

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**  
**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**“ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ”**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΜΠΕΛΟΤΕΜΑΧΙΟΥ**  
**ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ**  
**ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ**



**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

**ΒΙΚΤΩΡΙΑ Μ. ΒΕΡΑΡΟΥ**

**ΑΘΗΝΑ, 2019**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ  
ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ  
ΣΠΟΥΔΩΝ  
“ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ”  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΜΠΕΛΟΤΕΜΑΧΙΟΥ ΣΤΑ  
ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ  
ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΒΙΚΤΩΡΙΑ Μ. ΒΕΡΑΡΟΥ**

**Τριμελής Επιτροπή**

**Αικ. Μπινιάρη**, Επίκουρη Καθηγήτρια Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Επιβλέπουσα.

**Σ. Φουντάς**, Αναπληρωτής Καθηγητής Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Μέλος.

**Ι. Παπαδάκης**, Επίκουρος Καθηγητής Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Μέλος.

**ΑΘΗΝΑ, 2019**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ  
ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ  
ΣΠΟΥΔΩΝ  
“ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ”  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΛΟΓΙΑΣ**

**STUDY OF EFFECT OF THE VARIABILITY OF THE  
DIFFERENT PLOTS ON THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE  
CHARACTERISTICS OF AGIORGITIKO GRAPES**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΒΙΚΤΩΡΙΑ Μ. ΒΕΡΑΡΟΥ**

**Τριμελής Επιτροπή**

**Αικ. Μπινιάρη**, Επίκουρη Καθηγήτρια Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Επιβλέπουσα.

**Σ. Φουντάς**, Αναπληρωτής Καθηγητής Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Μέλος.

**Ι. Παπαδάκης**, Επίκουρος Καθηγητής Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Μέλος.

**ΑΘΗΝΑ, 2019**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Νιώθω την ανάγκη πριν προχωρήσω στην έκθεση της παρούσα πτυχιακής μελέτης, να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου σε όλους αυτούς που συνέβαλλαν στην ολοκλήρωση αυτού του έργου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερωσ την κα. Α. Μπινιάρη, Επίκουρη Καθηγήτρια του Γ.Π.Α. και Διευθύντρια του Εργαστηρίου Αμπελολογίας που με δέχτηκε στο εργαστήριο Αμπελολογίας και για την υπομονή που έδειξε μέχρι να διεκπεραιωθεί το πειραματικό μέρος, όπως και η συγγραφή της πτυχιακής αυτής μελέτης.

Ευχαριστώ τον κ. Σ. Φουντά, Αναπληρωτή Καθηγητή του Εργαστηρίου Γεωργικής Μηχανολογίας του Γ.Π.Α. και τον κ. Ι. Παπαδάκη, Επίκουρο Καθηγητή του Εργαστηρίου Δενδροκομίας του Γ.Π.Α, μέλη της τριμελούς επιτροπής για το χρόνο που μου διέθεσαν καθώς και για την εξέταση της πτυχιακής μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Ομότιμο Καθηγητή Μ.Ν. Σταυρακάκη για την καθοδήγηση και το ενδιαφέρον του, τη Διδάκτορα Μ. Σταυρακάκη και την κα. Δ. Μπούζα, μέλος Ε.ΔΙ.Π. του Εργαστηρίου Αμπελολογίας για τις συμβουλές και το ενδιαφέρον τους κατά την εκπόνηση της παρούσας μελέτης.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα πρέπει να αποδοθούν επίσης στον υποψήφιο διδάκτορα Ι. Δασκαλάκη για την αμέριστη βοήθεια του και την υπομονή που επέδειξε, χωρίς τον οποίο η διεξαγωγή της παρούσας μελέτης θα ήταν πολύ πιο δύσκολη.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω όλους τους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές για την άψογη συνεργασία μας κατά την περίοδο διεξαγωγής του πειράματος και κυρίως την συνάδελφο και φίλη μου Άνδροβικ Μαργαρίτα, με την οποία μοιραστήκαμε τον ίδιο πάγκο εργασίας και πολύ ομορφες στιγμές.

Τέλος, δε θα μπορούσα να παραλείψω την οικογένειά μου για την κατανόηση που έδειξε και για την υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, μελετήθηκε η παραλλακτικότητα του αμπελοτεμαχίου και η επίδρασή της στους ποιοτικούς αλλά και τους ποσοτικούς χαρακτήρες των σταφυλών της οινοποιήσιμης ποικιλίας αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) Αγιωργίτικο. Όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν κατά την τεχνολογική τους ωρίμανση, από τους αμπελώνες του Κτήματος Παλυβού, στην περιοχή της Αρχαίας Νεμέας.

Σε όλα τα δείγματα προσδιορίστηκαν η ενεργός οξύτητα (pH), η ολική οξύτητα και η περιεκτικότητα του χυμού σε ολικά διαλυτά στερεά (σάκχαρα). Μετρήθηκαν το βάρος πενήντα (50) ραγών, το βάρος της σταφυλής και οι διαστάσεις των σταφυλών και των ραγών του κάθε αμπελοτεμαχίου.

Με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου προσδιορίστηκε ποσοτικά η περιεκτικότητα του φλοιού των ραγών σε ολικές ανθοκυάνες, ολικά φαινολικά, συμπυκνωμένες ταννίνες, ολικές ορθο-διφαινόλες, ολικά φλαβανοειδή, ολικές φλαβανόλες, ολικές φλαβονόλες και φλαβόνες αλλά και η αντοξειδωτική τους ικανότητα. Με τη χρήση της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) προσδιορίστηκαν οι κυριότερες ανθοκυάνες και τα κυριότερα οξέα που εμπεριέχονται στο σταφύλι. Στα γίγαρτα μελετήθηκαν οι ίδιες ενώσεις με τους φλοιούς με εξαίρεση τις ολικές και τις μεμονωμένες ανθοκυάνες.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών υποζωνών, τόσο στις φαινολικές ενώσεις όσο και στα γλευκογραφικά χαρακτηριστικά. Αξιοσημείωτες είναι οι διαφορές που εντοπίστηκαν μεταξύ των κελιών στη συγκέντρωση των ανθοκυανών και κυρίως στην συγκέντρωση της μαλβιδίνης, του οξικού και κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης, με τα κελιά που βρίσκονται στο βορειοανατολικό τμήμα του αμπελώνα να παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές.

**Λέξεις κλειδιά:** Αγιωργίτικο, *Vitis vinifera* L., ολικές ανθοκυάνες, ολικά φαινολικά, συμπυκνωμένες ταννίνες, ολικές ορθο-διφαινόλες, ολικά φλαβανοειδή, ολικές φλαβανόλες, ολικές φλαβονόλες και φλαβόνες, μεμονωμένες ανθοκυάνες, φλοιοί, γίγαρτα, HPLC.

## ABSTRACT

The aim of the present thesis is the study of effect of the variability of the different plots on the qualitative and quantitative characteristics of grapes in a vineyard, with an emphasis given on the phenolic compounds. This study was undertaken in a vineyard belonging in the PDO zone of Nemea. The vineyard was split in 15 parts of similar size and the cultivated variety was Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.).

The following measurements were conducted during the harvesting ripeness level (technological maturity) for all parts: the sugar content of the pulp, the total titratable acidity (grams of tartaric acid/L) and the pH unit. Specific mechanical analysis of the grape clusters and berries were performed such as: the weight of fifty (50) berries and the average dimensions of the berries and the cluster.

Measurements were performed in grape skins: total anthocyanins, total phenolics, concentrated tannins, total o-diphenols, total flavanols, total flavanols, total flavonols and flavones and their antioxidant capacity were quantitatively determined by spectrophotometric analyses. Using the high-performance liquid chromatography (HPLC), the main anthocyanins and the major acids contained in the grape were determined. The above measurements were conducted in grape seeds as well, except for the total anthocyanins concentration and the quantitative determination by HPLC method.

The total results of this thesis indicated important differences between the grapes of different sub-zones from the perspective of their chemical analyses. Notable are the differences identified between the grapes in the anthocyanin concentration and mainly in the concentration of malvidin, acetyl and coumaric ester of malvidin, with the grapes on the northeast part of the vineyard showing significantly higher values.

**Keywords:** Agiorgitiko, *Vitis vinifera* L., anthocyanins, phenolic compounds, tannins, o-diphenols, flavanoids, flavanols, flavonols, flavones, skins, seeds, HPLC.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	I
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	II
ABSTRACT.....	III
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ.....	3
1.1.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ.....	3
1.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΡΑΓΑΣ.....	4
1.3 ΜΕΓΕΘΟΣ ΡΑΓΑΣ.....	6
1.4 ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΗΣ ΡΑΓΑΣ.....	7
1.4.1 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ.....	8
1.4.1.1 ΦΛΑΒΟΝΕΣ - ΦΛΑΒΟΝΟΛΕΣ.....	9
1.4.1.2 ΦΛΑΒΑΝ-3-ΟΛΕΣ- ΤΑΝΝΙΝΕΣ.....	10
1.4.1.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΚΑΙ Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΦΛΑΒΑΝΟΛΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΡΙΜΑΝΣΗ.....	13
1.4.1.4 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΤΑΝΝΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ.....	14
1.4.1.5 ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ.....	15
1.4.1.6 ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΗ ΣΤΟ ΦΥΤΙΚΟ ΙΣΤΟ.....	16
1.4.1.7 ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ.....	17
1.4.2 ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ.....	18
1.4.2.1 ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	18
1.4.2.1.1 ΥΔΡΟΞΥΒΕΝΖΟΪΚΑ ΟΞΕΑ.....	19
1.4.2.1.2 ΥΔΡΟΞΥΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	20
1.4.2.2 ΣΤΙΛΒΕΝΙΑ.....	20
1.5 ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΙΣΤΟ ΤΗΣ ΡΑΓΑΣ.....	22
1.6 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΙΔΡΟΥΝ ΣΤΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	26
1.6.1 ΠΟΙΚΙΛΙΑ.....	26
1.6.2 ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΟ.....	27
1.6.3 ΕΔΑΦΟΚΛΙΜΑΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	27
1.6.4 ΑΡΔΕΥΣΗ.....	30
1.6.5 ΛΙΠΑΝΣΗ.....	30
1.6.6 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ.....	31
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	32
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	33
3.1 ΠΟΙΚΙΛΙΑ.....	33
3.2 ΑΜΠΕΛΩΝΑΣ.....	33
3.3 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΡΑΓΩΝ.....	34
3.4 ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ ΚΑΙ ΡΑΓΑΣ.....	34
3.4.1 ΒΑΡΟΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ.....	34
3.4.2 ΜΗΚΟΣ ΚΑΙ ΠΛΑΤΟΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ.....	34
3.4.3 ΜΕΣΟ ΒΑΡΟΣ ΡΑΓΑΣ.....	35
3.4.4 ΜΕΣΟ ΜΗΚΟΣ ΚΑΙ ΠΛΑΤΟΣ ΡΑΓΩΝ.....	35
3.5 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΛΕΥΚΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ.....	35
3.5.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΑΚΧΑΡΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ (°BRIX) ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΔΙΑΘΛΑΣΙΜΕΤΡΟΥ.....	35
3.5.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΝΕΡΓΗΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ (pH).....	36
3.5.3 ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ.....	37
3.5.3.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	37
3.5.3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	37
3.5.3.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	37
3.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΟΥΣ ΦΛΟΙΟΥΣ, ΣΤΑ ΓΙΓΑΡΤΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΓΛΕΥΚΗ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ.....	39
3.6.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	39
3.6.1.1 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΦΛΟΙΩΝ.....	39
3.6.1.2 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΓΙΓΑΡΤΩΝ.....	40
3.6.1.3 ΑΡΑΙΩΣΗ.....	41

3.6.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ILAND.....	42
3.6.2.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	42
3.6.2.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	42
3.6.2.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	42
3.6.2.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	43
3.6.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ ΤΑΝΝΙΝΩΝ ΜΕ METHYL CELLULOSE (ΜΕΘΥΛΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ).....	44
3.6.3.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	44
3.6.3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	44
3.6.3.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	45
3.6.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΧΛΩΡΙΟΥΧΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ (AlCl <sub>3</sub> ).....	46
3.6.4.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	46
3.6.4.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	46
3.6.4.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	46
3.6.4.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	46
3.6.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΑΝΟΛΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ 4-ΔΙΜΕΘΥΛ-ΑΜΜΙΝΟΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΗΣ ΑΛΔΕΪΔΗΣ (4-DMACA).....	48
3.6.5.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	48
3.6.5.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	48
3.6.5.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	48
3.6.5.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	49
3.6.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΩΝ ΚΑΙ ΦΛΑΒΟΝΟΛΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΧΛΩΡΙΟΥΧΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ (AlCl <sub>3</sub> ).....	50
3.6.6.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	50
3.6.6.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	50
3.6.6.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	50
3.6.6.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	50
3.6.7 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ Ο-ΔΙΦΑΙΝΟΛΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ROUSSOS ΚΑΙ ΡΟΝΤΙΚΙΣ.....	51
3.6.7.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	51
3.6.7.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	51
3.6.7.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	51
3.6.7.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	52
3.6.8 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΣΧΥΣ ΑΝΑΓΩΓΗΣ ΤΡΙΣΘΕΝΟΥΣ ΣΙΔΗΡΟΥ (FRAP).....	53
3.6.8.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	53
3.6.8.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	53
3.6.8.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	53
3.6.8.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	53
3.6.9 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ (ABTS).....	55
3.6.9.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	55
3.6.9.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	55
3.6.9.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	55
3.6.9.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	55
3.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ HPLC ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ.....	57
3.7.1 ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΟΥ.....	57
3.7.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ.....	58
3.7.2.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ HPLC.....	58
3.7.2.2 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	59
3.7.2.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	59
3.8 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ HPLC ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ.....	60
3.8.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	60
3.8.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	60



4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	61
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	61
5.1 ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΡΑΓΑΣ & ΣΤΑΦΥΛΗΣ.....	61
5.2 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΛΕΥΚΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ.....	66
5.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ & ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	68
5.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΩΝ ΚΑΙ ΦΛΑΒΟΝΟΛΩΝ.....	70
5.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΑΝΟΛΩΝ.....	71
5.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ο- ΔΙΦΑΙΝΟΛΩΝ.....	73
5.7 ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ ΤΑΝΝΙΝΩΝ.....	74
5.8 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ.....	75
5.9 ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ.....	79
5.10 ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΟΞΕΩΝ.....	81
6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	83
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	87
7.1 ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	87
7.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	94

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η άμπελος σύμφωνα με τους παλαιοντολόγους φαίνεται να έχει μακραίωνη ιστορία. Την αρχαιότερη επιστημονική απόδειξη της μακραίωνης αυτής ιστορίας αποτελούν απολιθωμένα φυτά αμπέλου ηλικίας εξήντα εκατομμυρίων ετών.

Κοιτίδες της αμπελουργίας αλλά και πατρίδες του οίνου θα πρέπει να θεωρηθούν ο Καύκασος, η Μεσοποταμία και η Αρχαία Αίγυπτος. Η τέχνη της αμπελουργίας εικάζεται ότι ξεκίνησε με την αγροτική επανάσταση γύρω στο 5.000 π.Χ.. Οι Άριοι (πρόγονοι των Περσών και των Ινδών που ζούσαν στην περιοχή Καυκάσου-Κασπίας), οι σημιτικοί λαοί και οι Ασσύριοι θεωρούνται από τους πρώτους γνωστούς αμπελοκαλλιεργητές. Στη συνέχεια η τέχνη της αμπελουργίας και της οινοποίησης επεκτάθηκε και σε άλλους λαούς όπως της Αιγύπτου, της Παλαιστίνης, της Φοινίκης και τους Έλληνες.

Οι Έλληνες ανέπτυξαν σε μεγάλο βαθμό την τέχνη του οίνου, σχεδόν μονοπωλώντας την αγορά για αιώνες. Ωστόσο, παραμένει άγνωστη η προέλευση των γνώσεών τους σχετικά με την οινοποιία, αν και σύμφωνα με τις επικρατέστερες θεωρίες, πηγή της γνώσης τους φαίνεται να είναι οι Ανατολικοί λαοί (Φοίνικες ή Αιγύπτιοι) με τους οποίους είχαν εμπορικές σχέσεις.

Τα πρώτα δείγματα αμπελοκαλλιέργειας στον ελλαδικό χώρο έχουν βρεθεί στην ανατολική Μακεδονία. Για το λόγο αυτό οι Φίλιπποι στην ανατολική Μακεδονία θεωρούνται η πρώτη αμπελουργική περιοχή στην Ελλάδα ήδη από το 2800 - 2200 π.Χ. Άλλωστε, σύμφωνα με μία παράδοση, ο Διόνυσος γεννήθηκε στο Παγγαίο όρος και έζησε εκεί λατρευόμενος από τους Ηδωνούς, μια θρακική φυλή.

Οι χώρες παραγωγής του οίνου χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Στη μία κατηγορία ανήκουν οι χώρες που η αμπελουργία αναπτύχθηκε σχετικά πρόσφατα, τους τελευταίους δύο αιώνες, ενώ στην άλλη κατηγορία ανήκουν χώρες που η ιστορία και η παρουσία τους μέσα στο χρόνο είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με το προϊόν αυτό. Αναμφισβήτητα η Ελλάδα ανήκει στην παραδοσιακή αμπελουργική ζώνη μιας και από την εποχή του χαλκού όπως μαρτυρούν ιστορικές πηγές, ο οίνος κατείχε εξέχουσα θέση στη ζωή του λαού

της χώρας αυτής (λατρεία του θεού Διόνυσου, Λήναια) (Ζαρμπούτης και Τσιβεριώτου, 2003).

Στις εγχώριες αμπελογραφίες (Κριμπάς, 1943 και Λογοθέτης, 1966) υπολογίζονται περισσότερες από 300 γηγενείς ποικιλίες εκ των οποίων μόνο οι 175 είναι εγγεγραμμένες στον Εθνικό Κατάλογο ποικιλιών. Η σχετικά πρόσφατη μελέτη γηγενών ποικιλιών αμπέλου χρήζει σχολαστικότητας, συνέπειας και ποιοτικής αξιολόγησης των χαρακτήρων τους λόγω πολυκλωνικότητας και ποικιλομορφίας.

Οι ερυθρές γηγενείς ποικιλίες παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον εξαιτίας των διακριτών τους διαφορών στη φαινολική τους σύσταση, παραμένοντας σε μεγάλο βαθμό ανεξερεύνητες, πλην ελαχίστων εξαιρέσεων όπως το Ξινόμαυρο και το Αγιωργίτικο. Η φαινολική σύσταση των ποικιλιών επηρεάζεται από τους κάτωθι παράγοντες: το γενότυπο, το μικροκλίμα της περιοχής (θερμοκρασία, υγρασία, έδαφος, ηλιοφάνεια), και τις αμπελοκομικές τεχνικές. Η παραγωγή ερυθρών οίνων με ικανότητα παλαίωσης επηρεάζεται από την φαινολική σύσταση της πρώτης ύλης που διαμορφώνεται στον αμπελώνα αλλά και από τις τεχνικές οινοποίησης και της μετέπειτα ωρίμανσης. Η γνώση της σύστασης αλλά και της μορφολογίας της πρώτης ύλης, παρέχει τη δυνατότητα καλύτερης αξιοποίησης των διαφορετικών τμημάτων των ραγών της σταφυλής και της χημικής σύστασης αυτών (Ξενάκη, 2018).

## **1.1 ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ**

Η ποικιλία Αγιωργίτικο καλλιεργείται κυρίως στη ζώνη Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης ή αλλιώς ΠΟΠ Νεμέας. Πρόκειται για την μεγαλύτερη σε έκταση ζώνη ΠΟΠ της Ελλάδας, στην οποία καλλιεργούνται περίπου 22.000 στρέμματα της ποικιλίας Αγιωργίτικο και χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια εδαφικών και κλιματικών συνθηκών (250-850 m υψόμετρο) λόγω της μεγάλης έκτασής της. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια, η ποικιλία καλλιεργείται και εκτός των συνόρων της ζώνης Νεμέας. Συγκεκριμένα υπάρχουν μικρές εστίες αμπελώνων της ποικιλίας Αγιωργίτικο τόσο στην Κρήτη όσο και στη Δράμα της βορείου Ελλάδος. Ακόμη, υπάρχουν διάσπαρτα αμπέλια με Αγιωργίτικο τόσο στα νησιά του Αιγαίου όσο και σε κάποιες περιοχές της Στερεάς Ελλάδας και της Αττικής.

### **1.1.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ**

Ποικιλία μετρίως ζωηρή έως ζωηρή, εύρωστη, όψιμης ωρίμανσης, πολύ παραγωγική. Ο τυφλός οφθαλμός είναι γόνιμος. Ο καρποφόρος βλαστός φέρει δύο σταφυλές- συνήθως στον 4ο και στον 5ο κόμβο, συχνά όμως εμφανίζονται 3-4 σταφυλές από τον 2ο έως τον 6ο κόμβο.

Στους παλαιούς αμπελώνες μορφώνεται σε κύπελλο, με 3-5 βραχίονες, και δέχεται κλάδεμα βραχύ (παραγωγική μονάδα με δύο οφθαλμούς). Στους νέους αμπελώνες τα πρέμνα μορφώνονται σε γραμμικά σχήματα (συνήθως σε αμφίπλευρο Royat με 6-8 βραχίονες), το κλάδεμα καρποφορίας είναι βραχύ (μία κεφαλή με 1-2 οφθαλμούς ανά βραχίονα).

Το γλεύκος της ποικιλίας χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα ( 220-240 g/L), χαμηλή οξύτητα ( 4,4-6,4 g/L σε τρυγικό οξύ) και pH 3,4-3,8. Από τις πλουσιότερες ελληνικές ποικιλίες αμπέλου σε ανθοκυάνες (900-1000 mg/kg ραγών) και ολικές φαινολικές (2400-2500 mg/kg ραγών). Οι τιμές αυτές επηρεάζονται έντονα από τον κλώνο, την εφαρμοζόμενη καλλιεργητική τεχνική και τις εδαφοκλιματικές συνθήκες (Σταυρακάκης, 2010).

## 1.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΡΑΓΑΣ

Οι μορφολογικοί χαρακτήρες της ράγας καθορίζονται από την ποικιλία και τον κλώνο αμπέλου, επηρεάζονται όμως έντονα και από το περιβάλλον και την καλλιεργητική τεχνική. Επομένως, εμφανίζουν μεγάλη παραλλακτικότητα τόσο μεταξύ όσο και εντός των καλλιεργούμενων ποικιλιών, συχνά και μεταξύ των σταφυλών του ίδιου πρέμνου (Σταυρακάκης, 2013).

Στη διαμόρφωση της ράγας συμμετέχουν μόνο οι ιστοί της ωοθήκης, μετά τη φυσιολογική γονιμοποίηση και καρπόδεση. Είναι σαρκώδης ιστός και αποτελείται από τα παρακάτω μέρη:

- Το φλοιό
- Τη σάρκα
- Τα γίγαρτα

Ο φλοιός αποτελεί το 10-20% του συνολικού βάρους της ράγας και είναι πλούσιος σε πολυφαινόλες, αρωματικές και πρόδρομες αρωματικές ουσίες, κυτταρίνη πηκτίνες και ανόργανες ουσίες. Το σύνολο των ανθοκυανών περιέχεται στον φλοιό εκτός από ορισμένες ποικιλίες των οποίων οι ράγες έχουν έγχρωμη σάρκα (Σταυρακάκης, 2013). Απαρτίζεται από τρία στρώματα την εφυμενίδα, την επιδερμίδα και το υπόδερμα, καθένα από τα οποία αποτελείται από μία ή περισσότερες στοιβάδες κυττάρων.

Η εφυμενίδα αποτελεί το εξωτερικό τοίχωμα των κυττάρων της επιδερμίδας και επικαλύπτεται από κηρώδεις ουσίες που αποτελούν την κέρινη ανθρότητα. Η κέρινη ανθρότητα δρα παρεμποδιστικά στην υπερβολική εξάτμιση του χυμού της ράγας, συντελεί στην ταχεία απομάκρυνση της βροχής και συγκρατεί τους διάφορους μικροοργανισμούς, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τις ζυμώσεις του γλεύκους και του οίνου (Σουφλερός, 2015). Το πάχος και η δομή της κέρινης ανθρότητας επηρεάζεται από το γενότυπο και το περιβάλλον, επομένως και οι προστατευτικές της λειτουργίες διαφέρουν από χρονιά σε χρονιά.

Η επιδερμίδα αποτελείται από πεπλατυσμένα δισκοειδή κύτταρα που διατάσσονται σε μία έως δύο στιβάδες και είναι μη φωτοσυνθετικά. Το πάχος των επιδερμικών κυττάρων συσχετίζεται θετικά με την αντοχή στις καταπονήσεις και στις προσβολές από εχθρούς και ασθένειες και εξαρτάται από την ποικιλία της αμπέλου (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Το υπόδημα αποτελείται από 6-10 στιβάδες κυττάρων, από τις οποίες οι 2-3 πρώτες περιέχουν τις ανθοκυάνες ή τις φλαβόνες, χρωστικές ουσίες στις οποίες οφείλεται το χρώμα των ερυθρών ή των λευκών σταφυλιών αντιστοίχως. Εξαίρεση αποτελούν ορισμένες βαφικές ποικιλίες, στις οποίες οι χρωστικές ουσίες βρίσκονται επίσης και σε όλη τη σάρκα της ράγας (Σουφλερός, 2015). Τα φαινολικά συστατικά του φλοιού αποτελούν το 30% του συνόλου των φαινολικών ενώσεων της ράγας (Watson B., 2003).

Το μεσοκάρπιο (σάρκα) αποτελείται από 25-30 στιβάδες κυττάρων. Τα κύτταρα της σάρκας έχουν μεγάλα χυμοτόπια και περιέχουν τον κυτταρικό χυμό που αναλογεί στο 65-90% του βάρους των ώριμων ραγών - ανάλογα με την ποικιλία- και αποτελείται από νερό, σάκχαρα και οξέα (Σταυρακάκης, 2010).

Το ενδοκάρπιο αποτελείται από την εσωτερική στιβάδα των κυττάρων της ζώνης του μεσοκαρπίου και διαχωρίζει τη σάρκα από τα γίγαρτα. Τα κύτταρα του ενδοκαρπίου είναι επιμήκη και διατάσσονται κάθετα προς την έννοια της ακτίνας της ράγας. Στην ώριμη ράγα, η διάκριση του ενδοκαρπίου είναι δυσχερής (Σταυρακάκης, 2013).

Τα γίγαρτα είναι τα όργανα αναπαραγωγής της αμπέλου. Βρίσκονται στο ενδοκάρπιο, το οποίο δεν διακρίνεται κατά σαφή τρόπο από τη ράγα. Θεωρητικά η κάθε ράγα θα έπρεπε να φέρει τέσσερα γίγαρτα κάτι το οποίο είναι πολύ σπάνιο, καθώς απαιτεί την γονιμοποίηση όλων των ωαρίων, επομένως ο αριθμός των γιγάρτων που φέρει κάθε ράγα είναι συνήθως μικρότερος των τεσσάρων και καμιά φορά μηδενικός. Στις μεμονωμένες αυτές περιπτώσεις που δεν υπάρχουν καθόλου γίγαρτα, οι ράγες αδυνατούν να αναπτυχθούν και παραμένουν πολύ μικρές καθώς τα γίγαρτα συνδέονται με το τελικό μέγεθος της ράγας αλλά και την χημική της σύσταση. Το γίγαρτο της αμπέλου περιλαμβάνει το ράμφος και το σώμα. Το ράμφος αποτελεί τη μορφολογική κορυφή του γιγάρτου στην οποία καταλήγουν οι αγγειώδεις δέσμες της ράγας, και το άκρο του αντιστοιχεί στη μικροπύλη της σπερματικής βλάστης. Το σώμα χαρακτηρίζεται από τη νωτιαία και την κοιλιακή πλευρά. Στη νωτιαία πλευρά βρίσκεται η χάλαζα και στην κοιλιακή απαντούν η ραφή, οι κοιλότητες και η τροπίς (Σταυρακάκης, 2013). Η χημική σύσταση των γιγάρτων κατά κύριο λόγο περιλαμβάνει νερό, υδατάνθρακες, ελαιώδεις ουσίες, ταννίνες, αζωτούχες ουσίες, ανόργανες ουσίες και λιπαρά οξέα (Σουφλερός, 2015).

