίσης, με το πρωτόκολλο Y.Glories υπολογίστηκαν οι ολικές ανθοκυάνες, η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών στον οίνο, η συνεισφορά των τανινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά που εκχυλίζονται, η συγκέντρωση των τανινών που προέρχονται από τους φλοιούς καθώς και η συνεισφορά τους και τέλος η συγκέντρωση των τανινών που προέρχονται από τα γίγαρτα και η συνεισφορά τους.

### 3.4.1. ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ ΚΑΙ ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΤΙΣ ΡΑΓΕΣ (ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ILAND)

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ανθοκυανών στον φλοιό των ραγών και των ολικών φαινολικών χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο κατά τους Iland et al (1996,2000). Η μέθοδος στηρίζεται στην παραδοχή ότι σε διάλυμα pH 1 παρατηρείται πλήρης αποδιοργάνωση των μεμβρανών και ολική εκχύλιση των ανθοκυανών και των ολικών φαινολικών από τα χυμοτόπια των κυττάρων. Στη συνέχεια τα συστατικά που έχουν εκχυλιστεί είναι απορροφούν στις οπτικές πυκνότητες 700, 520 και 280nm του φασματοφωτόμετρου.

#### **Διαδικασία**

Για την εκχύλιση των ανθοκυανών και των ολικών φαινολικών σε δοκιμαστικό σωλήνα χρησιμοποιείται 1g δείγματος (πολυτοποιημένες ράγες) και 10mL υδατικού διαλύματος αιθανόλης (50% υδατικό διάλυμα αιθανόλης διορθωμένο σε pH 2 με HCl). Το διάλυμα μένει για 1h υπό ανάδευση προκειμένου να εκχυλιστεί το 94% των ανθοκυανών του δείγματος. Ακολουθείται

φυγοκέντρηση στις 4000rpm για 10min και λαμβάνονται άμεσα από το υπερκείμενο της φυγοκέντρησης 0,5mL, τα οποία τοποθετούνται σε δοκιμαστικούς σωλήνες και προστίθενται 10mL υδατικού διαλύματος HCl (1M). Τα δείγματα τοποθετούνται σε σκοτεινό μέρος για 3 ώρες και στη συνέχεια λαμβάνονται οι οπτικές πυκνότητες στα 700, 520 nm για τη συγκέντρωση των ανθοκυανών, και 280nm για τη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών. Όμως λόγω του ότι στην διαδικασία ομογενοποίησης περιλαμβάνονται και γίγαρτα, οι τιμές που προκύπτουν είναι υψηλές αφού εμφανίζουν υψηλές συγκεντρώσεις φαινολικών. Η μέτρηση αυτή μπορεί να μην έχει άμεση συσχέτιση με τις τιμές που προκύπτουν κατά την οينوποίηση αλλά η μέτρηση αυτή μας παρέχει πληροφορίες για το σύνολο των ολικών φαινολικών σε όλη τη ράγα (φλοιός, σάρκα και γίγαρτα). Η απορρόφηση στα 700nm δείχνει την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων στα 520 και 280nm. Όταν στα 700nm η τιμή είναι μεγαλύτερη του 0,01 (700nm>0,01), τότε το αποτέλεσμα δεν είναι έγκυρο.

#### **Διαλύματα**

1N υδροχλωρικό οξύ (HCl)

50% αιθανόλη σε νερό pH2

## Υπολογισμοί

Ανθοκυάνες mg / ράγα

$$= \left[ \frac{OD520}{500} * \text{συντελεστής αραίωσης} * \left( \frac{\text{τελικός όγκος εκχύλισης(ml)}}{100} \right) \right] \\ * (\text{βάρος 50 ραγών(g)}) / [(\text{βάρος δείγματος που εκχυλίστηκε (g)} * \left( \frac{100}{50} \right))]$$

$$\text{Ανθοκυάνες / γράγας} = \frac{\text{Ανθοκυάνες mg / ράγα}}{\text{βάρος 50 ραγών/50}}$$

Ολικά φαινολικά συστατικά / ράγα

$$= [OD280 * \text{συντελεστής αραίωσης} * \left( \frac{\text{τελικός όγκος εκχύλισης(ml)}}{100} \right) \\ * (\text{βάρος 50 ραγών(g)})] / [(\text{βάρος δείγματος που εκχυλίστηκε (g)} * \left( \frac{100}{50} \right))]$$

$$\text{Ολικές φαινολικά συστατικά / g ράγας} = \frac{\text{ολικά φαινολικά συστατικά / ράγα}}{\text{βάρος 50 ραγών/50}}$$

### 3.4.2. ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ ΚΑΙ ΤΑΝΙΝΕΣ ΣΤΙΣ ΡΑΓΕΣ (ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ Υ.GLORIES)

Η «Glories» θεωρείται η πιο ακριβής μέθοδος εκτίμησης της φαινολικής ωρίμανσης των ραγών των ερυθρών ποικιλιών. Δίνει αποτελέσματα σχετικά με το ολικό δυναμικό σε ανθοκυάνες και τανίνες, την εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών και το βαθμό ωρίμανσης των γιγάρτων. Στην πράξη η μέθοδος αποτελεί ένα μέσο διάκρισης του φαινολικού δυναμικού μιας ποικιλίας και της δυνατότητας εκχύλισης των ανθοκυανών που εμπεριέχει. Για την εφαρμογή της μεθόδου χρησιμοποιείται ένα διάλυμα pH 1 και ένα διάλυμα pH 3,6. Στο pH 1 γίνεται εκχύλιση όλων των ανθοκυανών του δείγματος και στο pH 3,6 προσομοιώνονται οι πραγματικές συνθήκες εκχύλισης ενώ η απελευθέρωση των ανθοκυανών από το φλοιό των ραγών εξαρτάται από το πορώδες των κυτταρικών μεμβρανών.

#### **Διαλύματα**

pH1: 0, 1N υδροχλωρικό οξύ (HCl)

pH3,6:

Υδροχλωρικού οξέος (HCl) 2% v/v

Οξιτισμένης αιθανόλης (HCl 0.1%)

Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 15%

#### **Διαδικασία**

Σε μία κωνική φιάλη προστίθενται 20g σταφυλοπολτού και 20ml διαλύματος pH1 ενώ σε δεύτερη κωνική φιαλή 20g σταφυλοπολτού και 20ml διαλύματος pH3,6. Εν συνεχεία παραμένουν σε σκοτεινό μέρος για τέσσερις ώρες. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 4000στροφές.

Για τον προσδιορισμό του Δ.Φ.Ο. (Flanzy και Roux, 1958, Ribéreau- Gayon, 1966)

λαμβάνονται 50 μL του υπερκείμενου της φυγοκέντρησης του διαλύματος pH 3,6. Προστίθενται 4,95 ml H<sub>2</sub>O και το νέο διάλυμα αναδεύεται στο vortex. Έπειτα γίνεται φωτομέτρηση στα 280nm με λάμπα δευτερίου και κυψελίδες χαλαζία. Στη συνέχεια προσδιορίζονται οι ανθοκυάνες με τη μέθοδο αποχρωματισμού με SO<sub>2</sub> στα εκχυλίσματα pH1 και pH3,6 αφού έχουμε δημιουργήσει ένα κύριο διάλυμα εκχυλίσματος από το κάθε pH (1ml εκχύλισμα pH και 1ml αλκοολικό διάλυμα HCl 0,1% και 20ml υδατικό διάλυμα 2%). Από τα κύρια διαλύματα βάζουμε σε τέσσερις δοκιμαστικούς σωλήνες για κάθε διάλυμα εκχυλίσματος 5ml από το αντίστοιχο διάλυμα εκχυλίσματος pH και 2ml H<sub>2</sub>O 2ml διαλύματος Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 15% και κλείνονται με parafilm. Μετά από 20 λεπτά γίνεται ανάδευση στο vortex και μετρώνται οι απορροφήσεις των δειγμάτων στα 520 nm σε κυψελίδες πλαστικές πάχους 10 mm αφού έχουμε μηδενίσει με H<sub>2</sub>O.

## Υπολογισμοί

Ολικές ανθοκυάνες g/l =  $[(OD_2 - OD_1) * 885,3 / 1000] * 1000$

του διαλύματος pH1 όπου,  $D_1$  = η απορρόφηση του δείγματος στο οποίο προστέθηκε το διάλυμα  $Na_2SO_3$  15% και  $OD_2$  = η απορρόφηση του δείγματος στο οποίο προστέθηκε το  $H_2O$

Εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών στον οίνων **AE%** =  $(A_{pH1} - A_{pH3,6}) * 100 / A_{pH1}$

Συνεισφορά των τανινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά που εκχυλίζονται

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

(όπου  $OD_{280} = A_{280} \times 100$ )

Συγκέντρωση τανινών που προέρχονται από τους φλοιούς **dpell** =  $A_{pH3,6} * 40 / 1000$

Συνεισφορά των τανινών των φλοιών **dpell%** =  $(dpell / OD_{280}) * 100$

Συγκέντρωση τανινών που προέρχονται από τα γίγαρτα **dTrep** =  $OD_{280} - dpell$

Συνεισφορά των τανινών των γιγάρτων **dTrep%** =  $(dTrep / OD_{280}) * 100$

## 3.5. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΕ ΦΛΟΙΟΥΣ ΚΑΙ ΓΙΓΑΡΤΑ

Αρχικά, για κάθε ένα από τα δείγματα των επεμβάσεων λαμβάνονται 100 αντιπροσωπευτικές ράγες, των οποίων καταγράφεται το βάρος τους. Στη συνέχεια γίνεται αποχωρισμός της σάρκας της ράγας από του φλοιούς και τα γίγαρτα, και τόσο οι φλοιοί όσο και τα γίγαρτα καθαρίζονται σε απεσταγμένο  $H_2O$ . Αφήνονται να στεγνώσουν και κατόπιν ζυγίζονται και πάλι ως φλοιοί και γίγαρτα ξεχωριστά. Όσον αφορά στα γίγαρτα μετράται ο ακριβής τους αριθμός και εφόσον τοποθετηθούν σε διηθητικό μέσο, ακολουθείται ελαφρύς θρυμματισμός τους. Ομοίως, τοποθετούνται και οι φλοιοί σε διηθητικό μέσο και όλα αποθηκεύονται στην κατάψυξη. Το επόμενο στάδιο της διαδικασίας περιλαμβάνει λυοφιλίωση των φλοιών και των γιγάρτων επί 48h στη συσκευή λυοφιλίωσης (freeze-dryer). Τα λυοφιλιωμένα δείγματα φλοιών και γιγάρτων αλέθονται και η σκόνη που προκύπτει αποθηκεύεται σε σκοτεινό και ξηρό μέρος.

Υπολογίστηκε ο ποσοτικός προσδιορισμός των ανθοκυανών των ραγών με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Με την μέθοδο Folin-Ciocalteu προσδιορίστηκαν τα ολικά φαινολικά, η συγκέντρωση των τανινών υπολογίστηκε μέσω της μεθόδου Ribereau-Gayon and Stonestreet, μετατρέποντας τες σε ανθοκυανιδίνες

καθώς και με τη μέθοδο Harbertson (BSA: Bovine Serum Albumin). Τέλος, υπολογίστηκε η μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH.

### 3.5.1. ΕΚΧΥΛΙΣΕΙΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΤΩΝ ΦΛΟΙΩΝ ΓΙΑ HPLC

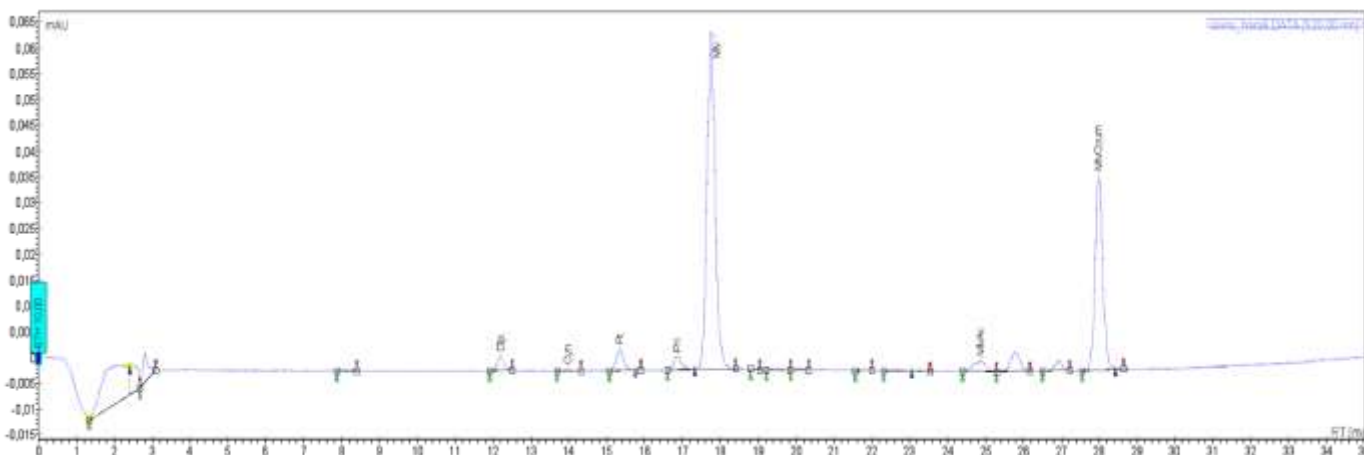
Για την εκχύλιση ανθοκυανών των φλοιών σε 0,5g της σκόνης των λυοφιλιωμένων δειγμάτων, προστίθενται 20ml διαλύματος οξινισμένης μεθανόλης 0,1% HCl και το διάλυμα τοποθετείται σε falcon. Στη συνέχεια τα falcon τοποθετούνται σε shaker στους 20°C και 60rpm και σε συνθήκες πλήρους σκότους για 4h. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 9000rpm στους 20°C και για 15min, με το πέρασ της οποίας λαμβάνεται άμεσα το υπερκείμενο και τοποθετείται σε vial και καταψύχεται. Στο ίζημα που υπολείπεται προστίθενται 10ml μεθανόλης 0,1% HCl. Η ίδια διαδικασία εφαρμόζεται διαδοχικά σε πρόγραμμα εκχυλίσεων και φυγοκεντρήσεων πρώτα για 18h και στη συνέχεια για 24h. Όλα τα εκχυλίσματα που προκύπτουν τοποθετούνται στο αρχικό vial και καταψύχονται.

Από το εκχύλισμα λαμβάνονται 5μL, φιλτράρονται από φίλτρο 0,2μm και χρησιμοποιούνται για ανάλυση στην HPLC με το πρόγραμμα προσδιορισμού ανθοκυανών.

Ο εξοπλισμός της HPLC αποτελείται από μια αντλία Jasco PU-2089 Plus, στήλη Nova-Pack C18, 4μm, διαστάσεων 47,6x250mm και έναν ανιχνευτή Jasco MD-910 Multiwavelength. Το πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Jasco ChromPass Chromatography v.1.7.403.1. Η ανάλυση προγραμματίστηκε με ρυθμό ροής 1 ml/min, με όγκο δείγματος 5μL, στα 520nm και με το ακόλουθο πρόγραμμα έκλουσης (Kallithraka *et al.*, 2005): 95% διαλύτης A για 1 min, μετά από 95% σε 50% μέσα σε 26 min, από 50% σε 5% σε 29 min, όπου και διατηρήθηκε ισοκρατικά για επιπλέον 3 min και τέλος σε 95% στα 38 min όπου και παρέμεινε μέχρι το τέλος της διαδικασίας.

Ο διαλύτης A ήταν 10% (v/v) μυρμηγκικό οξύ και ο διαλύτης B ήταν μεθανόλη. Η ταυτοποίηση της μαλβιδίνης βασίζεται στην σύγκριση των τιμών κατακράτησης των κορυφών που προσδιορίστηκαν με τις κορυφές των πρότυπης ουσίας σε (UV) Vis on-line spectral data. Προσδιορίστηκαν πέντε μονογλυκοζίτες (δελφινιδίνη, κυανιδίνη, πετουनिδίνη, πεονιδίνη και μαλβιδίνη) καθώς και δύο ακυλιωμένες ανθοκυάνες (κουμαρικός και οξικός εστέρας της μαλβιδίνης).

Πρώτα εκλούεται ο πιο πολικός μονογλυκοζίτης (δελφινιδίνη) και στο τέλος η λιγότερη πολική ακυλιωμένη ανθοκυάνη (κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης). Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε μέσω πρότυπης καμπύλης αναφοράς, η χάραξη της οποίας γίνεται με διαλύματα μαλβιδίνης γνωστών συγκεντρώσεων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα μαλβιδίνης σε mg Μαλβιδίνης / g νωπού βάρους φλοιών.



**Εικόνα X.** Χρωματογράφημα ανθοκυανών

### 3.5.2. ΕΚΧΥΛΙΣΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΤΩΝ ΦΛΟΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΓΙΓΑΡΤΩΝ

Προκειμένου να εκχυλιστούν τα φαινολικά των φλοιών και των γιγάρτων, σε 3g της σκόνης προστίθενται 25ml διαλύματος ακετόνης και H<sub>2</sub>O (αναλογία 80:20) και γίνεται εκχύλιση υπό συνεχή ανάδευση στους 25°C επί 4 h. Έπειτα το εκχύλισμα τοποθετείται σε σωλήνες για φυγοκέντρωση στις 9000rpm, για 15min. Λαμβάνεται το υπερκείμενο διάλυμα και στο στερεό υπόλειμμα προστίθενται 25ml διαλύματος μεθανόλης και H<sub>2</sub>O (αναλογία 60:40) για 2,5h. Το εκχύλισμα που προκύπτει φυγοκεντρείται και πάλι στις ίδιες συνθήκες και το υπερκείμενο διάλυμα τοποθετείται στο ίδιο vial με το πρώτο εκχύλισμα και φυλάσσεται στην κατάψυξη.

Μετάπειτα, στον εξαμιστή κενού (Rotary Evaporator) υπό κενό στους 40°C γίνεται διαχωρισμός του δείγματος από την ακετόνη και τη μεθανόλη με αποτέλεσμα να μείνει το δείγμα συμπυκνωμένο, το οποίο απουσία διαλυτών οδηγείται εκ νέου για λυοφιλίωση. Στη συνέχεια, δημιουργούνται δύο διαλύματα, ένα για τις φωτομετρικές αναλύσεις και ένα για HPLC, όπως περιγράφονται ακολούθως.

### 3.5.3. ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Χρησιμοποιούνται 0,04g της σκόνης φλοιών και 0,02g της σκόνης γιγάρτων για τη δημιουργία πρότυπου διαλύματος οίνου σε αναλογίες 5g/L φλοιών και 2,5g/L γιγάρτων. Το πρότυπο διάλυμα που προκύπτει για τους φλοιούς και τα γίγαρτα χρησιμοποιείται για την πραγματοποίηση των φωτομετρικών μεθόδων Folin-Ciocalteu, τανίνες με τη

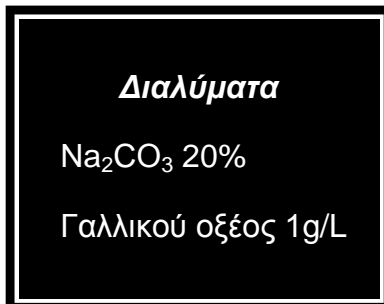
μέθοδο Ribereau-Gayon and Stonestreet (1966) και με τη μέθοδο Harbertson et al (2002) και τέλος αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

#### 3.5.4. ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN-CIocalTEAU

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu μετρά το σύνολο των φαινολικών ουσιών. Οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται με τον δείκτη Folin-Ciocalteu εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος με την χρήση πρότυπης καμπύλης. Τα αποτελέσματα μετατρέπονται σε γαλλικό οξύ, επειδή στο κρασί εμφανίζονται διάφορων ειδών φαινόλες, και μόνο μικρές ποσότητες γαλλικού οξέος. Επίσης πρέπει να ληφθούν υπ' όψιν οι παρεμβολές που προκαλούν τα θειώδη άλατα. Για τους λόγους αυτούς χρησιμοποιείται το γαλλικό οξύ αφού χαρακτηρίζεται σαν μια σταθερή και καθαρή ουσία.

##### **Διαδικασία**

Σε ογκομετρική φιάλη των 10ml με 5 ml H<sub>2</sub>O τοποθετούνται 100μL δείγματος και 0,5ml δείκτη Folin-Ciocalteu και 1,5ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% αραιώνοντας το δείγμα αν κριθεί αναγκαίο. Δημιουργούμε επίσης ένα blank δείγμα για το μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου. Μετά από παραμονή μισής ώρα μετράται η απορρόφηση στα 765nm με πλαστική κυψελίδα πάχους 10mm και με χρήση λάμπας αλογόνου.



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

##### **Υπολογισμοί**

Το αποτέλεσμα εκφράζεται με τη μορφή δείκτη με την παρακάτω σχέση

Ολικά φαινολικά \* αραιώση mg/L γαλλικού οξέος



### 3.5.5. ΟΛΙΚΕΣ ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ RIBEREAU-GAYON & STONESTREET (1966)

Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στην ιδιότητα των προανθοκυανιδινών να μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες σε όξινο μέσο στους 100°C (Ribereau-Gayon & Stonestreet, 1966). Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο το σύνολο των τανινών που μετατρέπεται σε ανθοκυανιδίνες συμπεριλαμβάνει και αυτές που είναι συνδεδεμένες με άλλα φαινολικά συστατικά. Τα αποτελέσματα διορθώνονται με βάση κάποιους συντελεστές (Glories, 1988), ώστε να λαμβάνονται υπόψη τυχόν λάθη που συμβαίνουν σε κάποιο στάδιο της διαδικασίας.

