

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ- ΤΜΗΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ»

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ

**«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΡΔΕΥΣΗΣ ΣΤΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΩΝ
ΦΛΟΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΓΙΓΑΡΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΗΣ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

που εκπονήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΒΑΛΙΑΝΤΖΑ ΕΛΕΝΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΣΤΑΜΑΤΙΝΑ ΚΑΛΛΙΘΡΑΚΑ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ- ΤΜΗΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ»

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ

**«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΡΔΕΥΣΗΣ ΣΤΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΩΝ
ΦΛΟΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΓΙΓΑΡΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΗΣ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

που εκπονήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΒΑΛΙΑΝΤΖΑ ΕΛΕΝΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΣΤΑΜΑΤΙΝΑ ΚΑΛΛΙΘΡΑΚΑ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ»

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ

**«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΡΔΕΥΣΗΣ ΣΤΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΩΝ
ΦΛΟΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΓΙΓΑΡΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΗΣ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

που εκπονήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΒΑΛΙΑΝΤΖΑ ΕΛΕΝΗ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Στ. Καλλίθρακα (Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ, Επιβλέπουσα)

Γ.Κοτσερίδης (Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ)

Αικ. Μπινιάρη (Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα φαινολικά συστατικά αποτελούν τη σημαντικότερη ομάδα ενώσεων των ερυθρών οίνων καθώς συμβάλλουν σημαντικά στην ποιότητά τους. Η σύσταση των φλοιών και των γιγάρτων των ραγών έχει σημαντική συνεισφορά, κυρίως στην ερυθρή οινοποίηση, καθώς από εκεί εκχυλίζονται τα φαινολικά συστατικά στο γλεύκος κατά τη διαδικασία της οινοποίησης. Οι ενώσεις αυτές είναι μεγάλης σημασίας αφού συνεισφέρουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων όπως το χρώμα, η στυπτικότητα και η πικράδα καθώς συμβάλουν και στην δυναμική παλαίωσης των ερυθρών οίνων. Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη ερευνάται η σημασία και η επίδραση που μπορεί να έχουν η άρδευση των πρέμνων στα συστατικά αυτά. Εφαρμόστηκαν πέντε συνθήκες άρδευσης - πλήρης άρδευση από την καρπόδεση μέχρι την ωρίμανση (FI), πλήρης άρδευση μετά την καρπόδεση και μέχρι πριν τον περκασμό (SV) μετά ελλειμματική, πλήρης άρδευση μετά τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση (VH) ελλειμματική πριν τον περκασμό, πλήρης άρδευση κατά την ωρίμανση (RH) ελλειμματική μέχρι τα μισά της ωρίμανσης και τέλος συνέχεια ελλειμματική άρδευση (NI) - στον πειραματικό αμπελώνα της Αμερικάνικης Γεωργικής Σχολής της Θεσσαλονίκης, φυτεμένος με την ποικιλία Ξινόμαυρο. Για κάθε επέμβαση άρδευσης έγιναν 4 δειγματοληψίες με 3 επαναλήψεις κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Όταν ολοκληρώθηκε ο περκασμός πραγματοποιήθηκαν 4 δειγματοληψίες κατά τις ημέρες του έτους (Day Of the Year - DOY) 212, 224, 246 και 244. Για την αξιολόγηση της επίδρασης της άρδευσης στις ράγες προσδιορίστηκαν η ανθοκυανική σύσταση, ο μέσος βαθμός πολυμερισμού των προανθοκυανιδίων mDP, καθώς και η σύσταση αυτών όσον αφορά το ποσοστό εστεροποίησης με γαλλικό οξύ G% και το ποσοστό προδελφινιδίων P%. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις των ολικών ανθοκυανών εκφρασμένες ανα g νωπού βάρους ράγας κατά την ωρίμανση δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ενώ εκφρασμένες ανα g ράγας οι NI ράγες υπερτερούν σε σύγκριση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Επιπλέον ο mDP έχει μεγαλύτερες τιμές στους φλοιούς στο στάδιο ωρίμανσης όταν στα πρέμνα εφαρμόζεται συνεχόμενα ελλειμματική άρδευση, πλήρης λίγο πριν την ωρίμανση LH, και πλήρης από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση VH. Αντιθέτως στα γίγαρτα δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή του mDP μεταξύ των επεμβάσεων.

Επιστημονικό πεδίο: Οινολογία; Αμπελουργία

Λέξεις κλειδιά: Φαινολικά συστατικά, Σταφύλια, Άρδευση, Ανθοκυάνες, Μέσος βαθμός πολυμερισμού, Προανθοκυανιδίνες, Ξινόμαυρο

ABSTRACT

Phenolic compounds are one of the most important chemical group for red wine as they affect directly wine quality. The phenolic composition of grape skins and seeds is directly related with the final quality of red wines since these compounds are diffused in the must during the winemaking process. These compounds are very important as they contribute to the organoleptic characteristics of wines such as color, astringency and bitterness as they also contribute to the aging potential of red wines. The present study investigated the impact of the irrigation of vines on the chemical composition of berries and wines of red grape varieties. Five irrigation regimes were applied - Full irrigation(FI), Post set irrigation to veraison cutoff (SV), Post veraison irrigation (VH), Late ripening irrigation (RH), Non irrigated (NI) - in the experiment vineyards of American Farm School of Thessaloniki, planted with the variety *Vitis vinifera* L. cv. Xinomavro. For each irrigation treatment 4 samples were taken with 3 replicates during maturation. When the veraison was complete, 4 samples were taken on Day of the Year (DOY) 212, 224, 246 and 244. For the evaluation of the irrigation effect the anthocyanin composition was determined, the structure of proanthocyanidins, the mean degree of polymerization mDP, as well as the degree of esterification with gallic acid G% and the percentage of prodelpidinins P%. The results showed that the concentrations of total anthocyanins, expressed per grams per fresh weight of grape, did not differ statistically from each other, while the NI grapes expressed in grams per grape were superior compared to the other treatments. In addition, mDP has higher values in skins at the ripening stage when NI, LH, VH treatments are applied. In contrast, no changes in mDP between the treatments were observed in the seeds.

Scientific area: Oenology, Viticulture

Key words: Phenolic compounds, Grapes, Irrigation, Anthocyanins, Mean polymerisation degree, Proanthocyanidins, Xinomavro

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας την μεταπτυχιακή μου μελέτη θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που συνέβαλαν είτε πρακτικά είτε νοητά να κλείσω αυτόν κύκλο σπουδών στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα. Σταματίνα Καλλίθρακα για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και μου ανέθεσε την συγκεκριμένη εργασία καθώς επίσης για την ανοχή, την υπομονή και την ευγένεια που είχε μέχρι την τέλος της μελέτης. Στην συνέχεια θα ήθελα ιδιαίτερα να ευχαριστήσω την κ. Νίκη Προξενιά που στάθηκε δίπλα μου σε όλη την διαδικασία των πειραμάτων και πρακτικά με την παρουσία της καθ' όλη την διάρκεια αλλά και συναισθηματικά αφού πάντα φρόντιζε να με εμπυχώνει και να με κατευθύνει. Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω την Μαρία Κυραλέου για την καθοδήγηση της στην γραφή αυτής της μελέτης.

Πρώτα απ' όλα όμως θέλω να αναφερθώ στην Ελένη Βοσκίδη, όπου χάρη σε αυτήν βρήκα το αντικείμενο εργασίας που πραγματικά με γεμίζει ευχαρίστηση και δημιουργία και ακόμα και τώρα μέσα από συζητήσεις μας καταφέρνει να μου μεταδίδει όλη αυτό το πάθος και την αγάπη για το κρασί. Στην συνέχεια θα ήθελα να εκφράσω την χαρά μου για τους ανθρώπους που γνώρισα μέσα από τις σπουδές μου στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην Μαριλένα Παναγοπούλου και την Μελιτινή Ξενάκη που με μύησαν στον χώρο του κρασιού , με βοήθησαν καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου και ακόμα και τώρα στέκονται κοντά μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	i
ABSTRACT	ii
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	vi
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	xi
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ	xii
Εισαγωγή	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 Φαινολικές ενώσεις στο σταφύλι και στον οίνο.....	2
1.1 Φαινολικές ενώσεις και η δομή τους.....	2
1.2 Μη φλαβονοειδείς φαινολικές ενώσεις.....	3
1.3 Φλαβονοειδής φαινολικές ενώσεις.....	3
1.3.1 Φλαβονόλες.....	4
1.3.2 Φλαβανόλες.....	5
1.3.3 Ανθοκυάνες	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Προσδιορισμός προανθοκυανιδίων και μέσος βαθμός πολυμερισμού.....	13
2.1 Προσδιορισμός της δομής των προανθοκυανιδίων.....	13
2.2 Οργανοληπτικές ιδιότητες των προανθοκυανιδίων.....	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 Η επίδραση της άρδευσης στην συσσώρευση των φαινολικών συστατικών των ραγών.....	18
3.1 Η άρδευση των αμπελώνων	18
3.2 Η επίδραση της άρδευσης στην συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των ραγών.....	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.....	24
4.1 Θεωρητικό υπόβαθρο	24
4.2 Οργανολογία	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 Ξινόμαυρο.....	27
5.1 Εισαγωγικά για το Ξινόμαυρο.....	27
5.2 Περιγραφή του Ξινόμαυρου.....	27
5.2.1 Χαρακτηριστικά της ποικιλίας.....	27
5.2.2 Αμπελογραφία.....	27
5.2.3 Καλλιέργεια του Ξινόμαυρου.....	28
5.3 Παραγόμενοι οίνοι.....	28
5.4 Οι σημαντικότερες περιοχές καλλιέργειας του Ξινόμαυρου	29
5.4.1 Νάουσα.....	29
5.4.2 Αμύνταιο.....	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 Πειραματικές συνθήκες και μέθοδοι αναλύσεων.....	30
6.1 Πειραματικές συνθήκες.....	30
6.2 Αναλυτικές τεχνικές και εργαστηριακός εξοπλισμός.....	31
6.2.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.....	31
6.2.2 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων	31
6.3 Μέθοδοι ανάλυσης	32
6.3.1 Προσδιορισμός των μονομερών ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.....	32
6.3.2 Προσδιορισμός μέσου βαθμού πολυμερισμού (mDP) τανινών σε οίνο με HPLC.....	34

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 Αποτελέσματα.....	37
7.1 Ανάλυσεις σε ράγες.....	37
7.2 Ανθοκυανική σύσταση των ραγών.....	40
7.2.1 Προφίλ των ανθοκυανών στους φλοιούς.....	40
7.2.2 Περιεκτικότητα των γλυκοζιλιωμένων ανθοκυανών και των κουμαρικών και οξικών εστέρων τους.....	41
7.3 Δομικά χαρακτηριστικά των προανθοκυανιδινών των φλοιών και των γιγάρτων	50
7.3.1 Μέσος βαθμός πολυμερισμού των προανθοκυανιδινών των φλοιών και των γιγάρτων	50
7.3.2 Ποσοστό εστεροποίησης με γαλλικό οξύ και ποσοστό προδελφινιδινών των φλοιών και των γιγάρτων.....	53
7.3.3 Ποσοστό του συνόλου των υπομονάδων της κατεχίνης %C και επικατεχίνης %EC...56	
7.3.4 Τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες των προανθοκυανιδινών των φλοιών και των γιγάρτων.....	57
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 Συμπεράσματα.....	64
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	67

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 3.1 Όρια υδατικού δυναμικού (Ψ) του φύλλου και του βλαστού σε σχέση με την ελλειμματική άρδευση των πρέμνων (Πηγή: van Leeuwen et al., 2008).....	19
Πίνακας 6.1 Χρονικές στιγμές δειγματοληψίας.....	30
Πίνακας 6.2 Μέθοδος προσδιορισμού των μονομερών ανθοκυανών με HPLC.....	32
Πίνακας 6.3 Πρόγραμμα έκλουσης διαλυτών για τον διαχωρισμό των μονομερών ανθοκυανών.....	33
Πίνακας 6.4 Στοιχεία της μεθόδου προσδιορισμού της δομής των προανθοκυανιδινών σε φλοιούς, γιγάρτα και οίνο με HPLC.....	35
Πίνακας 6.5 Πρόγραμμα έκλουσης διαλυτών για τον προσδιορισμό της δομής των προανθοκυανιδινών.....	36
Πίνακας 6.6 Τιμές μοριακής απορρόφησης για την εξαγωγή πρότυπων καμπύλων για τις επεκτατικές υπομονάδες.....	36
Πίνακας 7.1 Μέτρηση συνολικών διαλυτών στερέων (Brix), Ολικής οξύτητας(g τρυγικού οξέος *L-1) και pH που μετρήθηκαν στο γλεύκος.....	37
Πίνακας 7.2 Μετρήσεις του βάρους της ράγας.....	38
Πίνακας 7.3 Προφίλ των ανθοκυανών (100% συγκέντρωση κάθε ανθοκυανής στις ολικές μονομερείς ανθοκυανές) που προσδιορίστηκε στα εκχυλίσματα φλοιών της ποικιλίας Ξινόμαυρο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης όπου εφαρμόστηκε πλήρη άρδευση σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης της ράγας (NI,LH,VH,SV,FI) για το έτος 2015.....	41
Πίνακας 7.4 Η συγκέντρωση των γλυκοζιλιωμένων ανθοκυανών καθώς και των οξικών και κουμαρικών εστέρων των ανθοκυανών των εκχυλισμάτων των φλοιών κατά την περίοδο της ωρίμανσης, εκφρασμένων ως mg g-1 νηπού βάρους (ν.β.) για τις επεμβάσεις άρδευσης σε διάφορα στάδια ανάπτυξης της ράγας.....	43
Πίνακας 7.5 Η συγκέντρωση των γλυκοζιλιωμένων ανθοκυανών καθώς και των οξικών και κουμαρικών εστέρων των ανθοκυανών των εκχυλισμάτων των φλοιών κατά την περίοδο της ωρίμανσης, εκφρασμένων ως mg g-1 ράγας για τις επεμβάσεις άρδευσης σε διάφορα στάδια ανάπτυξης της ράγας.....	47
Πίνακας 7.6 Μέσος βαθμός πολυμερισμού (mDP) των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων (A) και των φλοιών (B) της ποικιλίας Ξινόμαυρο, όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικές συνθήκες άρδευσης. Η δεύτερη στήλη της κάθε επέμβασης δείχνει το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις επεμβάσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους.....	53
Πίνακας 7.7 Βαθμός εστεροποίησης με γαλλικό οξύ (%G) των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων (A) και των φλοιών (B) της ποικιλίας Ξινόμαυρο, όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικές συνθήκες άρδευσης. Η δεύτερη στήλη της κάθε επέμβασης δείχνει το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις επεμβάσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους.....	55

Πίνακας 7.8 Τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες (%) των προανθοκυανιδών των γιγάρτων της ποικιλίας Ξινόμαυρο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικές συνθήκες άρδευσης 60

Πίνακας 7.9 Τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες (%) των προανθοκυανιδών των φλοιών της ποικιλίας Ξινόμαυρο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικές συνθήκες άρδευσης 62

ΕΙΚΟΝΕΣ

Εικόνα 1.1 Φαινολικά συστατικά που εντοπίζονται στα διάφορα μέρη της ράγας (Πηγή Teixeira et al.,2013).....	2
Εικόνα 1.2 Δομή φλαβονοειδούς δακτυλίου και αριθμηση του (Teixeira et al., 2013).....	3
Εικόνα 1.3 Τα μόρια των φλαβαν-3-ολών στα σταφύλια.....	5
Εικόνα 1.4 Γενική μορφή ανθοκυανών και οι σημαντικότερες ανθοκυάνες που συναντώνται στα σταφύλι και τους οίνους.....	7
Εικόνα 1.5 Ισορροπία μεταξύ των διαφόρων μορφών των ανθοκυανών στον οίνο.....	10
Εικόνα 4.1 Περιγραφή υπολογισμού των παραμέτρων της διαχωριστικής ικανότητας μιας χρωματογραφικής μεθόδου.....	25
Εικόνα 4.2 Σχηματική αναπαράσταση συστήματος HPLC. 1. Αντλία, 2. Σύστημα εισαγωγής του δείγματος, 3. Χρωματογραφική Στήλη, 4. Ανιχνευτής.....	26
Εικόνα 5.1 Αμπέλι της ποικιλίας Ξινόμαυρο.....	27
Εικόνα 6.1 Χρωματογράφημα που απεικονίζει τις ανθοκυάνες σε φλοιούς 3-Ο-μονογλυκοζίτες της δελφινιδίνης (Dlp), της πετουνιδίνης (Pt), της παιονιδίνης (Pn), της μαλβιδίνης (Mlv), ο οξικός εστέρας της μαλβιδίνης (MlvAc) και οι κουμαρικοί εστέρες της παιονιδίνης (PnCoum) και της μαλβιδίνης (MlvCoum).....	33

ΣΧΗΜΑΤΑ

Σχήμα 6.1 Μέτρηση πρωινού υδατικού δυναμικού (Ψ_{dawn}) των πρέμνων της ποικιλίας Ξινόμαυρο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικές συνθήκες άρδευσης (NI, LH, VH, SV, FI). Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών.....	31
Σχήμα 7.1 Βάρος 50 ραγών g.....	38
Σχήμα 7.2 Βάρος 50 νωπών φλοιών g.....	38
Σχήμα 7.3 Επι τοις εκατό αναλογία φλοιού ράγας, γίγαρτα ράγας και φλοιού σάρκας.....	40
Σχήμα 7.4 Η συγκεντρώση των μονομερών γλυκοζιλιωμένων ανθοκυνών εκφρασμένων σε mg mlv g-1 νωπού βάρους φλοιών (FW Fresh weight)	45
Σχήμα 7.5 Η συγκέντρωση του οξικού εστέρα της μαλβιδίνης mlvac και του κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης mlncoum εκφρασμένων σε mg mlv g-1 νωπού βάρους φλοιών.....	46
Σχήμα 7.6 Η συγκεντρώση των μονομερών γλυκοζιλιωμένων ανθοκυνών εκφρασμένων σε mg mlv g-1 ράγας	48
Σχήμα 7.7 Η συγκέντρωση του οξικού εστέρα της μαλβιδίνης mlvac και του κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης mlncoum εκφρασμένων σε mg mlv g-1 ράγας	49
Σχήμα 7.8 Ολικές ανθοκυάνες (TAnth) σε mg g-1 νωπου βάρους φλοιών.....	50
Σχήμα 7.9 Ολικές ανθοκυάνες (TAnth) σε mg g-1 ράγας.....	50
Σχήμα 7.10 Μέσος βαθμός πολυμερισμού των προανθοκυανιδινών (mDP) των φλοιών.....	53
Σχήμα 7.11 Μέσος βαθμός πολυμερισμού των προανθοκυανιδινών (mDP) των γιγάρτων..	54
Σχήμα 7.12 Ποσοστό εστεροποίησης με γαλλικό οξύ των γιγάρτων και των φλοιών.....	56
Σχήμα 7.13 Ποσοστό προδελφινιδίνων %P των φλοιών.....	57
Σχήμα 7.14 Ποσοστό του συνόλου των υπομονάδων κατεχίνης επι του συνόλου των υπομονάδων στους φλοιούς και τα γίγαρτα.....	57
Σχήμα 7.15 Ποσοστό του συνόλου των υπομονάδων επικατεχίνης επι του συνόλου των υπομονάδων στους φλοιούς και τα γίγαρτα.....	58

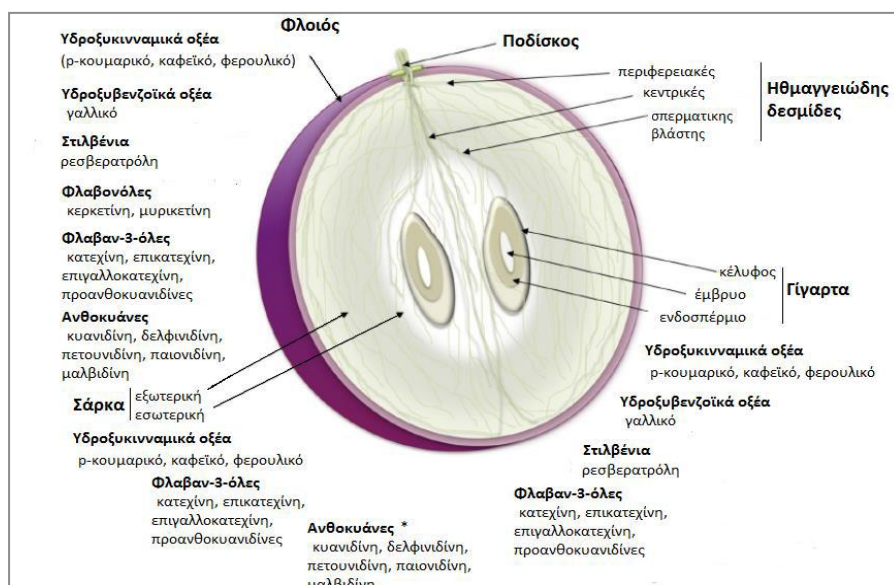
1. Φαινολικές ενώσεις στο σταφύλι και στον οίνο

1.1 Φαινολικές ενώσεις και η δομή τους

Τα φαινολικά συστατικά είναι μία από τις πιο σημαντικές ομάδες ενώσεων των σταφυλιών και κατα επέκταση των οίνων. Εδώ και πολλά έτη αποτελούν πρωτεύον αντικείμενο μελέτης των οίνων καθώς επηρεάζουν τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες, το χρώμα τους, την αντιοξειδωτική και αντιβακτηριακή τους ικανότητα αλλά και παίζουν αποφασιστικό ρόλο στην παλαίωση και στις διάφορες τεχνολογικές επεξεργασίες τους. Η κύρια προέλευση των φαινολικών είναι τα στερεά μέρη των σταφυλιών και βρίσκονται κυρίως στον φλοιό και στα γίγαρτα. Μικρές ποσότητες μπορούν επίσης να εκχυλιστούν από τα ξύλινα βαρέλια. Κατά τη ζύμωση, μόνο ίχνη φαινολών μπορούν να παραχθούν από τον μεταβολισμό των ζυμών (Jackson 2008, Σουφλερός 2000).

Οι φαινολικές ενώσεις διαθέτουν έναν βενζολικό δακτύλιο στον οποίο συνδέονται μία ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου. Κατά την οινοποίηση εκχυλίζονται στο γλεύκος και είναι υπεύθυνα για τη σταθεροποίηση του χρώματος και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων καθώς συμμετέχουν στην στυπτικότητα και την πικράδα αυτών (Chira et al., 2009; Kallithraka et al., 1998; Ribereau-Gayón et al., 1999; Sun et al., 2013). Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης τα φαινολικά που εκχυλίζονται αρχικά προέρχονται από τους φλοιούς, καθώς αυτά των γιγάρτων εκχυλίζονται με πιο αργό ρυθμό και κυρίως κατά τη μακρά εκχύλιση που εφαρμόζεται μετά την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης (Casassa et al., 2013a; Casassa et al., 2013b; Harbertson et al., 2009).

Τα φαινολικά που συναντώνται στα σταφύλια και στους οίνους μπορούν να διαχωριστούν σε δύο μεγάλες ομάδες τα μη φλαβονοειδή (φαινολικά οξέα και στιλβένια) και τα φλαβονοειδή (φλαβονόλες, φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβανόλες, ανθοκυάνες) (Cheynier, 2005; Ribereau-Gayón et al., 1999; Teixeira et al., 2013). Η σχηματική δομή μίας ώριμης ράγας σταφυλιού και ο τρόπος κατανομής τους στους ιστούς απεικονίζεται στην Εικόνα 1.1.



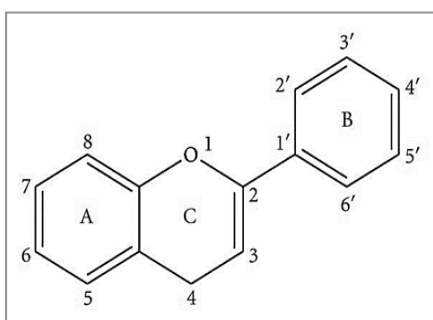
1.2 Μη φλαβονοειδείς φαινολικές ενώσεις

Τα μη φλαβονοειδή συστατικά αποτελούνται από έναν C6-C3 σκελετό, και άρα είναι δομικά απλούστερα, αλλά η προέλευσή τους είναι πιο πολύπλοκη. Στα μη φλαβονοειδή συστατικά των σταφυλιών και των οίνων περιλαμβάνονται τα στυλβένια και τα παράγωγα του βενζοϊκού και κινναμωμικού οξέος των οποίων τα περισσότερα υδρογόνα των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου έχουν υποκατασταθεί με υδροξυλομάδες (-OH) και μεθοξυ ομάδες (-OCH₃) (Cheynier., 2005; Ribereau-Gayón et al., 1999).

Τα συστατικά αυτά βρίσκονται κυρίως στους φλοιούς και τα γίγαρτα των σταφυλιών. Οι κυριότερες ενώσεις είναι τα C6-C1 υδροξυβενζοϊκά οξέα όπως το γαλλικό και το ελλαγικό οξύ, τα C6-C3 υδροξυκινναμωμικά όπως το καφεϊκό, το κουμαρικό και το φερουλικό οξύ, τα C6-C2-C6 στυλβένια όπως η *trans*-ρεσβερατρόλη, η *cis*-ρεσβερατρόλη, καθώς και ο γλυκοζίτης της *trans*-ρεσβερατρόλη (Jordão & Correira, 2012; Teixeira et al., 2013).

Τα υδροξυβενζοϊκά οξέα με κυριότερο το γαλλικό οξύ, το οποίο συναντάται και υπό τη μορφή εστέρων των φλαβαν-3-ολών, βρίσκονται σε όλα τα μέρη της ράγας (Adams, 2006; Teixeira et al. 2013). Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα βρίσκονται κυρίως στη σάρκα. Η σύνθεσή τους ξεκινάει πριν τον περκασμό και μειώνεται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης της ράγας λόγω της αύξησης του μεγέθους της ή της αραίωσής τους. Εάν οξειδωθούν μπορούν να προκαλέσουν αμαύρωση του χρώματος των λευκών οίνων (Adams, 2006), ενώ έχουν την ικανότητα να ενώνονται με ανθοκυάνες (Castañeda-Ovando et al., 2009). Στους οίνους συναντώνται κυρίως με την *trans* μορφή τους ή ως εστέρες του τρυγικού οξέως (κουταρικό οξύ, καφταρικό οξύ, φερταρικό οξύ) (Ribereau-Gayón et al., 1999). Τέλος, τα στυλβένια βρίσκονται κυρίως στους φλοιούς των ραγών και δεν συμμετέχουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων. Ωστόσο, λόγω της αντιοξειδωτικής και της αντικαρκινικής τους δράσης, θεωρείται ότι συμβάλλουν σημαντικά στην υγεία του ανθρώπου (Gris et al., 2011).

1.3 Φλαβονοειδής φαινολικές ενώσεις



Τα φλαβονοειδή χαρακτηρίζονται από ένα βασικό σκελετό με 15 άτομα άνθρακα με βασικό τύπο C6-C3-C6. Οι δύο υδροξυλιωμένοι βενζολικοί δακτύλιοι, A και B, ενώνονται με μια αλυσίδα τριών ατόμων άνθρακα που είναι μέρος ενός ετεροκυκλικού δακτυλίου C (Εικόνα 1.2). Τα φλαβονοειδή εντοπίζονται στο φλοιό, στη σάρκα και στα γίγαρτα των ραγών.

Εικόνα 1.2: Δομή φλαβονοειδούς δακτυλίου και αρίθμησή του (Teixeira et al., 2013)

Χωρίζονται σε υποομάδες, ανάλογα με το βαθμό οξειδωσης του πυρανικού δακτυλίου, που ονομάζονται φλαβονόλες, φλαβανόνες, φλαβανονόλες, φλαβανόλες και ανθοκυάνες (Ribéreau-Gayon et al., 1999; Teixeira et al., 2013). Από αυτές, οι φλαβανόλες και οι ανθοκυάνες βρίσκονται στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο σταφύλι και στον οίνο.

Οι φλαβονόλες βρίσκονται κυρίως στους φλοιούς των ραγών στη στιβάδα του υποδέρματος, αλλά έχουν ανιχνευτεί και στη σάρκα (Makris et al., 2006b; Teixeira et al., 2013). Η σύνθεσή τους ξεκινάει από τα πολύ αρχικά στάδια ανάπτυξης της ράγας και σταματάει κοντά στον περκασμό (Downey et al., 2003). Στα σταφύλια και στον οίνο συναντάται κυρίως η γλυκοζυλιωμένη μορφή των τεσσάρων άγλυκων φλαβονολών κερκετίνη, μυρικετίνη, καμφερόλη και ισοραμνετόλη (Jordão & Correia, 2012; Makris et al., 2006b). Οι φλαβανόνες παρουσιάζουν παρόμοια δομή με τις φλαβονόλες, ενώ τα παράγωγά τους ανήκουν στα φαινολικά συστατικά του ξύλου της δρυός οπότε η παρουσία τους διαπιστώνεται μόνο σε οίνους που παλαιώσαν σε δρύινα βαρέλια. (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Οι φλαβανονόλες ανιχνεύονται κυρίως ως γλυκοζίτες με κυριότερες την αστιλβίνη που έχει εντοπιστεί σε οίνους (Trousdale & Singleton, 1983; Vitrac et al., 2001) και γλεύκος λευκών ποικιλιών και στους βόστρυχες λευκών και ερυθρών ποικιλιών (Souquet et al., 2000; Trousdale & Singleton, 1983) και την ενγελετίνη που έχει ανιχνευτεί σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στους βοστρύχους λευκών και ερυθρών ποικιλιών (Souquet et al., 2000).

1.3.1 Φλαβονόλες

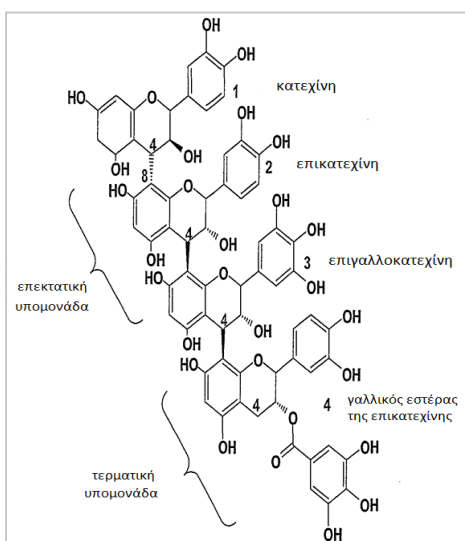
Στους φλοιούς, οι φλαβονόλες συσσωρεύονται στα κυτταρικά κενοτόπια της επιδερμίδας και της εξωτερικής υποδερμίδας. Από αυτή τη θέση, μαζί με τις ανθοκυάνες των ερυθρών ποικιλιών, απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία, προστατεύοντας τους εσωτερικούς ιστούς από τις βλαβερές συνέπειες της ηλιακής ακτινοβολίας UV. Οι φλαβονόλες έχουν κίτρινο χρώμα και βρίσκονται στους φλοιούς τόσο των ερυθρών όσο και των λευκών ποικιλιών σταφυλιού. Οι σημαντικότερες είναι η καιμπφερόλη, η κερκετίνη και η μυρισετίνη. Και οι τρεις αυτές φλαβονόλες υπάρχουν στα σταφύλια των ερυθρών οίνων, ενώ μόνο οι δύο πρώτες στα σταφύλια που παράγουν οι λευκά οίνοι (Jackson 2008, Ribéreau - Gayon et al. 2006).

Οι φλαβονόλες δεν εμφανίζονται συχνά στους βόστρυχες. Στους οίνους, μπορούν να υπάρξουν ως έγχρωμα σύμπλοκα μαζί με τις ανθοκυάνες. Από τα φλαβονοειδή των σταφυλιών, οι φλαβονόλες καταλαμβάνουν το μικρότερο ποσοστό 1-10% του ολικού φαινολικού φορτίου ανάλογα με την ποικιλία και τον τρόπο καλλιέργειας. Συντίθενται κατά το στάδιο της ωρίμανσης των σταφυλιών (Jackson 2008).

Οι φλαβονόλες περιέχονται στους ερυθρούς οίνους σε άγλυκη μορφή, καθώς οι ετεροζίτες υδρολύονται εύκολα κατά την αλκοολική ζύμωση και βρίσκονται σε συνολική ποσότητα μερικών δεκάδων mg/L, ενώ στα λευκά, λόγω της απουσίας των φλοιών κατά την οινοποίηση, βρίσκονται μόνο σε ίχνη (Κουράκου - Δραγώνα 1998).

1.3.2 Φλαβανόλες

Οι φλαβαν-3-όλες είναι φλαβονοειδή και αποτελούν την κατηγορία των φαινολικών ενώσεων που υπάρχει σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στη ράγα. Βρίσκονται κυρίως στα γίγαρτα, δευτερευόντως στους φλοιούς και σε ακόμα μικρότερες συγκεντρώσεις στη σάρκα (Chira et al, 2009; Prieur et al., 1994; Sun et al., 2001; Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Παίζουν σημαντικό ρόλο στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων και χωρίζονται σε μονομερείς, ολιγομερείς και πολυμερείς ανάλογα με τη δομή τους (Monagas et al., 2003; Prieur et al., 1994; Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Τα μονομερή χαρακτηρίζονται από την παρουσία ομάδας υδροξυλίου στη θέση 3 του δακτυλίου C. Στις ράγες, τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των φλαβαν-3-ολών έχουν τα μονομερή όπως η (+)-κατεχίνη και το ισομερές της η (-)-επικατεχίνη, ενώ σε μικρότερες συγκεντρώσεις συναντώνται ο γαλλικός εστέρας της (-)-επικατεχίνης και η (-)-επιγαλλοκατεχίνη (Chira et al., 2009; Čurko et al., 2014; Monagas et al., 2003). Η κατεχίνη και επικατεχίνη έχουν κυρίως πικρή γεύση όταν συναντώνται ως μονομερή (Dixon et al., 2005). Ωστόσο, οι μονομερείς φλαβαν-3-όλες κατά την ωρίμανση αντιπροσωπεύουν μόνο ένα μικρό ποσοστό, καθώς το μεγαλύτερο μέρος των φλαβαν-3-ολών είναι σε ολιγομερή και πολυμερή μορφή (Kennedy et al., 2001; Monagas et al., 2003; Obreque-Slier et al., 2010; Prieur et al., 1994).



Εικόνα 1.3: Τα μόρια των φλαβαν-3-ολών στα σταφύλια

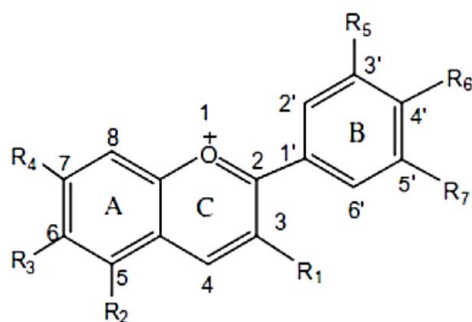
Οι ολιγομερείς και πολυμερείς φλαβαν-3-όλες είναι γνωστές ως προανθοκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες ταννίνες που αποτελούνται από τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες (Εικόνα 1.3), όπως η κατεχίνη, η επικατεχίνη, ο γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης και η επιγαλλοκατεχίνη (Downey et al., 2003; Kennedy & Jones 2001). Ποικίλουν σε μέγεθος, που κυμαίνεται από διμερή έως πολυμερή με περισσότερες από 40 μονάδες (Downey et al., 2003; Kennedy et al., 2001; Teixeira et al., 2013). Ονομάζονται ως προανθοκυανιδίνες επειδή με θέρμανση σε όξινο περιβάλλον απελευθερώνουν ανθοκυανιδίνες. Συγκεκριμένα, οι προανθοκυανιδίνες που

υδρολύονται προς κυανιδίνη είναι γνωστές και ως προκυανιδίνες και αποτελούνται από (+)-κατεχίνη και (-)-επικατεχίνη ενώ στην περίπτωση που τα πολυμερή αποτελούνται από μονάδες (+)-γαλλοκατεχίνης και / ή (-)-επιγαλλοκατεχίνης, η όξινη υδρόλυση οδηγεί σε δελφινιδίνη και ως εκ τούτου ορίζονται ως προδελφινιδίνες (Porter et al., 1986). Οι προανθοκυανιδίνες βρίσκονται στο φλοιό και στα γίγαρτα των σταφυλιών και είναι υπεύθυνες για τη σταθεροποίηση του χρώματος και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων καθώς συμμετέχουν στην στυπτικότητα και την πικράδα αυτών (Chira et al., 2009; Kallithraka et al., 1998 Lorrain et al., 2011; Sun et al., 2013)

Η γνώση των προανθοκυανιδινών των ραγών είναι πολύ σημαντική για την ποιότητα του σταφυλιού και τη φαινολική ωριμότητα, οπότε θα μπορούσε να αποτελέσει εργαλείο για τη συγκομιδή και την οινοποίηση της κάθε ποικιλίας. Η σύνθεση των προανθοκυανιδινών λαμβάνει χώρα πριν από τον περκασμό και η εξέλιξή τους κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης εξαρτάται από τον τύπο και τη δομή τους (Downey et al., 2003; Ollé et al., 2011). Οι Downey et al. (2003) παρατήρησαν στα γίγαρτα μεγαλύτερη συγκέντρωση φλαβαν-3-ολών μία εβδομάδα μετά τον περκασμό την οποία ακολούθησε πτώση μέχρι τη συγκομιδή, ενώ στους φλοιούς η υψηλότερη συγκέντρωση παρατηρήθηκε πριν από περκασμού η οποία επίσης μειώθηκε μέχρι τη συγκομιδή.