### 1.3 ΜΕΓΕΘΟΣ ΡΑΓΑΣ

Το μέγεθος τη ράγας επηρεάζεται από τις συνθήκες θρέψης, το μέγεθος του φορτίου, τον αριθμό των γιγάρτων, το βαθμό ωριμότητας κατά τον τρυγητό, και προσδιορίζεται με τη μέτρηση των διαστάσεων (μήκος, πλάτος), του όγκου και του βάρους. Στον πίνακα 1 παρουσιάζεται μία ενδεικτική κατάταξη των ραγών με βάση τις μετρήσεις της διαμέτρου, του όγκου και του μέσου βάρους. Η μέτρηση της διαμέτρου κατά μήκος και κατά πλάτος γίνεται με τη χρήση παχύμετρου (Χρονοπούλου-Σιαπίκας, 2014).

Πίνακας 1 : Μέγεθος ραγών ( Σταυρακάκης, 2013)

<b>Χαρακτηρισμός μεγέθους ραγών</b>	<b>Μέση διάμετρος ράγας (mm)</b>	<b>Όγκος 100 ραγών (cm<sup>3</sup> )</b>	<b>Βάρος 100 ραγών (g)</b>
Πολύ μικρό	< 8	<30	<35
Μικρό	8-12	31-100	36-110
Μέτριο	13-18	101-300	111-330
Μεγάλο	19-24	301-650	331-700
Πολύ μεγάλο	>24	>650	>701

Η πλειοψηφία των ελληνικών ποικιλιών χαρακτηρίζεται από μετρίου μεγέθους ράγες. Το μικρό μέγεθος των ραγών κατέχει σπουδαίο ρόλο στις ερυθρές ποικιλίες, καθώς η μεγάλη αναλογία φλοιών προς σάρκα επηρεάζει την εκχύλιση, εξασφαλίζοντας χρωστικές, φαινολικά παράγωγα και αρωματικές ενώσεις που κατά κύριο λόγο βρίσκονται στους φλοιούς. Οι ερυθρές ποικιλίες ποιότητας είναι κατά κύριο λόγο μικρόρραγες, χωρίς απαραίτητα όλες οι μικρόρραγες ποικιλίες να μπορούν να δώσουν οίνους με υψηλό φαινολικό δυναμικό.

#### 1.4 ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΗΣ ΡΑΓΑΣ

Τα φαινολικά συστατικά είναι μία μεγάλη ομάδα ενώσεων με ιδιαίτερη σημασία για τα χαρακτηριστικά και την ποιότητα των ερυθρών, κυρίως, οίνων. Είναι υπεύθυνα για το χρώμα των κόκκινων σταφυλιών και οίνων και εμπλέκονται στο οξειδωτικό αμαύρισμα των λευκών οίνων. Επιπλέον συμβάλλουν στη γεύση και στη στυπτικότητα, μέσω αλληλεπιδράσεων με τις πρωτεΐνες του σάλιου (Cheynier *et al.*, 2005)

Οι φαινολικές ενώσεις είναι δευτερογενείς μεταβολίτες. Διαφοροποιούνται ανάλογα με το είδος του φυτού και παράγονται σε συγκεκριμένα στάδια της ανάπτυξής τους σε συγκεκριμένους ιστούς. Κατά κύριο λόγο, η λειτουργία τους αφορά την προστασία των φυτικών ιστών από μικρόβια και παθογόνα, την προστασία του φυτού από την υπεριώδη ακτινοβολία, ενώ παράλληλα λειτουργούν ως ευνοϊκός παράγοντας για την ενίσχυση της γονιμότητας των γυρεόκοκκων (Boss *et al.*, 1996, Koes *et al.*, 1994)

Οι πολυφαινόλες είναι ενώσεις που περιέχουν μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες συνδεδεμένες σε αρωματικό δακτύλιο. Ταξινομούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες τις φλαβονοειδείς και τις μη φλαβονοειδείς φαινόλες.

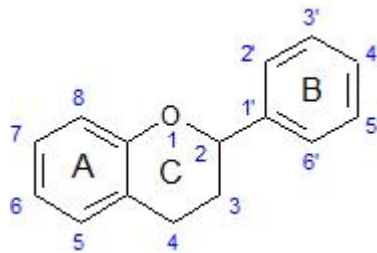
Στην κατηγορία των φλαβονοειδών ενώσεων υπάγονται οι πολυμοριακές φαινόλες, οι οποίες έχουν ως βασικό χημικό τύπο  $C_6-C_3-C_6$ , που αντιστοιχεί στη φλαβόνη.

Στις μη φλαβονοειδείς φαινόλες υπάγονται μονομοριακά φαινολικά παράγωγα, τα οποία ανευρίσκονται στους φυτικούς ιστούς και τα διάφορα φυτικά προϊόντα (Κουράκου, 1998).



### 1.4.1 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ

Χημικώς τα φλαβονοειδή είναι μόρια που αποτελούνται από δύο φαινόλες που ενώνονται με ένα πυρανικό δακτυλίο. Προκύπτουν από το συνδυασμό παραγώγων που συντίθενται από τη φαινυλαλανίνη (μέσω της οδού του σικιμικού οξέος) και το οξικό οξύ (Jackson,1994). Οι κατηγορίες των φλαβονοειδών φαινολών διαφοροποιούνται από το βαθμό οξειδωσης και υποκατάστασης του C δακτυλίου, ενώ οι ενώσεις τις κάθε κατηγορίας διαφοροποιούνται από το βαθμό υποκατάστασης των A και B δακτυλίων (Gomez-Alonso *et al.*, 2007). Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν κυρίως οι φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόλες (ή κατεχίνες), οι ανθοκυάνες καθώς και οι προανθοκυανιδίνες (ή προκυανιδίνες) που είναι ολιγομερή των φλαβανολών και οι τανίνες που είναι πολυμερή των φλαβανολών (Kallithraka *et al.*, 2006). Βρίσκονται κυρίως στους φλοιούς και τα γύγαρτα και για αυτό υπό κανονικές συνθήκες εντοπίζονται στους λευκούς οίνους σε ίχνη. Στα ερυθρά κρασιά αποτελούν το 85% των ολικών φαινολικών ενώ στα λευκά λιγότερο από το 20% του ολικού φαινολικού περιεχομένου (Jackson, 1994).

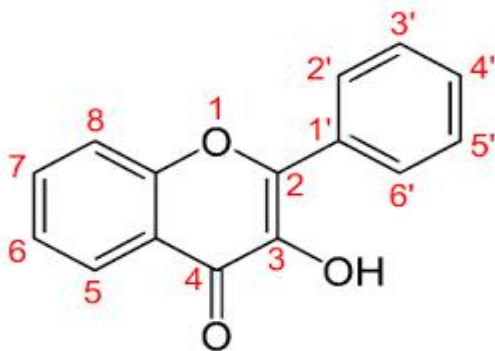


**Εικόνα 1:** Βασική δομή φλαβονοειδών φαινολών

### 1.4.1.1 ΦΛΑΒΟΝΕΣ - ΦΛΑΒΟΝΟΛΕΣ

Οι φλαβονόλες αποτελούν τις κίτρινες χρωστικές του φυτού και βρίσκονται στους φλοιούς των σταφυλών τόσο των ερυθρών όσο και των λευκών. Διακρίνονται σε καμπφερόλη, κερκετίνη και μυρικετίνη με βάση τη διαφοροποίηση των υποκαταστατών του δακτυλίου C. Η ρουτίνη είναι μία ακόμη φλαβονόλη που συναντάται συχνά στις ράγες, η οποία προκύπτει από την ένωση της κερκετίνης με την ρουτινόζη. Μικρόρραγες ποικιλίες αμπέλου ή με χονδρό φλοιό, περιέχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση φλαβονολών, με αποτέλεσμα την αυξημένη σταθερότητα του χρώματος του παραγόμενου οίνου (McDonald *et al.*, 1998).

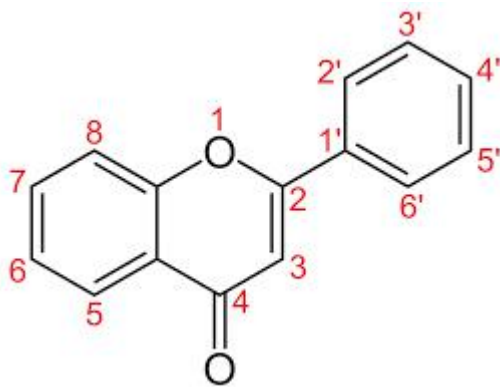
Η περιεκτικότητα της ράγας σε φλαβονόλες επηρεάζεται από αρκετούς παράγοντες μεταξύ των οποίων η ποικιλία. Στις λευκές ποικιλίες η περιεκτικότητα των ραγών κυμαίνεται από 2 έως 30 mg/kg ράγας ενώ στις ερυθρές από 4 έως 78 mg/kg ράγας (Mattivi *et al.*, 2006). Εκτός από τους γενετικούς παράγοντες, η περιεκτικότητα των ραγών σε φλαβονόλες επηρεάζεται από το στάδιο ανάπτυξης και διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες (θερμοκρασία, ηλιοφάνεια, βροχόπτωση κ.α.)



R1	R2	ΦΛΑΒΟΝΟΛΗ
H	H	ΚΑΜΠΦΕΡΟΛΗ
OH	H	ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ
OH	OH	ΜΥΡΙΚΕΤΙΝΗ

Εικόνα 2: Το μόριο των φλαβονολών

Οι κυριότερες φλαβόνες που εντοπίζονται στα φρούτα και στα λαχανικά είναι γλυκοσίδια της λουτεολίνης και της απιγενίνης. Οι περισσότερες υπάρχουν ως 7- O - γλυκοσίδια. Βρίσκονται κυρίως στο σέλινο, το μαϊντανό, στα δημητριακά και στα εσπεριδοειδή (σε πολυμεθοξυλιωμένες μορφές) (Shahidi *et al.*, 1995). Ο φλοιός της ράγας μεταξύ άλλων φαινολικών ενώσεων περιέχει και φλαβόνες (Cheynier *et al.*, 1998).



Εικόνα 3: Μόριο φλαβόνης

C3'	C4'	C5'	ΦΛΑΒΟΝΗ
H	OH	H	ΑΠΙΓΕΝΙΝΗ
OH	OH	H	ΛΟΥΤΕΟΛΙΝΗ

#### 1.4.1.2 ΦΛΑΒΑΝ-3-ΟΛΕΣ- TANNΙΝΕΣ

Αποτελούν την πιο περίπλοκη ομάδα των φλαβονοειδών. Υπάρχουν ως μονομερή (κατεχίνη, επικατεχίνη), ολιγομερή (προανθοκυανιδίνες) και πολυμερή (ταννίνες).

Οι φλαβανόλες εντοπίζονται τόσο στους φλοιούς όσο και στα γίγαρτα, ωστόσο, οι φλοιοί περιέχουν πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις φλαβανολών και έχουν διαφορετική σύνθεση σε σχέση με τα γίγαρτα (González-Manzano *et al.*, 2003). Οι φλοιοί περιέχουν κατεχίνη, επικατεχίνη, γαλλοκατεχίνη και επιγαλλοκατεχίνη, ενώ τα γίγαρτα περιέχουν κατεχίνη, επικατεχίνη και γαλλικός εστέρα της επικατεχίνης (Harrison *et al.*, 2018).

Οι μονομερείς φλαβαν-3-ολες αντιπροσωπεύονται από την κατεχίνη και την επικατεχίνη. Διαφέρουν ως προς την στερεοϊσομέρεια, η κατεχίνη έχει δύο ασύμμετρα άτομα άνθρακα (C2 και C3), με αποτέλεσμα να δίνει δύο ισομερή *trans* τις (+) - κατεχίνες και δύο ισομερή *cis* τις (-) - επικατεχίνες (Douglas, 2005). Η κατεχίνη είναι συνήθως η κυριότερη μονομερής φλαβαν-3-ολη στους φλοιούς και τα γίγαρτα των ραγών, ωστόσο σε μερικές ποικιλίες αμπέλου η επικατεχίνη παρουσιάζει παρόμοια ή ακόμη και υψηλότερα επίπεδα συγκεντρώσεων σε σχέση με την κατεχίνη (González-Manzano *et al.*, 2003).

Οι ολιγομερείς ενώσεις των φλαβανολών καλούνται προανθοκυανιδίνες ενώ οι πολυμερείς ταννίνες. Οι προανθοκυανιδίνες διακρίνονται σε δύο τύπους, ανάλογα με το είδος των δεσμών που γίνεται ο πολυμερισμός. Ο Α τύπος προανθοκυανιδών προκύπτει από τη διπλή σύνδεση με δεσμούς C2-O-C7 ή C2-O-C5 συμπληρωματικά των δεσμών C4-C6 ή C4-C8. Στην περίπτωση των

προανθοκυανιδών Β τύπου, οι δομικές μονάδες των φλαβανολών συνδέονται με δεσμούς C4-C8 ή/και C4-C6, δίνοντας τη δυνατότητα για δημιουργία διακλαδιζόμενων δομών (Rodriguez *et al.*, 2006). Η προκυανιδίνη Β1 έχει αναφερθεί ως η κυριότερη ολιγομερή φλαβανόλη των φλοιών. Στα γίγαρτα εμφανίζονται όλες οι διμερείς C4-C8 προκυανιδίνες (π.χ. Β1-Β4), ενώ σε μεγαλύτερες ποσότητες εμφανίζεται η προκυανιδίνη Β2 (González-Manzano *et al.*, 2003).

Τα πολυμερή των φλαβανολών εκτός από φλαβανόλες μπορεί να περιέχουν και άλλες φαινόλες ως δομικές μονάδες. Οι ταννίνες έχουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν ή/ και να δεσμεύουν τις πρωτεΐνες και να καθιζάνουν (Cheynier *et al.*, 2006). Οι φλαβανοδιόλες 3,4 και οι κατεχίνες μπορούν να πολυμεριστούν δίνοντας τις προκυανιδίνες (Jackson, 1994). Αυτές ταξινομούνται βάσει της φύσης των φλαβονοειδών μονομερών τους, των δεσμών τους, του βαθμού εστεροποίησης τους με άλλες ενώσεις, και των λειτουργικών τους ιδιοτήτων. Οι προκυανιδίνες βρίσκονται στα σταφύλια, ενώ στον οίνο πολυμερίζονται και δημιουργούν τις συμπυκνωμένες ταννίνες. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες όταν θερμανθούν και υποστούν κατεργασία με ισχυρά οξέα υδρολύονται στις ερυθρές χρωστικές ανθοκυανιδίνες και για αυτό ονομάζονται προανθοκυανιδίνες από μερικούς ερευνητές (Cheynier *et al.*, 2006, Rodriguez *et al.*, 2006).

Οι συμπυκνωμένες ταννίνες συμβάλλουν στο σώμα ενός οίνου. Αποτελούν το 30-60% των ολικών φαινολικών παραγώγων και το ποσοστό τους αυξάνεται με το πέρασμα του χρόνου. Οι αλυσίδες τους σχηματίζουν ένα σκελετό στον οποίο μεταξύ άλλων προστίθενται πολυσακχαρίτες, ανόργανα στοιχεία και μόρια νερού. Οι προανθοκυανιδίνες εμφανίζουν μεγάλη απόκλιση ως προς τη δομή, από απλές διμερές ενώσεις έως εξαιρετικά περίπλοκα μόρια. Αποτελούνται από απλές δομικές μονάδες που μπορούν να συνδεθούν μέσω διαφορετικών θέσεων, με σκοπό τη δημιουργία αλυσίδων μεταβλητού μήκους. Έχει αναφερθεί η ύπαρξη πολυμερών (στις ταννίνες των φλοιών) που απαρτίζονται από περισσότερες από 80 δομικές μονάδες (Souquet *et al.*, 1996).

Οι προανθοκυανιδίνες αλληλεπιδρούν και καθιζάνουν με πρωτεΐνες με αποτέλεσμα να επηρεάζουν την αίσθηση της συτπικότητας. Ο όρος ταννίνες αναφέρεται σε αυτή τους την ιδιότητα. Επιπλέον, η συτπικότητα των ταννινών

φαίνεται να επηρεάζεται και από τη σύνθεσή τους. Σύμφωνα με μελέτες η σύνθεση των ταννινών στους φλοιούς διαφέρει με εκείνη των γιγάρτων. Συγκεκριμένα οι ταννίνες των γιγάρτων αποτελούνται από προκυανιδίνες οι οποίες συντίθενται από μόρια κατεχίνης, επικατεχίνης και γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης, ενώ οι ταννίνες των φλοιών συντίθενται και από μόρια επιγαλλοκατεχίνης, επιπλέον αποτελούνται τόσο από προκυανιδίνες όσο και από προδελφινιδίνες. Οι ταννίνες που απομονώνονται από τους φλοιούς, έχουν κατά μέσο όρο μέσο βαθμό πολυμερισμού (MDP) περίπου 30 (Souquet *et al.*, 1996), ενώ τα γίγαρτα έχουν MDP περίπου 10 (Priour *et al.*, 1994). Το ποσοστό του γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης που υπάρχει στις ταννίνες διαφέρει ανάμεσα στους φλοιούς (5%) και στα γίγαρτα (30%). Με αποτέλεσμα, οι διαφορές που υπάρχουν στην επιγαλλοκατεχίνη και στο γαλλικό εστέρα της επικατεχίνης να λειτουργούν ως δείκτες προέλευσης των ταννινών μεταξύ των ιστών (Cheynier *et al.*, 2005).

Οι φαινολικές ενώσεις εμπλέκονται τόσο με την πικρή γεύση όσο και με τη στυφή αίσθηση, ωστόσο σύμφωνα με μελέτες αυτές οι αισθήσεις διαμορφώνονται και από άλλους παράγοντες (Sowalsky *et al.*, 1998, Lowchaevne *et al.*, 2005, Hufnagel *et al.*, 2008). Οι Robichaud και Noble (1990) διαπίστωσαν ότι στο γαλλικό οξύ και την κατεχίνη επικρατούσε περισσότερο η πικρή γεύση σε σχέση με την στυπτικότητα, ενώ στα αντίστοιχα πολυμερή που σχημάτιζαν συνέβαινε το αντίθετο. Σύμφωνα με μία πολύπλοκη μελέτη που διεξήχθη από τον Preys και άλλους το 2006, διαπιστώθηκε ότι η στυπτικότητα σχετίζεται θετικά με τη συνολική συγκέντρωση των ταννινών, το ποσοστό του γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης και το μέσο βαθμό πολυμερισμού (MDP). Φαίνεται πως ανεξάρτητα από τη σύνθεση των πολυμερών, οι αντιδράσεις πολυμερισμού τείνουν να ενισχύουν τη στυπτικότητα, αν και με το πέρασμα του χρόνου λαμβάνουν χώρα αντιδράσεις διασπάσεις κατά τις οποίες μειώνεται το μοριακό βάρος με αποτέλεσμα τη μείωση τη στυπτικότητας των οίνων (Cheynier *et al.*, 2005)

Τέλος σύμφωνα με τον Ribereau-Gayon και άλλους (2006) από έρευνες που έγιναν σχετικά με την παρουσία προκυανιδινών σε σταφύλια, βρέθηκαν σημαντικές συγκεντρώσεις συμπλόκων ταννινών - πολυσακχαριτών και ταννινών - πρωτεϊνών που δίνουν την αίσθηση της στρογγυλότητας, ενώ ο συνδυασμός ανθοκυανών και ταννινών τους δίνει μια ιδιαίτερη πικράδα.

### 1.4.1.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΚΑΙ Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΦΛΑΒΑΝΟΛΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ

#### ΩΡΙΜΑΝΣΗ

Οι φλαβανόλες έχουν την ικανότητα να προσδίδουν αμυντικές ιδιότητες στο φυτό έναντι επιβλαβών εντόμων και πιθανών προσβολών από παθογόνους μύκητες (Curko et al., 2014). Επιπλέον, η παρουσία τους στους φλοιούς φαίνεται να τους προσδίδει προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία.

Η σύνθεση των φλαβανολών εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης, τις συνθήκες ανάπτυξης (θερμοκρασία, ενεργό θερμικό άθροισμα, έκθεση σταφυλής στην ηλιακή ακτινοβολία) και διάφορους γενετικούς παράγοντες. Οριμένες ποικιλίες παρουσιάζουν συγκεκριμένο προφίλ φλαβανολών (Harrison et al., 2018), φαίνεται δηλαδή ότι ο γονότυπος της ποικιλίας επιδρά στη σύνθεση των προανθοκυανιδινών και στο βαθμό πολυμερισμού των φλοιών και των γιγάρτων (Kennedy et al., 2001, Lorrain et al., 2011).

Η συγκέντρωση των μονομερών φλαβανολών στα γίγαρτα φαίνεται να αυξάνεται λίγο πριν τον περκασμό (Downey et al., 2003a) και να μειώνεται σημαντικά μετά από αυτόν (Kennedy et al., 2000). Επιπλέον, σύμφωνα με αρκετές μελέτες η συγκέντρωση των προανθοκυανιδινών μειώνεται από τον περκασμό έως την περίοδο του τρύγου (Kennedy et al., 2001; Harbertson et al., 2002; Do O.-marques et al., 2005; Hanlin et al., 2009).

Στους φλοιούς η συγκέντρωση των μονομερών φλαβανολών φαίνεται να συγκέντρωση των προανθοκυανιδινών στους φλοιούς φαίνεται να παρουσιάζει μέγιστο μεταξύ της καρπόδεσης και του περκασμού, ενώ στη συνέχεια μειώνεται.

Μερικοί ερευνητές (Kennedy et al., 2006), υποστηρίζουν ότι η έκθεση στη ηλιακή ακτινοβολία επηρεάζει τις συγκεντρώσεις των φλαβανολών. Συγκεκριμένα η έκθεση των ραγών στην ηλιακή ακτινοβολία από την καρπόδεση έως την έναρξη ωρίμανσης φαίνεται να ενισχύει το σχηματισμό και τη συσσώρευση των ταννινών στο φλοιό αλλά και να αυξάνει τον πολυμερισμό τους. Τέλος η ανάπτυξη της ράγας σχετίζεται με αύξηση του μέσου βαθμού πολυμερισμού (MDP), της αναλογίας της επιγαλλοκατεχίνης στα πολυμερή και της αναλογίας των ανθοκυανών που αντιδρούν με προανθοκυανιδίνες των φλοιών (Kennedy et al., 2001).

#### 1.4.1.4 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΤΑΝΝΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

Από τις φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν σε έναν ερυθρό οίνο, οι φλαβανόλες παρουσιάζουν την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Η περιεκτικότητα τους στον ερυθρό οίνο μπορεί να φτάσει μέχρι χιλιάδες mg/L, με την πλειονότητα των προκυανιδινών να προέρχεται από τα γίγαρτα. Επιδρούν στην γεύση, στο αίσθημα της στυπτικότητας καθώς και της πικράδας, επιπλέον εμπλέκονται στο θόλωμα και στο ίζημα που μπορεί να εμφανισθεί στους ερυθρούς οίνους αλλά και στο οξειδωτικό καφέτιασμα. Ο φυσικοχημικός μηχανισμός της αίσθησης της στυπτικότητας δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, ωστόσο οι περισσότεροι ερευνητές θεωρούν ότι προέρχεται από την αλληλεπίδραση των ταννινών με τις πρωτεΐνες του σάλιου, με αποτέλεσμα το σχηματισμό συμπλόκου ταννίνης-πρωτεΐνης στη στοματική κοιλότητα. Ο πολυμερισμός των ταννινών και ο βαθμός εστεροποίησης τους με το γαλλικό οξύ αυξάνουν την ένταση της στυπτικότητας των ταννινών.

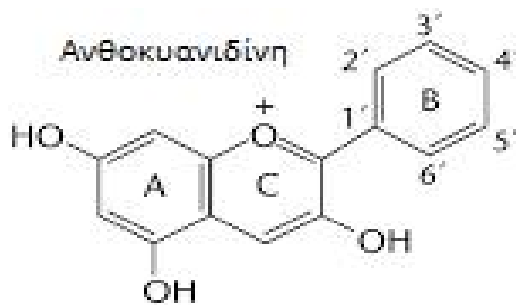
Κατά την πρώτη φάση της ερυθρής οινοποίησης, εκχυλίζεται κυρίως κατεχίνη από τους φλοιούς και στην επόμενη φάση εκχυλίζονται κατεχίνες και προκυανιδίνες από τα γίγαρτα. Η εκχύλιση εν συνεχεία από τους φλοιούς μειώνεται καθώς συμβαίνει προσρόφηση σε στερεά μέρη, ένωση με πρωτεΐνες, οξείδωση ή πολυμερισμός. Εκχυλίζονται πιο εύκολα τα μονομοριακά φαινολικά. Τα υψηλά πολυμερισμένα εκχυλίζονται δυσκολότερα ή δεν εκχυλίζονται. Όσο αυξάνεται ο βαθμός πολυμερισμού των ταννινών (ειδικά των φλοιών) τόσο δυσχεραίνεται η δυνατότητα να εκχυλιστούν από το φλοιό της ράγας στο γλεύκος, κατά συνέπεια η στυπτικότητα στον οίνο μπορεί να είναι λιγότερο έντονη. Έτσι ποικιλίες με μεγάλο αριθμό γιγάρτων ανά ράγα (Ξινόμαυρο, Μανδηλαριά) περιέχουν μεγάλες συγκεντρώσεις προανθοκυανιδινών. (Καλλίθρακα, 2017).

Οι ταννίνες επιδρούν και στο χρώμα των ερυθρών οίνου μέσω του φαινομένου του συγχρωματισμού με τις ανθοκυάνες. Μέσω του φαινομένου αυτού προσδίδουν σταθερότητα στο χρώμα του οίνου κατά την παλαίωση.

### 1.4.1.5 ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ

Οι ανθοκυάνες ανήκουν στις φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στη σταφυλή και είναι υπεύθυνες για το χρώμα των ερυθρών οίνων. Εντοπίζονται κυρίως στον φλοιό των ραγών με εξαίρεση τις βαφικές ποικιλίες που εντοπίζεται και στη σάρκα.

Ανήκουν στην κατηγορία των φλαβονοειδών φαινολών, καθώς χαρακτηρίζονται δομικά από τον ανθρακικό σκελετό του τύπου  $C_6C_3C_6$  (Geissman, 1962). Είναι γλυκοζίτες, των οποίων το άγλυκο μέρος, που καλείται ανθοκυανιδίνη είναι υδροξυλιωμένο και μεθοξυλιωμένο παράγωγο του φαινυλ-2-βενζοπυριλίου. Διακρίνουμε πέντε κατηγορίες ανθοκυανών στην άμπελο : κυανιδίνη, δελφινιδίνη, παιονιδίνη, πετουνιδίνη, μαλβιδίνη, οι οποίες διαφοροποιούνται με βάση τη θέση των υδροξυλίων και μεθοξυλίων στο Β δακτύλιο του μορίου των ανθοκυανιδινών.



Άγλυκο μέρος	3	5	7	3'	4'	5'
Κυανιδίνη	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H
Δελφινιδίνη	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
Παιονιδίνη	-OH	-OH	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H
Πετουνιδίνη	-OH	-OH	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH
Μαλβιδίνη	-OH	-OH	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>

Εικόνα 4: Δομή άγλυκου μέρους ανθοκυανών

Οι διαφορές μεταξύ των ανθοκυανιδινών περιορίζονται στον αριθμό των -OH και -OCH<sub>3</sub> μεταξύ των θέσεων R1 και R2, ο οποίος επηρεάζει την σταθερότητα και το χρώμα της ανθοκυάνης. Με αύξηση των ελεύθερων υδροξυλομάδων αυξάνεται το μπλε χρώμα, ενώ το κόκκινο ενισχύεται ανάλογα με την αύξηση



του βαθμού μεθυλίωσης. Από τις ανθοκυανιδίνες των σταφυλιών και των οίνων η κυανιδίνη και η δελφινιδίνη είναι οι πιο ασταθείς, λόγω των φαινολικών -OH σε ο-θέση. Αυτές οι δύο είναι και οι πρόδρομοι ανθοκυανιδινών σταθερότερων μορφών, όπως η παιονιδίνη και η μαλβιδίνη, που δεν έχουν -OH σε όρθο θέση (Kallithraka *et al.*, 2006).

Επιπλέον, οι ανθοκυάνες απαντούν ως μονό- και διγλυκοζίτες ακόμη και στο γένος *Vitis vinifera* όπου μέχρι πρόσφατα πίστευαν ότι δεν παράγει διγλυκοζίτες (Vidal *et al.*, 2004). Το μόριο της γλυκόζης μπορεί να είναι επιπλέον εστεροποιημένο με οξικό, κουμαρικό ή καφεϊκό οξύ.