Η μέθοδος ποσοτικοποιεί τα αποτελέσματα με τη μέτρηση της απορρόφησης στα 550nm. Στη διάρκεια του βρασμού οι τανίνες μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες και, επομένως, το δείγμα που έχει θερμανθεί περιέχει τις αρχικές ανθοκυάνες και τις ανθοκυάνες που σχηματίστηκαν από την υδρόλυση των τανινών. Το δείγμα που δεν θερμάνθηκε περιέχει μόνο τις αρχικές ανθοκυάνες. Η διαφορά τους δίνει τις ανθοκυάνες που σχηματίστηκαν. Η διαφορά των απορροφήσεων είναι ανάλογη με το ποσοστό των τανινών.

Για την υλοποίηση της μεθόδου το εκχύλισμα φυγοκεντρείται και αραιώνεται 1/50 με H<sub>2</sub>O. Σε έναν απλό δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 2ml αραιωμένου εκχυλίσματος, 1ml H<sub>2</sub>O και 3ml πυκνού HCl 37%. Σε δοκιμαστικό σωλήνα υδρόλυσης τοποθετούνται 2ml αραιωμένου εκχυλίσματος, 1ml H<sub>2</sub>O και 3ml πυκνού HCl 37% και παραμένει σε βρασμό για 45min. Μετά την ψύξη προστίθενται και στους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες 500μL αιθανόλης 95% για σταθεροποίηση του χρώματος. Εν συνεχεία και τα δύο περιεχόμενα ανακινούνται στο vortex. Κατόπιν είναι έτοιμα να μετρηθούν οι οπτικές πυκνότητες στα 550nm.

#### **Υπολογισμοί**

$$\text{τανίνες (g / g Νωπού Βάρους)} = (d_2 - d_1) * 19,35$$

όπου  $d_1$  = απορρόφηση στα 550 nm χωρίς θέρμανση

και  $d_2$  = απορρόφηση στα 550 nm με θέρμανση

### 3.5.6. ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ HARBERTSON

Η μέθοδος προσδιορισμού τανινών βασίζεται στην συγκάθιση της αλβουμίνης του ορού βοοειδών και του ενζύμου αλκαλική φωσφατάση (Harbertson και Adams, 1999). Οι τανίνες που εμφανίζονται στον οίνο είναι ανάλογες με την ποσότητα του ενζύμου που καθιζάνει, οπότε η ποσότητα των τανινών μπορεί να προσδιοριστεί έμμεσα από τη μέτρηση της αλκαλικής φωσφατάσης.

#### **Διαδικασία**

Σε erpendorf τοποθετούνται 500μL αραιωμένου δείγματος και 1mL πρωτεϊνικού διαλύματος BSA. Γίνεται ήπια ανάδευση για 15 λεπτά και το δείγμα φυγοκεντρείται για 10λεπτά στις 12000rpm.

#### **Διαλύματα**

**Model wine:** 12% αιθανόλη, 5g/L τρυγικό & NaOH 1N (pH 3,3)

**A:** 200mM acetic acid, 170mM NaCl & NaOH (pH 4,9)

Πρωτεϊνικό διάλυμα με Bovine Serum Albumin (BSA-fraction V)

Triethanolamine (TEA) - Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)

FeCl<sub>3</sub>

Μητρικό διάλυμα κατεχίνης

Κρατάμε το ίζημα και προσθέτουμε 250 μL μη πρωτεϊνικού διαλύματος (διάλυμα A). Κάνουμε πάλι φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στις 12000rpm και παίρνουμε το ίζημα. Στο ίζημα προσθέτουμε 875μL διαλύματος TEA-SDS και το αφήνουμε σε ηρεμία για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια αναδεύεται σε vortex για να διαλυθεί το ίζημα και παραμένει για 10min σε κατάσταση ηρεμίας. Μετράμε την απορρόφηση (A1) στα 510nm σε κυψελίδα μικρής στένωσης σε φασματοφωτόμετρο με λάμπα αλογόνου, χρησιμοποιώντας ως blank TEA-SDS. Στη συνέχεια προσθέτουμε 125μL διαλύματος FeCl<sub>3</sub> και μετά από 10λεπτά μετράμε την απορρόφηση (A2) στα 510nm.

#### **Υπολογισμοί**

$$A=(A2) - (A1)$$

Από την καμπύλη αναφοράς βρίσκουμε τη συγκέντρωση που αντιστοιχεί στη διαφορά των απορροφήσεων, έστω C1. Η τελική συγκέντρωση τανινών είναι

$$C=C1*(αραιώση) \text{ mg κατεχίνης/ g Νωπού βάρους ράγας}$$

### 3.5.7. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ (DPPH)

Η εν λόγω μέθοδος εφαρμόζεται κυρίως στα φαινολικά συστατικά που βρίσκονται στους οίνους ή τα εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων. Χρησιμοποιεί την 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl ελεύθερη ρίζα (DPPH), η οποία έχει χαρακτηριστικό φάσμα UV-vis με μέγιστη απορρόφηση στα 515nm σε μεθανόλη. Η προσθήκη συστατικού που δρα ως αντιοξειδωτικό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση στην απορρόφηση, η οποία είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση και την αντιοξειδωτική ικανότητα της αντιοξειδωτικής ουσίας που προστίθεται (Villano *et al.*, 2007).

#### Διαλύματα

DPPH

A: 2mM trolox

#### Διαδικασία

Για την εφαρμογή της μεθόδου παρασκευάζεται διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης DPPH σε μεθανόλη (25 mg/L). Σε 25μL του δείγματος προστίθενται 975μL DPPH και μετράται η απορρόφηση στα 515nm (t=0). Τα διαλύματα αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min και μετράται η απορρόφηση στα 515nm με λάμπα αλογόνου.

#### Υπολογισμοί

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

Μέσω της πρότυπης καμπύλης αναφοράς που δημιουργήθηκε με trolox εκφράζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα σε mg/ L trolox. Το τελικό αποτέλεσμα εκφράζεται σε mmol Trolox / g νωπού βάρους φλοιών και γιγάρτων.

## 3.6. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

Πραγματοποιήθηκαν οι κλασικές αναλύσεις και συγκεκριμένα ο προσδιορισμός της ολικής, πτητικής και ενεργούς οξύτητας, ο προσδιορισμός των σακχάρων και ο αλκοολικός βαθμός. Στη συνέχεια, προσδιορίστηκε η ένταση, η απόχρωση ο δείκτης ολικών φαινολών, οι ολικές ανθοκυάνες και ο δείκτης ιονισμού με τη χρήση φασματοφωτομέτρου. Υπολογίστηκαν επίσης τα ολικά φαινολικά με την μέθοδο Folin-Ciocalteu και ο δείκτης υδροχλωρίου για τον προσδιορισμό της ικανότητας παλαίωσης. Η συγκέντρωση των τανινών υπολογίστηκε μέσω βρασμού μετατρέποντας τις σε ανθοκυανιδίνες καθώς και με τη μέθοδο BSA (Bovine Serum Albumin). Προσδιορίστηκαν επίσης οι ανθοκυάνες με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας

υψηλής απόδοσης (HPLC). Τέλος, έγινε οργανοληπτικός έλεγχος των οίνων για τον ποιοτικό τους προσδιορισμό.

---

### 3.6.1. ΕΝΕΡΓΟΣ ΟΞΥΤΗΤΑ – ΡΗ

Σαν ενεργή οξύτητα ή ρΗ καλείται το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και δίνουν H<sup>+</sup>. Σε αντίθεση με την ολική οξύτητα η ενεργή οξύτητα εξαρτάται και από το είδος των οργανικών οξέων, π.χ. ο οίνος που περιέχει μια ορισμένη ποσότητα τρυγικού οξέος είναι πιο όξινος από τον οίνο που περιέχει ισόποσο ηλεκτρικό οξύ λόγω του διαφορετικού βαθμού διάστασης των ελεύθερων καρβοξυλομάδων. Το ρΗ των οίνων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως για παράδειγμα η αμπελοαγική περιοχή, η ποικιλία της αμπέλου και η τεχνική παρασκευής τους και κυμαίνεται από 2.8 μέχρι 4.2.

Ο υπολογισμός έγινε με τη χρήση πεχάμετρου του εργαστηρίου Οινολογίας αφού ακολούθησε πρώτα η διαδικασία για το σταντάρισμά του.

---

### 3.6.2. ΟΛΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ

Η ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα μετρά το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται στο γλεύκος και τον οίνο, είτε σε μοριακή κατάσταση είτε σε μορφή ανιόντων. Ο προσδιορισμός της βασίζεται στην εξουδετέρωση των όξινων ομάδων του δείγματος με πρότυπο διάλυμα αλκάλειας (συνήθως 0.1 M NaOH) παρουσία ενός δείκτη (δείκτης κυανό της βρωμοθυμόλης με περιοχή αλλαγής χρώματος στον 7). Εκφράζεται σε χιλιοστοϊσοδύναμα ανά λίτρο οίνου ή γλεύκους (meq/L) ή σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο οίνου ή γλεύκους (g/L).

#### **Υπολογισμοί**

Η ολική οξύτητα εκφραζόμενη σε χιλιοστοϊσοδύναμα ανά λίτρο (meq/L) δίνεται από τον τύπο

$$A = 10 * n$$

Και εκφραζόμενη σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο (g/L) δίνεται από τον τύπο

$$A = 0.75 * n$$

---

### 3.6.3. ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ

Στον οίνο υπάρχουν οξέα τα οποία δεν έχουν επιθυμητή επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Αυτά είναι το οξικό, το μυρμηγκικό, το προπιονικό και το βουτυρικό δηλαδή τα οξέα της αλειφατικής σειράς με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα. Αυτά το οξέα προσδίδουν στον οίνο έντονη και δριμεία οσμή. Έντονη και δυσάρεστη οσμή στο κρασί προσδίνει επίσης και ο οξικός αιθυλεστέρας. Η συγκέντρωση του οξικού οξέος που παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση είναι λιγότερο από 0.5 g/L ενώ τα άλλα οξέα βρίσκονται σε ίχνη ή σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις όταν δεν υπάρχει βακτηριακή προσβολή.

Η οξύτητα του αποστάγματος που προκύπτει από τον οίνο καλείται πτητική οξύτητα και δίνει ένα μέτρο της συνολικής παρουσίας τους στον οίνο.

#### **Διαδικασία**

Προσδιορίζεται με τιτλοδότηση των πτητικών οξέων που διαχωρίζονται από τον οίνο με απόσταξη μεθ' υδρατμών και ανακαθαρισμό των ατμών. Το επικρατέστερο από τα οξέα που απαντώνται είναι το οξικό, για τον λόγο αυτό η πτητική οξύτητα εκφράζεται συνήθως σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο (g οξικού οξέος/L) αν και ο επίσημος τρόπος έκφρασης είναι σε χιλιοστογραμμοϊσοδύναμα ανά λίτρο (me/L).

Από την οξύτητα του αποστάγματος πρέπει να αφαιρούνται η οξύτητα που οφείλεται στο ελεύθερο και στο ενωμένο διοξειδίο του θείου και η οξύτητα που οφείλεται στο σορβικό οξύ το οποίο έχει ενδεχομένως προστεθεί στον οίνο.

---

### 3.6.4. ΑΛΚΟΟΛΙΚΟΣ ΤΙΤΛΟΣ

Η αιθυλική αλκοόλη που βρίσκεται στους οίνους παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση των σακχάρων του γλεύκους. Αντιπροσωπεύει το 9-15 % του όγκου τους και είναι το κυριότερο συστατικό μετά το νερό.

Συμβολίζεται ως % vol. Για τον προσδιορισμό του χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος που βασίζεται στην απόσταξη της αλκοόλης του οίνου και στη συνέχεια μέτρηση με αραιομετρία (χρήση αλκοολόμετρου και μέτρηση θερμοκρασίας).

### 3.6.5. ΈΝΤΑΣΗ – ΑΠΟΧΡΩΣΗ

Το φάσμα απορρόφησης των ερυθρών οίνων παρουσιάζει μέγιστο στα 520 nm (ερυθρό). Με την πάροδο του χρόνου, δηλαδή κατά την παλαίωση, η απορρόφηση στα 520 nm μειώνεται και αυξάνεται η απορρόφηση στα 420 nm (κίτρινο). Αιτία είναι οι διάφορες μορφές τανινών που επικρατούν στους παλαιωμένους οίνους και που απορροφούν στην περιοχή του κίτρινου. Για την καλύτερη αξιολόγηση και τον προσδιορισμό των χρωμάτων στους νέους οίνους, λαμβάνεται υπόψη και η απορρόφηση στην περιοχή του κυανού (620 nm).

Η ένταση χρώματος συνήθως μετρά πόσο χρώμα έχει ένα κρασί, ενώ οι αλλαγές στην απόχρωση χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση της ωρίμανσης του και το βαθμό οξείδωσής του.

#### **Διαδικασία:**

Ο οίνος φυγοκεντρείται για 5 λεπτά στις 4000 στροφές. Στο φασματοφωτόμετρο μετράμε τις απορροφήσεις στα 420nm, 520nm και 620nm με λάμπα αλογόνου χρησιμοποιώντας κυψελίδες 1mm, μηδενίζοντας με νερό.

#### **α) Ένταση χρώματος (I)**

Η ένταση προκύπτει από το άθροισμα των απορροφήσεων στα 420nm, 520nm και 620 nm (Glories, 1984).

$$I = OD_{420} + OD_{520} + OD_{620}$$

#### **β) Απόχρωση (H)**

Η απόχρωση προκύπτει από τον λόγο της απορρόφησης του γλεύκους ή του οίνου στα 420 nm προς την απορρόφηση στα 520 nm (Glories 1984, Sudraud 1958).

$$H = OD_{420}/OD_{520}$$

### 3.6.6. ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ

Οι ανθοκυάνες στον οίνο απαντώνται είτε ελεύθερες είτε δεσμευμένες σε τανίνες. Ορισμένες είναι αποχρωματισμένες λόγω του διοξειδίου του θείου, ενώ οι υπόλοιπες είναι έγχρωμες.

Ο προσδιορισμός των ολικών ανθοκυανών πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο που περιγράφεται από τους Ribereau – Gayon και Stonestreet το 1965. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ιδιότητα των ανθοκυανών να δίνουν με το ιόν  $\text{HSO}_3^-$  άχρωμες ενώσεις. Έτσι, μετά από προσθήκη περίσσειας  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , η αλλαγή του χρώματος του οίνου θα είναι ανάλογη με τη περιεκτικότητα του σε ανθοκυάνες. Έτσι έχουμε ένα control (χωρίς  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) και ένα treatment δείγμα (με  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) η αφαίρεση των οποίων μας δίνει την συγκέντρωση ανθοκυανών (mg/l).

#### Διαδικασία

Δημιουργούμε ένα κύριο διάλυμα που περιλαμβάνει 1 mL οίνου, 1 mL αλκοολικού διαλύματος HCl 0.1% και 20 mL υδατικού διαλύματος HCl 2%. Προσθέτουμε 5ml από το κύριο διάλυμα και 2ml απιονισμένου νερού σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα και σε έναν δεύτερο 5m κύριου διαλύματος και 2ml  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ . Μετά από 20 λεπτά μετράμε τις απορροφήσεις των δυο δειγμάτων στα 520 nm σε κυψελίδες πλαστικές πάχους 10 mm μηδενίζοντας με  $\text{H}_2\text{O}$ .

#### Διαλύματα

HCl 2% v/v

Όξινη αλκοόλη (HCl 0.1%)

$\text{Na}_2\text{SO}_3$  15%

#### Υπολογισμοί

$$\text{ανθοκυάνες (mg /l)} = (\text{OD}_2 - \text{OD}_1) * 885,3$$

όπου  $\text{OD}_1$  = η απορρόφηση του αποχρωματισμένου δείγματος ( $\text{SO}_2$ )

$\text{OD}_2$ = η απορρόφηση του δείγματος στο οποίο προστέθηκε το d  $\text{H}_2\text{O}$

### 3.6.7. ΔΕΙΚΤΗΣ ΙΟΝΙΣΜΟΥ – I%

Ο Δείκτης Ιονισμού εκφράζει το ποσοστό των ολικών ανθοκυανών που βρίσκονται σε έναν οίνο υπό ερυθρή μορφή (φλαβύλια) και δίνουν το ερυθρό χρώμα των οίνων. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην ιδιότητα των ανθοκυανών να μετατρέπονται στην έγχρωμη μορφή των φλαβυλίων σε ισχυρά όξινο περιβάλλον, Glories, 1978.

Το δείγμα αποχρωματίζεται από περίσσεια  $\text{SO}_2$  (μετά από προσθήκη  $\text{NaHSO}_3$ ) στο κανονικό pH του, καθώς και στο pH 1,2 (μετά από προσθήκη  $\text{HCl}$ ) όπου το σύνολο σχεδόν των ανθοκυανών (95%) μετατρέπεται στην έγχρωμη μορφή του φλαβυλίου. Στη συνέχεια ακολουθεί μέτρηση με φασματοφωτόμετρο στα 520nm. Η διαφορά του αποχρωματισμένου και του μη αποχρωματισμένου οίνου δίνει τις χρωματισμένες ανθοκυάνες του οίνου, ενώ η διαφορά των αντίστοιχων μετρήσεων στο pH 1,2 δίνει το σύνολο των μορίων των ανθοκυανών. Ο δείκτης ιονισμού εκφράζεται από τον λόγο αυτών των δύο διαφορών. Οι νέες χρωστικές που παράγονται όταν οι ανθοκυάνες ενώνονται με τανίνες, κατά την διαδικασία της παλαίωσης, είναι σημαντικά λιγότερο ευαίσθητες στον αποχρωματισμό λόγω του pH και του διοξειδίου του θείου, οπότε το ποσοστό των χρωματισμένων ανθοκυανών αυξάνεται. Κατά την παλαίωση ο δείκτης ιονισμού μπορεί να φτάσει το 80-90% (Ribereau- Gayon, P.et al, 2006).

#### Διαδικασία

Ο οίνος φυγοκεντρείται για 5 λεπτά στις 4000 στροφές. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες ετοιμάζονται τα εξής διαλύματα:

#### Διαλύματα

HCl 0.1N

$\text{NaHSO}_3$  15%

$d_1 = 5\text{ml οίνου} + 1\text{ml H}_2\text{O}$

$d_2 = 5\text{ml οίνου} + 1\text{ml διαλύματος NaHSO}_3$

$d_3 = 0,5\text{ml οίνου} + 1\text{ml H}_2\text{O} + 3,5\text{ml διαλύματος HCl N/10}$

$d_4 = 0,5\text{ml οίνου} + 1\text{ml διαλύματος 15\% NaHSO}_3 + 3,5\text{ml διαλύματος HCl N/10}$

#### Υπολογισμοί

Συμμετοχή των χρωματισμένων ανθοκυανών:  $\Delta d\alpha = (d_1 - d_2) * 12/10$

Σύνολο των μορίων των ανθοκυανών:  $\Delta d\gamma = (d_3 - d_4) * 100/95$

Βαθμός ιονισμού των ανθοκυανών:  $I\% = \Delta d\alpha / \Delta d\gamma * 100$



---

### 3.6.8. ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (ΔΦΟ)

Ο προσδιορισμός βασίζεται στην ισχυρή απορρόφηση που παρουσιάζουν οι βενζολικοί δακτύλιοι των φαινολικών ενώσεων στο υπεριώδες φως, το μέγιστο της οποίας παρατηρείται γύρω στα 280 nm. Μετρά την περιεκτικότητα των φλαβανοειδών φαινολών (ανθοκυάνες, τανίνες), των μη φλαβανοειδών (φαινολικά οξέα) και κάποιων μη φαινολικών ουσιών που απορροφούν στα 280 nm. Η μέτρηση απαιτεί κυψελίδα χαλαζία επειδή οι κυψελίδες πυριτίου ή οι πλαστικές απορροφούν το υπεριώδες φάσμα, προκαλώντας σημαντική παρεμβολή.

#### **Διαδικασία**

Ο οίνος φυγοκεντρείται για 5 λεπτά στις 4000 στροφές και αραιώνεται 1 / 100 με απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια, γίνεται μέτρηση της απορρόφησης του διαλύματος σε μήκος κύματος 280nm.

#### **Υπολογισμοί**

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

---

### 3.6.9. ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN-CIUCALTEAU

Ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε προηγουμένως στο κεφάλαιο 3.5.4.

---

### 3.6.10. ΟΛΙΚΕΣ ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ RIBEREAU-GAYON & STONESTREET (1966)

Ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε προηγουμένως στο κεφάλαιο 3.5.5.

---

### 3.6.11. ΔΕΙΚΤΗΣ ΥΔΡΟΧΛΩΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ – HCL%

Ο δείκτης υδροχλωρικού οξέος αποτελεί δείκτη ικανότητας παλαίωσης του οίνου αφού εκφράζει το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών. Ο προσδιορισμός του δείκτη υδροχλωρικού οξέος στηρίζεται στην ιδιότητα των πολυμερισμένων τανινών να καταβυθίζονται σε ισχυρά όξινο περιβάλλον (παρουσία HCl), (Glories, 1978). Η ταχύτητα καταβύθισης εξαρτάται από τον βαθμό πολυμερισμού των τανινών. Ο δείκτης

υδροχλωρικού οξέος δίνεται από την διαφορά των φαινολικών πριν και μετά την καταβύθισή τους.

Στην αρχή της παλαίωσης σε βαρέλι, ένας πολύ ελαφρύς οίνος έχει χαμηλή τιμή, μεταξύ 5 και 10. Αντίθετα, ο οίνος που είναι κατάλληλος για παλαίωση έχει τιμή 10 -25. Τέλος, ο οίνος που έχει τιμή μεγαλύτερη από 25, έχει υψηλή συγκέντρωση σε πολύ έντονα πολυμερισμένα φαινολικά συστατικά.

