



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ & ΑΛΚΟΟΛΟΥΧΩΝ ΠΟΤΩΝ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑ-ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Επίδραση της ορμόνης του αμψισικού οξέος και των φυτοδιεγερτών  
χιτοζάνη και βενζοθειαδιαζόλη στη χημική σύνθεση και τα οργανοληπτικά  
χαρακτηριστικά των οίνων από την ποικιλία Μούχταρο

**Αικατερίνη Γ. Αργυροπούλου**

Επιβλέπων Καθηγητής:  
Κοτσερίδης Γεώργιος, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ  
2021**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΙΝΟΛΟΓΙΑΣ & ΑΛΚΟΟΛΟΥΧΩΝ ΠΟΤΩΝ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Επίδραση της ορμόνης του αμπισισικού οξέος και των φυτοδιεγερτών χιτοζάνη και βενζοθειαδιαζόλη στη χημική σύνθεση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων από την ποικιλία Μούχταρο

“Effect of abscisic acid hormone and phytoelicitors chitosan and benzothiadiazole on the chemical composition and organoleptic characteristics of wines from the Mouchtaro variety”

**Αικατερίνη Γ. Αργυροπούλου**

Εξεταστική Επιτροπή:

Κοτσερίδης Γεώργιος, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Καλλίθρακα Σταματίνα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

Κουνδουράς Στέφανος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΑΠΘ

## **Επίδραση της ορμόνης του αμπισισικού οξέος και των φυτοδιεγερτών χιτοζάνη και βενζοθειαδιαζόλη στη χημική σύνθεση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων από την ποικιλία Μούχταρο**

*ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων: Γαλακτοκομία-Οινολογία  
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου  
Εργαστήριο Οινολογίας & Αλκοολούχων Ποτών*

### **Περίληψη**

Στην παρούσα εργασία μελετάται η χημική σύνθεση, η όψη και η οσμή των ερυθρών οίνων από την ποικιλία Μούχταρο του Κτήματος Μουσών υπό την επίδραση του αμπισισικού οξέος (ABA), της βενζοθειαδιαζόλης (BTH) και της χιτοζάνης (CHT). Μελετάται επίσης η φαινολική ωρίμανση των σταφυλιών. Το ABA είναι μία φυτοορμόνη που συναντάται ως trans-cis μίγμα στο αμπέλι, όμως μόνο το cis ισομερές συμβάλλει στην ταχύτερη ανάπτυξη των ανθοκυανών. Ο S-μεθυλεστέρας του 7 καρβοθειικού οξέος της βενζο-1,2,3-θειαδιαζόλης (BTH) είναι ένας φυτοδιεγέρτης ο οποίος ωθεί το φυτό να ενεργοποιήσει τους μηχανισμούς άμυνάς του. Η χιτοζάνη είναι ένα αποακετυλιωμένο παράγωγο της χιτίνης και εντοπίζεται στα κελύφη των καρκινοειδών αρθροπόδων ζώων. Στις ράγες πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις για τον προσδιορισμό των ανθοκυανών και των φαινολικών ουσιών, εκχυλισιμότητας των ανθοκυανών και συμμετοχής των ταννινών των φλοιών και των γιγάρτων στα φαινολικά συστατικά των ραγών. Στους οίνους πραγματοποιήθηκαν όλες οι κλασσικές αναλύσεις (pH, ολική και πτητική οξύτητα, αλκοολικός τίτλος). Έλαβαν χώρα επίσης μετρήσεις για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φαινολικών ουσιών, των ανθοκυανών και των ταννινών. Συγκεκριμένα, οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν: ένταση και απόχρωση, προσδιορισμός φαινολικών ουσιών και ολικές ανθοκυάνες. Επιπλέον, προσδιορίστηκε το προφίλ των ανθοκυανών των οίνων με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Τέλος, στους οίνους πραγματοποιήθηκε οργανοληπτική αξιολόγηση με τη βοήθεια πάνελ 10 ατόμων. Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των οίνων τόσο ως προς τις χημικές τους αναλύσεις, όσο και ως προς την οργανοληπτική τους αξιολόγηση.

**Επιστημονική περιοχή:** Ερυθρός οίνος Μούχταρο

**Λέξεις κλειδιά:** Μούχταρο, φυτοορμόνη, φυτοδιεγέρτης, αμπισισικό οξύ, βενζοθειαδιαζόλη, χιτοζάνη

**Effect of abscisic acid hormone and phytoelicitors chitosan and benzo-thiadiazole on the chemical composition and organoleptic characteristics of wines from the Mouchtaro variety**

*MSc Current Food Technology: Dairy Research-Enology  
Department of Food Science & Human Nutrition  
Laboratory of Enology & Alcoholic Drinks*

**Abstract**

In the present work, the chemical composition, appearance and smell of red wines from the Mouchtaro variety of the Muses Estate under the influence of abscisic acid (ABA), benzothiadiazole (BTH) and chitosan (CHT) are studied. Phenolic maturity is also studied. ABA is a phytohormone found as a trans-cis blend in the vineyard, but only the cis isomer contributes to the faster growth of anthocyanins. Benzo-1,2,3-thiadiazole (BTH) 7-carboxylic acid S-methyl ester is a phytoelicitor that stimulates the plant to activate its defense mechanisms. Chitosan is a deacetylated derivative of chitin and is found in the shells of crustacean arthropods. Analysis were performed on the clusters to determine anthocyanins and phenolics, anthocyanin extraction and the participation of skin and seed tannins in the phenolic components. All the classical analysis were performed on the wines (pH, total and volatile acidity, alcoholic strength). Measurements were also made to quantify phenolic substances, anthocyanins and tannins. Specifically, the analysis performed were: intensity and hue, determination of phenolic substances and total anthocyanins. In addition, the anthocyanin profile of the wines was determined using high performance liquid chromatography (HPLC). Finally, the wines were organoleptically evaluated by a panel of 10 people. The results of the experiment showed statistically significant differences between the wines both in terms of their chemical analyzes and in terms of their organoleptic evaluation.

**Scientific area:** Red wine Mouchtaro

**Keywords:** Mouchtaro, phytohormone, phytoelicitor, abscisic acid, benzothiadiazole, chitosan

## Ευχαριστίες

Η παρούσα μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οινολογίας και Αλκοολούχων Ποτών του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές οι οποίοι με δίδαξαν αποτελεσματικά μία επιστήμη άγνωστη προς εμένα και συνέβαλαν στο να την αγαπήσω.

Τα εύσημα ανήκουν στον κύριο Γιώργο Κοτσερίδη, Αναπληρωτή Καθηγητή και ταυτόχρονα επιβλέποντα της παρούσας εργασίας. Τον ευχαριστώ θερμά που μου παρείχε γνώσεις για το πώς βελτιώνεται η τεχνολογία του οίνου, που με δέχτηκε στην ομάδα του και μου ανέθεσε ένα τόσο σημαντικό μέρος της δουλειάς του. Ακόμα, ευχαριστώ την κυρία Σταματίνα Καλλίθρακα που εμπλούτισε τις γνώσεις μου σε θέματα Χημείας και τον κύριο Στέφανο Κουνδουρά χάρη στον οποίο έμαθα πως το αμπέλι είναι το πιο σημαντικό για την παραγωγή ενός καλού οίνου.