#### 1.4.1.6 ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΗ ΣΤΟ ΦΥΤΙΚΟ ΙΣΤΟ

Οι ανθοκυάνες εντοπίζονται κυρίως στα κύτταρα της πρώτης υποδερμικής στιβάδας των φλοιών των ερυθρών σταφυλών (Douglas, 2005). Εξαίρεση αποτελούν οι βαφικές ποικιλίες, στις οποίες οι ανθοκυάνες εντοπίζονται και στη σάρκα. Σε άλλες περιπτώσεις εμφανίζεται χρώμα στη σάρκα, το οποίο οφείλεται σε υπερωρίμανση των ραγών, καθώς τα κύτταρα γερνούν οι χρωστικές τους ουσίες διαχέονται στη σάρκα.

Οι ελεύθερες ανθοκυάνες απαντούν στα χυμοτόπια με 4 διαφορετικές μορφές που βρίσκονται σε ισορροπία μεταξύ τους (Cody *et al.*, 1986):

- Ως κατιόντα του φλαβυλίου με ερυθρό χρώμα ( AH<sup>+</sup> )
- Ως άνυδρες βάσεις, χρώματος ιώδους ( A )
- Ως άχρωμες ψευδοβάσεις ( B )
- Ως χαλκόνες ανοιχτού κίτρινου χρώματος ( C )

Κάθε ένα από τα παραπάνω μοριακά είδη έχει έναν αριθμό ταυτομερών στις οποίες μετατρέπεται ταχέως.

Κατά την ωρίμανση, η συγκέντρωση των ανθοκυανών στην εξωτερική υποδερμική στιβάδα, αυξάνει ως το βαθμό του κορεσμού, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα, να δημιουργούνται σύμπλοκα με χρωστικές ενωμένες είτε μεταξύ τους είτε με άλλες ουσίες (Sommers and Verette, 1988). Οι δεσμοί που αναπτύσσονται ανάμεσα στις ανθοκυανιδίνες είναι υδρόφοβοι, ενώ ανάμεσα στα σάκχαρα είναι υδρόφιλοι. Ο σχηματισμός συμπλόκων μεταξύ ανθοκυανών ευνοείται όταν το pH είναι χαμηλό, ενώ σε υψηλές τιμές pH δημιουργούνται κυρίως σύμπλοκα με άλλες ενώσεις. Αυξημένη συγκέντρωση ελεύθερων

αμινοξέων στη ράγα ευνοεί αυτό το φαινόμενο. Φλαβονοειδείς φαινόλες, εστέρες του υδροξυκιναμωμικού οξέος και πολυφαινόλες εμπλέκονται συχνά σε τέτοια σύμπλοκα (Amerine *et al.*, 1982).

#### 1.4.1.7 ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

Υπάρχουν δύο κύριοι παράγοντες που καθορίζουν το χρώμα και την ένταση των ανθοκυανών, το pH και η συγκέντρωση του θειώδη ανιδρύτη (He *et al.*, 2012). Όταν το pH παρουσιάζει πολύ μικρές τιμές ( $\text{pH} < 0.5$ ), οι ανθοκυάνες βρίσκονται υπό τη μορφή κατιόντος φλαβυλίου και έχουν ερυθρό χρώμα. Όσο το pH αυξάνεται ( $\text{pH} \sim 2$ ) οι άχρωμες μορφές είναι ιδιαίτερα σημαντικές. Σε υψηλότερες τιμές pH, υπάρχει ισορροπία μεταξύ των διαφορετικών μορφών ανθοκυάνης, με αποτέλεσμα την αλλαγή στην απόχρωση από το κόκκινο στο βιολετί χρώμα. Η αλλαγή αυτή στην απόχρωση επηρεάζεται από την αναλογία μεταξύ διαφορετικών μορφών ανθοκυάνης.

Ο θειώδης ανιδρύτης από την άλλη μεριά αντιδρά με τις ανθοκυάνες για να παράγει ένα άγχρωμο προϊόν, αλλά επειδή πρόκειται για αντίδραση ισορροπίας, η ένταση του χρώματος εξαρτάται από τις σχετικές συγκεντρώσεις των αντιδρώντων (π.χ. ανθοκυάνες και  $\text{SO}_2$ ).

Εκτός από τις ανθοκυάνες υπάρχουν και άλλες φαινολικές ενώσεις που επηρεάζουν το χρώμα του οίνου. Μπορούν να σχηματίσουν προσωρινά σύμπλοκα με ανθοκυάνες και/ή να εμπλέκονται σε αντιδράσεις σταθεροποίησης του χρώματος. (Harrison *et al.*, 2018).

Σύμφωνα με τον Σουφλερό (1997), το χρώμα των νεαρών ερυθρών οίνων καθορίζεται κυρίως από τις ανθοκυάνες και λιγότερο από τις ταννίνες. Αντίθετα το χρώμα των “γηρασμένων” οίνων καθορίζεται από μία σειρά χημικών μεταβολών, όπως η οξειδωση των ανθοκυανών, η αντίδρασή τους με τον θειώδη ανιδρύτη που προστίθεται στους οίνους αλλά και η ένωση τους με άλλες φαινολικές ενώσεις, όπως οι ταννίνες.

#### 1.4.2 ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ

Οι μη φλαβονοειδείς φαινόλες που έχουν βρεθεί στα σταφύλια της αμπέλου είναι κατά κύριο λόγο τα φαινολικά οξέα και κυρίως τα παράγωγα του βενζοϊκού και κινναμωμικού οξέος, των οποίων ένα ή περισσότερα υδρογόνα των ανθράκων του δακτυλίου έχουν αντικατασταθεί με υδροξυλομάδες, μεθοξυ ομάδες και τα σπιλβένια. Τις ενώσεις αυτές τις εντοπίζουμε και στον οίνο λόγω της εκχύλισης τους από τους φλοιούς και τη σάρκα των σταφυλών ως γλυκοζίτες, αλλά και από το ξύλο των βαρελιών, όπου γίνεται η παλαίωση (Ribereau-Gayon *et al.*, 2006).

Οι μη φλαβονοειδείς φαινόλες είναι άχρωμες ενώσεις που βελτιώνουν και σταθεροποιούν το χρώμα των ερυθρών οίνων μέσω διαμοριακών και ενδομοριακών αντιδράσεων και μερικές εξ αυτών όπως η ρεσβερατρόλη παρουσιάζουν παρουσιάζουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση.

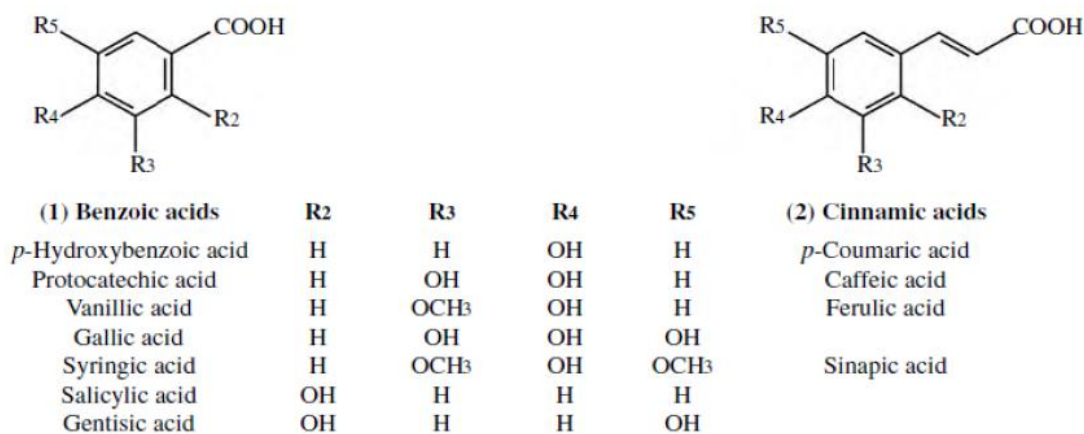
##### 1.4.2.1 ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ

Τα φαινολικά οξέα που υπάρχουν στα σταφύλια, βρίσκονται με τη μορφή ετεροζιτών ή εστέρων (ταννίνες γαλλικού και ελλαγικού), όμως κατά την οινοποίηση και συντήρηση των οίνων διαλύονται αργά, με αλκαλική υδρόλυση οι εστέρες και με όξινη οι ετεροζίτες, με αποτέλεσμα να βρίσκονται και σε ελεύθερη μορφή στους οίνους.

Η συγκέντρωσή τους είναι μεγαλύτερη στις ερυθρές ποικιλίες σε σχέση με τις λευκές, όπως και στα χυμοτόπια των κυττάρων της σάρκας των ραγών (αποτελούν την κυριότερη φαινολική ένωση) σε σχέση με το φλοιό (Κοτσερίδης, 2005). Η συγκέντρωση τους στους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται σε 100-200 mg/L ενώ στους λευκούς 10-20 mg/L (Ribereau-Gayon *et al.*, 2006).

Είναι ενώσεις με αντιβιοτική και αντισηπτική δράση, για αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται ευρέως στη συντήρηση των τροφίμων. Στον οίνο δρουν κυρίως έναντι των βακτηρίων. Επιπλέον, είναι ευοξειδωτες ενώσεις ( κυρίως το γαλλικό και το καφεϊκό οξύ) και επηρεάζουν την οξειδωτική μετατροπή του χρώματος των λευκών γλευκών και οίνων σε καστανό. Όσον αφορά τον

οργανοληπτικό χαρακτήρα δεν φαίνεται να τον επηρεάζουν καθώς δεν έχουν κανένα άρωμα. Τα υδροξυβενζοϊκά και τα υδροξυκινναμωμικά αποτελούν τις δύο κατηγορίες φαινολικών οξέων που υπάρχουν στα σταφύλια και στον οίνο.



Εικόνα 5 : Φαινολικά Οξέα (Handbook of Enology)

#### 1.4.2.1.1 ΥΔΡΟΞΥΒΕΝΖΟΪΚΑ ΟΞΕΑ

Τα υδροξυβενζοϊκά οξέα εξαρτώνται από την ποικιλία και τις συνθήκες ανάπτυξης του πρέμνου, με αποτέλεσμα να εμφανίζουν μεγάλη παραλλακτικότητα ως προς την περιεκτικότητά τους στους οίνους. Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα είναι παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και χαρακτηρίζονται από τον C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> σκελετό. Τα πιο κοινά εξ αυτών που εμφανίζονται στα σταφύλια και στους οίνους είναι το γαλλικό οξύ, το γεντισικό, το *p*- υδροξυβενζοϊκό, το πρωκατεχικό οξύ, το συρινγικό οξύ, το σαλικυλικό οξύ και το βανιλλικό οξύ. Η διαφοροποίηση μεταξύ τους οφείλεται στους διαφορετικούς υποκαταστάτες που έχει ο βενζοϊκός δακτύλιος (Monagas *et al.*, 2005). Το σταφύλι περιέχει κυρίως γαλλικό οξύ, που βρίσκεται υπό τη μορφή εστέρων των 3- φλαβονολών (κατεχίνες) και αποτελεί βασικό συστατικό της δομής των ταννινών.

Στους οίνους βρίσκονται τόσο στην ελεύθερη μορφή τους όσο και με τη μορφή σύνθετων χημικών ενώσεων (π.χ. γλυκοζιτών και εστέρων), σε αντίθεση με το σταφύλι που υπάρχουν μόνο υπό τη μορφή σύνθετων χημικών ενώσεων. Στους οίνους κατά τη διάρκεια της παλαίωσης η περιεκτικότητά της ελεύθερης μορφής τους παρουσιάζει αύξηση (Ribereau-Gayon *et al.*, 2006).

#### 1.4.2.1.2 ΥΔΡΟΞΥΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΑ ΟΞΕΑ

Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα είναι τα τρίτα σε αφθονία διαλυτά φαινολικά συστατικά στη ράγα των σταφυλιών τα οποία βρίσκονται στα χυμοτόπια των κυττάρων του φλοιού και της σάρκας. Τα κυριότερα εξ' αυτών είναι παράγωγα του καφεϊκού οξέος, του p- κουμαρικού οξέος, του φερουλικού οξέος και του σιναπτικού οξέος. Τα παράγωγά τους είναι παρόντα κυρίως ως trans ισομερή αλλά έχουν αναφερθεί και μικρές ποσότητες των cis ισομερών (Douglas, 2005). Στα σταφύλια συνήθως δεν απαντώνται υπό την ελεύθερη μορφή τους αλλά υπό μορφή ενώσεων με τις ανθοκυάνες και με το τρυγικό οξύ. Στις ποικιλίες του είδους *Vitis vinifera* οι διαφορές των υδροξυκινναμωμικών οξέων στο χυμό της ράγας είναι κυρίως ποσοτικές. Η περιεκτικότητα των παραγώγων τους εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες όπως η καλλιεργούμενη ποικιλία και οι κλιματικές συνθήκες.

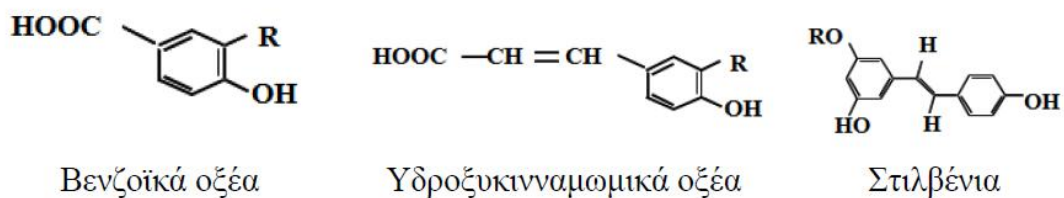
#### 1.4.2.2 ΣΤΙΛΒΕΝΙΑ

Τα στιλβένια είναι ενώσεις που αποτελούνται από δύο βενζολικούς δακτυλίους που συνδέονται με ένα αιθάνιο ή με μία αιθυλενική αλυσίδα. Περιέχονται στο σταφύλι, στον οίνο αλλά και στο ξύλο δρυός.

Η πλήρης αναφορά των φαινολικών ενώσεων, είναι απαραίτητο να περιλαμβάνει τα στιλβένια και τις βενιφερίνες (ολιγομερείς και πολυμερείς ενώσεις των στιλβενίων που προκύπτουν από τον οξειδωτικό πολυμερισμό της μονομερούς ρεσβερατρόλης), ενώσεις που παράγονται από τα φρούτα και τους βλαστικούς ιστούς, εξαιτίας της έκθεσης σε υψηλά επίπεδα υπεριώδους ακτινοβολίας αλλά και ως άμυνα έναντι των μυκητολογικών προσβολών (UV) (Jeandet *et al.*, 1991).

Από τα στιλβένια, αξίζει να αναφερθεί η ρεσβερατρόλη ή αλλιώς 3,5,4τρι-υδροξυ-στιλβένιο, βρίσκεται μόνο στα κύτταρα των φλοιών (σε συγκεντρώσεις 1-3 mg/L) και συντίθεται ως απάντηση στις καταπονήσεις των πρέμων όπως για παράδειγμα σε προσβολές από διάφορα παθογόνα (κυρίως *Botrytis cinerea*) ή στην έντονη ξηρασία. Στη σταφυλή θεωρείται το σπουδαιότερο στιλβένιο καθώς εκτός από την αντοχή που προσφέρει σε κρυπτογαμικές ασθένειες (π.χ. *Botrytis cinerea*), στην εν λόγω ουσία

αποδίδονται θεραπευτικές, αντικαρκινικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες (Jeandet *et al.*, 1995). Η ρεσβερατρόλη απαντάται στη φύση με τις παρακάτω μορφές: ως ελεύθερη μορφή με δύο ισομερή (cis και trans) και ως β-γλυκοζίτες (Rentzsch *et al.*, 2009).

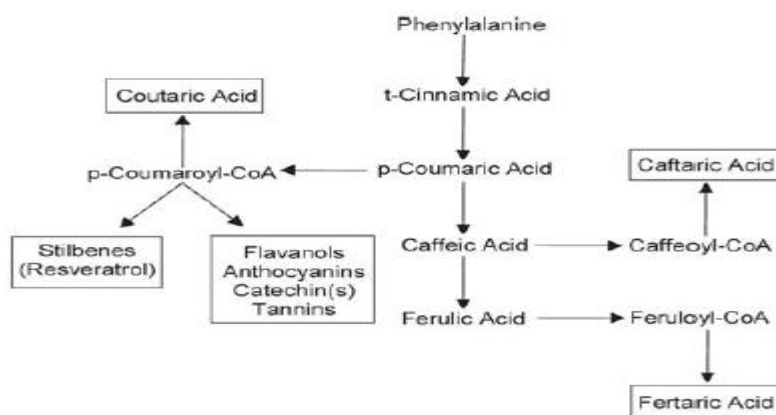


Εικόνα 6 : Μη φλαβονοειδεις Φαινόλες  
(Πηγή: Καλλίθρακα, Παραδόσεις)

## 1.5 ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΙΣΤΟ ΤΗΣ ΡΑΓΑΣ

Η περιγραφή της βιοσύνθεσης των φαινυλπροπανοειδών ξεκινάει συνήθως με το αμινοξύ φαινυλαλαίνη, το οποίο παράγεται από το μονοπάτι του σικιμικού οξέος. Το μονοπάτι του σικιμικού οξέος ξεκινάει με την 4-Ρ-ερυθρόζη και το φωσφοροενολοπυροσταφυλικό οξύ (ΡΕΡ) και είναι υπεύθυνο για την παραγωγή των αρωματικών αμινοξέων τυροσίνη και τρυπτοφάνη. Θεωρείται ότι σχεδόν όλα τα φυτικά κύτταρα πρέπει να είναι σε θέση να παράγουν αυτά τα αρωματικά αμινοξέα επειδή είναι απαραίτητα για την πρωτεϊνοσύνθεση. Η ποσότητα του άνθρακα που πρέπει να διατεθεί στο μονοπάτι του σικιμικού οξέος, στα κύτταρα της ράγας που δεν συσσωρεύονται φαινυλπροπανοειδή, είναι ελάχιστη, εξαιτίας της μικρής ποσότητας πρωτεϊνών στα κύτταρα της ράγας. Ωστόσο, στα κύτταρα που λιγνιτοποιούνται, όπως τα κύτταρα των αγγείων ή το σκληρό περίβλημα των σπόρων, πρέπει να διατεθεί μεγάλη ποσότητα άνθρακα στην οδό του σικιμικού οξέος για να παραχθεί φαινυλαλαίνη. Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω τα κύτταρα που συσσωρεύουν φαινολικά οξέα πρέπει και αυτά να διαθέτουν ποσότητα άνθρακα στο μονοπάτι του σικιμικού οξέος ανάλογη της συνολικής ποσότητας πολυφαινολών που παράγουν και συσσωρεύουν.

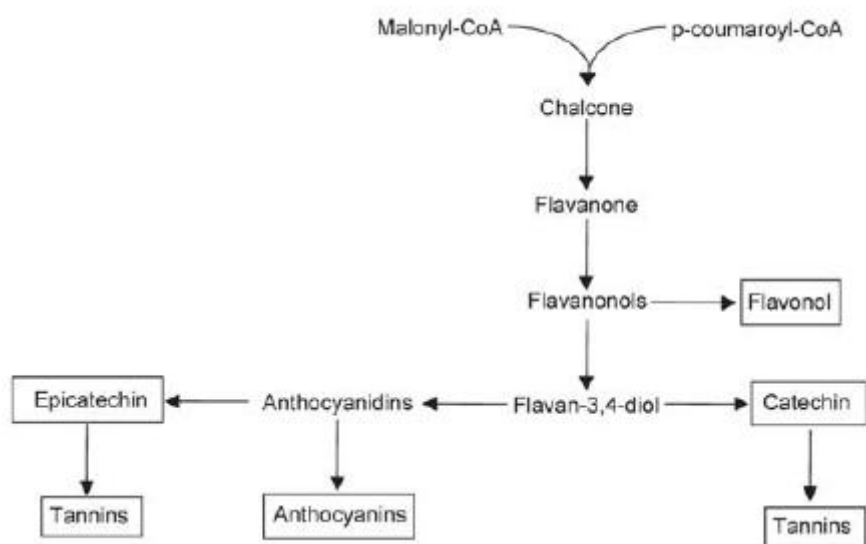
Μία περιγραφή της βιοσύνθεσης των φαινολών που ξεκινάει με την φαινυλαλαίνη παρουσιάζεται στην εικόνα 7, με ενώσεις που συσσωρεύονται ως διαλυτά προϊόντα σε κύτταρα ραγών.



Εικόνα 7: Βιοχημικό μονοπάτι που οδηγεί στα κύρια φαινολικά συστατικά της ράγας. (Πηγή : Douglas, 2005)

Η περιεκτικότητα σε φαιτυλαλαλίνη, ελεύθερα κινναμωμικά οξέα και των CoA εστέρων τους, στους ιστούς όπου λαμβάνεται μερίμνα για την πρόληψη της υδρόλυσης του εστέρα πριν από την ανάλυση, έχει αναφερθεί ως εξαιρετικά χαμηλή. Μόνο οι ανθοκυάνες στους φλοιούς φαίνεται να συμπεριφέρονται σαν τυπικά τελικά προϊόντα και παρουσιάζουν μικρές αλλαγές από τη στιγμή που σχηματίστηκαν. Οι υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις αρχικά συσσωρεύονται και σταδιακά μειώνονται κατά τη διάρκεια του περκασμού, γεγονός που υποδηλώνει την αποδόμησή τους, τη χρήση τους σε βιοσύνθεση άλλων ενώσεων, ή την συνένωση τους με άλλα κυτταρικά συστατικά. Ωστόσο υπάρχουν περισσότερες πληροφορίες για την παραγωγή των πολυφαινολικών ενώσεων σε σχέση με την κατάληξη τους από τη στιγμή που παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσή τους στη ράγα και καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης.

Το βιοχημικό μονοπάτι που συνδέει τα φλαβονοειδή που συσσωρεύονται σε διάφορους ιστούς των ραγών απεικονίζεται στην εικόνα 8, με τα τελικά προϊόντα να περικλείονται σε ένα ορθογώνιο.

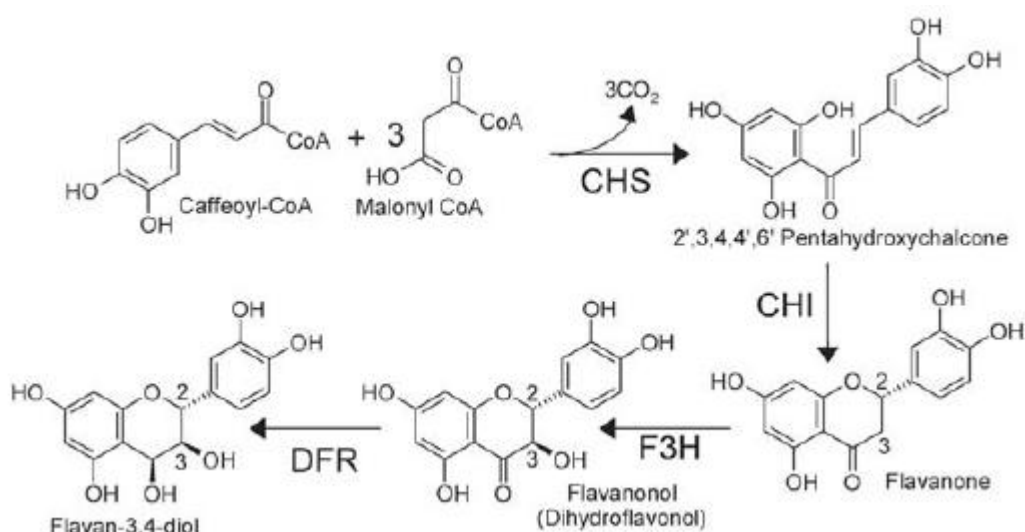


Εικόνα 8: Βιοχημικό μονοπάτι που οδηγεί στα κυριότερα φλαβονοειδή της ράγας του σταφυλιού. ( Πηγή: Douglas, 2005)

Η βιοσυνθετική αλληλουχία που οδηγεί σε φλαβονοειδή ξεκινάει με μία αντίδραση για τη σύνθεσης της χαλκόνης, κατά την οποία ένα μόριο



p-coumaroyl-CoA αντιδρά με τρία μόρια malonyl-CoA και παράγεται χαλκόνη και διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) (Εικόνα 9). Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι στις ράγες των σταφυλών δεν εμφανίζεται συσσώρευση πελαργονιδίνης, της ανθοκυάνης που έχει ένα μόνο μόριο υδροξυλίου στον Β δακτύλιο. Εάν ο CoA εστέρας που χρησιμοποιείται από τη συνθάση της χαλκόνης είναι αυτός του καφεϊκού οξέος, τότε τα παράγωγα της χαλκόνης θα είχαν την ίδια μορφή υποκατάστασης του Β δακτυλίου με αυτή που βρέθηκε στην κατεχίνη, επικατεχίνη και κυανιδίνη (δηλαδή ένα υδροξύλιο σε όρθο θέση στο Β δακτύλιο). Ωστόσο, εάν η αντίδραση για τη σύνθεση της χαλκόνης στα σταφύλια χρησιμοποιεί κυρίως το p-coumaroyl-CoA, όπως τυπικά φαίνεται, τότε το σταφύλι πρέπει επίσης να έχει πολύ αποτελεσματικές 3' υδροξυλάσες και 3' 5' υδροξυλάσες φλαβονοειδών έτσι ώστε να αιτιολογηθεί η επικράτηση των διυδροξυλιωμένων και τριυδροξυλιωμένων ενώσεων που απαντώνται στη ράγα. Η παρουσία καμπφερόλης και διυδροκαμπφερόλης μαζί με 3-υποκατεστημένους γλυκοζίτες ενισχύει την άποψη ότι κάποιιο ένζυμο κατά τη σύνθεση της χαλκόνης χρησιμοποιεί το p-coumaroyl-CoA. Σε κάθε περίπτωση η υδροξυλίωση του Β δακτυλίου για να σχηματιστούν τα διυδροξυλιωμένα και τριυδροξυλιωμένα παράγωγα απαντάται στο επίπεδο της φλαβόνης ή της φλαβονόλης (Douglas, 2005)



Εικόνα 9 : Βιοσύνθεση της 2-φλαβεν-3,4-διόλης από καφεούλ-CoA και μαλονύλ-CoA. (Πηγή: Douglas, 2005)

Αναλυτικότερα μετά το σχηματισμό της χαλκόνης, αυτή ισομερίζεται σε ναρινγκενίνη με τη δράση του ενζύμου ισομεράση της χαλκόνης (CHI). Η ναρινγκενίνη, πρόδρομη ένωση των φλαβονοειδών και των ισοφλαβονοειδών συστατικών, μετατρέπεται σε διυδροξυκαμφερόλη, με τη συμμετοχή μιας διοξυγενάσης, την υδροξυλάση της 3-φλαβονόνης (F3H). Το ένζυμο αναγωγάση της 4-διυδροξυφλαβονόλης (DFR) καταλύει τη μετατροπή της διυδρόξυκαμφερόλης σε λευκοανθοκυανιδίνη, η οποία με την σειρά της δίνει τις έγχρωμες ανθοκυανιδίνες. Η μετατροπή καταλύεται από το ένζυμο συνθετάση των ανθοκυανιδινών (ANS) και περιλαμβάνει μία οξείδωση και μία αντίδραση αφυδάτωσης. Στη συνέχεια, οι προανθοκυανιδίνες μετασχηματίζονται σε ταννίνες και οι ανθοκυανιδίνες σε ανθοκυάνες, μέσω μιας αντίδρασης γλυκοζιλίωσης, η οποία καταλύεται από το ένζυμο 3-ο-γλυκοσυλ-τρανσφεράση της φλαβονοϊκής UDP-γλυκόζης (UFGT) (Boss et al., 1996).

## 1.6 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΙΔΡΟΥΝ ΣΤΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Κάθε ποικιλία μπορεί να αποδώσει μία μέγιστη συγκέντρωση φαινολικών (φαινολικό δυναμικό), η οποία επηρεάζεται από ένα εύρος παραγόντων. Ειδικά για έναν ερυθρό οίνο, οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοσύνθεση και τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων, στην ουσία καθορίζουν την ποιότητα του και τη δυνατότητά του για παλαίωση. Ως εκ τούτου έχει ιδιαίτερη σημασία να καθορίζεται το φαινολικό δυναμικό των σταφυλιών (Arozarena *et al.*, 2000). Παρακάτω παρουσιάζονται οι σημαντικότεροι παράγοντες που επιδρούν στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων.

### 1.6.1 ΠΟΙΚΙΛΙΑ

Κάθε ποικιλία και για την ακρίβεια κάθε καλλιεργούμενος κλώνος , χαρακτηρίζεται από ένα ξεχωριστό φαινολικό δυναμικό (Arozarena *et al.*, 2000). Σε γενικές γραμμές, οι ερυθρές ποικιλίες χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών σε σχέση με τις λευκές. Ωστόσο, φαίνεται πως ακόμη και μεταξύ των ερυθρών ποικιλιών υπάρχει σαφής διαφοροποίηση ως προς το ανθοκυανικό τους προφίλ.