### **Διαδικασία**

Ο οίνος φυγοκεντρείται για 5 λεπτά στις 4000 στροφές. Σε δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 2 ml κρασιού, 3 ml πυκνού HCl 37% και 1 ml H<sub>2</sub>O. Αμέσως λαμβάνεται 1 ml στο οποίο γίνεται αραιώση 1:30 με H<sub>2</sub>O και μετράται η απορρόφηση d<sub>0</sub> σε κυψελίδες χαλαζία 10 mm και λάμπα δευτερίου στα 280 nm. Το υπόλοιπο αφήνεται σε ηρεμία περίπου 7 ώρες. Στη συνέχεια φυγοκεντρείται, λαμβάνεται 1 ml στο οποίο γίνεται αραιώση 1:30 με H<sub>2</sub>O και μετράται η απορρόφηση d στα 280 nm.

### **Υπολογισμοί**

$$\Delta \text{ HCl \%} = (d_0 - d) * 100 / d_0$$

---

#### **3.6.12. ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ HARBERTSON**

Ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε προηγουμένως στο κεφάλαιο 3.5.6.

---

#### **3.6.13. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ (DPPH)**

Ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε προηγουμένως στο κεφάλαιο 3.5.7.

---

#### **3.6.14. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΜΕ HPLC**

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) περιγράφηκε ανωτέρω στο κεφάλαιο 3.5.1.

## Διαδικασία

Ποσότητα του οίνου φιλτράρεται με 0,2μm φιλτράκι και τοποθετείται σε vials για αυτόματο δειγματολήπτη. Γίνεται ένεση με ανιχνευτή UV-vis στα 520 nm.

### 3.7. ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Προκειμένου να προσδιοριστούν οι διαφορές στην ποιότητα των δώδεκα οίνων που παρήχθησαν από τις τέσσερις συνθήκες, πραγματοποιήθηκε οργανοληπτικός έλεγχος. Χρησιμοποιήθηκαν 13 δοκιμαστές, φοιτητές του μεταπτυχιακού προγράμματος Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, οι οποίοι πριν την έναρξη της διαδικασίας εκπαιδεύτηκαν σε πρότυπα κρασιά ποικιλίας Αγιωργίτικου. Οι δοκιμαστές πραγματοποίησαν τον οργανοληπτικό έλεγχο σε διάστημα 6 ημερών, δοκιμάζοντας 12 δείγματα την ημέρα με απαραίτητη διακοπή ανάμεσα σε κάθε δείγμα για τουλάχιστον μισή ώρα. Επαναλήφθηκε η διαδικασία τρεις φορές. Το κάθε δείγμα αντιστοιχούσε σε ένα τριψήφιο αριθμό ενώ δίνονταν με τυχαία σειρά, βάσει πίνακα (Macfie κ.α., 1989).  
*γευσιγνωσίας (Πηγή: Χ.Κόγκου)*



**Εικόνα 4.** Θάλαμος

Οι δοκιμαστές συμπλήρωσαν για το κάθε δείγμα την εξής κλίμακα:

<b>Εμφάνιση</b>	0	1	2			
<b>Άρωμα</b>	0	1	2	3	4	5
<b>Οξύτητα</b>	0	1				
<b>Ισορροπία</b>	0	1	2			
<b>Εξέλιξη</b>	0	1	2	3		
<b>Γεύση</b>	0	1	2	3		
<b>Τελείωμα</b>	0	1	2			
<b>Σύνολο</b>	0	1	2	3		

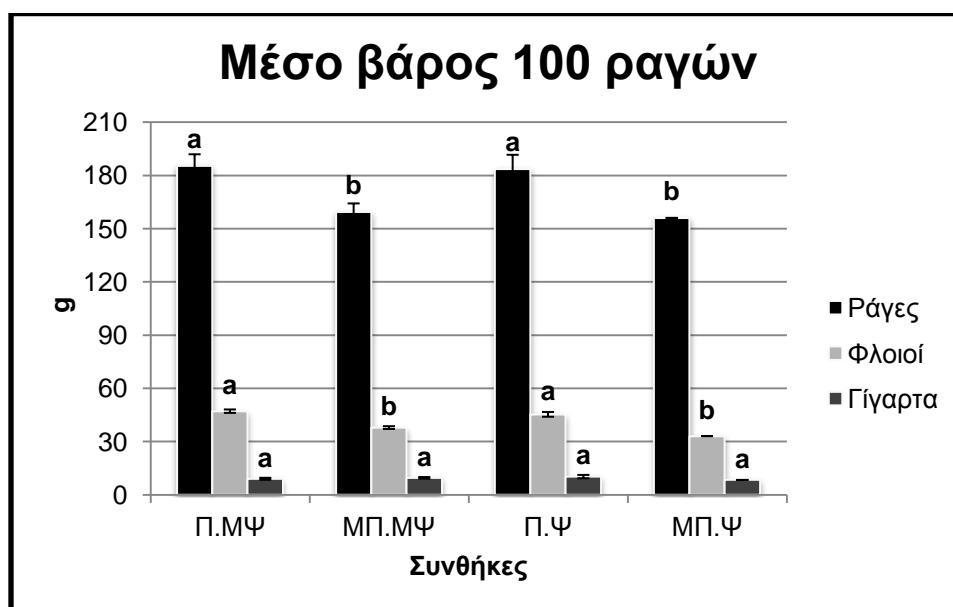
## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΕ ΟΛΟΚΛΗΡΗ ΤΗ ΡΑΓΑ

#### 4.1.1. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ – ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΙΣ ΡΑΓΕΣ

Οι μετρήσεις για το μέσο βάρος 100 ραγών, γιγάρτων και φλοιών παρατίθενται στον πίνακα του παραρτήματος XIII.

Σε περίπτωση υδατικού ελλείμματος, οι ράγες έχουν μικρότερο βάρος σε σχέση με τις ράγες των πρέμνων που δέχτηκαν κάποιο επίπεδο άρδευσης.



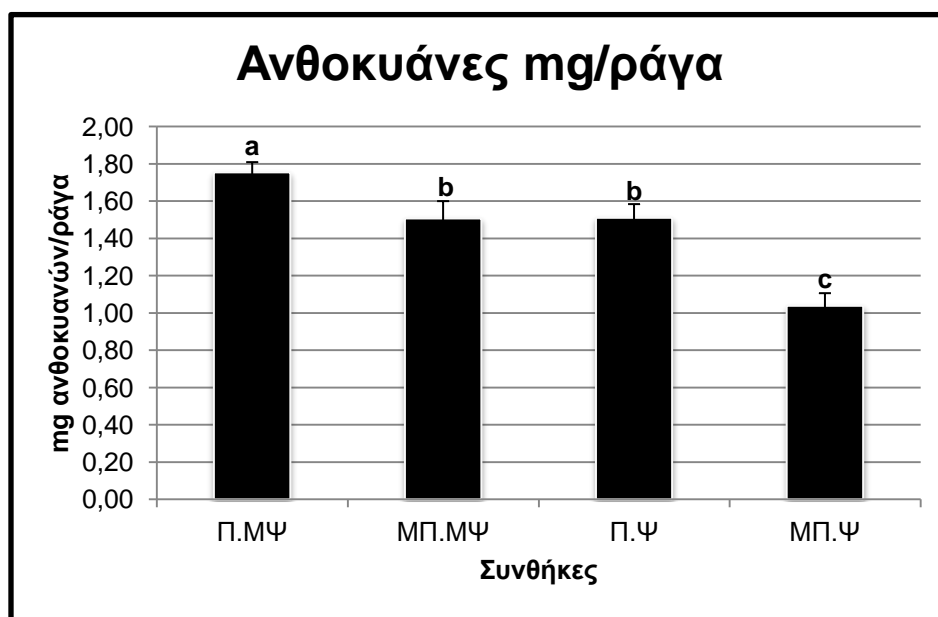
**Διάγραμμα 1.** Μέσο βάρος 100 ραγών, των επιμέρους φλοιών και γιγάρτων

Από το Διάγραμμα 1 παρατηρούμε ότι το μεγαλύτερο μέσο βάρος ράγας βρίσκεται στη συνθήκη Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) ακολουθούμενη από την Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση), ενώ τα χαμηλότερα παρατηρούνται στις συνθήκες ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση) και ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) παρουσιάζοντας στατιστική διαφορά, επιβεβαιώνοντας ότι η άρδευση επιδρά θετικά στην αύξηση βάρους των ραγών. Απεναντίας, η λίπανση δείχνει να μην επηρεάζει.

Αντίστοιχα, χαμηλότερο βάρος φλοιών με στατιστική διαφορά εμφανίζουν οι συνθήκες όπου δεν εφαρμόστηκε άρδευση με την χαμηλότερη να παρουσιάζεται στην ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) και αμέσως μεγαλύτερη στην ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση).

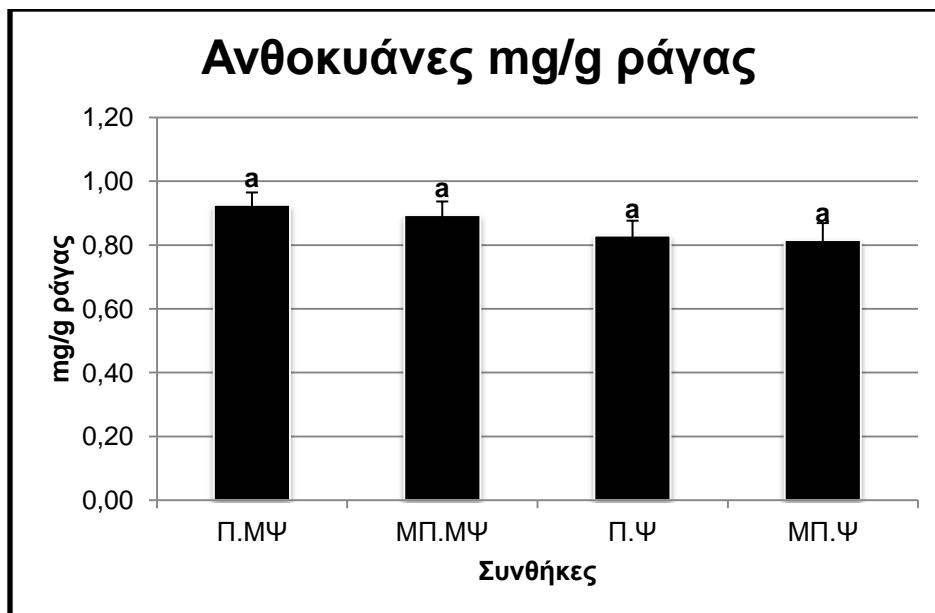
Στα γίγαρτα η υψηλότερη συγκέντρωση εντοπίζεται στη συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση),ακολουθούμενη από την ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση), ενώ η χαμηλότερη εντοπίζεται στην ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση). Τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

4.1.2. ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ ΚΑΙ ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΤΙΣ ΡΑΓΕΣ (ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ILAND)



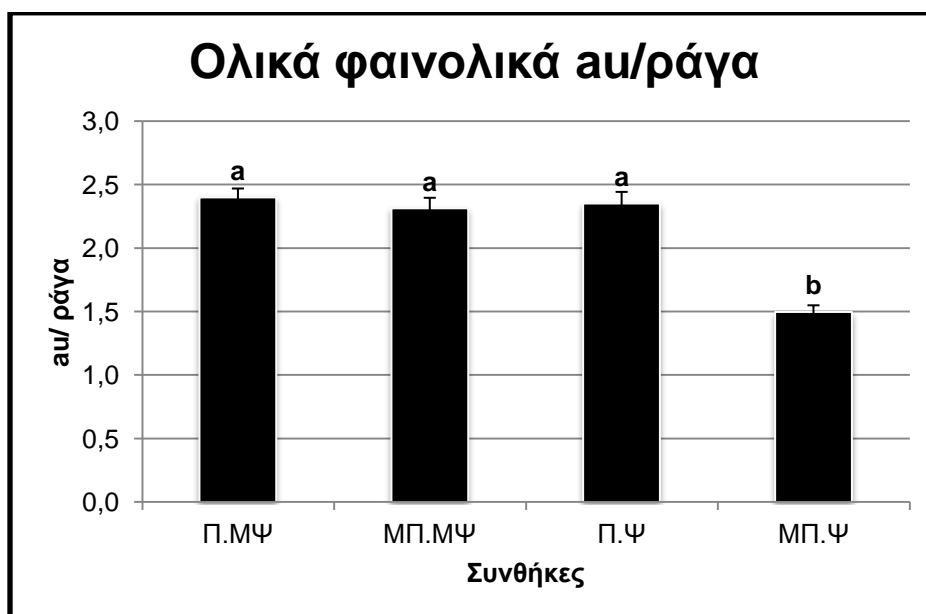
**Διάγραμμα 2.** Συγκέντρωση Ανθοκυανών εκφρασμένη σε mg ανά ράγα

Με την μέθοδο του Iland προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των ανθοκυανών εκφρασμένη ως mg / ράγα. Υψηλότερες συγκεντρώσεις ανθοκυανών ανά ράγα με στατιστικώς σημαντική διαφορά εντοπίζονται στο αμπελοτεμάχιο το οποίο είχε αρδευτεί αλλά δεν είχε ψεκαστεί (Π.ΜΨ), ενώ τη χαμηλότερη συγκέντρωση αυτά που είχαν ψεκαστεί με το προϊόν και δεν είχαν αρδευτεί (ΜΠ.Ψ).



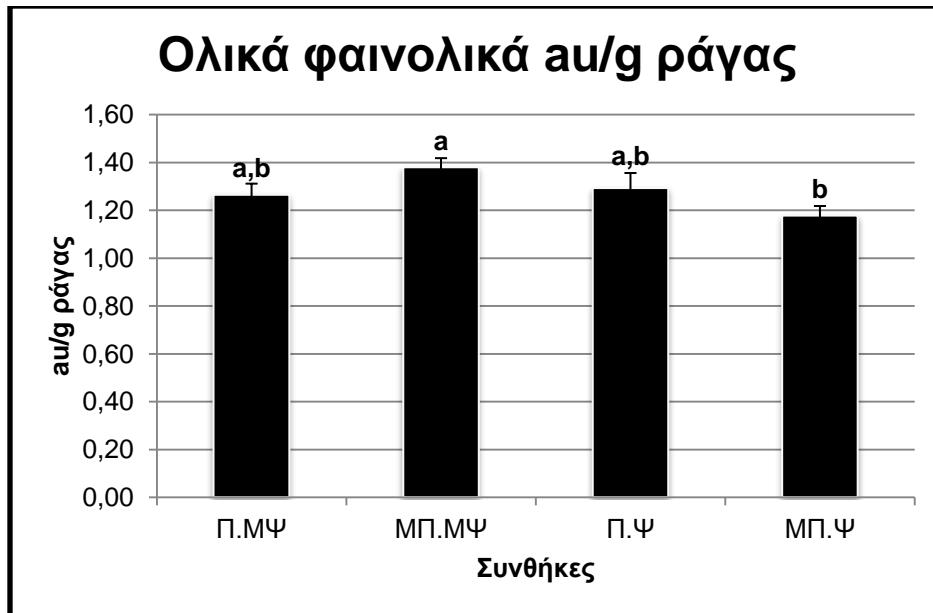
**Διάγραμμα 3.** Συγκέντρωση Ανθοκυανών εκφρασμένη σε mg ανά g ράγας

Στη συνέχεια η συγκέντρωση των ανθοκυανών εκφράζεται ως mg ανθοκυανών ανά g ράγας. Η συνθήκη Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή. Όλες οι συνθήκες ανήκουν στην ίδια στατιστική ομάδα. (Διάγραμμα 3).



**Διάγραμμα 4.** Συγκέντρωση ολικών φαινολικών au ανά ράγα

Η χαμηλότερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών παρουσιάζεται στην συνθήκη ΜΠ.Ψ με σημαντική στατιστική διαφορά από τις άλλες τρεις οι οποίες ανήκουν στην ίδια στατιστική ομάδα (Διάγραμμα 4).



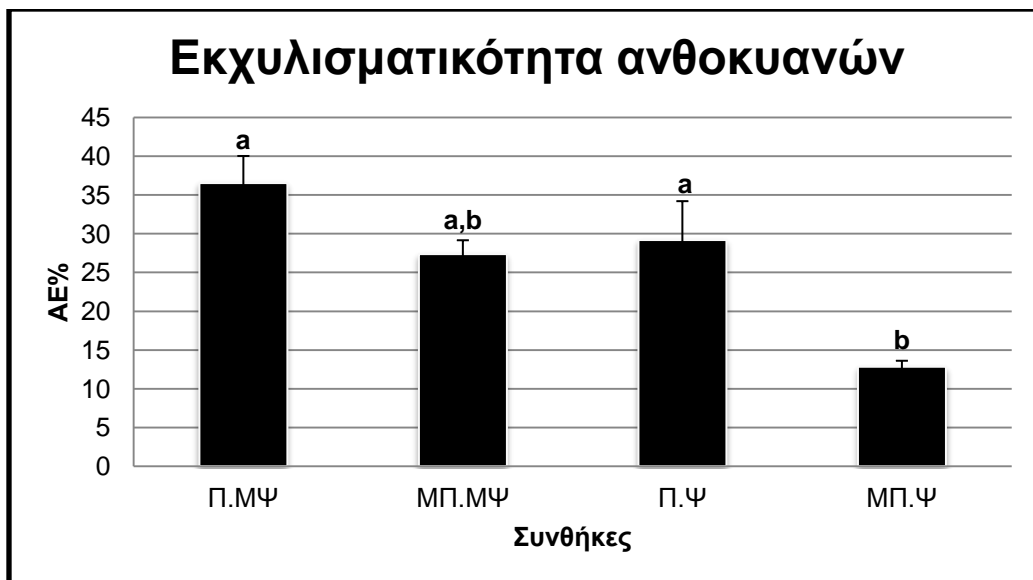
**Διάγραμμα 5.** Συγκέντρωση ολικών φαινολικών εκφρασμένη ως au ανά g ράγας

Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών εκφρασμένη ως μονάδες απορρόφησης ανά g ράγας είναι μεγαλύτερη για τη συνθήκη ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση) και η χαμηλότερη στην ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) (Διάγραμμα 5).

#### 4.1.3. ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ ΚΑΙ ΤΑΝΙΝΕΣ ΣΤΙΣ ΡΑΓΕΣ (ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ Υ. GLORIES)

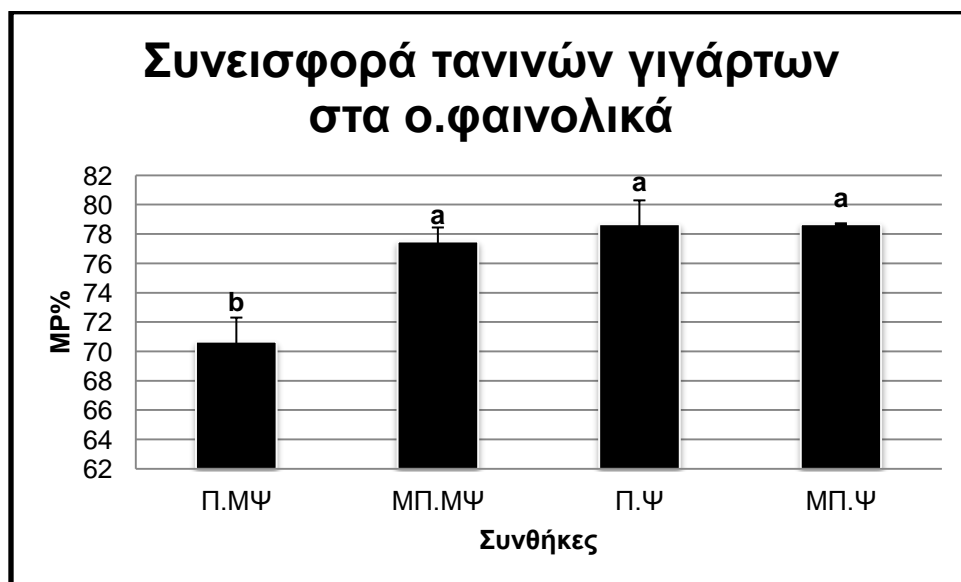
Η μέθοδος Glories μετρά τη φαινολική ωριμότητα στις ράγες των σταφυλιών, την εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών και τανινών και το φαινολικό δυναμικό των ραγών.

Ο Δείκτης Εκχυλισματικότητας Ανθοκυανών (ΑΕ%) εκφράζει την εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών, όπου όσο μικρότερη είναι η τιμή ΑΕ% τόσο πιο εύκολα εκχυλίζονται οι ανθοκυάνες. Η τιμή ΑΕ% μειώνεται όσο πιο πολύ ωριμάζει το σταφύλι (P.Ribereau-Gayon et.al., 2006).