1.3.3 Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι χρωστικές ενώσεις του σταφυλιού, οι οποίες βρίσκονται στον φλοιό των ραγών. Η βασική δομή των ανθοκυανών είναι η ανθοκυανιδίνη. Οι ανθοκυανιδίνες (ή άγλυκα) αποτελούνται από έναν αρωματικό δακτύλιο [A] συνδεδεμένο με έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο [C] που περιέχει οξυγόνο, το οποίο είναι επίσης συνδεδεμένο με ένα δεσμό C-C σε ένα τρίτο αρωματικό δακτύλιο [B] (Castañeda-Ovando et al., 2009; Ribereau-Gayón et al., 1999; Teixeira et al., 2013). Όταν οι ανθοκυανιδίνες είναι στη γλυκοζυλιωμένη μορφή (σύνδεση με ένα μόριο σακχάρου), τότε ονομάζονται ανθοκυάνες και είναι πιο σταθερές σε σχέση με τα άγλυκα μόρια. Στα σάκχαρα με τα οποία σχηματίζουν δεσμούς συμπεριλαμβάνονται η γλυκόζη, η γαλακτόζη, η ξυλόζη, η ραμνόζη και η αραβινόζη (Ribereau-Gayón et al., 1999). Τα πιο κοινά παράγωγα που συναντώνται στις ποικιλίες *V. Vinifera* είναι οι μονογλυκοζίτες των ανθοκυανιδινών και συγκεκριμένα της κυανιδίνης (Cyan), της δελφινιδίνης (Dlp), της πετουνιδίνης (Pt), της παιονιδίνης (Pn) και της μαλβιδίνης (Mlv) (Castañeda-Ovando et al., 2009; Kallithraka et al., 2005; Ribereau-Gayón et al., 1999).



ΟΝΟΜΑ	ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ	ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΕΣ								ΧΡΩΜΑ
		R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7		
ΚΥΑΝΙΔΙΝΗ	Cy	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	πορτοκαλί-κόκκινο	
ΔΕΛΦΙΝΙΔΙΝΗ	Dlp	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	μπλε-κόκκινο	
ΠΕΤΟΥΝΙΔΙΝΗ	Pt	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	μπλε-κόκκινο	
ΠΑΙΟΝΙΔΙΝΗ	Pn	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	πορτοκαλί	
ΜΑΛΒΙΔΙΝΗ	Mlv	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	μπλε-κόκκινο	

Εικόνα 1.4: Γενική μορφή ανθοκυανών και οι σημαντικότερες ανθοκυάνες που συναντώνται στα σταφύλια και τους οίνους

Το προφίλ των ανθοκυανών στα σταφύλια είναι χαρακτηριστικό για κάθε ποικιλία και έχει χρησιμοποιηθεί από ορισμένους συγγραφείς για την ταξινόμηση των ποικιλιών της αμπέλου (Gómez-Ariza et al., 2006; Makris et al., 2006; Zhao et al., 2010). Οι ποικιλίες *V. vinifera* περιέχουν μόνο τους μονογλυκοζίτες των ανθοκυανιδινών (Dlp, Cy, Pt, Pn και Mlv). Οι ποικιλίες που ανήκουν στη *V. labrusca* και στη *V. rotundifolia* εκτός από μονογλυκοζίτες έχουν ανιχνευτεί και διγλυκοζίτες των ανθοκυανών. Η ανθοκυάνη που συναντάται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στις ποικιλίες *V. vinifera* είναι η Mlv (Castañeda - Ovando et al, 2009; Kallithraka et al., 2006; Ribéreau-Gayón et al., 1999), ενώ για τις ποικιλίες *V. amurensis* (γηγενείς στην βορειοανατολική Κίνα) είναι ο διγλυκοζίτης της Mlv (Zhao et al., 2010).

Το είδος και οι συγκεντρώσεις των διάφορων ανθοκυανών στους φλοιούς των σταφυλιών καθορίζουν το χρώμα και την ποιότητα των παραγόμενων οίνων. Στις ανθοκυάνες οφείλονται οι αποχρώσεις μπλε, μοβ, κόκκινο και τα ενδιάμεσα χρώματα που υφίστανται ριζικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του οίνου. Το περιεχόμενο των ελεύθερων ανθοκυανών μειώνεται σταδιακά με την ωρίμανση του οίνου, κυρίως λόγω της συνένωσης με άλλα μόρια και τη δημιουργία πιο σταθερών χρωστικών (συγχρωματισμός) (Boulton, 2001; Castañeda - Ovando et al, 2009; Davies et al., 1993; Ribereau-Gayón et al., 1999; Teixeira et al., 2013).

Στις ερυθρές οινοποιήσιμες ποικιλίες (*Vitis vinifera* L.) οι ανθοκυάνες βρίσκονται στους ιστούς των φλοιών και η βιοσύνθεσή τους αρχίζει την περίοδο του περκασμού (Ribéreau-Gayón et al., 1999). Η συσσώρευση των ανθοκυανών

παρουσιάζει μέγιστη τιμή κοντά στην περίοδο συγκομιδής (Cacho et al., 1992; Castellarin et al., 2007; Esteban et al., 2001; Ojeda et al., 2002; Zarrouk et al., 2012), ωστόσο ορισμένοι συγγραφείς έχουν παρατηρήσει μικρή πτώση λίγο πριν τη συγκομιδή ή κατά τη διάρκεια της υπερωρίμανσης των σταφυλιών (Bucchetti et al., 2011; Hernández-Hierro et al., 2012). Κατά τα τελευταία στάδια ωρίμανσης της σταφυλής, σχηματίζονται και οι εστεροποιημένες μορφές των ανθοκυανών, που είναι αρκετά διαδεδομένες στη φύση. Σε αυτές τις χρωστικές, το -OH της θέσης 6 του σακχάρου, είναι εστεροποιημένο με ένα οργανικό οξύ της αλειφατικής σειράς (π.χ. οξικό οξύ) ή της αρωματικής (π.χ. π-κουμαρικό οξύ) (Castañeda-Ovando et al., 2009 Ribereau-Gayón et al., 1999).

Εκτός από τη συγκέντρωση των ανθοκυανών που υπάρχει στις ράγες κατά την ωρίμανση, το χρώμα του οίνου εξαρτάται σημαντικά και από την ικανότητα εκχύλισης των ανθοκυανών από τους ιστούς των φλοιών κατά την οινοποίηση (Romero-Cascales et al., 2005a). Η ικανότητα αυτή επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την ποικιλία (Río Segade et al., 2008; Romero-Cascales et al., 2005b) και το επίπεδο ωρίμανσης των σταφυλιών (Hernández-Hierro et al., 2012). Η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών αυξάνεται κατά την ωρίμανση των ραγών, ως απόρροια της αποικοδόμησης των κυτταρικών τοιχωμάτων με τη βοήθεια των πηκτινολυτικών ενζύμων (Ribereau-Gayón et al., 1999) αλλά και την μείωση της ελαστικότητας του φλοιού τους (González-Neves et al., 2004; Romero-Cascales et al., 2005b). Οι λιγότερο ελαστικοί φλοιοί χαρακτηρίζονται από πιο εύθραυστα κυτταρικά τοιχώματα και έχουν ως συνέπεια την ευκολότερη εκχύλιση των ανθοκυανών (Rolle et al., 2009). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η εκχύλιση των ανθοκυανών εξαρτάται από τη χημική τους δομή. Οι Fournand et al. (2006) ανέφεραν χαμηλότερη ικανότητα εκχύλισης για τους κουμαρικούς εστέρες των ανθοκυανών, ενώ οι Hernández-Hierro et al. (2012) παρατήρησαν ότι οι μη εστεροποιημένες ανθοκυάνες ήταν περισσότερο εκχυλίσιμες σε σχέση με της εστεροποιημένες.

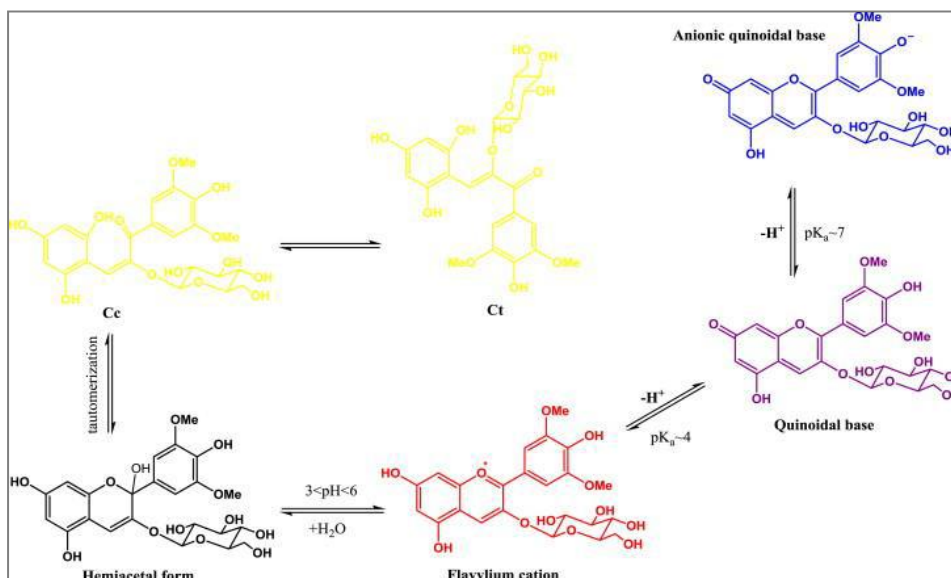
Ιδιότητες και φαινόμενα των ανθοκυανών στον οίνο

Σε αναγωγικό περιβάλλον, οι ελεύθερες ανθοκυάνες αποχρωματίζονται, και ο αποχρωματισμός είναι μόνιμος απουσία αέρα. Όμως η αντίδραση είναι αμφίδρομη, και το χρώμα επανέρχεται σταδιακά, ανάλογα με τις συνθήκες. Σε αυτή την ιδιότητα οφείλεται το γεγονός ότι ο φρέσκος οίνος μέσα στη δεξαμενή ερυθρής οινοποίησης έχει, αμέσως μετά τη ζύμωση, ανοιχτότερο χρώμα από αυτό που αποκτά μετά την πρώτη μετάγγιση. Στους φρέσκους οίνους, όπου υπάρχει υψηλό ποσοστό ελεύθερων ανθοκυανών, σε αντίθεση με τους παλαιωμένους όπου οι ελεύθερες ανθοκυάνες τείνουν να εξαφανιστούν, η προσθήκη θειώδη ανυδρίτη αποχρωματίζει το κρασί, αφού ένα μέρος του δεσμεύεται από τις ανθοκυάνες. Το ποσοστό αποχρωματισμού εξαρτάται από το pH, τον ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη και τη συγκέντρωση των ελεύθερων ανθοκυανών. Όσο αυξάνεται το pH, τόσο μειώνεται ο

αποχρωματισμός. Η αντίδραση των ανθοκυανών με τον θειώδη ανυδρίτη είναι αμφίδρομη. Όταν υπό την επίδραση του οξυγόνου, η αλκοόλη οξειδώνεται αργά προς ακεταλδεΐδη, που έχει μεγάλη συγγένεια με τον θειώδη ανυδρίτη, ο ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης του κρασιού μειώνεται λόγω της δέσμευσής του από την αλδεΐδομάδα, οπότε οι ανθοκυάνες αποδεσμεύουν τον θειώδη ανυδρίτη, προς αποκατάσταση της ισορροπίας. Έτσι, το χρώμα επανέρχεται βαθμιαία, ανάλογα με την σύσταση του κρασιού και τις συνθήκες αποθήκευσης. Σε όξινο περιβάλλον, οι ανθοκυάνες δημιουργούν σύμπλοκα με μέταλλα. Στη φύση, υπεισέρχεται ο σίδηρος, το μαγνήσιο και ενδεχομένως το κάλιο. Στα κρασιά, το αδιάλυτο σύμπλοκο ανθοκυάνες-Fe⁺⁺⁺, προκαλεί το «μπλε θόλωμα» σιδήρου, το οποίο δεν οφείλεται όμως αποκλειστικά στις ανθοκυάνες, δεδομένου ότι την αντίδραση αυτή δίνουν και άλλες φλαβονοειδής φαινόλες, καθώς και οι ταννίνες, όπως έχει προαναφερθεί (Κουράκου - Δραγώνα 1998).

Το είδος και οι συγκεντρώσεις των διάφορων ανθοκυανών στους φλοιούς των σταφυλιών καθορίζουν το χρώμα και την ποιότητα των παραγόμενων οίνων. Στις ανθοκυάνες οφείλονται οι αποχρώσεις μπλε, μοβ, κόκκινο και ενδιάμεσα χρώματα, και υφίστανται ριζικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του οίνου. Το περιεχόμενο των ελεύθερων ανθοκυανών μειώνεται σταδιακά με την ωρίμανση του οίνου και οφείλεται στην συνένωση με άλλα μόρια που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία πιο σταθερών χρωστικών (Castañeda-ovando et al., 2009; Teixeira et al., 2013).

Οι ανθοκυάνες μπορούν να βρεθούν σε διαφορετικές χημικές μορφές μέσα σε ένα διάλυμα που εξαρτώνται από το pH του (Castañeda-ovando et al., 2009; Kennedy & Waterhouse, 2000). Σε pH < 2, το κατιόν του φλαβυλίου με ερυθρό χρώμα είναι η κυρίαρχη μορφή και συμβάλλει στις μωβ και ερυθρές αποχρώσεις του οίνου. Σε τιμές pH μεταξύ 2 και 4, η άνυδρη βάση της κινόνης με μπλε χρώμα είναι η κυρίαρχη μορφή. Σε τιμές pH μεταξύ 5 και 6 εμφανίζεται η ψευδοβάση της καρβινόλης (άχρωμη) και η χαλκόνη (ανοιχτό κίτρινο χρώμα), αντιστοίχως. Σε τιμές pH > 7, οι ανθοκυάνες αποικοδομούνται ανάλογα με τους υποκαταστάτες του Β δακτυλίου τους. Στο pH του οίνου υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ των διαφόρων μορφών και οι τέσσερις δομικές μορφές των ανθοκυανών συνυπάρχουν : κατιόντα του φλαβυλίου με ερυθρό χρώμα (A+), άνυδρες βάσεις, χρώματος ιώδους (AO), άχρωμες ψευδοβάσεις (AOH), χαλκόνες, πολύ ανοιχτού κίτρινου χρώματος (C).



Εικόνα 1.5: Ισορροπία μεταξύ των διαφόρων μορφών των ανθοκυανών στον οίνο

Οι περισσότερες μορφές είναι άχρωμες στο pH του οίνου. Το κόκκινο χρώμα προέρχεται αρχικά από το μικρό ποσοστό των ανθοκυανών που βρίσκονται στη μορφή του φλαβυλίου, αφού στο pH του οίνου η ισορροπία είναι μετατοπισμένη προς την ημικεταλική μορφή, που είναι άχρωμη. Το ποσοστό αυτό εξαρτάται από το pH και τη συγκέντρωση του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη στον οίνο. Χαμηλά pH αυξάνουν την συγκέντρωση της μορφής του φλαβυλίου, ενισχύοντας το κόκκινο χρώμα. Το χαμηλό pH, επίσης, καθυστερεί την υδρόλυση των μορίων των ανθοκυανών σε αγλυκόνη και σάκχαρο. Καθώς το pH αυξάνεται, μειώνεται δραματικά η πυκνότητα του χρώματος και το ποσοστό των ανθοκυανών που βρίσκονται υπό την μορφή φλαβυλίου. Για παράδειγμα, το 20-25% των ανθοκυανών σε pH 3.4 - 3.6 βρίσκεται στην ιονισμένη μορφή του φλαβυλίου, ενώ σε pH 4 μόνο το 10%. Παρόλα αυτά, ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει την πυκνότητα του χρώματος στους φρέσκους ερυθρούς οίνους δεν είναι το pH, αλλά η συγκέντρωση του θειώδη ανυδρίτη, που είναι ένας αποτελεσματικός, αν και αναστρέψιμος, παράγοντας αποχρωματισμού των ανθοκυανών. Η απόχρωση και η σταθερότητα του χρώματος επηρεάζονται από την έκταση και το είδος της υποκατάστασης του Β δακτυλίου της ανθοκυάνης. Το μπλε χρώμα αυξάνεται με το βαθμό υποκατάστασης από τις ελεύθερες υδροξυλομάδες, ενώ το κόκκινο με τις μεθυλομάδες. Η κυρίαρχη ανθοκυάνη στα περισσότερους ερυθρούς οίνους είναι η μαλβίνη, η πιο ερυθρή ανθοκυάνη, και άρα είναι αυτή που δίνει το χρώμα. (Jackson 2008).

Το φαινόμενο του σχηματισμού έγχρωμων συμπλόκων

Στους ερυθρούς οίνους, οι ανθοκυάνες βρίσκονται ως σύμπλοκα, είτε μεταξύ τους, είτε με άλλα συστατικά. Οι ανθοκυάνες συσσωρεύονται και συγκρατούνται μεταξύ

τους, αυτοσυνένωση αλλά και με άλλα συστατικά μέσω του φαινομένου του σχηματισμού έγχρωμων συμπλόκων, copigmentation. Έτσι, δημιουργούνται μοριακά συσσωματώματα που συγκρατούνται από υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις, μεταξύ ανθοκυανών μόνο, ή μεταξύ ανθοκυανών και άλλων άχρωμων οργανικών συστατικών ή μεταλλικών ιόντων. Και οι δύο τύποι συμπλόκων αυξάνουν σημαντικά την ένταση του χρώματος, και μπορούν να επηρεάσουν και την απόχρωση, όπως έχει αποδειχθεί σε πολυάριθμες μελέτες πάνω σε πρότυπα συστήματα αρχικά, αλλά και στον οίνο αργότερα (Boulton 2001). Στην επιστήμη των τροφίμων, το φαινόμενο αυτό θεωρείται μεγάλης σημασίας, καθώς το χρώμα είναι ένας από τους κύριους παράγοντες ποιότητας (Eiro & Heinonen, 2002). Έρευνες δείχνουν ότι ο συγχρωματισμός των ανθοκυανών με άλλες ενώσεις είναι ο κύριος μηχανισμός της σταθεροποίησης του χρώματος στα φυτά αλλά και στους οίνους (Castañeda - Ovando et al., 2009; Teixeira et al., 2013) Η αυτοσυνένωση φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντική στον χρωματισμό του σταφυλιού, ενώ το φαινόμενο του σχηματισμού έγχρωμων συμπλόκων είναι περισσότερο σημαντικό στον ώδη χρωματισμό των φρέσκων οίνων. Η συσσωμάτωση των ανθοκυανικών μορίων σε αυτά τα σύμπλοκα, εμποδίζει την πρόσβαση του νερού στη μορφή του κόκκινου φλαβυλίου και της μπλε βάσης υπό μορφή κιννόνης, και άρα η ισορροπία δεν μετατοπίζεται προς την άχρωμη μορφή της ψευδοβάσης της καρβινόλης. Και οι δύο αυτές μορφές των ανθοκυανών είναι σχεδόν γραμμικές, καθιστώντας την αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών και άλλων ανθοκυανών ή άλλων συστατικών ευκολότερη και πιο πιθανή (Jackson 2008).

Στο χαμηλό pH του οίνου, στο φαινόμενο των έγχρωμων συμπλόκων συμμετέχουν κυρίως ανθοκυάνες υπό την μορφή φλαβυλίου. Αυτό, με τη σειρά του, μετατοπίζει την ισορροπία των ελεύθερων ανθοκυανών προς την έγχρωμη μορφή του φλαβυλίου, γεγονός το οποίο ενισχύει ακόμη περισσότερο το χρώμα και τείνει να μεταβάλλει την απόχρωση προς το ώδες. Αυτά τα έγχρωμα σύμπλοκα εκτιμάται ότι συμβάλλουν περίπου 30 με 50% στο χρώμα των φρέσκων ερυθρών οίνων (Boulton 2001, Jackson 2008).

Τα συστατικά που συνδέονται μέσω του φαινομένου των έγχρωμων συμπλόκων, μπορούν να είναι φλαβονοειδή, αλκαλοειδή, αμινοξέα, οργανικά οξέα, νουκλεοτίδια, πολυσακχαρίτες, μέταλλα ή άλλες ανθοκυάνες. Πολλά συστατικά μπορούν να ενωθούν με τις ανθοκυάνες, μέσω του φαινομένου των έγχρωμων συμπλόκων, αλλά τα κύρια είναι η επικατεχίνη, οι προκυανιδίνες, οι φλαβονόλες, τα κινναμωμικά οξέα και οι υδροκινναμωμικοί εστέρες. Οι ποικιλία των ποσοστών αυτών των ουσιών από οίνο σε οίνο, μπορεί εν μέρει να εξηγήσει τα διαφορετικά χρώματα σε οίνους της ίδια ποικιλίας. Για παράδειγμα, παρόλο που οι επικατεχίνες συμπλοκοποιούνται με τις ανθοκυάνες αμέσως, οι κατεχίνες δίνουν πιο έντονα σε χρώμα σύμπλοκα. Τα παράγωγα των κινναμωμικών οξέων, όπως το καφεϊκό και το π-κουμαρικό οξύ, συμπλοκοποιούνται και αυτά αμέσως (He et al. 2012). Αυτό

εξηγεί το γιατί παραδοσιακά μερικές περιοχές προσθέτουν γλεύκος λευκών ποικιλιών σταφυλιού, συνήθως πλούσιο σε αυτά τα μη φλαβονοειδή, στο γλεύκος των ερυθρών ποικιλιών, πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης (Jackson 2008). Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι κατά την ανάμειξη ερυθρών ποικιλιών πριν τη ζύμωση, το ποσοστό της κάθε ποικιλίας, καθώς και οι συνθήκες καλλιέργειάς της, μπορούν να επηρεάσουν την έκταση του φαινομένου του σχηματισμού έγχρωμων συμπλόκων (Lorenzo et al. 2005).

Πολυμερισμός ανθοκυανών - ταννινών

Τα συστατικά που εκχυλίζονται από τα στέμφυλα, μαζί με τις ανθοκυάνες, συνεισφέρουν, άμεσα ή έμμεσα, στον χρωματισμό του κρασιού. Αυτά τα συστατικά, κυρίως οι κατεχίνες και οι προκυανιδίνες, ξεκινούν να πολυμερίζονται με τις ανθοκυάνες και τις ανθοκυανιδίνες, παράγοντας προϊόντα προσθήκης τύπου T-A ή A-T. Λόγω της ευαισθησίας των ελεύθερων ανθοκυανών στην μη αντιστρεπτή υποβάθμιση, είναι επιθυμητό ο πολυμερισμός αυτός να συμβαίνει γρήγορα κατά την ωρίμανση του οίνου, αφού προστατεύει τα μόρια των ανθοκυανών από την οξείδωση (Jackson et al., 2008).

Τα σύμπλοκα που σχηματίζονται από τον πολυμερισμό ανθοκυανών - ταννινών είναι σταθερά και διατηρούν το κόκκινο χρώμα των ανθοκυανών. Ένα μεγαλύτερο ποσοστό των ανθοκυανών είναι σε έγχρωμη μορφή, μορφή φλαβυλίου και κατάσταση άνυδρης βάσης υπό τη μορφή κιννόνης, όταν συνδέονται με ταννίνες, παρά όταν είναι ελεύθερες. Για παράδειγμα, το 60% των πολυμερισμένων ανθοκυανών είναι έγχρωμο σε pH 3.4, ενώ μόνο το 20% του αντίστοιχου ποσού των ελεύθερων ανθοκυανών είναι έγχρωμο στο ίδιο pH (Κουράκου, Δραγώνα 1998).

Ο πολυμερισμός μαζί με την οξείδωση μεταβάλλουν το χρώμα των ανθοκυανών, και ο οίνος αποκτά ένα κεραμιδί χρώμα. Η οξείδωση των ελεύθερων ανθοκυανών διευκολύνει το σχηματισμό ενώσεων με τις προκυανιδίνες και τις ολιγομερείς ταννίνες, με συνέπεια την δημιουργία έγχρωμων ενώσεων T-A, που έχουν διαφορετικά χρώματα από τις ελεύθερες ανθοκυάνες και είναι αρκετά σταθερές στις μεταβολές του pH και στο χρόνο, γεγονός που επιτρέπει στα ερυθρούς οίνους να διατηρήσουν το χρώμα τους κατά την αποθήκευση και την παλαίωση (Jackson et al., 2008). Ο σχηματισμός των ενώσεων T-A εξαρτάται από τη φύση και την ποσότητα των ανθοκυανών και των ταννινών που θα εκχυλιστούν κατά την οινοποίηση. Το χρώμα των φρέσκων ερυθρών οίνων είναι, επομένως, στενά εξαρτώμενο από τον πλούτο του φλοιού των ραγών σε ανθοκυάνες, την ωριμότητα των γιγάρτων που εμπλουτίζουν το ζυμούμενο γλεύκος σε προκυανιδίνες, και τη μέθοδο της οινοποίησης που καθορίζει τις συνθήκες εκχύλισης (Κουράκου, Δραγώνα 1998).

2. Προσδιορισμός προανθοκυανιδίων και μέσος βαθμός πολυμερισμού

2.1 Προσδιορισμός της δομής των προανθοκυανιδίων

Για να χαρακτηριστεί η δομή των προανθοκυανιδίων, απαιτείται η εκχύλισή τους από τις ράγες με τη χρήση συγκεκριμένων διαλυτών και στη συνέχεια ο διαχωρισμός τους ανάλογα με το μοριακό τους μέγεθος. Η απομόνωση και ταυτοποίηση του κάθε μορίου είναι δύσκολη και επίπονη διαδικασία, για το λόγο αυτό γίνεται έμμεσα ο χαρακτηρισμός τους μετά από διάσπαση των μορίων. Η επεξεργασία των συμπυκνωμένων ταννινών με οξύ, υπό την παρουσία ενός πυρηνόφιλου αντιδραστήριου, όπως η φλωρογλουκινόλη (Chira et al., 2009; Čurko et al., 2014; Drinkine et al., 2007; Kennedy & Jones, 2001; Monagas et al., 2003; Prieur et al., 1994; Souquet et al., 1996; Sun et al., 2013), επιτρέπει τον προσδιορισμό του προφίλ των υπομονάδων, τερματικών και επεκτατικών, που συμμετέχουν στη δομή των πολυμερών προανθοκυανιδίων. Ο μέσος αριθμός των φλαβαν-3-ολών μονομερών στη δομή μιας προανθοκυανιδίνης, των οποίων ο δεσμός μεταξύ των μορίων είναι C4→C8 (ή λιγότερο συχνά C4→C6) αναφέρεται ως μέσος βαθμός πολυμερισμού. Με την ανάλυση των επεξεργασμένων δειγμάτων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) μπορεί να γίνει ο υπολογισμός του μέσου όρου της μοριακής μάζας των πολυμερισμένων φαινολικών ενώσεων του οίνου, ο οποίος εκφράζεται ως μέσος βαθμός πολυμερισμού (mDP).

Σύμφωνα με προηγούμενη έρευνα σε οίνους πέντε ποικιλιών V. Vinifera, το κλάσμα που εμπεριέχει πολυμερή με mDP ≥ 5 προσδιορίστηκε ότι αποτελεί το 77–95% των ολικών προανθοκυανιδίων (Cosme et al., 2009). Επιπλέον, σε έρευνα στην οποία χρησιμοποιήθηκε διαφορετικός τρόπος διαχωρισμού των κλασμάτων, τα πολυμερή των οποίων ο mDP κυμαίνεται από 6,3 έως 13,0 αντιπροσώπευαν το 77–84% των ολικών προανθοκυανιδίων (Monagas et al., 2003). Οι Kennedy et al. (2001) αναφέρουν ότι ο mDP των προανθοκυανιδίων των φλοιών αυξάνεται κατά την ωρίμανση της ράγας, ωστόσο οι Bordiga et al. (2011) παρατήρησαν μια μικρή μείωση στην ωρίμανση. Οι Obreque-Slier et al. (2010) παρατήρησαν επίδραση της ποικιλίας στις τιμές του mDP και στη δομή των προανθοκυανιδίων. Συγκεκριμένα, αναφέρουν μείωση του mDP των φλοιών και των γιγάρτων κατά την ωρίμανση στην ποικιλία Cabernet Sauvignon και περαιτέρω αύξησή του στην υπερωρίμανση, ενώ στην ποικιλία Carménère παρατήρησαν αύξηση στον mDP των φλοιών κατά την ωρίμανση, ο οποίος εν συνεχεία μειώθηκε.

Εκτεταμένη έρευνα έχει διεξαχθεί με σκοπό να διερευνηθεί η σύνθεση και η δομή των ταννινών με την μέθοδο που προαναφέρθηκε η οποία επιτρέπει τον έμμεσο χαρακτηρισμό τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ταννίνες των σταφυλιών που προέρχονται από τους φλοιούς και τα γιγάρτα διαφέρουν στο μήκος της αλυσίδας,

στον τρόπο σύνθεσης των υπομονάδων τους και στις οργανοληπτικές τους ιδιότητες (Brossaud et al., 2001; Chira et al., 2009; Lorrain et al., 2011; Peleg et al., 1999; Sun et al., 2013). Οι ταννίνες των γιγάρτων είναι μικρότερες, με χαμηλότερο mDP και υψηλότερο ποσοστό των υπομονάδων που φέρουν εστέρες του γαλλικού οξέος, και το οποίο εκφράζεται ως βαθμός εστεροποίησης (% G), ενώ οι ταννίνες των φλοιών είναι γενικά μεγαλύτερες με υψηλότερο mDP (Chira et al., 2009; Kennedy & Jones, 2001; Lorrain et al., 2011; Prieur et al., 1994; Souquet et al., 1996).

Οι τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες των προανθοκυανιδινών των φλοιών και των γιγάρτων και κατά συνέπεια η δομή τους, διαφέρουν μεταξύ τους και βρίσκονται σε διαφορετικά ποσοστά. Ορισμένοι ερευνητές έχουν προσδιορίσει την κατεχίνη ως την κύρια τερματική υπομονάδα των προανθοκυανιδινών των φλοιών στις ποικιλίες Merlot, Syrah, Cabernet Sauvignon (Bordiga et al. 2011; Cohen et al. 2008; Hanlin & Downey, 2009; Monagas et al., 2003) ενώ οι Mativvi et al. (2008) για τις ίδιες ποικιλίες αναφέρουν ως κύρια τερματική μονάδα την επικατεχίνη. Η επιγαλλοκατεχίνη έχει ανιχνευτεί στους φλοιούς ως τερματική μονάδα σε ορισμένες ποικιλίες (Gagne et al., 2006) ή απουσιάζει εντελώς (Hanlin & Downey, 2009). Οι Hanlin & Downey (2009) έχουν προσδιορίσει την επικατεχίνη και την επιγαλλοκατεχίνη ως κύριες επεκτατικές μονάδες, ενώ οι Li et al. (2014) αναφέρουν την επιγαλλοκατεχίνη στις ποικιλίες που μελέτησαν.

Στα γίγαρτα ως κύρια τερματική μονάδα έχει προσδιοριστεί από πολλούς ερευνητές η κατεχίνη και ως κύρια επεκτατική μονάδα η επικατεχίνη (Bordiga et al., 2011; Cohen et al., 2008; Prieur et al., 1994). Ωστόσο, οι Downey et al. (2003) αναφέρουν της επικατεχίνη ως κύρια τερματική και επεκτατική υπομονάδα στο στάδιο της ωρίμανσης. Οι Obreque-Slier et al. (2010) προσδιόρισαν στο στάδιο της ωρίμανσης στις ποικιλίες Cabernet Sauvignon και Carménère ως κύρια επεκτατική μονάδα των γιγάρτων την επικατεχίνη, ενώ ως κύρια τερματική μονάδα την επικατεχίνη για την ποικιλία Carménère και την κατεχίνη για την ποικιλία Cabernet Sauvignon. Οι παραλλαγές στη σύσταση της δομής των προανθοκυανιδινών θα μπορούσαν να οφείλονται στον διαφορετικό γενότυπο των ποικιλιών, στον τρόπο προσδιορισμού της δομής αλλά ακόμα και στις περιβαλλοντικές και κλιματολογικές διαφορές κάθε περιοχής όταν εξετάζεται η ίδια ποικιλία (Hanlin & Downey, 2009; Li et al., 2014; Mativvi et al. 2008).

2.2 Οργανοληπτικές ιδιότητες των προανθοκυανιδινών

Οι προανθοκυανιδίνες είναι υπεύθυνες για τη στυπτικότητα και την πικράδα των σταφυλιών και των οίνων. Η αίσθηση της στυπτικότητας αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά των ερυθρών οίνων. Χημικά μπορεί να συσχετιστεί με την ικανότητα των προανθοκυανιδινών να ενώνονται με τις πρωτεΐνες του ανθρώπινου σιέλου (Kallithraka, et al. 1996). Παράλληλα, η πικρή γεύση των οίνων μπορεί να οφείλεται σε ένα ευρύ φάσμα χημικών ενώσεων, όπως τα άλατα των βαρέων μετάλλων, η αιθανόλη, τα αμινοξέα, τα πεπτίδια, κυρίως όμως οφείλεται

στις φαινολικές ενώσεις και συγκεκριμένα στις μονομερείς και ολιγομερείς προκυανιδίνες. Η στυπτικότητα γίνεται αντιληπτή με πιο αργό ρυθμό σε σχέση με την πικράδα, αλλά και οι δύο έχουν μακρά διάρκεια κατά τη γευστική δοκιμή ενός οίνου (Brossaud et al., 2001; Kallithraka et al., 1996; Sun et al., 2013; Sun et al., 2011).

Αρκετές μελέτες έχουν αναφερθεί στη σχέση μεταξύ στυπτικότητας και μονομερών ή ολιγομερών φαινολικών ενώσεων. Οι Chira et al. (2011) βρήκαν σημαντικές συσχετίσεις με τις κατεχίνη, επικατεχίνη. Επιπλέον, οι Li et al., 2014 έχουν συσχετίσει τη συγκέντρωση της επιγαλλοκατεχίνης αρνητικά με τη στυπτικότητα των οίνων. Αντιθέτως, άλλες μελέτες δεν αναφέρουν σημαντικές συσχετίσεις με τις μονομερείς και ολιγομερείς φλαβαν-3-όλες των ραγών και των οίνων (Kallithraka et al, 2011; Quijada-Morin et al, 2012). Η στυπτικότητα σύμφωνα με παλαιότερες έρευνες που έχουν γίνει επηρεάζεται από τη συγκέντρωση, το μοριακό μέγεθος, το βαθμό εστεροποίησης των προανθοκυανιδινών με γαλλικό οξύ και τη δομή των προανθοκυανιδινών (Brossaud et al., 2001; Chira et al., 2015; Cosme et al., 2009; Curko et al, 2014; Quijada-Morin et al. 2012; Vidal et al., 2003). Η εστεροποίηση των προανθοκυανιδινών έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τις αλληλεπιδράσεις τους με διάφορες πρωτεΐνες, γεγονός που υποδηλώνει ότι θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για την αυξημένη αίσθηση της στυπτικότητας (Ricardo-da Silva et al., 1991). Επιπλέον, ο πολυμερισμός των προανθοκυανιδινών προάγει τη δημιουργία μορίων με μεγαλύτερη ικανότητα δέσμευσης από τις πρωτεΐνες και έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του στυπτικού τους χαρακτήρα (Chira et al., 2009; Vidal et al., 2003).

