



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑΣ**

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ - ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ»**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση της παραλλακτικότητας αμπελοτεμαχίου στα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας Αγιωργίτικο (*Vitis Vinifera* L.).

Γιώργος Α. Κυριακόγγonas

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:
Αικατερίνη Μπινιάρη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

**Αθήνα
2021**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑΣ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση της παραλλακτικότητας αμπελοτεμαχίου στα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας Αγιωργίτικο (*Vitis Vinifera* L.).

“Study of effect of the variability on different plots on the qualitative and the quantitative characteristics of Agiorgitiko grapes”

Γιώργος Α. Κυριακόγγονας

Εξεταστική επιτροπή:

Αικατερίνη Μπινιάρη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ (επιβλέπουσα)

Σπυρίδων Φουντάς, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Ιωάννης Παπαδάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Επίδραση της παραλλακτικότητας αμπελοτεμαχίου στα οσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας Αγιωργίτικο (*Vitis Vinifera* L.).

ΔΠΜΣ Αμπελουργία – Οινολογία

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής

Τμήμα Επιστήμης Τεχνολογίας και Διατροφής του Ανθρώπου

Εργαστήριο Αμπελουργίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκαν οι ποιοτικοί και ποσοτικοί χαρακτήρες των σταφυλών της γηγενούς οινοποιήσιμης ποικιλίας αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) Αγιωργίτικο. Όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν, κατά την τεχνολογική τους ωρίμανση, από το κτήμα Παλυβού στην Αρχαία Νεμέα.

Στα δείγματα προσδιορίστηκαν η ενεργός και ολική οξύτητα και η περιεκτικότητα σε σάκχαρα μετρήθηκαν επίσης το βάρος των ραγών και της σταφυλής καθώς και οι διαστάσεις τους,

Μετρήθηκαν επίσης φασματοφωτομετρικά στους φλοιούς των ραγών η περιεκτικότητα σε ολικές φαινολικές ενώσεις, ολικές φλαβονοειδείς ενώσεις, σε ολικές ανθοκυάνες, η περιεκτικότητα σε συμπυκνωμένες ταννίνες, η περιεκτικότητα σε ολικές φλαβανόλες, ολικές φλαβόνες και φλαβονόλες και προσδιορίστηκαν ποσοτικά με τη χρήση της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) οι κυριότερες ανθοκυάνες καθώς, άλλες μεμονωμένες φαινολικές ενώσεις και τα κυριότερα οργανικά οξέα. Στα γίγαρτα έγιναν οι ίδιες μετρήσεις εκτός των ολικών και μεμονωμένων ανθοκυανών.

Τα αποτελέσματα τις παρούσας μελέτης έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών υποζωνών, τόσο στις φαινολικές ενώσεις όσο και στα γλυκογραφικά χαρακτηριστικά. Το ανατολικό τμήμα του αμπελώνα έδειξε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα των φαινολικών ενώσεων συνεπώς και αντιοξειδωτικής ικανότητας. Η μαλβιδίνη, ο οξικός και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές στην νοτιοανατολική πλευρά του αμπελώνα. Τα μεμονωμένα οξέα φαίνεται να παρουσιάζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ανατολικό τμήμα όπου εμφανίζεται και η μεγαλύτερη ογκομετρούμενη οξύτητα. Η περιεκτικότητα των ολικών φαινολικών στους φλοιούς είναι χαμηλή σε αντίθεση με τα γίγαρτα που οι τιμές ήταν υψηλές. Τα επίπεδα που κυμάνθηκαν οι ολικές φλαβανόλες στους φλοιούς και στα γίγαρτα ήταν αρκετά χαμηλά.

Επιστημονική περιοχή: Αγιωργίτικο

Λέξεις κλειδιά: Αγιωργίτικο, *Vitis vinifera* L., φαινολικές ενώσεις, μεμονωμένα οξέα, φλοιοί, γίγαρτα, HPLC

Study of effect of the variability on different plots on the qualitative and the quantitative characteristics of Agiorgitiko grapes

*MSc Viticulture and Oenology
Departement of Crop Science
Departement of Food Science and Human Nutrition
Laboratory of Viticulture*

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.

The results of the current study have shown statistically significant discrepancies between the different sub-zones, both in phenolic compounds and in grapes. The eastern part of the vineyard has revealed high phenolic compounds contents and, therefore, antioxidant capacity. Malvidin, acyl and coumaric ester of malvidin were found in higher values in the southeast side of the vineyard. Individual acids seem to have a higher concentration in the eastern part where the highest volumetric acidity occurs. The total phenolics content on the skins is lower in contrast to the pits where the prices were higher. The levels of total flavanols in the skins and pits were quite low.

Scientific Area: Agiorgitiko

Keywords: Agiorgitiko, *Vitis Vinifera* L., phenolic compounds, individual acids, skins, seeds, HPLC

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο εργαστήριο Αμπελολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στα πλαίσια του προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών των συνεργαζόμενων τμημάτων Επιστήμης Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου και Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Εργαστηρίου Αμπελολογίας κυρία Αικατερίνη Μπινιάρη, επιβλέπουσα της παρούσας μελέτης, για την ανάθεση του θέματος, την εμπιστοσύνη, τη φιλική διάθεση και την πολύτιμη καθοδήγησή της, όσες φορές της ζητήθηκε καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησής της.

Ευχαριστώ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής κύριο Σπύρο Φουντά, Αναπληρωτή Καθηγητή του εργαστηρίου Γεωργικής Μηχανολογίας και τον κύριο Ιωάννη Παπαδάκη Αναπληρωτή Καθηγητή Δενδροκομίας του Γ.Π.Α, για τη βοήθειά τους στην ολοκλήρωσή της.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Ομότιμο καθηγητή κύριο Μ. Ν. Σταυρακάκη για την καθοδήγηση και το ενδιαφέρον του καθώς και την κυρία Δέσποινα Μπούζα, μέλος ΕΔΙΠ του εργαστηρίου για τις συμβουλές της κατά την εκπόνηση της παρούσας μελέτης αλλά και για την στήριξή της κατά τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα πρέπει να αποδοθούν επίσης στον υποψήφιο διδάκτορα Δασκαλάκη Ιωάννη για την αμέριστη βοήθειά του και την υπομονή που επέδειξε.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1	ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ.....	3
1.1.1	ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ.....	3
1.2	ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΡΑΓΑΣ.....	4
1.3	ΜΕΓΕΘΟΣ ΡΑΓΑΣ.....	7
1.4	ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΗΣ ΡΑΓΑΣ.....	8
1.4.1	ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ.....	9
1.4.1.1	ΦΛΑΒΟΝΕΣ - ΦΛΑΒΟΝΟΛΕΣ.....	10
1.4.1.2	ΦΛΑΒΑΝ-3-ΟΛΕΣ- ΤΑΝΝΙΝΕΣ.....	12
1.4.1.3	Ο ΡΟΛΟΣ ΚΑΙ Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΦΛΑΒΑΝΟΛΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΡΙΜΑΝΣΗ.....	16
1.4.1.4	Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΤΑΝΝΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ.....	17
1.4.1.5	ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ.....	18
1.4.1.6	ΕΝΤΟΠΙΣΜΟ ΚΑΙ ΜΟΡΦΗ ΣΤΟ ΦΥΤΙΚΟ ΙΣΤΟ.....	21
1.4.1.7	ΟΙ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ.....	22
1.4.2	ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΕΙΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....	23
1.4.2.1	ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	23
1.4.2.1.1	ΥΔΡΟΞΥΒΕΝΖΟΪΚΑ ΟΞΕΑ.....	25
1.4.2.1.2	ΥΔΡΟΞΥΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	26
1.4.2.2	ΣΤΙΛΒΕΝΙΑ 26	
1.5	ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΙΣΤΟ ΤΗΣ ΡΑΓΑΣ.....	28
1.6	ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΛΡΟΥΝ ΣΤΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	33
1.6.1	ΠΟΙΚΙΛΙΑ.....	33
1.6.2	ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΟ.....	35
1.6.3	ΕΔΑΦΟΚΛΙΜΑΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	35
1.6.4	ΑΡΔΕΥΣΗ.....	38
1.6.5	ΛΙΠΑΝΣΗ.....	39
1.6.6	ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ.....	42
2	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	43
3	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	44

3.1	ΠΟΙΚΙΛΙΑ	44
3.2	ΑΜΠΕΛΩΝΑΣ.....	44
3.3	ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΡΑΓΩΝ.....	45
3.4	ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΑΦΥΛΗΣ ΚΑΙ ΡΑΓΑΣ.....	46
3.4.1	Βάρος σταφυλής.....	46
3.4.2	Μήκος και πλάτος σταφυλής.....	46
3.4.3	Μέσο βάρος ράγας.....	46
3.4.4	Μέσο μήκος και πλάτος ράγας	47
3.5	ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΛΕΥΚΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ.....	47
3.5.1	Μέτρηση σακχαροπεριεκτικότητας (°Brix) με χρήση διαθλασίμετρου.....	47
3.5.2	Μέτρηση ενεργής οξύτητας-pH	48
3.5.3	Ποσοτικός προσδιορισμός της ολικής οξύτητας.....	50
3.5.3.1	Αρχή της μεθόδου	50
3.5.3.2	Αντιδραστήρια.....	50
3.5.3.3	Διαδικασία μέτρησης.....	50
3.5.3.4	Έκφραση αποτελεσμάτων.....	51
3.6	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΟΥΣ ΦΛΟΙΟΥΣ, ΣΤΑ ΓΙΓΑΡΤΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΓΛΕΥΚΗ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ.....	51
3.6.1	Προετοιμασία δειγμάτων.....	51
3.6.1.1	Εκχύλιση φλοιών	51
3.6.1.2	Εκχύλιση γιγάρτων	54
3.6.1.3	Αραίωση	56
3.6.2	Μέτρηση ολικών ανθοκυανών και φαινολικών ενώσεων με την μέθοδο Iland	57
3.6.2.1	Αρχή της μεθόδου	57
3.6.2.2	Αντιδραστήρια.....	57
3.6.2.3	Προετοιμασία δειγμάτων.....	58
3.6.2.4	Διαδικασία μέτρησης	58
3.6.3	Μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών με methyl cellulose (μεθυλική κυτταρίνη)	59
3.6.3.1	Αρχή της μεθόδου	59
3.6.3.2	Αντιδραστήρια.....	60
3.6.3.3	Διαδικασία μέτρησης	60
3.6.4	Μέτρηση των ολικών φλαβονοειδών ενώσεων με τη μέθοδο του Χλωριούχου Αργιλίου (AlCl ₃).....	62
3.6.4.1	Αρχή της μεθοδού	62
3.6.4.2	Αντιδραστήρια.....	62

3.6.4.3	Προετοιμασία δειγμάτων.....	62
3.6.4.4	Διαδικασία μέτρησης.....	63
3.6.5	Μέτρηση των ολικών φλαβονολών με τη μέθοδο της 4-διμεθυλ- αμμινοκινναμωμική αλδεΐδη (4-DMACA).....	64
3.6.5.1	Αρχή της μεθόδου.....	64
3.6.5.2	Αντιδραστήρια.....	64
3.6.5.3	Διαδικασία μέτρησης.....	65
3.6.6	Μέτρηση των ολικών φλαβονών και φλαβονολών με τη μέθοδο του Χλωριούχου Αργιλίου (AlCl ₃).....	65
3.6.6.1	Αρχή της μεθόδου.....	65
3.6.6.2	Αντιδραστήρια.....	66
3.6.6.3	Προετοιμασία δειγμάτων.....	66
3.6.6.4	Διαδικασία μέτρησης.....	66
3.6.7	προσδιορισμος αντιοξειδωτικησ ικανοτητασ με τη μεθοδο αντιοξειδωτικη ισχουσ αναγωγησ τρισθενουσ σιδηρου (frap).....	67
3.6.7.1	ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	67
3.6.7.2	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	67
3.6.7.3	ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	67
3.6.7.4	ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	68
3.7	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΗPLC ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ 69	
3.7.1	Αρχή λειτουργίας του οργάνου.....	69
3.7.2	Μέτρηση μεμονομένων ανθοκυανών.....	71
3.7.2.1	Αντιδραστήρια κι εξοπλισμός για την ΗPLC.....	71
3.7.2.2	Προετοιμασία δειγμάτων.....	72
3.7.2.3	Διαδικασία μέτρησης.....	72
3.8	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΗPLC ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ.....	73
3.8.1	ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	73
3.8.2	ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ.....	73
4	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	74
5	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	75
5.1	ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΡΑΓΑΣ & ΣΤΑΦΥΛΗΣ.....	75
5.2	ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΛΕΥΚΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ.....	79
5.3	ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΚΑΙ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	81

5.4	ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΩΝ ΚΑΙ ΦΛΑΒΟΝΟΛΩΝ.....	85
5.5	ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΑΝΟΕΙΔΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	87
5.6	ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ ΤΑΝΝΙΝΩΝ	89
5.7	Μέτρηση μεμονωμένων & ολικών ανθοκυανών.....	91
5.8	Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας	95
5.9	Μέτρηση μεμονωμένων οξέων.....	97
6	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	99
7	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	104

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η άμπελος σύμφωνα με τους παλαιοντολόγους φαίνεται να έχει μακράιωνη ιστορία. Την αρχαιότερη επιστημονική απόδειξη της μακράιωνης 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 τη 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 οινοποιίας 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 βόρειου 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 ζωνηρή έως ζωνηρή, 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 και 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 στιβάδες κυττάρων.

Η εφυμενίδα αποτελεί το εξωτερικό τοίχωμα των κυττάρων της επιδερμίδας και επικαλύπτεται από κηρώδεις ουσίες που αποτελούν την κέρινη ανθηρότητα. Η κέρινη ανθηρότητα 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 ανθηρότητας 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 ανοχή στις καταπονήσεις και στις προσβολές από εχθρούς και ασθένειες και εξαρτάται από την ποικιλία της αμπέλου (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Το υπόδερμα 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. Εξάιρεση 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 τροπίζ (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)

Χαρακτηρισμός μεγέθους ραγών	Μέση διάμετρος ράγας (mm)	Όγκος 100 ραγών (cm³)	Βάρος 100 ραγών (g)
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.