**Διάγραμμα 6.** Δείκτης Εκχυλισματικότητας ολικών ανθοκυανών

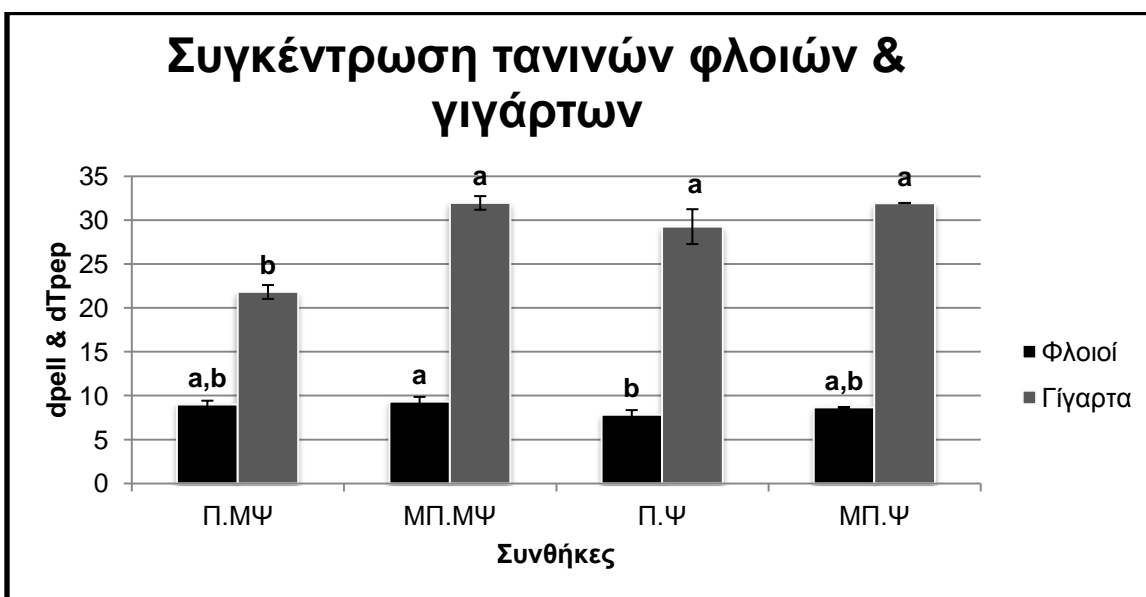
Από το Διάγραμμα 6 παρατηρούμε ότι την χαμηλότερη τιμή ΑΕ% παρουσιάζει η συνθήκη ΜΠ.Ψ, δηλαδή τα σταφύλια που προέρχονται από το αμπελοτεμάχιο χωρίς άρδευση έχοντας όμως τη διαφυλλική λίπανση των απενεργοποιημένων ζυμομυκήτων δείχνοντας έτσι ότι είναι στατιστικώς σημαντικά πιο ώριμη από τις άλλες συνθήκες. Έτσι λοιπόν, βλέπουμε ότι το σταφύλι ωριμάζει πιο γρήγορα υπό την επίδραση της λίπανσης.



**Διάγραμμα 7.** Δείκτης ωριμότητας - συνεισφοράς των τανινών των γιγάρτων /επέμβαση



Η συνεισφορά των τανινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά που περιέχονται στο εκχύλισμα εκφράζονται από τον δείκτη MP%. Όσο υψηλότερη τιμή λαμβάνει ο δείκτης τόσο μεγαλύτερος ο κίνδυνος να υπάρξει αρνητική επίδραση στη γεύση του οίνου. Παρ' όλα αυτά, σε ποικιλίες σχετικά φτωχές σε τανίνες, όπως το Αγιωργίτικο, η υψηλή τιμή του MP% μπορεί να λαμβάνεται ως θετικό στοιχείο. Η τιμή MP% μειώνεται καθώς προχωράει η ωρίμανση των σταφυλιών. Η τιμή που θα λάβει ο δείκτης σε ένα δείγμα εξαρτάται από την ποικιλία, τον αριθμό των γιγάρτων στις ράγες και την ωριμότητά τους. Μεγαλύτερη τιμή άρα και πιο «ανώριμα» γίγαρτα παρουσιάζουν οι συνθήκες Π.Ψ και ΜΠ.Ψ κατά τις οποίες έχει γίνει η διαφυλλική λίπανση (Διάγραμμα 7).

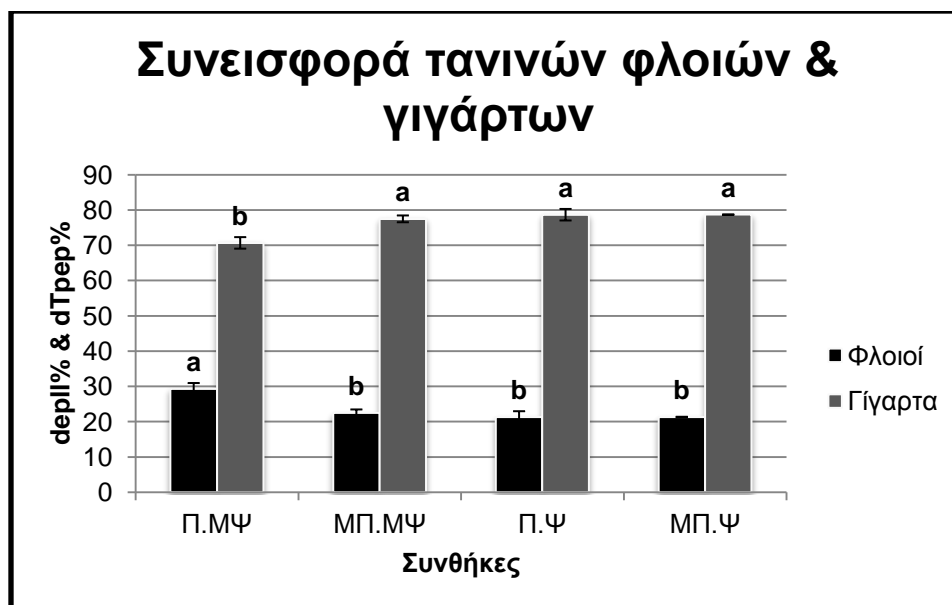


**Διάγραμμα 8.** Δείκτης συγκέντρωσης τανινών του φλοιού και των γιγάρτων /επέμβαση

Η συγκέντρωση των τανινών που προέρχονται από τους φλοιούς εκφράζεται από τον δείκτη dPell. Μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε τανίνες φλοιών παρατηρείται στη συνθήκη ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση) και ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) και τη μικρότερη συγκέντρωση τανινών στη συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) (Διάγραμμα 8).

Η συγκέντρωση των τανινών που προέρχεται από τα γίγαρτα είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη στην επέμβαση Π.ΜΨ σε σύγκριση με την Π.ΜΨ (με άρδευση, χωρίς λίπανση).

Παρατηρούμε ότι η έλλειψη άρδευσης ευνοεί τη συγκέντρωση τανινών.



**Διάγραμμα 9.** Δείκτης συνεισφοράς των τανινών του φλοιού και των γιγάρτων/επέμβαση

Η μεγαλύτερη τιμή της συνεισφοράς των τανινών των φλοιών εκφρασμένη σε ποσοστό% παρατηρείται στη συνθήκη Π.ΜΨ (με άρδευση, χωρίς λίπανση) σε αντίθεση με τις συνθήκες Π.Ψ και ΜΠ.Ψ που παρουσιάζουν την μικρότερη, παρατηρώντας έτσι ότι η λίπανση επιδρά αρνητικά στη συνεισφορά των τανινών των φλοιών. (Διάγραμμα 9)

Τη μικρότερη στατιστικώς σημαντική συνεισφορά συγκριτικά με τις άλλες συνθήκες παρουσιάζει η Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση).

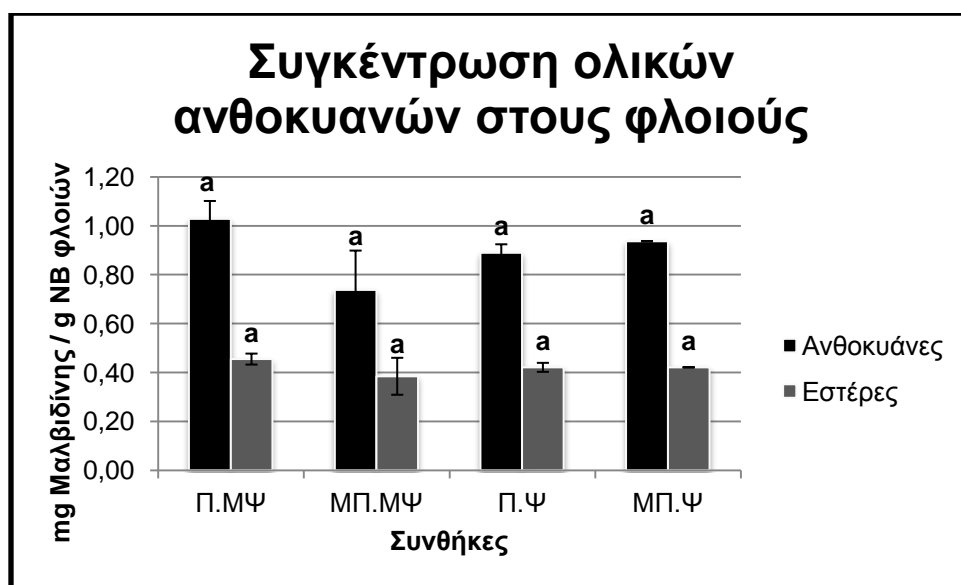
Η συνεισφορά των τανινών των φλοιών παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την αντιοξειδωτική ικανότητα ( $r=0,625$ ,  $p<0,05$ ) και ισχυρή συσχέτιση τις τανίνες των γιγάρτων με τη μέθοδο Harbertson ( $r=0,821$ ,  $p<0,01$ ).

Η συνεισφορά των τανινών των γιγάρτων παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την αντιοξειδωτική ικανότητα ( $r=-0,625$   $p<0,05$ ) και ισχυρά αρνητική συσχέτιση με τις τανίνες των γιγάρτων με τη μέθοδο Harbertson ( $r=-0,821$ ,  $p<0,01$ ).

## 4.2. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΕ ΦΛΟΙΟΥΣ ΚΑΙ ΓΙΓΑΡΤΑ

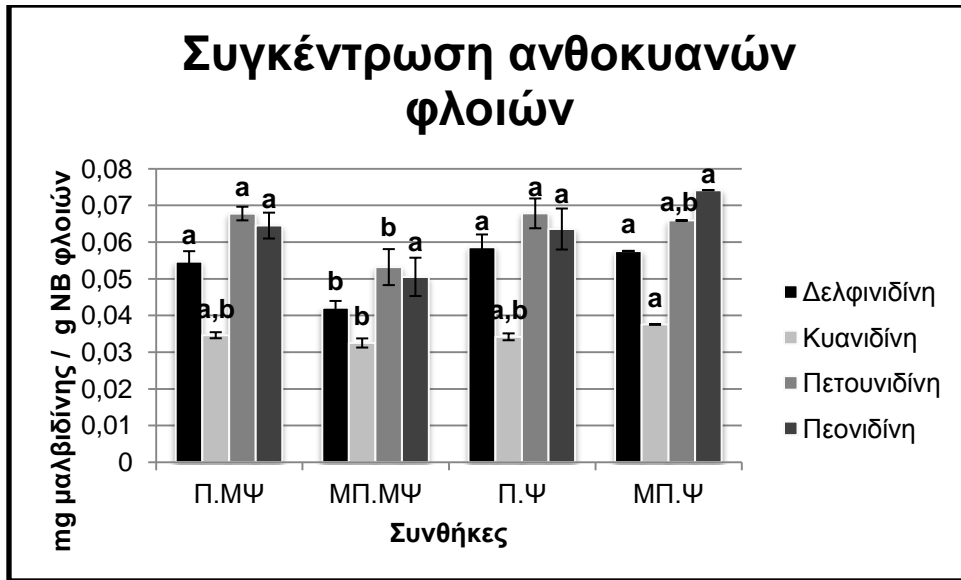
### 4.2.1. ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΦΛΟΙΩΝ ΜΕ HPLC

Με την βοήθεια της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) προσδιορίστηκαν οι μονογλυκοζίτες της δελφινιδίνης, κυανιδίνης, πετουνιδίνης, πεονιδίνης και μαλβιδίνης, καθώς και των ακυλιωμένων ανθοκυανών, του οξικού και κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα mg μαλβιδίνης / g νωπού βάρους φλοιών. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα VIII του παραρτήματος.

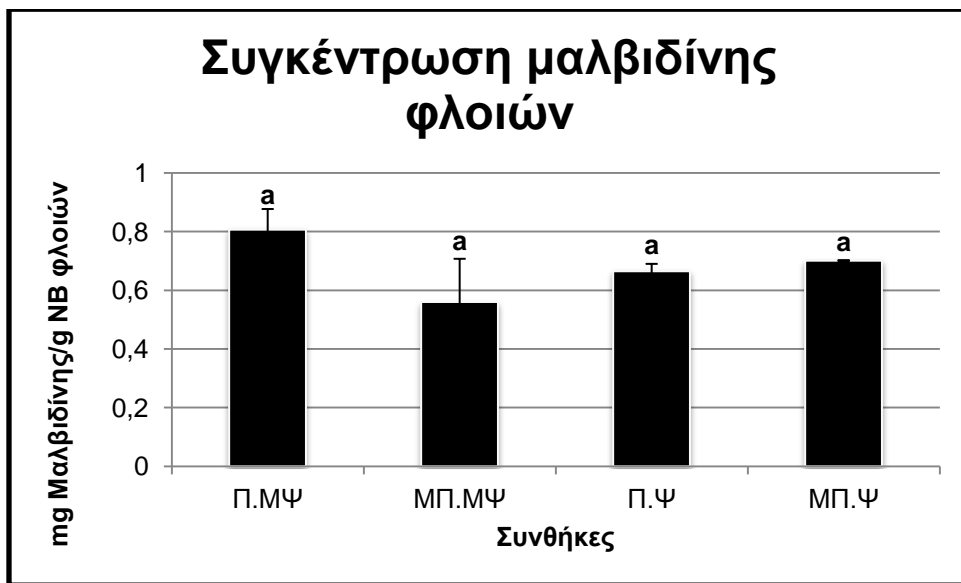


**Διάγραμμα 10.** Συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς

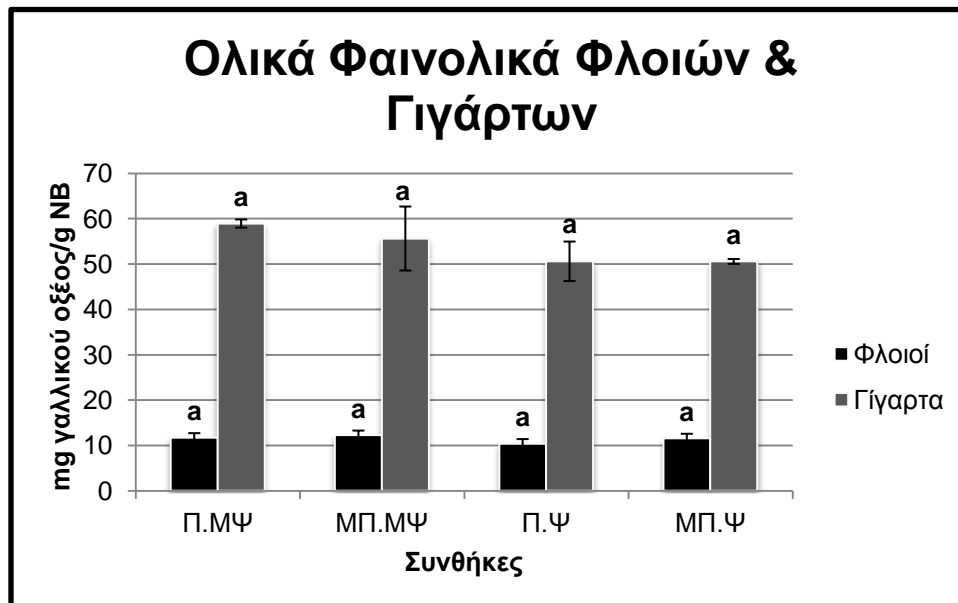
Την υψηλότερη συγκέντρωση ανθοκυανών στους φλοιούς εντοπίζονται στη συνθήκη Π.ΜΨ, όπου υπήρχε άρδευση αλλά όχι η διαφυλλική λίπανση. Την χαμηλότερη συγκέντρωση στη συνθήκη ΜΠ.ΜΨ όπου δεν υπήρχε καμία επέμβαση. Τα δείγματα μεταξύ τους δεν παρουσιάζουν καμία στατιστική διαφορά. Αυτό το αποτέλεσμα έρχεται σε αντίθεση με την παραδοχή των Koundouras et al. (2006) ότι η άρδευση επηρεάζει τη συγκέντρωση, με τη μεγαλύτερη τιμή συγκέντρωσης ανθοκυανών να έχουν τα πρέμνα που δε δέχθηκαν κάποια επέμβαση άρδευσης. Όμως, το αποτέλεσμα αυτή της μελέτης, έρχεται σε συμφωνία με τους Esteban et al. (2001) που παρατήρησαν ότι στην ποικιλία Tempranillo οι συγκεντρώσεις και των πέντε ανθοκυανών ήταν μεγαλύτερες στα αρδευόμενα πρέμνα για δύο συνεχόμενα έτη χωρίς οι διαφορές να είναι στατιστικά σημαντικές.



Διάγραμμα 11. Συγκέντρωση ανθοκυανών



Διάγραμμα 12. Συγκέντρωση μαλβιδίνης φλοιών



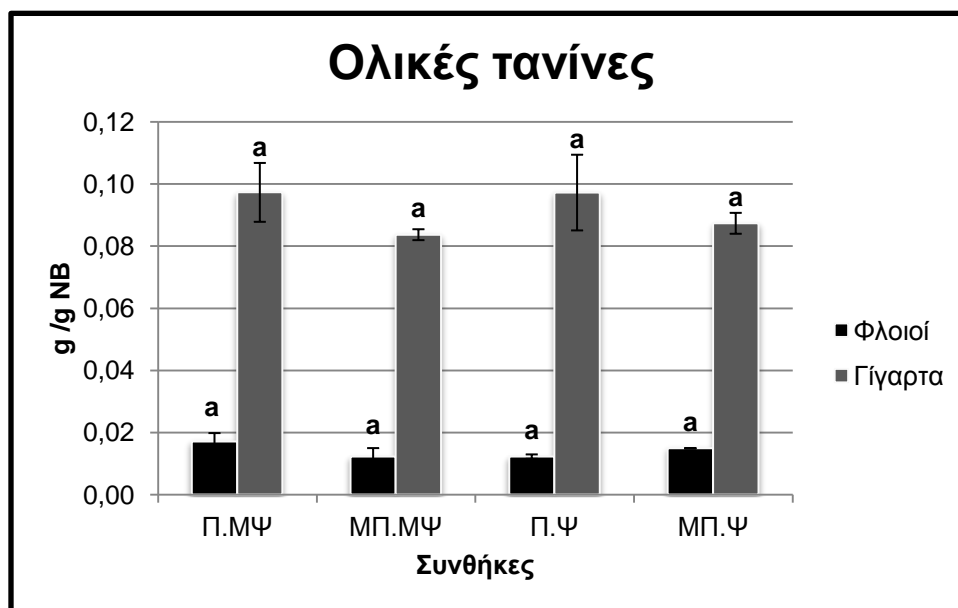
**Διάγραμμα 13.** Ολικά φαινολικά φλοιών και γιγάρτων

Την υψηλότερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών των φλοιών την παρατηρούμε στη συνθήκη ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση) και την χαμηλότερη στην Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση). Δεν έχουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

Στα γιγάρτα παρατηρούμε πως η συνθήκη Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση, ενώ την χαμηλότερη η ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) χωρίς να έχουν στατιστική διαφορά.

Με την εφαρμογή της μεθόδου Folin-Ciocalteu παρατηρούμε ότι η διαφυλλική λίπανση δεν επηρέασε τη συγκέντρωση των φαινολικών.

#### 4.2.3. ΟΛΙΚΕΣ ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ RIBEREAU-GAYON & STONESTREET (1966)



**Διάγραμμα 14.** Ολικές τανίνες φλοιών και γιγάρτων

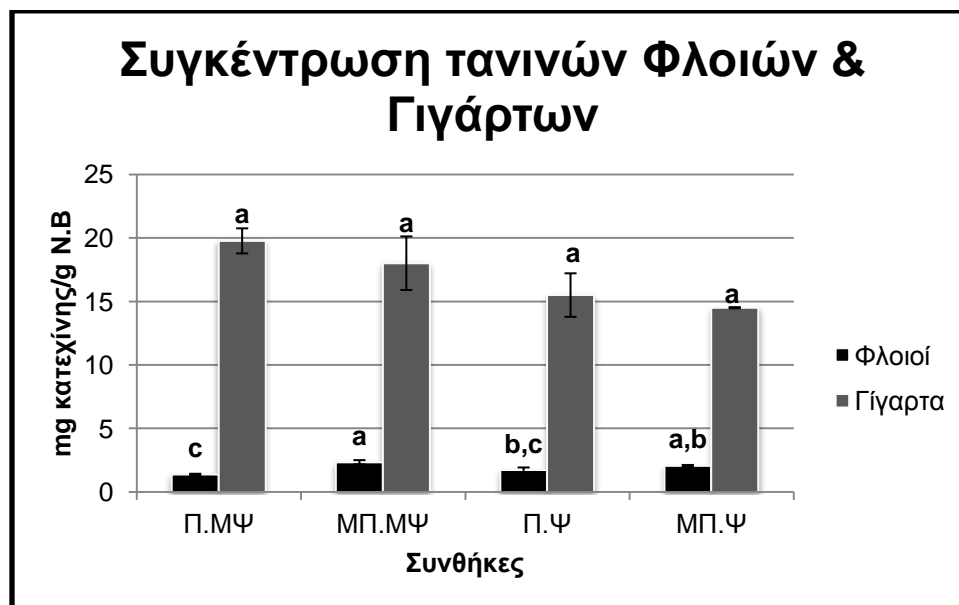
Στους φλοιούς η συνθήκη Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) φαίνεται να έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία περισσότερων τανινών. Στον αντίποδα, η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) παρουσιάζει την μικρότερη συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα των επεμβάσεων δε διαφέρουν στατιστικώς μεταξύ τους (Διάγραμμα 14).

Στα γίγαρτα την υψηλότερη συγκέντρωση έχει η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) ακολουθούμενη από την συνθήκη Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση). Η επέμβαση με την χαμηλότερη συγκέντρωση τανινών έχει η ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση). Τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά.