Σύμφωνα με μελέτες, η ένταση της στυπτικότητας σχετίζεται με τον βαθμό πολυμερισμού τους και αυξάνει με το μοριακό μέγεθος τουλάχιστον έως ένα βαθμό (DP = 6) και στη συνέχεια μειώνεται (Brossaud et al., 2001; Chira et al., 2009; Lea, 1992; Sun et al, 2013). Η μείωση αυτή μπορεί να οφείλεται είτε επειδή τα μόρια δεν είναι πλέον διαλυτά, είτε γιατί είναι υπερβολικά ογκώδη και παρεμποδίζεται στερεοχημικά η δέσμευσή τους από τις πρωτεΐνες (Ribereau-Gayón et al, 1999; Sun et al, 2013). Ωστόσο, η τελευταία αυτή υπόθεση αμφισβητήθηκε από μελετητές, οι οποίοι παρατήρησαν ότι οι μεγάλοι μοριακού βάρους προανθοκυανιδίνες ήταν διαλυτές σε πρότυπο διάλυμα οίνου και εν συνεχεία ενώθηκαν με τις πρωτεΐνες του σιέλου (Vidal et al., 2003). Πρόσφατα, οι Sun et al (2013) παρατήρησαν ότι η στυπτικότητα των προανθοκυανιδινών αυξάνεται με την αύξηση του mDP (έως 70) και το ποσοστό εστεροποίησης (%G) με γαλλικό οξύ (έως 22%).

Τα ποσοστά συμμετοχής των τερματικών και επεκτατικών υπομονάδων των προανθοκυανιδινών στη δομή τους έχουν συσχετιστεί έντονα από πολλούς ερευνητές με τη στυπτικότητα. Η δομή είναι σημαντική καθώς επηρεάζει τη σύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών και των δραστικών θέσεων των προανθοκυανιδινών (Haslam, 1974; Rinaldi et al., 2014). Η παρουσία της επιγαλλοκατεχίνης ως τερματική ή επεκτατική υπομονάδα έχει συσχετιστεί

αρνητικά με τη στυπτικότητα (Quijada-Morín et al. 2012; Rinaldi et al., 2014, Vidal et al., 2003). Αντιθέτως η επικατεχίνη και ο γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης έχουν σημαντική συμβολή στην στυπτικότητα των φλοιών, των γιγάρτων και των οίνων, καθώς η παρουσία τους αυξάνει τη στυπτικότητα (Quijada-Morín et al. 2012).

Το μοριακό μέγεθος των προανθοκυανιδινών επηρεάζει και την πικράδα τους, δεδομένου ότι τα μονομερή είναι πιο πικρά από τα πολυμερή (Chira et al., 2009; Peleg et al., 1999). Ταυτόχρονα, έχει αναφερθεί σε έρευνα ότι η μέγιστη ένταση της πικράδας αντιστοιχεί στις τετραμερείς προανθοκυανιδίνες (Sun et al., 2011).

Σύμφωνα με μελέτες, οι ταννίνες των ραγών ανάλογα με την προέλευσή τους – φλοιών ή γιγάρτων – ποικίλουν σε μήκος, σύνθεση των υπομονάδων τους και οργανοληπτικές ιδιότητες (Brossaud et al., 2001; Chira et al., 2009; Peleg et al., 1999; Sun et al., 2013). Τα γίγαρτα είναι πλούσια σε προανθοκυανιδίνες, οι οποίες επηρεάζουν σημαντικά την πικράδα και τη στυπτικότητα των οίνων, ανάλογα πάντα με τον τρόπο οινοποίησης (Casassa et al., 2013b). Οι ταννίνες των γιγάρτων είναι μικρότερες, με χαμηλότερο μέσο βαθμό πολυμερισμού (mDP). Οι ταννίνες των φλοιών είναι γενικά μεγαλύτερες με υψηλότερο mDP (Bordiga et al., 2011; Chira et al., 2009; Curko et al., 2014; Lorrain et al., 2011; Vidal et al., 2004), ενώ οι αντιδράσεις εστεροποίησης λαμβάνουν χώρα σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με τα γίγαρτα (Lorrain et al., 2011; Monagas et al., 2003).

Ωστόσο, οι οργανοληπτικές ιδιότητες της συνολικής συγκέντρωσης των ταννινών φαίνεται να είναι ανεξάρτητες της προέλευσής τους από τα διάφορα μέρη της ράγας. Οι προανθοκυανιδίνες των γιγάρτων και των φλοιών όταν δοκιμάστηκαν βρέθηκαν να είναι εξίσου στυπτικές στην ίδια συγκέντρωση σε οίνο ή ρυθμιστικό μέσο, παρά τις μεγάλες διαφορές στη δομή τους, συμπεραίνοντας ότι οι μικρού μοριακού βάρους ταννίνες των γιγάρτων είναι το ίδιο στυπτικές με τις πολυμερείς ταννίνες των φλοιών. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να οφείλεται στον αυξημένο βαθμό εστεροποίησης με γαλλικό οξύ των ταννινών των γιγάρτων, ο οποίος αυξάνει την στυπτικότητα όπως εξάλλου και ο μεγαλύτερος βαθμός πολυμερισμού των φλοιών. Στην ίδια μελέτη όταν δοκιμάστηκαν σε πιο όξινο διάλυμα οι προανθοκυανιδίνες των γιγάρτων εμφάνισαν μεγαλύτερη πικράδα σε σχέση με των φλοιών. Παράλληλα, τα εκχυλίσματα των οίνων που χαρακτηρίζονται από μέσες τιμές mDP ήταν λιγότερο στυπτικά σε σχέση με τα εκχυλίσματα γιγάρτων και φλοιών (Brossaud et al., 2001).

Η στυπτικότητα και η πικράδα των προανθοκυανιδινών σχετίζεται όχι μόνο με τη χημική δομή και τη συγκέντρωσή τους, αλλά και με άλλες παραμέτρους. Η περιεκτικότητα σε αιθανόλη και το pH του οίνου επηρεάζουν τη στυπτικότητα και συγκεκριμένα η αύξηση της περιεκτικότητας σε αιθανόλη και του pH μειώνουν την αίσθηση της στυφής γεύσης (Fontoin et al., 2008). Επίσης, η παρουσία των ανθοκυανών φαίνεται να επηρεάζει τη στυπτικότητα και συγκεκριμένα οι Brossaud

et al. (2001) παρατήρησαν ότι η προσθήκη εκχυλίσματος ανθοκυανών σε διάλυμα προανθοκυανιδινών των φλοιών αύξησαν την αίσθηση της στυπτικότητας. Αντιθέτως, η πικρή γεύση δεν επηρεάζεται εμφανώς από την συγκέντρωση των ανθοκυανών, αλλά επηρεάζεται από την οξύτητα του οίνου (Brossaud et al., 2001).

3. Η επίδραση της άρδευσης στην συσσώρευση των φαινολικών συστατικών των ραγών

3.1 Η άρδευση των αμπελώνων

Η άμπελος είναι καλά προσαρμοσμένη στα ημίξηρα κλίματα, όπως αυτό της Μεσογείου, καθώς αναπτύσσει μεγάλο και βαθύ ριζικό σύστημα αλλά και φυσιολογικούς μηχανισμούς για τον έλεγχο της ξηρασίας όπως τον αποτελεσματικό έλεγχο των στομάτων κατά τη διαπνοή. Η άρδευση των οινοποιήσιμων ποικιλιών απαγορευόταν σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες καθώς παραδοσιακά πίστευαν ότι μειώνει την ποιότητα του οίνου. Ωστόσο, ο συνδυασμός της αυξημένης ξηρασίας με την υψηλή θερμοκρασία του αέρα και την υψηλή εξάτμιση κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού σε περιοχές με υψηλές θερμοκρασίες κατά την παραγωγική περίοδο, μειώνουν την παραγωγή των πρέμνων και υποβαθμίζουν την ποιότητα των σταφυλιών και των οίνων (Chaves et al., 2010; Chaves et al., 2007). Τα παραπάνω φαινόμενα είναι εντονότερα λόγω της κλιματικής αλλαγής. Η χρήση της άρδευσης σε αυτές τις συνθήκες προκύπτει ως λύση για την αντιμετώπιση της αυξημένης θερμοκρασίας στην κόμη των πρέμνων και τη διατήρηση της ποιότητας της παραγωγής των σταφυλιών και των οίνων.

Σε συνδυασμό της ανάγκης αυτής με την εισαγωγή της στάγδην άρδευσης κατά τις τελευταίες δεκαετίες ως τρόπος εφαρμογής της, ο έλεγχος της υδατικής κατάστασης των πρέμνων έχει γίνει απαραίτητο εργαλείο για τη βελτίωση της ποιότητας των οίνων. Η στάγδην άρδευση άρχισε να αποτελεί απαραίτητη εργασία στην εγκατάσταση ενός αμπελώνα, προκειμένου να διατηρηθεί η απόδοση και η σταθερότητα της ποιότητας του οίνου από έτος σε έτος (Zarrouk et al., 2012).

Γενικότερα η διαχείριση της άρδευσης κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου είναι κρίσιμη για τον έλεγχο της ζηηρότητας της αμπέλου καθώς και για το μέγεθος και την ποιότητα των ραγών. Υπερβολική άρδευση μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλότερη ποιότητα των σταφυλιών και περισσότερες προσβολές από ασθένειες (Crippen & Morrison, 1986), ενώ η ξηρασία θα μπορούσε να οδηγήσει σε κακή ποιότητα και μειωμένη απόδοση (dos Santos et al., 2007). Αντίθετα, οι επεμβάσεις ελλειμματικής άρδευσης έχουν αναφερθεί ότι επηρεάζουν θετικά το ρυθμό συσσώρευσης των φαινολικών ενώσεων κατά την ωρίμανση (Esteban et al., 2001; Ojeda et al., 2002; Ollé et al. 2011) και μπορούν να έχουν θετική επίδραση στην ποιότητα των σταφυλιών και των παραγόμενων οίνων (Koundouras et al., 2006). Η ελλειμματική άρδευση αφορά την παροχή νερού σε επίπεδα μικρότερα της εξατμισοδιαπνοής (ETC) της καλλιέργειας σε όλη την καλλιεργητική περίοδο ή σε συγκεκριμένα φαινολογικά στάδια, κυρίως πριν ή μετά τον περκασμό (Casassa et al., 2015; Ojeda et al., 2002; Ollé et al., 2011).

Η αξιολόγηση της υδατικής κατάστασης των πρέμνων γίνεται με τη μέτρηση του υδατικού δυναμικού (Ψ) του βλαστού ή του φύλλου τις πρωινές ή μεσημεριανές ώρες. Οι τιμές του υδατικού δυναμικού είναι αρνητικές και όσο μικρότερες είναι τόσο μεγαλύτερη η υδατική καταπόνηση των πρέμνων. Στον Πίνακα 3.1 αναφέρεται η κατάσταση των πρέμνων ανάλογα με τις τιμές του Ψ και την ώρα μέτρησης.

Πίνακας 3.1: Όρια υδατικού δυναμικού (Ψ) του φύλλου και του βλαστού σε σχέση με την ελλειμματική άρδευση των πρέμνων (Πηγή: van Leeuwen et al., 2008)

	Ψ_{dawn} Υδατικό δυναμικό φύλλου πριν την αυγή (MPa)	Ψ_{midday} Υδατικό δυναμικό φύλλου το μεσημέρι	$\Psi_{\text{midday_stem}}$ Υδατικό δυναμικό βλαστού το μεσημέρι
πλήρης άρδευση	> -0.2	> -0.9	> -0.6
μικρή ελλειμματική άρδευση	-0.2 έως -0.3	-0.9 έως -1.1	-0.6 έως -0.9
μικρή έως μέτρια ελλειμματική άρδευση	-0.3 έως -0.5	-1.1 έως -1.3	-0.9 έως -1.1
μέτρια έως αυξημένη ελλειμματική άρδευση	-0.5 έως -0.8	-1.3 έως -1.4	-1.1 έως -1.4
αυξημένη ελλειμματική άρδευση	< -0.8	< -1.4	< -1.4

3.2 Η επίδραση της άρδευσης στην συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των ραγών

Η υδατική κατάσταση των πρέμνων έχει αντίκτυπο στη βιοσύνθεση των φαινολικών στη ράγα και εξαρτάται από το βαθμό άρδευσης (Basile et al., 2011; Koundouras et al., 2009), το στάδιο της ανάπτυξης των ραγών κατά το οποίο εφαρμόστηκε η άρδευση (Kennedy et al., 2002; Ojeda et al., 2002; Ollé et al., 2011) και τις κλιματολογικές συνθήκες (Chacón et al., 2009; Shellie et al., 2011)

Οι Roby et al. (2004b), σε μελέτη κατά την οποία η ελλειμματική άρδευση εφαρμόστηκε μετά τον περκασμό, παρατήρησαν επίδραση στη συγκέντρωση των ταννινών των φλοιών, αλλά όχι των γιγάρτων, των οποίων η φαινολική σύσταση συσχετίστηκε κυρίως με το μέγεθος της ράγας. Οι Ollé et al. (2011) μελέτησαν την επίδραση του χρόνου εφαρμογής της υδατικής καταπόνησης των πρέμνων σε διάφορες παραμέτρους και κατέληξαν ότι όταν η έλλειψη νερού επέρχεται πριν τον περκασμό δεν έχει καμία επίδραση στη συσσώρευση των ολικών φαινολικών, ενώ οι ανθοκυάνες επηρεάζονται ανεξάρτητα από χρόνο εφαρμογής (Casassa et al., 2015). Οι Kennedy et al. (2002) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ελλειμματική άρδευση πριν τον περκασμό ανέστειλε μόνο την αύξηση των ραγών και δεν επηρέασε στη φαινολική τους σύσταση. Ερευνητές αναφέρουν την επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των φλαβονολών (Mattivi et al., 2006; Zarrouk et al., 2011) ειδικά όταν η ελλειμματική άρδευση εφαρμοστεί μεταξύ άνθησης και περκασμού, αλλά όχι όταν η υδατική έλλειψη είναι πολύ έντονη (Ojeda et al., 2002). Οι Ollé et al. (2011) αναφέρουν ότι η συνολική συγκέντρωση των ανθοκυανών είναι μεγαλύτερη κατά την επέμβαση ελλειμματικής άρδευσης πριν τον περκασμό και

πλήρες από το περκασμό μέχρι την ωρίμανση. Ενώ η συγκέντρωση των ανθοκυανών για τις επεμβάσεις της πλήρους άρδευσης και της ελλειμματικής μετά τον περκασμό δεν παρουσιάζουν στατιστικές διαφορές.

Ορισμένες έρευνες αναφέρουν ότι το μέγεθος της ράγας παίζει ρόλο στη δημιουργία οίνων ποιότητας καθώς επηρεάζει τη σχέση φλοιού/σάρκας και ως αποτέλεσμα βελτιώνει την εκχύλιση των ανθοκυανών και των φαινολικών των φλοιών στον οίνο (Basile et al. 2011; Kennedy et al., 2002). Συνεπώς επηρεάζει θετικά τις οργανοληπτικές ιδιότητες των οίνων μέσω της μείωσης του βάρους της ράγας (Basile et al., 2011; Kennedy et al., 2002; Ojeda et al., 2002) αλλά και του βάρους των φλοιών ειδικά όταν εφαρμοστεί πριν τον περκασμό (Ojeda et al., 2002). Ωστόσο, άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι παρόλο που η ελλειμματική άρδευση μπορεί να αυξήσει την αναλογία φλοιού ανά ράγα, δεν επιδρά απαραίτητα στη συγκέντρωση των ανθοκυανών και των ταννινών (Bucchetti et al., 2011; Koundouras et al., 2009). Αντιθέτως, ερευνητές οι οποίοι δεν βρήκαν διαφορά στο βάρος των γιγάρτων κάτω από συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης, αναφέρουν αύξηση στην αναλογία του βάρους των γιγάρτων ανα ράγα (Chacón et al., 2009), λόγω μείωσης του βάρους της και άρα μεγαλύτερη εκχύλιση φαινολικών των γιγάρτων κατά τη διαδικασία της οινοποίησης. Γενικά συστήνεται να μην εφαρμόζεται υπερβολικό πότισμα λίγο πριν τον τρυγητό γιατί αυτό οδηγεί στην “αραίωση” των διαλυτών συστατικών (σάκχαρα, οξέα, ταννίνες, ανθοκυάνες) και στο σχίσσιμο του φλοιού της ράγας (Conde et al., 2007)

Οι Castellarin et al. (2007) παρατήρησαν αύξηση της ποσότητας των ανθοκυανών ανα γραμμάριο ράγας αλλά όχι ανα ράγα σε σχέση με το μάρτυρα, ανεξάρτητα από το χρόνο εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης και σε συγκεκριμένες τιμές υδατικού δυναμικού του φύλλου Ψ_{midday} ($-0,9 \text{ MPa} < \Psi_{\text{midday}} < -1,2 \text{ MPa}$). Οι Lakso et al. (1992) αναφέρουν ότι η επίδραση του ποτίσματος στη φυσιολογία του πρέμνου εξαρτάται από την αναλογία “φυλλική επιφάνεια:βάρος ραγών”. Πολλοί ερευνητές αναφέρουν ότι η συγκέντρωση των ανθοκυανών στους φλοιούς των ραγών είναι ανεξάρτητη από το μέγεθος της ράγας (Ojeda et al., 2002; Roby & Matthews, 2004, Roby et al., 2004) και αυξάνεται μέσω της υδατικής καταπόνησης λόγω της αυξημένης βιοσύνθεσης των ανθοκυανών (Castellarin et al., 2007). Ο μεταβολισμός των ανθοκυανών, μπορεί να διαταραχθεί από την εφαρμογή ισχυρής άρδευσης ή να ευνοηθεί από ένα μέτριο ή έντονο υδατικό έλλειμμα. Όταν η υδατική καταπόνηση στα πρέμνα εφαρμόστηκε μετά τον περκασμό, τότε η μείωση της ράγας ήταν μικρότερη αλλά παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αύξηση στις συγκεντρώσεις των φλαβονολών (Ojeda et al., 2002).

Οι Esteban et al. (2001) αναφέρουν ότι η άρδευση επιδρά, άμεσα ή έμμεσα, στην φυσιολογία του πρέμνου. Πιο αναλυτικά, αναφέρουν ότι η άρδευση επηρεάζει την

ανάπτυξη και την πυκνότητα του φυλλώματος του πρέμνου και συνεπώς τα χαρακτηριστικά του μικροκλίματος. Η αντίδραση του πρέμνου στο πότισμα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως λ.χ. την εποχή του τρυγητού, το ποσοστό του φυλλώματος και το βαθμό καταπόνησης του φυτού. Για παράδειγμα το υπερβολικό πότισμα οδηγεί στην ανάπτυξη πλούσιας κόμης με αποτέλεσμα να σκιάζονται τα σταφύλια και, όπως προαναφέρθηκε, η σκίαση επηρεάζει αρνητικά την ένταση του χρώματος των ραγών. Ομοίως, οι Ojeda *et al.* (2002) αναφέρουν ότι η επίδραση του ποτίσματος είναι έμμεση και άμεση: ο έμμεσος τρόπος έχει πάντα θετικά αποτελέσματα στην συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών λόγω της μείωσης του βάρους των ραγών ενώ η άμεση επίδραση στην βιοσύνθεση των φαινολικών μπορεί να θετική ή αρνητική ανάλογα με τον τύπο του φαινολικού συστατικού, την περίοδο ποτίσματος και το βαθμό του υδατικού ελλείμματος. Οι Roby *et al.* (2004) υποστηρίζουν ότι η αύξηση των συγκεντρώσεων των ανθοκυανών και των ταννινών των φλοιών της ποικιλίας Cabernet sauvignon με την εφαρμογή υδατικού ελλείμματος οφείλεται πρωτίστως στην διαφοροποίηση του ρυθμού αύξησης της σάρκας και του φλοιού και δευτερευόντως σε κάποια άμεση διαφοροποίηση του μεταβολικού μονοπατιού της βιοσύνθεσης. Βέβαια, παρατήρησαν σε ράγες ίδιου μεγέθους αλλά που δέχθηκαν διαφορετικό επίπεδο άρδευσης, παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανθοκυανών και ταννινών του φλοιού στις ράγες που είχαν το μεγαλύτερο υδατικό έλλειμμα. Ομοίως οι Kennedy *et al.* (2002) υποστηρίζουν ότι η μικρή αύξηση των συγκεντρώσεων των ανθοκυανών λόγω της αύξησης του υδατικού ελλείμματος οφείλεται πρωτίστως στην αλλαγή του μεγέθους των ραγών και δευτερευόντως σε κάποια αλλαγή της βιοσύνθεσης τους. Πολλοί όμως ερευνητές, όπως οι Deloire *et al.* (2003), υποστηρίζουν ότι η υδατική κατάσταση των πρέμνων της ποικιλίας Grenache noir επηρεάζει στενά την βιοσύνθεση των ανθοκυανών και συγκεκριμένα το υδατικό έλλειμμα την ευνοεί. Σύμφωνα με τις παρατηρήσεις των Ojeda *et al.* (2002) η αύξηση της συγκεντρώσεως των ανθοκυανών με την μείωση του επιπέδου άρδευσης φαίνεται να είναι ανεξάρτητη με την επίδραση του υδατικού ελλείμματος στο βάρος των ραγών. Οι παρατηρήσεις τους έδειξαν ότι η βιοσύνθεση των 3-φλαβανολών μειώθηκε όταν το υδατικό έλλειμμα εφαρμόστηκε στα αρχικά στάδια ανάπτυξης των ραγών ενώ συγκεκριμένα η βιοσύνθεση των προανθοκυανιδών και των ανθοκυανών αυξήθηκε μόνο όταν εφαρμόστηκε υδατικό έλλειμμα μετά τον περκασμό. Παρατήρησαν επίσης, ότι ο λόγος βάρος φλοιών/βάρος ραγών αυξάνεται με την αύξηση του υδατικού ελλείμματος. Έτσι, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η άρδευση δρα και με άμεσο και με έμμεσο τρόπο.

Όταν κατά την περίοδο της κυτταρικής διαίρεσης, αλλά κυρίως κατά την περίοδο που παρατηρείται η επιμήκυνση των κυττάρων, επικρατούν συνθήκες έλλειψης νερού τότε αναπτύσσονται μικρότερες ράγες. Επίσης, η συγκέντρωση των ανθοκυανών και των ταννινών επηρεάζεται σημαντικότερα από την υδατική

κατάσταση του πρέμνου σε σχέση με την επίδραση του μεγέθους της ράγας (Roby *et al.*, 2004).

Σε πολλές μελέτες έχει αποδειχτεί ότι η εφαρμογή της ελλειμματικής άρδευσης (<70 ETc) μετά των περκασμό, οδηγεί στην αύξηση των προανθοκυανιδινών και ανθοκυανών (Basile *et al.*, 2012; Romero *et al.*, 2010; Castellarin *et al.*, 2007; Ojeda *et al.*, 2002) και συγκεκριμένα του μονογλυκοζίτη της μαλβιδίνης (Casassa *et al.*, 2015; Koundouras *et al.*, 2009). Ωστόσο, υπάρχουν αναφορές ότι το επίπεδο της άρδευσης που εφαρμόζεται μπορεί να επιδράσει διαφορετικά, ανάλογα με την ποικιλία. Στην ποικιλία Tempranillo η συγκέντρωση των ανθοκυανών στο χυμό επηρεάστηκε θετικά μόνο όταν εφαρμόστηκε ήπια έως μέτρια υδατική καταπόνηση στα πρέμνα και η αυξημένη υδατική καταπόνηση οδήγησε σε μείωση των ανθοκυανών (Girona *et al.*, 2009), ενώ στο Cabernet Sauvignon η συγκέντρωση των ανθοκυανών αυξήθηκε κάτω από οποιοδήποτε επίπεδο ελλειμματικής άρδευσης (Basile *et al.*, 2011) όταν αυτή εφαρμόστηκε μετά τον περκασμό. Επιπλέον, θετική επίδραση της ελλειμματικής άρδευσης στη συγκέντρωση των ανθοκυανών αναφέρεται στις ποικιλίες Syrah (Ojeda *et al.*, 2002), Cabernet Sauvignon (Castellarin *et al.*, 2007) και Merlot (Bucchetti *et al.* 2011; Chacón *et al.*, 2009).

Οι Chacón *et al.* (2009) μελέτησαν για 4 έτη στην ποικιλία Merlot τις ράγες και τους οίνους σε περιοχή με ξηρό κλίμα και εντόπισαν επίδραση της άρδευσης μετά τον δεύτερο χρόνο, ενώ αναφέρουν αύξηση των ταννινών του οίνου με την ελλειμματική άρδευση. Οι Shellie (2011), για την ίδια ποικιλία σε ξηρό κλίμα δεν παρατήρησαν επίδραση της ελλειμματικής άρδευσης στις ανθοκυάνες των ραγών, παρά μόνο στη συγκέντρωση των ταννινών των φλοιών όταν αυτές εκφράστηκαν ανα ράγα. Οι Bucchetti *et al.* (2011) που μελέτησαν την ποικιλία Merlot για τέσσερα έτη, χωρίς ωστόσο να είναι συνεχόμενα, δεν παρατήρησαν το ίδιο μοτίβο για όλα τα έτη παρά μόνο στην αύξηση των ανθοκυανών των ραγών με την ελλειμματική άρδευση. Η αύξηση των ταννινών παρατηρήθηκε σε κάποιες χρονιές, ενώ σε άλλες δεν παρατηρήθηκαν στατιστικές διαφορές στις συγκεντρώσεις τους, συμπεραίνοντας ότι η ελλειμματική άρδευση μετά τον περκασμό δεν επηρεάζει σημαντικά την ολική συγκέντρωση των ταννινών (Bucchetti *et al.*, 2011; Koundouras *et al.*, 2009). Οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται στο συνδυασμό της άρδευσης που εφαρμόζεται με τις συνθήκες που επικρατούν κάθε έτος αλλά και την περιοχή που καλλιεργείται κάθε ποικιλία, ενώ ρόλο φαίνεται να παίζουν και οι συνθήκες της προηγούμενης χρονιάς.

Πολλοί ερευνητές αναφέρουν επίδραση της άρδευσης των πρέμνων στα φαινολικά συστατικά των ραγών και οίνων ανάλογα με το βαθμό υδατικής καταπόνησης αυτών. Οι Basile *et al.* (2011) μελέτησαν στην ποικιλία Cabernet Sauvignon την επίδραση άρδευσης στα φαινολικά συστατικά της ράγας ανάλογα με το στάδιο της

ράγας που εφαρμόστηκε από την άνθηση μέχρι την ωρίμανση και το επίπεδο της άρδευσης και αναφέρουν ότι για το στάδιο της ράγας από την άνθηση μέχρι την καρπώδεση τη θετικότερη επίδραση στα φαινολικά έχει η πλήρης άρδευση (100% εξατμισοδιαπνοής – ETc). Οι Esteban et al. (2001) αναφέρουν ότι οι ράγες των μη αρδευόμενων πρέμνων έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών σε σχέση με τα αρδευόμενα, όταν οι τιμές εκφράζονται ανα γραμμάριο ράγας ενώ προκύπτει το αντίστροφο όταν εκφράζονται ανα ράγα. Επίσης, αύξηση των μονομερών φλαβον-3-ολών παρατηρήθηκε με αύξηση της άρδευσης των πρέμνων (Koundouras et al., 2009).

4. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

4.1 Θεωρητικό υπόβαθρο

Η HPLC είναι μια κατάλληλη τεχνική για τον ακριβή και επαναλήψιμο προσδιορισμό ενός μεγάλου φάσματος χημικών ενώσεων. Αποτελεί παραλλαγή της κλασικής χρωματογραφίας στήλης και η ταχύτατη εδραίωση της στο χώρο της ενόργανης ανάλυσης βασίστηκε κατά κύριο λόγο στην εξέλιξη των υλικών πλήρωσης της στήλης. Το κύριο πεδίο εφαρμογών της HPLC είναι η ανάλυση φαρμάκων, τροφίμων και περιβαλλοντικών δειγμάτων (McMurry, 2005).

Ο διαχωρισμός των συστατικών στο συγκεκριμένο χρωματογραφικό σύστημα είναι αποτέλεσμα της συνδυαστικής δράσης μιας κινητής και μιας στατικής φάσης. Σε πρώτο στάδιο, το προς ανάλυση δείγμα εισάγεται στη χρωματογραφική στήλη όπου βρίσκεται η στατική φάση. Τα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται από την κινητή φάση, η οποία προωθείται στη στήλη με τη βοήθεια μιας αντλίας υψηλής πίεσης και κάτω από σωστά επιλεγμένες πειραματικές συνθήκες μετακινούνται διαμέσου της φάσης με διαφορετικές ταχύτητες και διαχωρίζονται.

Τα συστατικά, τα οποία εκλούνται από το άκρο της χρωματογραφικής στήλης, εισέρχονται στον κατάλληλο ανιχνευτή και τα σήματα καταγράφονται ως συνάρτηση του χρόνου, δίνοντας ένα διάγραμμα με μια σειρά κορυφών, το λεγόμενο χρωματογράφημα. Οι θέσεις των κορυφών ως προς τον άξονα του χρόνου εξυπηρετούν την ταυτοποίηση των συστατικών του δείγματος και το εμβαδόν κάθε κορυφής αποτελεί το ποσοτικό τους μέτρο (Skoog et al., 2005).

4.2. Οργανολογία

Η οργανολογία ενός σύγχρονου συστήματος HPLC παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.1. Αποτελείται κυρίως από το σύστημα εισαγωγής του δείγματος, την αντλία, τη χρωματογραφική στήλη, τον ανιχνευτή και το σύστημα συλλογής και καταγραφής αποτελεσμάτων.

Αντλία

Αποτελεί το βασικό τμήμα του χρωματογραφικού συστήματος και είναι υπεύθυνη για τη διέλευση του διαλύτη μέσα από την στήλη. Η αντλία απαιτείται να παρέχει με σταθερή ροή την κινητή φάση ώστε να διασφαλιστεί η αναπαραγωγιμότητα και η ακρίβεια της μεθόδου. Οι δυο εφαρμοζόμενες τεχνικές ανάλυσης είναι η ισοκρατική έκλυση (isocratic elution), στην οποία η κινητή φάση έχει σταθερή σύσταση καθ'όλη την ανάλυση, και η βαθμιδωτή 50 έκλυση (gradient elution), στην οποία η κινητή φάση μεταβάλλεται βαθμιαία, ή κατά τακτά χρονικά διαστήματα με βάση προγραμματισμό. Η βαθμιδωτή έκλυση εφαρμόζεται συνήθως σε πολύπλοκα δείγματα που περιέχουν πολλά συστατικά, με σκοπό την επίτευξη καλύτερου και γρηγορότερου διαχωρισμού.

Σύστημα εισαγωγής του δείγματος

Είναι υπεύθυνο για την εισαγωγή του δείγματος στο 'ρεύμα ροής' της κινητής φάσης προτού αυτή εισέλθει στη στήλη. Τα σύγχρονα συστήματα HPLC είναι εξοπλισμένα με αυτόματους δειγματολήπτες που διαθέτουν ειδικά διαμορφωμένο δισκίο, χωρητικότητας μέχρι και 100 δειγμάτων, επιτρέποντας προγραμματισμένες εγχύσεις σε διάφορους όγκους.

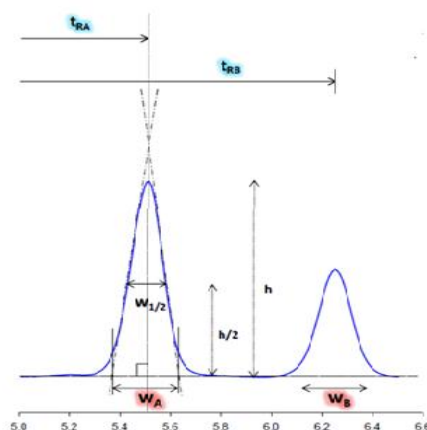
Στήλη

Η στήλη αποτελεί τον πυρήνα κάθε χρωματογραφικού συστήματος. Πολλές στήλες είναι εμπορικά διαθέσιμες σε διαφορετικά μήκη, μεγέθη και υλικά πλήρωσης. Η χρήση του σωστού συνδυασμού του μήκους και του υλικού πλήρωσης σε συσχέτιση με την κατάλληλη κινητή φάση μπορεί να βοηθήσει στον πιο αποτελεσματικό διαχωρισμό των ενώσεων του μείγματος. Σε γενικές γραμμές, οι στήλες LC είναι αρκετά ανθεκτικές, με μεγάλο χρόνο ζωής, εκτός εάν χρησιμοποιούνται με κάποιο τρόπο που είναι εγγενώς καταστρεπτικός, όπως για παράδειγμα, με πολύ όξινα ή βασικά εκλούσματα ή με συνεχείς ενέσεις "βρώμικων" βιολογικών ή ακατέργαστων δειγμάτων (Kuriacs, 2004).

Σημαντική παράμετρος για μια στήλη είναι η διαχωριστική της ικανότητα, η οποία αποτελεί ουσιαστικά ποσοτικό μέτρο της ικανότητας της να διαχωρίσει δυο αναλύτες. Για ένα μίγμα με δυο ενώσεις A και B, η διαχωριστική ικανότητα μπορεί να οριστεί από την εξίσωση:

$$R_s = (2(t_{RB} - t_{RA})) / (W_A + W_B)$$

όπου $(t_R)_A$ και $(t_R)_B$ οι χρόνοι κατακράτησης των κορυφών A και B, αντίστοιχα και W_A και W_B , το εύρος της βάσης των κορυφών. Όπως φαίνεται στην Σχήμα 4.1, για να υπολογιστεί το W , φέρονται δύο εφαπτόμενες στα σημεία καμπής της κορυφής και προεκτείνονται, έτσι ώστε, αυτές να τέμνονται ακριβώς στο t_R . Οι δύο εφαπτόμενες με τη γραμμή βάσης (baseline) σχηματίζουν ένα τρίγωνο, το οποίο αποτελεί το εύρος της βάσης, W . Διαχωριστική ικανότητα μεγαλύτερη από 1.5 αντιστοιχεί ουσιαστικά σε πλήρη 51 διαχωρισμό των δύο συστατικών, ενώ σε μικρότερες τιμές παρατηρείται αλληλεπικάλυψη των κορυφών (Ho, Stuart, & Prichard, 2003).



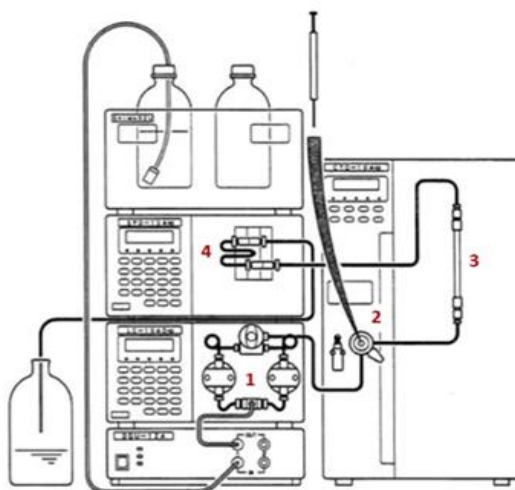
Εικόνα 4.1: Περιγραφή υπολογισμού των παραμέτρων της διαχωριστικής ικανότητας μιας χρωματογραφικής μεθόδου.

Ανιχνευτής

Ο ανιχνευτής αναγνωρίζει μια ουσία με την παραγωγή ηλεκτρικού σήματος, για αυτό πρέπει να χαρακτηρίζεται από μεγάλη ευαισθησία και υψηλό λόγο σήματος προς θόρυβο. Ο διαχωρισμός τους γίνεται με βάση την απόκριση του σε φωτόνια ή σε θερμότητα. Ως ανιχνευτές απόκρισης σε φωτόνια χρησιμοποιούνται φωτολυχνίες, φωτοπολλαπλασιαστές και φωτοδιόδοι. Οι ανιχνευτές αυτοί χρησιμοποιούν ηλεκτρικό σήμα, με απελευθέρωση ηλεκτρονίων ή με μετακίνηση μη-αγώγιμων ηλεκτρονίων σε ζώνες αγωγιμότητας. Το ηλεκτρικό ρεύμα που παράγεται είναι ανάλογο της ισχύος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.