Κατά τους Boss κ.α. (1996), το ανθοκυανικό προφίλ των ερυθρών ποικιλιών είναι προκαθορισμένο γενετικά και η βιοσύνθεση των ανθοκυανών αντανakλά στην πολυπλοκότητα των γονιδιακών μονοπατιών. Επομένως, οι διαφορές στο ανθοκυανικό προφίλ που παρατηρούνται μεταξύ των ποικιλιών, οφείλονται στις παραλλαγές του μονοπατιού βιοσύνθεσης (Boss *et al.*, 1996, 2001, Pomar *et al.*, 2005, Roggero *et al.*, 2006).

Διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ως προς την ποιοτική και ποσοτική τους σύσταση εντοπίζονται και στις φλαβονόλες (Andrade *et al.*, 2001), για παράδειγμα η μυρικετίνη εντοπίζεται μόνο στις ερυθρές ποικιλίες. Επιπλέον, η συγκέντρωση των κατεχινών και προκυανιδινών διαφέρει σημαντικά, με ιδιαίτερα πλούσιες τις ποικιλίες με μεγάλο ποσοστό γιγάρτων λόγω μικρών ραγών, όπως η Pinot noir ή με μεγάλο αριθμό γιγάρτων ανά ράγα σταφυλιών, όπως το Ξινόμαυρο (Κουράκου, Σ., 1998).

Διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες έχουν αναφερθεί και για τα σπιλβένια. Ο Jackson κ.α. θεωρούσαν ότι οι ράγες από πρέμνα που οι γενότυποι τους επιδεικνύαν ανθεκτικότητα σε ασθένειες, θα περιείχαν υψηλότερα επίπεδα σπιλβενίων σε σχέση με τους ευαίσθητους γενοτύπους στις ασθένειες. Ωστόσο κάτι τέτοιο δεν επιβεβαιώνεται σε όλες τις περιπτώσεις (Jackson et al., 1993)

Όσον αφορά το ποσοστό και το είδος των πολυμερισμένων ταννινών αλλά και το βαθμό πολυμερισμού παρουσιάζουν διαφορές από ποικιλία σε ποικιλία και εξαρτώνται από αυτή (Ribereau-Gayon et al., 2000).

### **1.6.2 ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΟ**

Η ζωηρότητα του υποκειμένου μεταδίδεται στην ποικιλία/εμβόλιο καθορίζοντας με αυτό τον τρόπο τις μετέπειτα φυσιολογικές της δραστηριότητες. Οι Satisha κ.α. (2008) μελέτησαν την επίδραση διαφορετικών υποκειμένων (Dog ridge, 110 R, and 1103 P, 99 R, St. George) της ποικιλίας Thomson seedless στις φαινολικές ενώσεις και διαπίστωσαν ότι τα πρέμνα που είχαν ως υποκείμενα Dog ridge, 110 R, και 1103 P (ζωηρά υποκείμενα) παρουσίαζαν υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών σε σχέση με τα πρέμνα που ήταν εμβολιασμένα στα υποκείμενα 99 R και St. George. Κατέληξαν λοιπόν στο συμπέρασμα ότι η σύσταση και η ποιότητα των αμπελοοινικών προϊόντων διαφοροποιείται ανάλογα με το υποκείμενο.

### **1.6.3 ΕΔΑΦΟΚΛΙΜΑΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

#### **ΕΔΑΦΟΣ**

Στη συγκέντρωση των φλαβονοειδών επιδρούν φυσικά χαρακτηριστικά του εδάφους όπως η δομή, η σύσταση αλλά και η ηλικία του. Η κύρια όμως επίδραση του τύπου του εδάφους είναι η ικανότητα του να συγκρατεί νερό επιτρέποντας παράλληλα την καλή στράγγιση της υγρασίας που περισσεύει (Σταυρακάκης, 2004<sup>β</sup>, Downey et al., 2006). Ακόμα και οι χημικές ιδιότητες του εδάφους όπως η γονιμότητα και το pH επηρεάζουν τη συσσώρευση των ανθοκυανών.

Σύμφωνα με μία μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε δύο διαφορετικούς αμπελώνες για την ποικιλία Granache, ο οίνος που προήλθε από τον

αμπελώνα με το γονιμότερο έδαφος και την μεγαλύτερη ικανότητα συγκράτησης ύδατος, παρουσίαζε μικρότερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών με εξαίρεση την περιεκτικότητα σε σιλβένια στην οποία υπερερούσε.

### **ΥΨΟΜΕΤΡΟ**

Από το υψόμετρο προσδιορίζονται οι θερμικές δυνατότητες του κλίματος μιας περιοχής. Η επίδραση του υψομέτρου είναι ευνοϊκή στις μεσημβρινές περιοχές, αλλά δυσμενής για της περιοχές που βρίσκονται κοντά στο βόρειο όριο καλλιέργειας της αμπέλου. Στο στάδιο ωρίμανσης των ραγών, το χαμηλό υψόμετρο επιδρά ευνοϊκά στη βιοσύνθεση μεγαλύτερων συγκεντρώσεων των μονομερών κατεχινών που βρίσκονται στους φλοιούς (Mateus et al., 2001) Ωστόσο, η συγκέντρωση των ανθοκυανών αυξάνεται με αύξηση του υψομέτρου (Mateus et al., 2002, Downey et al., 2006).

### **ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ**

Η δραστηριότητα των ενζυμικών συστημάτων που ευθύνονται για τη σύνθεση των φαινολικών ενώσεων αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας όσο αυτή παραμένει σε τιμές λίγο πιο χαμηλές από την άριστη θερμοκρασία ωρίμανσης των σταφυλών. Σε θερμοκρασίες υψηλότερες της άριστης για την ενζυμική δραστηριότητα, η φαινολική ωριμότητα συχνά δεν επιτυγχάνεται παρά μόνο σε πολύ χαμηλή οξύτητα και υψηλό pH. Αν και είναι δυσχερής ο ακριβής προσδιορισμός της άριστης θερμοκρασίας για τη σύνθεση των φαινολικών ουσιών φαίνεται ότι για την πλειονότητα των ερυθρών ποικιλιών αμπέλου κυμαίνεται μεταξύ 22-25°C, εφόσον οι λοιποί παράγοντες δεν δρουν περιοριστικά. Πέρα από τη βιοσύνθεση, η θερμοκρασία επηρεάζει και τη συγκέντρωση των φαινολικών στη ράγα. Η συγκέντρωση επηρεάζεται επίσης, από τη διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ ημέρας και νύχτας. Ακραίες θερμοκρασίες ( άνω των 35°C και κάτω των 15°C ) και μεγάλες διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών ημέρας- νύχτας μειώνουν τη συγκέντρωση των ανθοκυανών (Jackson,1993, Coombe,1992, Ribereau-Gayon et al.,1998).

## ΗΛΙΑΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

Η επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας στη βιοσύνθεση των ανθοκυανών έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας πολλών ερευνητικών εργασιών. Η ηλιακή ακτινοβολία εμπλέκεται καθοριστικά σε όλα τα στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών (Jackson, 1993, Coombe, 1992). Το ηλιακό φως αποτελεί το ερέθισμα για την ενεργοποίηση των απαραίτητων ενζύμων, τα οποία μέσα από μία πολύπλοκη διαδικασία, θα καταλήξουν στο σχηματισμό των φαινολικών ουσιών. Για τις φλαβονόλες το ερέθισμα προέρχεται κατά κύριο λόγο από την υπεριώδη ακτινοβολία, ενώ ο σχηματισμός των ανθοκυανών επηρεάζεται κυρίως από το ορατό φάσμα του φωτός.

Αντίστοιχα, σε συνθήκες σκιάς, όπως διαμορφώνονται σε ζυηρά πρέμνα με πλούσια βλάστηση, ο ρυθμός σχηματισμού των ανθοκυανών είναι αργός, με αποτέλεσμα τη χαμηλή συγκέντρωση χρωστικών στο φλοιό των ραγών. Μία ενδιαφέρουσα παρατήρηση έκαναν ο Cortell και ο Kennedy (2006), κατά την οποία ο μονογλυκοζίτης-3 της παιονιδίνης είχε αντίθετη συμπεριφορά από τις υπόλοιπες ανθοκυάνες και στις σκιαζόμενες ράγες η συγκέντρωσή του ήταν διπλάσια. Πρέπει ωστόσο να τονιστεί ότι η ηλιακή ακτινοβολία επιδρά μεν στη συγκέντρωση των ανθοκυανών, δεν καθορίζει όμως ποιες ανθοκυάνες θα σχηματιστούν και με ποια αναλογία.

Οι φλαβονόλες δρουν προστατευτικά στις ράγες έναντι της υπεριώδους ακτινοβολίας. Αποτελέσματα ερευνών έχουν δείξει πως τα επίπεδα φλαβονολών και ειδικά της κερκετίνης παρουσιάζουν σημαντική αύξηση σε ράγες της ποικιλίας Pinot noir έπειτα από έκθεση τους στον ήλιο (Prince *et al.*, 1995). Η βιοσύνθεση των φλαβονολών επάγεται από την έκθεση στο φως, συμπέρασμα το οποίο είναι σύμφωνο και με το ρόλο των φλαβονολών να προστατεύουν από την UV ακτινοβολία. Η μέγιστη επίδραση της σκίασης στην βιοσύνθεση των φλαβονολών διαπιστώθηκε όταν αυτή εφαρμόστηκε μερικές εβδομάδες πριν την άνθιση, εμποδίζοντας σχεδόν καθολικά την βιοσύνθεσή τους. Ενώ όταν η σκίαση εφαρμόστηκε μετά την άνθιση η ποσότητα των φλαβονολών στις ράγες ήταν 8-10 φορές χαμηλότερη από την αντίστοιχη ποσότητα των ραγών που εκτέθηκαν κανονικά στο φως.

#### **1.6.4 ΑΡΔΕΥΣΗ**

Το υδατικό έλλειμμα φαίνεται να αυξάνει τη συγκέντρωση των ανθοκυανών στις ράγες. Η έλλειψη νερού οδηγεί σε μείωση του μεγέθους των ραγών, γεγονός που οδηγεί διαφορετική αναλογία βάρους φλοιού ράγας προς ολικό βάρος ράγας με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα των ανθοκυανών και ταννινών στις ράγες. Η εφαρμογή μέτριας ή ελεγχόμενης υδατικής καταπόνησης κατά το στάδιο της ωρίμανσης των ραγών βελτιώνει την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το υδατικό έλλειμμα ελέγχει την βλαστική ανάπτυξη των πρέμνων και προλαμβάνει την υπερβολική σκίαση και οψίμιση της παραγωγής.

Η εφαρμογή διαφορετικού βαθμού υδατικής καταπόνησης σε πρέμνα της ποικιλίας Syrah κατά την καρπόδεση (έντονη), τον περκασμό (μέτρια) και στο στάδιο από τον περκασμό μέχρι και την πλήρη ωρίμανση (έντονη) επέδρασε διαφορετικά στη συγκέντρωση των διαφόρων φαινολικών ενώσεων. Συνολικά, είχε θετική επίδραση με την αύξηση των ολικών φαινολικών, λόγω της μείωσης του μεγέθους των ραγών και επομένως της αύξησης της αναλογίας φλοιού προς σάρκα. Γενικά, η καλλιέργεια των πρέμνων υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης χρησιμοποιείται ως καλλιεργητική τεχνική που αποσκοπεί στην βελτίωση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων (Kyrgaleou *et al.*, 2016).

Το πολύπλοκο με τις επεμβάσεις υδατικού στρες είναι ότι οι κύριες λειτουργίες του πρέμνου είναι αδύνατες χωρίς την απαραίτητη ποσότητα νερού. Έτσι το πρέμνο αντιδρώντας στην έλλειψη νερού μειώνει τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα κλείνοντας τα στομάτια, με πιθανή συνέπεια τη μείωση της συσσώρευσης των μεταβολιτών (υδατάνθρακες) και τέλος τη μειωμένη ανάπτυξη των βλαστών και του ριζικού συστήματος.

#### **1.6.5 ΛΙΠΑΝΣΗ**

Η εφαρμογή λίπανσης αυξάνει τη γονιμότητα του εδάφους και τροφοδοτεί τα φυτά με στοιχεία που προάγουν την ομαλή ανάπτυξη και παραγωγή τους. Η επάρκεια σε θρεπτικά συστατικά ευνοεί τη σύνθεση των φαινολικών συστατικών στη ράγα. Τα τρία κύρια θρεπτικά συστατικά που

χρησιμοποιούνται για λίπανση της αμπέλου είναι το άζωτο, το φώσφορο και το κάλιο. Η υπερβολική λίπανση επιφέρει αυξημένη παραγωγή υποβαθμισμένης ποιότητας, ενώ η έλλειψη δημιουργεί προβλήματα στο ρυθμό αύξησης των πρέμνων. Επιπλέον η υπερβολική λίπανση με άζωτο και κάλιο θα οδηγήσει σε μειωμένη συγκέντρωση ανθοκυανών, επειδή θα αυξηθεί η ζωηρότητα του πρέμνου και κατά συνέπεια θα επηρεαστεί η ισορροπία βλάστησης προς καρποφορίας και έμμεσα το μικροκλίμα εξαιτίας των ζυηρών (μεγάλου μήκους) βλαστών (Jackson and Lombard, 1993). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μερικών ερευνών φαίνεται πως οι μικρές ποσότητες εδαφικού αζώτου, σε σύγκριση με τις μεγάλες αυξάνουν την συγκέντρωση της ρεσβερατρόλης στα σταφύλια (Bavaresco, 2001, 2007).

#### **1.6.6 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ**

Οι φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στο σταφύλι και παρουσιάζουν σημαντικό τεχνολογικό ενδιαφέρον, δεν εξαρτώνται μόνο από τον γονότυπο, αλλά επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό τόσο από τις καλλιεργητικές τεχνικές που εφαρμόζονται στο αμπέλι όσο και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν (Lemut *et al.*, 2013)

Ωστόσο οι αμπελουργοί δεν μπορούν να επηρεάσουν το μακρόκλιμα και το μεσόκλιμα του αμπελώνα, έχουν όμως τη δυνατότητα να βελτιώσουν τις συνθήκες του μικροκλίματος των αμπελιών, με την εκτέλεση κατάλληλων αμπελοκομικών τεχνικών στο κατάλληλο στάδιο ανάπτυξης των σταφυλιών (Lemut *et al.*, 2013).

Δυο από τις σημαντικότερες καλλιεργητικές τεχνικές που εφαρμόζονται σε ετήσια βάση είναι το χειμερινό κλάδεμα καρποφορίας και τα χλωρά κλαδέματα.

Με το χειμερινό κλάδεμα καρποφορίας καθορίζεται το φορτίο του πρέμνου και προσδιορίζεται η σχέση βλάστησης προς καρποφορία. Αύξηση του φορτίου πέραν του κανονικού έχει ως αποτέλεσμα την επιβράδυνση του χρόνου ωρίμανσης, μείωση και υποβάθμιση της ποιότητας παραγωγής. Ξεκινά με το σύστημα μόρφωσης, κατά το οποίο δίνεται σχήμα στο πρέμνο και αξιοποιούνται κατά τον καλύτερο δυνατό τρόπο κάποια φυσικά χαρακτηριστικά του φυλλώματος (γεωμετρικό σχήμα, ύψος και κατεύθυνση), τα οποία



επηρεάζουν σημαντικά τη δημιουργία ευνοϊκού μικροκλίματος εντός του φυλλώματος αλλά ακόμη και σε επίπεδο ραγών.

Με τα χλωρά κλαδέματα (κορυφολόγημα, βλαστολόγημα, ξεφύλλισμα, αραίωμα φορτίου και χαραγή) επιδιώκεται η βελτιστοποίηση της παραγωγής ποιοτικά. Το ξεφύλλισμα αποσκοπεί κυρίως στη βελτίωση των χαρακτήρων ποιότητας των ραγών και ιδιαίτερα του χρώματος τους, αφού η εφαρμογή του συμβάλει στην καλύτερη έκθεση των ραγών στο φως (Ribereau- Gayon *et al.*, 2006). Γεγονός που επαληθεύεται και από το πείραμα που πραγματοποιήθηκε από τους Lemut κ.α. (2011), σύμφωνα με το οποίο στα πρέμνα που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα παρουσιάστηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων σε σχέση με τα πρέμνα που δεν εφαρμόστηκε καθόλου η συγκεκριμένη καλλιεργητική τεχνική. Επιπλέον τα τελευταία χρόνια γίνονται μελέτες (Diego *et al.*, 2012, Lemut *et al.*, 2013) σχετικά με την καταλληλότερη εποχή για την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος, με στόχο την αύξηση των φαινολικών ενώσεων και κυρίως σε ποικιλίες με χαμηλό φαινολικό δυναμικό όπως η Pinot noir. Το πρώιμο ξεφύλλισμα, φαίνεται να αποτελεί μία καλή εναλλακτική έναντι του ξεφυλλίσματος που γινόταν στο στάδιο του περκασμού, κυρίως για την ποικιλία *Pinot Noir*, εξαιτίας ορισμένων θετικών ενδείξεων στη βελτίωση του χρώματος.

## **2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της επίδρασης της χωροταξικής θέσης κάθε κελιού αμπελοτεμαχίου. Συγκεκριμένα μελετάται η παραλλακτικότητα της ποικιλίας Αγιωργίτικο (*Vitis vinifera L.*) σε συνθήκες αμπελώνα. Απώτερος στόχος της μελέτης είναι η βέλτιστη διαχείριση των σταφυλών για την παραγωγή αμπελουργικών προϊόντων υψηλής ποιότητας.

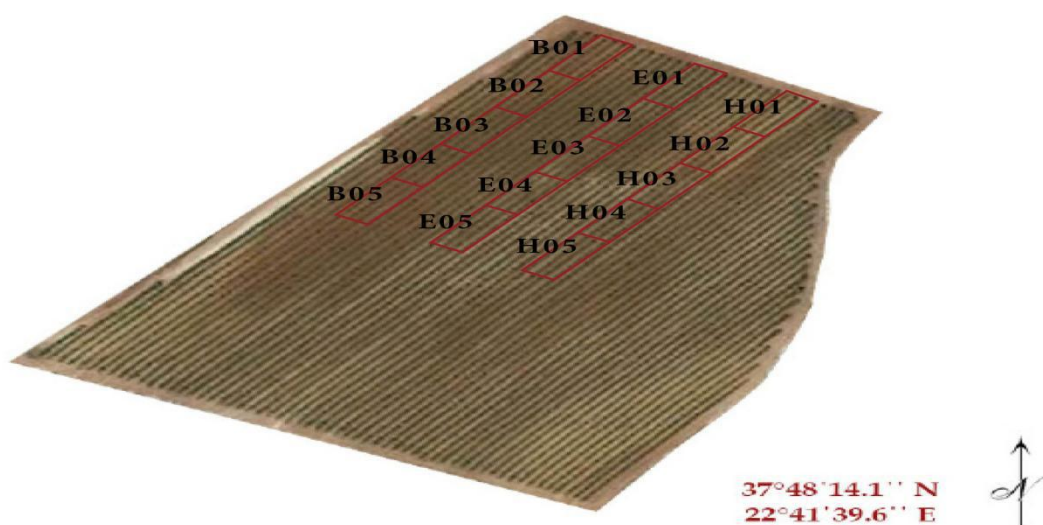
### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 3.1 ΠΟΙΚΙΛΙΑ

Μελετήθηκε η γηγενής ερυθρή οινοποιήσιμη ποικιλίας Αγιωργίτικο (*Vitis vinifera* L.), μία από τις σημαντικότερες γηγενείς ποικιλίες που καλλιεργούνται στην Ελλάδα. Ο αμπελώνας που διεξήχθη η παρούσα μελέτη βρίσκεται στην περιοχή της Αρχαίας Νεμέας και συγκεκριμένα στο Κτήμα Παλυβού.

#### 3.2 ΑΜΠΕΛΩΝΑΣ

Ο αμπελώνας βρίσκεται στην περιοχή Αρχαία Νεμέας ( $37^{\circ}48'14.1''$  N,  $22^{\circ}41'39.6''$  E). Τα πρέμνα είναι μορφομένα σε γραμμικό σχήμα (αμφίπλευρο Royat) και δέχονται τις συνήθεις αμπελοκομικές επεμβάσεις (λίπανση με 11-15-15 και δόση 250-300 g/πρέμνο, βραχύ χειμερινό κλάδεμα, κεφαλές με 2 λανθάνοντες οφθαλμούς ανά παραγωγική μονάδα, εφαρμογή χλωρών κλαδεμάτων - βλαστολόγημα, κορυφολόγημα- και άρδευση). Ένα τμήμα του αμπελώνα χωρίστηκε σε 3 τεμάχια (B, E, H) και το κάθε τεμάχιο σε 5 κελιά (B01-B05, E01-E05 και H01-H05), τα οποία αποτέλεσαν τις υπό μελέτη επεμβάσεις. Η διεξαγωγή του πειράματος έλαβε χώρα τη καλλιεργητική περίοδο 2017-2018.



Εικόνα 10 : Αμπελώνας Αρχαίας Νεμέας (Πηγή: google earth, προσωπική επεξεργασία)

### **3.3 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΡΑΓΩΝ**

Η δειγματοληψία των σταφυλιών πραγματοποιήθηκε κατά την τεχνολογική ωρίμαση των σταφυλιών, κάθε τεμαχίου. Η δειγματοληψία αντιπροσωπευτικού δείγματος σταφυλών και ραγών έγινε πρωινές ώρες από 5 πρέμνα κάθε κελιού. Σε κάθε δειγματοληψία ληφθήκαν 10 σταφυλές από κύριους βλαστούς που βρίσκονταν σε διαφορετικές θέσεις (σκιασμένες ή μη σκιασμένες) και από διαφορετικές θέσεις επί των βλαστών (κορυφή, μέση, βάση).

Από τις 10 σταφυλές που τρυγήθηκαν από κάθε κελί έγιναν 3 δειγματοληψίες ραγών, όπου η κάθε δειγματοληψία αποτέλεσε και μία επανάληψη (συνολικά 3). Ακολούθησαν οι μηχανικές αναλύσεις των σταφυλών και των ραγών όπως περιγράφεται παρακάτω και μετρήθηκε η ολική, η ενεργή οξύτητα των γλευκών και η σακχαροπεριεκτικότητά τους. Ακολούθησε διαχωρισμός των ραγών σε φλοιούς, γίγαρτα και σάρκα, για κάθε επανάληψη. Οι φλοιοί και τα γίγαρτα αποξηράθηκαν με την διαδικασία της λυοφυλίωσης και στη συνέχεια κονιορτοποιήθηκαν σε μύλο. Η σάρκα κάθε επανάληψης πολτοποιήθηκε ξεχωριστά. Στη συνέχεια όλα τα δείγματα (φλοιοί, γίγαρτα, γλεύκος) διατηρήθηκαν υπό βαθιά κατάψυξη στους -80 °C.

### **3.4 ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ ΚΑΙ ΡΑΓΑΣ**

#### **3.4.1 ΒΑΡΟΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ**

Από κάθε κελί ληφθήκαν τυχαία 10 σταφυλές, όπως αναφέρθηκε, και τυχαία μετρήθηκε το βάρος 3 από αυτές με ζυγό ακριβείας. Τέλος υπολογίστηκε το μέσο βάρος σταφυλής

#### **3.4.2 ΜΗΚΟΣ ΚΑΙ ΠΛΑΤΟΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ**

Για τις ίδιες σταφυλές, μετρήθηκε το μήκος και το πλάτος κάθε μίας σταφυλής με ακρίβεια χιλιοστού του μέτρου. Υπολογίστηκε το μέσο μήκος και πλάτος σταφυλής.

### **3.4.3 ΜΕΣΟ ΒΑΡΟΣ ΡΑΓΑΣ**

Λήφθηκαν τυχαία 3 επαναλήψεις των 50 ραγών από κάθε κελί και μετρήθηκε το βάρος κάθε επανάληψης με ζυγό ακρίβειας. Αυτό το βάρος διαιρέθηκε με τον αριθμό των ραγών και έτσι υπολογίστηκε το μέσο βάρος ράγας σε γραμμάρια, για κάθε επανάληψη.

### **3.4.4 ΜΕΣΟ ΜΗΚΟΣ ΚΑΙ ΠΛΑΤΟΣ ΡΑΓΩΝ**

Για κάθε επανάληψη κάθε κελιού ληφθήκαν 10 ράγες και μετρήθηκε το μήκος και το πλάτος κάθε ράγας με τη βοήθεια βερνιέρου και με ακρίβεια δύο δεκαδικών ψηφίων. Στη συνέχεια υπολογίστηκε ο μέσος όρος του μήκους και του πλάτους ράγας για κάθε επανάληψη.

## **3.5 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΛΕΥΚΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ**

### **3.5.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΑΚΧΑΡΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ (°BRIX) ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΔΙΑΘΛΑΣΙΜΕΤΡΟΥ**

Ο δείκτης διάθλασης του γλεύκους μετριέται με την βοήθεια διαθλασιμέτρου και εάν η θερμοκρασία μέτρησης είναι διαφορετική των 20 °C η τιμή διορθώνεται μέσω πίνακα. Αρχικά, το διαθλασίμετρο μηδενίζεται. Το μηδέν του οργάνου ρυθμίζεται με απεσταγμένο νερό και το όριο του διαχωρισμού των δύο ζωνών διαφορετικής φωτεινότητας, πρέπει να βρίσκεται στο μηδέν της κλίμακας. Στη συνέχεια τοποθετούνται δύο σταγόνες του προς εξέταση γλεύκους στην επιφάνεια του σταθερού πρίσματος, κατεβαίνει το κινητό πρίσμα και κατευθύνεται το όργανο προς μια πηγή φωτός. Επί της εν λόγω κλίμακας διακρίνεται μια διαχωριστική γραμμή μεταξύ μίας φωτεινής και μίας σκοτεινής ζώνης. Γίνεται ανάγνωση της ένδειξης εκεί όπου βρίσκεται η διαχωριστική γραμμή. Οι επιφάνειες του πρίσματος, μετά από κάθε μέτρηση, σκουπίζονται με ένα καθαρό πανί.

### 3.5.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΝΕΡΓΗΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ (pH)

Ως ενεργή οξύτητα ή pH καλείται το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και δίνουν  $H^+$ . Σε αντίθεση με την ολική οξύτητα η ενεργή οξύτητα εξαρτάται και από το είδος των οργανικών οξέων π.χ. ο οίνος που περιέχει μια ορισμένη ποσότητα τρυγικού οξέος είναι πιο όξινος από τον οίνο που περιέχει ισόποσο ηλεκτρικό οξύ λόγω του διαφορετικού βαθμού διάστασης των ελεύθερων καρβοξυλομάδων.

Βαθμονομείται το όργανο (pH-μετρο) με διαλύματα (buffer) γνωστού pH. Στη συνέχεια τοποθετείται το δείγμα, που πρέπει να βρίσκεται σε θερμοκρασία  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , σε ποτήρι ζέσεως κι εμβαπτίζεται το ηλεκτρόδιο. Λαμβάνεται η ένδειξη του οργάνου με δύο δεκαδικά ψηφία.



Εικόνα 11: Όργανο μέτρησης pH

### 3.5.3 ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ

#### 3.5.3.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ολική οξύτητα καθορίζεται από το σύνολο των καρβοξυλομάδων και εξαρτάται από την περιεκτικότητα σε οργανικά οξέα και ανόργανα ανιόντα και κατιόντα. Ο προσδιορισμός βασίζεται στην ογκομέτρηση αλκαλικού διαλύματος (NaOH 0,1N) που καταναλώνεται από τα οξέα του γλεύκους μέχρι το pH του δείγματος να φτάσει στην τιμή 7 της κλίμακας του pH. Ως δείκτης για τον καθορισμό του σημείου εξουδετέρωσης χρησιμοποιείται η φαινολοφθαλεΐνη, ιδανικότερα όμως βρωμοθυμόλη. Η φαινολοφθαλεΐνη αποτελεί το δείκτη που σηματοδοτεί το τέλος της αντίδρασης, δηλαδή την πλήρη εξουδετέρωση των οξέων του διαλύματος από το NaOH, αλλάζοντας χρώμα σε pH 8,3-10,5.

#### 3.5.3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) κανονικότητας 0,1N.
- Αλκοολικό διάλυμα φαινολοφθαλεΐνης 10 g/L (1%). Για την παρασκευή του διαλύματος διαλύονται 10 g φαινολοφθαλεΐνη σε 1000 mL αλκοόλη 95% vol.