Οι τανίνες των γιγάρτων αυτής της μεθόδου παρουσιάζουν θετική συσχέτιση με τα ολικά φαινολικά του οίνου της μεθόδου Folin ( $r=0,639$ ,  $p<0,05$ ). Οι τανίνες των φλοιών παρουσιάζουν αρνητική συσχέτιση με την αντιοξειδωτική ικανότητα του οίνου ( $r=-0,603$ ,  $p<0,05$ ).

#### 4.2.4. ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ HARBERTSON

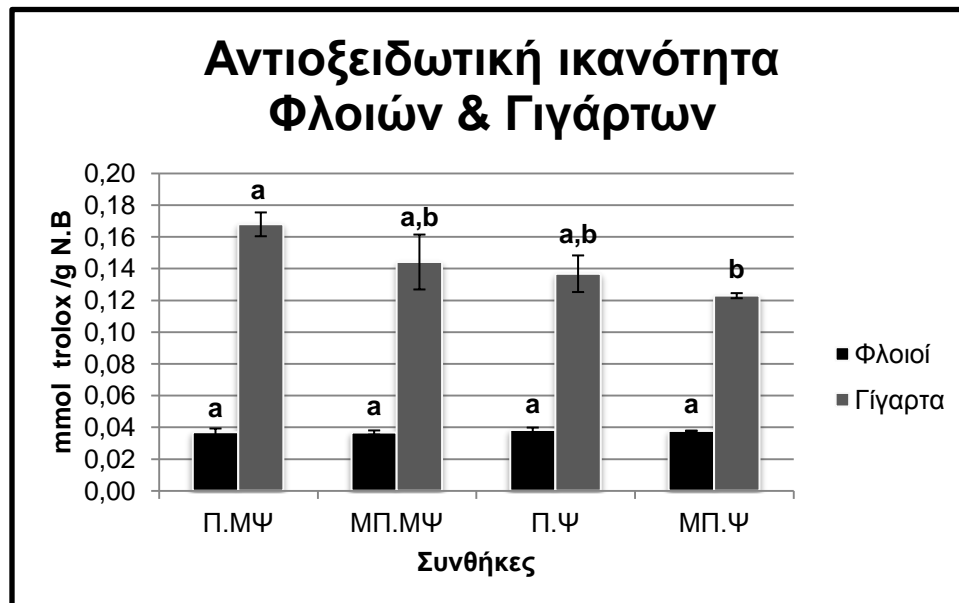
Για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων των τανινών σε φλοιούς και γίγαρτα χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη καμπύλη  $y=185,8 \cdot x+1,6865$ .



**Διάγραμμα 15.** Συγκέντρωση τανινών φλοιών και γιγάρτων mg κατεχίνης ανά g Νωπού Βάρους φλοιών και γιγάρτων αντίστοιχα

Στο διάγραμμα 13 παρατηρούμε ότι η υψηλότερη συγκέντρωση τανινών στους φλοιούς βρίσκεται στη συνθήκη ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση) και το δείγμα χωρίς άρδευση και με λίπανση επίσης ΜΠ.Ψ. Η χαμηλότερη εντοπίζεται στην Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) έχοντας σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Παρατηρούμε έτσι ότι η έλλειψη άρδευσης ευνοεί τη συγκέντρωση των τανινών των φλοιών.

Στα γίγαρτα, η συνθήκη με την υψηλότερη συγκέντρωση παρουσιάζεται στην Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) και η χαμηλότερη στην ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) χωρίς να έχουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους.



**Διάγραμμα 16.** Αντιοξειδωτική ικανότητα φλοιών & γιγάρτων

Η αντιοξειδωτική ικανότητα στα εκχυλίσματα γιγάρτων και φλοιών εκφράζεται ως mmol Trolox / g νωπού βάρους γιγάρτων και φλοιών αντίστοιχα.

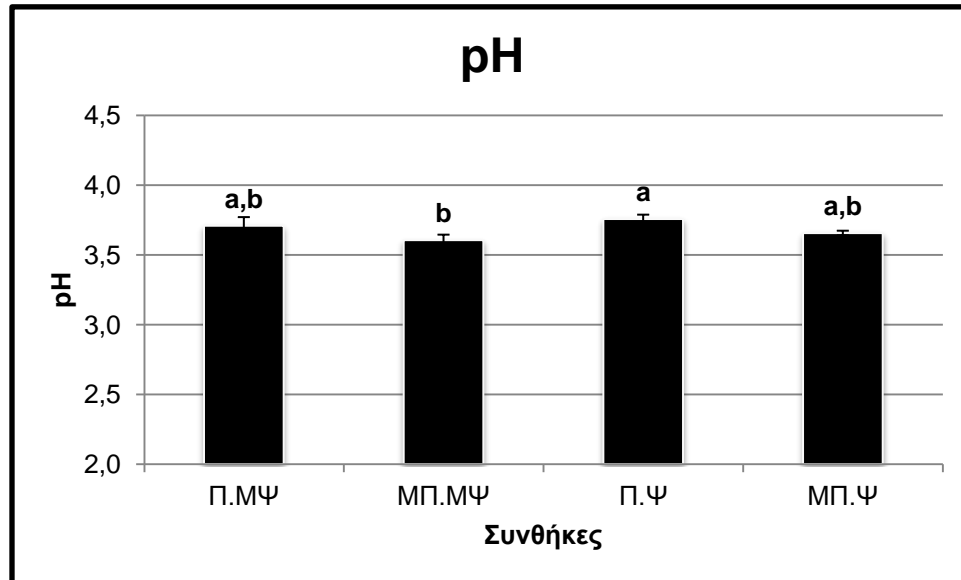
Στους φλοιούς η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) παρουσιάζει την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα ενώ η συνθήκη Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) τη μικρότερη, αν και τα αποτελέσματα μεταξύ τους δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά.

Στα γίγαρτα, η Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) έχει την υψηλότερη συγκέντρωση διαφέροντας στατιστικώς από την ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) με τη χαμηλότερη συγκέντρωση.



## 4.3. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

### 4.3.1. ΕΝΕΡΓΟΣ ΟΞΥΤΗΤΑ – ΡΗ

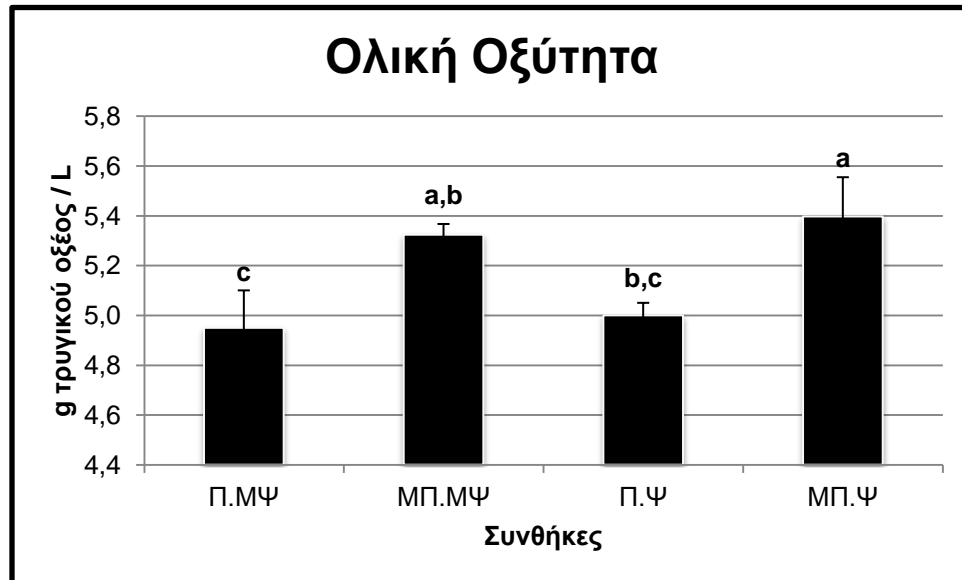


**Διάγραμμα 17. Ενεργός Οξύτητα**

Την υψηλότερη ενεργό οξύτητα (pH) έχει η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση), ενώ τη χαμηλότερη η ακριβώς αντίθετη συνθήκη ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση), έχοντας μεταξύ τους τα αποτελέσματα στατιστική διαφορά.

Κατά τον συντελεστή Pearson, παρουσιάζει ισχυρά θετική συσχέτιση με τις ολικές ανθοκυάνες με την απόχρωση ( $r=0,800$  και  $r=0,921$  αντίστοιχα,  $p<0,01$ ). με τον αλκοολικό βαθμό καθώς και με τις ανθοκυάνες του οίνου έπειτα από το HPLC ( $r=0,843$  και  $r=0,789$  αντίστοιχα,  $p<0,01$ ).

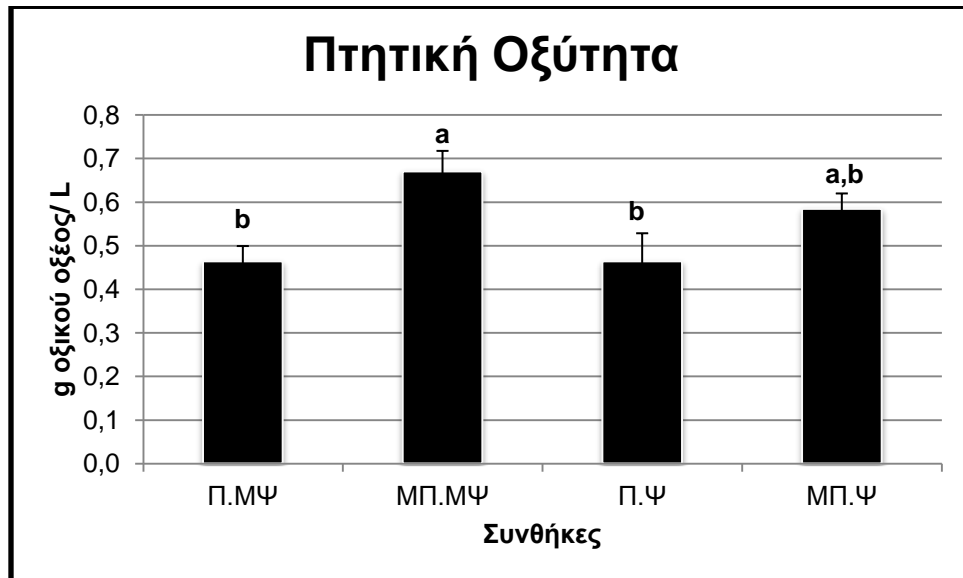
Παρουσιάζει όμως και αρνητική συσχέτιση με τον δείκτη ιονισμού ( $r=-0,851$ ,  $p<0,01$ ) καθώς και με την ολική οξύτητα του οίνου εκφρασμένη σε γραμμάρια ανά λίτρο οξικού οξέος ( $r=-0,843$ ,  $p<0,05$ ).



**Διάγραμμα 18.** Ολική Οξύτητα g τρυγικού οξέος /L

Την υψηλότερη συγκέντρωση παρουσιάζει η συνθήκη ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) και την χαμηλότερη η Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) έχοντας σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

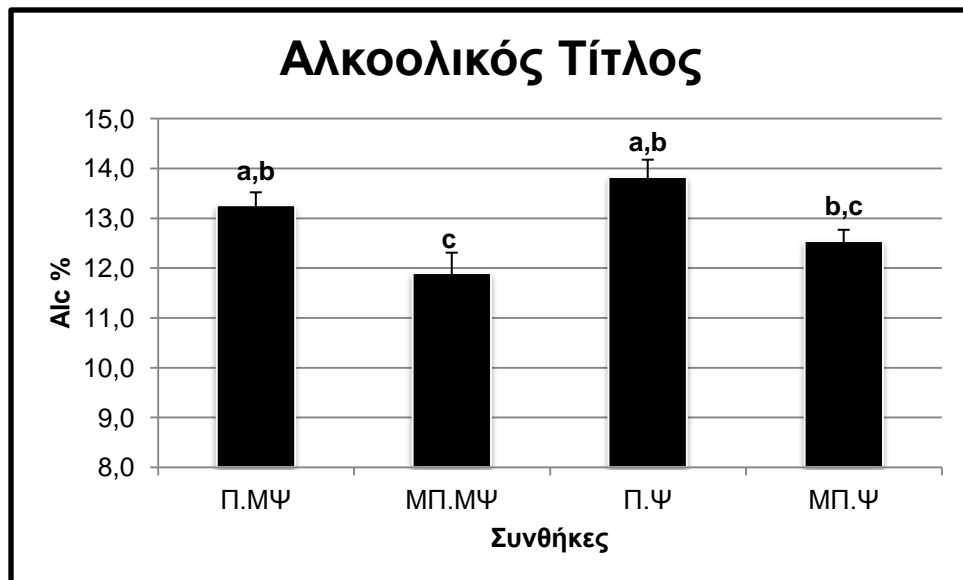
#### 4.3.3. ΠΤΗΤΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ



**Διάγραμμα 19.** Πτητική Οξύτητα g οξικού οξέος /L

Την υψηλότερη συγκέντρωση πτητικής οξύτητας την εντοπίζουμε στη συνθήκη που δεν υπάρχει καμία επέμβαση ΜΠ.ΜΨ και την χαμηλότερη στις Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση).

#### 4.3.4. ΑΛΚΟΟΛΙΚΟΣ ΤΙΤΛΟΣ



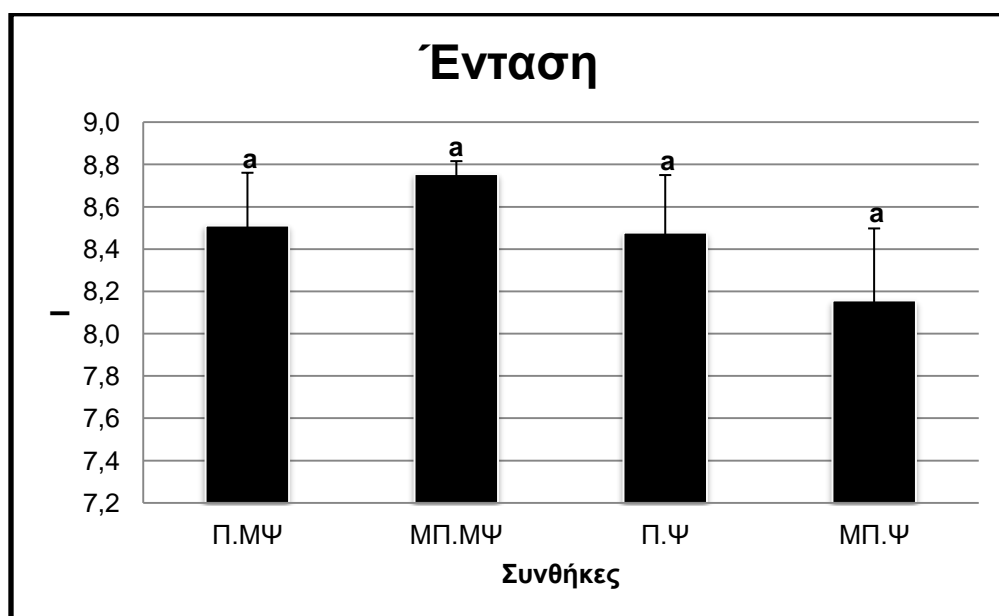
**Διάγραμμα 20.** Αλκοολικός Τίτλος

Η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) παρουσιάζει το υψηλότερο αλκοολικό βαθμό στον οίνο, ενώ τον χαμηλότερο η ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση) έχοντας μεταξύ τους σημαντική στατιστική διαφορά.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η θετική συσχέτιση του αλκοολικού τίτλου με τις ολικές ανθοκυάνες του οίνου ( $r=0,867$ ,  $p<0,01$ ).

#### 4.3.5. ΈΝΤΑΣΗ – ΑΠΟΧΡΩΣΗ

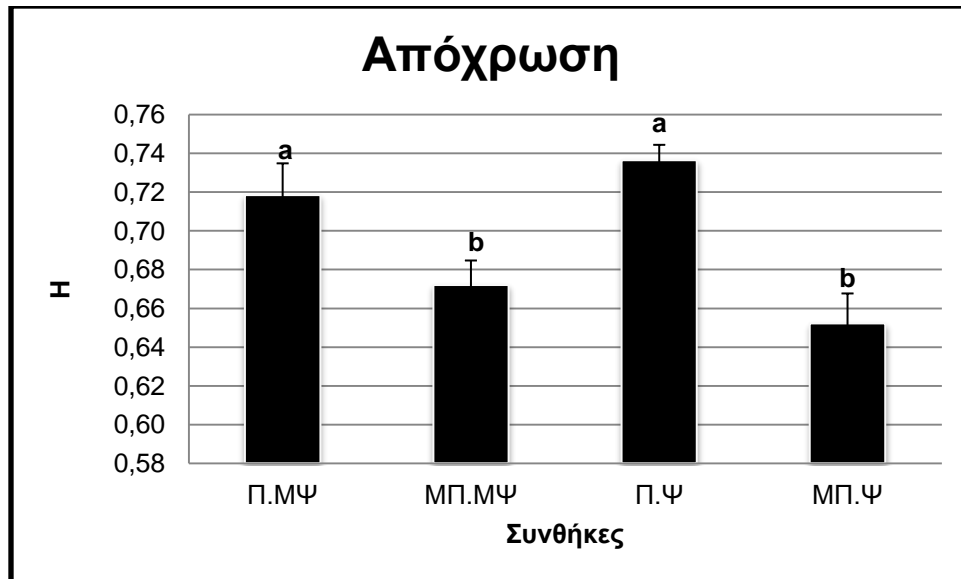
α) Ένταση



**Διάγραμμα 21.** Η επίδραση της διαφυλλικής λίπανσης στην ένταση των οίνων

Παρατηρούμε ότι τις υψηλότερες τιμές στην ένταση βρίσκεται η συνθήκη ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση). Ακολουθούν οι Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) και Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση), με όλα τα αποτελέσματα να μην παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

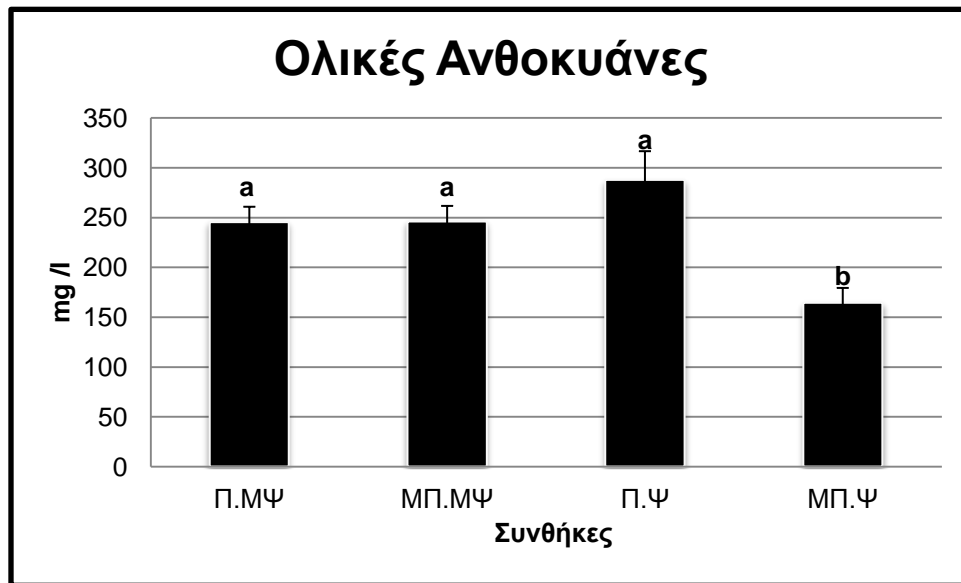
## β) Απόχρωση



**Διάγραμμα 22 . Η επίδραση της διαφυλλικής λίπανσης στην απόχρωση των οίνων**

Υψηλότερες τιμές απόχρωσης παρουσιάζει πρώτα η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) ακολουθούμενη από την Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) παρατηρώντας έτσι ότι η άρδευση επιδρά θετικά στην απόχρωση των οίνων. Ακολουθούν οι άλλες δύο συνθήκες έχοντας μεταξύ των δύο ομάδων σημαντική στατιστική διαφορά.

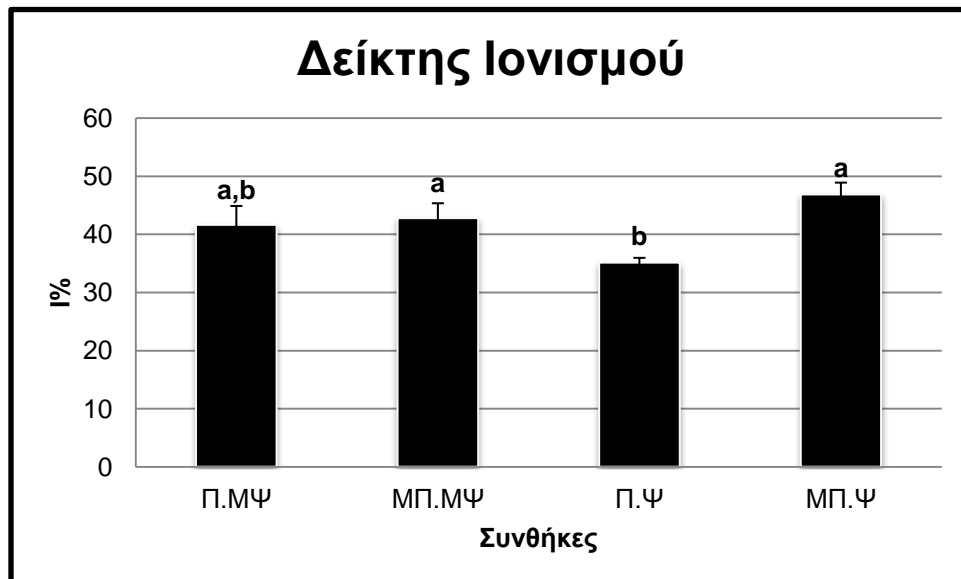
4.3.6. ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟ RIBEREAU-GAYON & STONESTREET (1965)



**Διάγραμμα 23.** Σύνολο ολικών ανθοκυανών στον οίνο

Παρατηρούμε ότι υψηλότερη συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών έδωσε η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) και την χαμηλότερη η ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) έχοντας στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Παρατηρούμε ότι η λίπανση θα πρέπει να συνοδεύεται με την άρδευση για να δίνει υψηλότερες συγκεντρώσεις.