Η ευγνωμοσύνη δεν είναι αρκετή ως λέξη για να περιγράψει αυτά που νιώθω για τον μεταδιδακτορικό ερευνητή Δημήτρη-Ευάγγελο Μηλιόρδο. Με καλωσόρισε στο Εργαστήριο Οινολογίας, με βοήθησε όσο κανείς άλλος στη ζωή μου, ήταν παρών σε κάθε μου πρόβλημα και απορία. Αισθάνομαι ιδιαίτερος τυχερή που γνώρισα και συνεργάστηκα με έναν τέτοιον άνθρωπο γεμάτο ευγένεια, παιδεία και φιλότιμο. Επιπλέον, ένα μεγάλο ευχαριστώ στα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου: την υπεύθυνη κυρία Νίκη Προξενιά, τον μεταδιδακτορικό ερευνητή Νίκο Κοντουδάκη, τη διδακτορική φοιτήτρια Μαριάννα Ξενιά, τον οινολόγο Σταύρο Ταμπούκο καθώς και μεταπτυχιακούς/προπτυχιακούς φοιτητές. Ο καθένας τους ξεχωριστά μου προσέφερε βοήθεια, με συμβούλεψε και έκανε τις ώρες του εργαστηρίου να περνάνε διασκεδαστικά.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου και τους φίλους μου που με στήριζαν καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και δε σταμάτησαν ποτέ να πιστεύουν σε μένα.

*«Παλιό ξύλο να καις,  
παλιό κρασί να πίνεις,  
παλιούς φίλους να εμπιστεύεσαι  
και παλιούς συγγραφείς να διαβάζεις»*

*Francis Bacon*

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	3
1. Εισαγωγή.....	8
1.1 Ποικιλία Μούχταρο.....	8
1.2 Μέρη της ράγας .....	9
1.3 Στάδια ανάπτυξης/ωρίμανσης της σταφυλής .....	10
1.4 Ερυθρή οινοποίηση.....	11
1.5 Τα επιμέρους συστατικά του οίνου .....	13
1.5.1 Οργανικά οξέα .....	13
1.5.1.1 Τρυγικό οξύ .....	13
1.5.1.2 Μηλικό οξύ.....	14
1.5.1.3 Κιτρικό οξύ .....	14
1.5.1.4 Οξικό οξύ.....	15
1.5.1.5 Ηλεκτρικό οξύ.....	15
1.5.1.6 Γαλακτικό οξύ.....	15
1.5.2 Φαινολικές ενώσεις .....	16
1.5.3 Φλαβονοειδή .....	16
1.5.4 Φλαβονόλες.....	17
1.5.5 Ανθοκυάνες.....	17
1.5.6 Ταννίνες.....	19
1.5.6.1 Υδρολυόμενες ταννίνες.....	19
1.5.6.2 Συμπυκνωμένες ταννίνες .....	19
1.5.7 Μη φλαβονοειδή .....	20
1.5.8 Πτητικά συστατικά.....	21
1.6 Ορμόνες και φυτοδιεγέρτες.....	23
1.6.1 Αμπισικό οξύ (ABA).....	23
1.6.2 Βενζοθειαδιαζόλη (BTH) .....	26
1.6.3 Χιτοζάνη (CHT) .....	29
Σκοπός πειράματος.....	31
2. Πειραματικός Σχεδιασμός.....	32
Στατιστική Ανάλυση .....	34
2.1 Αναλύσεις στα δείγματα των ραγών .....	34
2.1.1 Μέθοδος προσδιορισμού της εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών, της περιεκτικότητας ταννινών και του φαινολικού δυναμικού των ραγών.....	34
2.2 Αναλύσεις Οίνων.....	36
Βασικές αναλύσεις με κλασσικές μεθόδους .....	36

2.2.1 Προσδιορισμός ολικής-ενεργούς οξύτητας.....	36
2.2.2 Μέτρηση πτητικής οξύτητας.....	36
2.2.3 Αλκοολικός τίτλος .....	37
2.2.4 Προσδιορισμός χρωματικών χαρακτηριστικών.....	37
2.2.5 Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών .....	38
2.2.5.1 Δείκτης φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ) .....	38
2.2.5.2 Μέθοδος Folin-Ciocalteu .....	38
2.2.5.3 Προσδιορισμός ολικών ανθοκυανών .....	39
2.2.5.4 Προσδιορισμός ταννινών.....	39
2.2.5.4.1 Ταννίνες BSA (Bovine Serum Albumin) .....	39
2.2.5.4.2 Ταννίνες MCP (Methyl Cellulose Precipitable).....	40
2.2.5.5 Προσδιορισμός ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC....	41
2.3. Οργανοληπτική αξιολόγηση .....	43
Στατιστική ανάλυση .....	44
3. Αποτελέσματα.....	45
3.1 Αποτελέσματα αναλύσεων στις ράγες .....	45
3.2 Αποτελέσματα αναλύσεων των παραγόμενων οίνων.....	51
3.2.1 Ολική οξύτητα-pH .....	51
3.2.2 Αλκοολικός τίτλος .....	53
3.2.3 Πτητική οξύτητα.....	54
3.2.4 Χρωματικά χαρακτηριστικά .....	55
3.2.5 Φαινολικά συστατικά.....	56
3.2.5.1 Δείκτης φαινολικών ουσιών .....	56
3.2.5.2 Folin ciocalteu .....	57
3.2.6 Ολικές ανθοκυάνες .....	58
3.2.7 Συγκέντρωση ταννινών .....	59
3.2.8 Ανθοκυάνες με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC .....	61
3.2.9 Οργανοληπτική αξιολόγηση .....	64
4. Συμπεράσματα.....	68
4.1 Συμπεράσματα ραγών .....	68
4.2 Συμπεράσματα οίνων .....	70
Βιβλιογραφία .....	76
Παράρτημα .....	82

## 1. Εισαγωγή

### 1.1 Ποικιλία Μούχταρο

Το Μούχταρο είναι μια ερυθρή ποικιλία που έχει τις ρίζες της στη Στερεά Ελλάδα και έχει αναβιώσει χάρη στο Κτήμα Μουσών από την Άσκη της Θήβας. Ο πατέρας της Αμπελουργίας, Ησίοδος, εκτός του ότι καταγόταν από την Κοιλάδα των Μουσών, ήταν ο πρώτος που αναφέρθηκε στην ποικιλία αυτή και μάλιστα τη συσχέτισε με τον Βίβλινο οίνο. Αποτελεί πυκνόραγη ποικιλία και παράγει οίνους με βαθύ ρουμπινί χρώμα και με αρώματα κόκκινων φρούτων, βανίλιας και καραμέλας ([www.heteroclitto.gr](http://www.heteroclitto.gr)).