Μονάδα ελέγχου και επεξεργασίας δεδομένων

Στον Η/Υ είναι εγκατεστημένο κατάλληλο λογισμικό, μέσω του οποίου ρυθμίζονται όλοι οι παράμετροι των επιμέρους τμημάτων του συστήματος HPLC, όπως η θερμοκρασία της στήλης, η σύσταση και η ροή της κινητής φάσης και ο όγκος έγχυσης. Το λογισμικό είναι υπεύθυνο να συλλέγει και να επεξεργάζεται τα αποτελέσματα από τον ανιχνευτή.



Εικόνα 4.2: Σχηματική αναπαράσταση συστήματος HPLC. 1. Αντλία, 2. Σύστημα εισαγωγής του δείγματος, 3. Χρωματογραφική Στήλη, 4. Ανιχνευτής.

5. Ξινόμαυρο

5.1 Εισαγωγικά για το Ξινόμαυρο



Εικόνα 5.1: Αμπέλι της ποικιλίας Ξινόμαυρο

Διασχίζοντας τους δρόμους του κρασιού της Βορείου Ελλάδας έντονη κάνει την παρουσία της η ποικιλία Ξινόμαυρο. Ιδιαίτερη ελληνική ποικιλία, με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και έντονο χαρακτήρα προέλευσης στους παραγόμενους από αυτή οίνους. Αποτελεί μία από τις δύο δυναμικότερες ερυθρές εγχώριες ποικιλίες, μαζί με το Αγιωργίτικο της Νεμέας. Η ποικιλία αυτή συναντάται

και με άλλες ονομασίες, όχι τόσο γνωστές, όπως είναι Μαύρο Ναούσης, Μαύρο Ναουσιανό, Νιουστινό, Μαύρο Γουμένισσας, Ξυνόγκαλτσο, Πόπολα, Ξινόμαυρο Κοζάνης.

Καλλιεργείται σε έκταση που ξεπερνά τα 18.000 στρέμματα σε πολλές περιοχές του βορειοελλαδικού κόσμου με κυριότερες τη Νάουσα, το Αμύνταιο, τη Γουμένισσα, τη Ραψάνη, το Τρίκωμο, τη Σιάτιστα και το Βελβεντό. Σε μικρότερο ποσοστό συναντάτε στο Άγιο Όρος, την Όσσα, τα Ιωάννινα, τη Μαγνησία, την Καστοριά και τα Τρίκαλα (Σπινθηροπούλου Χ. 2000, Σταυρακάκης Μ. 2004).

5.2 Περιγραφή του Ξινόμαυρου

5.2.1 Χαρακτηριστικά της ποικιλίας

Είναι φυτό ζυηρό, εύρωστο, γόνιμο, παραγωγικό, ευαίσθητο στο ωίδιο, το βοτρυτή, το μολυσματικό εκφυλισμό και πολύ ευαίσθητο στην ξηρασία ενώ ορισμένες χρονιές εμφανίζει φυλλοξηρικές κηλίδες στα φύλλα. Παρουσιάζει καλή συγγένεια με τα περισσότερα υποκείμενα που χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα εκτός από το 3309 (Σπινθηροπούλου Χ. 2000, Σταυρακάκης Μ. 2004).

5.2.2 Αμπελογραφία

Περιγραφή φύλλου: Το μέγεθος φύλλου είναι μέτριο προς μεγάλο. Έχει σχήμα στρόγγυλο προς σφηνοειδές και είναι ολόκληρο, το έλασμα του παρουσιάζει ελαφρά πομφολυγώδη. Οι οδόντες του είναι μεσαίου μεγέθους. Είναι τρίλοβο και ο μισοκός του κόλπος είναι U κλειστός, με αναδιπλωμένα χείλη. Παρουσιάζει χνοασμό αραχνοειδής προς χνώδης και η πάνω επιφάνεια είναι σκούρη πράσινη.

Περιγραφή κορυφής: Μέση προς ανοιχτή βαμβakoειδής κορυφή χωρίς ανθοκυάνες

Περιγραφή σταφυλής: Σταφύλι μικρό έως μέτριο, κυλινδρικό και πυκνό. Η ράγα έχει μέτριο μέγεθος, είναι σφαιρική και με παχύ φλοιό και έχει 1-3 γίγαρτα. Ο φλοιός έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε χρωστικές και τανίνες, ενώ η σάρκα είναι άχρωμη, χυμώδης και υπόξινη (Σταυρακάκης Μ. 2004).

5.2.3 Καλλιέργεια του Ξινόμαυρου

Το ξινόμαυρο είναι μια ερυθρή ποικιλία μέτριας έως μεγάλης ζωηρότητας. Είναι αρκετά παραγωγική και έχει γόνιμο τον τυφλό ή τσίμπλα. Έχει ορθόκλαδη βλάστηση, δέχεται κλάδεμα βραχύ στα δύο μάτια και μπορεί να διαμορφωθεί σε κύπελλο και πιο συχνά σε γραμμικό αμφίπλευρο κορδόνι Royal. Είναι ποικιλία που προτιμάει εδάφη ελαφρά έως μέσης σύστασης. Προσαρμόζεται κυρίως σε εδάφη με καλή στράγγιση, ασβεστώδη, ουδέτερα ως αλκαλικά και μέσης γονιμότητας. Προτεινόμενη πυκνότητα φύτευσης είναι 400 – 500 φυτά / στρέμμα (Σπινθηροπούλου Χ. 2000, Σταυρακάκης Μ. 2004).

Το ξινόμαυρο είναι μια ποικιλία η οποία δεν συγχωρεί καλλιεργητικά λάθη και παραλείψεις. Παρουσιάζει έντονα την έλλειψη καλίου, ενώ σε υπερβολική αζωτούχο λίπανση και άρδευση οδηγεί σε αυξημένη ζωηρότητα. Αυστηρό κορυφολόγημα και εκτεταμένο ξεφύλλισμα έχουν αρνητική επίδραση στην ποιότητα των σταφυλιών. Οι λανθασμένες καλλιεργητικές τεχνικές οδηγούν αμέσως στην εμφάνιση των αδύνατων σημείων του ξινόμαυρου όπως είναι φτωχό χρώμα και επιθετικό χαρακτήρα στη γεύση (Γεωργίου Δ. 2007, Σπινθηροπούλου Χ. 2000). Η βλάστησή του ξεκινάει το πρώτο δεκαπενθήμερο του Απριλίου και ωριμάζει από το 3ο δεκαήμερο του Σεπτεμβρίου και μετά (Σπινθηροπούλου Χ. 2000, Σταυρακάκης Μ. 2004).

5.3 Παραγόμενοι οίνοι

Το ξινόμαυρο είναι μία πολυδυναμική ποικιλία και μπορεί να δώσει διαφορετικούς τύπους οίνου ανάλογα με την περιοχή, το υψόμετρο που καλλιεργείται και τον τρόπο οινοποίησης. Σε περιοχές με μικρό υψόμετρο, σε κατάλληλα εδάφη και με μικρές αποδόσεις ανα πρέμνο δίνει κρασιά ερυθρά ξηρά, υψηλόβαθμα, καλής οξύτητας, αρωματικά, με ικανοποιητική ένταση χρώματος και πλούσια σε τανίνες. Σε αυξημένο υψόμετρο παράγονται κυρίως ροζέ και αφρώδη ροζέ και αφρώδη λευκά κρασιά.

Τα κρασιά από ξινόμαυρο είναι ιδιαίτερα δυναμικά και στιβαρά. Ως γνωστόν, το Ξινόμαυρο, με την υψηλή οξύτητα και τις αυστηρές ταννίνες στη νεότητά του είναι τεταμένο, άγουρο, άγριο και επιθετικό επιδέχεται όμως παλαίωση αφού τα χαρακτηριστικά του βελτιώνονται με την πάροδο του χρόνου.

Τα ερυθρά κρασιά που προέρχονται από την ποικιλία αυτή παρουσιάζουν πολλές διαβαθμίσεις στο χρώμα από ρουμπινί μέχρι πορφυρό ενώ μετά από παλαίωση αποκτούν κεραμιδί αποχρώσεις. Το άρωμά τους χαρακτηρίζεται από πολυπλοκότητα με τυπικά αρώματα ντομάτας, πιπεριάς και φυτικότητας όταν είναι νέα ενώ με την πάροδο του χρόνου εξελίσσονται σε αρώματα λιαστής ντομάτας, πάστα ελιάς, πιπεριού και δέρματος. Στο στόμα εμφανίζει μέτρια έως πολύ υψηλή οξύτητα οι ταννίνες είναι εμφανείς και η επίγευση παρατεταμένη.

5.4 Οι σημαντικότερες περιοχές καλλιέργειας του Ξινόμαυρου

Όπως προαναφέραμε το Ξινόμαυρο καλλιεργείται σε πολλές περιοχές. Οι κυριότερες από αυτές που δίνουν τη μεγαλύτερη παραγωγή και τους οίνους ΠΟΠ είναι η Νάουσα και το Αμύνταιο και αναπτύσσονται στη συνέχεια.

5.4.1 Νάουσα

Ο αμπελώνας στη περιοχή της Νάουσας βρίσκεται στους πρόποδες του όρους Βερμίου και απέχει περίπου 90χλμ δυτικά της Θεσσαλονίκης. Η έκτασή του φτάνει τα 7.000 στρέμματα και εκτείνεται σε υψόμετρο από 100 έως 400 μέτρων. Οι αμπελώνες είναι ηλιόλουστοι και προφυλαγμένοι από τους βοριάδες. Το έδαφος αργιλοπηλώδες, ασβεστούχο είναι ιδανικό για την ανάδειξη των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών της ποικιλίας στους παραγόμενους οίνους. Ανάλογα με τις διάφορες τοποθεσίες που καλλιεργείτε το Ξινόμαυρο και τον τρόπο οινοποίησης μπορεί να δώσει κρασιά πιο φρουτώδη, λιγότερο ταννικά και με μεγάλες οξύτητες που μπορούν να καταναλωθούν πιο γρήγορα, ενώ σε άλλες δίνει οίνους με πιο πλούσιο και γεμάτο σώμα και υψηλή ικανότητα παλαίωσης. Οι τοποθεσίες που καλλιεργείτε το Ξινόμαυρο είναι στις κοινότητες Φυτειάς, Τριλόφου, Στενήμαχου, Κοπανού, Λευκαδίων, λόφος Γάστρας, περιοχή Μαρίνας, Στράντζας, Ράμνιστας, Γιαννακοχωρίου, Πολλών Νερών και στην πόλη της Νάουσας. Στην κατηγορία Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) από το 1971 ανήκουν οι ερυθροί ξηροί οίνοι που έχουν παραχθεί σε καθορισμένη γεωγραφικά περιοχή, αποκλειστικά από την ποικιλία Ξινόμαυρο ενώ απαιτείτε παλαίωση σε δρύινα βαρέλια για ένα χρόνο.

5.4.2 Αμύνταιο

Ο αμπελώνας του Αμυνταίου, στο νομό Φλώρινας και μεταξύ των λιμνών Βεγορίτιδα και Πετρών, αποτελεί την πιο ηπειρωτική αμπελουργική ζώνη στην Ελλάδα. Εκτείνεται σε υψόμετρο 570 έως 750 μέτρων και χαρακτηρίζεται κυρίως από βορινή έκθεση. Το ξινόμαυρο καλύπτει έκταση 6.000 στρεμμάτων και αναπτύσσεται κάτω από δύσκολες κλιματολογικές συνθήκες. Το μικροκλίμα της περιοχής είναι ιδιαίτερο αφού αποτελείται από πολλούς υδάτινους όγκους, λοφώδεις εκτάσεις εκτεθειμένες σε ανέμους και αμμώδες έδαφος. Τα κλίματα το μεγαλύτερο μέρος του χειμώνα είναι σκεπασμένα από χιόνι και οι μεγάλη διαφορά θερμοκρασίας ημέρας με νύχτας είναι συχνή. Όλα αυτές οι συνθήκες επιδρούν με

τέτοιο τρόπο στα αμπέλια ώστε να παραχθούν προϊόντα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και κρασιά με έντονη προσωπικότητα. Η λόγω του υψομέτρου τονισμένη οξύτητα του ξινόμαυρου ευνοεί την παραγωγή ροζέ οίνων, οι οποίοι και κυριαρχούν. Οι αμπελώνες του Ξινόμαυρου βρίσκονται κυρίως στο δήμο Αμυνταίου, στους δήμους Αετού και Φιλώτα και στην κοινότητα Βαρικού. Ο ερυθρός οίνος και ο αφρώδης οίνος Αμυνταίου εντάχθηκαν στους οίνους ΠΟΠ το 1972, ενώ από το 1995 χαρακτηρίζεται ως ΠΟΠ και ο ροζέ που αποτελεί τον μοναδικό ελληνικό ροζέ που υπάγεται στην κατηγορία αυτή. Απαραίτητη προϋπόθεση τα σταφύλια να προέρχονται από την οριοθετημένη περιοχή του Αμυνταίου, να είναι της ποικιλίας Ξινόμαυρο και για τα ερυθρά επιπλέον να παλαιώνουν για 1 χρόνο σε δρύινα βαρέλια.

6. Πειραματικές συνθήκες και μέθοδοι αναλύσεων

6.1 Πειραματικές συνθήκες

Η παρούσα διπλωματική μελέτη διεξήχθη με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης της άρδευσης στη συγκέντρωση των μονομερών ανθοκυανών στους φλοιούς των ραγών της ποικιλίας Ξινόμαυρο για το έτος 2015. Επίσης προσδιορίστηκε ο μέσος βαθμός πολυμερισμού των προανθοκυανιδίων mDP, καθώς και η σύσταση αυτών όσον αφορά το ποσοστό εστεροποίησης με γαλλικό οξύ %G.

Τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκε το πείραμα συλλέχθηκαν από τον πειραματικό αμπελώνα της Αμερικάνικης Γεωργικής Σχολής που βρίσκεται στην περιοχή της Θεσσαλονίκης. Τα πρέμνα είναι διαμορφωμένα με γραμμικό σύστημα υποσύλωσης (αμφίπλευρο Royat). Οι αποστάσεις φύτευσης των πρέμνων είναι 1.2m x 2.5m και είναι εμβολιασμένα στο υποκείμενο 1103 Paulsen.

Κατά τη διάρκεια του πειράματος εφαρμόστηκαν 5 επεμβάσεις με διαφορετικές συνθήκες άρδευσης. Η πλήρης άρδευση (FI = Fully irrigated) από την καρπόδεση μέχρι την ωρίμανση, άρδευση από την καρπόδεση και μέχρι πριν τον περκασμό (SV = Post set irrigation - veraison cutoff) μετά ελλειμματική, άρδευση από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση (VH = Post veraison irrigation) ελλειμματική πριν τον περκασμό, άρδευση κατά την ωρίμανση (LH = Late ripening irrigation) ελλειμματική μέχρι τα μισά της ωρίμανσης και τέλος συνεχής ελλειμματική άρδευση (NI = Non irrigated). Για κάθε επέμβαση άρδευσης έγιναν 4 δειγματοληψίες με 3 επαναλήψεις κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Όταν ολοκληρώθηκε ο περκασμός πραγματοποιήθηκαν 4 δειγματοληψίες κατά τις ημέρες του έτους (Day Of the Year - DOY) 212, 224, 246 και 244.

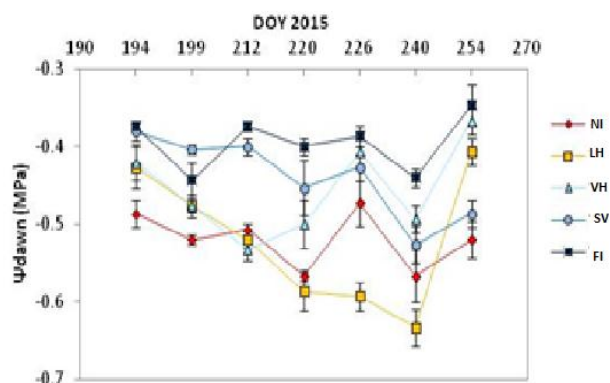
Πίνακας 6.1 Χρονικές στιγμές δειγματοληψίας

Date	DOY (Day of the year)
01.08.2015	212
13.08.2015	224
04.09.2015	246
18.09.2015	260

Υδατική κατάσταση των πρέμνων

Η παρακολούθηση της υδατικής κατάστασης των πρέμνων έγινε με εβδομαδιαίες μετρήσεις του υδατικού δυναμικού (Ψ_{dawn}) πριν την αυγή χρησιμοποιώντας ένα θάλαμο πίεσης, όπως περιγράφεται από τους Koundouras et al. (2006). Για τη

μέτρηση αυτή ελήφθησαν δείγματα τεσσάρων ώριμων φύλλων κατά μέσο όρο ανά οικόπεδο. Η μέση τιμή του Ψ_{dawn} κατά την διάρκεια της πειραματική περιόδου για τις πέντε επεμβάσεις παρουσιάζεται στο σχήμα 6.1.



Σχήμα 6.1 Μέτρηση πρωινού υδατικού δυναμικού (Ψ_{dawn}) των πρέμων της ποικιλίας Εινόμαυρο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικές συνθήκες άρδευσης (NI, LH, VH, SV, FI). Οι μπάρες δείχνουν το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών

Χαρακτηρισμός της σύστασης της ράγας

Για τον χαρακτηρισμό της ράγας συλλέχθηκαν 100 ράγες οι οποίες ζυγίστηκαν και συμπιέστηκαν. Στο γλεύκος που προέκυψε μετά από μια ήπια (1500 rpm) φυγοκέντρηση, μετρήθηκαν τα διαλυτά στερεά με διαθλασιμετρία (TSS - ° Brix) και η ολική οξύτητα (TA) (επίσημη μέθοδος της ΕΕ). Προσδιορίστηκαν επίσης το μέσο βάρος της ράγας (g), η αναλογία φλοιού/ράγα και γιγάρτων/ράγα.

6.2 Αναλυτικές τεχνικές και εργαστηριακός εξοπλισμός

6.2.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

Για τον προσδιορισμό των ανθοκυανών για την παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα HPLC Jasco (Tokyo, Japan), αποτελούμενο από μια αντλία PU-2089 plus, μια βαλβίδα έγχυσης Rheodyne model 7725i με ενσωματωμένο loop 20 μ L και ένα ανιχνευτή diode array (DAD; Jasco MD-910). Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν Pinnacle II C18 (5 μ m, 4.6x250mm) από την εταιρία Restek.

6.2.2 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Όλες οι μέθοδοι πραγματοποιήθηκαν με δύο επαναλήψεις. Στα αποτελέσματα που προέκυψαν, ακολούθησε στατιστική ανάλυση, με το πακέτο Statsoft Statistica 7. Ως η πιο αρμόζουσα ανάλυση επιλέχθηκε η Ανάλυση Διασποράς με έναν Παράγοντα (One Way ANOVA), με έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων κατά Tukey HSD test (Honesty Significant Difference)

6.3 Μέθοδοι ανάλυσης

Για την πραγματοποίηση των αναλύσεων πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία 50 ραγών ανά επέμβαση και διατηρήθηκαν στην κατάψυξη μέχρι την επεξεργασία τους. Αρχικά έγινε διαχωρισμός των γιγάρτων και των φλοιών από τις ράγες, παρέμειναν στην κατάψυξη και μετά από λυοφιλίωση για 24 ώρες μετατράπηκαν σε σκόνη με τη βοήθεια μύλου. Τα δείγματα που παραλήφθηκαν χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των μονομερών ανθοκυανών και των χαρακτηριστικών της δομής των προανθοκυανιδών με τις μεθόδους που αναπτύσσονται στη συνέχεια.

6.3.1 Προσδιορισμός των μονομερών ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

Η εκχύλιση πραγματοποιείται στη σκόνη φλοιών με διαλύτη οξινισμένη μεθανόλη 0,1% HCl και τρεις διαδοχικές εκχυλίσεις ανά δείγμα.

Σκόνη φλοιών 0,5g ή 0,25g μεταφέρεται σε σωλήνα φυγοκέντρου με καπάκι και προστίθενται 20mL ή 10mL αντίστοιχα οξινισμένης μεθανόλης 0,1% (v/v) 0,1% HCl. Ο σωλήνας, αφού καλυφτεί με αλουμινόχαρτο για να προστατεύεται από το φως, μεταφέρεται σε ανακινούμενο επωαστικό θάλαμο, στους 20°C, όπου παραμένει για εκχύλιση 4 ώρες με ταχύτητα ανακίνησης 60rpm. Στη συνέχεια φυγοκεντρείται για 15 λεπτά, στις 9000rpm, στους 20°C. Το υπερκείμενο συλλέγεται σε περιέκτη (A).

Στο ίζημα προστίθενται 10mL ή 5mL ανάλογα με την αρχική ποσότητα που χρησιμοποιήθηκε του ίδιου διαλύτη και ακολουθεί δεύτερη εκχύλιση για 18 ώρες στις παραπάνω συνθήκες. Μετά από φυγοκέντρωση. Το υπερκείμενο συλλέγεται (A+B) και στο ίζημα που προκύπτει προστίθενται πάλι 10mL ή 5ml του ίδιου διαλύτη και ακολουθεί τρίτη εκχύλιση στις ίδιες συνθήκες για 24 ώρες. Στη συνέχεια το μείγμα φυγοκεντρείται για 15 λεπτά στις 9000rpm στους 20°C. Όλα τα υπερκείμενα ενώνονται (A+B+C). Τα δείγματα περάστηκαν από φίλτρο σύριγγας με πορότητα 0.2 μm και τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια του αυτόματου δειγματολήπτη για HPLC.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ανθοκυανών βασίστηκε σε προηγούμενες μελέτες (Kallithraka et al., 2005).

Πίνακας 6.2 Μέθοδος προσδιορισμού των μονομερών ανθοκυανών με HPLC

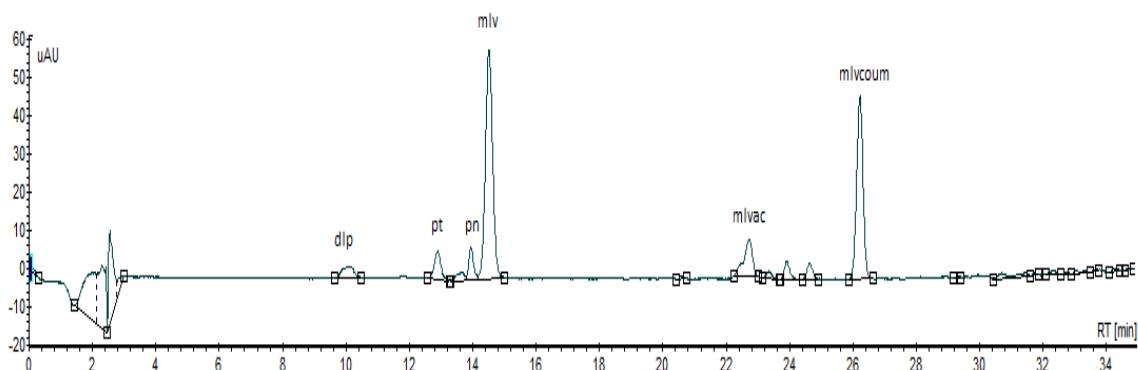
Καμπύλη αναφοράς	$y=0,3796x \text{ mg μαλβιδίνη } L^{-1}$
	Όπου y =το εμβαδό κάθε κορυφής
Εκφραση αποτεσμάτων	mg Mln ανα g νωπού βάρους φλοιών
	mg Mln ανα g ράγας
	% συγκέντρωση της κάθε ένωσης στο συνολικό άθροισμα ανθοκυανών

Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε σε θερμοκρασία δωματίου (20 °C). Η ανάλυση προγραμματίστηκε με ρυθμό ροής 1 ml min⁻¹, με όγκο δείγματος 10μL και ανίχνευση στα 520 nm. Για την δημιουργία της πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα μαλβιδίνης με συγκεντρώσεις 40 mg L⁻¹, 20 mg L⁻¹, 15 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹, 5 mg L⁻¹ και 2,5 mg L⁻¹

Πίνακας 6.3 Πρόγραμμα έκλυσης διαλυτών για τον διαχωρισμό των μονομερών ανθοκυανών

Χρόνος (min)	Διαλύτης Α (10 % μυρμηγκικό οξύ σε dH ₂ O)	Διαλύτης Β Μεθανόλη
αρχικές συνθήκες	90	10
22	50	50
32	5	95
34	5	95
35	90	10

Ένα τυπικό χρωματογράφημα έκλυσης των ανθοκυανών παρουσιάζεται στη Εικόνα 6.1 .



Εικόνα 6.1 : Χρωματογράφημα που απεικονίζει τις ανθοκυάνες σε φλοιούς για τον κωδικό. TA3(3) 3-O-μονογλυκοζίδες της δελφινιδίνης (Dip), της πετουινιδίνης (Pt), της παιονιδίνης (Pn), της μαλβιδίνης (Mlv), ο οξικός εστέρας της μαλβιδίνης (MlvAc) και οι κουμαρικοί εστέρες της παιονιδίνης (PnCoum) και της μαλβιδίνης (MlvCoum)

Αντιστοιχίζοντας τις γνωστές συγκεντρώσεις της μαλβιδίνης με το εμβαδόν των κορυφών που προέκυψαν από τα χρωματογραφήματα δημιουργήθηκε η πρότυπη καμπύλη αναφοράς. Από την ευθεία που την περιγράφει υπολογίστηκε η συγκέντρωση των ανθοκυανών σε ισοδύναμα μαλβιδίνης (Kyraleou et al., 2015).

6.3.2 Προσδιορισμός της δομής των προανθοκυανιδίων σε φλοιούς και γιγάρτα

Απομόνωση φαινολικών συστατικών

Η εκχύλιση πραγματοποιείται σε σκόνη φλοιών ή γιγάρτων με διαλύτη 80% ακετόνη σε νερό και κατόπιν μια δεύτερη εκχύλιση σε 60% μεθανόλη σε νερό.

Σε σωλήνα φυγοκέντρου των 50mL προστίθενται 3g για σκόνης φλοιών ή γιγάρτων και 25mL υδατικός διαλύτης με 80% ακετόνη Αφού ομογενοποιηθεί, παραμένει για

3 ώρες σε ανακίνηση στις 240rpm στους 25°C. Στη συνέχεια γίνεται φυγοκέντρηση για 15 λεπτά στις 8000rpm στους 20°C και το εκχύλισμα (A) αποθηκεύεται στους -20°C.

Στο εναπομείναν στερεό υπόλειμμα προσθέτουμε 10mL υδατικό διάλυμα με 60% μεθανόλη και αφού ομογενοποιηθεί παραμένει για 2,5 ώρες σε ανακίνηση στις 240rpm στους 25°C. Γίνεται φυγοκέντρηση για 15 λεπτά στις 8000rpm στους 20°C και το εκχύλισμα (B) αποθηκεύεται στους -20°C. Στις περιπτώσεις που η ποσότητα δείγματος είναι μικρότερη χρησιμοποιήθηκαν και αντίστοιχα μικρότερες ποσότητες διαλύτη.

Τα δύο εκχυλίσματα (A+B) αναμιγνύονται και συμπυκνώνονται, υπό κενό με τη χρήση συσκευής περιστροφικού αποστακτήρα (rotary evaporator) για 15 λεπτά στους 45°C και 50rpm. Το συμπυκνωμένο διάλυμα που προκύπτει παραμένει στην κατάψυξη για μια μέρα και λυοφιλιώνεται μέχρι ξηρού για 48 ώρες.

Απομόνωση προανθοκυανιδινών

Σε περιέκτη των 50mL με καπάκι προστίθενται 100mg σκόνης γιγάρτων ή 500mg σκόνης φλοιών, μαζί με 2,5ml και 10ml υδατικού διαλύματος 5% αιθανόλη αντίστοιχα. Στη συνέχεια προστίθενται 2,5ml και 10ml χλωροφόρμιο στα διαλύματα γιγάρτων και φλοιών αντίστοιχα, για την αποβολή των λιπόφιλων ενώσεων (Chira *et al.*, 2011, Lorrain *et al.*, 2011) και αφού αναδευθεί για 1 λεπτό, φυγοκεντρείται, στις 4000rpm για 10 λεπτά στους 14°C. Μετά την φυγοκέντρηση δημιουργούνται δύο διακριτές φάσεις, όπου το υπερκείμενο διάλυμα παραμένει και η υποκείμενη φάση χλωροφορμίου απορρίπτεται στα απόβλητα. Επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία άλλες 2 φορές και συλλέγεται το υπερκείμενο που παραμένει από τις τρεις αυτές εκχυλίσεις στον ίδιο περιέκτη. Τέλος στα δείγματα εφαρμόζεται λυοφιλίωση για 48 ώρες.

Προσδιορισμός της δομής των προανθοκυανιδινών με HPLC

Για την ανάλυση των δειγμάτων με HPLC, η σκόνη που προκύπτει από την λυοφιλίωση επαναδιαλύεται με μεθανόλη σε συγκέντρωση 5g L⁻¹ για τα γίγαρτα και 20g L⁻¹ για τους φλοιούς. Σε 100μL του εκχυλίσματος των γιγάρτων ή των φλοιών προστίθενται 100μL διαλύματος φλωρογλουκινόλης (20 mL μεθανόλη, 1g φλωρογλουκινόλη, 0,2g ασκορβικό οξύ, 0,17mL HCl 37% - διατηρείται για δύο βδομάδες στην κατάψυξη) και παραμένουν για 30 λεπτά σε επωαστικό θάλαμο ή στους 50 °C. Με το πέρας των 30 λεπτών προστίθεται 1mL CH₃COONa 40mmol L⁻¹ (0,164g CH₃COONa σε 50 mL νερό), ώστε να σταματήσει η αντίδραση. Πριν την έγχυση στην HPLC, τα δείγματα διηθούνται με φίλτρο 0,2μm και στη συνέχεια αναλύονται ώστε να προσδιοριστούν οι επεκτατικές και τερματικές μονάδες των προανθοκυανιδινών. Στη συνέχεια βάση αυτού μπορεί να υπολογιστεί ο mDP και το %G.

Η απομόνωση των φαινολικών συστατικών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες προσαρμόζοντας τις αναλογίες (Chira *et al.*, 2011, Lorrain *et al.*, 2011).

Πίνακας 6.4 Στοιχεία της μεθόδου προσδιορισμού της δομής των προανθοκυανιδίων σε φλοιούς και γίγαρτα με HPLC

Καμπύλη αναφοράς	Ce_μmol	$y = 2354,3x$
	Ece_μmol	$y = 2386,1x$
	EGCe_μmol	$y = 905,08x$
	ECGe_μmol	$y = 8529,4x$
	Ct_μmol	$y = 2495,6x$
	ECt_μmol	$y = 2529,3x$
	EGCt_μmol	$y = 923,18x$
	ECGt_μmol	$y = 8529,4x$
		Όπου y το εμβαδό κάθε κορυφής που ποσοτικοποιείται
Εκφραση αποτεσμάτων		$mDP = \frac{\Sigma(\text{επεκτατικές} + \text{τερματικές υπομονάδες})}{\Sigma(\text{τερματικές υπομονάδες})}$, σε mol
		$\%G = 100 * \frac{(ECGe + ECGt)}{\Sigma(\text{επεκτατικές} + \text{τερματικές υπομονάδες})}$, σε mol
		$\%P = 100 * \frac{(EGCe + EGCt)}{\Sigma(\text{επεκτατικές} + \text{τερματικές υπομονάδες})}$

Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε σε θερμοκρασία δωματίου (20°C). Η ανάλυση προγραμματίστηκε με ρυθμό ροής 1 ml min⁻¹, με όγκο δείγματος 20μL και ανίχνευση στα 280 nm

Πίνακας 6.5 Προγραμμα εκλούσης διαλυτών για τον προσδιορισμό της δομής των προανθοκυανιδίων

Χρόνος (min)	Διαλύτης A (0,1% οξικό οξύ σε dH ₂ O)	Διαλύτης B Μεθανόλη
0	95	5
1	84	16
7	78	22
8	65	35
15	58	42
16	0	100
19	0	100
20	5	95

Για την δημιουργία της πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα κατεχίνης, επικατεχίνης, γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης και της επιγαλλοκατεχίνης με συγκεντρώσεις 20 mg L^{-1} , 10 mg L^{-1} , 5 mg L^{-1} , 2 mg L^{-1} και 1 mg L^{-1} . Ακολουθώντας με τους κατάλληλους υπολογισμούς προέκυψαν οι πρότυπες καμπύλες για τις αντίστοιχες επεκτατικές υπομονάδες. Οι υπολογισμοί αυτοί περιλαμβάνουν την διαίρεση του εμβαδού της κορυφής με τον κατάλληλο συντελεστή όπως αυτός προσδιορίστηκε από τους (Kennedy & Waterhouse, 2000). Οι συντελεστές αυτοί φαίνονται στον Πίνακα 6.6.

Πίνακας 6.6 Τιμές μοριακής απορρόφησης για την εξαγωγή πρότυπων καμπύλων για τις επεκτατικές υπομονάδες

Τερματική υπομονάδα	Τιμές μοριακής απορρόφησης
Κατεχίνη	1,06
Επικατεχίνη	1,06
Γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης	0,1
Επιγαλλοκατεχίνη	1,02

Αντιστοιχίζοντας τις συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων με το εμβαδόν των κορυφών που προέκυψαν από την HPLC κατασκευάστηκαν οι πρότυπες καμπύλες για τις τερματικές υπομονάδες ενώ για τις επεκτατικές υπομονάδες οι καμπύλες προέκυψαν χρησιμοποιώντας την αναλογία των συντελεστών της εξίσωσης με την αντίστοιχη τερματική υπομονάδα. Από την ευθεία που την περιγράφει υπολογίστηκε η συγκέντρωση για την κάθε επεκτατική και τερματική υπομονάδα ξεχωριστά στα δείγματα. (Lorrain, et al. 2011).

7. Αποτελέσματα και Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν δείγματα ραγών από πρέμνα στα οποία εφαρμόστηκαν διαφορετικές συνθήκες άρδευσης. Στα δείγματα που συλλέχθηκαν στη διάρκεια της ωρίμανση και στη συγκομιδή έγινε προσδιορισμός της ανθοκυανικής σύστασης των ραγών και της δομής των προανθοκυανιδίων σε σχέση με τις διάφορες επεμβάσεις άρδευσης, προκειμένου να χαρακτηριστούν ποιοτικά τα σταφύλια της ποικιλίας Ξινόμαυρο για το έτος 2015. Παρακάτω παρατίθενται σχήματα και πίνακες, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών, καθώς και τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις επεμβάσεις τα οποία δείχνουν ότι διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους.

7.1 Αναλύσεις σε ράγες

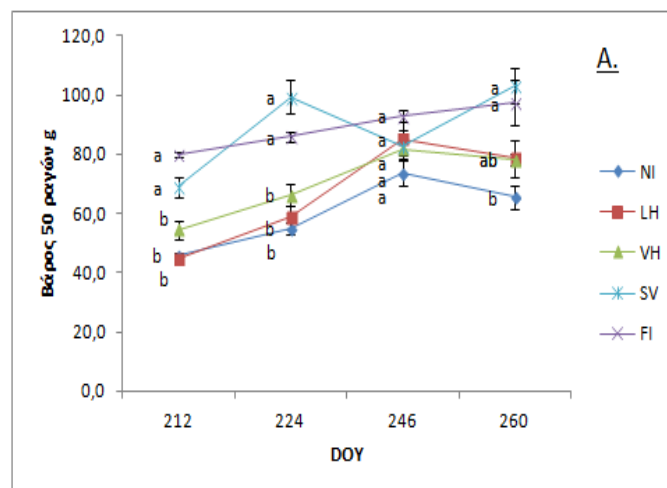
Κατά την ωρίμανση μετρήθηκαν τα ολικά διαλυτά στερεά (TSS - ° Brix), η ολική οξύτητα (TA) και το pH του γλεύκους για τις πέντε διαφορετικές επεμβάσεις της άρδευσης. Η τιμή της TA στα σταφύλια που δέχτηκαν πλήρη άρδευση ήταν χαμηλότερη από εκείνη των υπόλοιπων επεμβάσεων. Συγκεκριμένα η TA SV>NI>LH>VH>FI αλλά σημαντική στατιστική διαφορά παρουσίασαν οι ράγες που δέχτηκαν άρδευση από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό με τις ράγες που δέχτηκαν πλήρη άρδευση. Η τιμή του pH είναι μεγαλύτερη για τις ράγες που δέχτηκαν πλήρη άρδευση και μικρότερη για τις ράγες που δέχτηκαν ελλειμματική άρδευση. Μεταξύ των υπόλοιπων επεμβάσεων δεν παρατηρήθηκε σημαντική στατιστική διαφορά. Η τιμή των TSS είναι μεγαλύτερη για την επέμβαση VH ενώ οι υπόλοιπες δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους.