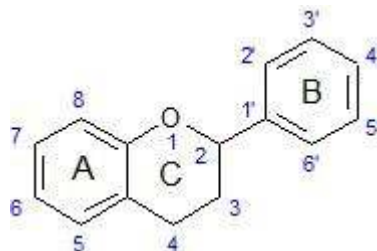
Στην κατηγορία των φλαβονοειδών ενώσεων υπάγονται οι πολυμοριακές φαινόλες, οι οποίες έχουν ως βασικό χημικό τύπο C₆-C₃-C₆, που αντιστοιχεί στη φλαβόνη.

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 δακτύλιο. 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 γίγαρτα 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 καμπερόλη, 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	ΜΥΡΚΕΤΙΝΗ

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).



H	OH	H	ΑΠΙΓΕΝΙΝΗ
OH	OH	H	ΛΟΥΤΕΟΛΙΝΗ

Εικόνα 3: Μόριο φλαβόνης

1.4.1.2 ΦΛΑΒΑΝ-3-ΟΛΕΣ- ΤΑΝΝΙΝΕΣ

Αποτελούν την πιο περίπλοκη ομάδα των φλαβονοειδών. Υπάρχουν ως μονομερή (κατεχίνη, επικατεχίνη), oligομερή (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 προανθοκυανιδίων 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 προανθοκυανιδίων 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 στυπτικότητας. Ο όρος ταννίνες αναφέρεται σε αυτή τους την ιδιότητα. Επιπλέον, η στυπτικότητα 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 (Prieur 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, Lowchaeve 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. Ορισμένες 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 φλαβονολών 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 φλαβονολών. 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 περιεκτικότητά 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).

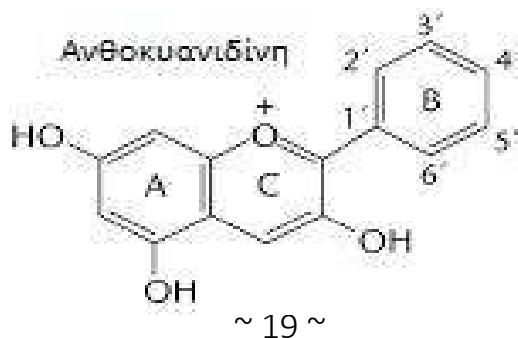
Οι ταννίνες επιδρούν και στο χρώμα των ερυθρών οίνου μέσω του φαινομένου του συγχρωματισμού με τις ανθοκυάνες. Μέσω του φαινομένου αυτού προσδίδουν σταθερότητα στο χρώμα του οίνου κατά την παλαίωση.

1.4.1.5 ANΘOKYANES

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 C₆C₃C₆ (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'
Κυανδίνη	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H
Δελφινδίνη	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH
Παιονδίνη	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-H
Πετουνδίνη	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH
Μαλβδίνη	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃

Εικόνα 4: Δομή άγλυκου μέρους ανθοκυανών

Οι διαφορές μεταξύ των ανθοκυανιδινών περιορίζονται στον αριθμό των -OH και -OCH₃ 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). Εξαιρέση 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⁺)
- 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 ΟΙ 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 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 οξείδωση των ανθοκυανών, η αντίδρασή τους με τον θειώδη ανιδρύτε που προστίθεται στους οίνους αλλά και η ένωση τους με άλλες φαινολικές ενώσεις, όπως οι ταννίνες.

1.4.2 ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΙΔΕΙΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

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 στυλβένια. 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 παρουσίαση ισχυρή αντιμικροβιακή δράση.

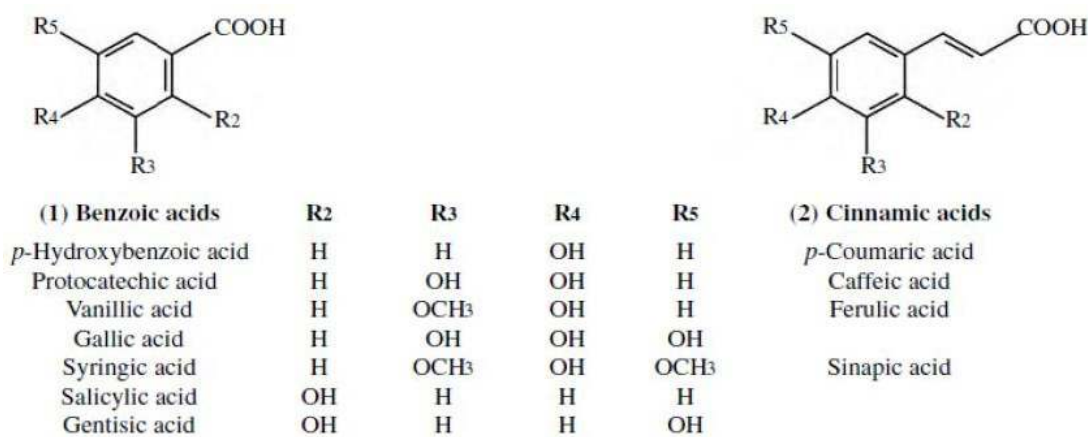
1.4.2.1 ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ

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 περιεκτικότητα τους στους οίνους. Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα είναι παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και χαρακτηρίζονται από τον C6-C1 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 βανιλικό 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-φλαβανολών (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 περιεκτικότητα 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 σιναπικού 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 ΣΤΙΑΒΕΝΙΑ

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.

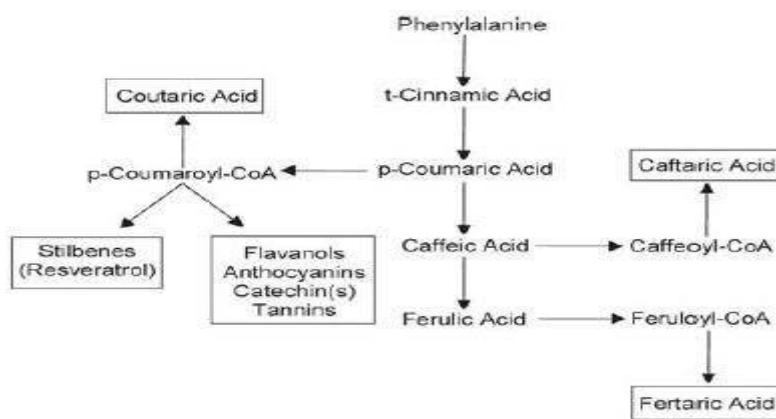
Η πλήρης αναφορά των φαινολικών ενώσεων, είναι απαραίτητο να περιλαμβάνει τα στιλβένια και τις βενιφερίνες (ολιγομερείς και πολυμερείς ενώσεις των στιλβενίων που προκύπτουν από τον οξειδωτικό πολυμερισμό της μονομερούς ρεσβερατρόλης), ενώσεις που παράγονται από τα φρούτα και τους βλαστικούς ιστούς, εξαιτίας 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 (Rentsch et al., 2009).

1.5 ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΙΣΤΟ ΤΗΣ ΡΑΓΑΣ

Η περιγραφή της βιοσύνθεσης των φαινυλπροπανοειδών ξεκινάει συνήθως με το αμινοξύ φαινυλαλαλίνη, το οποίο παράγεται από το μονοπάτι του σικιμικού οξέος. Το μονοπάτι του σικιμικού οξέος ξεκινάει με την 4-P-ερυθρόζη και το φωσφοροενολοπυροσταφυλικό οξύ (PEP) 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 φαινυλαλαλίνη. 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.

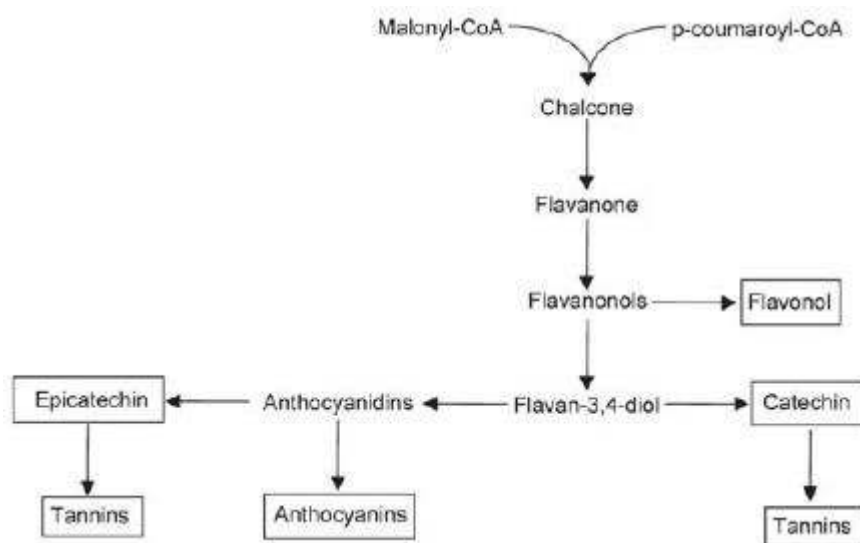
Μία περιγραφή της βιοσύνθεσης των φαινολών που ξεκινάει με την φαινυλαλαλίνη παρουσιάζεται στην εικόνα 7, με ενώσεις που συσσωρεύονται ως διαλυτά προϊόντα σε κύτταρα ραγών.



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

Η περιεκτικότητα σε φαινυλαλαλίνη, ελεύθερα κινναμωμικά οξέα και των CoA εστέρων τους, στους ιστούς όπου λαμβάνεται μέριμνα 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.

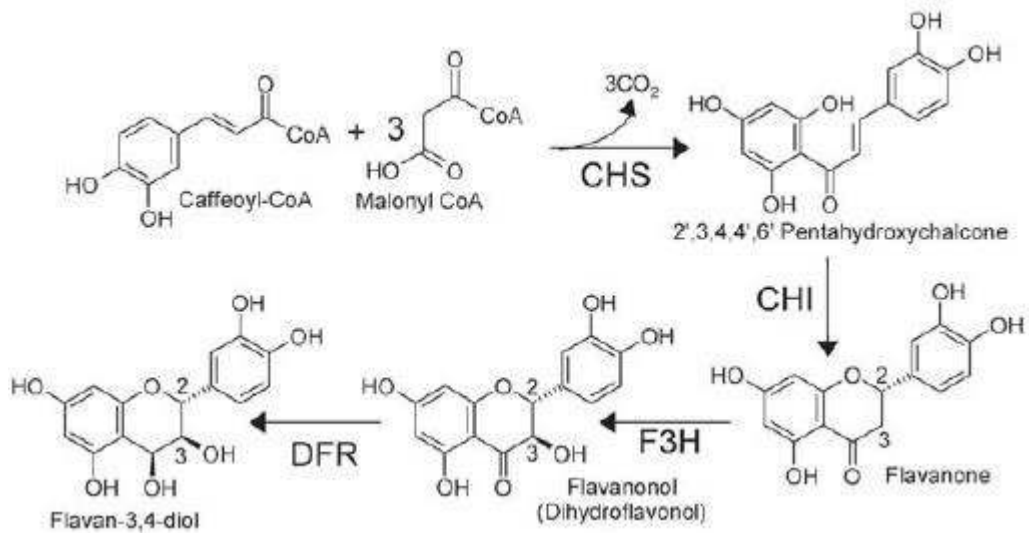
Το βιοχημικό μονοπάτι που συνδέει τα φλαβονοειδή που συσσωρεύονται σε διάφορους ιστούς των ραγών απεικονίζεται στην εικόνα 8, με τα τελικά προϊόντα να περικλείονται σε ένα ορθογώνιο.



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 σύνθεση της χαλκόνης, κατά την οποία ένα μόριο p-coumaroyl-CoA αντιδρά με τρία μόρια malonyl-CoA και παράγεται χαλκόνη και διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) (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 κάποιο 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 αναγωγή 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 αντανακλά 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 σταφυλών, όπως το Ξινόμαυρο (Κουράκου, Σ., 1998).

Διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες έχουν αναφερθεί και για τα στιλβένια. Ο Jackson κ.α. θεωρούσαν ότι οι ράγες από πρέμνα που οι γενότυποι τους επιδεικνύαν ανθεκτικότητα σε ασθένειες, θα περιείχαν υψηλότερα επίπεδα στιλβενίων σε σχέση με τους ευαίσθητους γενότυπους 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 ΕΛΑΦΟΚΛΙΜΑΤΙΚΟΙ 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, 2004β, 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 στιλβένια στην οποία υπερτερούσε.

• **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 35οC και κάτω των 15οC) 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 φλαβανόλες 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 ζωηρά 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, συμπεράσμα 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 πρέμων 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 πρέμων υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης χρησιμοποιείται ως καλλιεργητική τεχνική που αποσκοπεί στην βελτίωση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων (Kyralesou 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 πρέμων. Επιπλέον η υπερβολική λίπανση με άζωτο και κάλιο θα οδηγήσει σε μειωμένη συγκέντρωση ανθοκυανών, επειδή θα αυξηθεί η ζωηρότητα του πρέμου και κατά συνέπεια θα επηρεαστεί η ισορροπία βλάστησης προς καρποφορίας και έμμεσα το μικροκλίμα εξαιτίας των ζυρών (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).

Υδατική κατάσταση

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 πρέμων και προλαμβάνει την υπερβολική σκίαση και οψίμιση της παραγωγής. Επίσης, η έλλειψη νερού μειώνει το μέγεθος των ραγών και έτσι αλλάζει η αναλογία βάρους του φλοιού της ράγας προς το ολικό βάρος της ράγας με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα των ανθοκυανών και ταννινών στις ράγες.

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 διάφορων 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 πρέμων υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης χρησιμοποιείται ως καλλιεργητική τεχνική που αποσκοπεί στην βελτίωση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων (Kyraleou M., Kotseridis Y., Koundouras S., Chira K., Teissedre P.L., Kallithraka S., 2016).

Η υδατική καταπόνηση επηρεάζει ισχυρά, έμμεσα και άμεσα, τη σύνθεση και συσσώρευση των ανθοκυανών στις ράγες ανάλογα με την ένταση και το χρόνο εφαρμογής της. Μελέτες αναφέρουν ότι υδατικό έλλειμα αυξάνει την περιεκτικότητα των ραγών σε ανθοκυάνες. Αντίθετα, η υπερβολική άρδευση οδηγεί στην ανάπτυξη πλούσιας κόμης με αποτέλεσμα να δημιουργείται σκίαση στα σταφύλια, διαταράσσοντας τη λειτουργία της βιοσύνθεσης των ανθοκυανών, με συνέπεια τη μείωση του χρώματος των ραγών. Εφαρμογή υπερβολικής άρδευσης λίγο πριν τον τρυγητό οδηγεί σε αραίωση των διαλυτών συστατικών (σάκχαρα, οξέα, ταννίνες, ανθοκυάνες) και σε σχίσμο του φλοιού της ράγας (Esteban M.A., Villanueva M.J., Lissarrague J.R., 2001).