*Εικόνα 1. Ποικιλία Μούχταρο*

Πηγή: Προσωπικές φωτογραφίες (Μηλιόρδος Δημήτριος)

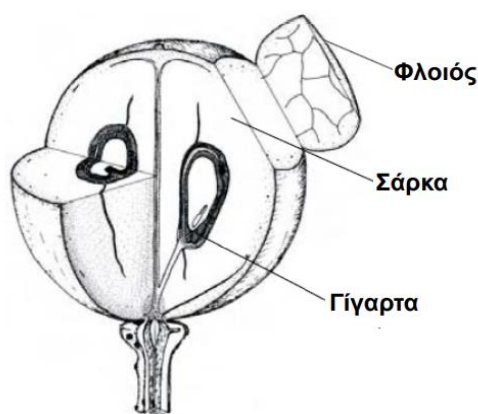
Οι αμπελώνες του Κτήματος Μουσών έχουν γραμμικό σύστημα διαμόρφωσης και πυκνό σύστημα φύτευσης. Οι δύο αυτοί παράγοντες έχουν ως αποτέλεσμα μικρότερες αποδόσεις ανά στρέμμα και συνεπώς καλύτερες ποιότητες σταφυλιών. Επίσης το υψόμετρο κυμαίνεται στα 550 με 600 μέτρα. Το έδαφος στην περιοχή της Κοιλάδας των Μουσών εκτός του ότι είναι γόνιμο, έχει και μικτή σύσταση με μεγάλο εύρος. Μπορεί να είναι από αμμοπηλώδες έως αργιλώδες δίνοντας το πλεονέκτημα παραγωγής οίνων εξαιρετικής ποιότητας και με πλούσιο αρωματικό προφίλ. Η κλίση του εδάφους επιτρέπει την καλή αποστράγγισή του από τα νερά του χειμώνα. Ο ήλιος είναι άφθονος και οι κρύες μάζες αέρα που κατεβαίνουν από τον Ελικώνα διαφοροποιούν σημαντικά τις θερμοκρασίες μέρας και νύχτας. Οι κρύοι χειμώνες και τα ζεστά καλοκαίρια αποτελούν το μικροκλίμα της περιοχής. Παράλληλα επικρατεί ήπιο ηπειρωτικό κλίμα χάρη στον ποταμό Πέρμισο ο οποίος προσφέρει και την απαραίτητη υγρασία κατά την ανάπτυξη του φυτού ([www.oinoxooos.net](http://www.oinoxooos.net), [www.musesestate.com](http://www.musesestate.com)). Η μέση στρεμματική απόδοση της συγκεκριμένης ερυθρής ποικιλίας είναι 1000 με 1300 kg/ στρέμμα.



## 1.2 Μέρη της ράγας

Η ράγα απαρτίζεται από το φλοιό, τη σάρκα και τα γίγαρτα. Ο φλοιός περιέχει τις ανθοκυάνες και αποτελείται από:

1. Την εφυμενίδα, η οποία καλύπτει το εξωτερικό μέρος του φλοιού. Περιέχει κηρώδεις ουσίες οι οποίες δρουν προστατεύοντας τη ράγα, καθώς παρεμποδίζουν την εξάτμιση του χυμού, απομακρύνουν την βροχή και συγκρατούν τους ζυμομύκητες παρέχοντάς τους θρεπτικές ουσίες.
2. Την επιδερμίδα, η οποία περιέχει αρωματικές και πρόδρομες αρωματικές ενώσεις.
3. Το υπόδερμα το οποίο περιλαμβάνει 6-10 στοιβάδες κυττάρων. Οι πρώτες 2-3 στοιβάδες περιέχουν ανθοκυάνες, φλαβονόλες, ταννίνες, αδιάλυτες πηκτίνες, κυτταρίνη και πρωτεΐνες.



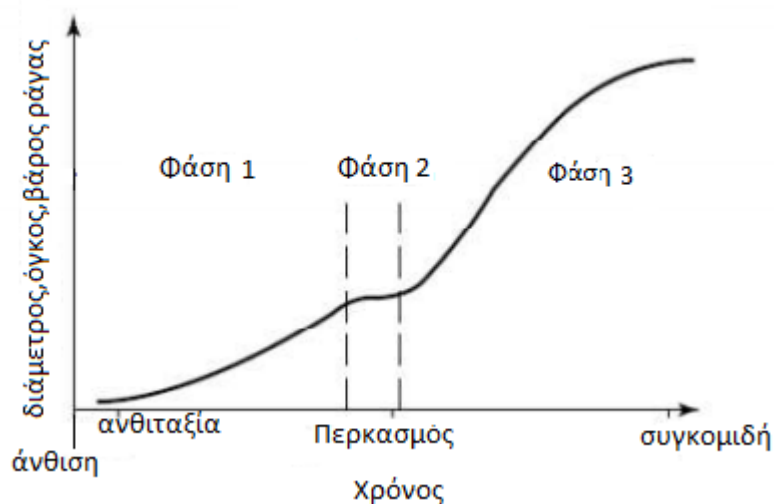
*Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση ράγας,  
Πηγή: Κουνδουράς, 2019*

Η σάρκα αποτελείται από 20-25 στοιβάδες πενταγωνικών και εξαγωνικών κυττάρων με λεπτά και εύθραυστα τοιχώματα. Αποδίδει το γλεύκος το οποίο περιέχει νερό, σάκχαρα, οργανικά οξέα και αρωματικές ενώσεις.

Τέλος τα γίγαρτα είναι τα όργανα αναπαραγωγής της αμπέλου (Κοτσερίδης, 2019). Περιέχουν το έμβρυο, την αμβουμίνη και 3 καλύμματα. Το εξωτερικό κάλυμμα είναι πλούσιο σε ταννίνες και είναι υψίστης σημασίας για την οινοποίηση (Κουνδουράς, 2019). Η σάρκα του γιγάρτου είναι πλούσια σε έλαια και σε λιπαρά οξέα με 18C όπως το ελαϊκό οξύ, το λινολεϊκό οξύ και το λινολενικό οξύ προσδίδοντας στους οίνους χορτώδη αρώματα. Γι'αυτό και είναι πρόπον να αποφεύγεται η έκθλιψή τους κατά τη διάρκεια της οινοποίησης (Κοτσερίδης, 2019). Οι ταννίνες συναντώνται στους φλοιούς και στα γίγαρτα και συμβάλλουν στην αίσθηση της στυπτικότητας καθώς και στη σταθερότητα του χρώματος και σώματος ενός ερυθρού κρασιού (Deluc *et al.*, 2007).

### 1.3 Στάδια ανάπτυξης/ωρίμανσης της σταφυλής

Οι ράγες, καθώς αναπτύσσονται, υπόκεινται σε φυσικές και βιοχημικές μεταβολές μέχρι τη βέλτιστη ωρίμανσή τους οι οποίες μπορούν να χωριστούν σε τρεις κύριες φάσεις.



*Εικόνα 3.* Στάδια ωρίμανσης της σταφυλής σε σχέση με τη διάμετρο, τον όγκο και το βάρος της ράγας, Πηγή: Κοτσερίδης, 2019

Η αρχική φάση ξεκινά 2 εβδομάδες μετά την άνθιση και συνεχίζεται ως το τέλος αυτής της φάσης. Παρατηρείται έντονη κυτταροδιαίρεση και αύξηση του μεγέθους των κυττάρων. Διαρκεί συνολικά 40-60 ημέρες και αποτελεί το στάδιο της πράσινης σκληρής ράγας (Κοτσερίδης, 2019). Ξεκινούν επίσης να συντίθενται τρυγικό και μηλικό οξύ, ταννίνες και υδροξυκιναμωμικό οξύ (Deluc *et al.*, 2007).