Πίνακας 7.1 Μέτρηση συνολικών διαλυτών στερέων (Brix), Ολικής οξύτητας(g τρυγικού οξέος L⁻¹) και pH που μετρήθηκαν στο γλεύκος

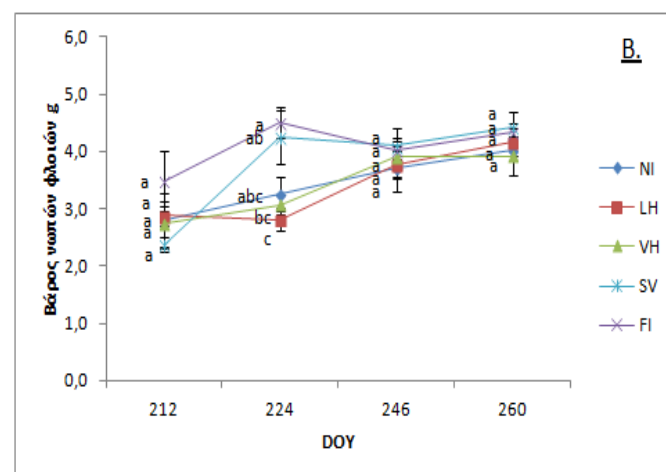
Επέμβαση άρδευσης	ΟΛΙΚΑ ΔΙΑΛΥΤΑ ΣΤΕΡΕΑ TSS (Brix)	ΟΛΙΚΗ ΟΞΥΤΗΤΑ TA (g τρυγικού οξέος L ⁻¹)	pH
NI	18,53b	7,65ab	3,23c
LH	19,8b	7,50ab	3,26bc
VH	21,33a	7,4ab	3,29bc
SV	19,47b	7,75a	3,33ab
FI	19,67b	7,00b	3,38a

Στην περίπτωση των FI και SV επεμβάσεων οι ράγες έχουν μεγαλύτερο βάρος σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις και διαφέρουν στατιστικά στην 212DOY, 224DOY και 260DOY ενώ την 246DOY δεν παρατηρείται σημαντική στατιστική

διαφορά (Σχήμα 7.1). Για τις επεμβάσεις NI, VH, LH τα βάρη των ραγών σημειώνουν μια αύξηση μέχρι την 246DOY και κατόπιν μια ελαφριά μείωση. Όσον αφορά τα βάρη των φλοιών δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους για κάθε επέμβαση παρά μόνο την 224DOY όπου για την FI τα βάρη των φλοιών παρουσιάζουν μεγαλύτερη τιμή και διαφέρουν στατιστικά από τις επεμβάσεις LH και VH (Σχήμα 7.2). Αμέσως μετά τον περκασμό (212DOY) τα βάρη των ραγών είναι μεγαλύτερα στις επεμβάσεις FI και SV ραγών γεγονός που πιθανόν να οφείλεται στην άρδευση που εφαρμόστηκε πριν από τον περκασμό στις συγκεκριμένες επεμβάσεις. Η αύξηση αυτή οφείλεται σε διόγκωση της σάρκας καθώς δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο νωπό βάρος των φλοιών και των γιγάρτων. Στο στάδιο της ωρίμανσης (260DOY) τα βάρη των ραγών για την επέμβαση της πλήρη άρδευσης FI και αυτής από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό SV είναι μεγαλύτερα από τα βάρη των υπόλοιπων επεμβάσεων ενώ τα βάρη των φλοιών δεν διαφέρουν στατιστικά (Πίνακας 7.2).



Σχήμα 7.1 Βάρος 50 ραγών g



Σχήμα 7.2 Βάρος 50 νωπών φλοιών g

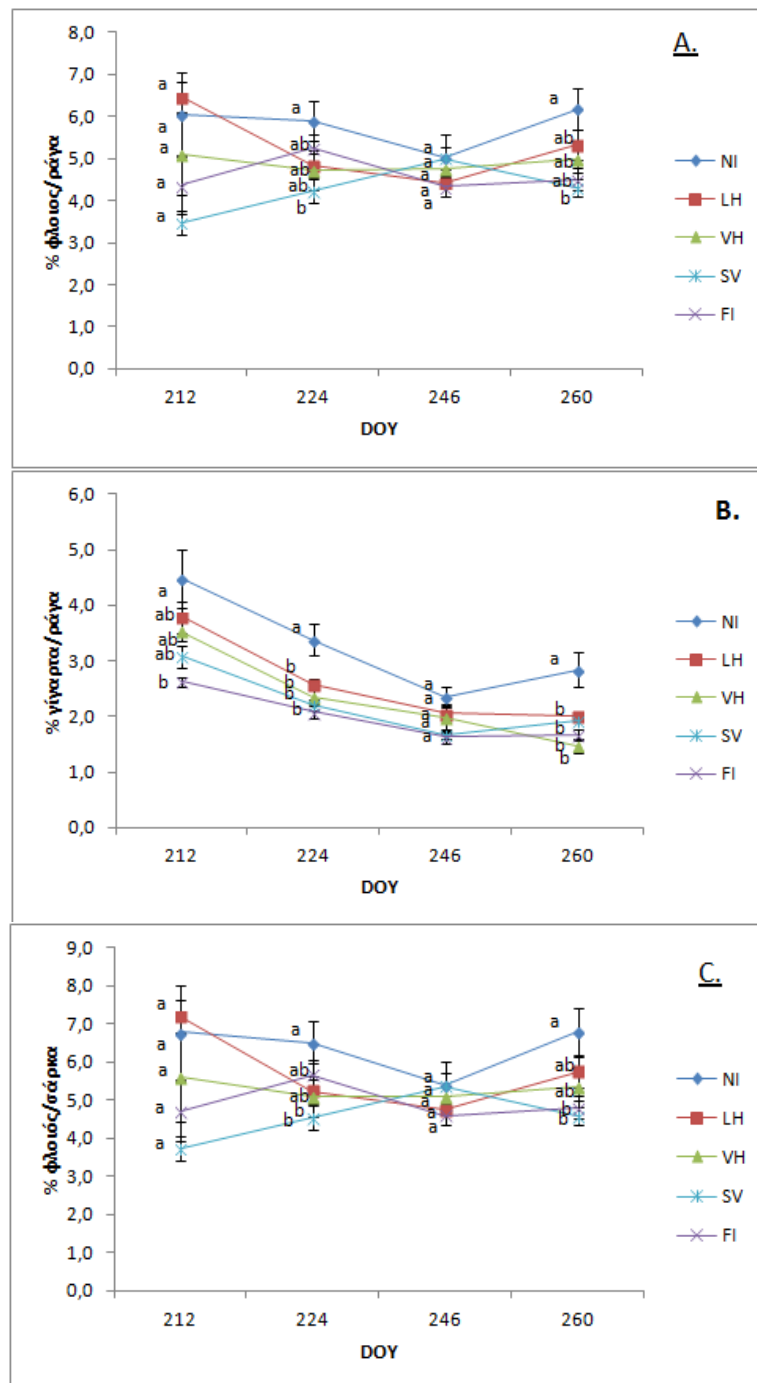
Το βάρος της ράγας για την κάθε επέμβαση άρδευσης παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 7.2 Μετρήσεις του βάρους της ράγας

	NI		LH		VH		SV		FI	
212 DOY	0,92 ±	0,01 b	0,89 ±	0,02 b	1,09 ±	0,06 b	1,38 ±	0,06 a	1,60 ±	0,02 a
224 DOY	1,10 ±	0,03 b	1,17 ±	0,08 b	1,33 ±	0,07 b	1,99 ±	0,11 a	1,72 ±	0,03 a
246 DOY	1,47 ±	0,08 a	1,70 ±	0,11 a	1,64 ±	0,07 a	1,66 ±	0,10 a	1,86 ±	0,04 a
260 DOY	1,31 ±	0,08 b	1,57 ±	0,13 ab	1,56 ±	0,04 ab	2,06 ±	0,12 a	1,94 ±	0,15 a

Από τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι για την επέμβαση της πλήρους άρδευσης FI αλλά και από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό SV, τα πρέμνα δίνουν σταφυλές με μεγαλύτερες τιμές βάρους ραγών με διαφοροποιήσεις στατιστικά σημαντικές. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξε και η έρευνα των Koundouras et al. (2009) στην ποικιλία Cabernet sauvignon, στην οποία διαπιστώθηκε ότι η άρδευση επηρεάζει ισχυρά το μέγεθος των ραγών, ωστόσο σε παλαιότερη έρευνα των Koundouras et al. (2006), οδηγήθηκε στο συμπέρασμα, ότι το μέγεθος των ραγών δεν επηρεάζεται τόσο από την εφαρμοζόμενη άρδευση, όσο από το χρόνο εφαρμογής της.

Οι μεταβολές του επί τοις εκατό (%) ποσοστού φλοιού προς ράγα παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μόνο στην 2^η (224DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία, με τις NI ράγες να υπερτερούν σε σύγκριση με τις SV. Από τις διαφορές αυτές, προκύπτει ότι η συνεχόμενη ελλειμματική άρδευση NI, δίνει μεγαλύτερα ποσοστά φλοιού επί της ράγας κατά την πλήρη ωρίμανση των σταφυλιών σε σχέση με την άρδευση από την καρπόδεση στο περκασμό SV (Σχήμα 7.3A). Αυτή η παρατήρηση, είναι σημαντική αν λάβουμε υπόψη τη σημασία των φλοιών για τις μεθόδους της ερυθρής οινοποίησης καθώς και της προζυμωτικής κρουοεκχύλισης για λευκές όσο και για ερυθρές ποικιλίες. Σε παλαιότερες μελέτες (Roby et al., 2004) έχει αναφερθεί η θετική επίδραση της μείωσης του μεγέθους της ράγας, καθώς προκαλείται αύξηση της αναλογίας φλοιού/σάρκα στις ράγες. Η αυξημένη αναλογία φλοιού/σάρκας θεωρείται ότι επιδρά θετικά στην ποιότητα του ερυθρού οίνου καθώς επηρεάζει την εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων και των ανθοκυανών κατά την οινοποίηση (Bucchetti et al., 2011). Το ποσοστό των γιγάρτων είναι μεγαλύτερο στα πρέμνα που δέχτηκαν ελλειμματική άρδευση NI σε σύγκριση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Οι διαφορές της επέμβασης NI είναι στατιστικά σημαντικές κατά την 2^η (224DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία (Σχήμα 7.2B). Από τα παραπάνω προκύπτει ότι στην ωρίμανση η ελλειμματική άρδευση δίνει ξεκάθαρα μεγαλύτερο ποσοστό γιγάρτων ανά ράγα. Η παρατήρηση αυτή είναι χρήσιμη για το ποσοστό συμμετοχής των γιγάρτων κατά την ερυθρή οινοποίηση. Τέλος, όπως φαίνεται στο Σχήμα 7.2C οι επί τοις εκατό (%) μεταβολές του λόγου φλοιός προς σάρκα είναι παρόμοια με τις μεταβολές του λόγου φλοιός προς ράγα (Σχήμα 7.2A) Οι Acevedo-Orazo et al. (2010) οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι το έντονη υδατική έλλειψη οδηγεί σε μικρότερη διάμετρο ράγας και σε υψηλό λόγο φλοιού προς σάρκα.



Σχήμα 7.3 Επι τοις εκατό αναλογία φλοιού ράγας, γίγαρτα ράγας και φλοιού σάρκας

7.2 Ανθοκυανική σύσταση των ραγών

Για την ανθοκυανική σύσταση των ραγών προσδιορίστηκαν οι μονομερείς ανθοκυάνες των φλοιών μετά από διαδοχικές εκχυλίσεις απομόνωσης και ανιχνεύτηκαν με τη βοήθεια της HPLC. Τα αποτελέσματα οδήγησαν στον ποσοτικό προσδιορισμό των μονομερών ανθοκυανών, αλλά και στη σύνθεση του ανθοκυανικού προφίλ της ποικιλίας Ξινόμαυρο (Πίνακας 7.3). Επιπλέον,

προσδιορίστηκαν οι ολικές ανθοκυάνες των ραγών για τις πέντε επεμβάσεις άρδευσης.

7.2.1 Προφίλ των ανθοκυανών στους φλοιούς

Ο Πίνακας 7.3 δείχνει το προφίλ των ανθοκυανών στα εκχυλίσματα των φλοιών των ραγών της ποικιλίας Ξινόμαυρο, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης το 2015.

Η έκφραση των αποτελεσμάτων έγινε με το % της συγκέντρωσης των ολικών ανθοκυανών που προσδιορίστηκαν. Μεταξύ των επιμέρους ανθοκυανών, η Mln και ο κουμαρικός εστέρας της Mln (Mlncoum) είναι οι κυρίαρχες ανθοκυάνες σε όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν. Το ποσοστό της συγκέντρωσης για κάθε ανθοκυάνη στις πρώτες επεμβάσεις NI και LH είναι μεγαλύτερο και ακολουθεί καθοδική πορεία στις επεμβάσεις VH, SV και FI. Επίσης το ποσοστό των εστέρων της Mln είναι χαμηλότερο στις δυο πρώτες δειγματοληψίες και ακολουθεί αύξουσα πορεία στις δύο τελευταίες δειγματοληψίες. Το ποσοστό της cyan ακολουθεί καθοδική πορεία κατά την ωρίμανση, βλέποντας στην τελευταία δειγματοληψία μηδενικές τιμές.

Πίνακας 7.3 Προφίλ των ανθοκυανών (% συγκέντρωση κάθε ανθοκυάνης στις ολικές μονομερείς ανθοκυάνες) που προσδιορίστηκε στα εκχυλίσματα φλοιών της ποικιλίας Ξινόμαυρο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης όπου εφαρμόστηκε πλήρη άρδευση σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης της ράγας (NI, LH, VH, SV, FI) για το έτος 2015

DOY		% Dlp	% Cyan	% Pt	% Pn	% Mln	% Mlnvac	% Mlncoum
212	NI	1,52 ± 0,04 a	0,70 ± 0,50 ab	2,41 ± 0,00 a	16,52 ± 4,61 a	23,20 ± 1,65 a	4,92 ± 1,13 a	15,30 ± 4,37 a
	LH	1,72 ± 0,22 a	1,54 ± 0,05 a	2,63 ± 0,05 a	12,86 ± 2,78 a	22,50 ± 1,25 a	5,54 ± 0,15 a	21,06 ± 0,67 a
	VH	1,30 ± 0,39 a	0,32 ± 0,14 b	2,10 ± 0,33 a	13,59 ± 4,15 a	19,20 ± 3,84 a	3,95 ± 0,89 a	17,79 ± 1,29 a
	SV	0,77 ± 0,10 a	0,22 ± 0,12 b	2,37 ± 0,74 a	8,99 ± 0,88 a	18,38 ± 1,79 a	2,49 ± 0,63 a	14,21 ± 0,79 a
	FI	1,25 ± 0,17 a	0,35 ± 0,21 ab	1,78 ± 0,35 a	13,50 ± 1,25 a	19,00 ± 1,40 a	3,22 ± 0,03 a	18,84 ± 0,51 a
224	NI	1,34 ± 0,14 bc	0,03 ± 0,03 a	2,24 ± 0,20 b	1,48 ± 0,14 a	22,13 ± 1,68 a	4,37 ± 0,22 b	13,40 ± 0,76 a
	LH	1,90 ± 0,13 ab	0,11 ± 0,06 a	2,62 ± 0,16 ab	1,39 ± 0,07 a	23,91 ± 1,08 a	5,41 ± 0,18 a	14,68 ± 0,63 a
	VH	2,06 ± 0,29 a	0,22 ± 0,17 a	3,01 ± 0,21 a	1,72 ± 0,16 a	24,26 ± 1,76 a	4,70 ± 0,23 ab	13,00 ± 0,43 a
	SV	0,64 ± 0,09 c	0,16 ± 0,05 a	1,24 ± 0,10 c	1,48 ± 0,10 a	13,44 ± 1,22 b	3,04 ± 0,25 c	7,90 ± 0,65 b
	FI	0,75 ± 0,07 c	0,16 ± 0,05 a	1,42 ± 0,14 c	1,63 ± 0,13 a	13,76 ± 0,66 b	2,85 ± 0,25 c	7,80 ± 0,31 b
246	NI	2,47 ± 0,30 a	0,11 ± 0,11 a	3,59 ± 0,53 c	2,40 ± 0,41 a	34,43 ± 4,77 a	7,76 ± 1,08 a	24,51 ± 2,75 a
	LH	2,84 ± 0,24 a	0,00 ± 0,00 a	3,78 ± 0,49 a	4,11 ± 1,83 a	35,74 ± 5,65 a	7,33 ± 0,44 ab	21,15 ± 0,74 ab
	VH	0,66 ± 0,06 b	0,21 ± 0,03 a	1,83 ± 0,21 bc	2,45 ± 0,07 a	16,49 ± 1,74 b	3,72 ± 0,11 c	10,46 ± 0,66 c
	SV	1,32 ± 0,16 b	0,04 ± 0,04 a	2,03 ± 0,14 bc	2,79 ± 0,26 a	24,67 ± 2,05 ab	4,63 ± 0,31 bc	13,00 ± 1,67 bc
	FI	1,16 ± 0,13 b	0,23 ± 0,23 a	1,42 ± 0,17 ab	2,69 ± 0,24 a	19,51 ± 1,56 ab	4,36 ± 0,23 bc	11,13 ± 0,72 c
260	NI	1,50 ± 0,20 ab	0,00 ± 0,00 a	2,77 ± 0,32 ab	1,75 ± 0,03 b	28,85 ± 1,65 a	7,36 ± 0,31 a	22,26 ± 0,26 a
	LH	2,28 ± 0,03 a	0,00 ± 0,00 a	3,04 ± 0,25 a	2,83 ± 0,12 ab	29,97 ± 2,12 a	6,52 ± 0,35 a	18,00 ± 0,63 ab
	VH	1,07 ± 0,17 b	0,11 ± 0,11 a	1,98 ± 0,27 ab	2,94 ± 0,36 a	21,83 ± 3,32 a	4,86 ± 0,89 a	12,56 ± 2,36 b
	SV	1,10 ± 0,14 b	0,00 ± 0,00 a	2,02 ± 0,15 ab	3,16 ± 0,21 a	26,50 ± 1,55 a	5,32 ± 0,16 a	15,50 ± 0,44 ab
	FI	1,10 ± 0,11 b	0,21 ± 0,21 a	1,84 ± 0,17 b	3,73 ± 0,05 a	25,03 ± 0,63 a	5,02 ± 0,09 a	13,15 ± 0,62 b

Στην ωρίμανση η συμμετοχή των ανθοκυανών ακολουθεί την εξής σειρά Mln> Pn> Pt> Dlp> Cyan. Στο τέλος της περιόδου ωρίμανσης, παρατηρήθηκε μείωση της Pn και της Cyan, η οποία αναφέρεται από άλλους ερευνητές ότι μειώνεται κατά την

περίοδο ωρίμανσης (Kallithraka et al., 2005). Επίσης οι εστέρες MInac και MIncoum όπως αναφέρθηκε αυξάνονται με τον mIncoum να είναι η δεύτερη κυρίαρχη ανθοκυάνη και ο mInac τρίτη.

Κατα την ωρίμανση για την MIn που είναι η κυρίαρχη ανθοκυάνη και μας ενδιαφέρει παρατηρούμε ότι μεταξύ επεμβάσεων δεν υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές ενώ για τον MIncoum που είναι η δεύτερη κυρίαρχη ανθοκυάνη παρατηρούμε ότι για την NI επέμβαση το ποσοστό είναι μεγαλύτερο σε σύγκριση με τις VH και FI επεμβάσεις.

Το προφίλ των ανθοκυανών σύμφωνα με ορισμένες μελέτες μπορεί να διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία (Kallithraka et al., 2005; Zhao et al., 2010) και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως κριτήριο για την ταξινόμηση και τον διαχωρισμό των ποικιλιών της αμπέλου (He et al., 2012). Ωστόσο, άλλοι ερευνητές (Mulinacci et al., 2008) θεωρούν ότι η σχέση των ολικών ανθοκυανών με το σύνολο των οξικών και κουμαρικών εστέρων των ανθοκυανών θα μπορούσε να είναι καταλληλότερο εργαλείο για τον διαχωρισμό αυτό.

7.2.2 Περιεκτικότητα των γλυκοζιλιωμένων ανθοκυανών και των κουμαρικών και οξικών εστέρων τους

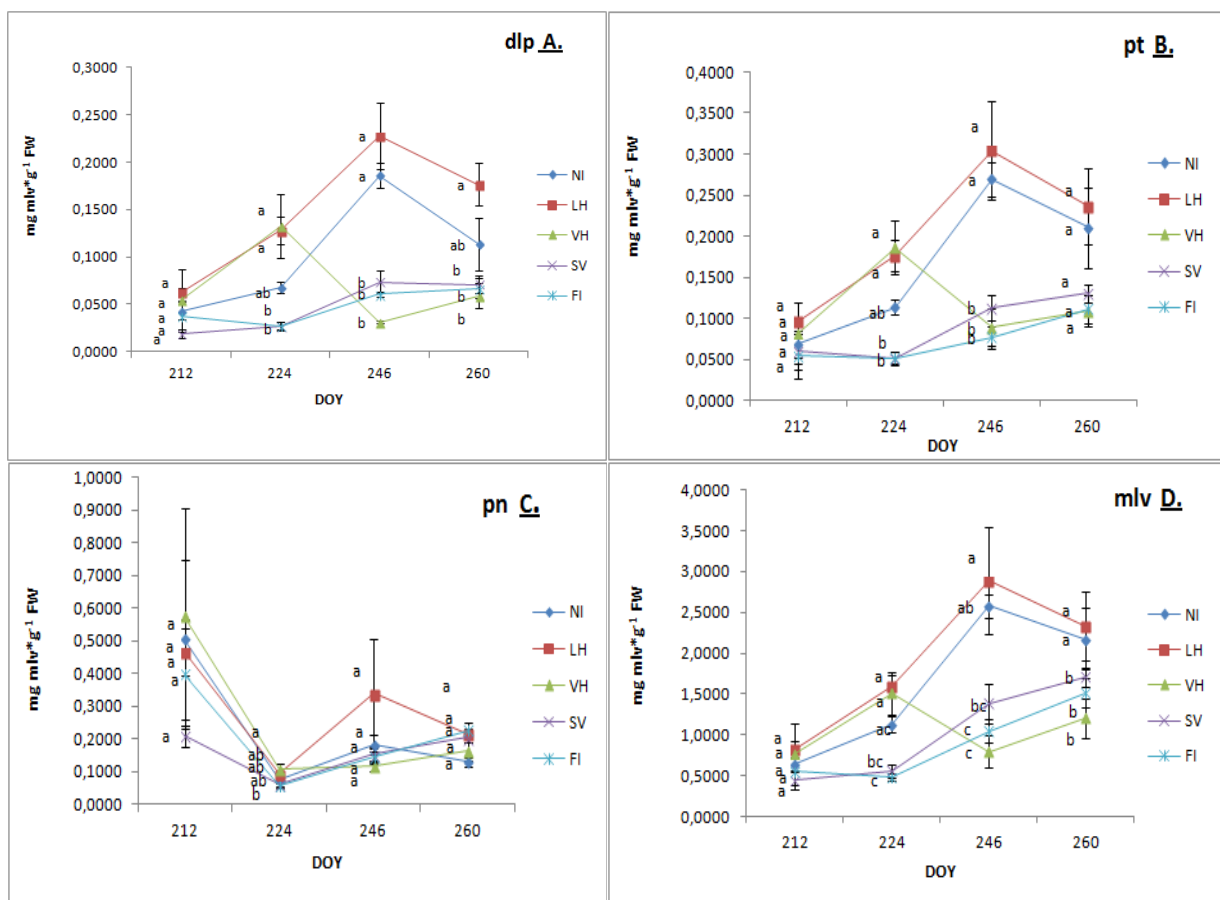
Οι Πίνακες 7.4 και 7.5 δείχνουν την συγκέντρωση των γλυκοζιλιωμένων ανθοκυανών καθώς και των οξικών και κουμαρικών εστέρων των ανθοκυανών των εκχυλισμάτων των φλοιών κατά την περίοδο της ωρίμανσης, και εκφράζονται ως mg g⁻¹ νωπού βάρους φλοιών και ως mg g⁻¹ ράγας.

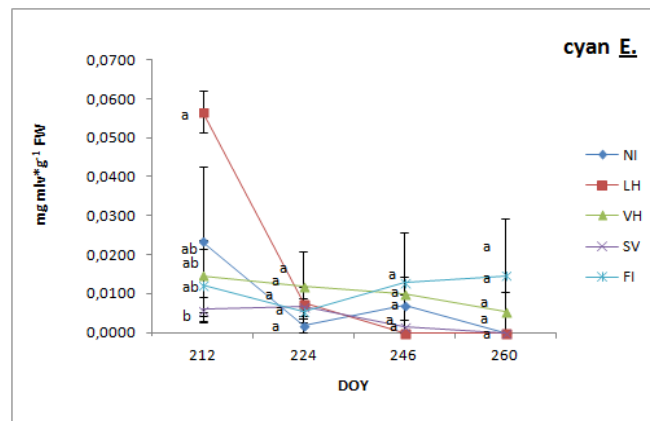
Πίνακας 7.4 Η συγκέντρωση των γλυκοζιλιωμένων ανθοκυανών καθώς και των οξικών και κουμαρικών εστέρων των ανθοκυανών των εκχυλισμάτων των φλοιών κατά την περίοδο της ωρίμανσης, εκφρασμένων ως mg g⁻¹ νωπού βάρους (ν.β.) για τις επεμβάσεις άρδευσης σε διάφορα στάδια ανάπτυξης της ράγας.

Συγκέντρωση ανθοκυανών (mg mlv g ⁻¹ νωπού βάρους ράγας)											
		NI		LH		VH		SV		FI	
Dlp	212 DOY	0,04 ±	0,01 a	0,06 ±	0,00 a	0,06 ±	0,03 a	0,02 ±	0,00 a	0,04 ±	0,02 a
	224 DOY	0,07 ±	0,01 ab	0,13 ±	0,01 a	0,13 ±	0,03 a	0,03 ±	0,00 b	0,03 ±	0,00 b
	246 DOY	0,19 ±	0,01 a	0,23 ±	0,04 a	0,03 ±	0,00 b	0,07 ±	0,01 b	0,06 ±	0,00 b
	260 DOY	0,11 ±	0,03 ab	0,18 ±	0,02 a	0,06 ±	0,01 b	0,07 ±	0,01 b	0,07 ±	0,01 b
Cyan		NI		LH		VH		SV		FI	
	212 DOY	0,02 ±	0,02 ab	0,06 ±	0,01 a	0,01 ±	0,01 ab	0,01 ±	0,00 b	0,01 ±	0,01 ab
	224 DOY	0,00 ±	0,00 a	0,01 ±	0,00 a	0,01 ±	0,01 a	0,01 ±	0,00 a	0,01 ±	0,00 a
	246 DOY	0,01 ±	0,01 a	0,00 ±	0,00 a	0,01 ±	0,00 a	0,00 ±	0,00 a	0,01 ±	0,01 a
260 DOY	0,00 ±	0,00 a	0,00 ±	0,00 a	0,01 ±	0,01 a	0,00 ±	0,00 a	0,01 ±	0,01 a	
Pt		NI		LH		VH		SV		FI	
	212 DOY	0,07 ±	0,02 a	0,10 ±	0,00 a	0,08 ±	0,04 a	0,06 ±	0,02 a	0,05 ±	0,03 a
	224 DOY	0,11 ±	0,01 ab	0,18 ±	0,02 a	0,19 ±	0,03 a	0,05 ±	0,01 b	0,05 ±	0,01 b
	246 DOY	0,27 ±	0,02 a	0,30 ±	0,06 a	0,09 ±	0,02 b	0,11 ±	0,02 b	0,08 ±	0,01 b
260 DOY	0,21 ±	0,05 a	0,24 ±	0,05 a	0,11 ±	0,02 a	0,13 ±	0,01 a	0,11 ±	0,02 a	
Pn		NI		LH		VH		SV		FI	
	212 DOY	0,50 ±	0,24 a	0,47 ±	0,07 a	0,58 ±	0,33 a	0,21 ±	0,03 a	0,40 ±	0,17 a
	224 DOY	0,08 ±	0,01 ab	0,09 ±	0,01 ab	0,11 ±	0,02 a	0,06 ±	0,01 ab	0,06 ±	0,00 b
	246 DOY	0,18 ±	0,03 a	0,34 ±	0,17 a	0,12 ±	0,01 a	0,15 ±	0,02 a	0,14 ±	0,02 a
260 DOY	0,13 ±	0,01 a	0,22 ±	0,02 a	0,16 ±	0,03 a	0,20 ±	0,02 a	0,23 ±	0,02 a	
Mlv		NI		LH		VH		SV		FI	
	212 DOY	0,65 ±	0,11 a	0,83 ±	0,10 a	0,77 ±	0,37 a	0,45 ±	0,11 a	0,56 ±	0,22 a
	224 DOY	1,13 ±	0,09 ac	1,60 ±	0,13 a	1,51 ±	0,27 a	0,56 ±	0,08 bc	0,49 ±	0,05 c
	246 DOY	2,58 ±	0,14 ab	2,88 ±	0,66 a	0,80 ±	0,20 c	1,39 ±	0,24 bc	1,05 ±	0,14 c
260 DOY	2,17 ±	0,38 a	2,33 ±	0,43 a	1,21 ±	0,24 b	1,71 ±	0,11 b	1,52 ±	0,18 b	
Mlvac		NI		LH		VH		SV		FI	
	212 DOY	0,13 ±	0,00 a	0,20 ±	0,01 a	0,16 ±	0,08 a	0,06 ±	0,02 a	0,09 ±	0,03 a
	224 DOY	0,22 ±	0,01 bc	0,36 ±	0,03 a	0,29 ±	0,04 ab	0,13 ±	0,01 cd	0,10 ±	0,01 c
	246 DOY	0,58 ±	0,05 a	0,59 ±	0,08 a	0,18 ±	0,03 b	0,26 ±	0,04 b	0,23 ±	0,03 b
260 DOY	0,55 ±	0,09 a	0,51 ±	0,08 ab	0,27 ±	0,05 b	0,34 ±	0,01 ab	0,30 ±	0,03 ab	
Mlvcoum		NI		LH		VH		SV		FI	
	212 DOY	0,41 ±	0,02 a	0,77 ±	0,02 a	0,67 ±	0,24 a	0,34 ±	0,07 a	0,54 ±	0,20 a
	224 DOY	0,69 ±	0,05 b	0,98 ±	0,08 a	0,79 ±	0,10 ab	0,33 ±	0,05 c	0,28 ±	0,02 c
	246 DOY	1,84 ±	0,05 a	1,69 ±	0,18 a	0,50 ±	0,10 b	0,74 ±	0,16 b	0,60 ±	0,07 b
260 DOY	1,66 ±	0,17 a	1,39 ±	0,21 ab	0,69 ±	0,14 c	1,00 ±	0,04 ab	0,79 ±	0,07 bc	

Οι συγκεντρώσεις της Dlp παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην 2^η (224DOY), την 3^η (246DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία. Στην 2^η οι συγκεντρώσεις των ραγών LH, VH είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με των SV και FI ραγών. Στη 3^η οι συγκεντρώσεις των NI και LH ραγών έχουν τις μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Στην 4^η κατά την ωρίμανση οι συγκεντρώσεις των LH υπερτερούν των επεμβάσεων VH, SV, FI ενώ δεν διαφέρουν στατιστικά από των NI ραγών (Σχήμα 7.4A). Επομένως οι συγκεντρώσεις της Dlp έχουν τις μεγαλύτερες τιμές κατά την ωρίμανση όταν τα πρέμνα δέχτηκαν ελλειμματική άρδευση NI και πλήρες πότισμα λίγο πριν την ωρίμανση LH. Οι συγκεντρώσεις της Pt παρουσίασαν στατιστικές διαφορές στην 2^η (224DOY), την 3^η (246DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία. Στην 2^η και την 3^η οι συγκεντρώσεις των ραγών κινούνται με τον ίδιο τρόπο όπως στην Dlp. Στην 4^η οι συγκεντρώσεις δεν διαφέρουν

στατιστικά μεταξύ των επεμβάσεων (Σχήμα 7.4B). Οι συγκεντρώσεις της Pn παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μόνο στην 2^η (246DOY) δειγματοληψία όπου οι VH ράγες έχουν μεγαλύτερες τιμές συγκεντρώσεων από τις FI (Σχήμα 7.4C). Οι συγκεντρώσεις της Mln παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην 2^η (224DOY), την 3^η (246DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία. Στην 2^η οι συγκεντρώσεις των ραγών LH και VH είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με των FI ραγών. Στη 3^η οι συγκεντρώσεις των LH ραγών έχουν μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με των SV και FI. Στην 4^η οι συγκεντρώσεις των LH και NI υπερτερούν των υπόλοιπων επεμβάσεων (Σχήμα 7.4D). Επομένως οι συγκεντρώσεις της Mln έχουν τις μεγαλύτερες τιμές κατά την ωρίμανση όταν τα πρέμνα δέχτηκαν ελλειμματική άρδευση NI και πλήρες πότισμα λίγο πριν την ωρίμανση LH. Αυτή η παρατήρηση είναι σημαντική αν λάβουμε υπόψιν μας ότι η Mln αποτελεί το υψηλότερο ποσοστό επί των συνολικών ανθοκυανών και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο κατά την εκχύλιση στην ερυθρή οινοποίηση. Οι συγκεντρώσεις της Cya παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην 1^η (212DOY) δειγματοληψία με τις LH ράγες να έχουν μεγαλύτερες τιμές από τις SV ράγες (Σχήμα 7.4E). Το ποσοστό της cyan επί του συνόλου των ανθοκυανών είναι πολύ μικρό, επομένως δεν φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο κατά τις εκχυλίσεις των ερυθρών οινοποιήσεων.

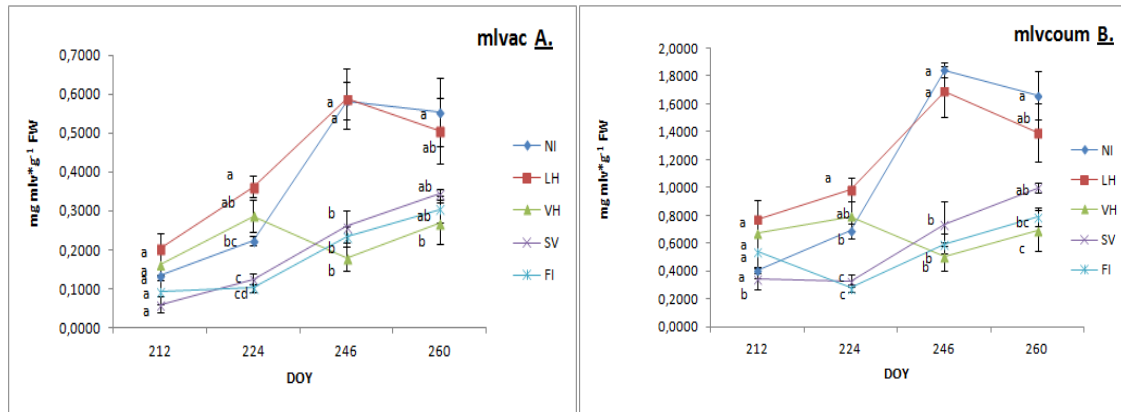




Σχήμα 7.4 Η συγκεντρώση των μονομερών γλυκοζυλιωμένων ανθοκυκλών εκφρασμένων σε mg ml⁻¹ g⁻¹ νωπού βάρους φλοιών (FW Fresh weight)

Η άρδευση επηρέασε σημαντικά κατά τη συγκομιδή τα επίπεδα των ανθοκυκλών Mln, και Dlp , με υψηλότερες τιμές στις NI και LH και χαμηλότερες στις VH, SV και FI ράγες ενώ δεν επηρέασε τα επίπεδα των Pt, Pn και Cyan.