Πρέπει βέβαια να αναφερθεί ότι, συχνά, υπάρχει δυσκολία στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων από τις μελέτες που αφορούν την άρδευση. Η αλλαγή στην υδατική κατάσταση μπορεί να τροποποιήσει τη φυσιολογία των φυτών της αμπέλου με διάφορους τρόπους και συχνά αλλάζει το μέγεθος της ράγας, το φορτίο, τη βλάστηση και την ανάπτυξη του ίδιου του πρέμνου που με τη σειρά του μεταβάλλει την έκθεση ή μη στο φως. Επιπρόσθετα, οι γενετικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών, εμπλέκονται στην αντίδραση τους στην υδατική καταπόνηση,

ενισχύοντας την αβεβαιότητα ως προς το ποια φυσιολογική επίδραση επηρεάζει τη σύνθεση των ανθοκυανών.

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.

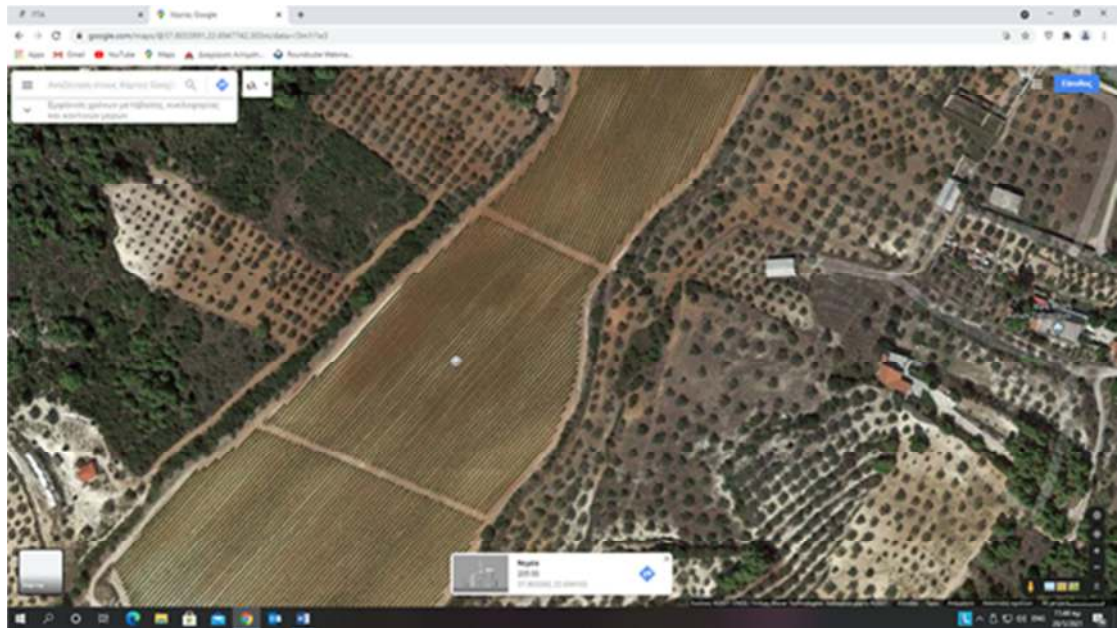
3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 ΠΟΙΚΙΛΙΑ

Η ποικιλία που εξετάζεται στη παρούσα μελέτη είναι το Αγιωργίτικο (*Vitis vinifera* L). Η συγκεκριμένη ποικιλία καλλιεργήται σχεδόν αποκλειστικά στη Π.Ο.Π ζώνη Νεμέας, αν και η καλλιέργεια της έχει επεκταθεί και σε άλλα μέρη της Ελλάδας τα τελευταία χρόνια και ιδιαίτερα της Πελοποννήσου. Τέλος θεωρείται από τις ευγενέστερες ελληνικές ποικιλίες.

3.2 ΑΜΠΕΛΩΝΑΣ

Ο αμπελώνας βρίσκεται στην περιοχή της αρχαίας Νεμέας (37°48'14.1'' Β, 22°41'39,6''). Τα πρέμνα των ποικιλιών είναι μορφωμένα σε γραμμικό σχήμα (αμφίπλευρο Royat), δέχονται τις συνήθειες 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 και το κάθε τεμάχιο σε 5 κελιά. Η διεξαγωγή του πειράματος έλαβε χώρα τη καλλιεργητική περίοδο 2017-2018.



3.3 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΡΑΓΩΝ

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

Απο 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 Βάρος σταφυλής

Από κάθε κελί λήφθηκαν τυχαία 10 σταφυλές όπως αναφέρθηκε, και μετρήθηκε το βάρος 3 από αυτές με ζυγό ακριβείας. Υπολογίστηκε το μέσο βάρος σταφυλής διαιρώντας το βάρος κάθε ομάδας με τον αριθμό σταφυλών της ομάδας.

3.4.2 Μήκος και πλάτος σταφυλής

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 προσθέτοντας τις τιμές των σταφυλών της ομάδας και διαιρώντας το σύνολο με τον αριθμό σταφυλών της ομάδας.

3.4.3 Μέσο βάρος ράγας

Λήφθηκαν τυχαία 3 ομάδες 50 ραγών από κάθε ομάδα των 3 σταφυλών και μετρήθηκε το βάρος κάθε ομάδας με ζυγό ακριβείας. Αυτό το βάρος διαιρέθηκε με

τον αριθμό των ραγών και έτσι υπολογίστηκε το μέσο βάρος ράγας σε γραμμάρια, για κάθε ομάδα.

3.4.4 Μέσο μήκος και πλάτος ράγας

Από κάθε ομάδα ραγών 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 ομάδα.

3.5 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΛΕΥΚΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

3.5.1 Μέτρηση σακχαροπεριεκτικότητας (°Brix) με χρήση

διαθλασίμετρου

Ο δείκτης διάθλασης του γλεύκους μετριέται με την βοήθεια διαθλασίμετρου 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 μιας 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 Μέτρηση ενεργής οξύτητας-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. Το pH των οίνων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως για παράδειγμα η αμπελουργική περιοχή, η ποικιλία της αμπέλου και η τιμή τους και κυμαίνεται από 2,8 μέχρι 4,2.

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



Εικόνα 10: Όργανο μέτρησης pH

3.5.3 Ποσοτικός προσδιορισμός της ολικής οξύτητας

3.5.3.1 Αρχή της μεθόδου

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 φαινολοφθαλείνη, ιδανικότερα όμως βρωμοθυμόλη. Η φαινολοφθαλείνη 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 Αντιδραστήρια

- Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) κανονικότητας 0,1N.
- Αλκοολικό διάλυμα φαινολοφθαλείνης 10 gr/lit (1%). Για την παρασκευή του διαλύματος διαλύονται 10 gr φαινολοφθαλείνη σε 1000 ml αλκοόλη 95% vol.

3.5.3.3 Διαδικασία μέτρησης

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 φαινολοφθαλείνης

- 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

3.5.3.4 Έκφραση αποτελεσμάτων

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

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

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

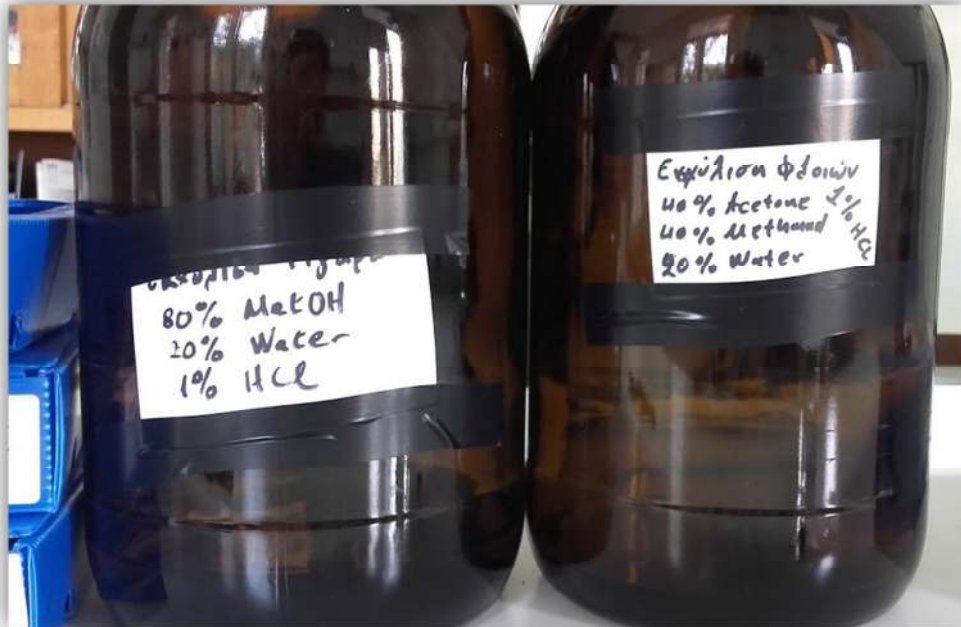
$$A' = 0,075 * A \text{ (gr/L σε τρυγικό οξύ)}$$

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

3.6.1 Προετοιμασία δειγμάτων

3.6.1.1 Εκχύλιση φλοιών

Για την εκχύλιση των φλοιών παρασκευάστηκε διάλυμα Ακετόνης, Μεθανόλης, Νερού (σε αναλογία 40:40:20), οξινισμένο με πυκνό διάλυμα HCl 12M, κατά 1% επί του τελικού όγκου του διαλύματος εκχύλισης. Τα διαλύματα και των τριών ενώσεων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καθαρότητας HPLC.



Εικόνα 11: Διαλύματα εκχύλισης

Στη συνέχεια:

- Ζυγίστηκαν 0,4gr 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 -2^η 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 -3^η 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 της κάθε ποικιλίας έγινε ξεχωριστή

εκχύλιση. Κατά συνέπεια στο τέλος της διαδικασίας υπήρχαν για κάθε ποικιλία (επέμβαση) τρία διαφορετικά εκχυλίσματα (επανάληψη).

3.6.1.2 Εκχύλιση γιγάρτων

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 gr λυοφιλομένων και κονιορτοποιημένων γιγάρτων
- Προσθήκη 2 ml εξανίου και ανάδευση
- Φυγοκέντρηση κι απόρριψη υπερκείμενου



Εικόνα 12: Φυγόκεντρος

Επανάληψη της διαδικασίας -2^η φορά- για το ίζημα. Για την εκχύλιση των γιγάρτων παρασκευάστηκε διάλυμα Μεθανόλης-Νερού, αναλογίας 80:20. 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
- Φυγοκέντρωση για 5 λεπτά στις 5000 στροφές
- Λήψη του υπερκείμενου (4ml)
- **Επανάληψη της διαδικασίας -2^η 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 -3^η 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 Αραίωση

Εξαιτίας της υψηλής συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στους φλοιούς και στα γίγαρτα αποφασίστηκε, κατόπιν δοκιμών, να πραγματοποιηθεί αραίωση των αρχικών εκχυλισμάτων. Η αραίωση που έγινε στους φλοιούς και τα γίγαρτα ήταν 1:30 σε τελικό όγκο διαλύματος 10 ml. 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 Μέτρηση ολικών ανθοκυανών και φαινολικών ενώσεων με την μέθοδο Pand

3.6.2.1 Αρχή της μεθόδου

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 520nm. Όταν στα 700nm η τιμή είναι μεγαλύτερη του 0,01 ($700\text{nm} > 0,01$), τότε το αποτέλεσμα δεν είναι έγκυρο. Αν μετρηθεί επίσης η απορρόφηση στα 280nm, μετράται η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών. Η μέτρηση αυτή μπορεί να μην έχει άμεση συσχέτιση με τις τιμές που προκύπτουν κατά την οινοποίηση 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 οινοποίησης (χρόνοι, θερμοκρασίες και τρόποι εκχύλισης) του παραγόμενου οίνου.

3.6.2.2 Αντιδραστήρια

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

3.6.2.3 Προετοιμασία δειγμάτων

Για τους φλοιούς και τα γίγαρτα χρησιμοποιήθηκαν αραιωμένα εκχυλίσματα 1:30 για το προσδιορισμό των φαινολικών ενώσεων ενώ για το προσδιορισμό των ολικών ανθοκυανών χρησιμοποιήθηκαν τα πυκνα εκχυλίσματα τα οποία αραιώθηκαν με μεθανόλη καθαρότητας HPLC σε αναλογία 1:1.

3.6.2.4 Διαδικασία μέτρησης

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 520nm (πλαστική κυψελίδα, λάμπα αλογόνου) και στα 280nm (κυψελίδα χαλαζία, λάμπα δευτερίου).

Σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα αντί για δείγμα προστέθηκαν 0,5mL αραιωμένου διαλύματος εκχύλισης (1:30 σε μεθανόλη καθαρότητας HPLC για φλοιούς και γίγαρτα). 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 280nm 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 Μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών με methyl cellulose (μεθυλική κυτταρίνη)

3.6.3.1 Αρχή της μεθόδου

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 280nm (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 Αντιδραστήρια

- 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 gr 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 Διαδικασία μέτρησης

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 + H₂O (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 + H₂O (Vτελ = 10 mL). Ανάδευση με Vortex και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.
 - ο Φυγοκέντρηση για 10min σε 6000 rpm.
 - ο 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 280nm (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 ($A_{280}=A_{CS}-A_{TS}$) 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 Μέτρηση των ολικών φλαβονοειδών ενώσεων με τη μέθοδο του Χλωριούχου Αργιλίου (AlCl_3)

3.6.4.1 Αρχή της μεθοδού

Η αρχή της μεθόδου προσδιορισμού των ολικών φλαβονοειδών με το χλωριούχο αργίλιο βασίζεται στο ότι το 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 Αντιδραστήρια

- Υδατικό διάλυμα NaNO_2 5% w/v. Για την παρασκευή του διαλύματος ζυγίζονται 5 gr NaNO_2 και διαλύονται σε τελικό όγκο 100 ml απιονισμένου νερού.
- Υδατικό διάλυμα AlCl_3 10% w/v. Για την παρασκευή του διαλύματος ζυγίζονται 10 gr AlCl_3 και διαλύονται σε τελικό όγκο 100 ml απιονισμένου νερού, κάτω από απαγωγό.
- Διάλυμα NaOH 1N

3.6.4.3 Προετοιμασία δειγμάτων

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

3.6.4.4 Διαδικασία μέτρησης

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 εκχύλισματος
- Ανάδευση με vortex και προσθήκη 0,15 ml NaNO_2 5%w/v
- Ανάδευση με vortex και μετά από 5 λεπτά προσθήκη 0,15 ml AlCl_3 10% w/v
- Ανάδευση με vortex και μετά από 6 λεπτά προσθήκη 1 ml NaOH 1N
- Ανάδευση με vortex και μετά προσθήκη 1,2ml 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 0,5mL 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 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 φλαβονοειδών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση η κατεχίνη σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

3.6.5 Μέτρηση των ολικών φλαβονολών με τη μέθοδο της 4-διμεθυλ-αμμινοκινναμωμική αλδεΰδη (4-DMACA)

3.6.5.1 Αρχή της μεθόδου

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 φλαβονολών καθώς ο δακτύλιος A 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 φλαβονολών 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 Αντιδραστήρια

- 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 Διαδικασία μέτρησης

Για τους φλοιούς χρησιμοποιήθηκαν αραιωμένα εκχυλίσματα 1:60 και για τα γίγαρτα 1:120, ενώ 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 μl 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 μl 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 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 φλαβονολών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση η κατεχίνη σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

3.6.6 Μέτρηση των ολικών φλαβονών και φλαβονολών με τη μέθοδο του Χλωριούχου Αργιλίου ($AlCl_3$)

3.6.6.1 Αρχή της μεθόδου

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

3.6.6.2 Αντιδραστήρια

- Μεθανόλη Καθαρότητας HPLC
- Διάλυμα AlCl_3 5% w/v. Για την παρασκευή του διαλύματος ζυγίζονται 5 gr AlCl_3 και διαλύονται σε τελικό όγκο 100 ml μεθανόλης καθαρότητας HPLC, κάτω από απαγωγό.

3.6.6.3 Προετοιμασία δειγμάτων

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

3.6.6.4 Διαδικασία μέτρησης

Σε ένα πλαστικό σωλήνα φυγόκεντρου:

- Μεταφέρθηκαν 0,2 ml εκχυλίσματος
- Προσθήκη 2 ml μεθανόλης κι ακολουθεί ανάμιξη
- Προσθήκη 0,1 ml διάλυμα 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 αραιωμένο εκχύλισμα προστέθηκαν 0,2 ml αραιωμένου διαλύματος εκχύλισης 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 φλαβονών και φλαβονολών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ενώση η ρουτίνη σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

3.6.7 προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο αντιοξειδωτικής ισχύς αναγωγής τρισθενούς σιδήρου (frap)

3.6.7.1 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.

3.6.7.2 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 FeCl₃·6H₂O 20 mM/L
- HCl 40 mM

3.6.7.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

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

3.6.7.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

□ Το διάλυμα εργασίας FRAP παρασκευάζεται ημερησίως με ανάμιξη: 25 mL ρυθμιστικού διαλύματος, 2,5 mL TPTZ, 2,5 mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 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.

3.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ HPLC ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ

3.7.1 Αρχή λειτουργίας του οργάνου

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 εκλούνται 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 Μέτρηση μεμονομένων ανθοκυανών

3.7.2.1 Αντιδραστήρια κι εξοπλισμός 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 10μL (αυτόματη έγχυση), ανίχνευση στα 520nm 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 χρησιμοποιηθήκαν ήταν:

- Μεθανόλη Καθαρότητας HPLC
- Νερό Καθαρότητας HPLC

3.7.2.2 Προετοιμασία δειγμάτων

Μετά από δοκιμές, παρατηρήθηκε ότι οι καταλληλότεροι διαλύτες του δείγματος, για το σκοπό της μελέτης, ήταν η μεθανόλη και το νερό. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι εκχυλίσματα των ανθοκυανών είχαν γίνει σε διάλυμα μεθανόλης, ακετόνης και νερού (40:40:20), έγινε εξάτμιση των αρχικών διαλυτών σε ροή αζώτου και λυοφιλίωση.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής και εφαρμόστηκε συνολικά τρεις φορές, μία για κάθε επανάληψη:

- Μεταφορά 2 ml εκχυλίσματος σε πλαστικό σωλήνα φυγόκεντρου των 50 ml
- Τοποθέτηση πλαστικού σωλήνα σε υδατόλουτρο στους 30 °C
- Εξάτμιση των διαλυτών με εμφύσηση αερίου αζώτου σε ήπια ένταση
- Λυοφιλίωση των στερεών υπολειμμάτων των ανθοκυανών για αποβολή πιθανής υγρασίας

3.7.2.3 Διαδικασία μέτρησης

- Προσθήκη 100 ml ρεχυλίσματος σε δοκιμαστικό που περιεχει 900 ml H₂O καθαρότητας HPLC
- Ανάδευση

- Φιλτράρισμα του τελικού διαλύματος με φίλτρο 0,2μm 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 μεθανόλης-νερού, 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 (t_R) και το φάσμα απορρόφησης. Οι ανθοκυάνες που ταυτοποιήθηκαν είναι η κυανιδίνη, η δελφινιδίνη, η πετουνιδίνη, η παιονιδίνη κι η μαλβιδίνη.

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 NaPO₃ (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 των πειραμάτων 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 Student's T 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

ΚΕΛΙΑ	ΜΗΚΟΣ ΡΑΓΩΝ (mm)	ΠΛΑΤΟΣ ΡΑΓΩΝ (mm)
B6	14.01 ± 0.32 abc	12.86 ± 0.25 ab
B7	14.14 ± 0.08 abc	12.69 ± 0.44 ab
B8	14.28 ± 0.17 abc	12.52 ± 0.65 ab
B9	12.41 ± 0.09 e	11.5 ± 0.21 b
B10	12.88 ± 0.28 cde	12.01 ± 0.36 ab
E6	12.99 ± 0.19 bcde	11.78 ± 0.11 ab
E7	12.56 ± 0.21 de	11.52 ± 0.22 b
E8	14.75 ± 0.18 a	13.34 ± 0.24 a
E9	13.92 ± 0.29 abcd	12.22 ± 0.27 ab
E10	13.75 ± 0.166 abcde	12.82 ± 0.11 ab

H6	12.99 ± 0.48 bcde	12.15 ± 0.42 ab
H7	14.79 ± 0.23 a	13.53 ± 0.20 a
H8	14.35 ± 0.31 ab	13.12 ± 0.49 ab
H9	13.12 ± 0.43 bcde	12.20 ± 0.3 ab
H10	14.37 ± 0.23 ab	13.33 ± 0.23 a

Οι δείκτες a,b,c,d,e στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's T-test ($P < 0,05$)

Πίνακας 2: Μηχανικές αναλύσεις ράγας

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 14,79 mm έως 12,41 mm, ενώ το πλάτος από 13,53 mm έως 11,5 mm.

ΚΕΛΙΑ	ΒΑΡΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚΟΣ
	ΣΤΑΦΥΛΗΣ (cm)	ΣΤΑΦΥΛΗΣ (g)	ΣΤΑΦΥΛΗΣ (cm)
B6	102.66 ± 3.18 fgh	7.16 ± 0.16 b	11.33 ± 0.88 de
B7	94.16 ± 2.20 gh	6.91 ± 0.36 b	11.91 ± 0.79 cde
B8	85 ± 7.51 h	7.25 ± 0.14 b	12.5 ± 0.76 cde

B9	155 ± 5.19 cd	8.5 ± 0.28 ab	13 ± 0.57 cde
B10	96.3 ± 1.85 gh	7 ± 0 b	10.83 ± 0.16 e
E6	185.33 ± 6.64 bc	10 ± 0.57 a	14.66 ± 0.33 bc
E7	176 ± 5.19 bc	9 ± 0.57 ab	16.66 ± 0.66 ab
E8	288.66 ± 1.85 a	9 ± 0 ab	18.33 ± 0.16 a
E9	155.66 ± 3.48 cd	8.66 ± 0.33 ab	14.5 ± 0.28 bcd
E10	128 ± 1.15 def	7.83 ± 0.16 ab	13.75 ± 0.14 bcde
H6	195.66 ± 5.36 b	9 ± 0.57 ab	13.33 ± 0.88 dce
H7	141 ± 9.16 de	7.16 ± 0.44 b	12.5 ± 0.28 cde
H8	190.66 ± 9.21 b	8.16 ± 0.72 ab	12.66 ± 0.88 bcde
H9	123.33 ± 4.33 efg	8.3 ± 0.72 ab	13.66 ± 1.09 bcde
H10	181.66 ± 43.09 b	7.16 ± 0.44 b	13.33 ± 0.66 cde

Πίνακας 3: Μηχανικές αναλύσεις σταφυλής

Οι δείκτες a,b,c,d στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's T-test ($P < 0,05$)

Δεν καταγράφηκε αναλογία μεταξύ μήκους και πλάτους των σταφυλών. Το μεγαλύτερο μήκος σταφυλής μετρήθηκε στο κελί E08 χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα υπόλοιπα εκτός από το κελί E07. Το κελί B10 ήταν το λιγότερο επιμήκης. Το μεγαλύτερο πλάτος σταφυλής μετρήθηκε στο κελί E06

και το μικρότερο μετρήθηκε πάλι στο B06, χωρίς ωστόσο να παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των κελιών.

Το μεγαλύτερο βάρος σταφυλής καταγράφηκε στο κελί E08, χωρίς ωστόσο να εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά με τα υπόλοιπα κελιά. Τη μικρότερη τιμή την είχε το κελί B08 εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά με τη πελιονότητα των κελιών.

ΠΟΣΟΣΤΟ ΒΑΡΟΥΣ ΦΛΟΙΩΝ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΒΑΡΟΥΣ ΓΙΓΑΡΤΩΝ
25.86 ± 0.68 cd	6.12 ± 0.3 def
26.74 ± 0.74 f	5.40 ± 0.11 ef
27.67 ± 1.35 ef	5.05 ± 0.05 f
29.26 ± 0.67 def	6.67 ± 0.19 def
32.19 ± 0.68 cd	5.13 ± 0.09 f
34.1 ± 0.47 bc	8.18 ± 0.11 cd
30.76 ± 0.92 cde	7.5 ± 0.27 de
39.01 ± 0.46 a	9.72 ± 0.65 bc
34.04 ± 0.43 bc	11.62 ± 0.46 ab
34.45 ± 0.82 bc	11.82 ± 0.40 ab
33.65 ± 1.12 bc	7.58 ± 0.54 cde
29.25 ± 0.54 def	7.5 ± 0.45 de
27.24 ± 0.24 ef	7.48 ± 0.44 de
33.56 ± 1.24 bc	12.48 ± 0.68 a
36.2 ± 1.22 ab	11.87 ± 0.66 ab

Πίνακας 4: ΠΟΣΟΣΤΟ ΒΑΡΟΥΣ ΦΛΟΙΩΝ ΚΑΙ ΓΙΓΑΡΤΩΝ

5.2 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΛΕΥΚΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σακχάρων μετρήθηκε στο κελί B06 (26.8 ° BRIX), ενώ η μικρότερη τιμή καταγράφηκε στο κελί E06 (14,8 ° BRIX) .

Ωστόσο και στις δύο περιπτώσεις υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά. Συγκεκριμένα τα παρακάτω ζεύγη κελιών δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους: B07-B09, B10-H10, E7-H7, E8-H8 και B9-E10.

ΚΕΛΙΑ	pH	ΟΞΥΤΗΤΑ	ΣΑΚΧΑΡΑ
B6	3.91 ± 0 h	4,2 ± 0.33 ab	26.8 ± 0 a
B7	4 ± 0 f	4.05 ± 0.15 d	21.5 ± 0 b
B8	4.09 ± 0 d	4,24 ± 0.25 f	16.2 ± 0 h
B9	4.14 ± 0.01 c	4,08 ± 0.5 bc	21.26 ± 0.07 b
B10	4.05 ± 0.003 e	4,11 ± 0.25 bc	19.93 ± 0.07 c
E6	3.82 ± 0 i	4,37 ± 0.12 a	14.8 ± 0.31 i
E7	4.09 ± 0 d	4,21 ± 0.66 ab	17.73 ± 0.07 ef
E8	4.24 ± 0.003 b	3,98 ± 0 a	19 ± 0 d
E9	3.91 ± 0.003	4,44 ± 0.25 bc	13.87 ± 0.07 j
E10	3.91 ± 0 h	4,32 ± 0.5 bc	21.4 ± 0 b
H6	3.82 ± 0 i	4,47 ± 0 bc	16.93 ± 0.07 g
H7	3.64 ± 0 j	5,01 ± 0 d	17.93 ± 0.07 e
H8	3.94 ± 0.003 g	4,14 ± 0 cd	19 ± 0 d
H9	3.4 ± 0 k	6.8 ± 0 e	17.33 ± 0.07
H10	4.28 ± 0.01 a	3,87 ± 0 b	19.86 ± 0.07 c

Πίνακας 5: Μέτρηση γλευκογραφικών χαρακτηριστικών

Οι δείκτες a,b,c,d,e,f,g στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's T-test ($P < 0,05$)

Το κελί στο οποίο καταγράφηκε η χαμηλότερη ενεργή οξύτητα ήταν το H08 (pH 3,94), ενώ το κελί που εμφάνισε την υψηλότερη τιμή ήταν το H10 (pH 4,28). Όλα τα κελιά παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά (Πίνακας 5).

Η μεγαλύτερη ολική οξύτητα καταγράφηκε στο κελί H09 (6.8 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα, ενώ η μικρότερη τιμή μετρήθηκε στην H10 (3,87 g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους) χωρίς να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά από τα περισσότερα κελιά. Τα υπόλοιπα κελιά παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Τα κελιά παρουσίασαν ελαφρώς χαμηλότερες τιμές ολικής οξύτητας από το μέσο όρο φυσιολογικών τιμών οξύτητας για την ποικιλία Αγιωργίτικο.

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 **E07** (9,40 mg γαλλικού οξέος/ g v.i.(νωπού ιστού)) με στατιστικά σημαντική διαφορά. Ακολούθησε το E08 (9,21 mg γαλλικού οξέος / g v.i.) χωρίς να διαφέρει σημαντικά από το E02, ενώ οι χαμηλότερες τιμές καταγράφηκαν στα κελιά **H06** (4,55 mg γαλλικού οξέος / g v.i.)

και **H08** (5,37 mg γαλλικού οξέος / g v.l.), που παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά με τα υπόλοιπα κελιά.