Στη δεύτερη φάση γνωστή και ως φάση υστέρησης, δεν παρατηρείται αύξηση μεγέθους. Τα σάκχαρα αρχίζουν να αφομοιώνονται λίγο πριν τον περκασμό, ο οποίος σηματοδοτεί την έναρξη της τρίτης φάσης (Deluc *et al.*, 2007). Διαρκεί 7-10 ημέρες. Στις έγχρωμες ποικιλίες εμφανίζεται το χρώμα, ενώ στις λευκές ο φλοιός γίνεται πιο διάφανος και «γυαλίζει». Η οξύτητα αποκτά το μέγιστο επίπεδο και τα γίγαρτα το μέγιστο μέγεθος. Προς το τέλος της περιόδου αυτής μειώνεται η σύνθεση ρυθμιστών της αύξησης και αυξάνεται το αμπισικό οξύ (Κοτσερίδης, 2019).

Η τρίτη φάση διαρκεί 35-55 μέρες μέχρι την τεχνολογική ωριμότητα της σταφυλής. Ο φλοιός γίνεται πιο ελαστικός και οι ράγες πιο μαλακές λόγω διαλυτοποίησης των πηκτινών των κυτταρικών τοιχωμάτων. Παρατηρείται δε διόγκωση των ραγών λόγω συσσώρευσης σακχάρων, κατιόντων και αμινοξέων (Κοτσερίδης, 2019). Τα επίπεδα των σακχάρων -κυρίως της γλυκόζης και της φρουκτόζης- αυξάνονται, ενώ εκείνα των

οργανικών οξέων μειώνονται. Πληθώρα ενώσεων που συμβάλλουν στο άρωμα συντίθενται στο τέλος αυτής της φάσης, αν και πηγάζουν από τα τερπενοειδή. Λαμβάνουν χώρα οξειδωτικές διαδικασίες με αποτέλεσμα οι ταννίνες να ενώνονται με το εξωτερικό των γιγάρτων, ελαττώνοντας έτσι τον στυπτικό τους χαρακτήρα. Οι δε ταννίνες των φλοιών πολυμερίζονται διότι αρχίζουν να αλληλεπιδρούν και να συνδέονται τόσο με τις ανθοκυάνες όσο και μεταξύ τους (Deluc *et al*, 2007).

Στη δεύτερη και τρίτη φάση συμβαίνουν τα εξής φαινόμενα:

- Διόγκωση των ραγών, λόγω διείδυσης νερού και διαστολής των κυττάρων. Το μέγιστο μέγεθος αποκτάται πριν την πλήρη ωρίμανση.
- Συσσώρευση σακχάρων τα οποία προέρχονται από το ξυλώδες μέρος του φυτού και από τα φύλλα του φυτού. Είναι γνωστό ότι μέσω της φωτοσύνθεσης το νερό μέσω του διοξειδίου του άνθρακα και της ηλιακής ενέργειας μετατρέπεται σε οργανικές ενώσεις όπως σάκχαρα, οξέα, αμινοξέα. Η επαρκής έκθεση του φυτού στον ήλιο επιτυγχάνεται μέσω της ανατολικής εγκατάστασης του αμπελώνα και της δημιουργίας βλαστικού τοίχους προκειμένου τα φύλλα να μην καλύπτονται μεταξύ τους.
- Διαβαθμίσεις στη συγκέντρωση των οξέων (κυρίως μηλικού και τρυγικού). Από τη μία μειώνεται διότι τα κύτταρα του φυτού απαιτούν ενέργεια την οποία λαμβάνουν από την καύση των οξέων. Επίσης η εισροή νερού προκαλεί την αραιώσή τους και η μετακίνηση των βάσεων του εδάφους την εξουδετέρωσή τους. Από την άλλη μεριά, η συγκέντρωση των οξέων αυξάνεται λόγω σύνθεσης στα φύλλα και λόγω μεταβολισμού των σακχάρων -δευτερεύον προϊόν αποτελούν τα οξέα.
- Εξέλιξη αζωτούχων ενώσεων. Εκείνες με τη μορφή κατιόντος αμμωνίου μειώνονται ενώ τα αμινοξέα αυξάνονται.
- Αλλαγές στα κυτταρικά τοιχώματα. Οι ράγες γίνονται πιο μαλακές λόγω διαλυτοποίησης των πηκτινών των κυτταρικών τοιχωμάτων.
- Σχηματισμός χρωστικών στο υπόδημα του φλοιού (Κοτσερίδης, 2019).

#### **1.4 Ερυθρή οινοποίηση**

Η επαφή των ραγών με το γλεύκος αποτελεί το πιο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό παραγωγής ερυθρού οίνου. Η καλή ποιότητα των σταφυλιών παίζει σημαντικό ρόλο και εξαρτάται μεταξύ άλλων και από τις κλιματολογικές συνθήκες, την ηλικία της αμπέλου, το terroir και τις συνθήκες υγιεινής. Γι' αυτό και είναι απαραίτητη η πλήρης φαινολική

ωριμότητα ώστε τα φαινοτικά να μην προσδίδουν έναν «άγουρο» χαρακτήρα οργανοληπτικά στους οίνους. Τα βασικά στάδια από την παραλαβή ερυθρών σταφυλιών έως την οινοποίησή τους είναι:

α) Μηχανικές επεξεργασίες συγκομιδής (σπάσιμο, αποβοστρύχωση και πλήρωση δεξαμενής). Με το σπάσιμο, απελευθερώνεται η σάρκα και ο χυμός της ράγας, ενώ παράλληλα επιτυγχάνεται αερισμός και διασπορά των γηγενών ζυμομυκήτων στο γλεύκος. Η ζύμωση επιταχύνεται και η θερμοκρασία αυξάνεται. Με την αποβοστρύχωση επίσης μειώνεται ο απαιτούμενος όγκος πλήρωσης της δεξαμενής. Οι βόστρυχες από μόνοι τους περιέχουν λίγα σάκχαρα, νερό και δεν είναι πολύ όξινοι, οπότε με την απομάκρυνσή τους αυξάνονται η οξύτητα και το περιεχόμενο σε αλκοόλη. Η ξυλώδης επιφάνειά τους προσροφά τις ανθοκυάνες του φλοιού, επομένως υπό την απουσία τους αυξάνεται η ένταση του χρώματος. Κατά τη διάρκεια της πλήρωσης της δεξαμενής, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί η κατάλληλη δόση και είδος ζύμης και να πραγματοποιηθεί επαρκής θείωση. Οι δεξαμενές είναι απαραίτητο να έχουν εναπομείναντα χώρο περίπου 20% του όγκου τους επειδή θα παραχθεί διοξείδιο του άνθρακα και θα αυξηθεί ο όγκος (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006).

β) Εκκίνηση αλκοολικής ζύμωσης και εκχύλιση. Οι ερυθροί οίνοι διαφοροποιούνται από τους λευκούς χάρη στην ιδιότητα της εκχύλισης ανθοκυανών, ταννινών και άλλων ενώσεων από τα στέμφυλα και τα γίγαρτα στο γλεύκος, οι οποίες διαμορφώνουν την όψη, οσμή και γεύση του οίνου.

γ) Φυσικός διαχωρισμός οίνου και στεμφύλων και οίνος πίεσης. Το μείγμα χυμού και στεμφύλων μεταφέρεται μέσω αντλίας στο πιεστήριο όπου και πιέζεται. Ωστόσο, με εφαρμογή πίεσης -μέθοδος η οποία πολλές φορές καθίσταται βίαιη- ο χυμός παράγει χορτώδη και βοτανικά αρώματα τα οποία διαχέονται και στο υπόλοιπο κρασί. Απαιτείται μεγάλη προσοχή στην υγιεινή καθώς υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης οξικών βακτηρίων. Οι οίνοι πίεσης περιέχουν αιωρούμενα σωματίδια τα οποία θολώνουν, αποχρωματίζουν, δίνουν μία γεύση πικράδας και γενικά είναι υποδεέστερης ποιότητας. Η πίεση πρέπει να εφαρμόζεται σχετικά γρήγορα γιατί ο χυμός είναι ευαίσθητος στις οξειδώσεις (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006).