#### 3.5.3.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

Για την διαδικασία της ογκομέτρησης χρησιμοποιείται κωνική φιάλη των 250 ml, στην οποία γίνεται:

- Μεταφορά 10 mL διαχωρισμένο από τους φλοιούς γλεύκος
- Προσθήκη 10 mL απεσταγμένου νερού
- Προσθήκη 4–5 σταγονών διαλύματος φαινολοφθαλεΐνης
- Σταδιακή τιτλοδότηση με προσθήκη NaOH 0,1 N μέχρι να αλλάξει χρώμα ο δείκτης φαινολοφθαλεΐνης (σε ερυθρές ποικιλίες από ερυθρό σε κεραμιδί)
- Σημειώνεται ο όγκος NaOH 0,1 N που χρειάστηκε για την πλήρη εξουδετέρωση των οξέων του δείγματος

## ΕΚΦΡΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Έστω  $n$  τα καταναλωθέντα mL NaOH 0,1 N. Η ολική οξύτητα εκφραζόμενη σε meq/L γλεύκους δίνεται από τον τύπο:

$$A = 10 \cdot n \text{ (meq/L)}$$

Ενώ εκφραζόμενη σε g τρυγικού οξέος/L γλεύκους, δίνεται από τον τύπο:

$$A' = 0,075 \cdot A \text{ (g/L σε τρυγικό οξύ)}$$

### **3.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΟΥΣ ΦΛΟΙΟΥΣ, ΣΤΑ ΓΙΓΑΡΤΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΓΛΕΥΚΗ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ**

#### **3.6.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

##### **3.6.1.1 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΦΛΟΙΩΝ**

Για την εκχύλιση των φλοιών παρασκευάστηκε διάλυμα Ακετόνης, Μεθανόλης, Νερού (σε αναλογία 40:40:19), οξιτισμένο με πυκνό διάλυμα HCl 12 M, κατά 1% επί του τελικού όγκου του διαλύματος εκχύλισης. Τα διαλύματα και των τριών ενώσεων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καθαρότητας HPLC.

Στη συνέχεια:

- Ζυγίστηκαν 0,4 g φλοιού από κάθε επανάληψη σε ζυγό ακριβείας και αναμείχθηκαν σε 4 mL διαλύματος (αναλογία 1:10).
- Ανάδευση του διαλύματος σε συσκευή Turrax στις 8.000 στροφές για 10 δευτερόλεπτα.
- Το ομογενοποιημένο διάλυμα εκχυλίστηκε υπό ανάδευση για 60 λεπτά σε θερμοκρασία 25 °C
- Φυγοκεντρήθηκε για 5 λεπτά στις 5000 στροφές
- Λήψη του υπερκείμενου (4mL)
- Επανάληψη της διαδικασίας -2η φορά- για το ίζημα από την αρχή, δηλαδή από την προσθήκη 4 mL διαλύματος εκχύλισης
- Εκ νέου λήψη του υπερκείμενου μετά τη φυγοκέντρηση
- Προσθήκη του υπερκείμενου στο προηγούμενο (4mL+4mL=8mL)
- Επανάληψη της διαδικασίας -3η φορά- για το ίζημα από την αρχή
- Εκ νέου λήψη του υπερκείμενου μετά τη φυγοκέντρηση
- Προσθήκη του υπερκείμενου στο προηγούμενο (8mL+4mL=12mL)
- Απόρριψη του ιζήματος
- Τελικός όγκος εκχυλίσματος 12 mL (αναλογία ξηρού βάρους-εκχυλίσματος 1:30)

Ο σκοπός που η διαδικασία εκχύλισης επαναλαμβάνεται τρεις φορές συνολικά είναι για να εξασφαλίσουμε ότι στο τελικό διάλυμα θα έχει εκχυλιστεί



όλη η ποσότητα των φαινολικών ενώσεων. Για κάθε επανάληψη του κάθε τεμαχίου έγινε ξεχωριστή εκχύλιση. Κατά συνέπεια στο τέλος της διαδικασίας υπήρχαν για κάθε κελί (επέμβαση) τρία διαφορετικά εκχυλίσματα (επανάληψη).

### 3.6.1.2 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΓΙΓΑΡΤΩΝ

Τα γίγαρτα περιέχουν γιγαρτέλαιο το οποίο απορροφά σε μήκος κύματος 280 nm. Στο ίδιο μήκος κύματος απορροφούν και οι μεμονωμένες φαινολικές ενώσεις, με αποτέλεσμα να είναι αδύνατο να διαχωρισθούν ικανοποιητικά οι ενώσεις στο όργανο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Για αυτό το λόγο πριν τη διαδικασία της εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων, έγινε αφαίρεση του γιγαρτέλαιου από τα κονιορτοποιημένα γίγαρτα με χρήση διαλύματος εξανίου καθαρότητας HPLC, για κάθε επανάληψη, ακολουθώντας την παρακάτω μέθοδο:

- Ζύγισμα 0,4 g λυοφιλομένων και κονιορτοποιημένων γιγάρτων
- Προσθήκη 2 mL εξανίου και ανάδευση
- Φυγοκέντρηση κι απόρριψη υπερκείμενου



Εικόνα 12: Φυγόκεντρος

**Επανάληψη της διαδικασίας -2η φορά- για το ίζημα.** Για την εκχύλιση των γιγάρτων παρασκευάστηκε διάλυμα Μεθανόλης-Νερού, αναλογίας 80:19. Το διάλυμα αυτό οξινίστηκε με πυκνό διάλυμα HCl 12M, κατά 1% επί του τελικού όγκου του διαλύματος εκχύλισης. Στη συνέχεια ακολουθήθηκε η διαδικασία

εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων από το παραπάνω ίζημα, κάθε επανάληψης:

- Προσθήκη 4 mL διαλύματος εκχύλισης
- Ανάδευση σε συσκευή Turax στις 8.000 στροφές για μερικά δευτερόλεπτα
- Εκχύλιση του ομογενοποιημένου διαλύματος υπό ανάδευση για 60 λεπτά σε θερμοκρασία 25 °C
- Φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στις 5000 στροφές
- Λήψη του υπερκείμενου (4mL)
- **Επανάληψη της διαδικασίας -2η φορά-** για το ίζημα από την αρχή, δηλαδή από την προσθήκη 5 mL διαλύματος εκχύλισης
- Εκ νέου λήψη του υπερκείμενου μετά τη φυγοκέντρηση
- Προσθήκη του υπερκείμενου στο προηγούμενο (4mL+4mL=8mL)
- **Επανάληψη της διαδικασίας -3η φορά-** για το ίζημα από την αρχή
- Εκ νέου λήψη του υπερκείμενου μετά τη φυγοκέντρηση
- Προσθήκη του υπερκείμενου στο προηγούμενο (8mL+4mL=12mL)
- Απόρριψη του υποκειμένου
- Τελικός όγκος εκχυλίσματος 12 mL (αναλογία ξηρού βάρους-εκχυλίσματος 1:30)

Ο σκοπός που η διαδικασία εκχύλισης επαναλαμβάνεται τρεις φορές συνολικά είναι για να εξασφαλίσουμε ότι στο τελικό διάλυμα θα έχει εκχυλιστεί όλη η ποσότητα των φαινολικών ενώσεων. Για κάθε ομάδα-επανάληψη του κάθε κελιού έγινε ξεχωριστή εκχύλιση. Κατά συνέπεια στο τέλος της διαδικασίας υπήρχαν για κάθε κελί (επέμβαση) τρία διαφορετικά εκχυλίσματα (επανάληψη).

### 3.6.1.3 ΑΡΑΙΩΣΗ

Εξαιτίας της υψηλής συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στους φλοιούς και στα γίγαρτα αποφασίστηκε, κατόπιν δοκιμών, να πραγματοποιηθεί αραιώση των αρχικών εκχυλισμάτων. Η αραιώση που έγινε στους φλοιούς και στα γίγαρτα ήταν 1:30 σε τελικό όγκο διαλύματος 10 L. Κατά συνέπεια για την παρασκευή του αραιωμένου διαλύματος γιγάρτων αραιώθηκαν 0,33 mL εκχυλίσματος σε 9,67 mL διαλύτη (μεθανόλη) και 0,33 mL πυκνού

εκχυλίσματος φλοιών σε 9,67 mL διαλύτη (μεθανόλη). Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη καθαρότητας HPLC.

### **3.6.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ILAND**

#### **3.6.2.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Για να προσδιοριστεί η συγκέντρωση των ανθοκυανών και των ολικών φαινολικών ενώσεων σε φλοιούς και γίγαρτα των ραγών αρχικά πρέπει να γίνει εκχύλιση. Μετά την εκχύλιση η μέτρηση των ανθοκυανών γίνεται φασματοφωτομετρικά με μέγιστη απορρόφηση στα 520 nm. Όταν στα 700 nm η τιμή είναι μεγαλύτερη του 0,01 ( $700\text{nm} > 0,01$ ), τότε το αποτέλεσμα δεν είναι έγκυρο. Αν μετρηθεί επίσης η απορρόφηση στα 280 nm, μετράται η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών. Η μέτρηση αυτή μπορεί να μην έχει άμεση συσχέτιση με τις τιμές που προκύπτουν κατά την οينوποίηση αλλά μας παρέχει πληροφορίες για το σύνολο των ολικών φαινολικών στη ράγα (φλοιός, σάρκα και γίγαρτα). Εδώ η μέτρηση έλαβε χώρα μόνο σε φλοιούς και γίγαρτα και όχι σε γλεύκος, καθώς η εκχύλιση κάθε φορά του γλεύκους προσδιορίζεται διαφορετικά με το στυλ οينوποίησης (χρόνοι, θερμοκρασίες και τρόποι εκχύλισης) του παραγόμενου οίνου.

#### **3.6.2.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

- Διάλυμα HCl 1M. Για την παρασκευή του διαλύματος αραιώθηκε 1:12 πυκνό HCl 12 M σε απιονισμένο νερό.

#### **3.6.2.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

Για τους φλοιούς και τα γίγαρτα χρησιμοποιήθηκαν τα αραιωμένα εκχυλίσματα 1:30 που αναφέρθηκαν παραπάνω για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών, ενώ για τον προσδιορισμό των ολικών ανθοκυανών

χρησιμοποιήθηκαν τα πυκνά εκχυλίσματα τα οποία αραιώθηκαν με μεθανόλη καθαρότητας HPLC σε αναλογία 1:1.

#### 3.6.2.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

Η διαδικασία αυτή είναι κοινή και για τους φλοιούς και για τα γίγαρτα

- ✓ Φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 4000 rpm για 10 λεπτά
- ✓ Μεταφορά 0,5 mL από το υπερκείμενο σε δοκιμαστικούς σωλήνες
- ✓ Προσθήκη 10 mL HCl 1M
- ✓ Ανάδευση με vortex
- ✓ Παραμονή σε ηρεμία στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου για 3 ώρες
- ✓ Φωτομέτρηση σε 520 nm (πλαστική κυψελίδα, λάμπα αλογόνου) και στα 280nm (κυψελίδα χαλαζία, λάμπα δευτερίου).

Σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα αντί για δείγμα προστέθηκαν 0,5 mL αραιωμένου διαλύματος εκχύλισης (1:30 σε μεθανόλη καθαρότητας HPLC για φλοιούς και γίγαρτα αντίστοιχα) ή 0,5 mL μεθανόλης στην περίπτωση του προσδιορισμού των ολικών ανθοκυανών. Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για μηδενισμό του φωτόμετρου, αντίστοιχα.

Μετρήθηκε η απορρόφηση στα 520nm για τις ανθοκυάνες (πλαστική κυψελίδα, λάμπα αλογόνου) -σε φλοιούς- και στα 280 nm για τις ολικές φαινολικές ενώσεις (κυψελίδα χαλαζία, λάμπα δευτερίου) -σε φλοιούς, γίγαρτα-. Για κάθε επανάληψη έγιναν 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο από τις οποίες υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων.

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των ανθοκυανών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση η μαλβιδίνη σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων. Ενώ, για τις ολικές φαινολικές ενώσεις ως πρότυπη ένωση χρησιμοποιήθηκε το γαλλικό οξύ σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

### **3.6.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ ΤΑΝΝΙΝΩΝ ΜΕ METHYL CELLULOSE (ΜΕΘΥΛΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ)**

#### **3.6.3.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Η μέτρηση συγκέντρωσης συμπυκνωμένων ταννινών με Methyl cellulose είναι ένα μέσο μέτρησης της συγκέντρωσης ταννινών μετά από ομογενοποίηση και εκχύλιση στο κρασί και στα σταφύλια, αλλά και σε άλλα υδατικά διαλύματα (Sarneckis C., *et al.*, 2006, Smith P.A., 2005). Η συγκεκριμένη μέθοδος μετράει το σύνολο των ταννινών του δείγματος οίνου ή ράγας. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις αλληλεπιδράσεις των ταννινών με άλλα μόρια, όπως η methyl cellulose (μεθυλική κυτταρίνη) και τη δημιουργία αδιάλυτων συμπλόκων, τα οποία καθιζάνουν. Το πολυμερές που χρησιμοποιείται είναι η methyl cellulose και ως εκ τούτου, η δοκιμασία μετρά τις ταννίνες που καθιζάνουν με την methyl cellulose, δηλαδή, μετρά την MCP - ταννίνη . Η δοκιμασία βασίζεται στην αφαίρεση των τιμών απορρόφησης στα 280 nm (A280) των διαλυμάτων με και χωρίς καθίζηση που μετρήθηκαν με την χρήση φασματοφωτομέτρου. Η methyl cellulose δεν απορροφά στα 280nm, και συνεπώς δεν εμποδίζει τις μετρήσεις.

#### **3.6.3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

- Κορεσμένο διάλυμα ammonium sulfate. Η παρασκευή του διαλύματος γίνεται με προσθήκη 300 mL απιονισμένου νερού σε ποτήρι ζέσεως των 500 mL και προστίθενται κρύσταλλοι θειικού αμμωνίου, υπό συνεχή ανάδευση, μέχρι να μην μπορεί να διαλυθεί άλλο. Συνεχίζεται η προσθήκη των κρυστάλλων μέχρι να υπάρχουν στον πάτο κρύσταλλοι θειικού αμμωνίου πάχους 1,5 cm περίπου.
- Διάλυμα methyl cellulose 0,04%. Η παρασκευή του διαλύματος γίνεται με θέρμανση περίπου 300 ml απιονισμένου νερού στους 80 °C και ψύξη περίπου 700 mL απιονισμένου νερού στους 0-5 °C. Σε ποτήρι ζέσεως προστίθενται τα 300 mL απιονισμένου νερού στους 80 °C και προστίθενται 0,4 g methyl cellulose μέχρι να διαλυθεί τελείως με συνεχή ανάδευση. Το

διάλυμα τοποθετείται σε υδατόλουτρο 0-5 °C και προστίθεται σιγά σιγά το κρύο νερό, αναδεύοντας το για 20-40 λεπτά. Βγαίνει από το υδατόλουτρο κι αφήνεται υπό ανάδευση για 12 ώρες.

### 3.6.3.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

Για τους φλοιούς χρησιμοποιήθηκαν αραιωμένα εκχυλίσματα 1:10 ενώ για τα γίγαρτα 1:30. Η διαδικασία αυτή είναι κοινή και για τα δύο μέρη της ράγας (φλοιοί, γίγαρτα)

- Φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 4000 rpm για 10 λεπτά
- Παίρνουμε 2 πλαστικούς σωλήνες φυγοκέντρου (control και treatment):

**a.control:** 1 mL αραιωμένου εκχυλίσματος + 2 mL ammonium sulfate + H<sub>2</sub>O (τελ. V = 10mL). Ανάδευση με Vortex και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.

**b.treatment:** 1 mL αραιωμένου εκχυλίσματος + 3 mL methyl cellulose (ανάδευση σε vortex και παραμονή για 2-3 λεπτά) + 2 mL ammonium sulfate + H<sub>2</sub>O ( Vτελ = 10 mL). Ανάδευση με Vortex και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.

- Φυγοκέντρηση για 10 min σε 6000 rpm.
- Φωτομέτρηση στα 280 nm (κυψελίδα χαλαζία, λάμπα δευτερίου)

Σε 2 άλλους πλαστικούς σωλήνες αντί για δείγμα προστέθηκε 1 mL αραιωμένου διαλύματος εκχύλισης (1:10 σε μεθανόλη καθαρότητας HPLC για φλοιούς και 1:30 για γίγαρτα αντίστοιχα). Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για μηδενισμό του φωτόμετρου.

Μετρήθηκε η απορρόφηση στα 280 nm (κυψελίδα χαλαζία, λάμπα δευτερίου). Για κάθε επανάληψη λήφθηκαν 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο από τις οποίες υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους για τα control sample και για τα treatment sample. Υπολογίστηκε η διαφορά των μέσων όρων για κάθε επανάληψη (A<sub>280</sub>=ACS-ATS) και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων.

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των συμπυκνωμένων ταννινών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση η κατεχίνη σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

### **3.6.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΧΛΩΡΙΟΥΧΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ ( $\text{AlCl}_3$ )**

#### **3.6.4.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Η αρχή της μεθόδου προσδιορισμού των ολικών φλαβονοειδών με το χλωριούχο αργίλιο βασίζεται στο ότι το  $\text{AlCl}_3$  σχηματίζει σταθερά όξινα σύμπλοκα με την κετονομάδα στη θέση C4 και την υδροξυλική ομάδα είτε της θέσης C3 είτε της θέσης C5 των φλαβονών και φλαβονολών. Επιπρόσθετα, σχηματίζει όξινα, ασταθή, σύμπλοκα με της όρθο-υδροξυλομάδες των δακτυλίων A και B των φλαβονοειδών.

#### **3.6.4.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

- Υδατικό διάλυμα  $\text{NaNO}_2$  5% w/v. Για την παρασκευή του διαλύματος ζυγίζονται 5 g  $\text{NaNO}_2$  και διαλύονται σε τελικό όγκο 100 mL απιονισμένου νερού.
- Υδατικό διάλυμα  $\text{AlCl}_3$  10% w/v. Για την παρασκευή του διαλύματος ζυγίζονται 10 gr  $\text{AlCl}_3$  και διαλύονται σε τελικό όγκο 100 mL απιονισμένου νερού, κάτω από απαγωγό.
- Διάλυμα  $\text{NaOH}$  1N

#### **3.6.4.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

Για τους φλοιούς και τα γίγαρτα χρησιμοποιήθηκαν τα αραιωμένα εκχυλίσματα που αναφέρθηκαν στην αρχή του κεφαλαίου.

#### **3.6.4.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ**

Η διαδικασία αυτή είναι κοινή και για τους φλοιούς και για τα γίγαρτα. Σε ένα πλαστικό σωλήνα φυγόκεντρου:

- ✓ Προσθήκη 2 mL απεσταγμένο νερό
- ✓ Προσθήκη 0,5 mL αραιωμένου εκχυλίσματος
- ✓ Ανάδευση με vortex και προσθήκη 0,15 mL  $\text{NaNO}_2$  5%w/v

- ✓ Ανάδευση με vortex και μετά από 5 λεπτά προσθήκη 0,15 mL  $\text{AlCl}_3$  10% w/v
- ✓ Ανάδευση με vortex και μετά από 6 λεπτά προσθήκη 1 mL  $\text{NaOH}$  1N
- ✓ Ανάδευση με vortex και μετά προσθήκη 1,2 mL απεσταγμένο νερό
- ✓ Ανάδευση με vortex και μέτρηση των δειγμάτων στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 510 nm (πλαστική κυψελίδα, λάμπα αλογόνου)

Σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα αντί για αραιωμένο εκχύλισμα προστέθηκαν 0,5 mL αραιωμένου διαλύματος εκχύλισης (1:30 σε μεθανόλη καθαρότητας HPLC) κι ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιήθηκε για μηδενισμό του φωτόμετρου.

Για κάθε επανάληψη παρθήκαν 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο από τις οποίες υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των ολικών φλαβονοειδών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση η κατεχίνη.



### **3.6.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΑΝΟΛΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ 4-ΔΙΜΕΘΥΛ-ΑΜΜΙΝΟΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΗ ΑΛΔΕΥΔΗ (4-DMACA)**

#### **3.6.5.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Οι αλδεΰδες αντιδρούν με τις μ-διφαινόλες προς σχηματισμό ενός έγχρωμου (βαθύ μπλε) ιόντος υπό όξινες συνθήκες. Η αντίδραση έχει αξιοποιηθεί για την εκτίμηση των φλαβανολών καθώς ο δακτύλιος Α έχει λειτουργικότητα μ-διφαινόλης. Οι Thies και Fischer (1971) πρώτη φορά ανέφεραν το βαθύ μπλε χρωματισμό της 4-DMACA μετά από αντίδραση της με τις κατεχίνες. Μια άλλη ευρύτερα διαδεδομένη μέθοδος για τον προσδιορισμό των φλαβανολών είναι αυτή που ως αλδεΰδη χρησιμοποιείται η αρωματική ένωση βανιλίνη. Όμως, η μέθοδος 4-DMACA έχει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της βανιλίνης καθώς παρέχει μεγαλύτερη ευαισθησία και ακρίβεια και δεν υπάρχει καμία παρεμβολή από τις ανθοκυάνες.

#### **3.6.5.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

- Σκόνη 4-DMACA 100 mg
- Διάλυμα 25% v/v HCl 1N
- Μεθανόλη Καθαρότητας HPLC
- Παρασκευή διαλύματος 4-DMACA 0,1% w/v. Για την παρασκευή του διαλύματος αυτού, αναμίχθηκαν 8,5 mL HCl με 91.65 mL μεθανόλης και στη συνέχεια διαλύθηκαν τα 100 mg 4-DMACA υπό συνεχή ανάδευση.

#### **3.6.5.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

Για τους φλοιούς και τα γιγάρτα χρησιμοποιήθηκαν τα αραιωμένα εκχυλίσματα που αναφέρθηκαν στην αρχή του κεφαλαίου. Όμως, επειδή η συγκέντρωση των φλαβανολών είναι ιδιαίτερα υψηλή στην συγκεκριμένη ποικιλία έγινε επιπλέον αρραίωση στο ήδη αραιωμένα εκχυλίσματα τόσο των φλοιών όσο και των γιγάρτων με μεθανόλη καθαρότητας HPLC. Η τελική αρραίωση των φλοιών ήταν 1: 60 και των γιγάρτων 1:120.

#### 3.6.5.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

Η διαδικασία αυτή είναι κοινή και για τους φλοιούς και για τα γίγαρτα. Σε ένα πλαστικό σωλήνα φυγόκεντρου:

- ✓ Μεταφορά 1 mL διαλύματος 4-(Dimethylamino)cinnamaldehyde
- ✓ Προσθήκη 200  $\mu$ L αραιωμένου εκχυλίσματος κι έπειτα ανάδευση με vortex
- ✓ Παραμονή των δειγμάτων σε ηρεμία για 10 λεπτά
- ✓ Μέτρηση των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 640 nm

Σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα αντί για αραιωμένο εκχύλισμα προστέθηκαν 200  $\mu$ L αραιωμένου διαλύματος εκχύλισης (1:60 σε μεθανόλη καθαρότητας HPLC για τους φλοιούς και 1:120 για τα γίγαρτα αντίστοιχα) κι ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιήθηκε για μηδενισμό του φωτόμετρου.

Για κάθε επανάληψη παρήχθησαν 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο από τις οποίες υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των ολικών φλαβανολών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση η κατεχίνη σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

### **3.6.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΩΝ ΚΑΙ ΦΛΑΒΟΝΟΛΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΧΛΩΡΙΟΥΧΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ ( $\text{AlCl}_3$ )**

#### **3.6.6.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Η αρχή της μεθόδου αναφέρεται παραπάνω στη μέτρηση των ολικών φλαβονοειδών.

#### **3.6.6.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

- Μεθανόλη Καθαρότητας HPLC
- Διάλυμα  $\text{AlCl}_3$  5% w/v. Για την παρασκευή του διαλύματος ζυγίζονται 5 g  $\text{AlCl}_3$  και διαλύονται σε τελικό όγκο 100 mL μεθανόλης καθαρότητας HPLC, κάτω από απαγωγό.

#### **3.6.6.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

Στη μέτρηση αυτή δεν χρησιμοποιήθηκε το αραιωμένο εκχύλισμα όπως στις υπόλοιπες μετρήσεις, καθώς η συγκέντρωση των φλαβονολών θα ήταν δύσκολα ανιχνεύσιμη. Για αυτό χρησιμοποιήθηκε κατευθείαν το πυκνό εκχύλισμα.

#### **3.6.6.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ**

Σε ένα πλαστικό σωλήνα φυγόκεντρου:

- ✓ Μεταφέρθηκαν 0,2 mL εκχυλίσματος
- ✓ Προσθήκη 2 mL μεθανόλης κι ακολουθεί ανάμιξη
- ✓ Προσθήκη 0,1 mL διάλυμα  $\text{AlCl}_3$  κι ακολουθεί ανάμιξη
- ✓ Προσθήκη 2,7 mL μεθανόλη κι ακολουθεί ανάμιξη
- ✓ Παραμονή του δείγματος για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και ηρεμία
- ✓ Μέτρηση των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 425 nm

Σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα αντί για το εκχύλισμα προστέθηκαν 0,2 mL διαλύματος εκχύλισης ή μεθανόλης καθαρότητας HPLC κι ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιήθηκε για μηδενισμό του φωτόμετρου.

Για κάθε επανάληψη παρήχθησαν 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο από τις οποίες υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των ολικών φλαβονών και φλαβονολών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση η ρουτίνη σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων).

### **3.6.7 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ Ο-ΔΙΦΑΙΝΟΛΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ROUSSOS ΚΑΙ PONTIKIS**

#### **3.6.7.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Ο προσδιορισμός των ολικών ο-διφαινολών έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται από τους Roussos και Pontikis (2001). Η συγκέντρωση των ο-διφαινολών προσδιορίστηκε με Sodium molybdate.

#### **3.6.7.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

- Φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα 0,1 M και pH=5,8
- 5% w/v NaMoO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O

#### **3.6.7.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

Στη μέτρηση αυτή δεν χρησιμοποιήθηκε το αραιωμένο εκχύλισμα όπως στις υπόλοιπες μετρήσεις, καθώς η συγκέντρωση των ο-διφαινολών θα ήταν δύσκολα ανιχνεύσιμη. Για αυτό χρησιμοποιήθηκε κατευθείαν το πυκνό εκχύλισμα.

#### 3.6.7.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

- ✓ Σε 900  $\mu\text{L}$  απεσταγμένο νερό προστίθενται 100  $\mu\text{L}$  εκχυλίσματος του δείγματος και ακολουθεί καλή ανάδευση
- ✓ Προστίθεται 1 mL φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα με συγκέντρωση 0,1 M και  $\text{pH}=5,8$
- ✓ Ακολουθεί ανάδευση και μετά προστίθενται 2 mL  $\text{NaMoO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  περιεκτικότητας 5% w/v
- ✓ Στη συνέχεια ακολουθεί πάλι ανάδευση και τέλος παραμονή των δειγμάτων σε ηρεμία για 15 min πριν τη μέτρηση
- ✓ Μέτρηση των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 370 nm  
Σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα αντί για εκχύλισμα προστέθηκαν 0,1 mL μεθανόλης ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιήθηκε για μηδενισμό του φωτόμετρου.

Για κάθε επανάληψη παρθήκαν 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο από τις οποίες υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των ολικών ο-διφαινολών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση το καφεϊκό οξύ σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

### **3.6.8 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΣΧΥΣ ΑΝΑΓΩΓΗΣ ΤΡΙΣΘΕΝΟΥΣ ΣΙΔΗΡΟΥ (FRAP)**

#### **3.6.8.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Η μέθοδος FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power/Αντιοξειδωτική Ισχύς Αναγωγής Τρισθενούς Σιδήρου) στηρίζεται στην αναγωγή ενός συμπλόκου του τρισθενούς σιδήρου από το αντιοξειδωτικό προς ένα προϊόν με έντονο κυανούν χρώμα. Αναπτύχθηκε από τους Benzie και Strein το 1996.

#### **3.6.8.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

- Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος συγκέντρωσης 0,3 M και pH= 3,6
- Διάλυμα TPTZ 10 mM/L σε διάλυμα HCl 40 mM/L
- Διάλυμα FeCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O 20 mM/L
- HCl 40 mM

#### **3.6.8.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

Για τους φλοιούς έγινε αραίωση του αρχικού εκχυλίσματος σε αναλογία 1:60 με μεθανόλη καθαρότητας HPLC, ενώ στα γίγαρτα 1:120 αντίστοιχα.