Οι συγκεντρώσεις του Mln_α παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην 2^η (224DOY), την 3^η (246DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία. Στην 2^η οι συγκεντρώσεις των ραγών LH είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με των SV και FI ραγών. Στη 3^η οι συγκεντρώσεις των NI και LH ραγών έχουν τις μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Στην 4^η οι συγκεντρώσεις των NI υπερτερούν των επεμβάσεων VH, SV, FI ενώ δεν διαφέρουν στατιστικά από των LH ραγών (Σχήμα 7.5A). Οι συγκεντρώσεις του Mln_β παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην 2^η (224DOY), την 3^η (246DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία. Στην 2^η οι συγκεντρώσεις των ραγών LH και NI είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με των SV και FI ραγών. Επίσης έχουμε μεγαλύτερη τιμή των LH ραγών σε σύγκριση με των NI. Στη 3^η οι συγκεντρώσεις των NI και LH ραγών έχουν τις μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Στην 4^η οι συγκεντρώσεις των NI υπερτερούν των επεμβάσεων VH και FI ενώ δεν διαφέρουν στατιστικά από των LH και SV ραγών (Σχήμα 7.5B). Ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης αποτελεί την δεύτερη κυρίαρχη ανθοκυκάνη μετά την μαλβιδίνη, επομένως πιθανά να επηρεάζει ποιοτικά τις εκχυλίσες των ερυθρών οινοποιήσεων. Οι Fournand et al. (2006) ανέφεραν χαμηλότερη ικανότητα εκχύλισης για τους κουμαρικούς εστέρες των ανθοκυκλών, ενώ οι Hernández-Hierro et al. (2012) παρατήρησαν ότι οι μη εστεροποιημένες ανθοκυκάνες ήταν περισσότερο εκχυλίσιμες σε σχέση με της εστεροποιημένες.



Σχήμα 7.5 Η συγκέντρωση του οξικού εστέρα της μαλβιδίνης mIvac και του κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης mIvcoum εκφρασμένων σε mg mIvac g⁻¹ νωπού βάρους φλοιών

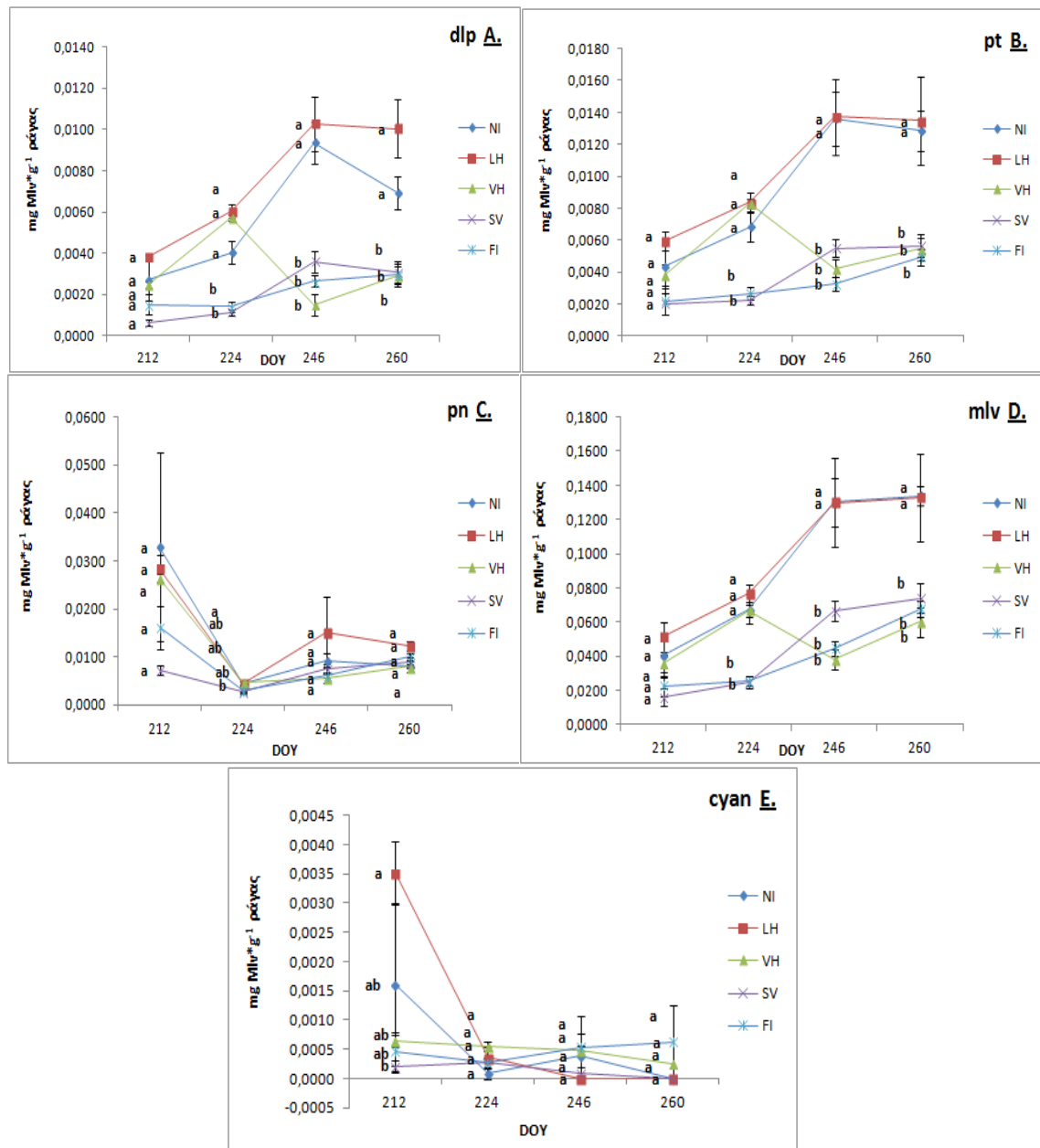
Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων με τα βάρη των νωπών φλοιών, τα οποία στο στάδιο ωρίμανσης δεν είχαν στατιστικές διαφορές μπορούμε να πούμε ότι πιθανά η επέμβαση της άρδευσης είχε μια άμεση επίδραση στην βιοσύνθεση της DIp, MIn, MInvac και MInvcoum. Πολλοί ερευνητές, όπως οι Deloire *et al.* (2003), υποστηρίζουν ότι η υδατική κατάσταση των πρέμων της ποικιλίας Grenache noir επηρεάζει στενά την βιοσύνθεση των ανθοκυανών και συγκεκριμένα το υδατικό έλλειμμα την ευνοεί. Σύμφωνα με τις παρατηρήσεις των Ojeda *et al.* (2002) η αύξηση της συγκεντρώσεως των ανθοκυανών με την μείωση του επιπέδου άρδευσης φαίνεται να είναι ανεξάρτητη με την επίδραση του υδατικού ελλείμματος στο βάρος των ραγών. Ωστόσο οι Roby *et al.* (2004) υποστηρίζουν ότι η αύξηση των συγκεντρώσεων των ανθοκυανών των φλοιών της ποικιλίας Cabernet sauvignon με την εφαρμογή υδατικού ελλείμματος οφείλεται πρωτίστως στην διαφοροποίηση του ρυθμού αύξησης της σάρκας και του φλοιού και δευτερευόντως σε κάποια άμεση διαφοροποίηση του μεταβολικού μονοπατιού της βιοσύνθεσης. Βέβαια, παρατήρησαν σε ράγες ίδιου μεγέθους αλλά που δέχθηκαν διαφορετικό επίπεδο άρδευσης, παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανθοκυανών του φλοιού στις ράγες που είχαν το μεγαλύτερο υδατικό έλλειμμα. Επίσης εάν συμπεριλάβουμε και την αναλογία φλοιού ράγας όπου κατά την ωρίμανση είναι μεγαλύτερη για τις NI ράγες σε σχέση με τις SV και FI ράγες μπορούμε να έχουμε ποιοτική εικόνα για τις εκχυλίσεις των ερυθρών οινοποιήσεων λαμβάνοντας βέβαια υπόψη και τον βαθμό εκχυλισματικότητας. Σε προηγούμενες μελέτες έχει αναφερθεί χαμηλή εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών των φλοιών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Valdes *et al.*, 2009) πιθανώς λόγω της πιο συμπαγούς δομής των κυτταρικών τοιχωμάτων (Sivilotti *et al.*, 2005).

Ο Πίνακας 7.5 παρακάτω παρουσιάζει τις συγκεντρώσεις των ανθοκυανών εκφρασμένες σε mg g^{-1} ράγας.

Πίνακας 7.5 Η συγκέντρωση των γλυκοζιλιωμένων ανθοκυανών καθώς και των οξικών και κουμαρικών εστέρων των ανθοκυανών των εκχυλισμάτων των φλοιών κατά την περίοδο της ωρίμανσης, εκφρασμένων ως mg g^{-1} ράγας για τις επεμβάσεις άρδευσης σε διάφορα στάδια ανάπτυξης της ράγας.

		Συγκέντρωση ανθοκυανών (mg mlv g^{-1} ράγας)									
		NI		LH		VH		SV		FI	
Dlp	212 DOY	0,0027 ±	0,0010 ab	0,0038 ±	0,0000 a	0,0025 ±	0,0013 ab	0,0006 ±	0,0001 b	0,0015 ±	0,0005 ab
	224 DOY	0,0040 ±	0,0006 a	0,0060 ±	0,0003 a	0,0057 ±	0,0010 a	0,0011 ±	0,0002 b	0,0014 ±	0,0002 b
	246 DOY	0,0094 ±	0,0010 a	0,0103 ±	0,0013 a	0,0015 ±	0,0000 b	0,0036 ±	0,0005 b	0,0027 ±	0,0003 b
	260 DOY	0,0069 ±	0,0008 a	0,0100 ±	0,0014 a	0,0029 ±	0,0006 b	0,0031 ±	0,0005 b	0,0030 ±	0,0004 b
Cyan	212 DOY	0,0016 ±	0,0014 ab	0,0035 ±	0,0005 a	0,0006 ±	0,0004 ab	0,0002 ±	0,0001 b	0,0005 ±	0,0003 ab
	224 DOY	0,0001 ±	0,0001 a	0,0004 ±	0,0002 a	0,0006 ±	0,0004 a	0,0003 ±	0,0001 a	0,0003 ±	0,0001 a
	246 DOY	0,0004 ±	0,0004 a	0,0000 ±	0,0000 a	0,0005 ±	0,0000 a	0,0001 ±	0,0001 a	0,0005 ±	0,0005 a
	260 DOY	0,0000 ±	0,0000 a	0,0000 ±	0,0000 a	0,0003 ±	0,0003 a	0,0000 ±	0,0000 a	0,0006 ±	0,0006 a
Pt	212 DOY	0,0043 ±	0,0017 a	0,0059 ±	0,0006 a	0,0038 ±	0,0015 a	0,0020 ±	0,0007 a	0,0022 ±	0,0008 a
	224 DOY	0,0068 ±	0,0009 a	0,0084 ±	0,0006 a	0,0083 ±	0,0009 a	0,0022 ±	0,0003 b	0,0027 ±	0,0004 b
	246 DOY	0,0136 ±	0,0017 a	0,0137 ±	0,0024 a	0,0043 ±	0,0008 b	0,0055 ±	0,0005 b	0,0033 ±	0,0004 b
	260 DOY	0,0128 ±	0,0013 a	0,0135 ±	0,0028 a	0,0054 ±	0,0010 b	0,0057 ±	0,0007 b	0,0049 ±	0,0005 b
Pn	212 DOY	0,0329 ±	0,0198 a	0,0284 ±	0,0028 a	0,0263 ±	0,0136 a	0,0072 ±	0,0010 a	0,0162 ±	0,0045 a
	224 DOY	0,0045 ±	0,0006 ab	0,0045 ±	0,0003 ab	0,0047 ±	0,0005 a	0,0027 ±	0,0003 b	0,0030 ±	0,0003 ab
	246 DOY	0,0092 ±	0,0016 a	0,0152 ±	0,0073 a	0,0056 ±	0,0003 a	0,0076 ±	0,0009 a	0,0062 ±	0,0006 a
	260 DOY	0,0081 ±	0,0003 a	0,0124 ±	0,0010 a	0,0080 ±	0,0010 a	0,0088 ±	0,0011 a	0,0100 ±	0,0006 a
Mlv	212 DOY	0,0406 ±	0,0132 a	0,0513 ±	0,0089 a	0,0357 ±	0,0149 a	0,0160 ±	0,0049 a	0,0227 ±	0,0059 a
	224 DOY	0,0675 ±	0,0086 a	0,0765 ±	0,0051 a	0,0668 ±	0,0072 a	0,0245 ±	0,0036 b	0,0255 ±	0,0025 b
	246 DOY	0,1301 ±	0,0141 a	0,1300 ±	0,0262 a	0,0382 ±	0,0071 b	0,0667 ±	0,0057 b	0,0448 ±	0,0043 b
	260 DOY	0,1338 ±	0,0055 a	0,1329 ±	0,0257 a	0,0600 ±	0,0115 b	0,0740 ±	0,0087 b	0,0675 ±	0,0048 b
Mlvac	212 DOY	0,0081 ±	0,0014 a	0,0125 ±	0,0011 a	0,0074 ±	0,0033 a	0,0020 ±	0,0005 a	0,0038 ±	0,0007 a
	224 DOY	0,0132 ±	0,0012 b	0,0173 ±	0,0009 a	0,0129 ±	0,0010 b	0,0055 ±	0,0007 c	0,0052 ±	0,0006 c
	246 DOY	0,0292 ±	0,0029 a	0,0266 ±	0,0028 a	0,0086 ±	0,0009 b	0,0125 ±	0,0010 b	0,0100 ±	0,0006 b
	260 DOY	0,0341 ±	0,0009 a	0,0288 ±	0,0051 a	0,0134 ±	0,0032 b	0,0148 ±	0,0013 b	0,0135 ±	0,0009 b
Mlvcoum	212 DOY	0,0245 ±	0,0028 ab	0,0476 ±	0,0041 a	0,0312 ±	0,0090 ab	0,0121 ±	0,0032 b	0,0223 ±	0,0048 ab
	224 DOY	0,0408 ±	0,0050 a	0,0469 ±	0,0030 a	0,0356 ±	0,0024 a	0,0143 ±	0,0019 b	0,0145 ±	0,0013 b
	246 DOY	0,0926 ±	0,0073 a	0,0765 ±	0,0061 a	0,0241 ±	0,0035 b	0,0351 ±	0,0041 b	0,0255 ±	0,0021 b
	260 DOY	0,1033 ±	0,0029 a	0,0794 ±	0,0126 a	0,0348 ±	0,0084 b	0,0431 ±	0,0037 b	0,0354 ±	0,0023 b

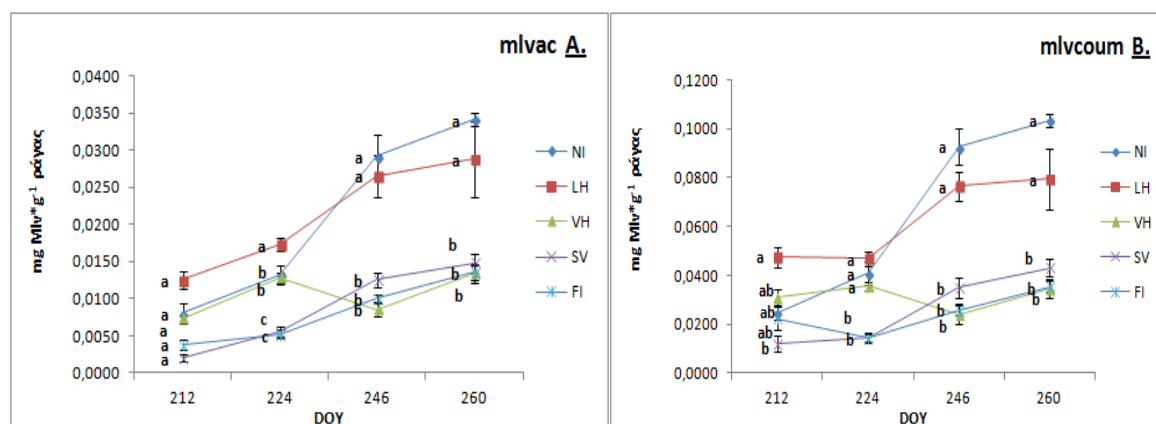
Οι συγκεντρώσεις της Dlp παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην 2^η (224DOY), την 3^η (246DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία, όπου οι συγκεντρώσεις των ραγών LH και NI είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με των VH, SV και FI ραγών. Την ίδια πορεία έχουμε και για τα Pt, Mlv ενώ για την Pn δεν έχουμε στατιστικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων. Οι συγκεντρώσεις της Cyan παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στην 1^η δειγματοληψία με τις LH ράγες να έχουν μεγαλύτερη τιμή από τις SV.



Σχήμα 7.6 Η συγκεντρώση των μονομερών γλυκοζιλωμένων ανθοκυανών εκφρασμένων σε mg ml⁻¹ γάρας

Οι συγκεντρώσεις του Μlνac παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην 2^η (224DOY), την 3^η (246DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία. Στην 2^η οι συγκεντρώσεις των ραγών LH είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με των NI και VH ραγών και αυτές μεγαλύτερες από τις SV και FI ράγες. Στη 3^η και 4^η οι συγκεντρώσεις των NI και LH ραγών έχουν τις μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις (Σχήμα 7.7A). Οι συγκεντρώσεις του Μlνcoum παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλες τις δειγματοληψίες. Στην 1^η λίγο μετά τον περκασμό οι συγκεντρώσεις των ραγών LH είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με των

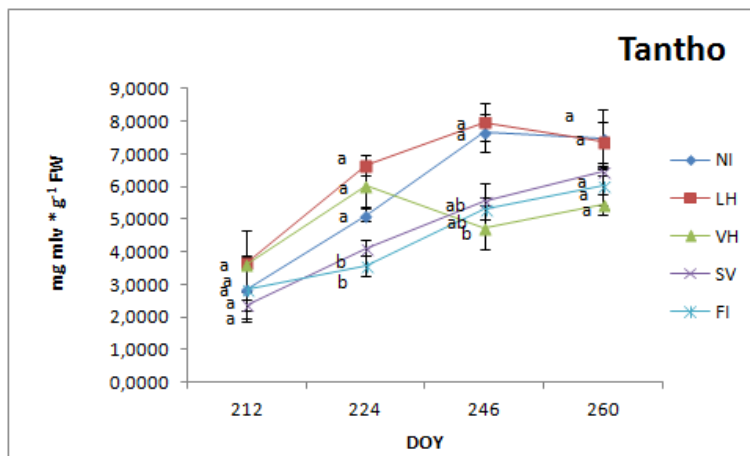
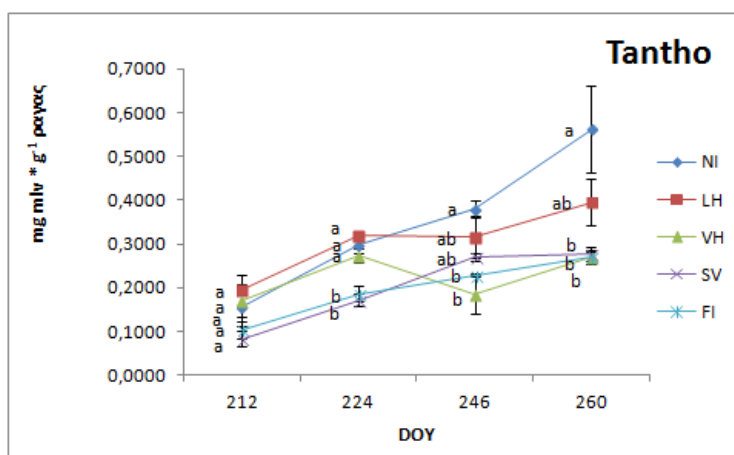
SV ραγών. Στην 2^η οι τιμές είναι μεγαλύτερες για τις NI, LH και VH επεμβάσεις. Στη 3^η και 4^η κατά την ωρίμανση οι συγκεντρώσεις των NI και LH ραγών έχουν τις μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις (Σχήμα 7.7B).



Σχήμα 7.7 Η συγκέντρωση του οξικού εστέρα της μαλβιδίνης mlvac και του κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης mlncoum εκφρασμένων σε mg ml⁻¹ γράγας

Η άρδευση επηρέασε σημαντικά κατά τη συγκομιδή τα επίπεδα των ανθοκυανών Mln, Pt, Dlp, Mlnac και Mlncoum με υψηλότερες τιμές στις NI και LH και χαμηλότερες στις VH, SV και FI ράγες ενώ δεν επηρέασε τα επίπεδα των Pn και Cyn. Συμπεριλαμβάνοντας το βάρος των ραγών το οποίο κατά το στάδιο ωρίμανσης παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές για τις FI και SV επεμβάσεις σε σύγκριση με τις NI, μπορούμε να πούμε ότι έχουμε μια έμμεση επίδραση της άρδευσης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, μπορεί να βγει ένα συμπέρασμα στη συγκέντρωση των ανθοκυανών στις ράγες όταν αυτή εκφράζεται σε mg g⁻¹ ράγας. Όταν η άρδευση είναι ελλειμματική, ή πλήρης λίγο πριν την ωρίμανση, η συγκέντρωση των ανθοκυανών στις ράγες αυξάνεται. Αυτή είναι μια έμμεση επίδραση, καθώς είναι αποτέλεσμα της διαφοροποίησης του βάρους των ραγών μεταξύ των επεμβάσεων. Δηλαδή, όσο μικρότερες είναι οι ράγες, τόσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των ανθοκυανών. Σε άλλες σχετικές έρευνες, οι Bucchetti et al. (2011) διαπίστωσαν ότι το υδατικό έλλειμμα αύξησε την συγκέντρωση των ανθοκυανών κατά τον τρυγητό κατά 53-62% όταν αυτή εκφράστηκε σε mg g⁻¹ ράγας ενώ όταν εκφράστηκε σε mg ανα ράγα η αύξηση ήταν μικρότερη (29-34%).

Οι ολικές ανθοκυάνες (TAnth), εκφρασμένες ως mg g⁻¹ νωπού βάρους φλοιών και ως mg g⁻¹ ράγας, παρουσίασαν ένα μεταβαλλόμενο μοτίβο το οποίο επηρεάστηκε και από τις συνθήκες άρδευσης.

Σχήμα 7.8 Ολικές ανθοκυάνες (TAnth) σε mg g⁻¹ νωπού βάρους φλοιώνΣχήμα 7.9 Ολικές ανθοκυάνες (TAnth) σε mg g⁻¹ ράγας

Παρατηρούμε ότι οι συγκεντρώσεις του Tantho εκφρασμένες ως mg g⁻¹ νωπού βάρους φλοιών παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην 2^η (224DOY) και την 3^η (246DOY) δειγματοληψία. Στην 2^η οι συγκεντρώσεις των ραγών LH, VH και NI είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με των SV και FI ραγών. Στην 3^η οι συγκεντρώσεις των NI και LH ραγών έχουν τις μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις, ενώ στην 4^η κατά την ωρίμανση δεν έχουμε στατιστικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων (Σχήμα 7.8). Οι συγκεντρώσεις του Tantho εκφρασμένου ως mg g⁻¹ ράγας παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην 2^η (224DOY), την 3^η (246DOY) και την 4^η (260DOY) δειγματοληψία. Στην 2^η οι συγκεντρώσεις των ραγών LH, VH και NI είναι μεγαλύτερες σε σύγκριση με των SV και FI ραγών. Στην 3^η οι τιμές είναι μεγαλύτερες για τις NI ράγες σε σύγκριση με τις SV και FI ράγες. Στην 4^η οι συγκεντρώσεις των NI ραγών έχουν τις μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τις VH, SV και FI (Σχήμα 7.9).

Συμπερασματικά παρατηρούμε ότι οι συγκεντρώσεις των ολικών ανθοκυανών εκφρασμένες ανα g νωπού βάρους φλοιών κατά την ωρίμανση δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ των επεμβάσεων ενώ εκφρασμένες ανα g ράγας οι ΝΙ ράγες υπερτερούν. Σε προηγούμενες μελέτες οι Matthews et al. (1988) επισήμαναν ότι η έλλειψη ύδατος που εφαρμόστηκε στην ποικιλία Cabernet franc επέφερε αύξηση της συγκέντρωσης των ανθοκυανών στον ιστό των φλοιών περίπου 20% , ενώ όταν αυτή εκφράστηκε σε βάρος ράγας η αύξηση ήταν 42% μεγαλύτερη από την επέμβαση της πλήρους άρδευσης. Οι Kennedy *et al.* (2002) υποστηρίζουν ότι η μικρή αύξηση των συγκεντρώσεων των ανθοκυανών λόγω της αύξησης του υδατικού ελλείμματος οφείλεται πρωτίστως στην αλλαγή του μεγέθους των ραγών και δευτερευόντως σε κάποια αλλαγή της βιοσύνθεσης τους.

Γενικότερα σχολιάζοντας τα αποτελέσματα όσον αφορά την έκφραση τους ως ανα g νωπού βάρους φλοιών μπορούμε να πούμε ότι κατά την ωρίμανση η επέμβαση της άρδευσης είχε μια άμεση επίδραση στην βιοσύνθεση της Dlp, Mlv, Mlnc και Mlncoum αλλά σαν σύνολο ανθοκυανών η άρδευση σε διαφορετικό στάδιο δεν επηρέασε την συγκέντρωση του συνόλου. Σε αντίθεση όσον αφορά την έκφραση ανα g ράγας μπορούμε να πούμε ότι κατά την ωρίμανση η επέμβαση της άρδευσης είχε μια έμμεση επίδραση -με την μείωση του βάρους της ράγας- της Dlp, Pt, Mlv, Mlnc και Mlncoum αλλά και στην συνολική συγκέντρωση των ανθοκυανών. Όσον αφορά τις διαφορετικές επεμβάσεις της άρδευσης σε διάφορα στάδια ανάπτυξης παρατηρούμε ότι η συνεχόμενα ελλειμματική άρδευση δεν δίνει διαφορετικά αποτελέσματα από την άρδευση λίγο πριν την ωρίμανση, επομένως πιθανά μπορούμε να πούμε ότι η άρδευση πριν την ωρίμανση δεν επηρεάζει στην συγκέντρωση των ανθοκυανών. Επιπλέον η άρδευση από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό και η άρδευση από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση δεν δίνει διαφορετικά αποτελέσματα από την πλήρη άρδευση γεγονός που έρχεται εν μέρει σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες (D.Olle et al. 2011) όπου η συνολική συγκέντρωση των ανθοκυανών για την πλήρη άρδευση δεν διαφέρει από την άρδευση από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση, ενώ η άρδευση από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό δίνει μεγαλύτερη συγκέντρωση ανθοκυανών.

7.3 Δομικά χαρακτηριστικά των προανθοκυανιδινών των φλοιών και των γιγάρτων

Η διάσπαση των πολυμερών προανθοκυανιδινών των γιγάρτων και των φλοιών σε όξινο περιβάλλον παρουσία φλωρογλουσινόλης έκανε δυνατό τον προσδιορισμό του μέσου βαθμού πολυμερισμού (mDP) (Σχήματα 7.10 και 7.11), του ποσοστού εστεροποίησης των προανθοκυανιδινών με γαλλικό οξύ (%G) (Σχήματα 5.10 και 5.11) και του ποσοστού των προδελφινιδινών (%P). Στη βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές έρευνες που αναφέρουν τη θετική συσχέτιση του mDP και του %G με τη

στυπτικότητα (Chira et al., 2011; Gawel, 1998; Rinaldi et al., 2014; Vidal et al., 2003), άλλες το αντικρούουν (Quijada-Morin et al., 2012) ενώ ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν αρνητική συσχέτιση του %G με τη στυπτικότητα των γιγάρτων (Chira et al., 2015).

7.3.1 Μέσος βαθμός πολυμερισμού των προανθοκυανιδινών των φλοιών και των γιγάρτων

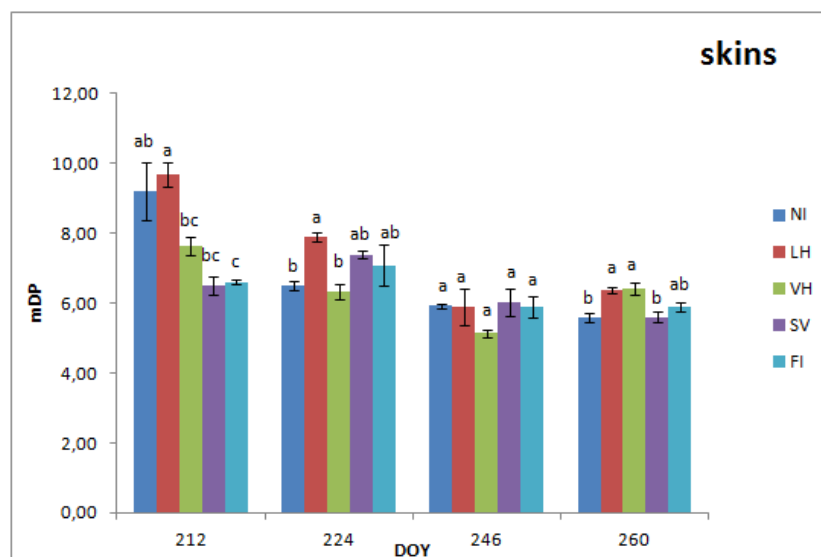
Οι τιμές του mDP των φλοιών ήταν μεγαλύτερες σε σχέση με τις αντίστοιχες των γιγάρτων, το οποίο έχει αναφερθεί και σε παλαιότερες μελέτες (Bordiga et al., 2011; Chira et al., 2015). Ο mDP των φλοιών είχε μια καθοδική πορεία μετά τον περκασμό και κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, ενώ των γιγάρτων δεν μεταβλήθηκαν ιδιαίτερα. Αυτή η επισήμανση έρχεται σε αντίθεση με παλαιότερες μελέτες (Bordiga et al., 2011; Kennedy et al., 2001; Obreque-Slier et al., 2010) που υποστηρίζουν ότι ο mDP των προανθοκυανιδινών των φλοιών αυξήθηκε κατά την ωρίμανση των ραγών. Η εξέλιξη του mDP κατά την διάρκεια ανάπτυξης της ράγας δεν είναι ξεκάθαρη, άλλες μελέτες παρατηρούν την άυξηση της (Kennedy et al. 2001, 2002, Fournand et al. 2006) και κάποιες άλλες μείωση του mDP (Downey et al. 2003, Verries et al. 2008, Hanlin and Downey 2009). Οι τιμές του mDP των προανθοκυανιδινών κυμάνθηκαν για τα γίγαρτα από 3 έως 7 και για τους φλοιούς μεταξύ 5 και 9, τιμές χαμηλές σε σχέση με τις περισσότερες αναφορές στη βιβλιογραφία (Bordiga et al., 2011; Chira et al., 2009; Downey et al., 2003; Lorrain et al., 2011). Οι Rinaldi et al. (2014) σε ποικιλίες (Aglianico, Merlot, Cabernet Sauvignon) που καλλιεργήθηκαν στην κεντρική Ιταλία, σε κλιματικές συνθήκες παρόμοιες με της Ελλάδας, αναφέρουν τιμές του mDP των φλοιών μεταξύ 11 και 14 ανάλογα με την ποικιλία. Σε παλιότερες δημοσιεύσεις (Chira et al., 2009; Bordiga et al., 2011; Lorrain et al., 2011; Čurko et al., 2014) πληροφορίες αναφέρουν τιμές του mDP των φλοιών μεταξύ των 16,0 και 35,7 για το Merlot, 21,9 και 36,6 για το Cabernet Sauvignon και 50,2 για το Nebbiolo. Σε παλαιότερη έρευνα (Lea, 1992) αναφέρεται ότι η στυπτικότητα των προανθοκυανιδινών αγγίζει το μέγιστο σε πολυμερή με 7 υπομονάδες ενώ η πικράδα σε τετραμερή μόρια. Ωστόσο, η Mirabel (2000) συσχέτισε τον mDP ξεχωριστά για τους φλοιούς και τα γίγαρτα, αναφέροντας ότι στα γίγαρτα η στυπτικότητα και η πικράδα αυξάνονται μέχρι τον mDP 7 και στη συνέχεια υπάρχει απότομη μείωση της πικράδας και σταθεροποίηση της στυπτικότητας. Αντίθετα στους φλοιούς η στυπτικότητα αυξάνει μέχρι τον mDP 7 στη συνέχεια παραμένει σταθερή και παρουσιάζεται απότομη αύξηση στον mDP 20, και στη συνέχεια μειώνεται, ενώ η πικράδα μειώνεται από τον mDP 4 και από mDP 8 και πάνω παραμένει σταθερή. Έκτος από τη συγκέντρωση των φαινολικών των ραγών μιας ποικιλίας, η γνώση του μεγέθους αλλά και της δομής των μορίων των ταννινών των σταφυλιών μπορεί να αποτελέσει εργαλείο για τον τρόπο επεξεργασίας του σταφυλιού και για τη μέθοδο οινοποίησης που θα μπορούσε να εφαρμοστεί στην κάθε ποικιλία.

Πίνακας 7.6 Μέσος βαθμός πολυμερισμού (mDP) των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων (A) και των φλοιών (B) της ποικιλίας Ξινόμαυρο, όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικές συνθήκες άρδευσης. Η δεύτερη στήλη της κάθε επέμβασης δείχνει το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις επεμβάσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους.

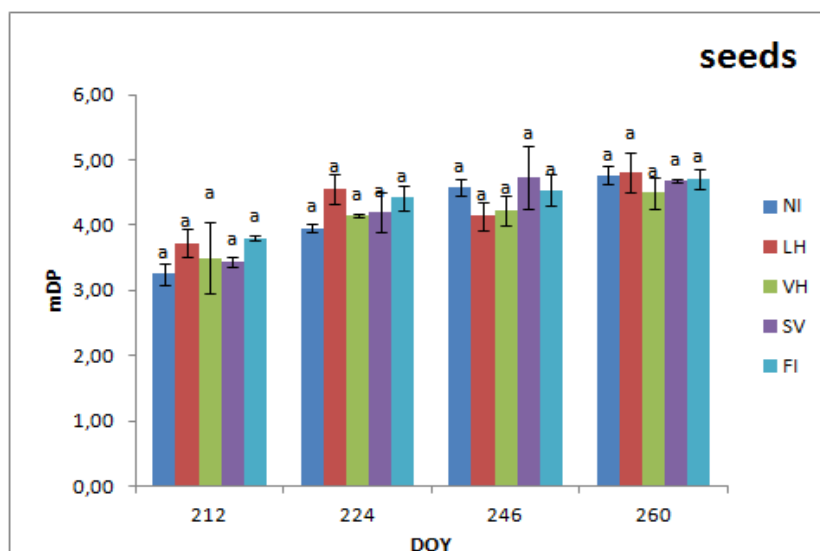
	NI	LH	VH	SV	FI	A. seeds
212 doy	3,25 \pm 0,16 a	3,73 \pm 0,21 a	3,50 \pm 0,54 a	3,45 \pm 0,08 a	3,80 \pm 0,04 a	
224 doy	3,96 \pm 0,08 a	4,56 \pm 0,23 a	4,15 \pm 0,04 a	4,20 \pm 0,29 a	4,42 \pm 0,19 a	
246 doy	4,58 \pm 0,12 a	4,14 \pm 0,22 a	4,23 \pm 0,23 a	4,73 \pm 0,49 a	4,54 \pm 0,25 a	
260 doy	4,76 \pm 0,14 a	4,81 \pm 0,31 a	4,49 \pm 0,24 a	4,67 \pm 0,03 a	4,72 \pm 0,15 a	

	NI	LH	VH	SV	FI	B. skins
212 doy	9,20 \pm 0,83 ab	9,68 \pm 0,35 a	7,64 \pm 0,25 bc	6,52 \pm 0,27 c	6,61 \pm 0,07 c	
224 doy	6,51 \pm 0,14 b	7,91 \pm 0,13 a	6,33 \pm 0,20 b	7,40 \pm 0,11 ab	7,08 \pm 0,59 ab	
246 doy	5,93 \pm 0,07 a	5,91 \pm 0,52 a	5,15 \pm 0,11 a	6,03 \pm 0,40 a	5,88 \pm 0,30 a	
260 doy	5,59 \pm 0,14 b	6,39 \pm 0,08 a	6,42 \pm 0,17 a	5,60 \pm 0,16 b	5,89 \pm 0,14 ab	

Αναφορικά με την επίδραση της άρδευσης, παρατηρήθηκε επίδραση στους φλοιούς στην 1^η (212DOY) την 2^η (224DOY) και 4^η (260DOY) δειγματοληψία. Στην 1^η δειγματοληψία οι φλοιοί της LH επέμβασης χαρακτηρίστηκαν από τη μεγαλύτερη τιμή του mDP ενώ το SV και FI είχε τη μικρότερη. Στην 2^η δειγματοληψία, η επέμβαση LH είχε τη μεγαλύτερη τιμή του mDP σε σύγκριση με την NI επέμβαση κάτι το οποίο πιθανά να οφείλεται σε κάποιο σφάλμα, διότι στην δεύτερη δειγματοληψία δεν έχει πραγματοποιηθεί η άρδευση λίγο πριν την ωρίμανση, επομένως είναι ίδια με την συνεχόμενα ελλειμματική. Στην 4^η δειγματοληψία, δηλαδή κατά την ωρίμανση, η επέμβαση LH και VH είχαν την μεγαλύτερη τιμή του mDP σε σχέση με το SV και NI. Αντιθέτως στα γίγαρτα δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή του mDP μεταξύ των επεμβάσεων.