δ) Ολοκλήρωση αλκοολικής ζύμωσης και εκκίνηση μηλογαλακτικής. Η απουσία μη ζυμώσιμων σακχάρων σημαίνει ότι η αλκοολική ζύμωση ολοκληρώθηκε. Αν και εφόσον ο οινοπαραγωγός αποφασίσει να πραγματοποιηθεί μηλογαλακτική ζύμωση, τότε το μηλικό οξύ θα μετατραπεί σε γαλακτικό. Η μετατροπή αυτή, έχει ως

αποτέλεσμα τη μείωση της οξύτητας και την παραγωγή πιο «μαλακών» ερυθρών οίνων. Συμβαίνει μετά το πέρας ή κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης ενώ σε αντίθεση με εκείνη, απελευθερώνεται ελάχιστο διοξείδιο του άνθρακα λόγω αποκαρβοξυλίωσης του μηλικού οξέος. Τα γαλακτικά βακτήρια είναι χρήσιμα όταν αποικοδομούν το μηλικό οξύ και επιβλαβή όταν μεταβολίζουν σάκχαρα με αποτέλεσμα να αυξάνεται η πτητική οξύτητα. Η ένταση του χρώματος μειώνεται διότι το pH αυξάνεται αλλά ταυτόχρονα παρατηρείται μία σταθεροποίηση λόγω συμπύκνωσης ανθοκυανών και ταννινών. Πραγματοποιείται είτε αυθόρμητα είτε με προσθήκη εξωγενών σκευασμάτων γαλακτικών βακτηρίων (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006).



Εικόνα 4. Μηλογαλακτική ζύμωση

## 1.5 Τα επιμέρους συστατικά του οίνου

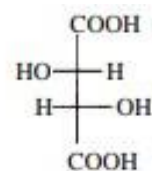
### 1.5.1 Οργανικά οξέα

Τα οργανικά οξέα που περιέχονται στον οίνο έχουν διπλή προέλευση. Ένα μέρος από αυτά προέρχεται από το σταφύλι, ενώ τα υπόλοιπα σχηματίζονται κατά τη διάρκεια των ζυμώσεων (αλκοολικής ή/και μηλογαλακτικής) του γλεύκους και των τυχόν μικροβιολογικών προσβολών γλεύκους και οίνου. Όσον αφορά τα πλέον σημαντικά οργανικά οξέα, αυτά έχουν σημαντική συνεισφορά στη σύνθεση, τη σταθερότητα και τις οργανοληπτικές ιδιότητες των οίνων. Επιπλέον, οι ιδιότητές τους ως συντηρητικά, ενισχύουν τη μικροβιολογική και φυσικοχημική σταθερότητα των κρασιών. Τα βασικά οργανικά οξέα των σταφυλιών είναι το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό, ενώ από τη δράση των ζυμών κατά την αλκοολική ζύμωση και τη δράση των βακτηρίων του γλεύκους ή του οίνου παράγονται το ηλεκτρικό, το γαλακτικό και το οξικό οξύ. Τα οξέα αυτά προσφέρουν την όξινη γεύση του οίνου και επιδρούν στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά.

#### 1.5.1.1 Τρυγικό οξύ

Το φυσικό τρυγικό οξύ του οίνου είναι το D-τρυγικό. Το οξύ αυτό θεωρείται το οξύ του σταφυλιού, καθώς, εκτός από το σταφύλι, είναι πολύ λίγο διαδεδομένο στη φύση. Είναι

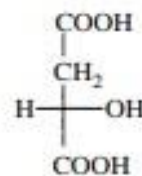
το πιο ισχυρό από τα οξέα του οίνου, το πιο ανθεκτικό στις βακτηριακές προσβολές και διαμορφώνει σε μεγάλο ποσοστό την ενεργό οξύτητα (pH). Αυτός είναι ο λόγος που προστίθεται στον οίνο για την αύξηση της οξύτητάς του, αν είναι απαραίτητη. Συμβαίνει, όμως, μερικές φορές το τρυγικό οξύ να προσβάλλεται από ορισμένα γαλακτικά βακτήρια, με αποτέλεσμα η συγκέντρωσή του να πέφτει στο μηδέν και να αυξάνεται η πτητική οξύτητα (Jackson, 2008, Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006, Σουφλερός, 2000, Τσακίρης, 2014).



Εικόνα 5. L(+)-τρυγικό οξύ

### 1.5.1.2 Μηλικό οξύ

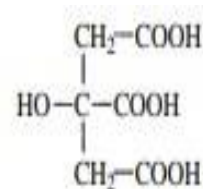
Το μηλικό οξύ, αντίθετα προς το τρυγικό, είναι πολύ διαδεδομένο στο φυτικό βασίλειο καθώς βρίσκεται σε όλους τους ζωντανούς ιστούς και συναντάται στα φύλλα και στους καρπούς των φυτών. Το φυσικό μηλικό οξύ του οίνου είναι το L-μηλικό, το οποίο (στους οίνους) κυμαίνεται από 0-4 g/L. Είναι πιο ευπαθές από το τρυγικό και προσβάλλεται από τους μικροοργανισμούς (ζύμες και βακτήρια). Το μηλικό οξύ ασκεί σημαντική επίδραση στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων, δίνοντας σ' αυτούς μια χορτώδη οσμή και γεύση καθώς και στυπτικότητα (Σουφλερός *Ev.*, 2012).



Εικόνα 6. L(-)-μηλικό οξύ

### 1.5.1.3 Κιτρικό οξύ

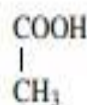
Το κιτρικό οξύ είναι ευρέως διαδεδομένο στη φύση και κυρίως σε όλα τα φρούτα, αφού είναι το χαρακτηριστικό οξύ του λεμονιού και των εσπεριδοειδών. Έχει σημαντικό βιοχημικό και μεταβολικό ρόλο καθώς συμμετέχει στον κύκλο του Krebs, ενώ χρησιμοποιείται ευρέως από τις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών ως παράγοντας οξίνισης. Στο σταφύλι βρίσκεται σε μικρές ποσότητες που δεν ξεπερνούν τα 0.5 g/L. Δεν παράγεται (ή παράγεται σε ίχνη) κατά την αλκοολική ζύμωση. Επίσης όσον αφορά τον οίνο, διαθέτει σε υψηλό βαθμό την ιδιότητα των υδροξυοξέων να διαλυτοποιούν το τρισθενή σίδηρο, έτσι ώστε να χρησιμοποιείται για τη προστασία από τα σιδηρικά θολώματα των οίνων και ενδείκνυται η προσθήκη του για την αύξηση της οξύτητας πριν την εμφιάλωση. Η ξινή γεύση του κιτρικού οξέος του σταφυλιού, συμβαδίζει με μία αίσθηση φρεσκάδας που τη μεταφέρει στον οίνο. Σε αυτό το οξύ σε συνδυασμό με το άρωμά του, οφείλει την ευχάριστη οξύτητά του το λεμόνι.