#### **3.6.8.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ**

- Το διάλυμα εργασίας FRAP παρασκευάζεται ημερησίως με ανάμιξη:
  - ✓ 25 mL ρυθμιστικού διαλύματος
  - ✓ 2,5 mL TPTZ
  - ✓ 2,5 mL FeCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O
- Το διάλυμα εργασίας FRAP θερμαίνεται στους 37 °C και λαμβάνεται η τιμή απορρόφησης στα 593 nm ως τυφλό
- Σε 0,1 mL αραιωμένου εκχυλίσματος προστίθεται 1,1 mL διαλύματος FRAP και το μίγμα αφήνεται στο σκοτάδι για 10 min σε θερμοκρασία 37 °C
- Μετρείται η απορρόφηση του δείγματος στα 593 nm

Σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα αντί για αραιωμένο εκχύλισμα προστέθηκαν 0,2 mL αραιωμένου διαλύματος εκχύλισης (1:60 και 1:120 για φλοιούς και γίγαρτα αντίστοιχα σε μεθανόλη καθαρότητας HPLC) κι ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιήθηκε για μηδενισμό του φωτόμετρου.

Για κάθε επανάληψη παρθήκαν 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο από τις οποίες υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των αντιοξειδωτικών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση το αντιοξειδωτικό διάλυμα trolox σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

### **3.6.9 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ (ABTS)**

#### **3.6.9.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στον έλεγχο του αποχρωματισμού του κατιόντος ABTS<sup>+</sup> που παράγεται από την οξειδωση του αντιδραστηρίου 2,2'azinobis-(3-ethylbenzothiazililine-6sulfonate) (ABTS). Η οξειδωση προκαλείται από την προσθήκη ενός χημικού οξειδωτικού παράγοντα. Το ABTS<sup>+</sup> παρουσιάζει μια ισχυρή απορρόφηση στα 600-750 nm και μπορεί να καθοριστεί εύκολα φασματοφωτομετρικά.

#### **3.6.9.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

- 7 mM ABTS
- 2,45 mM potassium persulfate

Συγκεκριμένα 7 mmol του αμμωνιακού άλατος ABTS διαλύονται σε νερό και κατεργάζονται με 2,45 mmol υπερθειϊκού καλίου και το μίγμα διατηρείται στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 12-16 h, ώστε να προκύψει βαθύ κυανό διάλυμα.

Αυτό το διάλυμα αραιώνεται με μεθανόλη ώστε το διάλυμα που προκύπτει να έχει απορρόφηση περίπου 0,7 μονάδες στα 734 nm.

#### **3.6.9.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

Για τους φλοιούς και τα γίγαρτα χρησιμοποιήθηκαν τα αραιωμένα εκχυλίσματα που αναφέρθηκαν στην αρχή του κεφαλαίου.

#### **3.6.9.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ**

- Λαμβάνεται η τιμή απορρόφησης του διαλύματος ABTS στα 734 nm ως τυφλό
- Σε 25  $\mu$ L αραιωμένο εκχύλισμα προστίθενται 2,5 ml διαλύματος ABTS
- Αναμονή για 1 min



■ Φωτομέτρηση στα 734 nm

Σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα αντί για αραιωμένο εκχύλισμα προστέθηκαν 25  $\mu\text{L}$  αραιωμένου διαλύματος εκχύλισης (1:30 σε μεθανόλη καθαρότητας HPLC) κι ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιήθηκε για μηδενισμό του φωτόμετρου.

Για κάθε επανάληψη παρθήκαν 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο από τις οποίες υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των αντιοξειδωτικών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση το αντιοξειδωτικό διάλυμα trolox σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

## **3.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ HPLC ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ**

### **3.7.1 ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΟΥ**

Ο όρος χρωματογραφία (chromatography) περιλαμβάνει πλήθος αναλυτικών τεχνικών που εφαρμόζονται κοινώς στον διαχωρισμό των συστατικών μιγμάτων ουσιών. Κάθε χρωματογραφική τεχνική περιλαμβάνει μία κινητή φάση (mobile phase), η οποία ρέει μεταφέροντας τις διαχωριζόμενες ουσίες -συστατικά ενός μίγματος- μέσω μίας στατικής φάσης (static phase). Η κινητή φάση αποτελείται από ένα διαλύτη ή σύστημα διαλυτών, ενώ η στατική φάση από πορώδες στερεό υλικό ή από υγρό καθηλωμένο σε στερεό υπόστρωμα. Ο διαχωρισμός των συστατικών στη χρωματογραφία βασίζεται στο διαφορετικό βαθμό αλληλεπίδρασης του κάθε συστατικού με τις δύο φάσεις. Η αλληλεπίδραση αυτή οφείλεται στις διαφορές των συστατικών του μίγματος σε ορισμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους, όπως π.χ. διαφορές στο μέγεθος του μορίου, το φορτίο, την πτητικότητα και τη διαλυτότητα. Στην υγρή χρωματογραφία (Liquid Chromatography ή LC) η κινητή φάση είναι υγρή, ενώ η στατική φάση μπορεί να είναι στερεή ή υγρή.

Στη χρωματογραφία HPLC η κινητή φάση ρέει με τη βοήθεια αντλίας μέσω χρωματογραφικής στήλης. Αυτό επιταχύνει την ανάλυση και μειώνει το μέγεθος της στήλης που απαιτείται για έναν διαχωρισμό. Κατά συνέπεια επιτρέπει τη χρήση στηλών που το εμβαδόν της επιφάνειας της στατικής φάσης, που είναι διαθέσιμο να αλληλεπιδράσει, είναι μεγαλύτερο γιατί χρησιμοποιείται υλικό πλήρωσης με μικρό μέγεθος σωματιδίων. Ως αποτέλεσμα, βελτιώνεται ο διαχωρισμός των αναλυόμενων μορίων. Τα δείγματα που αναλύονται με HPLC βρίσκονται αποκλειστικά σε υγρή μορφή .

Η HPLC έχει δύο μορφές, την HPLC κανονικής φάσης και την HPLC αντίστροφης φάσης που είναι η πιο κοινώς χρησιμοποιούμενη μορφή. Σε αυτή, ο διαχωρισμός οφείλεται στην προσρόφηση υδρόφοβων μορίων (μη πολικά) σε υδρόφοβη (μη πολική) στατική φάση, υπό την ροή κινητής φάσης αυξημένης πολικότητας. Το γεγονός ότι η στατική φάση δεν είναι πολική οφείλεται, στις μακριές αλυσίδες υδρογονάνθρακα που είναι προσδεμένες στην επιφάνεια του προσροφητικού υλικού. Τα μη πολικά μόρια στο

διαχωριζόμενο δείγμα προσροφούνται ισχυρά στις αλυσίδες υδρογονάνθρακα, ενώ τα πολικά μόρια κινούνται ταχύτερα διαμέσου της στήλης και εκλύονται νωρίτερα. Παρακάτω συνοψίζονται τα στάδια της HPLC:

- i. Καθορισμένη ποσότητα δείγματος «εμβολιάζεται» στην κινητή φάση στην αρχή της στήλης.
- ii. Το δείγμα μετακινείται στη στήλη υπό τη συνεχή ροή της κινητής φάσης.
- iii. Τα επιμέρους συστατικά του δείγματος κατανέμονται μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης.
- iv. Το κλάσμα κάθε συστατικού που βρίσκεται στην κινητή φάση μετακινείται υπό τη συνεχή ροή της κινητής φάσης.
- v. Η ταχύτητα μετακίνησης των μορίων κάθε συστατικού εξαρτάται από το κλάσμα του χρόνου παραμονής τους στην κινητή φάση ως προς το χρόνο παραμονή τους στην στατική φάση και είναι ανάλογη του συντελεστή κατανομής του συστατικού στις δύο φάσεις.
- vi. Τα επιμέρους συστατικά, με την προϋπόθεση ότι έχουν διαφορετικούς συντελεστές κατανομής, μετακινούνται με διαφορετική μέση ταχύτητα μέσα στη στήλη, με αποτέλεσμα να διαχωρίζονται σε ζώνες.
- vii. Τα συστατικά εξέρχονται από τη στήλη και ανιχνεύονται από κατάλληλο ανιχνευτή που βρίσκεται στην έξοδο της στήλης.

### **3.7.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ**

#### **3.7.2.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ HPLC**

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

- αντλία Gradient, Shimadzu Nexera X2
- στήλη X-select της Waters C18, διαστάσεων 250 x 4,6 mm και διαμέτρου 4.6 μm,
- ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδιόδων UV-Vis (PDA)

Η κινητή φάση αποτελείται από τον διαλύτη A (υδατικό διάλυμα 8% v/v μυρμηγκικού οξέος) και τον διαλύτη B (μεθανόλη). Ο ρυθμός ροής είναι 1mL/min με όγκο δείγματος 10 μL (αυτόματη έγχυση), ανίχνευση στα 520 nm και το πρόγραμμα έκλουσης είναι το εξής:

- 95% διαλύτης A αρχικά (0 min)

- 50% διαλύτης A στο 25 min
- 5% διαλύτη A στο 30 min
- 95% διαλύτη A στο 35 min όπου διατηρήθηκε ισοκρατικά για επιπλέον 5 min.

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- Μεθανόλη Καθαρότητας HPLC
- Νερό Καθαρότητας HPLC

### 3.7.2.2 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Για τους φλοιούς και χρησιμοποιήθηκαν τα εκχυλίσματα που αναφέρθηκαν στην αρχή του κεφαλαίου.

### 3.7.2.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

- ✓ Προσθήκη 100  $\mu\text{L}$  εκχυλίσματος σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει 900  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$  καθαρότητας HPLC
- ✓ Ανάδευση
- ✓ Φιλτράρισμα του τελικού διαλύματος με φίλτρο 0,2  $\mu\text{m}$  και ταυτόχρονη μεταφορά του σε κατάλληλους περιέκτες για αυτόματο δειγματολήπτη
- ✓ Τοποθέτηση του περιέκτη στο όργανο της HPLC

Για κάθε επανάληψη έλαβε χώρα μία μέτρηση στην HPLC, καθώς το όργανο παρουσιάζει μεγάλη ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Χρησιμοποιώντας τις πρότυπες καμπύλες, βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων σε κάθε ανθοκυάνη ξεχωριστά. Για την κατασκευή των πρότυπων καμπυλών, της κάθε ανθοκυάνης, παρασκευάστηκαν διαλύματα με νερο, όπως και για τα δείγματα, στα οποία προστέθηκαν κλιμακούμενες συγκεντρώσεις των μονογλυκοζιτών-3 της κάθε ανθοκυάνης.

Στη συνέχεια, ακολούθησε ταυτοποίηση των ανθοκυανών στα δείγματα βάση των πρότυπων ουσιών των ανθοκυανών, συγκρίνοντας τους χρόνους συγκράτησης (tR) και το φάσμα απορρόφησης. Οι ανθοκυάνες που ταυτοποιήθηκαν είναι η κυανιδίνη, η δελφινιδίνη, η πετουινιδίνη, η παιονιδίνη κι η μαλβιδίνη, οξικός εστέρας της μαλβιδίνης, κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης.

### **3.8 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ HPLC ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ**

#### **3.8.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

Για τον προσδιορισμό των μεμονωμένων οξέων χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα χυμός σταφυλών.

#### **3.8.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ**

- ✓ Προσθήκη 0,5 mL δείγμα σε πλαστικό σωλήνα που περιέχει 2 mL NaPO<sub>3</sub> (περιεκτικότητας 5% w/v)
- ✓ Ανάδευση
- ✓ Φυγοκέντρηση στις 5.000 rpm για 5 min
- ✓ Παραλαβή υπερκείμενου
- ✓ Φιλτράρισμα του τελικού διαλύματος με φίλτρο 0,2 μm και ταυτόχρονη μεταφορά του σε κατάλληλους περιέκτες για αυτόματο δειγματολήπτη
- ✓ Τοποθέτηση του περιέκτη στο όργανο της HPLC

Για κάθε επανάληψη έλαβε χώρα μία μέτρηση στην HPLC, καθώς το όργανο παρουσιάζει μεγάλη ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Χρησιμοποιώντας τις πρότυπες καμπύλες, βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων σε κάθε οξύ ξεχωριστά. Για την ταυτοποίηση των κορυφών για κάθε οξύ χρησιμοποιήθηκαν πρότυπες ενώσεις, από τις οποίες έγιναν οι πρότυπες καμπύλες αναφοράς, για την ποσοτικοποίηση της συγκέντρωσης των οξέων.

Στη συνέχεια, ακολούθησε ταυτοποίηση των οξέων στα δείγματα βάση των πρότυπων ουσιών των οξέων, συγκρίνοντας τους χρόνους συγκράτησης (tR) και το φάσμα απορρόφησης. Τα οξέα που ταυτοποιήθηκαν είναι το τρυγικό, το μηλικό, το ασκορβικό, το ηλεκτρικό, το φουμαρικό.

#### 4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματος έγινε με το πρόγραμμα Jump 8.0 (SAS Institute Inc). Η σημαντικότητα των αποτελεσμάτων ελέγχθηκε με ανάλυση της διασποράς (ANOVA). Η σύγκριση των μέσων έγινε με τη μέθοδο Tukey's test, σε επίπεδο σημαντικότητας  $P \leq 0,05$ . Στην παράθεση των αποτελεσμάτων οι μέσοι όροι ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα της λατινικής αλφαβήτου υποδηλώνοντας την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικής διαφοράς και από το στατιστικό σφάλμα του μέσου.

#### 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

##### 5.1 ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΡΑΓΑΣ & ΣΤΑΦΥΛΗΣ

Πίνακας 1 : Μηχανικές αναλύσεις ράγας

ΚΕΛΙΑ	ΜΗΚΟΣ ΡΑΓΩΝ (mm)	ΠΛΑΤΟΣ ΡΑΓΩΝ (mm)	ΒΑΡΟΣ 50 ΡΑΓΩΝ (gr)
B01	14,08 ± 0,31bc	11,41 ± 0,22c	57,24 ± 0,39bcd
B02	14,37 ± 0,16bc	12,42 ± 0,21bc	56,24 ± 1,76bcd
B03	13,90 ± 0,73bcd	12,90 ± 0,16bc	49,25 ± 2,25cd
B04	15,32 ± 0,15ab	14,17 ± 0,33ab	63,00 ± 3,06b
B05	14,57 ± 0,28bc	13,38 ± 0,55abc	55,00 ± 1,15bcd
E01	14,83 ± 0,35abc	13,80 ± 0,38ab	60,67 ± 1,76bc
E02	12,14 ± 0,31d	11,55 ± 0,12c	63,00 ± 2,08b
E03	15,28 ± 0,60ab	13,97 ± 0,48ab	60,33 ± 1,33bcd
E04	14,05 ± 0,44bc	13,21 ± 0,46abc	61,67 ± 3,18bc
E05	14,51 ± 0,12bc	12,61 ± 0,52bc	54,33 ± 1,66bcd
H01	16,64 ± 0,57a	15,22 ± 0,84a	89,00 ± 7,09a
H02	14,17 ± 0,19bc	13,17 ± 0,25bc	77,00 ± 1,00a
H03	15,63 ± 0,12ab	14,23 ± 0,12ab	60,67 ± 1,20bc
H04	13,37 ± 0,28cd	12,31 ± 0,11bc	46,67 ± 1,20d
H05	13,07 ± 0,10cd	11,65 ± 0,25c	45,00 ± 1,15d

Οι δείκτες a,b,c,d στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Οι διαστάσεις των ραγών παρουσίασαν σχετική αναλογία μεταξύ μήκους και πλάτους. Οι ράγες δηλαδή σχεδόν κατά πλειοψηφία με το μεγαλύτερο μήκος, εμφάνισαν και το μεγαλύτερο πλάτος. Σε όλα τα κελιά παρατηρήθηκε ότι το μήκος ήταν μεγαλύτερο από το πλάτος των ραγών. Το μήκος κυμάνθηκε από 16,64 mm έως 12,14 mm, ενώ το πλάτος από 15,22 mm έως 11,55 mm.

Συγκεκριμένα, τις μεγαλύτερες διαστάσεις ραγών τις παρουσίασε το κελί **H01** με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα περισσότερα κελιά, με εξαίρεση τα κελιά B04, E01, E03 και H03.50 ραγών διαφέροντας στατιστικά σημαντικά από τα υπόλοιπα κελιά, με εξαίρεση το κελί **H02** (77,00 g) που δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά από το **H01**. Τα κελιά B03 (49,25 g), B04 (63,00 g), B05 (55,00 g), E01(60,67 g), E02 (63,00 g), E03 (60,33 g), E04 (61,67 g), E05 (54,33 g) και H03 (60,67 g) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Το χαμηλότερο βάρος 50 ραγών εμφανίστηκε στο κελί **H05** (45,00 g) χωρίς να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με τα κελιά B05 (55,00 g), E05 (54,33 g) και H04 (46,67 g).

Πίνακας 2 : Μηχανικές αναλύσεις σταφυλής

ΚΕΛΙΑ	ΒΑΡΟΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ (cm)	ΠΛΑΤΟΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ (g)	ΜΗΚΟΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ (cm)
B01	182,22 ± 4,68abc	9,45 ± 0,25a	12,86 ± 0,50a
B02	175,26 ± 2,54abcd	9,42 ± 0,22a	13,00 ± 0,33a
B03	161,00 ± 8,08abcd	8,33 ± 0,44ab	13,50 ± 0,29a
B04	142,00 ± 7,64bcd	7,83 ± 0,44abc	13,17 ± 1,48a
B05	110,33 ± 3,33d	6,00 ± 0,00c	10,33 ± 0,33a
E01	157,00 ± 7,77abcd	8,00 ± 0,58abc	13,67 ± 1,33
E02	170,67 ± 3,71abcd	8,83 ± 0,60a	15,00 ± 1,53a
E03	154,00 ± 9,54abcd	8,33 ± 0,33ab	13,67 ± 0,88a
E04	189,67 ± 9,68ab	8,00 ± 0,5abc	12,83 ± 1,64a
E05	118,00 ± 4,36cd	6,50 ± 0,29abc	10,83 ± 0,60a
H01	212,00 ± 6,24a	8,33 ± 0,33a	14,33 ± 1,86a
H02	156,67 ± 41,22abcd	8,50 ± 0,76ab	13,33 ± 2,40a
H03	190,67 ± 7,86ab	8,83 ± 0,72a	16,33 ± 1,33a
H04	185,67 ± 3,67ab	9,50 ± 0,29a	15,00 ± 0,58a
H05	188,67 ± 8,69ab	9,33 ± 0,67a	14,83 ± 0,73a

Οι δείκτες a,b,c,d, στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test (P<0,05)

Δεν καταγράφηκε αναλογία μεταξύ μήκους και πλάτους των σταφυλών. Το μεγαλύτερο μήκος σταφυλής μετρήθηκε στο κελί **H03** χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα υπόλοιπα. Το κελί **B05** ήταν η λιγότερο επιμήκης. Αντίθετα, το μεγαλύτερο πλάτος σταφυλής μετρήθηκε στο κελί **H04** και το μικρότερο μετρήθηκε πάλι στο **B05**, χωρίς ωστόσο να παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των κελιών.

Το μεγαλύτερο βάρος σταφυλής καταγράφηκε στο κελί **H01** (212 g), χωρίς ωστόσο να εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά με την πλειονότητα των κελιών. Τη μικρότερη τιμή την είχε το κελί **B05** (110 g), ενώ ακολουθεί η E05 (118 g) εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά από το κελί με τη μεγαλύτερη τιμή.



Πίνακας 3: Μηχανικές αναλύσεις ράγας

ΚΕΛΙΑ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΒΑΡΟΥΣ ΦΛΟΙΩΝ (%)	ΠΟΣΟΣΤΟ ΒΑΡΟΥΣ ΓΙΓΑΡΤΩΝ (%)	ΠΟΣΟΣΤΟ ΒΑΡΟΥΣ ΣΑΡΚΑΣ (%)
B01	21,49 ± 0,71cde	3,06 ± 0,21efg	72,24 ± 2,26abcd
B02	21,63 ± 0,15cde	4,94 ± 0,45a	73,43 ± 1,42abcd
B03	25,79 ± 0,35bc	2,69 ± 0,08fg	71,69 ± 0,46cd
B04	26,23 ± 1,85abc	3,26 ± 0,32defg	70,50 ± 2,17de
B05	30,66 ± 0,59a	4,23 ± 0,20abcd	65,12 ± 0,42e
E01	16,89 ± 0,20e	4,43 ± 0,10abc	78,69 ± 0,30ab
E02	18,90 ± 0,49de	3,13 ± 0,17defg	77,96 ± 0,42abc
E03	17,47 ± 1,12e	3,66 ± 0,20bcdef	78,87 ± 1,32a
E04	23,75 ± 1,41bc	3,88 ± 0,12abcde	72,36 ± 1,48bcd
E05	26,48 ± 0,63ab	3,30 ± 0,15cdefg	70,22 ± 0,75de
H01	18,95 ± 1,24de	2,26 ± 0,13g	78,79 ± 1,36ab
H02	22,93 ± 0,50bcd	2,38 ± 0,01g	74,69 ± 0,50abcd
H03	22,71 ± 0,71bcd	3,95 ± 0,29abcde	73,34 ± 0,98abcd
H04	22,63 ± 0,94bcd	4,76 ± 0,16ab	72,63 ± 1,27abcd
H05	22,69 ± 0,95bcd	4,08 ± 0,23abcde	73,24 ± 1,15bcd

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f,g στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Το ποσοστό του βάρους των φλοιών κυμάνθηκε από 30,66 έως 16,89 % μεταξύ των κελιών. Το μεγαλύτερο ποσοστό καταγράφηκε στο κελί **B05** (30,66 %) με στατιστικά σημαντική διαφορά. Αντίθετα οι μικρότερες τιμές εντοπίστηκαν στο κελί **E01** (16,89%) και **E03** (17,47%) χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Το ποσοστό του βάρους των γιγάρτων δεν είχε τόσο μεγάλη παραλλακτικότητα όσο των φλοιών και κυμάνθηκε από 4,94 έως 2,26%. Το μεγαλύτερο ποσοστό καταγράφηκε στο κελί B02 (4,94%) με στατιστικά σημαντική διαφορά. Αντίθετα οι μικρότερες τιμές εντοπίστηκαν στο κελί **H01**

(2,26%) και **H02** (2,38%) χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Το ποσοστό του βάρους της σάρκας κυμάνθηκε από 78,87 έως 65,12 % μεταξύ των κελιών. Το μεγαλύτερο ποσοστό καταγράφηκε στο κελί **E03** (78,87 %) χωρίς να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά από το αμέσως επόμενο H01 (78,79%). Η μικρότερη τιμή βρέθηκε στο **B05** (65,12%) με στατιστικά σημαντική διαφορά.

Πίνακας 4: Μηχανικές αναλύσεις ράγας

ΚΕΛΙΑ	ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΦΛΟΙΟΣ/ ΣΑΡΚΑ
B01	0,22 ± 0,01e
B02	0,22 ± 0,01de
B03	0,36 ± 0,01b
B04	0,37 ± 0,04b
B05	0,47 ± 0,01a
E01	0,21 ± 0,00e
E02	0,24 ± 0,01cde
E03	0,22 ± 0,02de
E04	0,33 ± 0,03bc
E05	0,38 ± 0,01b
H01	0,24 ± 0,02cde
H02	0,31 ± 0,01bcd
H03	0,31 ± 0,01bc
H04	0,31 ± 0,02bc
H05	0,31 ± 0,02bc

Οι δείκτες a,b,c,d,e στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Το κελί με την μεγαλύτερη αναλογία φλοιού/ σάρκα καταγράφηκε στο κελί B05 με στατιστικά σημαντική διαφορά. Ενώ η μικρότερη τιμή μετρήθηκε στο κελί E01 χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από το αμέσως επόμενο κελί B01.

## 5.2 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΛΕΥΚΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σακχάρων μετρήθηκε στο κελί **B03** (25,20 °Brix), ενώ η μικρότερη τιμή καταγράφηκε στο κελί **H04** (17,47 °Brix). Ωστόσο και στις δύο περιπτώσεις υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά. Συγκεκριμένα με εξαίρεση τα κελιά B04-E03 και E02-H05 τα οποία ως ζεύγη δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους αντίστοιχα, όλα τα υπόλοιπα κελιά παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Πίνακας 5: Μέτρηση γλευκογραφικών χαρακτηριστικών

ΚΕΛΙΑ	pH	ΟΞΥΤΗΤΑ	ΣΑΚΧΑΡΑ	ΒΑΘΜΟΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ
B01	4,08 ± 0,05bc	3,55 ± 0,03de	23,27 ± 0,64b	6,56 ± 0,21 ab
B02	3,81 ± 0,02e	3,60 ± 0,12de	23,67 ± 0,29b	6,58 ± 0,18ab
B03	4,10 ± 0,01b	3,75 ± 0,00de	25,20 ± 0,00a	6,72 ± 0,00a
B04	3,89 ± 0,00de	3,50 ± 0,12de	22,00 ± 0,00cd	6,30 ± 0,22abc
B05	4,09 ± 0,00bc	3,75 ± 0,00de	23,40 ± 0,00b	6,24 ± 0,00abc
E01	4,27 ± 0,00a	4,50 ± 0,00bc	17,87 ± 0,07g	3,97 ± 0,01gh
E02	3,83 ± 0,01de	3,38 ± 0,22e	18,97 ± 0,03f	5,66 ± 0,37bcd
E03	4,28 ± 0,00a	4,38 ± 0,12c	21,80 ± 0,00cd	4,99 ± 0,15def
E04	3,87 ± 0,00de	3,38 ± 0,00e	18,20 ± 0,00fg	5,39 ± 0,00cde
E05	3,91 ± 0,00d	3,50 ± 0,12de	20,00 ± 0,00c	5,73 ± 0,20bcd
H01	3,73 ± 0,00f	5,13 ± 0,12a	22,27 ± 0,07c	4,35 ± 0,10fgh
H02	4,09 ± 0,01b	4,13 ± 0,22cd	23,87 ± 0,07b	5,82 ± 0,32abcd
H03	4,08 ± 0,00b	4,63 ± 0,13abc	21,07 ± 0,07d	4,56 ± 0,13efg
H04	3,89 ± 0,00de	5,00 ± 0,12ab	17,47 ± 0,07g	3,50 ± 0,09h
H05	4,02 ± 0,00c	4,63 ± 0,13abc	19,13 ± 0,07ef	4,15 ± 0,12fgh

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f,g,h στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Το κελί στο οποίο καταγράφηκε η χαμηλότερη ενεργή οξύτητα ήταν το **B02** (pH 3,81), ενώ το κελί που εμφάνισε την υψηλότερη τιμή ήταν το **E03** (pH 4,28). Όλα τα κελιά παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά (Πίνακας 5).

Η μεγαλύτερη ολική οξύτητα καταγράφηκε στο κελί **H01** (5,13 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους), ενώ η μικρότερη τιμή μετρήθηκε στην **E02** και στην **E04**

(3,38 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους). Τα υπόλοιπα κελιά παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Τα κελιά B03 (3,75 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους) , B04 (3,50 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους), B05 (3,75 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους), E02 (3,38 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους), E04 (3,38 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους) και E05 (3,50 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους) παρουσίασαν ελαφρώς χαμηλότερες τιμές ολικής οξύτητας από το μέσο όρο φυσιολογικών τιμών οξύτητας για την ποικιλία Αγιωργίτικο.

Ο βαθμός ωρίμανσης (που εκφράζεται ως το πηλίκο διαλυτών στερεών με ολική οξύτητα) παρουσίασε μεγάλη παραλλακτικότητα μεταξύ των κελιών. Συγκεκριμένα η μεγαλύτερη τιμή παρουσιάστηκε στο κελί B03 (6,72) με στατιστικά σημαντική διαφορά, ενώ τη μικρότερη κατείχε το κελί H04 (3,50).

### 5.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ & ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Στον πίνακα 6 παρατίθενται οι μετρήσεις της περιεκτικότητας των φλοιών και των γιγάρτων των κελιών σε ολικές φαινολικές ενώσεις. Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα στους φλοιούς καταγράφηκε στο **E02** (9,30 mg γαλλικού οξέος/ g ν.ι.(νωπού ιστού)) με στατιστικά σημαντική διαφορά. Ακολούθησε το E03 (9,15 mg γαλλικού οξέος / g ν.ι.) χωρίς να διαφέρει σημαντικά από το E02, ενώ οι χαμηλότερες τιμές καταγράφηκαν στα κελιά **H01** (4,58 mg γαλλικού οξέος / g ν.ι.) και **H03** (5,24 mg γαλλικού οξέος / g ν.ι.), που παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά με τα υπόλοιπα κελιά.