Σχήμα 7.10 Μέσος βαθμός πολυμερισμού των προανθοκυανιδινών (mDP) των φλοιών



Σχήμα 7.11 Μέσος βαθμός πολυμερισμού των προανθοκυανιδινών (mDP) των γιγάρτων

Συνολικά ο mDP έχει μεγαλύτερες τιμές στους φλοιούς στο στάδιο ωρίμανσης όταν στα πρέμνα εφαρμόζεται πλήρης άρδευση λίγο πριν την ωρίμανση LH, και από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση VH, κάτι το οποίο πιθανά να σημαίνει ότι η άρδευση στα τελευταία στάδια ωρίμανσης επηρεάζει το μέσο βαθμό πολυμερισμού των προανθοκυανιδινών των φλοιών. Σε αυτό το αποτέλεσμα οδηγήθηκε και ο D.Olle et al. 2011 όπου κατά την συγκομιδή το mDP των πρέμνων στα οποία εφαρμόστηκε πλήρης άρδευση μετά τον περκασμό είχε μεγαλύτερη τιμή από των πρέμνων που εφαρμόστηκε άρδευση πριν τον περκασμό.

Ο πολυμερισμός των προανθοκυανιδινών προάγει τη δημιουργία μορίων με μεγαλύτερη ικανότητα δέσμευσης από τις πρωτεΐνες και έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του στυπτικού τους χαρακτήρα (Chira et al., 2009; Vidal et al., 2003). Η ανάλυση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των μονομερών και ολιγομερών φλαβαν-3-ολών έχουν δείξει ότι η στυπτικότητα συσχετίζεται και αυξάνεται με την αύξηση του mDP (Clifford, 1986; Robichaud & Noble, 1990). Επομένως παρατηρώντας τις τιμές του mDP μπορούμε να πούμε ότι κινείτε σε χαμηλά επίπεδα κάτι το οποίο μπορεί να σημαίνει ότι χαμηλής έντασης στυπτικότητα. Γνωρίζουμε βέβαια κάποια βασικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας, όπως ότι έχει σταφύλια φτωχά σε ανθοκυάνες αλλά πλούσια σε φλαβαν-3-όλες (Kallithrka et al. 2006), και δίνει οίνους με σχετικά μεγάλης έντασης στυπτικότητα. Αυτό έρχεται σε σύγκρουση με το χαμηλό mDP που παρουσιάζει κάτι το οποίο πιθανά να σημαίνει ότι η στυπτικότητα δεν εξαρτάται μόνο από το μέγεθος του μορίου αλλά και από άλλους παράγοντες, όπως η δομή του.

7.3.2 Ποσοστό εστεροποίησης με γαλλικό οξύ και ποσοστό προδελφινιδινών των φλοιών και των γιγάρτων

Οι τιμές του %G που προσδιορίστηκαν στους φλοιούς ήταν μικρότερες σε σχέση με αυτές των γιγάρτων, όπως αναφέρεται και από άλλους ερευνητές (Chira et al., 2015; Rinaldi et al., 2015). Ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν την επίδραση του %G στη συτπτικότητα (Gawel, 1998) και οι μεγάλες διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των γιγάρτων και των φλοιών θα μπορούσαν να εξηγήσουν τη μεγάλη συτπτικότητα των γιγάρτων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα παρατηρείται αντιστοιχία του mDP των φλοιών με το %G. Ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν ότι χαμηλές τιμές του mDP αντιστοιχούν σε χαμηλές τιμές του %G (Ćurko et al., 2014; Prieur et al., 1994; Sun et al., 2013), ενώ άλλοι έχουν συσχετίσει υψηλές τιμές του mDP με χαμηλές τιμές του %G (Bordiga et al., 2011; Brossaud et al., 2001; Rinaldi et al., 2015), το οποίο έχει αναφερθεί και σε αυτά τα αποτελέσματα για την ποικιλία Ξινόμαυρο. Κατά την διάρκεια της ωρίμανσης οι τιμές %G παρέμειναν σχετικά σταθερές, κάτι το οποίο συμφωνεί με παλαιότερες μελέτες (Obreque-Slier et al., 2010) οι οποίες αναφέρουν ότι για την ποικιλία Cabernet Sauvignon δεν παρατηρήθηκε μεταβολή του %G από τον περκασμό στην ωρίμανση, παρά μόνο στην υπερωρίμανση των ραγών. Ωστόσο υπάρχουν μελέτες (Bordiga et al., 2011) που αναφέρουν αυξανόμενη τάση στις δύο από τις έξι ποικιλίες που μελέτησαν. Οι τιμές του %G των προανθοκυανιδινών κυμάνθηκαν για τα γιγάρτα από 10 έως 13 και για τους φλοιούς μεταξύ 1 και 3.

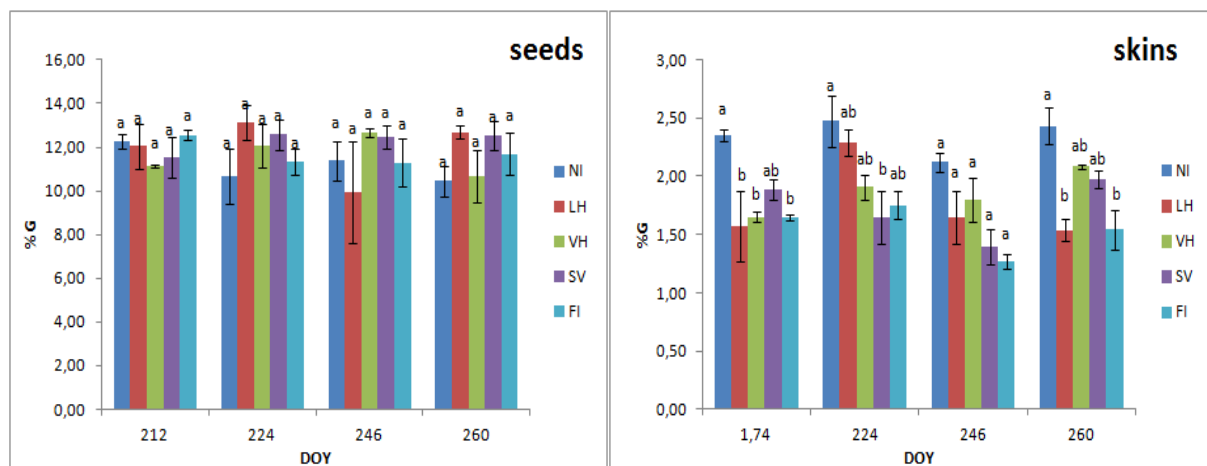
Πίνακας 7.7 Βαθμός εστεροποίησης με γαλλικό οξύ (%G) των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων (A) και των φλοιών (B) της ποικιλίας Ξινόμαυρο, όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικές συνθήκες άρδευσης. Η δεύτερη στήλη της κάθε επέμβασης δείχνει το \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις επεμβάσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους.

	NI		LH		VH		SV		A. seeds FI	
212 doy	12,27	$\pm 0,33$ a	12,05	$\pm 1,05$ a	11,12	$\pm 0,07$ a	11,51	$\pm 0,93$ a	12,56	$\pm 0,21$ a
224 doy	10,67	$\pm 1,28$ a	13,11	$\pm 0,79$ a	12,09	$\pm 1,00$ a	12,58	$\pm 0,70$ a	11,33	$\pm 0,61$ a
246 doy	11,37	$\pm 0,88$ a	9,94	$\pm 2,33$ a	12,68	$\pm 0,21$ a	12,45	$\pm 0,54$ a	11,30	$\pm 1,13$ a
260 doy	10,44	$\pm 0,73$ a	12,70	$\pm 0,31$ a	10,68	$\pm 1,21$ a	12,53	$\pm 0,67$ a	11,69	$\pm 0,98$ a

	NI		LH		VH		SV		B. skins FI	
212 doy	2,35	$\pm 0,05$ a	1,57	$\pm 0,30$ b	1,65	$\pm 0,04$ b	1,88	$\pm 0,09$ ab	1,65	$\pm 0,02$ b
224 doy	2,47	$\pm 0,22$ a	2,29	$\pm 0,11$ ab	1,91	$\pm 0,10$ ab	1,64	$\pm 0,22$ b	1,75	$\pm 0,12$ ab
246 doy	2,12	$\pm 0,08$ a	1,65	$\pm 0,23$ a	1,80	$\pm 0,19$ a	1,39	$\pm 0,15$ a	1,27	$\pm 0,07$ a
260 doy	2,43	$\pm 0,16$ a	1,54	$\pm 0,09$ b	1,74	$\pm 0,02$ ab	1,98	$\pm 0,07$ ab	1,54	$\pm 0,17$ b

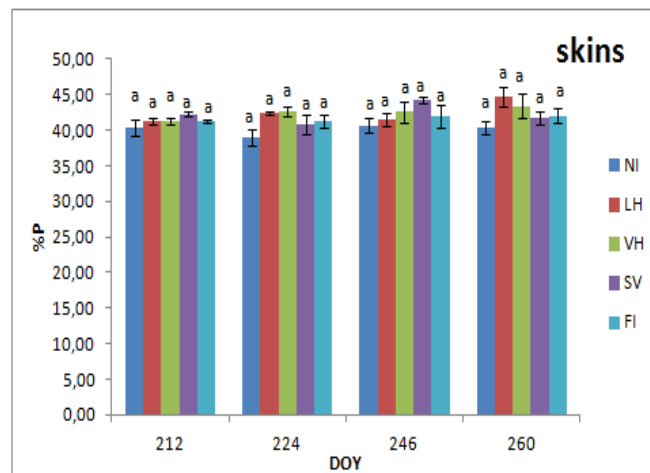
Όσον αφορά την άρδευση στατιστικές διαφορές παρατηρήθηκαν στους φλοιούς στην 1^η (212DOY), 2^η (224DOY) και 4^η (260DOY) δειγματοληψία. Στην 1^η δειγματοληψία οι υψηλότερες τιμές του %G παρατηρήθηκαν στα NI δείγματα σε σύγκριση με τα LH, SV και FI. Στην 2^η δειγματοληψία οι τιμές του %G ήταν μεγαλύτερες για την NI επέμβαση σε σύγκριση με την SV. Στην 4^η δειγματοληψία οι υψηλότερες τιμές του %G παρατηρήθηκαν στα NI δείγματα σε σύγκριση με τα LH και FI. Η άρδευση δεν φάνηκε να επηρεάζει το %G των γιγάρτων.

Τελικά κατά την συγκομιδή οι μεγαλύτερες τιμές του %G στους φλοιούς παρουσιάστηκαν κατά την εφαρμογή της ελλειμματικής άρδευσης. Ωστόσο οι τιμές είναι αρκετά πιο χαμηλές σε σύγκριση με αυτές των γιγάρτων, οι οποίες δεν φάνηκε να επηρεάζονται από την άρδευση. Το %G επηρεάζεται από την ποικιλία αλλά και από την ωρίμανση των ραγών καθώς παρατηρήθηκαν μεγάλες διαφορές των τιμών της στη βιβλιογραφία (Chira et al., 2009; Rinaldi et al., 2014). Επομένως ποιοτικά όσον αφορά τις εκχυλίσεις των ερυθρών οίνων φαίνεται να ενδιαφέρει πρωτίστως το %G των γιγάρτων και όχι των φλοιών, χωρίς να επηρεάζει σημαντικά ο παράγοντας της άρδευσης. Σύμφωνα με τους Rinaldi et al. (2015) ο %G των γιγάρτων είναι αυτός που επηρεάζει και τον %G των οίνων, καθώς παρατήρησαν ότι από τους φλοιούς εκχυλίστηκε πολύ μικρό ποσοστό ή και καθόλου των εστεροποιημένων με γαλλικό οξύ προανθοκυανιδινών.



Σχήμα 7.12 Ποσοστό εστεροποίησης με γαλλικό οξύ των γιγάρτων και των φλοιών

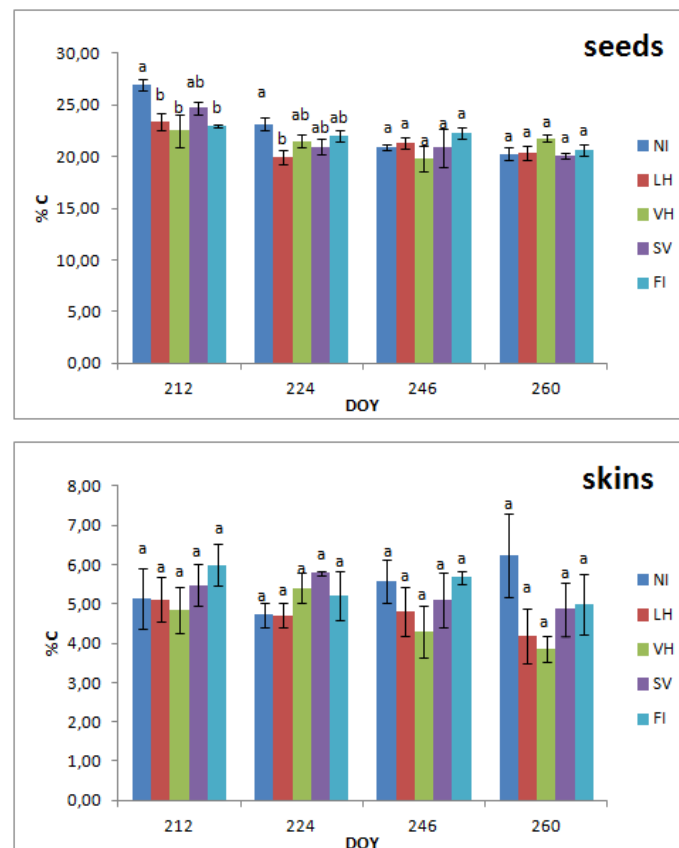
Το ποσοστό %P έχει προσδιοριστεί μόνο στους φλοιούς (Σχήμα 6.7), καθώς μόνο σε αυτούς προσδιορίστηκε η EGC ως υπομονάδα των προανθοκυανιδινών τους. Οι τιμές του ποσοστού των προδελφινιδινών %P των φλοιών κυμάνθηκαν μεταξύ 39 και 45. Η σημαντικότητα του %P έγκειται στο ότι έχει συσχετιστεί αρνητικά με την στυπτικότητα σε προηγούμενες μελέτες (Chira et al., 2015; Rinaldi et al., 2014). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές κατά την διάρκεια της ωρίμανσης αλλά και δεν παρουσιάστηκε καμία διαφορά μεταξύ των επεμβάσεων της άρδευσης.



Σχήμα 7.13 Ποσοστό προδελφινιδίων %P των φλοιών

7.3.3 Ποσοστό του συνόλου των υπομονάδων της κατεχίνης %C και επικατεχίνης %EC

Το %C των γιγάρτων κυμαίνεται σε αρκετά υψηλότερες τιμές σε σχέση με των φλοιών. Οι τιμές κατά την διάρκεια της ωρίμανσης είναι σταθερές και κυμαίνονται μεταξύ 19 και 27 για τα γίγαρτα και από 3 μέχρι 6 για τους φλοιούς.

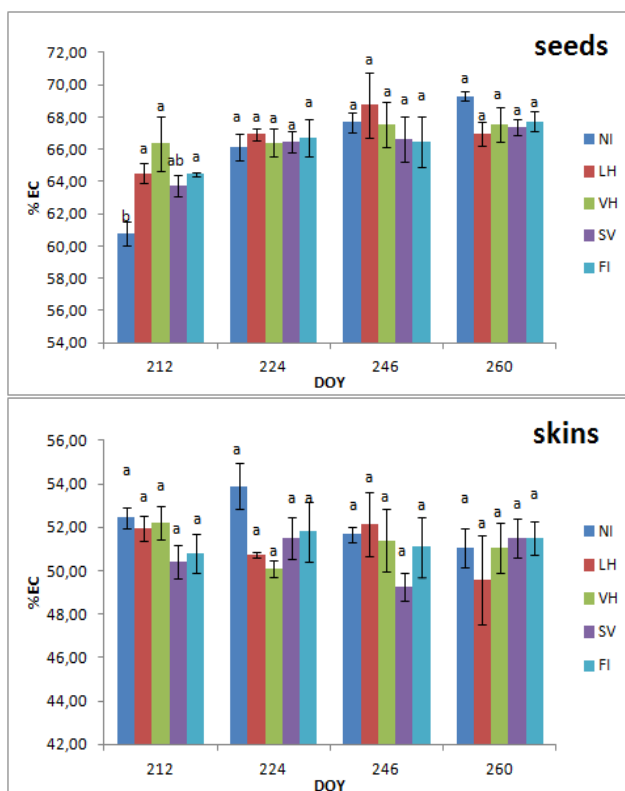


Σχήμα 7.14 Ποσοστό του συνόλου των υπομονάδων κατεχίνης επι του συνόλου των υπομονάδων στους φλοιούς και τα γίγαρτα

Όσον αφορά την άρδευση στατιστικές διαφορές παρατηρήθηκαν στα γίγαρτα στην 1^η (212 DOY) και την 2^η δειγματοληψία (224 DOY). Στην 1^η δειγματοληψία η επέμβαση NI παρουσίασε μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τις LH, VH και FI. Στην 2^η δειγματοληψία οι NI ράγες έχουν υψηλότερες τιμές του %C σε σύγκριση με τις LH ράγες. Στην τελευταία δειγματοληψία δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων. Όσον αφορά τους φλοιούς καθ' όλη την διάρκεια ωρίμανσης δεν παρατηρήθηκαν στατιστικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων άρδευσης.

Το %EC των γιγάρτων είναι μεγαλύτερο σε σύγκριση με των φλοιών. Οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ 60 και 70 για τα γίγαρτα και ακολουθείται μέχρι την 3^η δειγματοληψία αυξητική πορεία κυρίως για τις NI και LH ράγες. Οι τιμές των φλοιών κυμαίνονται μεταξύ 49 και 52 και κατά την διάρκεια της ωρίμανσης παρουσιάζουν αυξομειώσεις.

Σημαντικές διαφορές για τα γίγαρτα παρατηρούνται μόνο κατά την 1^η (212DOY) δειγματοληψία όπου οι VH, LH και FI ράγες έχουν μεγαλύτερες τιμές %EC σε σύγκριση με τις NI ράγες. Ωστόσο κατά την τελευταία δειγματοληψία δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές. Οι τιμές των φλοιών δεν έχουν στατιστική διαφορά μεταξύ των επεμβάσεων σε καμία δειγματοληψία.



Σχήμα 7.15 Ποσοστό του συνόλου των υπομονάδων επικατεχίνης επι του συνόλου των υπομονάδων στους φλοιούς και τα γίγαρτα

7.3.4 Τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες των προανθοκυανιδινών των φλοιών και των γιγάρτων

Η δομή των ταννινών, όπως και το μέγεθος, επηρεάζει τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες (Chira et al., 2009; Peleg et al., 1999) και κατά συνέπεια επιδρά στη γεύση των ραγών και των οίνων που παράγονται από αυτές. Για την κατανόηση της δομής, τα ποσοστά των τερματικών και επεκτατικών υπομονάδων των προανθοκυανιδινών προσδιορίστηκαν στα γιγάρτα και τους φλοιούς στα δείγματα του πειράματος.

Στον Πίνακα 6.7 αναγράφεται η εξέλιξη της σύστασης των υπομονάδων των προανθοκυανιδινών κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης για τα γιγάρτα. Οι ενώσεις (+)-κατεχίνη (Ct), (-)-επικατεχίνη (ECt) και ο γαλλικός εστέρας της (-)-επικατεχίνης (ECGt) ταυτοποιήθηκαν ως τερματικές υπομονάδες, ενώ οι (+)-κατεχίνη-φλωρογλουκινόλη (Ce), (-)-επικατεχίνη-φλωρογλουκινόλη (ECe) και γαλλικός εστέρας της (-)-επικατεχίνης - φλωρογλουκινόλη (ECGe) ως επεκτατικές υπομονάδες των γιγάρτων. Ανάλογες αναφορές έχουν υπάρξει και από άλλους ερευνητές (Bordiga et al., 2011; Obreque-Slier et al., 2010; Prieur et al., 1994).

Ως κυρίαρχη τερματική υπομονάδα των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων του Ξινόμαυρου προσδιορίστηκε η Ct η οποία κυμάνθηκε σε ποσοστά από 9-17%, όπως έχει αναφερθεί και για άλλες ποικιλίες (Bordiga et al., 2011; Cohen et al., 2008; Kennedy et al., 2000; Prieur et al., 1994), και ως δεύτερη κυρίαρχη με μικρή διαφορά από την Ct είναι η ECt. Η κυρίαρχη επεκτατική υπομονάδα των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων είναι η ECe, η οποία στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκε σε ποσοστά 50-60%. Όπως έχει αναφερθεί από τους Kallithraka et al. (1997) και Thorngate & Noble (1995) η (-)-επικατεχίνη είναι περισσότερο στυφή από την (+)-κατεχίνη, όταν αυτές δοκιμάστηκαν σε διάλυμα προσομοίωσης οίνου. Μελέτες αναφέρουν ότι η στυπτικότητα συσχετίζεται θετικά με την %ECe και αρνητικά με την %EGCe (Quijada-Morín et al. 2012) η οποία στα γιγάρτα δεν εμφανίζεται καθόλου. Η παρουσία της EGC στη δομή των προανθοκυανιδινών ως τερματική ή επεκτατική υπομονάδα παίζει σημαντικό οργανοληπτικό ρόλο, καθώς έχει συσχετιστεί αρνητικά με τη στυπτικότητα (Quijada-Morin et al., 2012; Vidal et al., 2003). Η μεγάλη συμμετοχή της %ECe και η απουσία της %EGCe δείχνουν την πολύ έντονη στυπτικότητα των γιγάρτων της ποικιλίας Ξινόμαυρο.. Ωστόσο, είναι δύσκολο να συσχετιστούν η στυπτικότητα και η πικράδα των εκχυλισμάτων των φλοιών και των γιγάρτων με τις διαφορές που παρατηρούνται στη φαινολική τους σύσταση. Το χαμηλότερο ποσοστό συμμετοχής στη δομή των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων είχε η ECG τόσο ως τερματική (%ECGt) όσο και ως επεκτατική (% ECGe) υπομονάδα, παρόλο που το %G των γιγάρτων είναι σημαντικά μεγαλύτερο σε σχέση με των φλοιών. Ενώ δεν είναι ξεκάθαρη η επίδραση της %ECG ως επεκτατική ή τερματική υπομονάδα στην στυπτικότητα καθώς στη βιβλιογραφία υπάρχουν

αντικρουόμενες έρευνες (Quijada-Morín et al. 2012), ωστόσο έχει αναφερθεί ότι η παρουσία της %ECG ως τερματική υπομονάδα επηρεάζει την συτπτικότητα των φλοιών και γιγάρτων (Rinaldi et al., 2014). Παρόμοια αποτελέσματα σχετικά με τις επεκτατικές υπομονάδες των γιγάρτων έχουν αναφερθεί και σε άλλες ποικιλίες (Bordiga et al., 2011; Cohen et al., 2008; Kennedy et al., 2000; Prieur et al., 1994). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η δομή των προανθοκυανιδινών επηρεάζεται από την ποικιλία και από τις κλιματικές συνθήκες. Οι Mattivi et al. (2008) στην Ιταλία προσδιόρισαν ως κυρίαρχη τερματική υπομονάδα των γιγάρτων στην ποικιλία Pinot Noir την Ct, αλλά στις ποικιλίες Merlot, Cabernet Sauvignon Syrah την ECt και ως επεκτατική μονάδα την ECe, ενώ οι Obreque-Slier et al. (2010) στη Χιλή προσδιόρισαν ως επεκτατική μονάδα του Cabernet Sauvignon την Ct.

Στα γίγαρτα (Πίνακας 7.8) οι υπομονάδες των προανθοκυανιδινών παρουσίασαν μεταβολές κατά την ωρίμανση. Τα %Ct και %ECGt σημείωσαν μείωση κατά τη περίοδο της ωρίμανσης -από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση-. Οι Bordiga et al., (2011) παρατήρησαν μείωση των %C και %ECG ως τερματικές υπομονάδες σε όλες τις ποικιλίες που μελέτησαν. Το %ECe παρουσίασε αύξηση κατά την διάρκεια της ωρίμανσης. Στο στάδιο της ωρίμανσης τα δείγματα των NI ραγών εμπειρείχαν στατιστικά υψηλότερες τιμές των %ECe σε σχέση με τις VH και FI επεμβάσεις. Οι υπόλοιπες υπομονάδες δεν παρουσίασαν στατιστική διαφορά μεταξύ των επεμβάσεων.

Πίνακας 7.8 Τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες (%) των προανθοκυανιδινών των γιγάρτων της ποικιλίας Ξινόμαυρο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικά επίπεδα άρδευσης σε διάφορα στάδια ανάπτυξης

		NI	LH	VH	SV	FI
Ct	212 doy	16,83 ± 1,12 a	14,49 ± 1,08 a	13,72 ± 1,04 a	15,33 ± 1,00 a	13,51 ± 0,41 a
	224 doy	12,02 ± 0,76 a	10,11 ± 0,57 a	12,01 ± 0,02 a	11,83 ± 0,78 a	12,13 ± 0,73 a
	246 doy	10,71 ± 0,34 a	11,66 ± 0,70 a	10,60 ± 0,73 a	10,74 ± 1,44 a	11,82 ± 0,84 a
	260 doy	9,87 ± 0,15 a	9,76 ± 0,53 a	10,73 ± 0,53 a	10,22 ± 0,18 a	10,32 ± 0,36 a
Ect	212 doy	9,38 ± 0,04 a	10,53 ± 0,28 a	10,36 ± 0,15 a	10,07 ± 0,14 a	9,84 ± 0,44 a
	224 doy	10,00 ± 0,13 a	8,83 ± 0,39 a	9,66 ± 0,02 a	9,43 ± 0,75 a	8,13 ± 0,10 a
	246 doy	9,21 ± 0,33 a	10,03 ± 0,58 a	10,53 ± 0,99 a	8,44 ± 1,19 a	8,23 ± 0,35 a
	260 doy	9,27 ± 0,56 a	8,83 ± 0,55 a	9,62 ± 0,55 a	8,83 ± 0,23 a	8,79 ± 0,24 a
ECGt	212 doy	3,47 ± 0,42 a	3,36 ± 0,44 a	4,85 ± 1,66 a	3,17 ± 0,12 a	2,65 ± 0,15 a
	224 doy	2,63 ± 0,29 a	3,01 ± 0,07 a	2,62 ± 0,16 a	2,88 ± 0,10 a	2,45 ± 0,17 a
	246 doy	2,52 ± 0,15 a	2,60 ± 0,08 a	2,63 ± 0,12 a	2,43 ± 0,11 a	2,13 ± 0,23 a
	260 doy	1,90 ± 0,11 a	2,34 ± 0,24 a	2,03 ± 0,22 a	2,35 ± 0,12 a	2,13 ± 0,25 a
Ce	212 doy	10,12 ± 0,18 a	9,29 ± 0,24 a	9,19 ± 0,04 a	9,10 ± 0,12 a	9,77 ± 0,60 a
	224 doy	10,33 ± 0,05 a	9,57 ± 0,18 ab	10,07 ± 0,20 a	9,13 ± 0,12 b	9,82 ± 0,31 ab
	246 doy	10,03 ± 0,03 a	9,65 ± 0,55 a	9,18 ± 0,61 a	10,15 ± 0,46 a	10,41 ± 0,31 a
	260 doy	10,38 ± 0,46 a	10,60 ± 0,51 a	11,05 ± 0,88 a	9,89 ± 0,36 a	10,27 ± 0,30 a
ECe	212 doy	51,67 ± 1,27 b	53,45 ± 0,18 ab	56,35 ± 1,14 a	54,13 ± 0,61 ab	54,97 ± 0,22 ab
	224 doy	57,37 ± 0,20 a	57,00 ± 0,16 a	58,32 ± 0,00 a	58,62 ± 0,41 a	58,59 ± 1,21 a
	246 doy	57,91 ± 0,69 a	58,22 ± 0,97 a	58,04 ± 0,87 a	60,11 ± 0,94 a	59,62 ± 0,62 a
	260 doy	60,72 ± 0,35 a	59,56 ± 0,60 ab	57,16 ± 0,47 c	58,70 ± 0,45 abc	58,18 ± 0,59 bc
ECGe	212 doy	8,53 ± 0,13 a	8,89 ± 1,35 a	7,02 ± 2,01 a	8,20 ± 0,66 a	9,26 ± 0,51 a
	224 doy	8,22 ± 1,02 a	10,72 ± 0,22 a	8,83 ± 1,16 a	9,71 ± 0,64 a	8,88 ± 0,46 a
	246 doy	9,62 ± 0,59 a	7,34 ± 2,37 a	10,05 ± 0,15 a	10,01 ± 0,49 a	9,17 ± 0,91 a
	260 doy	8,54 ± 0,63 a	10,36 ± 0,15 a	8,65 ± 0,99 a	10,18 ± 0,55 a	9,56 ± 0,75 a

Στον Πίνακα 7.9 αναγράφεται η εξέλιξη της σύστασης των προανθοκυανιδίων στους φλοιούς κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Οι ενώσεις (+)-κατεχίνη (Ct), (-)-επικατεχίνη (ECt), ο γαλλικός εστέρας της (-)-επικατεχίνης (ECGt) και η (-)-επιγαλλοκατεχίνη (EGCt) ταυτοποιήθηκαν ως τερματικές υπομονάδες, ενώ οι (+)-κατεχίνη - φλωρογλουκινόλη (Ce), (-)-επικατεχίνη-φλωρογλουκινόλη (ECe), ο γαλλικός εστέρας της (-)-επικατεχίνης - φλωρογλουκινόλη (ECGe) και η (-)-επιγαλλοκατεχίνη -φλωρογλουκινόλη (EGCe) ως επεκτατικές υπομονάδες των φλοιών. Ανάλογες αναφορές έχουν υπάρξει και από άλλους ερευνητές (Bordiga et al., 2011; Kennedy & Jones, 2001; Monagas et al., 2003). Αντιθέτως, οι Obreque-Slier et al., (2010) προσδιόρισαν μόνο την Ct ως τερματική υπομονάδα στους φλοιούς των ποικιλιών Carménère και Cabernet Sauvignon.

Οι προανθοκυανιδίνες των φλοιών παρουσιάζουν διαφορές σε σχέση με τα γίγαρτα. Στους φλοιούς η κύρια τερματική υπομονάδα που προσδιορίστηκε ήταν η επιγαλλοκατεχίνη (EGCt) σε ποσοστά 6-14%, ενώ η κύρια επεκτατική υπομονάδα ήταν η επικατεχίνη (ECe) σε ποσοστά 48-50% και η δεύτερη κυρίαρχη η επιγαλλοκατεχίνη (EGCe) σε ποσοστά 27-34%. Τα στοιχεία αυτά έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που προκύπτουν από άλλες μελέτες που αναφέρουν ότι η ECe είναι η κύρια επεκτατική υπομονάδα των φλοιών διαφόρων ποικιλιών όπως Merlot Cabernet Sauvignon, Syrah, Pinot Noir (Cohen et al., 2008; Mattivi et al., 2008; Souquet et al., 1996). Η δεύτερη κυρίαρχη είναι η EGCe. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως για τη σύσταση των γιγάρτων έτσι και στη δομή των ταννινών των φλοιών μπορούν να επιδράσουν οι κλιματικοί παράγοντες. Συγκεκριμένα στην ποικιλία Cabernet Sauvignon προσδιορίστηκαν ως κυρίαρχες υπομονάδες τερματική και επεκτατική στη Χιλή οι ECt και ECe (Obreque-Slier et al., 2010), στην Ιταλία οι ECt και Ce (Mattivi et al., 2008) ενώ στη Κίνα η Ct και η EGCe (Li et al., 2014). Ενδιαφέρον εύρημα για την ποικιλία Ξινόμαυρο αποτελεί η χαμηλή περιεκτικότητα ECGt, ενώ η ECGe παρουσίασε ελαφρώς υψηλότερη συνεισφορά στη δομή των προανθοκυανιδίων. Στην υψηλή περιεκτικότητα των υπομονάδων της EGC οφείλεται το υψηλό ποσοστό %P το οποίο έχει συσχετιστεί αρνητικά με την στυπτικότητα, όπως επίσης στην πολύ χαμηλή περιεκτικότητα των υπομονάδων της ECG οφείλεται το χαμηλό %G, το οποίο έχει συσχετιστεί θετικά με την στυπτικότητα. Ωστόσο το υψηλό ποσοστό της %ECe πιθανά να σημαίνει ότι οι προανθοκυανιδίνες των φλοιών της ποικιλίας Ξινόμαυρο θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως υψηλής στυπτικότητας. Επιπλέον η μεγάλη διαφορά μεταξύ %ECt και %ECe έχει ως αποτέλεσμα υψηλό mDP. Η ανάλυση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των μονομερών και ολιγομερών φλαβαν-3-ολών έχουν δείξει ότι η στυπτικότητα συσχετίζεται και αυξάνεται με την αύξηση του mDP (Clifford, 1986; Robichaud & Noble, 1990).

Στους φλοιούς (Πίνακας 7.9) οι υπομονάδες των προανθοκυανιδινών παρουσίασαν μεταβολές κατά την περίοδο της ωρίμανσης. Το %EGCt σημείωσε αύξηση κατά τη περίοδο της ωρίμανσης και η %EGCe μείωση. Στο στάδιο της ωρίμανσης τα δείγματα των NI ραγών εμπεριείχαν στατιστικά υψηλότερες τιμές των %Ct σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Η %ECt παρουσιάζει υψηλότερες τιμές για τις NI και SV ράγες σε σχέση με τις LH και VH. Η %EGGe έχει μεγαλύτερες τιμές για την NI επέμβαση σε σύγκριση με την LH, ενώ η %EGCe έχει μεγαλύτερες τιμές για την LH επέμβαση σε σχέση με την NI. Η %ECe η οποία είναι και η κύρια επεκτατική υπομονάδα δεν παρουσίασε σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων άρδευσης.