Εικόνα 7. Κιτρικό οξύ

#### 1.5.1.4 Οξικό οξύ

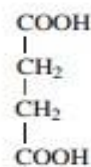
Το οξικό οξύ αποτελεί το 90-95% της πτητικής οξύτητας. Βρίσκεται και σε ίχνη στο γλεύκος, αλλά παράγεται σε μεγάλες ποσότητες μόνο από βακτηριακές προσβολές των οίνων. Το οξικό οξύ αρχίζει να παράγεται στην αρχή της αλκοολικής ζύμωσης, περνά από ένα μέγιστο που συμπίπτει με την κατανάλωση της μισής σχεδόν ποσότητας των σακχάρων και στη συνέχεια ελαττώνεται, μετατρέπόμενο σε άλλα δευτερεύοντα προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης. Η συγκέντρωσή του αποτελεί κριτήριο για την υγιεινή κατάσταση των οίνων. Πέρα από μία ορισμένη ποσότητα (>1 g/L) υποβαθμίζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτών, δίνοντας μία δυσάρεστη οσμή και γεύση ξιδιού, ενώ αυξάνει το κάψιμο που προκαλεί στο βάθος του στόματος, μεταξύ απόληξης της γλώσσας και φάρυγγα, στο σημείο που αρχίζει η κατάποση. Σε φυσιολογικές όμως συγκεντρώσεις (0.3 g/L) προσφέρει πολυπλοκότητα στον οίνο (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006, Σουφλερός Ευ., 2012, Τσακίρης, 2014).



Εικόνα 8. Οξικό οξύ

#### 1.5.1.5 Ηλεκτρικό οξύ

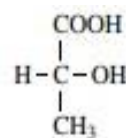
Το ηλεκτρικό οξύ παράγεται ως δευτερεύον προϊόν, μέσω του μεταβολισμού των λιπιδίων και του κύκλου του Krebs, μαζί με το φουμαρικό οξύ, κατά την αλκοολική ζύμωση των σακχάρων και η μεγαλύτερη ποσότητα αυτού σχηματίζεται κυρίως κατά την αρχή της ζύμωσης. Η περιεκτικότητα του ηλεκτρικού οξέος στους οίνους ανέρχεται σε 0.5-1.5 g/L και βρίσκεται σε αναλογία 1/100 (κατά βάρος) με την αλκοόλη. Το συγκεκριμένο οξύ είναι πολύ ανθεκτικό στις βακτηριακές προσβολές υπό αναερόβιες συνθήκες. Ασκεί σπουδαία επίδραση στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των οίνων καθώς η γεύση του συνδυάζει το πικρό, το ξινό και το αλμυρό αυξάνοντας την πολυπλοκότητα του οίνου (Σουφλερός Ευ., 2012). Λόγω της πικρής και αλμυρής του γεύσης δεν προτιμάται η προσθήκη του στους οίνους για την αύξηση της οξύτητας.



Εικόνα 9. Ηλεκτρικό οξύ

#### 1.5.1.6 Γαλακτικό οξύ

Το γαλακτικό οξύ συναντάται στους οίνους οι οποίοι έχουν κάνει μηλογαλακτική ζύμωση, αλλά όχι στα γλεύκη. Συνεπώς συναντάται σε δύο ισομερή, το (D-) ισομερές και το (L+) ισομερές και έχει τριπλή προέλευση: α) από τις ζύμες κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Με το τρόπο αυτό παράγεται



Εικόνα 10. Γαλακτικό οξύ

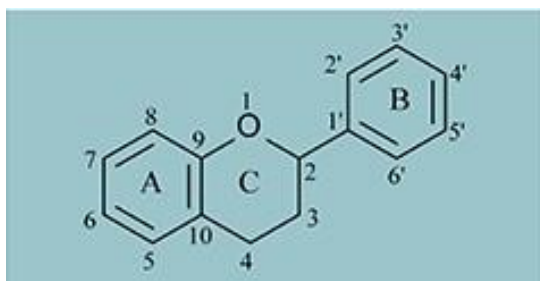
κυρίως (D-) γαλακτικό σε ποσότητες 0.1-0.4 g/L ενώ το (L+) παράγεται σε ίχνη, β) από τα γαλακτικά βακτήρια κατά τη μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό (μηλογαλακτική ζύμωση), παράγεται μόνο το L(+) γαλακτικό οξύ έως και 3 g/L, γ) από τα γαλακτικά βακτήρια κατά τη προσβολή των σακχάρων (εξοζών), της γλυκερίνης και του τρυγικού οξέος και ανάλογα με το βαθμό της προσβολής η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος μπορεί να φτάσει τα 10 g/L.

Το γαλακτικό οξύ είναι το περισσότερο χημικώς και βιολογικώς σταθερό οργανικό οξύ του οίνου και γι' αυτό το λόγο δύναται να χρησιμοποιηθεί για την αύξηση της οξύτητας ορισμένων οίνων (Σουφλερός Ευ., 2012).

### 1.5.2 Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούνται από έναν ή περισσότερους βενζολικούς δακτυλίους ενωμένους με υδροξυλομάδες. Ο ρόλος τους στην οινολογία είναι υψίστης σημασίας. Διακρίνονται σε φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή. Η διαφορετικότητα ορισμένων χαρακτηριστικών μεταξύ ερυθρού-λευκού οίνου οφείλεται στα μόρια αυτά. Καθορίζουν επίσης το χρώμα και τη γεύση ενός ερυθρού οίνου, συμβάλλοντας στο «σώμα» του και δημιουργώντας την αίσθηση πικράδας ή στυπτικότητας. Έχουν αντιβακτηριδιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες οι οποίες προστατεύουν τους καταναλωτές από καρδιαγγειακές παθήσεις. Προέρχονται από διάφορα μέρη της σταφυλής και εξάγονται κατά την οινοποίηση. Η δομή τους ποικίλλει πολύ όταν το κρασί παλαιώνει στο βαρέλι ή ωριμάζει στη φιάλη (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Επιπλέον, μερικές από αυτές εμπλέκονται στην επαγωγίμη αντίσταση έναντι παθογόνων μικροοργανισμών, και η συγκέντρωσή τους σε φυτικούς ιστούς μπορεί να αυξηθεί σημαντικά (Ruiz-Garcia *et al.*, 2012).

### 1.5.3 Φλαβονοειδή



Εικόνα 11. Χημική δομή φλαβονοειδών,  
Πηγή: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids>

Είναι λίγο-πολύ έντονες κίτρινες χρωστικές, και η δομή τους αποτελείται από δύο βενζολικούς δακτυλίους (A,B) ενωμένους με ετεροκυκλικό δακτύλιο πυρυλίου (C). Ποικίλα είναι τα παράγωγα των φλαβονοειδών ανάλογα με την οξειδωτική κατάσταση του δακτυλίου του πυρυλίου.