ΚΕΛΙΑ	ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΓΙΓΑΡΤΩΝ mg γαλλικό οξύ/g v.l.	ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΦΛΟΙΩΝ mg γαλλικό οξύ/g v.l.
B6	26,45 ± 0,64cd	7,21 ± 0,19bc
B7	28,74 ± 0,41cd	6,94 ± 0,1bcd
B8	27,53 ± 0,87cd	7,03 ± 0,14bcd
B9	26,88 ± 0,36cd	6,33 ± 0,25def
B10	27,14 ± 0,74cd	6,69 ± 0,22cd
E6	29,41b ± 1,77bc	7,47 ± 0,07b
E7	28,92 ± 0,79cd	9,40 ± 0,24a
E8	27,61 ± 0,11cd	9,21 ± 0,09a
E9	28,23 ± 1,29cd	5,98 ± 0,03efg
E10	27,89 ± 1,42cd	6,33 ± 0,13def
H6	24,53 ± 0,83cd	4,55 ± 0,03h
H7	23,89 ± 0,92d	5,93 ± 0,18fg
H8	34,14 ± 1,99ab	5,37 ± 0,13gh

H9	37,54 ± 0,46a	6,79 ± 0,27cde
H10	27,38 ± 1,53bcd	7,36 ± 0,05bc

Πίνακας 6: Μέτρηση ολικών φαινολικών ενώσεων

Οι δείκτες a,b,c,d,e στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's T-test ($P < 0,05$)

Στα γίγαρτα οι μεγαλύτερες περιεκτικότητες ολικών φαινολικών ενώσεων μετρήθηκαν στα κελιά H09 (37,54 mg γαλλικού οξέος / g v.i.) και H08 (34,14 mg γαλλικού οξέος / g v.i.), χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, αλλά με στατιστικά σημαντική διαφορά με τα υπόλοιπα κελιά. Το κελί H07 παρουσίασε την μικρότερη τιμή (23,89 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.

<i>ΚΕΛΙΑ</i>	<i>ΟΛ.</i>	<i>ΟΛ.</i>
	<i>ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ</i>	<i>ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ</i>
	<i>ΦΛΟΙΩΝ</i>	<i>ΓΙΓΑΡΤΩΝ</i>
	<i>mg κατεχίνη/g v.l.</i>	<i>mg κατεχίνη/g v.l.</i>
B6	10.3 ± 0.18 cd	27.2 ± 4.24 abcd
B7	7.98 ± 0.38 de	31.6 ± 2 abc
B8	6.01 ± 0.23 e	34.86 ± 4.77 a
B9	9.85 ± 0.5 cde	23.7 ± 3.36 abcd
B10	7.39 ± 0.59 de	22.76 ± 4.24 bcd
E6	7.82 ± 0.57 de	32.7 ± 0.78 ab
E7	12.72 ± 0.73 bc	24.28 ± 0.73 abcd
E8	7.41 ± 0.77 de	20.35 ± 2.18 cd
E9	9.8 ± 1.23 cde	24.25 ± 1.34 abcd
E10	8.94 ± 0.47 cde	18.21 ± 0.53 d
H6	17.3 ± 0.02 a	29.61 ± 1.58 abcd
H7	17.42 ± 0.79 a	33.86 ± 0.63 ab
H8	15.26 ± 1.88 ab	25.93 ± 1.65 abcd
H9	14.46 ± 0.47 ab	23.55 ± 1.65 abcd
H10	11.27 ± 0.67 bcd	26.95 ± 0.59 abcd

Πίνακας 7: Μέτρηση ολικών φλαβονοειδών ενώσεων

Οι δείκτες *a,b,c,d* στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's *T*-test ($P < 0,05$)

Το κελί με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών φλαβονοειδών στα γίγαρτα ήταν το B08 (34,86 mg κατεχίνης/g v.i.), χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά εκτός από B10, E08, E10. Τα υπόλοιπα κελιά δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους

5.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΩΝ ΚΑΙ ΦΛΑΒΟΝΟΛΩΝ

ΚΕΛΙΑ	ΟΛ. ΦΛΑΒΟΝΕΣ & ΦΛΑΒΟΝΟΛΕ Σ ΦΛΟΙΩΝ mg ρουτίνη/ g v.i.	ΟΛ. ΦΛΑΒΟΝΕΣ & ΦΛΑΒΟΝΟΛΕΣ ΓΙΓΑΡΤΩΝ mg ρουτίνη/ g v.i.
B6	1.85 ± 0.05 abc	23,33 ± 0,52c
B7	1.59 ± 0.14 abcde	34,42 ± 0,63a
B8	1.53 ± 0.07 abcde	30,35 ± 0,69a

B9	1.95 ± 0.05 ab	31,74 ± 1,10a
B10	1.13 ± 0.12 e	28,23 ± 0,42abc
E6	1.43 ± 0.1 cde	31,65 ± 1,13a
E7	1.59 ± 0.08 abcde	29,13 ± 1,85abc
E8	1.38 ± 0.09 cde	28,8 ± 1,18abc
E9	1.23 ± 0.12 de	32,25 ± 0,44a
E10	1.45 ± 0.05 cde	32,27 ± 1,12a
H6	1.57 ± 0.12 abcde	31,70 ± 0,50a
H7	1.71 ± 0.08 abcd	32,25 ± 1,36a
H8	1.46 ± 0.12 bcde	30,86 ± 0,27ab
H9	1.99 ± 0.06 a	33,71 ± 1,25a
H10	1.41 ± 0.05 cde	26,59 ± 1,05bc

Πίνακας 8: Μέτρηση μεμονωμένων ανθοκυανών

Οι δείκτες a,b,c,d στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's T-test ($P < 0,05$)

Τα κελιά με τις μεγαλύτερες περιεκτικότητες ολικών φλαβονών και φλαβονολών στους φλοιούς ήταν το H09 (1,99 mg ρουτίνης / g v.i.) και το αμέσως επόμενο το B09 (1,95 mg ρουτίνης / g v.i.) παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική

διαφορά από τα μισά κελιά. Μικρότερη τιμή παρουσίασαν τα κελιά B10 (1,13 mg ρουτίνης / g v.i.) χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τη πλειονότητα των κελιών.

Στα γίγαρτα τις μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε ολικές φλαβανόλες τις εμφάνισαν το H09 (33,71 mg κατεχίνης / g v.i.), χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα υπόλοιπα πέραν των B06 (23,33 mg κατεχίνης / g v.i.) και H10 (26,59 mg κατεχίνης / g v.i.), τα οποία με τη σειρά τους διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από όλα τα κελιά.

5.5 ΟΛΙΚΕΣ ΦΛΑΒΑΝΟΛΕΣ

ΚΕΛΙΑ	ΟΛ.ΦΛΑΒΑΝΟΛΕΣ ΦΛΟΙΩΝ	ΟΛ.ΦΛΑΒΑΝΟΛΕΣ ΓΙΓΑΡΤΩΝ
	mg κατεχίνη/g v.i.	mg κατεχίνη/g v.i.
B6	2.42 ± 0.11 ef	26.97 ± 1.41 abcd
B7	2.27 ± 0.07 f	33.26 ± 1.03 a
B8	2.11 ± 0.09 f	33.07 ± 1.81 a
B9	2.66 ± 0.09 def	27.07 ± 0.25 abcd
B10	2.07 ± 0.08 f	26.07 ± 1.05 bcde
E6	2.48 ± 0.07 def	29.94 ± 1.39 abc
E7	3.56 ± 0.02 bc	20 ± 1.32 efg
E8	2.47 ± 0.16 def	18.26 ± 1.29 fg
E9	2.63 ± 0.19 def	19.59 ± 0.65 efg

E10	2.57 ± 0.16 def	23.8 ± 0.57 cdef
H6	3.63 ± 0.14 ab	30.24 ± 0.55 abc
H7	4.43 ± 0.14 a	32.15 ± 0.26 ab
H8	3.22 ± 0.41 bcde	24.58 ± 1.68 cdef
H9	3.23 ± 0.006 bcd	19.53 ± 2.22 efg
H10	2.77 ± 0.05 cdef	22.41 ± 1.36 def

Πίνακας 9:ΟΛΙΚΕΣ ΦΛΑΒΑΝΟΛΕΣ

Το κελί στο οποίο μετρήθηκε η μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών φλαβανολών στους φλοιούς ήταν το H07 (4,43 mg κατεχίνης / g v.i.) και ακολουθούν τα H06 (3,63 mg κατεχίνης / g v.i.) και H09 (3,23 mg κατεχίνης / g v.i.) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Μικρότερες τιμές καταγράφηκαν στο B10 (2,07 mg κατεχίνης / g v.i.) και στο B10 (2,11 mg κατεχίνης / g v.i.) που δεν διαφέραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Στα γίγαρτα τις μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε ολικές φλαβανόλες τις εμφάνισαν το H07 (32,1 mg κατεχίνης / g v.i.), χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα περισσότερα. Μικρότερη τιμή καταγράφηκε στο κελί E08 (18.26 mg κατεχίνης / g v.i.), χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα περισσότερα κελιά.

5.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ ΤΑΝΝΙΝΩΝ

<i>ΚΕΛΙΑ</i>	<i>TANNINES ΦΛΟΙΩΝ</i> <i>mg κατεχίνη/g v.i.</i>	<i>TANNINES</i> <i>ΓΙΓΑΡΤΩΝ</i> <i>mg κατεχίνη/g v.i.</i>
B6	$19,00 \pm 2,14de$	$60.58 \pm 2.64 ab$
B7	$19,00 \pm 0,37de$	$97.36 \pm 9.91 ab$
B8	$16,78 \pm 0,88def$	$106.78 \pm 1.83 ab$
B9	$25,01 \pm 1,29b$	$85.86 \pm 0.91 abc$
B10	$25,03 \pm 0,37b$	$64.08 \pm 2.16 a$
E6	$33,10 \pm 0,35a$	$98.25 \pm 2.89 bcd$
E7	$24,74 \pm 0,17bc$	$81.71 \pm 3.91 bcde$
E8	$18,15 \pm 0,65def$	$63.8 \pm 7.47 cde$
E9	$18,79 \pm 0,83de$	$73.31 \pm 1.47 cde$
E10	$16,35 \pm 0,43f$	$52.94 \pm 0.65 abcd$
H6	$16,30 \pm 0,10ef$	$74.28 \pm 6.59 ef$
H7	$14,40 \pm 0,56f$	$90.68 \pm 6.35 ef$

H8	$20,86 \pm 0,00cd$	$54 \pm 1.1 ef$
H9	$23,56 \pm 0,35bc$	$30.63 \pm 8.15 f$
H10	$18,98 \pm 0,00de$	$51.2 \pm 1.36 de$

Πίνακας 10: Μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών

Οι δείκτες *a,b,c,d* στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's T-test ($P < 0,05$)

Στους φλοιούς το κελί με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε συμπυκνωμένες ταννίνες με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα είναι το E06 (33,10 mg κατεχίνης/ g v.i.). Αντίθετα τη μικρότερη περιεκτικότητα την εμφάνισε το κελί H07 (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 B08 (106,78 mg κατεχίνης / g v.i.) και ακολούθησαν το B05 (106,62 mg κατεχίνης / g v.i.) και το B07 (97,36 mg κατεχίνης / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Μικρότερη τιμή, χωρίς σημαντική διαφορά με τις επόμενες μικρότερες, παρουσίασε το H09 (30,63 mg κατεχίνης / g v.i.).

5.7 ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΩΝ & ΟΛΙΚΩΝ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ

ΚΕΛΙΑ	ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ mg μαλβιδίνη /g v.l.
B6	0.82 ± 0.395 b
B7	1.15 ± 0.035b
B8	1.09 ± 0.042 b
B9	1.51 ± 0.074 b
B10	0.86 ± 0.008 ab
E6	1.45 ± 0.068 ab
E7	1.56 ± 0.181 b
E8	1.45 ± 0.111 ab
E9	1.13 ± 0.237 b
E10	1.62 ± 0.073 b
H6	1.40 ± 0.054 b
H7	1.65 ± 0.231 b
H8	1.47 ± 0.092 ab
H9	2.30 ± 0.202 ab
H10	1.33 ± 0.076 b

Πίνακας 11: ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ

Πίνακας 3.10: Μέτρηση ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς

Οι δείκτες a,b,c,d στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's T-test ($P < 0,05$)

Την μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς την εμφάνισε το Η09 (2,30 mg μαλβιδίνης / g v.i.), χωρίς να εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά με τα υπόλοιπα κελιά. Αντίθετα τη μικρότερη τιμή την παρουσίασε το Β06 (0,82 mg μαλβιδίνης / g v.i.), τις αμέσως επόμενες εμφάνισαν το Β10 (0,86 mg μαλβιδίνης / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά με τα υπόλοιπα κελιά

ΚΕΛΙΑ	mg δελφινιδίνη /g v.i.	mg κυανιδίνη/g v.i.	mg πετουνιδίνη/g v.i.	mg παιονιδίνη/g v.i.
B6	0.083 ± 0.0034 b	0.039 ± 0.0014 a	0.081 ± 0.014 b	0.219 ± 0.007 a
B7	0.071 ± 0.0026 bc	0.033 ± 0.0006 ab	0.075 ± 0.006 bc	0.191 ± 0.004 ab
B8	0.059 ± 0.0026 cd	0.026 ± 0.0012 bc	0.069 ± 0.002 bcd	0.167 ± 0.0018 abc
B9	0.053 ± 0.0017 def	0.016 ± 0.0012 de	0.065 ± 0.002 bcd	0.129 ± 0.0064 bcd
B10	0.025 ± 0.0005 g	0.005 ± 0.0003 g	0.035 ± 0.0003 d	0.046 ± 0.006 e
E6	0.069 ± 0.0043 bcd	0.027 ± 0.0017 bc	0.076 ± 0.004 bc	0.178 ± 0.089 ab

E7	0.056 ± 0.0014 cd	0.009 ± 0.0012 efg	0.065 ± 0.0017 bcd	0.129 ± 0.043 bcd
E8	0.04 ± 0.00032 efg	0.009 ± 0.0012 efg	0.048 ± 0.0035 bcd	0.062 ± 0.009 de
E9	0.035 ± 0.0037 fg	0.010 ± 0.0017 efg	0.043 ± 0.0035 cd	0.089 ± 0.009 de
E10	0.068 ± 0.0029 bcd	0.015 ± 0.0005 ef	0.078 ± 0.0031 bc	0.102 ± 0.003 cde
H6	0.065 ± 0.0026 bcd	0.009 ± 0.0003 efg	0.072 ± 0.0028 bc	0.065 ± 0.003 de
H7	0.073 ± 0.0026 bcd	0.005 ± 0.0003 g	0.073 ± 0.0126 bc	0.053 ± 0.005 e
H8	0.078 ± 0.0031 bc	0.009 ± 0.0005 fg	0.082 ± 0.0046 b	0.064 ± 0.002 de
H9	0.129 ± 0.0113 a	0.023 ± 0.003 cd	0.138 ± 0.0120 a	0.173 ± 0.014 ab
H10	0.056 ± 0.0066 cdef	0.01 ± 0.0023 efg	0.138 ± 0.0120 a	0.061 ± 0.107 de

Πίνακας 12: MEMONΟΜΕΝΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ

Στον πίνακα 13 παρατίθενται οι μετρήσεις περιεκτικότητας των μεμονωμένων ανθοκυανών στους φλοιούς των κελιών. Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα κυανιδίνης μετρήθηκε στο κελί B06 (0,039 mg / g v.i.) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα περισσότερα κελιά. Μικρότερη περιεκτικότητα εμφάνισε το H07 (0,005 mg κυανιδίνης / g v.i.) μη διαφέροντας στατιστικά από τη πλειοψηφία των κελιών.