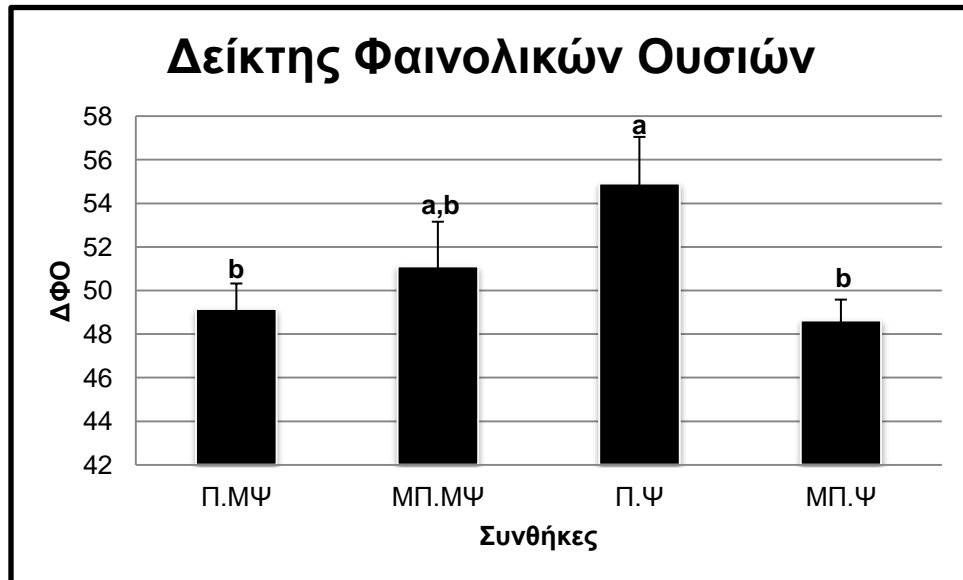
#### 4.3.7. ΔΕΙΚΤΗΣ ΙΟΝΙΣΜΟΥ – I%



**Διάγραμμα 24.** Δείκτης Ιονισμού

Ο δείκτης ιονισμού δείχνει το ποσοστό των ανθοκυανών που βρίσκονται στην έγχρωμη μορφή τους τη στιγμή της ανάλυσης.

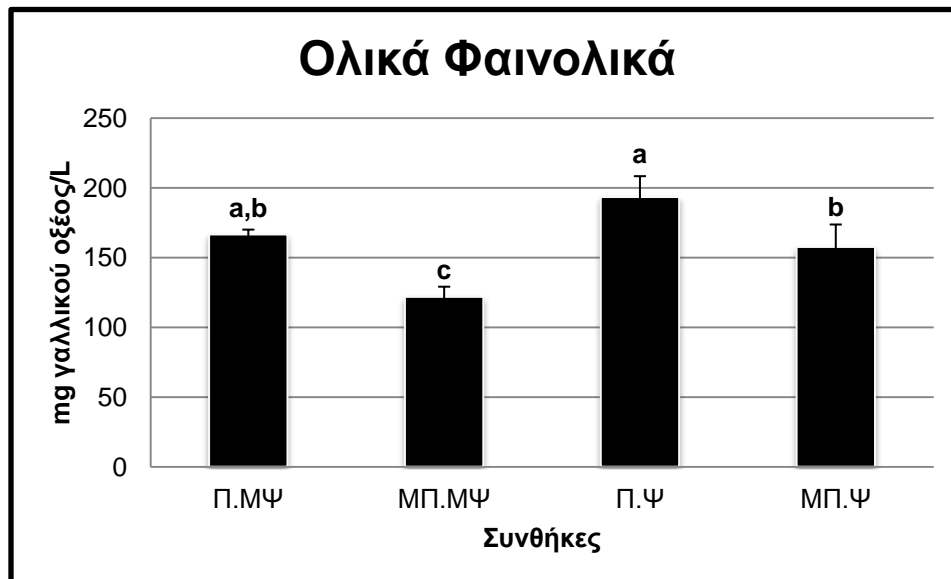
Το υψηλότερο ποσοστό παρουσιάζεται στη συνθήκη ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) και το χαμηλότερο στην Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) έχοντας σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Τα αποτελέσματα αυτά είναι ακριβώς τα αντίθετα των υπολογισμών του pH.



**Διάγραμμα 25.** Δείκτης Φαινολικών Ουσιών στον οίνο

Μεγαλύτερη τιμή Δ.Φ.Ο παρατηρείται στη συνθήκη που έχει αρδευτεί και υποστεί διαφυλλικό ψεκασμό με τους απενεργοποιημένους ζυμομύκητες. Την χαμηλότερη τιμή την έχει η συνθήκη ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση). Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους.



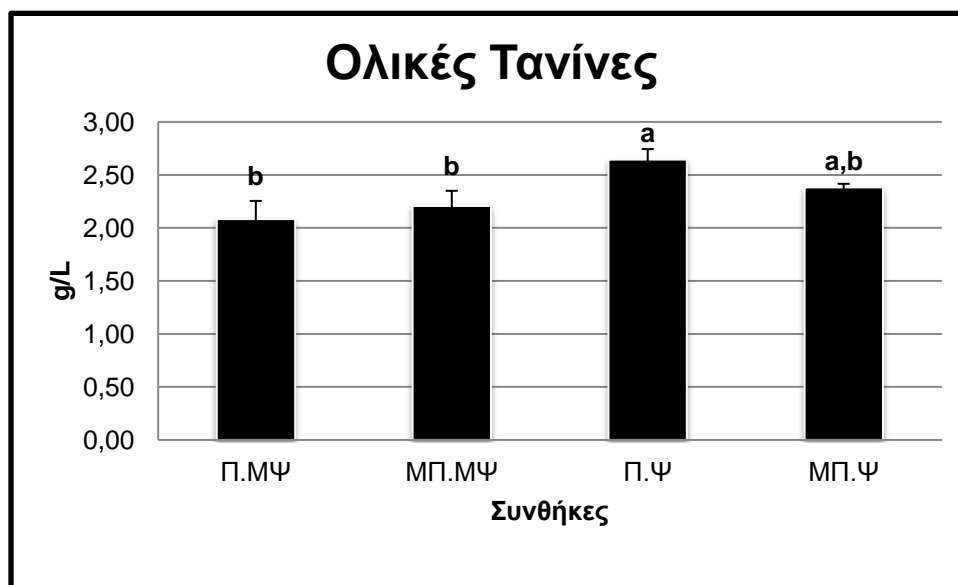


**Διάγραμμα 26.** Ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Τα αποτελέσματα έχουν εκφραστεί ως ισοδύναμα mg γαλλικού οξέος /L μέσω της πρότυπης καμπύλης  $y=926,39 \cdot x+1,1378$ .

Υψηλότερη συγκέντρωση έδωσε η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) ακολουθούμενη από την Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση). Η χαμηλότερη συγκέντρωση εντοπίζεται στην ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση). Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

#### 4.3.10. ΟΛΙΚΕΣ ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΩΝ RIBEREAU-GAYON & STONESTREET (1966)

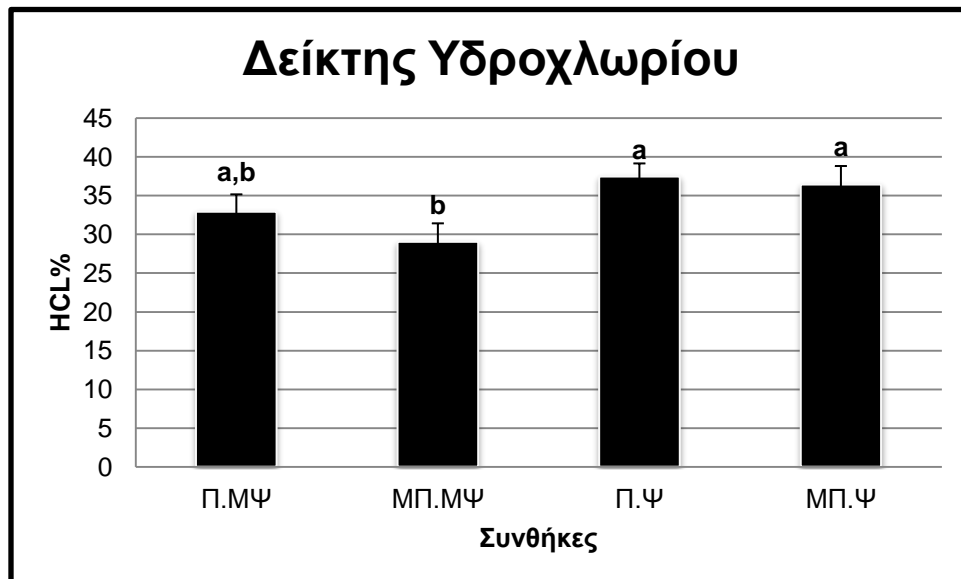


**Διάγραμμα 27.** Ολικές τανίνες με τη μέθοδο Ribereau-Gayon & Stonestreet

Η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) έχει την υψηλότερη συγκέντρωση τανινών έχοντας στατιστική διαφορά με την Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) που παρουσιάζει την χαμηλότερη.

Παρουσιάζουν θετική συσχέτιση με το σύνολο των ανθοκυανών στον οίνο ( $r=0,689$ ,  $p<0,05$ ) και αρνητική με τον δείκτη ιονισμού ( $r=-0,618$ ,  $p<0,05$ ). Επίσης, έχει υψηλή αρνητική συσχέτιση με την αντιοξειδωτική ικανότητα γιγάρτων, τα ολικά φαινολικά των γιγάρτων που έχουν προσδιοριστεί με τη μέθοδο του Folin-Ciocalteu και τέλος με τη συγκέντρωση τανινών των γιγάρτων που έχουν προσδιοριστεί με τη μέθοδο Harbertson ( $r=-0,765$ ,  $r=-0,737$  και  $r=-0,723$  αντίστοιχα,  $p<0,01$ ).

#### 4.3.11. ΔΕΙΚΤΗΣ ΥΔΡΟΧΛΩΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ – HCL%

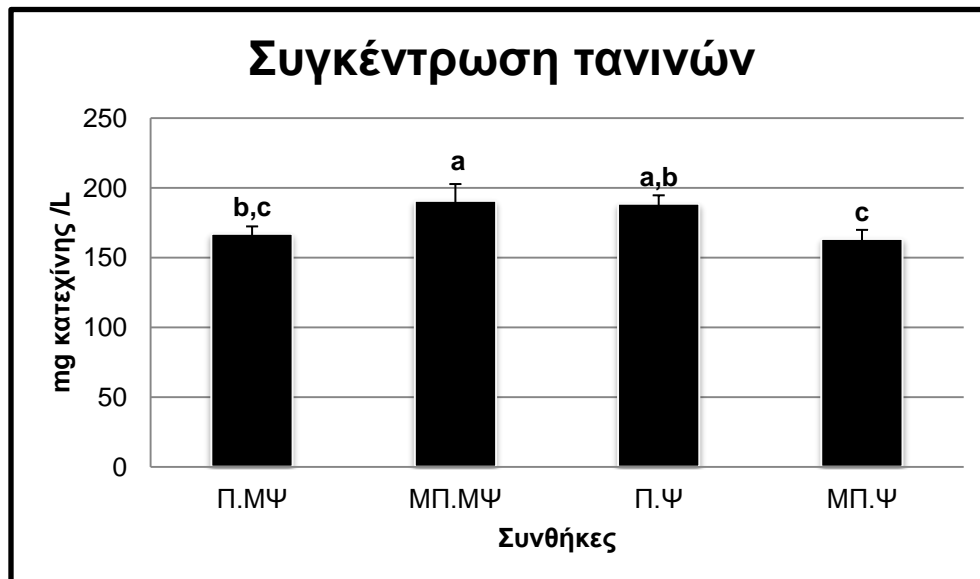


**Διάγραμμα 28.** Δείκτης Υδροχλωρικού Οξέος %

Ο Δείκτης Υδροχλωρίου εκφράζει την ικανότητα παλαίωσης του οίνου. Συγκεκριμένα, το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών. Παρατηρούμε ότι οι τιμές είναι υψηλές (>25%) σε όλες τις συνθήκες παρόλο που πρόκειται για νέους οίνους.

Η συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) παρουσιάζει το υψηλότερο ποσοστό υδροχλωρικού οξέος και η ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση) την χαμηλότερη. Τα δείγματα έχουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

#### 4.3.12. ΤΑΝΙΝΕΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ HARBERTSON



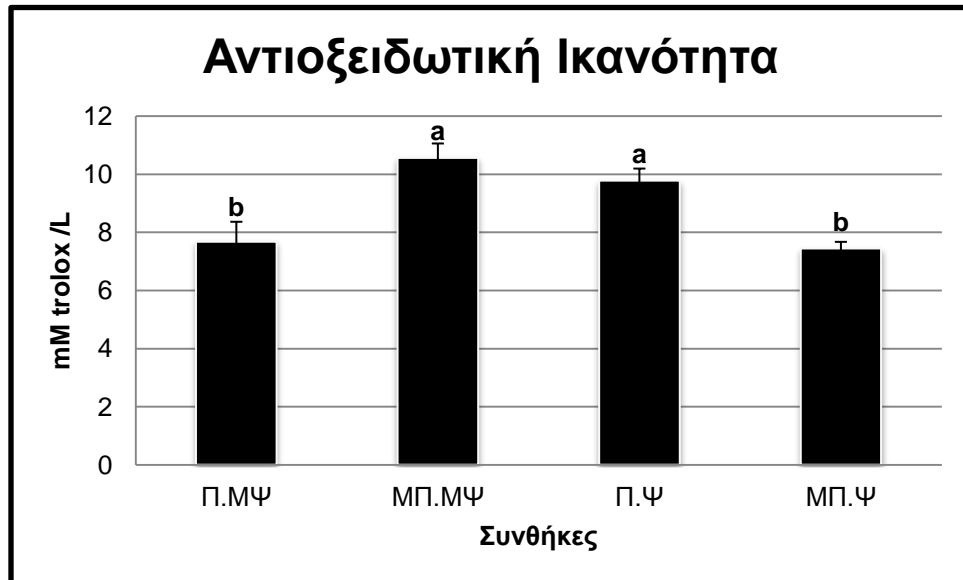
**Διάγραμμα 29.** Συγκέντρωση τανινών με τη μέθοδο Harbertson

Οι στυπτικές τανίνες με τη μέθοδο Harbertson υπολογίζονται μέσω της ευθείας  $y=185,8 \cdot x+1,6865$  και εκφράζονται σε mg κατεχίνης ανά L οίνου.

Η συνθήκη ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση) παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση τανινών (191 mg/L) και η ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) την χαμηλότερη (163 mg/L) παρουσιάζοντας σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

Ισχυρά θετική συσχέτιση έχει με την Αντιοξειδωτική Ικανότητα (DPPH) ( $r=0,824$ ,  $p<0,01$ ) και θετική συσχέτιση με τις ολικές ανθοκυάνες των Ribereau-Gayon & Stonestreet (1965), με το σύνολο των ανθοκυανών εκφρασμένες σε mg μαλβιδίνης/L καθώς και με τον Δείκτη Φαινολικών Ουσιών ( $r=0,691$ ,  $r=0,618$  και  $r=0,655$  αντίστοιχα,  $p<0,05$ ).

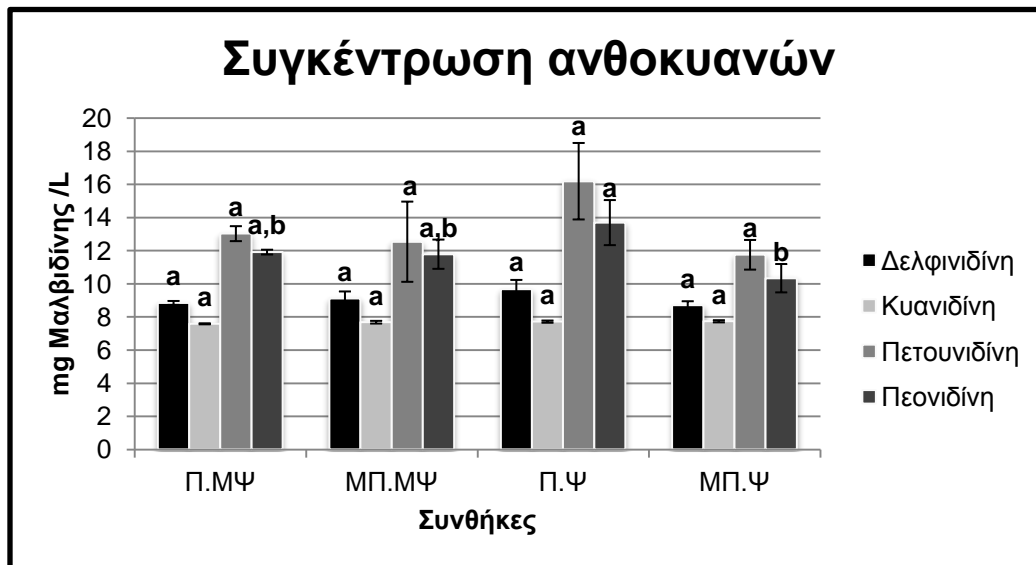
4.3.13. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ (DPPH)



**Διάγραμμα 30.** Αντιοξειδωτική Ικανότητα

Η αντιοξειδωτική ικανότητα εκφράζεται ως mM trolox ανά L οίνου. Την υψηλότερη συγκέντρωση παρουσιάζει η συνθήκη ΜΠ.ΜΨ (χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση) και την χαμηλότερη η ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση). Παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

#### 4.3.14. ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΟΙΝΟΥ ΜΕ HPLC



**Διάγραμμα 31.** Ανθοκυάνες mg Μαλβιδίνης ανά λίτρο

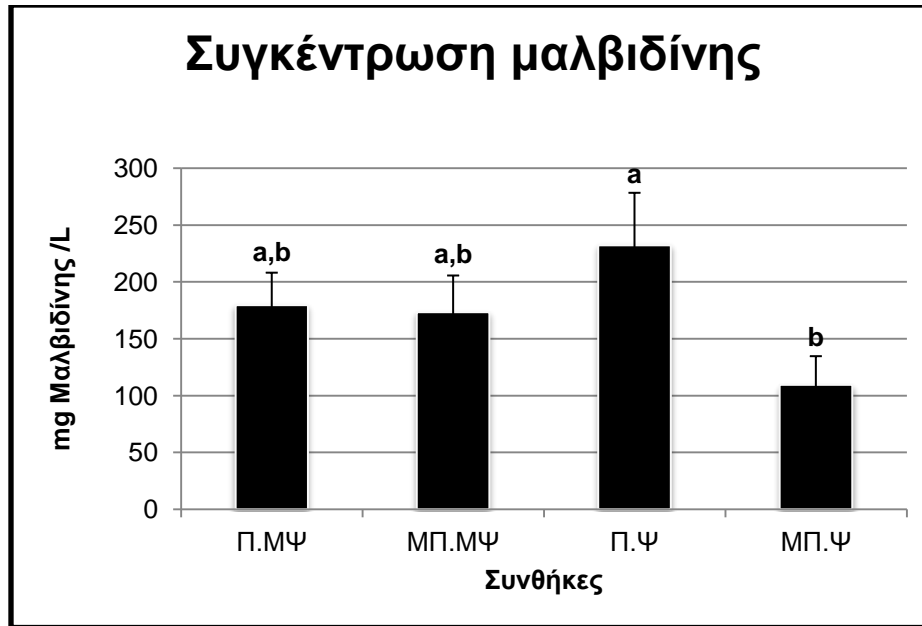
Οι ανθοκυάνες που υπολογίστηκαν με τη μέθοδο εκφράζονται σε mg μαλβιδίνης ανά λίτρο οίνου.

Ο μονογλυκοζίτης της δελφινιδίνης βρίσκεται σε υψηλότερα επίπεδα στη συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση). Μικρότερη συγκέντρωση εμφανίζει η συνθήκη ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση).

Για τον μονογλυκοζίτη της κυανιδίνης υψηλότερες συγκεντρώσεις παρουσιάζει η συνθήκη ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) χωρίς όμως μεταξύ τους να υπάρχει στατιστική διαφορά.

Ο μονογλυκοζίτης της πετουινιδίνης βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στη συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση), ενώ στην ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) σε μικρότερη.

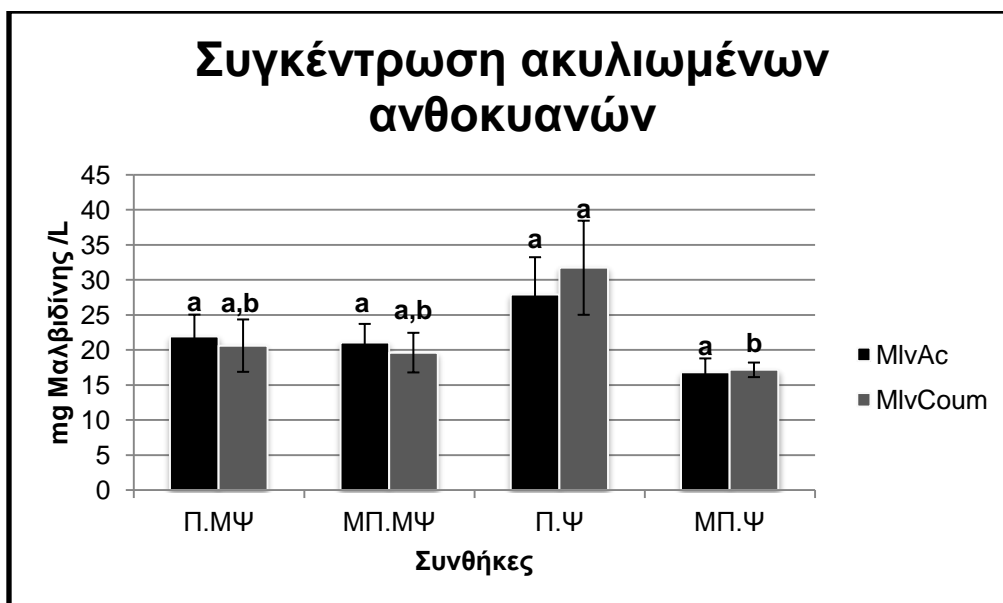
Ο μονογλυκοζίτης της πεονιδίνης βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στη συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση), ενώ στην ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση) σε μικρότερη.