Πίνακας 6: Μέτρηση ολικών φαινολικών ενώσεων

ΚΕΛΙΑ	ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΓΙΓΑΡΤΩΝ mg γαλλικό οξύ/g ν.ι.	ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΦΛΟΙΩΝ mg γαλλικό οξύ/g ν.ι.
B01	27,25 ± 0,61cd	7,23 ± 0,20bc
B02	27,56 ± 0,48cd	6,95 ± 0,09bcd
B03	26,42 ± 0,78cd	6,97 ± 0,11bcd
B04	25,99 ± 0,39cd	6,25 ± 0,23def
B05	27,46 ± 0,76cd	6,71 ± 0,20cd
E01	28,70b ± 1,84bc	7,53 ± 0,08b
E02	24,57 ± 0,85cd	9,30 ± 0,26a
E03	26,51 ± 0,09cd	9,15 ± 0,08a
E04	27,72 ± 1,27cd	5,84 ± 0,02efg
E05	27,51 ± 1,39cd	6,23 ± 0,11def
H01	24,64 ± 0,84cd	4,58 ± 0,04h
H02	22,79 ± 0,85d	5,82 ± 0,17fg
H03	33,71 ± 1,89ab	5,24 ± 0,12gh
H04	38,64 ± 0,48a	6,65 ± 0,29cde
H05	28,28 ± 1,55bcd	7,23 ± 0,04bc

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f,g,ηστην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test (P<0,05)

Στα γίγαρτα οι μεγαλύτερες περιεκτικότητες ολικών φαινολικών ενώσεων μετρήθηκαν στα κελιά **H04** (38,64 mg γαλλικού οξέος / g v.i.) και **H03** (33,71 mg γαλλικού οξέος / g v.i.), χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, αλλά με στατιστικά σημαντική διαφορά με τα υπόλοιπα κελιά. Το κελί **H02** παρουσίασε την μικρότερη τιμή (22,79 mg γαλλικού οξέος / g v.i.), (Πίνακας 6).

Στον πίνακα 7 παρατίθενται οι μετρήσεις περιεκτικότητας των ολικών φλαβονοειδών ενώσεων στους φλοιούς και στα γίγαρτα των ραγών. Το κελί με τη μεγαλύτερη τιμή επί των φλοιών ήταν το **H05** (22,53 mg κατεχίνης/g v.i.) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα. Μικρότερη περιεκτικότητα παρουσίασε το **E04** (5,36 mg κατεχίνης/g v.i.) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα .

Πίνακας 7: Μέτρηση ολικών φλαβονοειδών ενώσεων

ΚΕΛΙΑ	ΟΛ. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ ΦΛΟΙΩΝ mg κατεχίνη/g v.i.	ΟΛ. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ ΓΙΓΑΡΤΩΝ mg κατεχίνη/g v.i.
B01	15,13 ± 0,35bcd	105,54 ± 0,82d
B02	14,21 ± 0,55cdef	105,67 ± 0,80d
B03	15,93 ± 0,33bc	107,70 ± 1,36cd
B04	14,45 ± 0,49cde	113,19 ± 2,91abcd
B05	11,61 ± 0,26efg	109,52 ± 0,67bcd
E01	14,40 ± 0,36cdef	118,02 ± 0,85ab
E02	12,74 ± 0,39def	93,56 ± 1,76e
E03	8,28 ± 0,58hi	110,36 ± 0,30bcd
E04	5,36 ± 0,23i	121,70 ± 0,42a
E05	11,25 ± 0,10fgh	111,09 ± 1,82bcd
H01	13,68 ± 0,00cdef	117,04 ± 1,21abc
H02	9,18 ± 0,60gh	103,39 ± 2,61de
H03	13,92 ± 1,35cdef	106,89 ± 2,25cd
H04	18,05 ± 0,49b	108,78 ± 4,97bcd
H05	22,53 ± 1,22a	105,00 ± 0,73d

Το κελί με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών φλαβονοειδών στο γίγαρτα ήταν το **E04** (121,70 mg κατεχίνης/g v.i.), χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά από το αμέσως επόμενο E01 (118,02 mg κατεχίνης/g v.i.). Τη μικρότερη τιμή την παρουσίασε το **E02** (93,56 mg κατεχίνης/g v.i.) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά πλην του H02 (103,39 mg κατεχίνης/g v.i.).

#### 5.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΩΝ ΚΑΙ ΦΛΑΒΟΝΟΛΩΝ

Πίνακας 8: Μέτρηση Ολικών Φλαβονών και Φλαβονολών

ΚΕΛΙΑ	ΟΛ. ΦΛΑΒΟΝΕΣ & ΦΛΑΒΟΝΟΛΕΣ ΦΛΟΙΩΝ mg ρουτίνη/ g v.i.	ΟΛ. ΦΛΑΒΟΝΕΣ & ΦΛΑΒΟΝΟΛΕΣ ΓΙΓΑΡΤΩΝ mg ρουτίνη/ g v.i.
B01	0,72 ± 0,03cde	0,31 ± 0,03efg
B02	0,71 ± 0,01cde	0,32 ± 0,01efg
B03	0,68 ± 0,00de	0,37 ± 0,02cd
B04	0,82 ± 0,01cd	0,36 ± 0,02defg
B05	0,66 ± 0,00e	0,38 ± 0,02cdef
E01	1,09 ± 0,01ab	0,29e ± 0,01fg
E02	1,03 ± 0,06b	0,40 ± 0,01abcde
E03	0,79 ± 0,00cde	0,35 ± 0,01defg
E04	0,77 ± 0,02cde	0,29 ± 0,02g
E05	0,84c ± 0,02c	0,41 ± 0,00abcd
H01	0,98 ± 0,00b	0,44 ± 0,01abc
H02	0,73 ± 0,10cde	0,47 ± 0,01a
H03	1,00 ± 0,03b	0,39 ± 0,01bcde
H04	1,05 ± 0,05b	0,46 ± 0,01ab
H05	1,19 ± 0,04a	0,47 ± 0,02ab

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f,g στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Τα κελιά με τις μεγαλύτερες περιεκτικότητες ολικών φλαβονών και φλαβονολών στους φλοιούς ήταν το **H05** (1,19 mg ρουτίνης / g v.i.) και το αμέσως επόμενο το E01 (1,09 mg ρουτίνης / g v.i.) χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, ωστόσο το H05 παρουσιάζει

στατιστικά σημαντική διαφορά με όλα τα υπόλοιπα κελιά. Μικρότερη τιμή παρουσίασαν τα κελιά **B05** (0,66 mg ρουτίνης / g v.i.) και **B03** (0,68 mg ρουτίνης / g v.i.) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών φλαβονών και φλαβονολών στα γίγαρτα την παρουσίασαν το **H05** και το **H02** (0,47mg ρουτίνης / g v.i.). Το **E01** και το **E04** εμφάνισαν την μικρότερη τιμή (0,29 mg ρουτίνης / g v.i.). Υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο σύνολο των κελιών.

## 5.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΑΝΟΛΩΝ

Πίνακας 9: Μέτρηση Ολικών Φλαβανολών

ΚΕΛΙΑ	ΟΛ.ΦΛΑΒΑΝΟΛΕΣ ΦΛΟΙΩΝ mg κατεχίνη/g v.i.	ΟΛ.ΦΛΑΒΑΝΟΛΕΣ ΓΙΓΑΡΤΩΝ mg κατεχίνη/g v.i.
B01	2,41 ± 0,16e	24,21 ± 0,52c
B02	2,44 ± 0,13e	32,42 ± 0,61a
B03	2,45 ± 0,10e	30,94 ± 0,68a
B04	2,84 ± 0,08de	30,83 ± 1,20a
B05	2,54 ± 0,05de	29,11 ± 0,44abc
E01	4,01 ± 0,03bc	30,55 ± 1,07a
E02	4,80 ± 0,16a	28,12 ± 1,94abc
E03	3,42 ± 0,13cd	27,79 ± 1,29abc
E04	2,68 ± 0,04e	30,25 ± 0,47a
E05	2,65 ± 0,18de	31,37 ± 1,13a
H01	4,03 ± 0,08b	31,20 ± 0,53a
H02	3,42 ± 0,01cd	31,68 ± 1,47a
H03	2,84 ± 0,09de	29,87 ± 0,26ab
H04	4,49 ± 0,14ab	32,51 ± 1,23a
H05	4,55 ± 0,15ab	24,73 ± 1,00bc

Οι δείκτες a,b,c,d,e στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Το κελί στο οποίο μετρήθηκε η μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών φλαβανολών στους φλοιούς ήταν το **E02** (4,80 mg κατεχίνης / g v.i.) και ακολουθούν τα H04 (4,49 mg κατεχίνης / g v.i.) και H05 (4,55 mg κατεχίνης / g v.i.) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Μικρότερες



τιμές καταγράφηκαν στο B01 (2,41 mg κατεχίνης / g v.i.) και στο B02 (2,44 mg κατεχίνης / g v.i.) που δεν διαφέραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Στα γίγαρτα τις μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε ολικές φλαβανόλες τις εμφάνισαν το H04 (32,51 mg κατεχίνης / g v.i.), χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα υπόλοιπα. Μικρότερη τιμή καταγράφηκε στο κελί H05 (24,73 mg κατεχίνης / g v.i.), χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από όλα τα κελιά.

## 5.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ο- ΔΙΦΑΙΝΟΛΩΝ

Πίνακας 10: Μέτρηση Ολικών Ορθο-διφαινολών

ΚΕΛΙΑ	ΟΛ. ο-ΔΙΦΑΙΝΟΛΕΣ ΦΛΟΙΩΝ mg καφεϊκό οξύ/ g v.i.	ΟΛ. ο-ΔΙΦΑΙΝΟΛΕΣ ΓΙΓΑΡΤΩΝ mg καφεϊκό οξύ/ g v.i.
B01	0,142 ± 0,002f	1,42 ± 0,13abc
B02	0,143 ± 0,003f	1,41 ± 0,07abc
B03	0,140 ± 0,003f	1,43 ± 0,07abc
B04	0,161 ± 0,001ef	1,48 ± 0,04abc
B05	0,136 ± 0,004f	1,35 ± 0,03bc
E01	0,287 ± 0,001a	1,36 ± 0,11bc
E02	0,218 ± 0,008c	1,34 ± 0,05c
E03	0,188 ± 0,003d	1,34 ± 0,01c
E04	0,154 ± 0,001f	1,42 ± 0,04abc
E05	0,106 ± 0,004g	1,74 ± 0,05a
H01	0,137 ± 0,006f	1,69 ± 0,04ab
H02	0,094 ± 0,007g	1,60 ± 0,03abc
H03	0,180 ± 0,003de	1,39 ± 0,02bc
H04	0,254 ± 0,005b	1,56 ± 0,10abc
H05	0,254 ± 0,009b	1,50 ± 0,03abc

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f,g στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Το κελί που παρουσίασε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικές ο-διφαινόλες στους φλοιούς είναι το **E01** (0,287 mg καφεϊκό οξύ / g v.i.) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα. Η μικρότερη τιμή καταγράφηκε στο **H02** (0,094 mg καφεϊκό οξύ / g v.i.) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα.

Στα γίγαρτα τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα την εμφάνισε το κελί **E05** (1,74 mg καφεϊκό οξύ / g v.i.), ακολουθεί το κελί H01 (1,69 mg καφεϊκό οξύ / g v.i.) χωρίς ωστόσο να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο σύνολο των κελιών. Τη μικρότερη περιεκτικότητα την παρουσίασαν το **E02** (1,34 mg

καφεϊκό οξύ / g v.i.) και το **E03** (1,34 mg καφεϊκό οξύ / g v.i.) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από τα υπόλοιπα.

## 5.7 ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ ΤΑΝΝΙΝΩΝ

Πίνακας 11: Μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών

ΚΕΛΙΑ	TANNINESΣ ΦΛΟΙΩΝ mg κατεχίνη/g v.i.	TANNINESΣ ΓΙΓΑΡΤΩΝ mg κατεχίνη/g v.i.
B01	19,00 ± 2,14de	77,90 ± 3,59e
B02	19,00 ± 0,37de	77,90 ± 1,45e
B03	16,78 ± 0,88def	94,79 ± 0,83bcd
B04	25,01 ± 1,29b	113,02 ± 1,34a
B05	25,03 ± 0,37b	106,62 ± 1,60ab
E01	33,10 ± 0,35a	100,10 ± 4,23bc
E02	24,74 ± 0,17bc	95,65 ± 6,49bcd
E03	18,15 ± 0,65def	98,51 ± 2,06bcd
E04	18,79 ± 0,83de	86,10 ± 0,22de
E05	16,35 ± 0,43f	101,66 ± 1,05abc
H01	16,30 ± 0,10ef	93,61 ± 1,40cd
H02	14,40 ± 0,56f	73,79 ± 1,71e
H03	20,86 ± 0,00cd	77,32 ± 0,55e
H04	23,56 ± 0,35bc	77,32 ± 0,22e
H05	18,98 ± 0,00de	94,40 ± 0,72bcd

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test (P<0,05)

Στους φλοιούς το κελί με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε συμπυκνωμένες ταννίνες με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα είναι το **E01** (33,10 mg κατεχίνης/ g v.i.). Αντίθετα τη μικρότερη περιεκτικότητα την εμφάνισε το κελί **H02** (14,40 mg κατεχίνης/ g v.i.) χωρίς ωστόσο να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με όλα τα υπόλοιπα.

Στα γίγαρτα οι υψηλότερες περιεκτικότητες σε συμπυκνωμένες ταννίνες μετρήθηκαν στα κελιά **B04** (113,02 mg κατεχίνης / g v.i.) και ακολούθησαν το B05 (106,62 mg κατεχίνης / g v.i.) και το E05 (101,66 mg κατεχίνης / g v.i.)

χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Μικρότερες τιμές, χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ τους, παρουσίασαν το **H02** (73,79 mg κατεχίνης / g v.i.) το H03 και το H04 (77,32 mg κατεχίνης /g v.i.).

## 5.8 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ

Πίνακας 12: Μέτρηση ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς

ΚΕΛΙΑ	ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ mg μαλβιδίνη /g v.i.
B01	3,91 ± 0,05ghi
B02	3,90 ± 0,07ghi
B03	3,76 ± 0,10ghi
B04	4,36 ± 0,12fgh
B05	3,10 ± 0,07i
E01	7,27 ± 0,25ab
E02	5,69 ± 0,13cde
E03	5,14 ± 0,11def
E04	4,59 ± 0,36efgh
E05	4,96 ± 0,04defg
H01	6,09 ± 0,02cd
H02	4,3 ± 0,23fgh
H03	6,37 ± 0,38bc
H04	6,05 ± 0,48cd
H05	8,17 ± 0,26a

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f, g, h, i στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Την μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς την εμφάνισε το **H05** (8,17 mg μαλβιδίνης / g v.i.), ενώ ακολουθεί το E01 (7,27 mg μαλβιδίνης / g v.i.) χωρίς να εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αντίθετα τη μικρότερη τιμή την παρουσίασε το **B05** (3,10 mg μαλβιδίνης / g v.i.), τις αμέσως επόμενες εμφάνισαν το B03 (3,76 mg μαλβιδίνης / g v.i.) και

το B02 ( 3,90 mg μαλβιδίνης / g v.i.) και το B01(3,91 mg μαλβιδίνης / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Πίνακας 13: Μέτρηση Μεμονωμένων Ανθοκυανών

ΚΕΛΙΑ	mg δελφινιδίνη /g v.i.	mg κυανιδίνη/g v.i.	mg πετουνιδίνη/g v.i.	mg παιονιδίνη/g v.i.
B01	0,035 ± 0,001e	0,28 ± 0,001ab	0,068 ± 0,002bc	0,102 ± 0,005cd
B02	0,036 ± 0,001e	0,28 ± 0,001ab	0,067 ± 0,002bc	0,101 ± 0,005cd
B03	0,039 ± 0,001e	0,027 ± 0,001b	0,055 ± 0,001e	0,110 ± 0,002bc
B04	0,035 ± 0,002e	0,024 ± 0,001bc	0,057 ± 0,003de	0,105 ± 0,003cd
B05	0,034 ± 0,002e	0,020 ± 0,001cde	0,054 ± 0,002e	0,091 ± 0,003de
E01	0,032 ± 0,001e	0,019 ± 0,000de	0,055 ± 0,001e	0,081 ± 0,003ef
E02	0,017 ± 0,002f	0,006 ± 0,000h	0,028 ± 0,003f	0,029 ± 0,001g
E03	0,046 ± 0,001c	0,026 ± 0,000b	0,067 ± 0,004bcd	0,107 ± 0,008cd
E04	0,066 ± 0,002a	0,033 ± 0,002a	0,084 ± 0,003a	0,127 ± 0,003ab
E05	0,055 ± 0,003b	0,023 ± 0,001bcd	0,085 ± 0,001a	0,095 ± 0,002cde
H01	0,045 ± 0,001cd	0,020 ± 0,000cde	0,071 ± 0,001b	0,094 ± 0,002cde
H02	0,039 ± 0,000cde	0,027 ± 0,002b	0,059 ± 0,001cde	0,130 ± 0,006a
H03	0,038 ± 0,001de	0,015 ± 0,001ef	0,063 ± 0,002bcde	0,077 ± 0,003ef
H04	0,034 ± 0,001e	0,013 ± 0,001 fg	0,058 ± 0,000cde	0,068 ± 0,002f
H05	0,036 ± 0,002e	0,009 ± 0,000gh	0,068 ± 0,001bcd	0,042 ± 0,002g

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f, g,h στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Στον πίνακα 13 παρατίθενται οι μετρήσεις περιεκτικότητας των μεμονωμένων ανθοκυανών στους φλοιούς των κελιών. Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα κυανιδίνης μετρήθηκε στο κελί **E04** (0,033 mg / g v.i.) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά. Μικρότερη περιεκτικότητα εμφάνισε το **E02** (0,006 mg κυανιδίνης / g v.i.) μη διαφέροντας στατιστικά από το H05 (0,009 κυανιδίνης / g v.i.).

Το κελί με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα δελφινιδίνης ήταν το **E04** (0,066 mg / g v.i.), με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά. Μικρότερη περιεκτικότητα εμφάνισε το κελί **E02** (0,017 mg / g v.i. ) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα.

Το κελί με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα πετουινιδίνης ήταν το **E05** (0,085 mg / g v.i.), χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά από το επόμενο κελί, το E04 (0,084 mg / g v.i.). Μικρότερες τιμές καταγράφηκαν στα κελιά **B05** (0,0054 mg / g v.i. ), B03 και E01 (0,055 mg / g v.i., χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα παιονιδίνης μετρήθηκε στο **H02** (0,130 mg / g v.i.), χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά από το επόμενο κελί το E04 (0,127 mg / g v.i.). Μικρότερη περιεκτικότητα εμφάνισε το κελί **E02** (0,029 mg / g v.i. ) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά από το αμέσως επόμενο H05 (0,042 mg / g v.i.).

Πίνακας 14: Μέτρηση Μεμονωμένων Ανθοκυανών

ΚΕΛΙΑ	mg μαλβιδίνη/g v.i.	mg οξ.εστ.μαλ./ g v.i.	mg κουμ.εστ.μαλ./ g v.i.
B01	0,895 ± 0,023cde	0,050 ± 0,002cde	0,007 ± 0,005f
B02	0,894 ± 0,021cde	0,051 ± 0,001cde	0,008 ± 0,006f
B03	0,873 ± 0,003cde	0,048 ± 0,005cde	0,008 ± 0,001f
B04	0,784 ± 0,003e	0,023 ± 0,002f	0,006 ± 0,001f
B05	0,671 ± 0,005ef	0,031 ± 0,001ef	0,017 ± 0,001ef
E01	0,814 ± 0,081de	0,039 ± 0,004def	0,120 ± 0,029def
E02	0,456 ± 0,022f	0,026 ± 0,000f	0,159 ± 0,001d
E03	1,062 ± 0,073bcd	0,059 ± 0,005bcd	0,578 ± 0,053b
E04	1,114 ± 0,019bc	0,052 ± 0,002cde	0,575 ± 0,021b
E05	1,060 ± 0,027 bcd	0,049 ± 0,001cde	0,150 ± 0,020de
H01	1,057 ± 0,092 bcd	0,062 ± 0,005bc	0,211 ± 0,008cd
H02	0,931 ± 0,041 bcde	0,050 ± 0,004cde	0,335 ± 0,014c
H03	1,174 ± 0,066b	0,078 ± 0,001b	0,623 ± 0,013b
H04	1,086 ± 0,020bc	0,079 ± 0,006b	0,678 ± 0,047b
H05	1,445 ± 0,099a	0,125 ± 0,011a	1,006 ± 0,057a

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test (P<0,05)

Το κελί με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε μαλβιδίνη και μάλιστα με στατιστική διαφορά από τα υπόλοιπα είναι το **H05** (1,445 mg / g v.i.) ακολουθεί το H03 (1,174 mg / g v.i.) χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά με το H05. Μικρότερες τιμές καταγράφηκαν στα κελιά E02 (0,456 mg / g v.i.) και B05 (0,671 mg / g v.i.), χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Το κελί **H05** (0,125 mg / g v.i.) παρουσίασε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε οξικό εστέρα της μαλβιδίνης, με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα. Αντίθετα τις χαμηλότερες περιεκτικότητες σε οξικό εστέρα μαλβιδίνης παρουσιάζουν το **B04** (0,023 mg / g v.i.) και το E02 (0,026 mg / g v.i.) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Το κελί **H05** (1,006 mg / g v.i.) παρουσίασε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης, με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα. Αντίθετα, τις χαμηλότερες περιεκτικότητες σε κουμαρικό εστέρα της μαλβιδίνης παρουσιάζουν το **B04** (0,006 mg / g v.i.) το B01 (0,008 mg / g v.i.) το B02 (0,008 mg / g v.i.) και το B03 (0,008 mg / g v.i.) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

## 5.9 ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

Πίνακας 12: Μέτρηση Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με τις μεθόδους FRAP και ABTS

ΚΕΛΙΑ	ΦΛΟΙΟΙ (FRAP) mg trolox /g v.i.	ΓΙΓΑΡΤΑ (FRAP) mg trolox/g v.i.	ΦΛΟΙΟΙ (ABTS) mg trolox/g v.i.	ΓΙΓΑΡΤΑ (ABTS) mg trolox/g v.i.
B01	17,25 ± 0,16fg	95,15 ± 0,67ef	13,43 ± 0,54cd	82,25 ± 1,37efgh
B02	17,21 ± 0,14fg	95,14 ± 0,57ef	13,41 ± 0,51cd	82,15 ± 1,39efgh
B03	17,13 ± 0,11fg	95,95 ± 0,09def	12,67 ± 0,69cd	85,45 ± 2,55efg
B04	18,74 ± 0,41ef	103,11 ± 2,85cdef	12,58 ± 0,72cd	74,95 ± 0,37h
B05	13,93 ± 0,71h	103,76 ± 3,13cde	9,95 ± 0,88d	81,09 ± 1,21fgh
E01	20,61 ± 0,20de	106,91 ± 1,84bcde	14,19 ± 0,80c	80,37 ± 0,89fgh
E02	22,93 ± 0,20cd	107,97 ± 4,09bcd	20,25 ± 0,50b	79,07 ± 0,33gh
E03	15,10 ± 0,16gh	111,65 ± 1,54bc	22,98 ± 0,32ab	94,42 ± 0,05bc
E04	17,22 ± 0,63fg	117,19 ± 5,01ab	11,98 ± 0,88cd	94,02 ± 1,03bcd
E05	17,30 ± 0,67fg	124,92 ± 1,13a	14,82 ± 0,72c	104,92 ± 3,60a
H01	35,98 ± 0,90a	115,36 ± 2,86abc	15,09 ± 1,00c	89,90 ± 1,82cde
H02	21,99 ± 0,21cd	115,14 ± 1,77abc	20,91 ± 0,52b	87,72 ± 0,09cdef
H03	24,15 ± 0,33c	102,73 ± 1,94cdef	19,5 ± 0,88b	100,53 ± 1,73ab
H04	31,51 ± 1,35b	110,97 ± 2,06bc	19,45 ± 0,44b	86,42 ± 0,75defg
H05	34,30 ± 0,46ab	90,75 ± 1,80f	24,67 ± 0,72a	86,15 ± 0,22efg

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f, g, h στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test (P<0,05)

Τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα στους φλοιούς σύμφωνα με τη μέθοδο **FRAP** την εμφανίζει το κελί **H01** (35,98 mg trolox / g v.i.) και ακολουθεί το H05 (34,30 mg trolox / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αντίθετα, τη μικρότερη τιμή την εμφανίζει το κελί B05 (13,93 mg trolox / g v.i.) και την αμέσως επόμενη τιμή την παρουσιάζει το E03 (15,10 mg trolox / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Στα γίγαρτα τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα σύμφωνα με τη μέθοδο **FRAP** την εμφανίζει το κελί **E05** (124 mg trolox / g v.i.) και τα αμέσως επόμενα κελιά E04 (117,19 mg trolox / g v.i.), H01( 115,36 mg trolox / g v.i.) και H02



( 115,14 mg trolox / g v.i.) χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Τη μικρότερη τιμή την εμφανίζει το **H05** (90,75 mg trolox / g v.i.).

Τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα στους φλοιούς σύμφωνα με τη μέθοδο **ABTS** την εμφανίζει το κελί **H05** (24,67 mg trolox / g v.i.) και ακολουθεί το E03 (22,98 mg trolox / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αντίθετα, τη μικρότερη τιμή την παρουσιάζει το κελί B05 (9,95 mg trolox / g v.i.).

Στα γίγαρτα τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα σύμφωνα με τη μέθοδο **ABTS** την εμφανίζει το κελί **E05** (104,92 mg trolox / g v.i.) και το αμέσως επόμενο κελί H03 (100,53 mg trolox / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Η μικρότερη τιμή καταγράφηκε στο κελί **B04** (74,95 mg trolox / g v.i.), ενώ τα επόμενα κελιά που ακολούθησαν δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική διαφορά.

## 5.10 ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΟΞΕΩΝ

Πίνακας 13: Μέτρηση Μεμονωμένων Οξέων σε γλεύκος

ΚΕΛΙΑ	μg τρυγικό οξύ/mL γλεύκους	μg μηλικό οξύ/mL γλεύκους	μg ασκορβικό οξύ/mL γλεύκους	μg ηλεκτρικό οξύ/mL γλεύκους	μg φουμαρικό οξύ/mL γλεύκους
B01	5124,25 ± 95,73e	1173,48 ± 23,45f	37,61 ± 1,40bc	3,49 ± 0,11def	62,35 ± 2,07 b
B02	5123,15 ± 93,93e	1164,78 ± 25,45f	37,57 ± 1,30bc	3,50 ± 0,12def	62,21 ± 2,03b
B03	5403,04 ± 8,86cde	1126,09 ± 79,84f	32,48 ± 1,06cd	3,60 ± 0,05cdef	60,26 ± 0,42bc
B04	4440,00 ± 91,99f	1308,78 ± 6,98ef	44,41 ± 0,21a	3,99 ± 0,08bcd	62,79 ± 2,96b
B05	6739,96 ± 245,16a	1777,17 ± 25,50b	37,92 ± 2,88bc	4,34 ± 0,12bc	90,63 ± 5,80a
E01	5954,83 ± 106,74bc	1234,73 ± 17,95f	18,52 ± 0,10fg	4,13 ± 0,20bcd	46,83 ± 0,51d
E02	6197,88 ± 112,78ab	2130,10 ± 134,40a	32,76 ± 1,64cd	4,50 ± 0,08b	90,03 ± 0,02a
E03	5160,03 ± 15,88de	797,42 ± 27,54g	24,71 ± 0,23ef	3,00 ± 0,13f	41,75 ± 0,56d
E04	5071,27 ± 155,01ef	841,80 ± 10,22g	24,45 ± 0,43ef	3,19 ± 0,05ef	47,73 ± 1,79d
E05	6143,66 ± 100,45ab	1717,57 ± 21,47bc	33,43 ± 0,36cd	3,91 ± 0,24bcde	89,23 ± 1,20a
H01	6363,03 ± 109,89ab	1237,47 ± 1,50f	27,68 ± 0,60de	3,42 ± 0,01def	50,04 ± 2,06cd
H02	6058,85 ± 100,50b	1582,80 ± 41,30bcd	16,75 ± 0,12g	3,71 ± 0,18cdef	91,36 ± 0,97a
H03	6726,75 ± 116,15a	1518,93 ± 24,35cde	21,41 ± 1,27fg	4,51 ± 0,01b	90,74 ± 1,20a
H04	6438,62 ± 134,51ab	1495,05 ± 19,61cde	22,76 ± 0,94efg	4,49 ± 0,23b	84,97 ± 1,19a
H05	5801,22 ± 184,65bcd	1362,69 ± 17,21 def	40,56 ± 0,95ab	5,72 ± 0,20a	81,41 ± 2,45a

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f, g, στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των κελιών, σύμφωνα με το Tukey's test ( $P < 0,05$ )

Στον πίνακα 13 παρατίθενται οι μετρήσεις περιεκτικότητας των μεμονωμένων οξέων στους φλοιούς και τα γίγαρτα των κελιών. Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα τρυγικού οξέος καταγράφηκε στο κελί **B05** (6739,96 μg / mL γλεύκους) ενώ η αμέσως επόμενη τιμή καταγράφηκε στο H03 (6726,75 μg / mL γλεύκους) χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά. Τις μικρότερες τιμές παρουσίασαν το **B04** (4440,00 μg / mL γλεύκους) και το E04 (5071,27 μg / mL γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά.