Πίνακας 7.9 Τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες (%) των προανθοκυανιδινών των φλοιών της ποικιλίας Ξινόμαυρο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, όπου εφαρμόστηκαν διαφορετικά επίπεδα άρδευσης σε διάφορα στάδια ανάπτυξης

		NI	LH	VH	SV	FI
Ct	212 doy	3,47 ± 0,31 a	3,24 ± 0,11 a	3,27 ± 0,08 a	3,58 ± 0,06 a	3,49 ± 0,14 a
	224 doy	3,28 ± 0,18 a	2,83 ± 0,15 a	3,15 ± 0,09 a	3,08 ± 0,23 a	2,78 ± 0,14 a
	246 doy	3,22 ± 0,12 a	2,84 ± 0,20 ab	2,85 ± 0,09 ab	2,38 ± 0,19 b	2,50 ± 0,05 ab
	260 doy	4,21 ± 0,48 a	2,67 ± 0,12 b	3,03 ± 0,10 b	2,91 ± 0,11 b	2,87 ± 0,04 b
Ect	212 doy	2,03 ± 0,12 ab	2,23 ± 0,03 a	1,33 ± 0,10 b	1,68 ± 0,12 ab	1,73 ± 0,21 ab
	224 doy	2,18 ± 0,06 a	1,95 ± 0,08 a	1,77 ± 0,13 a	0,94 ± 0,12 b	2,17 ± 0,12 a
	246 doy	1,70 ± 0,20 ab	1,85 ± 0,05 a	1,26 ± 0,03 ab	1,44 ± 0,19 ab	1,23 ± 0,07 b
	260 doy	2,34 ± 0,11 a	1,32 ± 0,13 c	1,40 ± 0,25 bc	2,19 ± 0,10 a	2,05 ± 0,15 ac
EGCt	212 doy	0,02 ± 0,02 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,04 ± 0,04 a
	224 doy	0,11 ± 0,07 a	0,02 ± 0,02 a	0,02 ± 0,02 a	0,05 ± 0,03 a	0,00 ± 0,00 a
	246 doy	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
	260 doy	0,00 ± 0,00 a	0,02 ± 0,02 a	0,02 ± 0,02 a	0,04 ± 0,04 a	0,00 ± 0,00 a
EGCt	212 doy	8,73 ± 1,90 a	6,79 ± 1,46 a	8,13 ± 0,67 a	9,81 ± 0,96 a	9,63 ± 0,22 a
	224 doy	9,40 ± 0,40 a	8,45 ± 0,50 a	10,88 ± 0,39 a	9,69 ± 0,58 a	10,36 ± 1,76 a
	246 doy	11,73 ± 0,72 a	10,34 ± 0,93 a	13,76 ± 1,83 a	13,01 ± 0,99 a	13,74 ± 1,06 a
	260 doy	12,55 ± 1,20 a	10,53 ± 2,93 a	13,38 ± 2,17 a	12,03 ± 1,20 a	12,65 ± 0,49 a
Ce	212 doy	1,91 ± 0,94 a	2,10 ± 0,76 a	1,58 ± 0,60 a	1,90 ± 0,50 a	2,50 ± 0,61 a
	224 doy	1,45 ± 0,14 a	1,88 ± 0,40 a	2,26 ± 0,30 a	2,70 ± 0,20 a	2,43 ± 0,61 a
	246 doy	2,35 ± 0,43 a	1,96 ± 0,59 a	1,44 ± 0,61 a	2,72 ± 0,88 a	3,17 ± 0,13 a
	260 doy	2,03 ± 0,63 a	1,50 ± 0,68 a	0,82 ± 0,40 a	1,97 ± 0,77 a	2,11 ± 0,79 a
ECe	212 doy	50,08 ± 0,44 a	49,18 ± 0,22 a	50,99 ± 0,89 a	48,74 ± 0,67 a	49,52 ± 1,28 a
	224 doy	51,98 ± 1,15 a	48,81 ± 0,20 a	48,32 ± 0,46 a	50,23 ± 0,72 a	49,64 ± 1,50 a
	246 doy	49,77 ± 0,03 a	50,61 ± 1,60 a	50,47 ± 1,57 a	47,93 ± 0,89 a	50,26 ± 1,09 a
	260 doy	48,69 ± 0,89 a	48,99 ± 1,64 a	49,65 ± 1,17 a	49,48 ± 0,92 a	50,06 ± 0,24 a
ECGe	212 doy	2,48 ± 0,11 a	1,93 ± 0,06 ab	1,65 ± 0,04 ab	1,88 ± 0,09 b	1,86 ± 0,25 ab
	224 doy	2,37 ± 0,18 a	2,13 ± 0,18 a	1,89 ± 0,12 a	1,85 ± 0,41 a	1,75 ± 0,12 a
	246 doy	2,12 ± 0,08 a	1,65 ± 0,23 a	1,80 ± 0,19 a	1,39 ± 0,15 a	1,27 ± 0,07 a
	260 doy	2,43 ± 0,16 a	1,52 ± 0,09 b	1,72 ± 0,34 ab	1,94 ± 0,07 ab	1,54 ± 0,17 ab
EGCe	212 doy	31,28 ± 3,80 a	34,53 ± 2,14 a	33,15 ± 0,65 a	32,41 ± 0,66 a	31,68 ± 0,45 a
	224 doy	29,50 ± 1,08 a	33,92 ± 0,58 a	31,71 ± 1,06 a	31,14 ± 1,17 a	30,88 ± 1,06 a
	246 doy	28,90 ± 0,27 a	31,09 ± 0,51 a	28,76 ± 1,80 a	31,21 ± 1,38 a	28,21 ± 0,50 a
	260 doy	27,75 ± 0,37 b	34,17 ± 1,62 a	29,99 ± 1,31 ab	29,63 ± 0,37 ab	29,31 ± 0,55 ab

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, παρατηρείται επίδραση της άρδευσης στη δομή των φλοιών. Στο στάδιο της ωρίμανσης, τα δείγματα των ραγών που δέχτηκαν άρδευση λίγο πριν ωρίμανση LH, εμπεριείχαν στατιστικά υψηλότερες τιμές των %EGCe, που αποτελεί την δεύτερη κυρίαρχη επεκτατική υπομονάδα και μπορεί να σχετιστεί αρνητικά με την στυπτικότητα, σε σχέση με την συνεχόμενα ελλειμματική άρδευση NI. Συνεπώς οι φλοιοί των LH ραγών θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν από μειωμένη στυπτικότητα σε σχέση με αυτούς των ραγών οι οποίοι προήλθαν από πρέμνα όπου εφαρμόστηκε ελλειμματική άρδευση NI.

Συνολικά, οι φλοιοί και τα γίγαρτα της ποικιλίας Ξινόμαυρο χαρακτηρίζονται από πολύ υψηλά ποσοστά της %ECe χωρίς όμως να παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλό mDP κάτι το οποίο πιθανά να σημαίνει ότι εκτός από τη γνώση του μεγέθους, η δομή των μορίων των ταννινών των σταφυλιών μπορεί να αποτελέσει εργαλείο για τον τρόπο επεξεργασίας του σταφυλιού και για τη μέθοδο οινοποίησης που θα μπορούσε να εφαρμοστεί στην κάθε ποικιλία.

8.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, δείχνουν στο σύνολό τους, τη θετική επίδραση της συνεχούς ελλειμματικής άρδευσης (NI) στη συνολική συγκέντρωση των ανθοκυανών. Ωστόσο η πλήρης άρδευση πριν το στάδιο της ωρίμανσης (LH) δεν διέφερε σημαντικά από τη συνεχή ελλειμματική άρδευση (NI), επομένως πιθανά μπορούμε να πούμε, ότι η πλήρης άρδευση λίγο πριν την ωρίμανση δεν επηρεάζει την συγκέντρωση των ανθοκυανών. Επιπλέον η πλήρης άρδευση από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό (SV) και η πλήρης άρδευση από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση (VH), δεν δίνει αποτελέσματα με σημαντική διαφορά, όσον αφορά την συγκέντρωση των μονομερών ανθοκυανών αλλά και του συνόλου, σε σύγκριση με την πλήρη άρδευση σε όλα τα στάδια (FI). Η αύξηση των συγκεντρώσεων των ανθοκυανών των ραγών συχνά ερμηνεύεται έμμεσα από τις διαφοροποιήσεις στην ηλιακή έκθεση της καρποφόρας ζώνης των πρέμνων αλλά και από την άμεση επίδραση, στην έκφραση των γονιδίων της δημιουργίας των φλαβονοειδών. Ωστόσο, η θετική επίδραση της ελλειμματικής άρδευσης (NI) στο περιεχόμενο των ραγών σε ανθοκυανές θα μπορούσε εν μέρει να είναι αποτέλεσμα των διαφορών που παρατηρήθηκαν στο μέγεθος της ράγας και στην αναλογία φλοιού/σάρκα, καθώς και τα δύο χαρακτηριστικά επηρεάζονται από τις συνθήκες άρδευσης.

Το βάρος των ραγών στο στάδιο ωρίμανσης, για τα πρέμνα που δέχτηκαν πλήρη άρδευση (FI) και άρδευση από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό (SV), ήταν μεγαλύτερο, σε σύγκριση με τα πρέμνα που δέχτηκαν συνεχή ελλειμματική άρδευση (NI). Τα βάρη των νωπών φλοιών, δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ των διαφόρων επεμβάσεων. Παρατηρώντας τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων εκφρασμένα σε νωπό βάρος φλοιών και ως δεδομένο ότι τα βάρη των φλοιών δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, βλέπουμε ότι η περιεκτικότητα των μονομερών ανθοκυανών της D1p, M1v, M1vac και M1vcoum επηρεάστηκε θετικά από την άρδευση. Οι υψηλές συγκεντρώσεις, των ελλειμματικά αρδευόμενων πρέμνων (NI) και των αρδευόμενων λίγο πριν το στάδιο της ωρίμανσης (LH), σε σχέση με τα SV, VH και FI, οφείλονται κυρίως στην συσσώρευση των ανθοκυανών και όχι στην επίδραση του μεγέθους της ράγας. Ωστόσο τελικά, οι συνολικές συγκεντρώσεις των ανθοκυανών, εκφρασμένες ανά νωπό βάρος φλοιών, δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους, γεγονός που πιθανά σημαίνει ότι μεγαλύτερη επίδραση στην συγκέντρωση των ανθοκυανών έχει το μέγεθος της ράγας. Αυτό φαίνεται και από τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων ανά g ράγας. Η επέμβαση της άρδευσης είχε μια έμμεση επίδραση στην περιεκτικότητα των μονομερών ανθοκυανών της D1p, Pt, M1v, M1vac και M1vcoum, αλλά και στην συνολική συγκέντρωση των ανθοκυανών.

Ενδιαφέρον εύρημα της παρούσας μελέτης αποτελεί ο τρόπος συσσώρευσης των μονομερών ανθοκυανών, εκτός της κυανιδίνης και της πεονιδίνης, για τις NI και LH επεμβάσεις, για τις οποίες καταγράφηκε μεγάλη αύξηση από τον περκασμό, με μέγιστη συγκέντρωση την 34^η ημέρα μετά τον περκασμό και στη συνέχεια παρουσίασαν πτωτική τάση μέχρι την ωρίμανση. Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις των ανθοκυανών μεταξύ των συνθηκών άρδευσης, παρουσίασαν τις μέγιστες σημαντικές διαφορές –NI και LH σε σύγκριση με SV, VH και FI- στο μέγιστο σημείο συσσώρευσής τους –των NI και LH επεμβάσεων-. Το συμπέρασμα αυτό θα μπορούσε να αποτελέσει σημαντική πληροφορία για τους οινοπαραγωγούς στην επιλογή της ημέρας συγκομιδής.

Οι προανθοκυανιδίνες των γιγάρτων ήταν μικρότερες σε μέγεθος, με χαμηλό mDP (3-7), μεγαλύτερο βαθμό εστεροποίησης %G (10-13) και απουσία προδελφινιδίων (επιγαλλοκατεχίνης EGC). Η κύρια τερματική μονάδα ήταν η κατεχίνη Ct (9-17%) και με παρόμοια ποσοστά η δεύτερη κυρίαρχη, η επικατεχίνη ECt (8-11%) ενώ στη δομή τους κυριαρχεί η επικατεχίνη EC ως επεκτατική υπομονάδα (50-60%), η οποία παρουσίασε αύξηση κατά την διάρκεια της ωρίμανσης και έχει συσχετιστεί έντονα με τη στυπτικότητα. Στους φλοιούς ο mDP των προανθοκυανιδίων μειώθηκε κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Το σύνολο των προανθοκυανιδίων των φλοιών αποτελείται από μεγαλύτερα μόρια σε σχέση με των γιγάρτων (5-9), τιμές όμως χαμηλές σε σχέση με τις περισσότερες αναφορές σε διάφορες ποικιλίες στη βιβλιογραφία, έχουν αρκετά μικρότερο βαθμό εστεροποίησης %G (1-3) και πολύ μεγαλύτερο ποσοστό προδελφινιδίων %P (35-45). Στη δομή των προανθοκυανιδίων των φλοιών προσδιορίστηκε η επιγαλλοκατεχίνη EGC ως κύρια τερματική υπομονάδα (6-14), ενώ ως επεκτατική η επικατεχίνη EC (48-50), η οποία έχει συσχετιστεί θετικά με την στυπτικότητα και δεύτερη κυρίαρχη η επιγαλλοκατεχίνη EGC (27-34), η οποία έχει συσχετιστεί αρνητικά. Ενδιαφέρον εύρημα για την ποικιλία Ξινόμαυρο αποτελεί, η πολύ χαμηλή περιεκτικότητα της τερματικής υπομονάδας του γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης ECGt, ενώ η επεκτατική της υπομονάδα ECGe παρουσίασε ελαφρώς υψηλότερη συνεισφορά στη δομή των προανθοκυανιδίων. Στην υψηλή περιεκτικότητα των υπομονάδων της επιγαλλοκατεχίνης EGC οφείλεται το υψηλό ποσοστό προδελφινιδίων %P το οποίο έχει συσχετιστεί αρνητικά με την στυπτικότητα, όπως επίσης στην πολύ χαμηλή περιεκτικότητα των υπομονάδων του γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης ECG οφείλεται το χαμηλό ποσοστό εστεροποίησης %G, το οποίο έχει συσχετιστεί θετικά με την στυπτικότητα. Ωστόσο η μείωση του %EGCe κατά την περίοδο της ωρίμανσης και το υψηλό ποσοστό της %ECe πιθανά να σημαίνει ότι οι προανθοκυανιδίνες των φλοιών της ποικιλίας Ξινόμαυρο θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως υψηλής στυπτικότητας. Επιπλέον αναφέρεται ότι η στυπτικότητα των προανθοκυανιδίων, αυξάνεται μέχρι το mDP=6 και στη συνέχεια μειώνεται έως ότου τα μόρια γίνουν λιγότερο διαλυτά ή πολύ μεγάλα ώστε να μπορούν να ενωθούν με πρωτεΐνες, ενώ

οι μεγαλύτερες σε μέγεθος προανθοκυανιδίνες εκχυλίζονται δυσκολότερα κατά τη διαδικασία της συμπαραμονής των φλοιών με το γλεύκος. Επομένως ένα μέρος της υψηλής συτπικότητας και της τραχύτητας που χαρακτηρίζει το Ξινόμαυρο να οφείλεται στα μικρά μόρια προανθοκυανιδίων των φλοιών.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής για τους φλοιούς, έδειξαν ότι ο mDP των πρέμνων που δέχτηκαν συνεχή ελλειμματική άρδευση (NI) καθώς και πλήρη άρδευση από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό (SV), είχε μικρότερες τιμές σε σύγκριση με την πλήρη άρδευση από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση (VH) και την πλήρη άρδευση λίγο πριν την ωρίμανση (LH) που παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές mDP, ο οποίος έχει συσχετιστεί θετικά με την συτπικότητα. Αντιθέτως στα γιγάρτα δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή του mDP μεταξύ των επεμβάσεων. Θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι οι φλοιοί των πρέμνων που δέχτηκαν πλήρη άρδευση στην ωρίμανση, μετά τον περκασμό θα αυξήσουν την συτπικότητα στους οίνους σε σχέση πρέμνων που δέχτηκαν συνεχόμενα ελλειμματική άρδευση. Αντίθετα, οι προανθοκυανιδίνες των γιγάρτων για τα πρέμνα που δέχτηκαν συνεχή ελλειμματική άρδευση (NI) αποτελούνται από μεγαλύτερο ποσοστό ECe σε σχέση με αυτά που εφαρμόστηκε πλήρη άρδευση από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση (VH) και πλήρη άρδευση σε όλα τα στάδια (FI). Συνεπώς θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν από αυξημένη συτπικότητα αφού η ECe έχει συσχετιστεί έντονα με τη συτπικότητα, γεγονός μπορεί να ληφθεί ως κριτήριο στον τρόπο άρδευσης του Ξινόμαυρου. Στους φλοιούς η %EGCe, η οποία έχει συσχετιστεί αρνητικά με την συτπικότητα έχει μεγαλύτερες τιμές για την LH επέμβαση σε σχέση με την NI ενώ η %ECe η οποία είναι και η κύρια επεκτατική υπομονάδα δεν παρουσίασε σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων άρδευσης. Στους φλοιούς υψηλότερες τιμές του %G παρατηρήθηκαν στα NI δείγματα σε σύγκριση με τα LH και FI ενώ άρδευση δεν φάνηκε να επηρεάζει το %G των γιγάρτων, το οποίο είναι αρκετά μεγαλύτερο σε σύγκριση με αυτό των φλοιών και συσχετίζεται θετικά με την συτπικότητα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Acevedo-Opazo, C.; Ortega-Farias, S.; Fuentes, S. (2010) Effects of grapevine (*Vitis vinifera* L.) water status on water consumption, vegetative growth and grape quality: an irrigation scheduling application to achieve regulated deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 97, 956-964
- Arnous, A.; Makris, D.P.; Kefalas, P. (2002a). Anthocyanin composition and colour characteristics of selected aged wines produced in Greece. *Journal of Wine Research*, 13, 23-34.
- Arnous, A.; Makris, D.P.; Kefalas, P. (2002b). Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 655-665.
- Adams, D. Phenolics and ripening in grape berries. (2006) *American Journal of Enology and Viticulture*, 3, 249-256.
- Basile, B.; Marsal, J.; Mata, M.; Vallverdu, X.; Bellvert, J.; Girona, J. (2011). Phenological sensitivity of Cabernet Sauvignon to water stress: vine physiology and berry composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 62, 452–461.
- Bordiga, M.; Travaglia, F.; Locatelli, M.; Coisson, J.D.; Arlorio, M. (2011). Characterization of polymeric skin and seed proanthocyanidins during ripening in six *Vitis vinifera* L. cv. *Food Chemistry*, 127, 180-187.
- Brossaud, F.; Cheynier, V.; Noble, A.C. (2001). Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(1), 33-39.
- Bucchetti, B.; Matthews, M.A.; Falginella, L.; Peterlunger, E.; Castellarin, S.D. (2011) Effect of water deficit on Merlot grape tannins and anthocyanins across four seasons. *Scientia Horticulturae*, 128, 297-305.
- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 67–87.
- Cacho, J.; Fernandez, P.; Ferreira, V.; Castell, J. E. (1992) Evolution of five anthocyanidin-3-glucosides in the skin of Tempranillo, Moristel, and Garnacha grape varieties and influence of climatological variables. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43, 244-248.
- Casassa, L. F.; Beaver, C.W.; Mireles, M.S.; Harbertson, J. F. (2013a) Effect of extended maceration and ethanol concentration on the extraction and evolution of

phenolics, colour components and sensory attributes of Merlot wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19, 25–39.

Casassa, L. F.; Larsen, R.C.; Beaver, C. W.; Mireles, M. S.; Keller, M.; Riley, W.R; Smithyman, R.; Harbertson, J. F. (2013b) Impact of Extended Maceration and Regulated Deficit Irrigation (RDI) in Cabernet Sauvignon Wines: characterization of proanthocyanidin distribution, anthocyanin extraction, and chromatic properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 6446–6457

Casassa, L. F.; Keller, M; Harbertson, J.F. (2015). Regulated deficit irrigation alters anthocyanins, tannins and sensory properties of Cabernet Sauvignon grapes and wines. *Molecules*, 20, 7820-7844.

Castañeda-Ovando, A.; Pacheco-Hernandez, M.L.; Paez-Hernandez, M.E.; Rodriguez, J.A.; Galan-Vidal, C.A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113, 859-871.

Castellarin, S.D.; Matthews, M.A.; Di Gaspero, G.; Gambetta, G.A. (2007a) Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta* 227, 101-112.

Castellarin, S.D.; Pfeiffer, A.; Sivilotti, P.; Degan, M.; Peterlunger, E.; Di Gaspero, G. (2007b) Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant, Cell and Environment* 30, 1381-1399.

Chacon, J.L.; Garcia, E.; Martinez, J.; Romero, R.; Gomez, S. (2009). Impact of the vine water status on the berry and seed phenolic composition of 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) cultivated in a warm climate: Consequence for the style of wine. *Vitis*, 49.

Chaves, M.M.; Santos, T.P.; Souza, C.R.; Ortuño, M.F.; Rodrigues, M.L.; Lopes, C.M.; Maroco, J.P.; Pereira, J.S. (2007/0. Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology* 150: 237-252.

Chaves, M.M.; Zarrouk, O.; Francisco, R.; Costa, J.M.; Santos, T.; Regalado, A.P.; Rodrigues, M.L.; Lopes, C.M. (2010). Grapevine under deficit irrigation: Hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany* 105, 661-676.

Cheynier, V. (2005) Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 222S-229S.

Chira, K.; Pacella, N.; Jourdes, M.; Teissedre, P.L. (2011) Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry*, 126, 1971-1977.

Chira, K.; Schmauch, G.; Saucier, C.; Fabre, S.; Teissedre, P.-L. (2009). Grape variety effect on proanthocyanidin composition and sensory perception of skin and seed tannin extracts from Bordeaux wine grapes (Cabernet Sauvignon and Merlot) for Two consecutive vintages (2006 and 2007). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57(2), 545-553.

Chira, K.; Zeng, L.; Le Floch, A; Péchamat, L.; Jourdes, M.; Teissedre, P.L. (2015) Compositional and sensory characterization of grape proanthocyanidins and oak wood ellagitannin. *Tetrahedron*, 71, 2999-3006.

Clifford, M.N. (1986). Phenol-protein interactions and their possible significance for astringency, pp. 143-163. In: Birch G.G., Lindley M.G. (eds.) *Interactions of Food Components*. CABI: Wallingford, UK.

Cohen, S.D.; Tarara, J.M.; Kennedy J.A. (2008). Assessing the impact of temperature on grape phenolic metabolism. *Analytica Chimica Acta*, 621, 57-67.

Cosme, F.; Ricardo-Da-Silva, J.M.; Laureano, O. (2009). Tannin profiles of *Vitis vinifera* L. cv. red grapes growing in Lisbon and from their monovarietal wines. *Food Chemistry*, 112(1), 197-204.

Ćurko, N.; Kovačević Ganić, K.; Gracin, L.; Đapić, M.; Jourde, M.; Teissedre, P.L. (2014). Characterization of seed and skin polyphenolic extracts of two red grape cultivars grown in Croatia and their sensory perception in a wine model medium. *Food Chemistry*, 145, 15-22.

Davies, A.J. and Mazza, G. (1993). Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 716-720.

Downey, M.O.; Harvey, J.S.; Simon, R. (2003) Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9, 15-27.

Dixon, R.A.; Xie, D.Y.; Sharma, S.B. Proanthocyanidins - a final frontier in flavonoid research? *New Phytol.* 2005, 165, 9-28.

Drinkine, J.; Lopes, P.; Kennedy, J. A.; Teissedre, P. L.; Saucier, C. (2007) Analysis of ethylidene-bridged flavan-3-ols in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1109-1116

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

Fournand, D.; Vicens, A.; Sidhoum, L.; Souquet, J.M.; Moutounet, M.; Cheynier, V. (2006). Accumulation and extractability of grape skin tannins and anthocyanins at different advanced physiological stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7331-7338.

Gawel, R. (1998). Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 4, 74-95.

Gómez-Ariza, J.L.; García-Barrera, T.; Lorenzo, F. (2006). Anthocyanins profile as fingerprint of wines using atmospheric pressure photoionisation coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 570, 101-108.

González-Neves, G.; Barreiro, L.; Gil, G.; Franco, J.; Ferrer, M.; Moutounet, M.; Carbonneau, A. (2004). Anthocyanic composition of Tannat grapes from the south region of Uruguay. *Analytica Chimica Acta*, 513, 197-202.

Gris, E.F.; Mattivi, F.; Ferreira, E.A.; Vrhovsek, U.; Filho, D.W.; Pedrosa, R.C.; d Bordignon-Luiz, M.T. (2011). Stilbenes and tyrosol as target compounds in the assessment of antioxidant and hypolipidemic activity of *Vitis vinifera* red wines from Southern Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 7954-7961.

Hanlin R.L. and Downey, M.O. Condensed tannin accumulation and composition in Shiraz and Cabernet Sauvignon grapes during berry development. *American Journal of Enology and Viticulture*, 2009, 60(1), 13-23.

Harbertson, J. F.; Mireles, M.; Harwood, E.; Weller, K. M.; Ross, C. F. (2009). Chemical and sensory effects of Saignée, water addition and extended maceration on high Brix must. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60, 450–460.

He, F.; Liang, N.; Mu, L.; Pan, Q.H.; Wang, J.; Reeves, M. Duan, C.Q. (2012). Anthocyanins and their variation in red wines. I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules* 17, 1571-1601.

Hernández-Hierro, J.M.; Quijada-Morín, N.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Escribano-Bailón, M. (2012). Influence of the physiological stage and the content of soluble solids on the anthocyanin extractability of *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo grapes. *Analytica Chimica Acta*, 732, 26-32.

Jackson, R. S. (2008). *Wine science: principles and applications*. Elsevier Academic Press. San Diego, California.

Jordão, A.M. and Correia, A.C. (2012). Relationship between antioxidant capacity, proanthocyanidin and anthocyanidin content during grape maturation of Touriga Nacional and Tinta Roriz grape varieties. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 33(2), 214-224.

Kallithraka, S.; Bakker, J.; Clifford, M. N. (1998). Evidence that salivary proteins are involved in astringency. *Journal of Sensory Studies*, 13, 29-43.

Kallithraka, S.; Bakker, J.; Clifford, M.N. (1996). Evaluation of bitterness and astringency of (+)-catechin and (-)-epicatechin in red wine and in model solution *Journal of Sensory Studies*, 12 (1), 25-37.

Kallithraka, S.; Kim, D.; Tsakiris, A.; Paraskevopoulos, I.; Soleas, G. (2011). Sensory assessment and chemical measurement of astringency of Greek wines: Correlations with analytical polyphenolic composition. *Food Chemistry*, 126, 1953-1958.

Kallithraka, S.; Kotseridis, Y.; Kyraleou, M.; Proxenia, N.; Tsakiris, A.; Karapetrou, G. (2014). Analytical phenolic composition and sensory assessment of selected rare Greek cultivars after extended bottle ageing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(8), 1638-1647.

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

Kennedy, J.A. and Jones, G.P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1740-1746.

Kennedy, J.A. and Waterhouse, A.L. (2000). Analysis of pigmented high-molecularmass grape phenolics using ion-pair, normal-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 866(1), 25-34.

Kennedy, J.A.; Matthews, M.A.; Waterhouse, A.L. (2002). Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53, 268-274

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

Kennedy, J.A; Troup, G.J.; Pilbrow, J.R.; Hutton, D.R.; Hewitt, D.; Hunter, C.R.; Ristic, R.; Iland, P.G.; Jones G.P. (2000). Development of seed polyphenols in berries from *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6, 244-254.

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

Koundouras, S.; Kanakis, I.; Drossou, E.; Kallithraka, S.; Kotseridis, Y. (2013). Effects of postveraison water regime on the phenolic composition of grapes and wines of cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 47, 115-128.

Koundouras, S.; Marinos, V.; Gkoulioti, A.; Kotseridis, Y.; van Leeuwen C. (2006). Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5077-5086.

Kupiec, T. (2004). *Quality-Control Analytical Methods : High-Performance Liquid Chromatography*, 8(3), 223–227.

Lea, A. G. H., Flavor, color and stability in fruit products: the effect of polyphenols. In *Plant Polyphenols*, P.E., H. R. W. a. L., Ed. Plenum Press: New York, 1992; pp 827-837.

Li, Q.; Liu Y.X.; Pan, Q.H.; Duan, C.Q.; Shi, Y. (2014). Comparison of Proanthocyanidins with Different Polymerisation Degrees among Berry Skins of ‘Shiraz’, ‘Cabernet Sauvignon’, and ‘Marselan’. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 35(1), 51-58.

Lorenzo, C., Pardo, F., Zalacain, A., Alonso, G.L. & Salinas, M.R. (2005). Effect of red grapes co-winemaking in polyphenols and color of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7609–7616.

Lorrain, B.; Chira, K.; Teissedre, P.L. (2011). Phenolic composition of Merlot and Cabernet-Sauvignon grapes from Bordeaux vineyard for the 2009-vintage: Comparison to 2006, 2007 and 2008 vintages. *Food Chemistry*, 126, 1991-1999.

Makris, D.P.; Kallithraka, S.; Kefalas, P. (2006b). Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 396-404.

Makris, D.P.; Kallithraka, S.; Mamalos, A. (2006a). Differentiation of young red wines based on cultivar and geographical origin with application of chemometrics of principal polyphenolic constituents. *Talanta*, 70, 1143-1152.

Matthews, M.A. and Anderson, M.M. (1989) Reproductive development in *Vitis vinifera* L.: responses to seasonal water deficits. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40, 52-60.

Mattivi, F.; Vrhovsek, U.; Masuero, D.; Trainotti, D. (2008). Differences in the amount and structure of extractable skin and seed tannins amongst red grape varieties. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15, 27-35.

McMurry, J. (2005). *Οργανική Χημεία*. Τόμος Ι.

Mirabel, M. (2000). *Caractéristiques chimiques et organoleptiques des tanins des raisins de Vitis vinifera var. Merlot et Cabernet Sauvignon issus de différents terroirs bordelais*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 2, Bordeaux

Monagas, M.; Gomez-Cordoves, C.; Bartolome, B.; Laureano, O.; Ricardo Da Silva, J.M. (2003). Monomeric, Oligomeric, and Polymeric Flavan-3-ol Composition of Wines and Grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 6475-6481.

Mulinacci, N.; Santamaria, A.R.; Giaccherini, C.; Innocenti, M.; Vallenta, A.; Ciolfi G.; Pasqua, G. (2008). Anthocyanins and flavan-3-ols from grapes and wines of *Vitis vinifera* cv. Cesanese d'Affile. *Natural Product Research*, 22, 1033-1069.

Obreque-Slier, E; Peña-Neira, A.; Lopez-Solís, R.; Zamora-Marín, F.; Ricardo-da Silva, M.A.; Laureano, O. (2010). Comparative Study of the Phenolic Composition of Seeds and Skins from Carménère and Cabernet Sauvignon Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58, 3591-3599.

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

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

Ollé, D.; Guiraud, J.L.; Souquet, J.M.; Terrier, N.; Ageorges, A.; Cheynier, V.; Verries, C. (2011). Effect of pre- and post-veraison water deficit on proanthocyanidin and anthocyanin accumulation during Shiraz berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17, 90-100.

Peleg, H.; Gacon, K.; Schlich, P.; Noble A.C. (1999). Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1123-1128.

Porter, L.J.; Hrstich, L.N.; Chan, B.G. (1986). The conversion of procyanidins and prodelfinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25, 223-230.

Prieur, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. (1994). Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry*, 36, 781-784.

Quijada-Morín, N.; Regueiro, J.; Simal-Gándara, J.; Tomás, E.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Escribano-Bailón, M.T. (2012). Relationship between the sensory-determined astringency and the flavanolic composition of red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 60(50), 12355-12361.

Ribereau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. (1999). *Handbook of Enology*, vol. 2. John Wiley & sons, Ltd, Chichester, pp 141-203

Ricardo-da-Silva, J.M.; Cheynier, V.; Souquet, J.M.; Moutounet, M.; Cabanis, J.C.; Bourzeix, M. (1991a). Interaction of grape seed procyanidins with various proteins in relation to wine fining. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 57, 111-125.

Ricardo da Silva, J.M.; Darmon, N.; Fernández, Y.; Mitjavila, S. (1991b). Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39, 1549-1552.

Rinaldi, A.; Jourdes, M.; Teissedre, P.L.; Moio L.A. (2014). Preliminary characterization of Aglianico (*Vitis vinifera* L. cv.) grape proanthocyanidins and

evaluation of their reactivity towards salivary proteins. *Food Science and Technology*, 164, 142-149.

Roby, G. and Matthews, M. (2004). Relative proportions of seed, skin and flesh in ripe berries from Cabernet Sauvignon grapevines grown in a vineyard either well irrigated or under water deficit. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10, 74-82

Roby, G.; Harbertson, J.F.; Adams, D.A.; 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, 2004

Rolle, L.; Torchio, F.; Zeppa, G.; Gerbi, V. (2009). Relationship between Skin Break Force and Anthocyanin Extractability at Different Ripening Stages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(1), 93-97.

Romero-Cascales, I.; Fernández-Fernández J.I.; López- Roca, J.M.; Gómez-Plaza, S.; (2005a). The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. *European Food Research and Technology Journal*, 221, 163-167.

Romero-Cascales, I.; Ortega-Regules, A.; López- Roca, J.M.; Fernández-Fernández, J.I.; Gómez-Plaza, S. (2005b). Differences in Anthocyanin Extractability from grapes to wines according to variety. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(3), 212-219.

Romero, P.; Fernández-Fernández, J.I.; Martínez-Cutillas, A. (2010). Physiological thresholds for efficient regulated deficit-irrigation management in winegrapes grown under semiarid conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61, 300-312.

Shellie, K.C. (2011). Interactive Effects of Deficit Irrigation and Berry Exposure Aspect on Merlot and Cabernet Sauvignon in an Arid Climate. *American Journal of Enology and Viticulture*, 62(4), 462-470.

Sivilotti, P.; Bonetto, C.; Paladin, M.; Peterlunger, E. (2005). Effect of soil moisture availability on Merlot: from leaf water potential to grape composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56, 9-18.

Skoog, D., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2005). Αρχές ενόργανης ανάλυσης.

Souquet, J.M.; Labarbe, B.; Le Guernevé, C.; Cheynier, V.; Moutounet, M. (2000). Phenolic composition of grape stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 1076-1080.

Sun, B.; De Sa, M.; Leonardo, M.; Caldeira, I.; Duarte, F.L.; Spranger, I. (2013). Reactivity of polymeric proanthocyanidins toward salivary proteins and their contribution to young red wine astringency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 939-926.

Sun, B.; Neves, A.; Fernandes, T.A.; Fernandes, A.L.; Mateus, N.; De Freitas, V.; Leonardo, C.; Spranger, M.I. (2011). Evolution of phenolic composition of red wine during vinification and storage and its contribution to wine sensory properties and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 6550-6557.

Sun, B.; Ricardo-da-Silva, J.M.; Spranger, M.I. (2001). Quantification of catechins and proanthocyanidins in several Portuguese grapevine varieties and red wines. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 16, 23-34.

Teixeira, A.; Eiras-Dias, J.; Castellarin, S.D.; Gerós, H. (2013). Berry Phenolics of Grapevine under Challenging Environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 18711-18739

Thorngate, J.H. and Noble, A.C. (1995). Sensory evaluation of bitterness and astringency of 3R(-)-epicatechin and 3S(+)-catechin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67, 531-535.

Trousdale, E.K. and Singleton, V.L. (1983). Astilbin and engeletin in grapes and wine. *Phytochemistry*, 22, 619-620.

Valdes, M.E.; Moreno, D.; Gamero, E.; Uriarte, D.; Prieto, M.H.; Manzano, R.; Picon, J.; Intrigliolo D.S. (2009). Effects of cluster thinning and irrigation amount on water relations, growth, yield and fruit and wine composition of Tempranillo grapes in Extremadura (Spain). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 43, 67-76

Vidal, S.; Francis, L.; Guyot, S.; Marnet, N.; Kwiatkowski, M.; Gawel, R.; Cheynier, V.; Waters, E.J. (2003). The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 564-573.

Vitrac, X.; Castagnino, C.; Waffo-Téguo, P.; Delaunay, J.C.; Vercauteren, J.; Monti, J.-P.; Deffieux, G. and Mérillon, J.M. (2001). Polyphenols newly extracted in red wine

from Southwestern France by centrifugal partition chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5934-5938.

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

Zhao, Q.; Duan, C.Q.; Wang, J. (2010). Anthocyanins profile of grape berries of *Vitis amurensis*, its hybrids and their wines. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 2212-2228.

Γεωργίου Δημήτρης, (2007). Μελέτη αρωματικού χαρακτήρα οίνων Ξινόμαυρου Νάουσας, μεταπτυχιακή ερευνητική μελέτη. Αθήνα

Κουράκου-Δραγώνα, Σ. (1998). Θέματα Οινολογίας. Αθήνα: Τροχαλία.

Σουφλερός, Ε. (2000). Οινολογία, Επιστήμη και Τεχνογνωσία, Τομός Ι. Θεσσαλονίκη: Τυπογραφία Παπαγεωργίου.

Σουφλερός, Ε. (2000). Οινολογία, Επιστήμη και Τεχνογνωσία, Τομός ΙΙ. Θεσσαλονίκη: Τυπογραφία Παπαγεωργίου.

Σπινθηροπούλου Χ. (2000). Οινοποιήσιμες Ποικιλίες του Ελληνικού Αμπελώνα. Olive Press. Αθήνα.

Σταυρακάκης Μ. (2004). Ειδική αμπελουργία ΙΙΙ. Θέματα Αμπελογραφίας. Πανεπιστημιακές παραδόσεις. Αθήνα.