Το κελί με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα δελφινιδίνης ήταν το H09 (0,129 mg / g v.i.), με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά. Μικρότερη περιεκτικότητα εμφάνισε το κελί B10 (0,025 mg / g v.i.) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα περισσότερα κελιά.

Τα κελιά με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα πετουινιδίνης ήταν τα H09, H10 (0,138 mg / g v.i.), με στατιστικά σημαντική διαφορά από το επόμενο κελί, το H08 (0,082 mg / g v.i.). Μικρότερες τιμές καταγράφηκαν στα κελιά B10 (0,035 mg / g

v.i.), E09 (0,043 mg / g v.i.), χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα παιονιδίνης μετρήθηκε στο B06 (0,219 mg / g v.i.), χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά από το επόμενο κελί το B07 (0,127 mg / g v.i.). Μικρότερη περιεκτικότητα εμφάνισε το κελί B10 (0,046 mg / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά από το αμέσως επόμενο H07 (0,053 mg / g v.i.).

ΚΕΛΙΑ	mg οξ.εστ.μαλ./ g v.i.	mg κουμ.εστ.μαλ./ g v.i.
B6	0.028 ± 0.0034 e	0.092 ± 0.0003 e
B7	0.033 ± 0.0026 e	0.133 ± 0.0203 e
B8	0.038 ± 0.0029 de	0.173 ± 0.0404 de
B9	0.071 ± 0.0056 abcde	0.461 ± 0.0373 cde
B10	0.047 ± 0.0040 cde	0.180 ± 0.0072 de
E6	0.056 ± 0.0030 bcde	0.435 ± 0.0883 cde
E7	0.089 ± 0.0314 abcd	0.667 ± 0.2945 bcd
E8	0.108 ± 0.0044 a	0.924 ± 0.0182 abc
E9	0.070 ± 0.0118 abcde	0.369 ± 0.1694 de
E10	0.091 ± 0.0006 ab	0.691 ± 0.0769 bcd
H6	0.107 ± 0.0072 ab	0.999 ± 0.0664 ab
H7	0.117 ± 0.0064 a	1.128 ± 0.0239 ab
H8	0.102 ± 0.0090 ab	0.912 ± 0.0477 abc

H9	0.120 ± 0.0098 a	1.262 ± 0.1051 a
H10	0.101 ± 0.0006 ab	1.052 ± 0.0170 ab

Πίνακας 13: ΜΕΜΟΝΟΜΕΝΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ

Το κελί H09 (0,120 mg / g v.i.) παρουσίασε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε οξικό εστέρα της μαλβιδίνης, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά από τα περισσότερα κελιά. Αντίθετα τις χαμηλότερες περιεκτικότητες σε οξικό εστέρα μαλβιδίνης παρουσιάζουν το B06 (0,028 mg / g v.i.) και το E07 (0,033 mg / g v.i.) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα περισσότερα κελιά.

Το κελί H09 (1,262 mg / g v.i.) παρουσίασε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης, με στατιστικά σημαντική διαφορά από τη πλειονότητα των κελιών. Αντίθετα, τις χαμηλότερες περιεκτικότητες σε κουμαρικό εστέρα της μαλβιδίνης παρουσιάζουν το B06 (0,092 mg / g v.i.) το B07 (0,133 mg / g v.i.) το B02 (0,008 mg / g v.i.) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

5.8 ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

<i>ΚΕΛΙΑ</i>	<i>ΦΛΟΙΟΙ (FRAP)</i> <i>mg trolox /g v.i.</i>	<i>ΓΙΓΑΡΤΑ (FRAP)</i> <i>mg trolox/g v.i.</i>
B6	14.23 ± 0.21 cd	175.48 ± 4.58 a
B7	17.99 ± 0.52 bcd	200.28 ± 0.75 a

B8	13.31 ± 0.86 d	150.29 ± 31.6 a
B9	22.89 ± 1.17 ab	134.89 ± 24.8 a
B10	12.98 ± 0.79 d	143.95 ± 22.22 a
E6	17.56 ± 0.56 bcd	197.98 ± 10.42 a
E7	26.11 ± 0.1 a	144.76 ± 8.26 a
E8	22 ± 1.29 ab	118.72 ± 24.74 a
E9	21.09 ± 1.47 abc	175.03 ± 1.37 a
E10	20.01 ± 1.92 abcd	142.85 ± 7.22 a
H6	22.81 ± 2.44 ab	179.20 ± 22.04 a
H7	25.06 ± 2.60 a	178.48 ± 15.84 a
H8	19.07 ± 0.82 abcd	196.18 ± 5.97 a
H9	25.09 ± 1.42 a	117.95 ± 4.01 a
H10	19.88 ± 1.07 abcd	169.13 ± 5.25 a

Πίνακας 14: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ

Οι δείκτες a,b,c,d,e στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's T-test ($P < 0,05$)

Τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα στους φλοιούς σύμφωνα με τη μέθοδο FRAP την εμφανίζει το κελί E07 (26,11 mg trolox / g v.i.) και ακολουθεί το H07 (25,07 mg trolox / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αντίθετα, τη μικρότερη τιμή την εμφανίζει το κελί B10 (12,98 mg trolox / g v.i.) και

την αμέσως επόμενη τιμή την παρουσιάζει το B08 (13,31 mg trolox / g v.i.) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Στα γίγαρτα δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των κελιών.

5.9 ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΜΟΝΟΜΕΝΩΝ ΟΞΕΩΝ

<i>ΚΕΛΙΑ</i>	<i>μg τρυγικό οξύ/mL γλεύκους</i>	<i>μg μηλικό οξύ/mL γλεύκους</i>	<i>μg ασκορβικό οξύ/mL γλεύκους</i>	<i>μg ηλεκτρικό οξύ/mL γλεύκους</i>	<i>μg φουμαρικό οξύ/mL γλεύκους</i>
B6	4744.13 ± 316.13 f	527.78 ± 65.49 fg	19.28 ± 1.68 a	2.62 ± 0.05 efg	88.28 ± 0.25 ef
B7	5956.64 ± 283.13 e	520.05 ± 33.45 fg	15.87 ± 1.22 ab	2.54 ± 0.03 fg	95.44 ± 1.62 def
B8	7169.15 ± 251.55 bcd	512.33 ± 16.25 fg	12.47 ± 0.84 bc	2.46 ± 0.04 g	102.05 ± 3.42 cde
B9	6881.74 ± 127.28 cd	1029.83 ± 29.73 de	12.46 ± 0.53 bc	3 ± 0.089 def	118.5 ± 1.47 b
B10	6503 ± 24.01 a	1122.84 ± 84.03 cd	14.71 ± 0.37 b	3.86 ± 0.17 c	115.57 ± 3.78 bc
E6	6756 ± 30.62 cd	922.94 ± 13.49 e	12.2 ± 0.56 bcd	4 ± 0.1 bc	113.51 ± 3.14 bc
E7	7328.6 ± 50.52 bc	1254.013 ± bc	15.67 ± 0.20 ab	4.7 ± 0.07 a	102.57 ± 2.04 cd
E8	7800.91 ± 111.91 ab	1833.65 ± 48.42 a	14.76 ± 1.29 b	4.58 ± 0.01 a	149.05 ± 1.8 a
E9	8548 ± 170.28 a	1236.413 ± 28.28 c	5.76 ± 0.05 ef	3.85 ± 0.05 c	105.84 ± 0.27 bcd

E10	8497.18 ± 101.67 a	693.55 ± 15.19 f	8.54 ± 0.36 de	3.11 ± 0.05 de	82.96 ± 4.86 fg
H6	8295.84 ± 76.99 a	505.56 ± 11.61 g	8.74 ± 0.47 cde	2.98 ± 0.18 def	70.19 ± 3.41 g
H7	7788.97 ± 21.63 ab	557.46 ± 20.85 fg	9.83 ± 0.3 cd	3.16 ± 0.07 d	40.09 ± 2.20 h
H8	7812.17 ± 43.41 ab	640.33 ± 6.03 fg	9.18 ± 0.18 cde	2.90 ± 0.03 defg	70.68 ± 2.86 g
H9	7842.65 ± 65.29 ab	290.19 ± 5.63 h	4.43 ± 0.33 f	1.85 ± 0.16 h	36.83 ± 0.04 h
H10	7825.89 ± 0 ab	1426.55 ± 22.05 b	12.29 ± 0.10 bcd	4.5 ± 0.13 ab	155.12 ± 2.49 a

Πίνακας 15: MEMONOMENA ΟΞΕΑ

Οι δείκτες a,b,c,d,e στην ίδια γραμμή υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή των μετρήσεων μεταξύ των ποικιλιών, σύμφωνα με το Student's T-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 E09 (8548 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) ενώ η αμέσως επόμενη τιμή καταγράφηκε στο E10 (8497,18 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά. Τις μικρότερες τιμές παρουσίασαν το B06 (4744,13 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) και το B07 (5956,64 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά.

Το κελί με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ είναι το E08 (1833,65 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα. Αντίθετα, το κελί με τη μικρότερη τιμή είναι το H09 (290,19 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά.

Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ καταγράφηκε στο B06 (19,28 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους), στο B07 (15,87 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους), E07 (15,67 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αντίθετα τη μικρότερη τιμή την παρουσίασε το H09 (4,43 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους), E09 (5,79 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά.

Το κελί με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ηλεκτρικό οξύ είναι το E07 (4,7 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) και E08 (4,58 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά. Η μικρότερη περιεκτικότητα καταγράφηκε στην H09 (1,85 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από το σύνολο των κελιών.

Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φουμαρικό οξύ καταγράφηκε στο H10 (155,12 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα κελιά. Αντίθετα, τις μικρότερες περιεκτικότητες είχαν το H07 (40,09 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) και το H09 (36,83 $\mu\text{g} / \text{mL}$ γλεύκους) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

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 το κελί με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών διαλυτών στερεών (σάκχαρα) ήταν το B06 (26,80 °Brix). Ο Ribereau-Gayon κ.ά. (2006), αναφέρουν ότι ο μέσος όρος περιεκτικότητας σακχάρων κυμαίνεται μεταξύ 16 και 24°Brix. Επομένως η σακχαροπεριεκτικότητα του B06 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 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) αφού τα περισσότερα κελιά είχαν τιμές πάνω από 3,8.

Οι μεγαλύτερες τιμές του βάρους των σταφυλών καταγράφηκαν στους τομείς E,H του αμπελώνα που βρίσκονται στο ανατολικό τμήμα του αμπελώνα, γεγονός που συμφωνεί και με τα υψηλότερα ποσοστά βάρους φλοιών και γιγάρτων των τομέων αυτών σε σχέση με τον Β. Τα μεγαλύτερα ποσοστά βάρους τόσο φλοιών όσο και γιγάρτων παρατηρήθηκαν στα νότια και των τριών τομέων. 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. 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).

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα, στο σύνολο των φαινολικών ενώσεων που μελετήθηκαν, οι μεγαλύτερες τιμές εμφανίστηκαν στους ανατολικούς τομείς του αμπελώνα (E,H) πιθανόν λόγω διαφορετικής σύστασης του εδάφους, η οποία ευνοεί την βιοσύνθεσή τους. Επιπλέον, η μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα απαντάται στο ανατολικό 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). Οι μεμονωμένες ανθοκυάνες εμφανίζουν μεγάλη παραλλακτικότητα μεταξύ των κελιών, ωστόσο η μαλβιδίνη, ο οξικός και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές στην νοτιοανατολική πλευρά του αμπελώνα (H06, H07, H08, H09, H010) και φαίνεται να έχουν θετική συσχέτιση με την κλίση του εδάφους.

Τα μεμονωμένα οξέα φαίνεται να παρουσιάζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση στους τομείς E,H όπου 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 χαμηλή σε αντίθεση με τα γίγαρτα που οι τιμές ήταν υψηλές.