**Διάγραμμα 32.** Συγκέντρωση μαλβιδίνης

Όσον αφορά τον μονογλυκοζίτη της μαλβιδίνης, ήταν η ανθοκυάνη με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε όλες τις συνθήκες. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση παρατηρήθηκε στη συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) ενώ η χαμηλότερη στην ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση), όπως παρατηρούμε στο διάγραμμα 10. Τα δείγματα έχουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

Παρατηρούμε έτσι ότι οι ανθοκυάνες εντοπίστηκαν με υψηλότερες συγκεντρώσεις στη συνθήκη Π.Ψ και κατά γενική ορολογία στην ΜΠ.Ψ με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις, συμπεραίνοντας ότι ενώ και στις δύο συνθήκες υπήρχε λίπανση, τον τελικό λόγο τον έπαιξε η άρδευση.

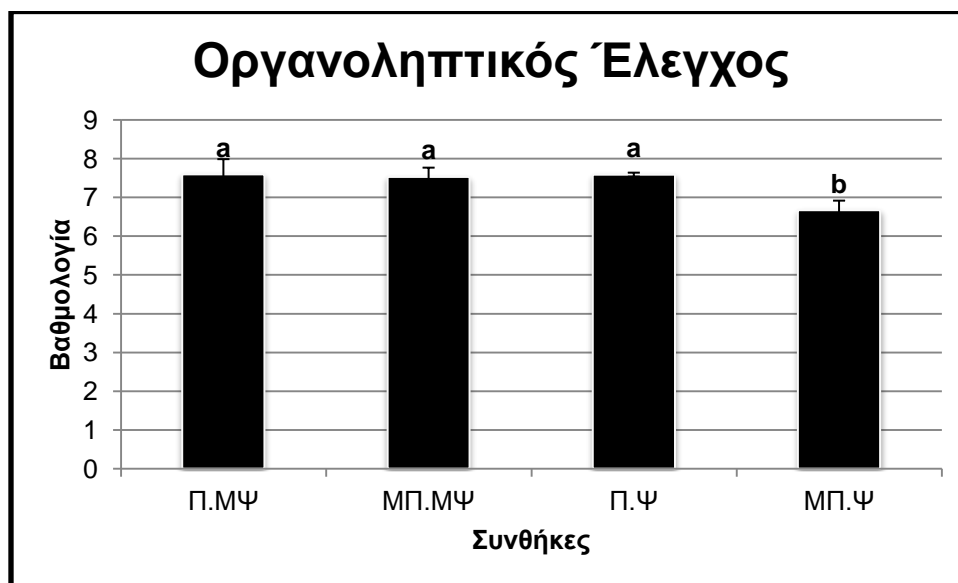


**Διάγραμμα 33.** Ακυλιωμένες ανθοκυάνες

Στις ακυλιωμένες ανθοκυάνες περιέχονται ο οξικός εστέρας της μαλβιδίνης (Mlv.Ac) και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης (Mlv.Coum). Ο οξικός καθώς και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στη συνθήκη Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) και σε χαμηλότερη στην ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση).



#### 4.3.15. ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΣ ΈΛΕΓΧΟΣ



**Διάγραμμα 34.** Οργανοληπτικός έλεγχος οίνων

Την υψηλότερη βαθμολογία συγκέντρωσε η συνθήκη Π.ΜΨ (με άρδευση και χωρίς λίπανση) και ακολουθείται από την Π.Ψ (με άρδευση και με λίπανση) χωρίς να έχουν καμία στατιστική διαφορά. Την χαμηλότερη βαθμολογία έχοντας στατιστική διαφορά με τις υπόλοιπες συνθήκες, συγκέντρωσε η ΜΠ.Ψ (χωρίς άρδευση και με λίπανση).

Η υψηλότερη βαθμολογία που μπορούσε να πάρει κάποιο δείγμα ήταν το 21

#### 4.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Μετά την ολοκλήρωση του πειραματικού μέρους της μεταπτυχιακής ερευνητικής εργασίας, ακολούθησε επεξεργασία των αποτελεσμάτων και η στατιστική τους επεξεργασία.

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με την ανάλυση της διακύμανσης (analysis of variance-ANOVA) του προγράμματος Statistica V.7 (Statsoft Inc., Tulsa,OK) και του Microsoft Office Excel 2013. Από το πρόγραμμα χρησιμοποιήθηκε η μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης (One – way ANOVA). Η διακύμανση των μέσων τιμών που προέκυψε μετά την εφαρμογή ANOVA ( $p < 0.05$ ) κατηγοριοποιήθηκαν με το τεστ Fisher's LSD (Least significant difference).

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εξετάζει την επίδραση της άρδευσης και της διαφυλλικής λίπανσης απενεργοποιημένων ζυμομυκήτων στα φαινολικά συστατικά των ραγών και του οίνου της ποικιλίας Αγιωργίτικο. Το πείραμα διεξήχθη στο Λεόντιο της Νεμέας το 2013. Δημιουργήθηκαν τέσσερις συνθήκες στον αμπελώνα: άρδευση και λίπανση, άρδευση χωρίς λίπανση, χωρίς άρδευση και χωρίς λίπανση, και λίπανση χωρίς άρδευση. Έγιναν αναλύσεις στα σταφύλια, στους φλοιούς, στα γιγάρτα και στους οίνους. Επίσης, έγινε οργανοληπτικός έλεγχος στους οίνους.

Όσον αφορά τις αναλύσεις στα σταφύλια, η άρδευση επιδρά στην ποιότητα των ραγών και πιο συγκεκριμένα στη μεταβολή του βάρους τους. Στις αναλύσεις που έγιναν παρατηρήθηκε ότι η άρδευση επιδρά θετικά στην αύξηση βάρους των ραγών καθώς και των φλοιών τους. Το βάρος των γιγάρτων φαίνεται να μην επηρεάζεται με την άρδευση. Απεναντίας, η λίπανση από μόνη της δείχνει να μην επηρεάζει την αύξηση του βάρους.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η έλλειψη λίπανσης ευνοεί τη συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών που εκφράζονται σε mg/ράγα, ενώ η άρδευση από μόνη της ευνοεί την αύξηση τους. Το ίδιο παρατηρείται και για τα ολικά φαινολικά των ραγών (au/ράγας) όπου η λίπανση δίνει τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις και η απουσία λίπανσης ενώ υπάρχει άρδευση τις υψηλότερες.

Το παραπάνω παρατηρείται επίσης έπειτα από τις αναλύσεις της HPLC, όπου ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών ανθοκυανών των φλοιών, και συγκεκριμένα των πέντε μονογλυκοζιτών της δελφινιδίνης, κυανιδίνης, πετουνιδίνης, πεονιδίνης και μαλβιδίνης, ευνοείται από την άρδευση, χωρίς όμως να υπάρχει στατιστική διαφορά με τις υπόλοιπες συνθήκες. Προφανώς το νερό ευνόησε, στο συγκεκριμένο έδαφος και την συγκεκριμένη χρονιά, τη σύνθεση ανθοκυανών. Βέβαια, βάσει του Δείκτη Εκχυλισματικότητας ολικών ανθοκυανών AE%, παρατηρούμε ότι το σταφύλι ωριμάζει πιο γρήγορα υπό την επίδραση της λίπανσης.

Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών των φλοιών και των γιγάρτων δείχνει να μην επηρεάζεται από τη λίπανση και από την άρδευση. Η λίπανση φαίνεται να μην επηρεάζει τη συγκέντρωση των τανινών των φλοιών, με την παρουσία λίπανσης να δίνει τα χαμηλότερα αποτελέσματα. Το αντίθετο συμβαίνει στις τανίνες των γιγάρτων όπου η απουσία λίπανσης σε συνδυασμό με την παρουσία άρδευσης δίνει τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τη συνεισφορά των τανινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά (δείκτης MP%). Στη περίπτωση λίπανσης, το αποτέλεσμα θεωρείται θετικό για μια ποικιλία σχετικά φτωχή σε τανίνες όπως το Αγιωργίτικο.

Όσον αφορά τις αναλύσεις που έγιναν στους οίνους, η λίπανση δίνει υψηλότερες τιμές pH και η ύπαρξη άρδευσης μειώνει τις τιμές του pH. Η ολική οξύτητα του επηρεάζεται θετικά από την ύπαρξη της λίπανσης και την απουσία της άρδευσης.

Ο αλκοολικός τίτλος παρουσιάζει υψηλότερη τιμή όταν υπάρχει λίπανση και άρδευση και τη χαμηλότερη στην αντίθετη περίπτωση, έχοντας μεταξύ τους σημαντική στατιστική διαφορά.

Στην απόχρωση του οίνου παρατηρούμε ότι η λίπανση την επηρεάζει εμμέσως, με κύριο παράγοντα την ύπαρξη άρδευσης. Όταν συνυπάρχουν, παρουσιάζονται οι υψηλότερες συγκεντρώσεις. Έτσι λοιπόν, η παρουσία άρδευσης και λίπανσης οδηγεί στην πρόωρη γήρανση του οίνου.

Οι ολικές ανθοκυάνες του οίνου λαμβάνουν την υψηλότερη συγκέντρωση εκεί που υπήρχε συνδυασμός άρδευσης και λίπανσης. Ενδιαφέρον λοιπόν παρουσιάζει ότι κατά τη συγκεκριμένη συνθήκη υπάρχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις ανθοκυανών και αλκοολικού τίτλου ( $r=0,890$ ,  $p<0,01$ ).

Ο Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (Δ.Φ.Ο) καθώς και η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών παρουσιάζουν επίσης υψηλότερες τιμές όταν υπάρχει συνδυασμός άρδευσης και λίπανσης και χαμηλότερη συγκέντρωση με στατιστική διαφορά όταν υπάρχει έλλειψη ενός των δύο παραγόντων. Ο Δ.Φ.Ο παρουσιάζει επίσης, θετική συσχέτιση με τις στυπτικές τανίνες του οίνου ( $r=0,655$ ,  $p<0,05$ ).

Αντίστοιχα αποτελέσματα λάβαμε από τη μέτρηση ολικών φαινολικών του οίνου όπου υψηλότερη συγκέντρωση έχουμε στη συνθήκη με άρδευση και λίπανση και τη χαμηλότερη όταν δεν υπάρχει τίποτα από τα δυο.

Ο Δείκτης Υδροχλωρίου HCl εκφράζει το ποσοστό των πολυμερισμένων τανινών. Υψηλότερες συγκεντρώσεις >35% έδωσε η συνθήκη όπου είχαμε επίδραση άρδευσης και λίπανσης. Η έλλειψη ενός από τους δύο παράγοντες δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το ποσοστό. Όμως, η έλλειψη και των δυο δίνει στατιστικώς χαμηλότερο αποτέλεσμα. Οι ολικές τανίνες επίσης επηρεάζονται θετικά με τη συνύπαρξη λίπανσης και άρδευσης.

Ολοκληρώνοντας, έπειτα από τον οργανοληπτικό έλεγχο που έγινε στους οίνους, βλέπουμε πως ο συνδυασμός άρδευσης και λίπανσης έδρασε θετικά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των οίνων.

Συμπερασματικά, η λίπανση συνοδευόμενη από την άρδευση βελτιώνει τα χαρακτηριστικά του οίνου, όπως την περιεκτικότητα σε αλκοόλη, σε ανθοκυάνες, φαινολικά συστατικά, δίνει οίνους με περισσότερο πολυμερισμένες τανίνες, θα λέγαμε

ίσως πιο εμπορικά ερυθρά κρασιά. Η χρήση του και οι επιπτώσεις της χρήσης του θα πρέπει να διερευνηθούν στην ποιότητα των οίνων από Αγιωργίτικο.

## 6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### 7.1. ΠΙΝΑΚΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΟΙΝΟ

I.

Δείγμα	pH	Std.Err.	Ολική	Std.Err.	Πτητική	Std.Err.	Αλκοολικός	Std.Err.
			Οξύτητα		Οξύτητα		Τίτλος	
			g		g οξικού		%	
			τρυγικού		οξέος/L			
			οξέος/L					
Π.ΜΨ	3,7	0,061	4,950	0,150	0,5	0,035	13,3	0,255
ΜΠ.ΜΨ	3,6	0,038	5,323	0,043	0,7	0,047	11,9	0,407
Π.Ψ	3,8	0,032	5,000	0,050	0,5	0,064	13,8	0,346
ΜΠ.Ψ	3,7	0,017	5,397	0,158	0,6	0,035	12,5	0,223

II.

Δείγμα	Ένταση	Std.Err.	Απόχρωση	Std.Err.	ΔΦΟ	Std.Err.
Π.ΜΨ	8,51	0,25	0,72	0,016	49,2	1,165
ΜΠ.ΜΨ	8,76	0,06	0,67	0,013	51,1	2,048
Π.Ψ	8,48	0,27	0,74	0,008	54,9	2,132
ΜΠ.Ψ	8,16	0,34	0,65	0,015	48,6	0,956

III.

Δείγμα	Δείκτης	Std.Err.	Δείκτης	Std.Err.	Αντιοξειδωτική	Strd.Err
	Ιονισμού		Υδροχλωρίου		ικανότητα	
	%		%		mM trolox	
Π.ΜΨ	41,60	3,27	32,91	2,24	7,68	0,68
ΜΠ.ΜΨ	42,78	2,56	29,01	2,40	10,55	0,50
Π.Ψ	35,15	0,80	37,44	1,71	9,77	0,42
ΜΠ.Ψ	46,86	2,03	36,41	2,40	7,45	0,22

IV.

Δείγμα	Ολικές Ανθοκυάνες		Συγκέντρωση τανινών		Ολικές Τανίνες		Ολικά Φαινολικά	
	mg ανθοκυανών /L	Std.Err.	mg κατεχίνης/L	Std.Err.	g/L	Std.Err.	mg γαλλικού οξέος/L	Std.Err.
<b>Π.ΜΨ</b>	245,4	15,36	166,92	5,38	2,08	0,17	166,47	3,54
<b>ΜΠ.ΜΨ</b>	246,0	15,65	190,55	12,13	2,21	0,14	121,78	7,29
<b>Π.Ψ</b>	287,6	28,95	188,50	6,10	2,64	0,10	193,43	14,89
<b>ΜΠ.Ψ</b>	164,5	14,79	163,39	6,43	2,38	0,03	157,64	16,05

V.

Δείγμα	Οργανοληπτικός Έλεγχος	Std.Err.
<b>Π.ΜΨ</b>	7,598	0,392
<b>ΜΠ.ΜΨ</b>	7,530	0,241
<b>Π.Ψ</b>	7,590	0,051
<b>ΜΠ.Ψ</b>	6,675	0,244

VI.

Δείγμα	Ανθοκυάνες*		Εστέρες**	
	mg μαλβιδίνης /L	Std.Err.	mg μαλβιδίνης/L	Std.Err.
<b>Π.ΜΨ</b>	220,84	29,29	42,53	6,83
<b>ΜΠ.ΜΨ</b>	214,41	35,76	40,66	5,37
<b>Π.Ψ</b>	279,51	50,25	59,62	12,01
<b>ΜΠ.Ψ</b>	147,89	27,37	33,95	2,94

\*μονογλυκοζίτες της δελφινιδίνης, πετουινιδίνης, πεονιδίνης, κυανιδίνης, μαλβινιδίνης

\*\*ο οξικός και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης

## 7.2. ΠΙΝΑΚΕΣ ΓΙΑ ΦΛΟΙΟΥΣ

VII.

Δείγμα	Ολικές Τανίνες		Ολικά Φαινολικά		Συγκέντρωση τανινών		Αντιοξειδωτική ικανότητα	
	g/g NB φλοιών	Std.Err.	mg γαλλικού οξέος/g NB φλοιών	Std.Err.	mg κατεχίνης/g NB φλοιών	Std.Err.	mmol trolox/g NB φλοιών	Std.Err.
<b>Π.ΜΨ</b>	0,0171	0,00274	11,69	0,064	1,376	0,064	0,0369	0,0023
<b>ΜΠ.ΜΨ</b>	0,0123	0,00271	12,26	0,609	2,344	0,170	0,0367	0,0013
<b>Π.Ψ</b>	0,0122	0,00071	10,39	2,260	1,725	0,212	0,0382	0,0016
<b>ΜΠ.Ψ</b>	0,0149	0,00003	11,56	0,005	2,069	0,063	0,0378	0,0001

VIII.

Δείγμα	Ανθοκυάνες*		Εστέρες**	
	mg μαλβιδίνης / g N.B	Std.Err.	mg μαλβιδίνης / g N.B	Std.Err.
<b>Π.ΜΨ</b>	1,03	0,073	0,455	0,022
<b>ΜΠ.ΜΨ</b>	0,74	0,160	0,385	0,076
<b>Π.Ψ</b>	0,89	0,035	0,421	0,018
<b>ΜΠ.Ψ</b>	0,94	0,001	0,421	0,001

\*μονογλυκοζίτες της δελφινιδίνης, πετουινιδίνης, πειονιδίνης, κυανιδίνης, μαλβινιδίνης  
 \*\*ο οξικός και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης

### 7.3. ΠΙΝΑΚΕΣ ΓΙΑ ΓΙΓΑΡΤΑ

ΙΧ.

Δείγμα	Ολικές Τανίνες		Ολικά Φαινολικά		Συγκέντρωση τανινών		Αντιοξειδωτική ικανότητα	
	g/g NB γιγάρτων	Std.Err.	mg γαλλικού οξέος/g NB γιγάρτων	Std.Err.	mg κατεχίνης/g NB γιγάρτων	Std.Err.	mmol trolox/g NB γιγάρτων	Std.Err.
Π.ΜΨ	0,097	0,009	58,91	0,91	19,78	0,99	0,1678	0,0075
ΜΠ.ΜΨ	0,084	0,002	55,61	7,05	18,02	2,11	0,1441	0,0173
Π.Ψ	0,097	0,012	50,58	4,36	15,51	1,71	0,1367	0,0115
ΜΠ.Ψ	0,087	0,003	50,55	0,54	14,51	0,05	0,1229	0,0016

### 7.4. ΠΙΝΑΚΕΣ ΓΙΑ ΟΛΟΚΛΗΡΗ ΡΑΓΑ

Χ.

Δείγμα	Εκχυλισματικότητα ανθοκυανών		Συγκέντρωση τανινών από φλοιούς		Συνεισφορά τανινών φλοιών	
	ΑΕ%	Std.Err.	dpell	Std.Err.	dpell%	Std.Err.
Π.ΜΨ	36,54	3,50	9,01	0,42	29,32	1,63
ΜΠ.ΜΨ	27,36	1,81	9,31	0,55	22,51	0,96
Π.Ψ	29,21	5,00	7,83	0,53	21,33	1,63
ΜΠ.Ψ	12,85	0,76	8,65	0,02	21,32	0,06



XI.

Δείγμα	Συνεισφορά τανινών γιγάρτων στα ο.φαινολικά	Std.Err.	Συγκέντρωση τανινών από γίγαρτα	Std.Err.	Συνεισφορά τανινών γιγάρτων	Std.Err.
	MP%		dTrep		dTrep%	
Π.ΜΨ	70,68	1,63	21,81	0,79	70,68	1,63
ΜΠ.ΜΨ	77,49	0,96	31,96	0,78	77,49	0,96
Π.Ψ	78,67	1,63	29,26	1,99	78,67	1,63
ΜΠ.Ψ	78,68	0,06	31,94	0,02	78,68	0,06

XII.

Δείγμα	Ανθοκυάνες	Std.Err.	Ανθοκυάνες	Std.Err.	Ολικά φαινολικά	Std.Err.	Ολικά φαινολικά	Std.Err.
	mg/ράγα		mg/g ράγας		au/ράγα		au/g ράγας	
Π.ΜΨ	1,755	0,055	0,926	0,039	2,399	0,071	1,264	0,047
ΜΠ.ΜΨ	1,507	0,094	0,895	0,042	2,314	0,083	1,379	0,038
Π.Ψ	1,511	0,074	0,830	0,047	2,352	0,092	1,292	0,063
ΜΠ.Ψ	1,039	0,067	0,816	0,053	1,499	0,051	1,177	0,040

XIII.

Δείγμα	Βάρος 100 ραγών	Std.Err.	Βάρος φλοιών 100 ραγών	Std.Err.	Βάρος γιγάρτων 100 ραγών	Std.Err.
	g		g		g	
Π.ΜΨ	185,39	6,46	47,11	0,97	9,01	0,56
ΜΠ.ΜΨ	159,33	4,83	37,86	0,78	9,54	0,46
Π.Ψ	183,59	7,98	45,32	1,35	10,25	0,95
ΜΠ.Ψ	155,99	0,00	33,05	0,00	8,36	0,00

## 7.5. ΠΙΝΑΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ PEARSON

XIV.