Το κελί με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ είναι το **E02** (2130,10 μg / mL γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα

υπόλοιπα. Αντίθετα, τα κελιά με τη μικρότερη τιμή είναι το **E03** (797,42 μg / mL γλεύκους) και το **E04** (841,80 μg / mL γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά

Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ καταγράφηκε στο **B04** (44,41 μg / mL γλεύκους) και στο **H05** (40,56 μg / mL γλεύκους) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αντίθετα τη μικρότερη τιμή την παρουσίασε το H02 (16,75 μg / mL γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά.

Το κελί με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ηλεκτρικό οξύ είναι το **H05** (5,72 μg / mL γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά. Η μικρότερη περιεκτικότητα καταγράφηκε στην **E03** (3,00 μg / mL γλεύκους) χωρίς ωστόσο να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά από το σύνολο των κελιών.

Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φουμαρικό οξύ καταγράφηκε στο **H02** (91,36 μg / mL γλεύκους) ενώ η αμέσως επόμενη καταγράφηκε στο H03 (90,74 μg / mL γλεύκους) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αντίθετα, τις μικρότερες περιεκτικότητες είχαν το **E03** (41,75 μg / mL γλεύκους) και το **E01** (46,83 μg / mL γλεύκους) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

## 6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Είναι σημαντικό να διευκρινιστεί ότι τα κελιά προέκυψαν από τη διαίρεση ενός αμπελοτεμαχίου. Απώτερος σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της μεταβλητότητας στην ποιοτική και ποσοτική σύνθεση των ραγών, με έμφαση στις φαινολικές ενώσεις. Ένα ακόμα στοιχείο που θα πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι ότι το φαινολικό προφίλ επηρεάζεται ακόμη και εντός της ίδιας ποικιλίας από μία σειρά μεταβλητών παραγόντων μεταξύ των οποίων είναι οι εδαφοκλιματικές συνθήκες της καλλιέργειας της αμπέλου.

Από τις μετρήσεις γλευκογραφικών χαρακτηριστικών βρέθηκε ότι τα κελιά με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών διαλυτών στερεών (σάκχαρα) ήταν το **B03** και το **B05** (25,20 και 23,40 °Brix αντίστοιχα). Ο Ribereau-Gayon κ.ά. (2006), αναφέρουν ότι ο μέσος όρος περιεκτικότητας σακχάρων κυμαίνεται μεταξύ 16 και 24°Brix. Επομένως η σακχαροπεριεκτικότητα των κελιών B03 και B05 κυμάνθηκε σε υψηλότερα επίπεδα από το μέσο όρο. Αντίθετα τα υπόλοιπα κελιά κυμάνθηκαν στην αναμενόμενη περιεκτικότητα σακχάρων που αναφέρεται παραπάνω. Συγκρίνοντας τις μετρήσεις της ολικής οξύτητας των κελιών που μελετήθηκαν με τον μέσο όρο ολικής οξύτητας της ποικιλίας (4,4-6,4 gr/L σε τρυγικό οξύ) που αναφέρει ο Σταυρακάκης (2010) παρατηρούμε ότι αρκετά από τα κελιά είχαν τιμές πολύ χαμηλότερες από την κατώτατη τιμή. Η ενεργή οξύτητα- pH παρεκκλίνει αρκετά από το μέσο όρο της ποικιλίας κατά Σταυρακάκη (2010) (pH = 3,4-3,8). Ο βαθμός ωρίμανσης (που εκφράζεται ως το πηλίκο διαλυτών στερεών με την ολική οξύτητα) παρουσίασε μεγάλη παραλλακτικότητα μεταξύ των κελιών. Συγκεκριμένα οι μεγαλύτερες τιμές καταγράφηκαν στα κελιά του τεμαχίου Β ενώ οι μικρότερες στα κελιά του Η. Σε όλες τις μετρήσεις των γλευκογραφικών χαρακτηριστικών σε αντίθεση με τις αναφορές άλλων ερευνών (Παναγόπουλος, 2015, Κολουβά, 2014) τα κελιά παρουσίασαν παραλλακτικότητα και κυρίως η περιεκτικότητα σε ολικά διαλυτά στερεά (σάκχαρα).

Οι μεγαλύτερες τιμές του βάρους των 50 ραγών καταγράφηκαν στα κελιά του αμπελώνα (H01,H02,E01,E02) που βρίσκονται στο κατώτερο τμήμα του με βάση την κλίση. Η αύξηση αυτή στο βάρος πιθανόν οφείλεται σε μεγαλύτερη επάρκεια νερού στο σημείο αυτό. Αντίθετα, στα ανώτερα σημεία παρατηρήθηκαν χαμηλότερες τιμές. Η μείωση αυτή πιθανόν οφείλεται στο

γεγονός ότι σε μεγαλύτερες κλίσεις σχηματίζεται πιο ρηχό έδαφος στο ανώτερο τμήμα του αμπελώνα (Η αρνητική αυτή συσχέτιση βάρους ραγών-κλίση εδάφους ήταν εντονότερη στο τεμάχιο Η). Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με παρόμοιες μελέτες σχετικά με την παραλλακτικότητα στα ποιοτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας Αγιωργίτικο για την περιοχή της Νεμέας (Κολυβά, 2014, Ξενιά, 2018). Επιπλέον παρατηρείται μεγαλύτερο ποσοστό βάρους φλοιών αλλά και αναλογία φλοιού/σάρκα στα κελιά που βρίσκονται στο ανώτερο τμήμα του αμπελώνα σε σχέση με το κατώτερο.

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα, στο σύνολο των φαινολικών ενώσεων που μελετήθηκαν, οι μεγαλύτερες τιμές εμφανίστηκαν στο βορειοανατολικό τμήμα του αμπελώνα (H01, H02, H03, H04, H05) πιθανόν λόγω διαφορετικής σύστασης του εδάφους, η οποία ευνοεί την βιοσύνθεσή τους. Επιπλέον, η μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα απαντάται στο βορειοανατολικό τμήμα του αμπελώνα, φυσικό επακόλουθο της μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις, οι οποίες έχουν μεγάλη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Η συσσώρευση ολικών ανθοκυανών φαίνεται να αυξάνονται με αύξηση της κλίσης του εδάφους, γεγονός που επαληθεύεται και από άλλες μελέτες (Ξενιά, 2018), όπως και η περιεκτικότητα σε ολικές ανθοκυάνες (Ξενιά, 2018). Οι μεμονωμένες ανθοκυάνες εμφανίζουν μεγάλη παραλλακτικότητα μεταξύ των κελιών, ωστόσο η μαλβιδίνη, ο οξικός και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές με στατιστικά σημαντική διαφορά στην βορειοανατολική πλευρά του αμπελώνα (H01, H02, H03, H04, H05) και φαίνεται να έχουν θετική συσχέτιση με την κλίση του εδάφους.

Τα μεμονωμένα οξέα φαίνεται να παρουσιάζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση στην βορειοανατολική πλευρά του αμπελώνα (H01, H02, H03, H04, H05) στο σημείο αυτό εμφανίζεται και η μεγαλύτερη ογκομετρούμενη οξύτητα.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των φαινολικών ενώσεων της παρούσας μελέτης με βιβλιογραφικές αναφορές (Γερογιάννης, 2017, Stavrakaki *et al.*, 2018) που αφορούν φαινολικές ενώσεις ερυθρών γηγενών ποικιλιών αμπέλου, παρατηρούμε ότι:

- ❖ Η περιεκτικότητα των ολικών φαινολικών στους φλοιούς είναι μέτρια προς χαμηλή σε αντίθεση με τα γίγαρτα που οι τιμές ήταν υψηλές.
- ❖ Στα ολικά φλαβονοειδή των φλοιών οι τιμές παρουσίασαν μεγάλη διακύμανση (5,36-22,53 mg κατεχίνης/ gr v.i), με αποτέλεσμα να

παρουσιάζουν τόσο χαμηλές όσο και υψηλές συγκεντρώσεις. Οι τιμές των ολικών φλαβανοειδών στα γίγαρτα ήταν αρκετά υψηλότερες σε σχέση με άλλες ερυθρές ποικιλίες

- ❖ Η αντιοξειδωτική ικανότητα των φλοιών κυμάνθηκε σε κανονικά έως και υψηλά επίπεδα.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης με τα αποτελέσματα άλλων ερευνών για την ποικιλία Αγιωργίτικο (Koundouras *et al.*, 2013, Τσαπάρας, 2013) παρατηρούμε ότι:

- ❖ Η συγκέντρωση των μεμονωμένων ανθοκυανών είναι εντός του εύρους τιμών αλλά τείνει στις κατώτερες τιμές, ωστόσο η παιονιδίνη παρουσιάζει υψηλότερες τιμές σε σχέση με την έρευνα του Koundouras *et al.*, 2013, ενώ τα επίπεδα της κυανιδίνης στην παρούσα μελέτη είναι ανιχνεύσιμα και κυμαίνονται μεταξύ 0,017εώς 0,066 mg/ gr v.i.
- ❖ Τα επίπεδα που κυμάνθηκαν οι ολικές φλαβανόλες στους φλοιούς και στα γίγαρτα ήταν αρκετά χαμηλότερα σε σχέση με τα επίπεδα που αναφέρει ο Τσαπάρας (2013).
- ❖ Οι συμπυκνωμένες ταννίνες στους φλοιούς παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές, ενώ στα γίγαρτα υψηλότερες σε σχέση με όσα αναφέρει ο Τσαπάρας (2013).

Συμπερασματικά, παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των κελιών του αμπελοτεμαχίου. Όμως, έχει παρατηρηθεί μικρότερη χωρική παραλλακτικότητα της σύστασης των σταφυλιών σε σύγκριση με την παραλλακτικότητα της απόδοσης (Bramley και Hamilton, 2004, Tagarakis, 2013b). Επιπλέον, τα χωρικά μοτίβα των χημικών συστατικών των σταφυλιών δεν είναι τόσο σταθερά με την πάροδο του χρόνου, διότι οι βιολογικές διεργασίες που ελέγχουν την ωρίμανση των σταφυλιών είναι αρκετά περίπλοκες (Sanesteban *et al.*, 2013, Tagarakis, 2014). Για το λόγο αυτό ο άμεσος συσχετισμός των διαφορών που παρουσιάστηκαν στην παρούσα μελέτη με εδαφοκλιματικούς παράγοντες απαιτεί επιπλέον μετρήσεις.

Η διαδικασία απόκτησης και χρήσης δεδομένων κατά την εφαρμογή της Αμπελουργίας Ακριβείας, είναι συνεχής και επαναλαμβανόμενη. Επομένως, είναι εφικτό να γίνει προσδιορισμός των κατάλληλων τμημάτων του αμπελώνα που μπορούν να διατεθούν για την παραγωγή προϊόντων ανώτερης ποιότητας. Η επιλεκτική συγκομιδή που βασίζεται σε ζώνες παρόμοιων χαρακτηριστικών

εδάφους ή αμπέλου έχει αποδειχθεί ότι είναι ιδιαίτερα κερδοφόρα για τα οινοποιεία και τους αμπελοκαλλιεργητές (Bramley et al., 2005). Αυτό όμως, απαιτεί το συνδυασμό των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης με την βελτίωση αλλά και την επανάληψη των μετρήσεων τα επόμενα χρόνια.

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 7.1 ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

AMERINE M.A., KUNKEE R.E., OUGH C.S., SINGLETON, WEBB A.D., 1982. The Technology of Wine Making. AVI Publishing Co., Westport, Conn.

ANDREADE P.B., MENDES G., FALCO V., VALENTAO P., SEABRA R.M., 2001. Preliminary study of flavonols in Port wine grape varieties. Food Chemistry, 73: 397-399.

ARAZARENA I., CASP A., MARIN R., NAVVARO M., 2000. Multivariety differentiation of Spanish red wines according to region and variety. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80:1909-1917.

BAVARESCO L., PEZZUTTO S., GATTI M., MATTIVI F. 2007. Role of the variety and some environmental factors in grape stilbenes. Vitis, 46: 57-61.

BAVARESCO L., PEZZUTTO S., RAGGA A., FERRARI F., TREVISAN M., 2001. Effect of nitrogen supply on trans-resveratrol concentration in berries of *V. vinifera* L. cv Cabernet Sauvignon. Vitis, 40: 229-230.

BENZIE F.F., STRAIN J.J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry, 239: 70–76.

BOSS P.K., DAVIES C., ROBINSON S.R., 1996. Anthocyanin composition and anthocyanin pathway gene expression in grapevine sports differing in berry color skin color. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2: 163-170.

BRAMLEY R.V.G, HAMILTON R.P., 2004. Understanding variability in winegrape production systems.1. Within vineyard variation in yield over several vintages. Australian Journal of Grape and Wine Research 10: 32-45.

BRAMLEY R.V.G, PROFFIT A.P.B., HINZE C.J., PEARSE B., HAMILTON R.P., 2005. Generating benefits from Precision Viticulture through selective harvesting. 5<sup>th</sup> European Conference on Precision Agriculture, Wageningen, the Netherlands.

CHEYNIER V., DUEÑAS-PATON M., SALAS E., et al. 2006. Structure and properties of wine pigments and tannins. American Journal of Enology and Viticulture, 57: 298–305.



CHEYNIER V., MOUTOUNET M., SARNI-MANCHADO P., 1998. Les composés phénoliques Lavoisier press, Enologie, 123–162.

CHEYNIER, V. 2005. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(suppl.):223S-229S.

CODY V., MIDDLETON E., HARBORNE J., 1986. Plant flavonoids in biology and medicine II. Biochemical, cellular and medical properties.

COOMBE B.G., DRY P.R., 1992. *Viticulture*. Volume 2. Practices. Winetitles. Adelaide.

CORTELL J., KENNEDY J.A., 2006. Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera* L.) Pinot Noir fruit and extraction in a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 8510–8520.

CORTELL J.M. & KENNEDY J.A., 2006. Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera* L.) Pinot Noir fruit and extraction in a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 8510–8520.

CURKO N., KOVACEVIC GANIC K., GRACIN L., DAPIC M., JOURDES M., TEISSEDE 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.

DIAGO M.P, AYESTARASN B., GUANDALUPE Z., GARRIDO V. TARDAGUILA J., 2012. Phenolic composition of Tempranillo wines following early defoliation of the vines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92:925–934.

DO O.-MARQUES, J., REGUINGA R., LAUREANO O., RICARDO-DA-SILVA J.M., 2005. Changes in grape seed, skin and pulp condensed tannins during berry ripening: effect of fruit pruning. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 20: 35–52.

DOUGLAS O. ADAMS, 2005. Phenolics and Ripening in grape berries. ASEV 2005 Phenolics Symposium.

DOWNEY M., HARVEY J., ROBINSON S., 2003. Synthesis of flavonols and expression of flavonol synthase genes in the developing grape berries of Shiraz and Chardonnay (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9: 110–121.

DOWNEY M.O., DOKOOZLIAN N.K., KRSTIC M.P., 2006. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A

review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57: 257-268.

DOWNEY M.O., HARVEY J.S., ROBINSON S.P., 2003. Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9(1): 15–27.

DOWNEY M.O., HARVEY J.S., ROBINSON S.P., 2003a. Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9: 15–27.

DOWNEY M.O., HARVEY J.S., ROBINSON S.P., 2003b. Synthesis of flavonols and expression of flavanol synthase genes in the developing grape berries of Shiraz and Chardonnay (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9: 110–121.

GEISSMANN, T. A., 1962. *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. Pergamon Press, Oxford, London, New York, Paris.

GOMEZ-ALONSO S., GARCIA-ROMERO E., HERMOSÍN-GUTIÉRREZ I., 2007. HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(7): 618–626.

GONZÁLEZ-MANZANO S., RIVAS-GONZALO JC., SANTOS-BUELGA C., 2003. Extraction of flavan-3-ols from grape seed and skin into wine using simulated maceration. *Analytica Chimica Acta*, 513: 283-289.

HABERTSON J.F., KENNEDY J.A., ADAMS D.O., 2002. Tannin in skins and seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah and Pinot noir berries during ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 54–59.

HANLIN R.L., DOWNEY, M.O., 2009. Condensed tannin accumulation and composition in skin of Shiraz and Cabernet Sauvignon grapes during berry development. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60: 13–23.

HARRISON R., 2018. Practical interventions that influence the sensory attributes of red wines related to the phenolic composition of grapes: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 53: 3–18.

HE, F., LIANGN.N., MU L. et al., 2012. Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules*, 17: 1571–1601.

HUFNAGEL J.C., HOFFMANNT., 2008. Quantitative reconstruction of the nonvolatile sensometabolome of a red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 9190–9199.

JACKSON D., LOMBARD P., 1993. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality: A Review, *American Journal of Enology and Viticulture*, 44: 409-430.

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

JEANDET P., BESSIS R, GAUTHERON B., 1991. The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42:41-45.

JERMAN T., LEMUT M.S., TROST K., 2011. The impact of early leaf removal on polyphenol/anthocyanin content and in vitro antioxidant potential of 'Pinot Noir' grapes from Vipava Valley. 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture.

KALLITHRAKA S., TSOUTSOURAS E., TZOUROU E., LANARIDIS P., 2006. Principal phenolic compounds in Greek red wines. *Food Chemistry*, 99: 784–793.

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., 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(4): 1740–1746.

KENNEDY J.A., MATTHEWS M.A., WATERHOUSE A.L., 2000. Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochemistry*, 55:77–85.

KOUNDOURAS S., KANAKIS I., DROSSOU E., KALLITHRAKA S., KOTSERIDIS Y., 2013. Effects of post-veraison 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(1): 115-128.

KYRALEOU M., KOTSERIDIS Y., KOUNDOURAS S., CHIRA K., TEISSEDE P.L., KALLITHRAKA S., 2016. Effect of irrigation regime on

perceived astringency and proanthocyanidin composition of skins and seeds of *Vitis vinifera* L. cv. Syrah grapes under semiarid conditions. *Food Chemistry*, 203: 292–300.

LEMUT M.S, TROST K., SIVILIOTI P., ARAPITSAS P., VRHOVSEK U.M.,2013. Early versus late leaf removal strategies for Pinot Noir (*Vitis vinifera* L.): effect on colour-related phenolics in young wines following alcoholic fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 3670-3681.

LESSCHAEVE I., NOBLE A.C., 2005. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *American Journal of Clinical Nutrition (Supplement)*, 81: 330S–335S.

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.

MATEUS N., MACHANDO J.M., DE FREITAS V., 2002. Development changes of anthocyanins in *Vitis vinifera* grapes grown in the Douro Valley and concentration in respective wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1689-1695.

MATEUS N., MAQUES S., GONÇALVES A.C., MACHADO J.M., DE FREITAS V., 2001. Proanthocyanidin composition of red *Vitis vinifera* varieties from the Douro valley during ripening: influence of cultivation altitude. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(2): 151–121.

MATTIVI F., GUZZON R., VRHOVSEK U., STEFANINI M., VELASCO R., 2006. Metabolite Profiling of Grape: Flavonols and Anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7692–7702.

MONAGAS M., BARTOLOME B., GOMEZ-CORDOVES C., 2005a). Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle. *European Food Research Technology*, 220:331–340.

MONAGAS M., BARTOLOME B., GOMEZ-CORDOVES C., 2005b. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 85–118.

PASTOR DEL RIO J.L., KENNEDY J.A., 2006. Development of proanthocyanidins in *Vitis vinifera*, L. cv. Pinot noir grapes and extraction into wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(2): 125–132.

POMAR F., NOVO M., MASA A., 2005. Varietal differences among the anthocyanin profiles of 50 red table grape cultivars studied by HPLC. *Journal of chromatography*, 11 1094 (1-2): 34-41.

PREYS, S., MAZEROLLES, G., COURCOUX P., et al., 2006. Relationship between polyphenolic composition and some sensory properties in red wines using multiway analyses. *Analytica Chimica Acta*, 563:126–136.

PRICE, S.F., BREEN P.J, VALLADAO M., WATSON B.T., 1995. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46:187-194.

PRIEUR, C., RIGAUD J., CHEYNIER V., MOUTOUNET M., 1994. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds (*Vitis vinifera*). *Phytochemistry* 36:781-784.

RENTZSCH M., WILKENS A., WINTERHALTER P., 2009. Non-flavonoid Phenolic Compounds. *Wine Chemistry and Biochemistry*, Chapter 9C. Editors: Moreno-Arribas M.V.-Polo M.C., 509-511, 516.

RIBEREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONECHE B., LONVAUD A., 2006. *Handbook of Enology, Volume 1, The Microbiology of Wine and Vinifications*. Ed: 2nd John Wiley & Sons, Ltd, 43, 66, 243, 244 255, 256

RIBEREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONECHE B., LONVAUD A., 2006. *Handbook of Enology, Volume 2, The chemistry of wine stabilization and treatments*. Ed: 2nd John Wiley & Sons, Ltd, 141, 142.

RIBEREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONECHE B., LONVAUD AL., 1998. *Handbook of Enology, Volume 1, The microbiology of wine and vinifications*.

RIBEREAU-GAYON P., GLORIES Y., MAUJEAN A., DUBOURDIEU D., 2000. *Handbook of Enology, Volume 2, The chemistry of wine stabilization and treatments*.

ROBICHAUD J.L., NOBLE A.C. 1990. Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53: 343–353.

RODRIGUEZ MONTEALEGRE R., ROMERO PECES R., CHACON VOZMEDIANO J. L., MARTINEZ GASCUENA J., GARCIA ROMERO E., 2006. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in warm climates. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 687–693.

ROUSSOS P., PONTIKIS C.A., 2001. Phenolic Compounds in Olive Explants and their Contribution to Browning During the Establishment Stage in vitro. *Gartenbauwissenschaft*, 66 (6). S. 298–303.

SANTESTEBAN L.G., GUILLAUME S., ROYO J.B., TISSEYRE B., 2013. Are precision agriculture tools and methods relevant at the whole-vineyard scale?. *Precision Agriculture*, 14 (1):2-17.

SATISHA J., DOSHI P., ADSULE P.G., 2008. Influence of Rootstocks on Changing the Pattern of Phenolic Compounds in Thompson Seedless Grapes and Its Relationship to the Incidence of Powdery Mildew. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32: 1-9.

SHAHIDI F., XIAO-QING H., SYNOWIECKI J., 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemical*, 53: 285-293.

SOUQUET J.M., CHEYNIER V., BROSSAUD F., MOUTOUNET M., 1996. Polymeric proanthocyanidin from grape skins. *Phytochemistry*, 43:509-512.

SOWALSKY R.A., NOBLE, A.C., 1998. *Chemical Senses*, 23(3):343-349.

SOWALSKY R.A., NOBLE, A.C., 1998. Comparison of the effects of concentration, pH and anion species on astringency and sourness of organic acids. *Chemical Senses*, 23: 343–349

STAVRAKAKI M., BINIARI K., DASKALAKIS I., BOYZA D., 2018. Polyphenol content and antioxidant capacity of the skin extracts of berries from seven biotypes of the Greek grapevine cultivar Korinthianki Staphis (*Vitis vinifera* L.) *Australian Journal of Crop Science*, 12(12): 1927 -1936.

TAGARAKIS A., KOUNDOURAS S., PAPAGEORGIOU E.I., DIKOPOULOU Z., FOUNTAS S., GEMTOS T.A., 2014. A fuzzy inference system to model grape quality in vineyards. *Precision Agriculture*.

TAGARAKIS A., LIAKOS V., CHATZINIKOS T., KOUNDOURAS S., FOUNTAS S., 2013b. Using laser scanner to map pruning wood in vineyards.

European Conference on Precision Agriculture, Wageningen Academic Press, Edited by J. Stafford, 633-639.

THIES M., FISCHER R., 1971. A new colour reaction detection of catechin and proanthocyanidins with 4- dimethylaminocinnamaldehyde. Journal of Chromatography, 467: 185-193.

VIDAL S., MEUDEC E., CHEYNIER V., SKOUROUMOUNIS G.M, HAYASAKA, 2004c. Mass spectrometric evidence for the existence of oligomeric anthocyanins in grape skins. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52:7144-7151.

WATSON B., 2003. Evaluation of winegrape maturity. 235-245.

## 7.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΓΕΡΟΓΙΑΝΝΗΣ Ο. 2017. Μελέτη των ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτήρων των σταφυλών και του γλεύκους γηγενών ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) της ομάδας <<Μαυρούδια>>.Μεταπτυχιακή Μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

ΖΑΡΜΠΟΥΤΗΣ Β.Γ., ΤΣΙΒΕΡΙΩΤΟΥ Α.Μ., 2003. Στοιχεία Αμπελουργίας και Οινολογίας Εκδόσεις Ίων.

ΚΑΛΛΙΘΡΑΚΑ Σ., 2017. Χημεία Οίνου, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

ΚΟΛΥΒΑ Φ., 2014. Εφαρμογή γεωργίας ακριβείας σε αμπελώνα της Νεμέας. Μεταπτυχιακή Μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

ΚΟΤΣΕΡΙΔΗΣ Γ., 2005a. Σημειώσεις /Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας Ι, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, στο 7 σελ. 6-10

ΚΟΥΡΑΚΟΥ - ΔΡΑΓΩΝΑ Σ., 1998. Θέματα Οινολογίας. Εκδόσεις Τροχαλία, Αθήνα, σελ. 10-25

ΚΡΙΜΠΑΣ Β.Δ., 1943. Ελληνική Αμπελογραφία, τόμος Ι. σελ 137, 161-162

ΛΟΓΟΘΕΤΗΣ Β., ΒΛΑΧΟΣ Μ., 1966. Ελληνική αμπελογραφία Ε': Ακομινάτο, βαρτζαμί, ζουμιάτικο, μαυροδάφνη, μαυρούδι. Ανάπτυπον , Θεσσαλονίκη, "Α. Π. Θ."375-392.

ΞΕΝΙΑ Μ.Ι., 2018. Μελέτη επίδρασης παραλλακτικότητας αμπελοτεμαχίου σε οίνους ποικιλίας Αγιωργίτικο. Μεταπτυχιακή Μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

ΠΑΝΑΓΟΠΟΥΛΟΣ Κ., 2015. Μελέτη χρωματικών δεικτών σε σταφύλια και οίνους από Αγιωργίτικο Νεμέας. Μεταπτυχιακή Μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

ΣΟΥΦΛΕΡΟΣ Ε. ΗΡ., 1997. Οινολογία. Επιστήμη και Τεχνογνωσία, Τόμος Ι. Θεσσαλονίκη, 66, 191, 205

ΣΟΥΦΛΕΡΟΣ Ε., 2015. Οινολογία: Επιστήμη και τεχνογνωσία, Εκδόσεις Σταμούλη, Θεσσαλονίκη

ΣΤΑΥΡΑΚΑΚΗΣ Μ.Ν., 2010. Αμπελογραφία. Εκδόσεις Τροπή. Αθήνα.

ΣΤΑΥΡΑΚΑΚΗΣ Μ.Ν., 2004<sup>β</sup>. Ειδική Αμπελουργία. Τόμος ΙΙ: Φυσιολογία και οικολογία της αμπέλου. Πανεπιστημιακές παραδόσεις, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

ΣΤΑΥΡΑΚΑΚΗΣ Μ.Ν. 2013. Αμπελουργία. Εκδόσεις Τροπή, Αθήνα, 118-121, 209, 211, 228-235, 243.

ΤΣΑΠΑΡΑΣ Δ.Ι., 2013. Μελέτη της επίδρασης της λίπανσης καλίου στα φαινορικά συστατικά των ραγών της ποικιλίας Αγιωργίτικο για το έτος 2010. Μεταπτυχιακή Μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.