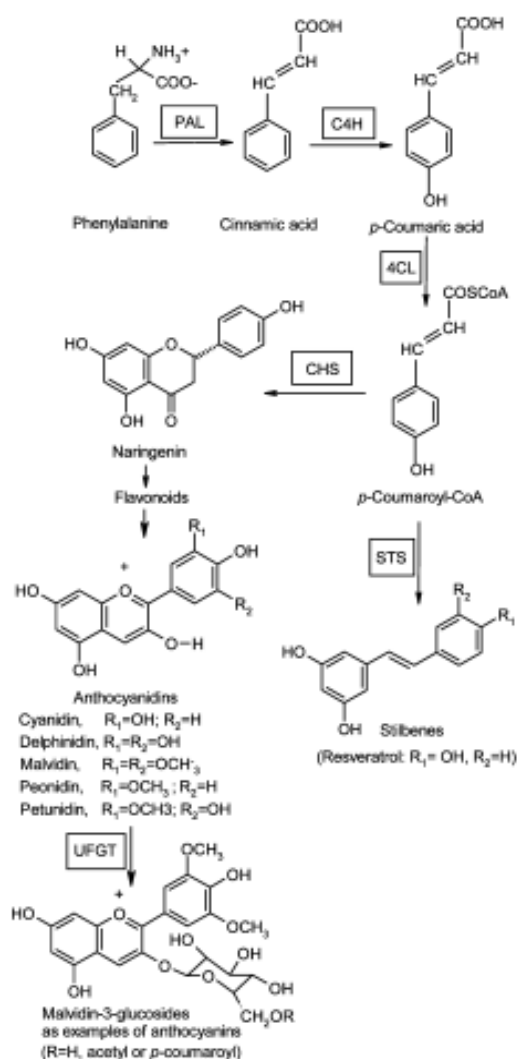
### 1.5.4 Φλαβονόλες

Οι φλαβονόλες, έχοντας μία καρβονυλομάδα στη θέση 4 του δακτυλίου του πυρυλίου, αποτελούν ορισμένα από τα πιο διαδεδομένα παράγωγα των φλαβονοειδών. Είναι επίσης κίτρινες χρωστικές ουσίες και βρίσκονται στους φλοιούς των κόκκινων και των λευκών σταφυλιών. Ανάλογα με τη θέση της υδροξυλομάδας στον δακτύλιο Β, παρατηρούνται τρεις φλαβανόλες αλλά μόνο η μυρικετίνη δεν υπάρχει στα λευκά κρασιά από λευκά σταφύλια. Στο ερυθρό κρασί, είναι παρούσες με τη γλυκοζυλιωμένη μορφή τους καθώς οι γλυκοζίτες υδρολύονται κατά τη ζύμωση (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006)

### 1.5.5 Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι τα γλυκοζυλιωμένα και σταθερότερα παράγωγα των ανθοκυανιδινών. Η μεταβολική οδός σύνθεσής τους έχει ως πρόδρομη ένωση την φαινυλαλανίνη και σε αυτήν συμμετέχουν τα ένζυμα: PAL (phenylalanine ammonia-lyase), C4H (cinnamate-4-hydroxylase), 4CL (4-coumarate CoA-ligase), CHS (chalcone synthase), STS (stilbene synthase), UFGT (UDP glucose-flavonoid 3-O-glucosyltransferase) (Εικόνα 12). Αποτελούν ισχυρά αντιοξειδωτικά με αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές ιδιότητες και προστατεύουν τα φυτά από περιβαλλοντικά στρες (Iriti *et al.*, 2004).

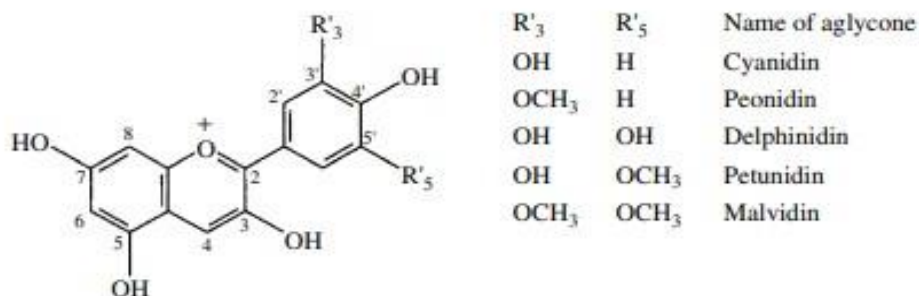
Είναι οι κόκκινες χρωστικές των σταφυλιών και επηρεάζουν το χρώμα του οίνου. Βρίσκονται συνήθως στο φλοιό και σπανιότερα στη σάρκα ορισμένων ποικιλιών και εκχυλίζονται κατά την ερυθρή οινοποίηση. Προς το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου, μεγάλες ποσότητες αυτών υπάρχουν και στα φύλλα. Συναντώνται ως



Stilbenes and anthocyanins biosynthesis through the phenylpropanoid pathway: PAL, phenylalanine ammonia-lyase; C4H, cinnamate-4-hydroxylase; 4CL, 4-coumarate CoA-ligase; CHS, chalcone synthase; STS, stilbene synthase; UFGT, UDP glucose-flavonoid 3-O-glucosyltransferase.

Εικόνα 12. Βιοσύνθεση των στυλβενίων και ανθοκυανών μέσω της οδού των φαινυλοπροπανοειδών, Πηγή : Iriti *et al.*, 2004

κατιόντα φλαβυλίου καθώς το άτομο οξυγόνο του δακτυλίου του πυρυλίου είναι θετικά φορτισμένο. Ανάλογα με το είδος των υποκαταστατών του δακτυλίου B, διακρίνονται σε κυανιδίνη, παιονιδίνη, δελφινιδίνη, πετουνιδίνη και μαλβιδίνη. Ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης κυριαρχεί στις περισσότερες ποικιλίες ερυθρών σταφυλιών και αποτελεί την κυρίαρχη ανθοκυάνη που επηρεάζει το χρώμα ενός ερυθρού οίνου. Στις ποικιλίες *Vitis vinifera*, μονάχα οι μονογλυκοζίτες και οι ακυλιωμένοι μονογλυκοζίτες των ανθοκυανών -δεσμός γλυκόζης με π-κουμαρικό οξύ, καφεϊκό οξύ, οξικό οξύ- υπάρχουν. Σε άλλα είδη του γένους *Vitis* δύνανται να ενώνονται με περισσότερα από ένα μόριο γλυκόζης. Το χρώμα αυτών εξαρτάται από το pH, το θειώδη ανυδρίτη SO<sub>2</sub>, από τη δομή του μορίου τους και το περιβάλλον στο οποίο βρίσκονται. Όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός υποκατάστασης του δακτυλίου B τόσο μεγαλύτερη θα είναι και η απορρόφηση μήκους κύματος. Σε μικρές τιμές pH βρίσκονται στη μορφή φλαβυλίου και έχουν κόκκινο χρώμα. Καθώς αυξάνεται το pH σχηματίζονται άχρωμες ενώσεις καρβινόλης. Παρουσία θειώδους ανυδρίτη αποχρωματίζονται λόγω αντίδρασης των όξινων θεικών ανιόντων με το κατιόν του φλαβυλίου. Με την πάροδο του χρόνου οι ανθοκυάνες μειώνονται είτε λόγω της ένωσής τους με ταννίνες είτε λόγω της αποικοδόμησής τους. Οι ανθοκυάνες είναι πιθανό να ενώνονται μεταξύ τους ή με άλλες άχρωμες φαινολικές ενώσεις με δεσμούς υδρογόνου ώστε να εξασφαλίσουν περισσότερη σταθερότητα. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται συγχρωματισμός και εξαρτάται μεταξύ άλλων και από το διαλύτη. Για παράδειγμα, παρουσία αιθανόλης, δύσκολα πραγματοποιείται και για αυτό οι ακυλιωμένες ανθοκυάνες τείνουν να εξαφανίζονται γρήγορα ακόμα και λίγους μήνες μετά τη ζύμωση. Οι ανθοκυάνες έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν A-T ή T-A ενώσεις με τις ταννίνες είτε άμεσα είτε έμμεσα με «γέφυρες» ακεταλδεϋδης (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006).