Στα ολικά φλαβονοειδή των φλοιών οι τιμές παρουσίασαν μεγάλη διακύμανση (6,01-17,42 mg κατεχίνης/ gr v.i), με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν τόσο χαμηλές όσο και υψηλές συγκεντρώσεις. Οι τιμές των ολικών φλαβονοειδών στα γίγαρτα ήταν αρκετά χαμηλότερες 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 0,005εώς 0,039 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

- 1) http://www.minagric.gr/images/stories/docs/agrotis/Pollaplasiastiko_Yliko/nomothesia_pollaplasiastiko_yliko/kya39694_fek684_091192.pdf
- 2) ΚΟΥΡΑΚΟΥ - ΔΡΑΓΩΝΑ Σ., 1998. Θέματα Οινολογίας. Εκδ: Τροχαλία, Αθήνα, σελ. 10-25
- 3) ΚΟΤΣΕΡΙΔΗΣ Γ., 2005a. Σημειώσεις /Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας Ι, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, στο 7 σελ 6-10
- 4) ΣΤΑΥΡΑΚΑΚΗΣ Μ.Ν. 2013. Αμπελουργία. Εκδ. Τροπή, Αθήνα, 118-121, 209, 211, 228-235, 243
- 5) ΣΟΥΦΛΕΡΟΣ Ε. ΗΡ., 1997. Οινολογία. Επιστήμη και Τεχνογνωσία, Τόμος Ι. Θεσσαλονίκη, 66, 191, 205
- 6) 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
- 7) ΖΑΧΑΡΟΠΟΥΛΟΣ Χ., 2016. Επίδραση του υποκειμένου στην διακύμανση της συγκέντρωσης των αμινοξέων και φαινολικών συστατικών των ποικιλιών Σαββατιανό και Ασύρτικο – Μελέτη αμινοξέων και φαινολικού δυναμικού ορισμένων ελληνικών ποικιλιών οινοποιίας αμπέλου (*Vitis vinifera* L.). Μεταπτυχιακή Μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 8, 9, 37, 40, 41, 42
- 8) MULLINS M.G., BOUQUET A., WILLIAMS L.E., 1992. Biology of Horticultural crops. Biology of the grapevine. Press Syndicate of the University of Cambridge, στο 7 σελ. 9
- 9) KLIEWER W.M., 1970. Free amino acids and other nitrogenous fractions in wine grapes. J. Food Sci., 35: 17-21
- 10) ROUBELAKIS-ANGELAKIS A.K., 1991. Amino acid and protein metabolism in *Vitis* spp., στο International symposium on nitrogen in grapes and wine. Ed: Am. Soc. Enol. Vitic., 52-61
- 11) KLIEWER W.M. 1991. Methods for determining the nitrogen status of vineyard, στο International symposium on nitrogen in grapes and wine. Ed: Am. Soc. Enol. Vitic., 133-147

- 12) KRUEGER R., KLIEWER W.M., 1995. Arginine synthesis in grapevine leaves and berries: Diurnal and seasonal patterns, environmental and physiological influences. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46(1): 37-42
- 13) WINKLER A.J., COOK J.A., KLIEWER W.M., LIDER, L.A., 1974. *General Viticulture*. Ed: 2nd, University of California press, Berkeley, στο 7 σελ 22
- 14) ROUBELAKIS-ANGELAKIS A.K., KLIEWER W.M., 1978a. Changes in the activities of ornithine transcarbamylase and arginase, and concentration of nitrogenous substances during germination and seedling development of *Vitis vinifera* L. *Vitis*, 17: 370-385
- 15) LOVATT C.J., CHENG A.H., 1984. Application of commercial enzymes to measure the activity of the arginine pathway-urea cycle in intact cells. *Anal. Biochem.*, 142: 305- 311
- 16) ROUBELAKIS-ANGELAKIS A.K., KLIEWER W.M., 1978B. Enzymes of Krebs - Henseleit cycle in *Vitis vinifera* L. II. Arginosuccinate synthetase and lyase. *Plant Physiol.*, 62: 340-343
- 17) ΔΙΑΜΑΝΤΙΔΗΣ Χ.Γ., 1994a. Ο κύκλος του αζώτου, στο 7 σελ. 22
- 18) RAINS D.W., 1989. Plant tissue and protoplast culture: application to stress physiology and biochemistry, στο 7 σελ. 20
- 19) ALI G., SRIVASTAVA P.S., IQDAL M., 1999. Proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in regenerates grown under NaCl stress. *Biol. Plantarum*, 42: 89- 95
- 20) RHODES D., VERSLUES P.E., SHARP R.E., 1999. Role of amino acids in abiotic stress resistance, στο 7 σελ. 20
- 21) OZTURK L., DEMIR Y., 2002. In vivo and in vitro protective role of proline. *Plant Growth Reg.*, 38: 259-264
- 22) HSU S.Y., HSU Y.T., KAO C.H. 2003. The effect of polyethylene glycol on proline accumulation in rice leaves. *Biol. Plant.* 46: 73-78.
- 23) KISHOR P.B.K., SANGAM S., AMRUTHA R.N., SRI LAXMI P., NAIDU K.R., RAO K.R.S.S., RAO S., REDDY K.J., THERIAPPAN P., SREENIVASULU N., 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation,

- uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance, στο 7 σελ. 20
- 24) DELAUNEY A. J., VERMA D. P. S., 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.*, 4: 215–223
 - 25) CHIANG H.-H., DANDEKAR A. M., 1995. Regulation of proline accumulation in *Arabidopsis thaliana* (L) during development and in response to desiccation, στο 7 σελ. 21
 - 26) HARE P.D., CRESS W.A., VAN STADEN J., 1999. Proline synthesis and degradation: a model for elucidating stress- related signal transduction, στο 7 σελ. 21
 - 27) ZHU J. K., 2001. Cell signaling under salt, water and cold stresses. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 4: 401–406
 - 28) THOMASHOW M.F., 1999. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms, στο 7 σελ. 21
 - 29) KAVI-KISHOR P.B., SANGAMI S., AMRUTHA R.N., SRI LAXMI P., NAIDU K.R., RAO K.R.S.S., SREENATH RAO, REDDY K.J., THERIAPPAN P., SREENIVASULU N. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance, στο 7 σελ. 21
 - 30) YAN H., GANG L.Z., ZHAO C.Y., GUO W.Y., 2000. Effects of exogenous proline on the physiology of soybean plantlets regenerated from embryos in vitro and on the ultrastructure of their mitochondria under NaCl stress, στο 7 σελ. 21
 - 31) HUA B., GUO W.Y., 2002. Effect of exogenous proline on SOD and POD activity of soybean callus under salt stress, στο 7 σελ 21
 - 32) VAN HEESWIJCK R., STINES A.P., GRUBB J., SKRUMSAGER MOLLER I., HOJ P.B., 2001. Molecular biology and biochemistry of proline accumulation in developing grape berries, στο 7 σελ. 22
 - 33) BELL A.A., OUGH C.S., KLIEWER W.M., 1979. Effects on must and wine composition, rates of fermentation, and wine quality of nitrogen fertilization of

- Vitis vinifera var. Thompson seedless grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 30(2): 124-129
- 34) RENAUD S., DE LORGERIL M., 1992. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, 339(8808), 1523
- 35) BALASUNDRAM N., SUNDRAM K., SAMMAN S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1): 191–203
- 36) 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.
- 37) PIETTA P.G., 2000. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035-1042
- 38) ΑΘΑΝΑΣΙΟΥ Α., 2016. Μελέτη της χημικής σύστασης ερυθρών οίνων κατά την οξειδωτική τους ωρίμαση. *Μεταπτυχιακή Διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών*, 56,57
- 39) KALLITHRAKA S., TSOUTSOURAS E., TZOUROU E., LANARIDIS P., 2006. Principal phenolic compounds in Greek red wines. *Food Chemistry*, 99: 784–793
- 40) MASA A., VILANOVA M., POMAR F., 2007. Varietal differences among the flavonoid profile of white grape cultivars studied by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1164: 291–297
- 41) MATTIVI F., GUZZON R., VRHOVSEK U., STEFANINI M., VELASCO R., 2006. Metabolite Profiling of Grape: Flavonols and Anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 7692–7702
- 42) 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. *J. Food Compos. Anal.*, 19: 687–693.

- 43) TERRIER N., PONCET-LEGRAND C., CHEYNIER V., 2009. Flavanols, Flavonols and Dihydroflavonols. *Wine Chemistry and Biochemistry*, Chapter 9B. Ed: Moreno-Arribas M.V.-Polo M.C., 465,473
- 44) 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.). *Austr. J Grape Wine Res.*, 9: 110–121
- 45) KOMES D., BELSČAK-CVITANOVIC A., HORZIC D., RUSAK G., LIKIC S., BERENDIKA M., 2010. Phenolic Composition and Antioxidant Properties of Some Traditionally Used Medicinal Plants Affected by the Extraction Time and Hydrolysis. *Phytochem. Anal.*, 22: 172–180
- 46) CHEYNIER V., MOUTOUNET M., SARNI-MANCHADO P., 1998. Les composés phénolique Lavoisier press, *Enologie*, 123–162
- 47) WANG S.P., HUANG K.J., 2004. Determination of flavonoids by high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography*, 1032: 273–279
- 48) SU C., SINGLETON V., 1969. Identification of three flavan-3-ols from grapes. *Phytochemistry*, 8: 1553–1558
- 49) ΚΑΝΕΛΛΟΠΟΥΛΟΥ Ι.Α., 2015. Μελέτη του μέσου βαθμού πολυμερισμού ταννινών σε φλοιούς και γίγαρτα της ποικιλίας Αγιωργίτικο από τέσσερις υποζώνες της περιοχής Νεμέας για τα έτη 2012-2013-2014. *Μεταπτυχιακή Μελέτη*, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 13
- 50) CZOCHANSKA, Z., FOO L.Y., NEWMAN R.H., PORTER L.J., THOMAS W.A., JONES W.T., 1979. Direct proof of a homogeneous polyflavan-3-ol structure for polymeric proanthocyanidins, στο 55 σελ. 465
- 51) ΣΟΥΦΛΕΡΟΣ Ε.Η., 2000 *Οινολογία: επιστήμη και τεχνολογία*. Θεσσαλονίκη, στο 7 σελ. 38
- 52) KENNEDY J.A., JONES G.P., 2001. Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *J. Agric. Food Chem.*, 49(4): 1740–1746

- 53) DOWNEY M.O., HARVEY J.S., ROBINSON S.P., 2003. Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Aust J. of Grape and Wine Research*, 9(1): 15–27
- 54) PASTOR DEL RIO J.L., KENNEDY J.A., 2006. Development of proanthocyanidins in *Vitis vinifera*, L. cv. Pinot noir grapes and extraction into wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 57(2): 125–132
- 55) 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. *Am. J. Enol. Vitic.*, 52(2): 151–121
- 56) SOUQUET J.M., CHEYNIER V., BROSSAUD F., MOUTOUNET M., 1996. Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry*, 43(2): 509–512
- 57) RINALDI A., JOURDES M., TEISSEDE P. L., MOIO L., 2014. A preliminary characterization of Aglianico (*Vitis vinifera* L. cv.) grape proanthocyanidins and evaluation of their reactivity towards salivary proteins. *Food Chemistry*, 164: 142–149
- 58) 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
- 59) MAZZA G., MINIATI E., 1993. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. Ed: CRC, Boca Raton
- 60) 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. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 5348–5355
- 61) COSME F., RICARDO-DA SILVA J.M., LAUREANO O., 2009. Tannin profiles of *Vitis vinifera* L. cv. red grapes growing in Lisbon and from their monovarietal wines. *Food Chemistry*, 112: 197-204
- 62) KENNEDY J.A., MATTHEWS M.A., WATERHOUSE A.L., 2000. Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochemistry*, 55: 77-85

- 63) ROMEYER F., MACHEIX J.J., SAPIS J.C., 1986. Changes and importance of oligomeric procyanidins during maturation of grape seeds, στο 55 σελ. 472
- 64) ΚΑΛΛΙΘΡΑΚΑ Σ., 2016. Χημεία Οίνου, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- 65) SANTOS-BUELGA C., DE FREITAS V., 2009. Influence of Phenolics on Wine Organoleptic Properties. Wine Chemistry and Biochemistry, Chapter 9D. Ed: Moreno-Arribas M.V.-Polo M.C., 531-540
- 66) BROUILLARD R., CHSSAING S., FOUGEROUSSE A., 2003. Why are grape/fresh wine anthocyanins so simple and why is that red wine color lasts so long? Phytochemistry, 64: 1179-1186
- 67) ALCALDE-EON C., ESCRIBANO-BAILON M.T., SANTOS-BUELGA C., RIVAS-GONZALO J.C., 2006. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. Anal. Chim. Acta 563: 238–254
- 68) BALDI A., ROMANI A., MULINACCI N., VINCIERI F., CASETA B., 1995. HPLC/MS application to anthocyanins of *Vitis vinifera* L. J. Agric. Food Chem., 43: 2104–2109
- 69) VIDAL S., MEUDEC E., CHEYNIER V., SKOUROUMOUNIS G., HAYASAKA Y., 2004. Mass spectrometric evidence for the existence of oligomeric anthocyanins in grape skins. J. Agric. Food Chem. 52: 7144–7151
- 70) MONAGAS M., BARTOLOME B., 2009. Anthocyanins and Anthocyanin-Derived Compounds. Wine Chemistry and Biochemistry, Chapter 9A. Ed: Moreno-Arribas M.V.- Polo M.C.
- 71) ROGGERO J.P., COEN S., LARICE J.L., 1986. Etude comparative de la composition anthocyanique des cepages, στο 85 σελ 440
- 72) GONZALEZ-SAN JOSE M., SANTA MARIA G., DIEZ C., 1990. Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine-growing region and wine-making methods. J. Food Comp. Anal., 3: 54–66
- 73) VIVAS N.G., NONIER M.F., GUERRA C., VIVAS N., 2001. Anthocyanin in grape skins during maturation of *Vitis vinifera* L. cv. Caberent Sauvignon and Merlot Noir from different Bordeaux terroirs. J. Int. Sci. Vigne Vin 35: 149–156

- 74) ROGGERO J.P., COEN S., RAGONET B., 1986. High performance liquid chromatography survey on changes in pigment content in reopening grapes of Syrah. An approach to anthocyanin metabolism. *Am. J. Enol. Vitic.* 37: 77–83
- 75) ORTEGA MEDER M.D., RIVAS GONZALO J.C., VICENTE J.L., SANTOS BUELGA C., 1994. Differentiation of grapes according to the skin anthocyanin composition, στο 85 σελ. 441
- 76) YAMANE T., JEONG S.T., GOTO-YAMAMOTO N., KOSHITA Y., KOBAYASHI S., 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *Am. J. Enol. Vitic.* 57(1): 54-59
- 77) BROUILLARD R., 1982. Chemical structure of anthocyanins, στο 85 σελ. 441
- 78) 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
- 79) MONAGAS M., BARTOLOME B., GOMEZ-CORDOVES C., 2005. Updated Knowledge About the Presence of Phenolic Compounds in Wine. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45: 85 – 118
- 80) POZO-BAYON M.A., HERNANDEZ M.T., MARTIN-ALVAREZ P.J., POLO M.C., 2003. Study of low molecular weight phenolic compounds during the aging of sparkling wines manufactured with red and white grape varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 2089–2095
- 81) SINGLETON V.L., TIMBERLAKE C.F., LEA A.G.H., 1978. The phenolic cinnamates of white grapes and wine. *J. Sci. Food Agric.*, 29: 403–410
- 82) SOMERS T., VERETTE E., POCOCK K., 1987. Hydroxycinnamate esters of *Vitis vinifera*: Changes during white vinification, and effects of exogenous enzymic hydrolysis. *J. Sci. Food Agric.*, 40: 67–78
- 83) LANGCAKE P., 1981. *Physiol. Plant Pathol.*, 18, 213 στο 41 σελ.144
- 84) GUEBAILIA H.A., CHIRA K., RICHARD T., MABROUK T., FURIGA A., VITRAC X., MONTI, J.P., DELAUNAY J.C., MERILLON J.M. 2006. Hopeaphenol: The first resveratrol tetramer in wines from North Africa. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 9559–9564