	Όργανο ληπτικός	Ένταση	Απόχρωση	ΔΦΟ	Ολικές Ανθοκυάνες mg/l	Δείκτης Ιονισμού 1%	Ολικά Φαινολικά mg γαλλικού οξέος/L	Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης/ L	Ολικές Τανίνες g/L	Δ HCl %	Αντιοξει δωτική ικανότητα α mM trolox	Ολικές Ανθοκ υάνες	Εκχυλισ ματικότητα α ανθοκυανών ΑΕ%	Συνεισφο ρά τανινών γιγάρτων στα ο.φαιν ολικά MP%	Συγκέντρω ση τανινών από φλοιούς drell	Συνεισφο ρά τανινών φλοιοών drell%	
Ένταση	0,326																
Απόχρωση	0,358	0,226															
ΔΦΟ	0,106	-0,094	0,377														
Ολικές Ανθοκυάνες mg/l	0,307	0,493	.769**	0,429													
Δείκτης Ιονισμού	-0,147	-0,141	-.824**	-.652*	-.813**												
Ολικά Φαινολικά mg γαλλικού οξέος/L	0,006	0,324	.677*	0,399	0,557	-.607*											
Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης/L	0,027	0,376	0,264	.655*	.691*	-.659*	0,260										
Ολικές Τανίνες g/L	-0,076	-0,022	0,229	0,454	0,401	-.618*	0,440	0,549									
Δ HCl %	-0,244	-0,223	-0,117	-0,211	-0,397	0,294	0,075	-0,363	-0,165								
Αντιοξειδωτική ικανότητα mM trolox	0,221	0,168	0,209	0,522	.650*	-0,563	-0,007	.824**	0,484	-	0,488						
Ολικές Ανθοκυάνες	0,317	0,493	0,138	-0,323	0,378	0,156	-0,010	0,062	-0,479	-	0,082	0,073					
Εκχυλισματικότητα ανθοκυανών ΑΕ%	0,380	0,399	0,564	-0,144	.679*	-0,283	0,172	0,171	-0,235	-	0,129	0,213	.845**				
Συνεισφορά τανινών γιγάρτων στα ο.φαινολικά MP%	-0,458	-0,248	-0,016	0,202	0,048	-0,310	-0,077	0,297	0,536	0,022	0,356	-.616*	-0,377				
Συγκέντρωση τανινών από φλοιούς drell	0,182	0,425	-0,465	-0,354	-0,113	0,572	-0,218	-0,021	-0,437	-	0,115	0,002	.691*	0,218	-.620*		
Συνεισφορά τανινών φλοιοών drell%	0,458	0,248	0,016	-0,202	-0,048	0,310	0,077	-0,297	-0,536	-	0,022	-0,356	.616*	0,377	-1.000**	.620*	
Συγκέντρωση τανινών από γιγάρτα dTrep	-0,435	0,048	-0,345	-0,059	0,008	0,014	-0,225	0,348	0,422	-	0,077	0,427	-0,269	-0,292	.818**	-0,070	-.818**

## XV.

	Όργανο ληπτικός	Ένταση	Απόχρωση	ΔΦΟ	Ολικές Ανθοκυάνες mg/l	Δείκτης Ιονισμού I%	Ολικά Φαινολικά mg γαλλικού οξέος/ L	Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης/ L	Ολικές Τανίνες g/L	Δ HCl %	Αντιοξειδωτική ικανότητα α mM trolox	Ολικές Ανθοκυάνες	Εκχυλισματικότητα ανθοκυανών ΑΕ%	Συνεισφορά τανινών γιγάρτων στα ο.φαιν MP%	Συγκέντρωση τανινών από φλοιούς drell	Συνεισφορά τανινών φλοιών drell%
Συνεισφορά τανινών γιγάρτων dTrep%	-0,458	-0,248	-0,016	0,202	0,048	-0,310	-0,077	0,297	0,536	0,022	0,356	-0,616*	-0,377	1,000**	-0,620*	-1,000**
Αντιοξειδωτική ικανότητα mmol trolox/g NB φλοιών	0,026	0,394	-0,029	-0,353	0,009	0,351	0,261	-0,357	-0,244	0,331	-0,338	0,333	0,204	-0,205	0,293	0,205
Αντιοξειδωτική ικανότητα mmol trolox/g NB φλοιών	0,056	0,098	-0,085	-0,240	-0,255	0,201	0,072	-0,418	-0,094	-0,123	-0,603*	-0,127	-0,141	-0,414	-0,066	0,414
Ολικά Φαινολικά mg γαλλικού οξέος /g NB φλοιών	-0,114	0,420	-0,015	-0,282	0,343	0,053	0,140	0,063	-0,092	-0,504	0,194	0,466	0,346	-0,190	0,474	0,190
Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης /g NB φλοιών	-0,284	0,091	-0,478	0,162	-0,174	0,215	-0,292	0,191	-0,040	-0,264	0,311	-0,286	-0,478	0,379	0,150	-0,379
Αντιοξειδωτική ικανότητα mmol trolox/g NB γιγάρτων	0,435	-0,001	0,325	-0,144	-0,003	0,099	-0,102	-0,407	-0,765**	0,093	-0,285	0,433	0,465	-0,625*	0,116	0,625*
Ολικές Τανίνες g /g NB γιγάρτων	0,357	0,254	0,301	0,234	0,419	-0,261	0,639*	0,148	0,336	-0,196	0,141	0,245	0,217	-0,515	0,289	0,515
Ολικά Φαινολικά mg γαλλικού οξέος/g NB γιγάρτων	0,386	-0,145	0,104	-0,333	-0,308	0,260	-0,375	-0,578*	-0,737**	0,142	-0,356	0,132	0,153	-0,376	-0,011	0,376
Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης/g NB γιγάρτων	0,580*	0,255	0,090	-0,232	-0,001	0,282	-0,128	-0,329	-0,723**	-0,079	-0,161	0,600*	0,432	-0,821**	0,537	0,821**
Ανθοκυάνες mg/ράγα	0,758**	0,376	0,501	-0,253	0,451	-0,160	0,005	-0,075	-0,287	-0,118	0,094	0,660*	0,809**	-0,523	0,184	0,523
Ανθοκυάνες mg/g ράγας	0,482	0,385	-0,062	-0,737**	-0,075	0,378	-0,374	-0,369	-0,388	0,068	-0,254	0,513	0,456	-0,342	0,326	0,342

XVI.

	Όργανο ληπτικό ς	Ένταση	Απόχρ ωση	ΔΦΟ	Ολικές Ανθοκυ άνες mg/l	Δείκτης Ιονισμού l%	Ολικά Φαινολικ ά mg γαλλικού οξέος/L	Συγκέντρ ωση τανινών mg κατεχίνης /L	Ολικές Τανίνες g/L	Δ HCl %	Αντιοξε ιδωτική ικανότη τα mM trolox	Ολικές Ανθοκυά νες	Εκχυλισ ματικότητα ανθοκυα νών ΑΕ%	Συνεισφ ορά τανινών γιγάρτω ν στα ο.φαιν MP%	Συγκέντρωση τανινών από φλοιούς drpll	Συνεισφορά τανινών φλοιών drpll%
Ολικά φαινολικά au/ράγα	.757**	0,406	.597*	0,024	.653*	-0,401	0,046	0,214	-0,073	-0,233	0,373	0,539	.791**	-0,293	0,011	0,293
Ολικά φαινολικά au/g ράγας	0,443	0,446	0,015	-0,298	0,213	0,015	-0,396	0,140	-0,009	-0,141	0,225	0,260	0,365	0,124	0,023	-0,124
Anthocyanins mg μαλβιδίνης/ L	0,257	0,455	.756**	0,452	.974**	-.868**	.626*	.709**	.580*	-0,380	.632*	0,225	0,555	0,125	-0,212	-0,125
Esters mg μαλβιδίνης/ L	0,197	0,313	.698*	0,379	.903**	-.808**	.630*	.618*	.689*	-0,276	.608*	0,164	0,496	0,234	-0,243	-0,234
Anthocyanins mg μαλβιδίνης/ g NB φλοιών	0,084	-0,251	0,347	-0,399	-0,104	0,035	0,276	-.641*	-0,245	0,247	-0,458	0,090	0,186	-0,313	-0,092	0,313
Esters mg μαλβιδίνης/ g NB φλοιών	0,182	-0,140	0,328	-0,437	-0,052	0,093	0,163	-.607*	-0,374	0,259	-0,328	0,217	0,284	-0,279	0,016	0,279
pH	0,308	0,085	.921**	0,400	.800**	-.851**	0,507	0,381	0,358	-0,267	0,406	0,119	0,570	0,182	-0,491	-0,182
Ολική Οξύτητα g τρυγικού οξέος/L	-0,513	0,078	-.794**	-0,385	-0,538	.657*	-0,420	-0,140	-0,251	0,297	-0,146	-0,075	-0,437	0,163	0,397	-0,163
Πτητική Οξύτητα g οξικού οξέος/L	-0,235	-0,186	-0,517	-0,258	-.660*	0,397	-0,408	-0,331	-0,026	-0,089	-0,260	-.621*	-.770**	0,403	-0,115	-0,403
Αλκοολικός Τίτλος %	0,359	0,414	.887**	0,434	.890**	-.780**	.686*	0,513	0,299	-0,068	0,353	0,371	.698*	-0,082	-0,220	0,082

## XVII.

	Συγκέντρωση τανινών από γίγαρτα dTrep	Συνεισφορά τανινών γιγάρτων dTrep%	Αντιοξειδωτική ικανότητα mmol trolox/g NB φλοιών	Αντιοξειδωτική ικανότητα mmol trolox/g NB φλοιών	Ολικά Φαινολικά mg γαλλικού οξέος /g NB φλοιών	Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης /g NB φλοιών	Αντιοξειδωτική ικανότητα mmol trolox/g NB γιγάρτων	Ολικές Τανίνες g /g NB γιγάρτων
Συνεισφορά τανινών γιγάρτων dTrep%	.818**							
Αντιοξειδωτική ικανότητα mmol trolox/g NB φλοιών	0,001	-0,205						
Αντιοξειδωτική ικανότητα mmol trolox/g NB φλοιών	-0,483	-0,414	0,170					
Ολικά Φαινολικά mg γαλλικού οξέος /g NB φλοιών	0,141	-0,190	0,423	0,055				
Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης /g NB φλοιών	0,541	0,379	0,147	-0,196	0,334			
Αντιοξειδωτική ικανότητα mmol trolox/g NB γιγάρτων	-0,765**	-0,625*	0,089	0,109	-0,024	-0,277		
Ολικές Τανίνες g /g NB γιγάρτων	-0,402	-0,515	0,256	0,206	0,393	-0,234	-0,015	
Ολικά Φαινολικά mg γαλλικού οξέος/g NB γιγάρτων	-0,540	-0,376	-0,045	0,091	-0,199	-0,154	.872**	-0,309
Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης/g NB γιγάρτων	-0,690*	-0,821**	0,245	0,146	0,261	-0,097	.855**	0,273
Ανθοκυάνες mg/ράγα	-0,495	-0,523	0,144	0,078	0,134	-0,521	.638*	0,245
Ανθοκυάνες mg/g ράγας	-0,126	-0,342	0,272	0,243	0,050	-0,363	0,312	-0,152
Ολικά φαινολικά au/ράγα	-0,332	-0,293	0,060	-0,029	0,098	-0,367	0,491	0,210
Ολικά φαινολικά au/g ράγας	0,246	0,124	0,101	0,077	-0,045	-0,045	-0,016	-0,315
Anthocyanins mg μαλβ/ L	0,052	0,125	-0,041	-0,173	0,285	-0,211	-0,157	0,472
Esters mg μαλβ/ L	0,176	0,234	0,015	-0,264	0,257	-0,263	-0,298	0,492
Anthocyanins mg μαλβ/ g NB φλοιών	-0,465	-0,313	0,165	0,072	0,106	-0,487	0,488	0,253
Esters mg μαλβιδίνης/ g NBφλοιών	-0,362	-0,279	0,290	-0,119	0,181	-0,326	.579*	0,164
pH	-0,112	0,182	-0,216	-0,263	-0,025	-0,457	0,134	0,182
Ολική Οξύτητα g τρυγικού οξέος/L	0,476	0,163	0,343	-0,061	0,220	.672*	-0,271	-0,326
Πτητική Οξύτητα g οξικού οξέος/L	0,418	0,403	-0,190	0,097	-0,179	0,444	-0,313	-0,505
Αλκοολικός Τίτλος %	-0,239	-0,082	0,062	-0,172	0,024	-0,479	0,155	0,393

## XVIII.

	Ολικά Φαινολικά mg γαλ. οξέος/g NB γιγάρτων	Συγκέντρωση τανινών mg κατεχ/ g NB γιγάρτων	Ανθοκυάνες mg/ράγα	Ανθοκυάνες mg/g ράγας	Ολικά φαινολικά au/ράγα	Ολικά φαινολικά au/g ράγας	Anthocyanins mg μαλβιδίνης/ L	Esters mg μαλβιδίνης/ L	Anthocyanins mg μαλβιδίνης/ g N.B φλοιών	Esters mg μαλβιδίνης/ g N.B φλοιών	pH	Ολική Οξύτητα g τρυγ. οξέος/L	Πτητική Οξύτητα g οξ. οξέος/L
Συγκέντρωση τανινών mg κατεχίνης/g NB γιγάρτων	.707*												
Ανθοκυάνες mg/ράγα	0,496	.662*											
Ανθοκυάνες mg/g ράγας	0,420	0,408	.704*										
Ολικά φαινολικά au/ράγα	0,327	0,485	.927**	0,536									
Ολικά φαινολικά au/g ράγας	0,100	0,033	0,528	.752**	.623*								
Anthocyanins mg μαλβ/ L	-0,423	-0,149	0,359	-0,126	0,571	0,187							
Esters mg μαλβ/ L	-0,520	-0,287	0,284	-0,134	0,472	0,139	.953**						
Anthocyanins mg μαλβ/ g NB φλοιών	0,502	0,368	0,317	0,146	0,057	-0,399	-0,111	-0,020					
Esters mg μαλβιδίνης/ g NBφλοιών	.604*	0,494	0,420	0,243	0,185	-0,256	-0,113	-0,032	.943**				
pH	-0,040	-0,108	0,431	-0,083	0,573	0,096	.789**	.786**	0,217	0,201			
Ολική Οξύτητα g τρυγικού οξέος/L	-0,106	-0,073	-0,483	0,003	-0,525	0,002	-0,551	-0,539	-0,307	-0,190	-0,843**		
Πτητική Οξύτητα g οξικού οξέος/L	0,125	-0,291	-0,531	-0,008	-0,588*	-0,016	-0,596*	-0,551	-0,058	-0,074	-0,458	0,392	
Αλκοολικός Τίτλος %	-0,178	0,032	0,506	-0,018	.643*	0,143	.867**	.811**	0,050	0,055	.843**	-0,684*	-0,739**

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 8.1. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

**Καλλίθρακα Σ.** (2011). *Παραδόσεις ΔΠΜΣ Χημείας Οίνου*, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

**Κοτσερίδης Γ.** (2005). *Σημειώσεις/ Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας Ι*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Αθήνα.

**Κουράκου - Δραγώνα Σ.** (1998). *Θέματα οινολογίας*. Τροχαλία, σελ 402

**Σταυρακάκης Μ.** (1999). *Ειδική Αμπελουργία ΙΙ. Φυσιολογία και οικολογία της αμπέλου*. Αθήνα

**Σταυρακάκης Μ.** (2010). *Αμπελογραφία*. Εκδόσεις Τροπή

**Χαρβαλιά, Α. και Μπενά – Τζούρου, Ε.** (1981). *Το χρώμα των ερυθρών οίνων από διάφορες ποικιλίες και περιοχές της Ελλάδας, Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά*. Τόμος 1, σελ. 2-25, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα

**Χαρβαλιά, Α. και Μπενά – Τζούρου, Ε.** (1982). *Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων, Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά*. Τόμος 2, σελ. 1-77, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) 1234/2007 ΑΡΘΡΟ 118 γ, ΠΑΡ/ΦΟΣ 2

### 8.2. ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

**Adams, A.M.** (1960). *Yeasts in horticultural soils*. Report of the Horticultural Experiment Station and Products Laboratory, pp.79-82

**Adams, D.O. and J.F. Harbertson.** (1999). *Use of alkaline phosphatase for the analysis of tannins in grapes and red wines*. Am. J. Enol. Vitic. 50:247-252.

**Arozarena, I., Casp, A., Marin, R. and Navarro, M. (2000).** *Multivariate differentiation of Spanish red wines according to region and variety*, Journal of the Science of Food and Agriculture, 80: 1909-1917.

**Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkel R.E** (1996). *Principles and practices of winemaking*

**Castaneda-Ovado, A., Pacheco-Hernandez, L., Paez-Hernandez, H., Rodriguez, J. and Galan-Vidal, C., (2009).** *Chemical studies of anthocyanins: A review, Food Chemistry.* 113, 859-871.

**Castelli, T. (1957).** *Climate and agents of wine fermentation.* Am. J. Enol. Vol. 8, pp. 149-156, 1957.

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

**Coombe, B.G. and Dry, P.R. (1992).** *Viticulture. Volume 2. Practices.* Winetitles. Adelaide.

**Delgado R., Martin P., Alamo M. and Gonzalez M. (2004).** *Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen and potassium fertilisation rates.* J Sci Food Agric 84:623–630

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

**Flanzy M. and Poux C. (1958)** Ann.Tech. Agric., 7, 377

**Glories, Y. (1978).** *Recherches sur la matière colorante des vins rouges. PhD Thesis.* University of Bordeaux II (France).

**Glories, Y. (1984).** *La couleur des vins rouges. Mesure, origine et interprétation. Partie I. Connaiss. Vigne Vin,* 18, 195–217.

**Glories, Y. (1987)** *Le bois et la qualité des vins et des eaux-de-vie.* (ed. G. Gimberteau). *Special Conn. Vigne Vin,* 81.

**Habertson, F. & Adams, J. A. (2002):** *Tannins in skins and seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah and Pinot noir berries during ripening.* Am. J. Enol. Vitic., 53, 54-59.

**Iland, P.G., Cynkar, W., Francis, I.L., Williams, P.J. and Coombe, B.G. (1996).** *Optimisation of methods for the determination of total and red free glycosylglucose in black grape berries of Vitis vinifera.* Australian Journal of Grape and Wine Research 2: 171-178

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



**Jackson, D.I. and Lombard, P.B.** (1993). *Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality. A review.* American Journal of Enology and Viticulture. 44:409-430

**Kallithraka, S., Mohdaly, A.A., Makris, D.P. and Kefalas, P.** (2005). *Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (Vitis vinifera sp.): association with antiradical activity.* Journal of Food Composition and Analysis, Vol. 18, p. 375-386

**Macfie, H.J., Bratchell, N., Greenhoff, K., Vallis, L. V.** (1989) *Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests.* Journal of Sensory Studies, **4 (2)**, 129–148.

**Mateus, N., Marques, S., Goncalves, A., Machado, J.M. and De Freitas, V.,** (2001). *Proanthocyanidin composition of red Vitis Vinifera varieties from the Douro Valley during ripening: Influence of cultivation altitude.* American Journal of Enology and Viticulture. 52:2: 115-121.

**Ojeda, H., Anday, C., Kraeva, E., Carbonneau, A. and 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

**Pereira, G.E., Gaudillere, J-P., Pieri, P., Hilbert, G., Maucourt, M., Deborde, C., Moing, A. and Rolin, D.** (2006). *Microclimate influence on mineral and metabolic profiles of grape berries.* American Chemical Society. 54:18:6765-6775.

**Razungles, A. Baumes, L.R., Dufour, Cl., Sznaper, N.Cl. and Bayonove, L.Cl.,** (1998). *Effect of sun exposure on carotenoids and C<sub>13</sub>-norosopenoids glycosides in Syrah berries (Vitis Vinifera L.),* Sciences des aliments, 18:361-373.

**Ribéreau – Gayon, P. and Stonestreet, E.** (1965). Bull. Soc. Chim., Vol 9, pp. 2649-2652

**Ribéreau – Gayon, P. and Stonestreet, E.** (1966). *Chimie Anal.*, Vol. 48, Issue 4, pp. 188-192

**Ribéreau – Gayon, P. and Glories Y.** (1986). *Phenolics in grapes and wine, in Proceedings of the Sixth Australian Wine Industry Technical Conference, Austr. Ind. Publ., South Australia,* pp. 247-256

**Ribéreau – Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., and Dubourdieu, D.** (2006), *Handbook of Enology 2. The chemistry of Wine Stabilization and Treatments,* John Wiley and Sons Ltd.

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

**Singleton, V.L. & Rossi, J.A.** (1965). *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid.* *International Journal of Food Science and Technology* 2002, **37**, 153–161 and Blackwell Science Ltdreagents 2002. *American Journal of Enology Viticulture*, 16, 144–158.

**Somers, T.C., and Evans, M.E.** (1974). *Wine quality: correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines.* *J. Sci. Food Agric.* 25: 1369-1379.

**Sudraud, P.,** (1958). *Interprétation des courbes d'absorption des vins rouges.* *Ann. Technol. Agric.*,**7**, 203-208.

**Van Leeuwen., K.,** 2003. *Le regime hydrique de la vigne.* Conference de Van Leeuwen, K, Chateau de la Dauphine, 22/5/2003.

**Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moyab M.L., Troncoso A.M., Garcia-Parrilla M.C.** (2007). *Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical.* *Talanta* 71 230–235

**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, Corportate Document Repository. Rome*

**Zamora,** (2003), *Elaboracion y crianza del vino tinto: aspectos scientificos y practices.* AMV Ediciones/Mundi-Prensa, Madrid

**US.Pat.** App. US2009/0173122 A1 to Stemwedel

**US** 2014/0044832 A1

### 8.3. ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

<http://www.newwinesofgreece.com/>

<http://winesurveyor.weebly.com/>

<http://www.nemeawines.gr/>

<http://buk.gr/el/poli-perioxi/leontio>

[www.biozo.gr](http://www.biozo.gr)