- 85) BUIARELLI F., COCCIOLI F., JASIONOWSKA R., MEROLLE M., TERRACCIANO A., 2007. Analysis of some stilbenes in Italian wines by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rap. Commun. Mass Spectrom.*, 21: 2955–2964
- 86) TZAMOS E., 2007. *Φυτοπαθολογία, Βιοχημικοί μηχανισμοί αντοχής: Φυτοαλεξίνες*. Εκδ: Σταμούλης, 389
- 87) KALLITHRAKA S., MOHDALY A.A., MAKRIS D.P., KEFALAS P., 2005. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 18(5): 375-386
- 88) JEAN-DENIS J.B., PEZET R., TABACCHI R., 2006. Rapid analysis of stilbenes and derivatives from downy mildew-infected grapevine leaves by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Photoionisation Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1112: 263–268
- 89) LANDRAULT N., LARRONDE F., DELAUNAY J.C., CASTAGNINO C., VERCAUTEREN J., MERILLON J.M., GASC F., CROS G., TEISSEDRE P.L., 2002. Levels of stilbene oligomers and astilbin in French varietal wines and in grapes during Noble Rot development. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 2046–2052
- 90) VITRAC X., BORNET A., VANDERLINDE R., VALLS J., RICHARD T., DELAUNAY J.C., MERILLON, J.M., TEISSEDRE P.L., 2005. Determination of stilbenes (δ -viniferin, trans-astringin, transpiceid, cis- and trans-resveratrol, ϵ -viniferin) in Brazilian wines. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 5664–5669
- 91) VITRAC X., CASTAGNINO C., WAFFO-TEGUO P., DELAUNAY J.-C., VERCAUTEREN J., MONTI J.-P., DEFFIEUX G., MERILLON, J.M., 2001. Polyphenols newly extracted in red wine from Southwestern France by centrifugal partition chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 5934–5938
- 92) PRYCE R.J., LANGCAKE P., 1977. α -Viniferin: An antifungal resveratrol trimer from grapevines. *Phytochemistry*, 16: 1452–1454

- 93) BOSS P.K., DAVIES C., 2009. Molecular biology of anthocyanin accumulation in grape berries, *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*. Ed: Roubelakis-Angelakis K.A., 265-268
- 94) FORKMANN G., HELLER W., GRISEBACH H., 1980. Anthocyanin biosynthesis in flowers of *Matthiola incana*: flavanone 3- and flavonoid 3'-hydroxylases. *Z Naturforsch*, 35C: 691-695
- 95) STAFFORD H.A., LESTER H.H., 1982. Enzymic and nonenzymic reduction of (+)-dihydroquercetin to its 3,4-diol. *Plant Physiol* 70: 695-698
- 96) SAITO K., KOBAYASHI M., GONG Z., TANAKA Y., YAMAZAKI M., 1999. Direct evidence for anthocyanidin synthase as a 2-oxoglutarate-dependent oxygenase:molecular cloning and functional expression of cDNA from a red form of *Perilla frutescens*. *Plant J.*, 17: 181-189
- 97) LARSON R.L., COE E.H., 1977. Gene-dependent flavonoid glucosyltransferase in maize. *Biochem. Genet.*, 15: 153-156
- 98) MENTING J.G.T., SCOPES R.K., STEVENSON T.W., 1994. Characterization of flavonoid 3',5'-hydroxylase in microsomal membrane fraction of *Petunia hybrida* flowers. *Plant. Physio.*, 106: 633-642
- 99) MAZZUCA P., FERRANTI P., PICARIELLO E., CHIANESE G.L., ADDEO F., 2005. Mass spectrometry in the study of anthocyanins and their derivatives: differentiation of *Vitis vinifera* and hybrid grapes by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry. *J. Mass Spect.*, 40: 83-90
- 100) STRACK D., WRAY V., 1994. The anthocyanins. In: Harborne JB (ed) *The Flavonoids*. Chapman & Hall/CRC Press, Washington DC
- 101) MARRS K.A., 1996. The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 47: 127-158
- 102) MUELLER L.A., GOODMAN C.D., SILADY R.A., WALBOT V., 2000. AN9, a *petunia* glutathione S-transferase required for anthocyanin sequestration, is a flavonoid-binding protein. *Plant Physiol.*, 123: 1561-1570

- 103) WICKS A.S., KLIEWER W.M., 1983. Further investigations into relationships between anthocyanins, phenolics and soluble carbohydrates in grape berry skins. *Am. J. Enol. Vitic.*, 34: 114
- 104) 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
- 105) CREAMY L.L., COFFEE M., 1988. Phytoalexin production potential of grape berries. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 113:230-234
- 106) JEANDET P., BESSIS R., GAUTHERON B., 1991. The production of resveratrol (3,5,4' - trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *Am. J. Enol. Vitic.*, 42: 41-46
- 107) BAVARESCO L., PETEGOLLI D., CANTÙ E., FREGONI M., CHIUSA G., TREVISAN M., 1997. Elicitation and accumulation of stilbene phytoalexins in grapevine berries infected by *Botrytis cinerea*. *Vitis*, 36: 77-83
- 108) SOLEAS G.J., GOLDBERG D.M., DIAMANDIS E.P., KARUMANCHIRI A., YAN J., NG E., 1995. A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46: 346-352
- 109) SOLEAS G.J., GOLDBERG D.M., KARUMANCHIRI A., DIAMANDIS E.P., NG E., 1995. Influences of viticultural and oenological factors on changes in cis- and trans-resveratrol in commercial wines. *J. Wine Res.*, 6: 107-121
- 110) BAVARESCO L., FREGONI C., VAN ZELLER DE MACEDO BASTO GONCALVES M.I., VEZZULLI S., 2009. Physiology & molecular biology of grapevine stilbenes: An Update. *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*. Ed: Roubelakis-Angelakis K.A.
- 111) ROMERO-PÉREZ A.I., IBERN-GÓMEZ M., LAMUELA RAVENTOS R.M., DE LA TORRE-BORONAT M.C., 1999. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 1533-1536

- 112) PRICE S.F., BREEN P.J., VALLADO M., WATSON B.T., 1995. Cluster sun exposure and quercetin in pinot noir grapes and wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46: 187–194
- 113) SPAYD S., TARARA J., MEE D., FERGUSON J., 2002. Separation of Sunlight and Temperature effects on the Composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot Berries. *Am. J. Enol. Vitic.*, 53: 171–182
- 114) DOWNEY M.O., HARVEY J.S., ROBINSON S.P., 2004. The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes. *Aust. J. Grape Wine Res.*, 10: 55–73
- 115) OJEDA H., ANDARY C., KRAEVA E., CARBONNEAU A., DELOIRE A., 2002. Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *Am. J. Enol. Vitic.*, 53(4): 261-267
- 116) CONDE C., SILVA P., FONTES N., DIAS A.C.P., TAVARES R.M., SOUSA M.J., AGASSE A., DELROT S., GEROS H., 2007. Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. *Food* 1(1): 1-22
- 117) KELLER M., 2005. Grape ripening and determination of grape maturity. 33rd Annual New York Wine, Industry Workshop, 119-123
- 118) TANDONNET J.P., SOYER J.P., GAUDILLERE J.P., DECROOCQ S., BORDENAVE L., OLLAT N., 2008. Long term effects of nitrogen and water supply on conferred vigor and yield by SO₄ and Riparia Gloire de Montpellier rootstocks. *Journal international des Sciences de la Vigne et du Vin.*, 42(2): 89-98
- 119) GRAHAM R.D., 1983. Effects of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. *Adv. Bot. Res.* 10: 221-276
- 120) 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

- 121) BAVARESCO L., PEZZUTTO S., GATTI M., MATTIVI F. 2007. Role of the variety and some environmental factors in grape stilbenes. *Vitis*, 46: 57-61
- 122) COULOMB C., LIZZI, Y., COULOMB P.J., ROGGERO J.P., COULOMB P.O., AGULHON O., 1999. Le cuivre a-t-il un effet éliciteur? *Phytoma.*, 512: 41-46
- 123) ΚΡΙΜΠΙΑΣ Β.Δ., 1943. Ελληνική Αμπελογραφία, τόμος Ι. σελ 137, 161-162
- 124) ΣΤΑΥΡΑΚΑΚΗΣ Μ.Ν., 2015. Αμπελογραφία. Εκδ: Τροπή, σελ. 155
- 125) ΝΙΚΟΛΑΟΥ Ν.Α., 2012. Αμπελογραφία. Εκδ: Σύγχρονη Παιδεία, σελ 228-229
- 126) ΝΕΟΦΥΤΟΥ Σ., 2005. Αμπελογραφική περιγραφή ορισμένων ελληνικών ποικιλιών της αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) με τον κώδικα αμπελογραφικής περιγραφής του Ο.Ι.Β. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σελ. 107
- 127) OUGH C.S., 1969. Rapid determination of proline in grapes and wine. *J. Food Sci.*, 34: 228-30
- 128) ROCKENBACH I.I., GONZAGA L.V., RIZELIO V.M., DE SOUZA SCHMIDT GONÇALVES A.E., GENOVESE M.I., FETT R., 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. *Food Research International*, 44: 897–901
- 129) RISTIC R., ILAND P.G., 2005. Relationships between seed and berry development of *Vitis Vinifera* L. cv Shiraz: Developmental changes in seed morphology and phenolic composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 11: 43–58
- 130) SARNECKIS C., DAMBERGS R.G., JONES P., MERCURIO M., HERDERICH M.J., SMITH P., 2006. Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimized tool for grape and wine analysis. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12(1): 39-49

- 131) SMITH P.A., 2005. Precipitation of tannin with methyl cellulose allows tannin quantification in grape and wine samples. Technical Review. The Australian Wine Research Institute, Adelaide, Australia, 158: 3-7
- 132) ΚΑΡΚΑΛΟΥΣΟΣ Π., ΓΕΩΡΓΙΟΥ Ζ., ΚΡΟΥΠΗΣ Χ., ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ Α., ΠΛΑΓΕΡΑΣ Π., ΣΠΥΡΟΠΟΥΛΟΣ Β., ΤΣΟΤΣΟΥ Γ., ΦΟΥΝΤΖΟΥΛΑ Χ., 2015. Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (απόδοσης) στην κλινική χημεία. Βασικές αρχές και παραδείγματα. Εργαστηριακές ασκήσεις κλινικής χημείας. Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών, 8: 219-257
- 133) MYLONA A.E., BIMPILAS A., TSIMOGIANNIS D., OREOPOULOU V., 2013. Characteristic Phenolic Composition of the Greek Variety Mavrokountoura Grape and Wine. Food Science and Biotechnology, 22(6): 1515-1522
- 134) 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
- 135) IVANOVA V., STEFOVA M., CHINNICI F., 2010. Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. Journal of the Serbian chemical society, 75(1): 45–59
- 136) APOSTOLOU A., STAGOS D., GALITSIU E., SPYROU A., HAROUTOUNIAN S., PORTESIS N., TRIZOGLU I., HAYES A.W., TSATSAKIS A.M., KOURETAS D., 2013. Assessment of polyphenolic content, antioxidant activity, protection against ROS-induced DNA damage and anticancer activity of *Vitis vinifera* stem extracts. Food and Chemical Toxicology, 61: 60–68
- 137) GUENDEZ R., KALLITHRAKA S., P. MAKRIS D.P., KEFALAS P., 2005. Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity. Food Chemistry, 89: 1–9

- 138) 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
- 139) BUTKHUP L., CHOWTIVANNAKUL S., GAENSAKOO R., PRATHEPHA P., SAMAPPITO S., 2010. Study of the Phenolic Composition of Shiraz Red Grape Cultivar (*Vitis vinifera* L.) Cultivated in North-eastern Thailand and its Antioxidant and Antimicrobial Activity. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 31(2): 89-98
- 140) ΤΣΑΠΑΡΑΣ Δ.Ι., 2013. Μελέτη της επίδρασης της λίπανσης καλίου στα φαινολικά συστατικά των ραγών της ποικιλίας Αγιωργίτικο για το έτος 2010. Μεταπτυχιακή Μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. 82,85
- 141) CHIOU A., PANAGOPOULOU E.A., GATZALI F., DE MARCHI S., KARATHANOS V.T., 2014. Anthocyanins content and antioxidant capacity of Corinthian currants (*Vitis vinifera* L., var. Apyrena). *Food Chemistry*, 146: 157–165
- 142) KYRALEOU M., KALLITHRAKA S., KOUNDOURAS S., CHIRA K., HAROUTOUNIAN S., SPINTHIROPOULOU H., KOTSERIDIS Y., 2015. Effect of vine training system on the phenolic composition of red grapes (*Vitis vinifera* L. cv. Xinomavro). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 49: 71-84
- 143) KYRALEOU M., PAPPAS C., VOSKIDI E., KOTSERIDIS Y., BASALEKOU M., TARANTILIS P.A., KALLITHRAKA S., 2015. Diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy for simultaneous quantification of total phenolics and condensed tannins contained in grape seeds. *Industrial Crops and Products*, 74: 784–791
- 144) ANASTASIADI M., PRATSINIS H., KLETSAS D., SKALTSOUNIS A.L., HAROUTOUNIAN S., 2010. Bioactive non-coloured polyphenols content of grapes, wines and vinification by-products: Evaluation of the antioxidant activities of their extracts. *Food Research International*, 43: 805–813

- 195) Καννελοπούλου Ι.Α. Μελέτη του μέσου βαθμού πολυμερισμού ταννινών σε φλοιούς και γίγαρτα της ποικιλίας Αγιωργίτικο,2015.
- 196) Jeandet et al., 1995;Bourhis et al., 1996
- 197) Watson, B. 2003. Evaluation of winegrape maturity.p. 235-245.
- 198) Henrique Luis Silva de Noronha.The effect of high-temperature on sugar transport in grape cells,2010.Universidade do Minho
- 199) Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols, F. BROSSAUD, VERONIQUE CHEYNIER and ANN C.NOBLE,2001, UC DAVIS.