**Εικόνα 13.** Δομή ανθοκυανιδίων στα σταφύλια και στους οίνους,  
Πηγή: Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006

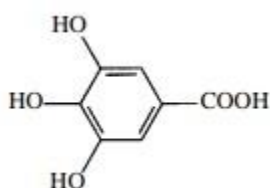
Η συσσώρευση των ανθοκυανών επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, τη διαθεσιμότητα αζώτου, τα θρεπτικά συστατικά του εδάφους, τη σκίαση και την άρδευση. Στις πιο

θερμές περιοχές, με υψηλές θερμοκρασίες τη νύχτα, το χρώμα δεν αναπτύσσεται πλήρως (Mori, K *et al*, 2005).

### 1.5.6 Ταννίνες

Οι ταννίνες είναι ουσίες οι οποίες έχουν την ικανότητα να ενώνονται με μεγαλύτερα μόρια όπως πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες, σχηματίζοντας σταθερότερες ενώσεις. Σχηματίζονται κατά τον πολυμερισμό των φαινολικών ενώσεων, έχουν ογκώδεις δομές και μεγάλα μοριακά βάρη. Αντιδρούν με τις γλυκοπρωτεΐνες του σάλιου και εκείνες που υπάρχουν στην στοματική κοιλότητα δημιουργώντας την αίσθηση πικράδας ή στυπτικότητας οι οποίες αντιλαμβάνονται στην άκρη του ουρανίσκου ή ως μούδιασμα της στοματικής κοιλότητας αντίστοιχα. Οι ταννίνες των γιγάρτων έχουν μικρότερο βαθμό πολυμερισμού από τις ταννίνες των φλοιών πράγμα που σημαίνει ότι θα εκχυλιστούν ευκολότερα (Καλλίθρακα, 2019). Διακρίνονται στις υδρολυόμενες ταννίνες και στις συμπυκνωμένες ταννίνες.

#### 1.5.6.1 Υδρολυόμενες ταννίνες

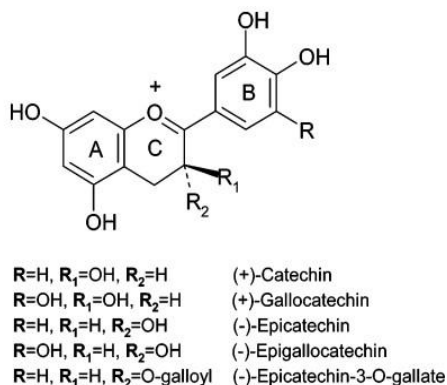


**Εικόνα 14.** Υδρολυόμενες ταννίνες και συγκεκριμένα γαλλικό οξύ.  
Πηγή: Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006

Οι υδρολυόμενες ταννίνες περιλαμβάνουν τις γαλλοταννίνες και τις ελλαγιταννίνες που μετά από όξινη υδρόλυση απελευθερώνουν γαλλικό και ελλαγικό οξύ, αντίστοιχα. Περιέχουν επίσης ένα μόριο γλυκόζης. Είναι υδατοδιαλυτές και δεν συναντώνται στα σταφύλια, προστίθενται όμως ως εμπορικές ταννίνες. Οι ελλαγιταννίνες

(βασκαλαγίνη, κασταλαγίνη) παίζουν σημαντικό ρόλο κατά την παλαίωση του οίνου σε δρύινα βαρέλια συμβάλλοντας στη γεύση του. Το ελλαγικό οξύ προέρχεται από την επαφή του οίνου με ξύλινα δοχεία ή από την προσθήκη οινολογικών ταννινών. Αντίθετα, το γαλλικό οξύ υπάρχει στο φλοιό και στα γιγάρτα (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006).

#### 1.5.6.2 Συμπυκνωμένες ταννίνες



**Εικόνα 15.** Μονομερείς προανθοκυανιδίνες,  
Πηγή: Iriti *et al.*, 2005

Οι συμπυκνωμένες ταννίνες (γνωστές και ως προανθοκυανιδίνες) είναι σύμπλοκα πολυμερών φλαβαν-3-όλης, κατεχίνης και των εναντιομερών αυτής. Υπάρχουν στα σταφύλια και στους οίνους ως (+)-κατεχίνη, (+)-γαλλοκατεχίνη, (-)-επικατεχίνη, (-)-επιγαλλοκατεχίνη, (-)-

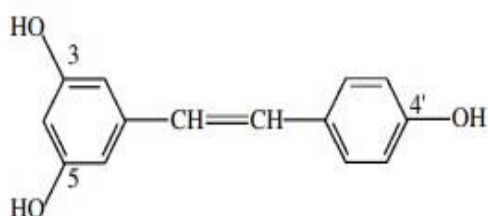
γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης. Διακρίνονται σε προκυανιδίνες και προδελφινιδίνες. Εμπλέκονται στην άμυνα του φυτού, προστατεύοντας τα φύλλα από διάφορα φυτοφάγα και απενεργοποιώντας τα ένζυμα λύσης των κυττάρων πολλών παθογόνων των φυτών, όπως η λακκάση του *Botrytis cinerea*. Έχουν επίσης αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριδιακές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Οι προανθοκυανιδίνες βρίσκονται στο φλοιό, στα γίγαρτα και στους βλαστούς. Αποσπώνται δε εύκολα κατά την οινοποίηση επηρεάζοντας οργανοληπτικά τον παραγόμενο οίνο ως προς την αίσθηση της στυπτικότητας και της πικράδας, το καφέτιασμα, τη σταθερότητα του χρώματος και τη θολερότητα (Iriti *et al.*, 2005; Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006). Ο βαθμός πολυμερισμού των προανθοκυανιδίνων στα γίγαρτα είναι μικρότερος από εκείνον στο φλοιό, αλλά οι ενώσεις αυτές αποσπώνται ευκολότερα από το φλοιό καθώς εντοπίζονται στα χυμοτόπια και στα κυτταρικά τοιχώματα αυτού (Iriti *et al.*, 2005).

### 1.5.7 Μη φλαβονοειδή

Είναι οι φαινολικές ενώσεις όπως τα βενζοϊκά και τα κινναμωμικά οξέα.

- 1) Τα βενζοϊκά οξέα δε συναντώνται στα ερυθρά κρασιά ούτε με γλυκοζυλιωμένη ούτε με εστεροποιημένη μορφή.
- 2) Τα κινναμωμικά συνήθως είναι εστεροποιημένα με τρυγικό οξύ και είναι υπεύθυνα για το καφέτιασμα του λευκού οίνου. Ενώνονται με τους μονογλυκοζίτες των ανθοκυανών σχηματίζοντας ακυλιωμένες ανθοκυάνες.

Τα φαινολικά αυτά οξέα είναι άχρωμα σε αραιό διάλυμα αλκοόλης, αλλά μπορεί να αποκτήσουν κίτρινο χρώμα αν οξειδωθούν. Από οργανοληπτική άποψη, δεν έχουν ιδιαίτερη γεύση ή οσμή. Ωστόσο, είναι πρόδρομες ενώσεις των πτητικών φαινολών που παράγονται από τη δράση ορισμένων μικροοργανισμών (*Brettanomyces* και βακτήρια).



Εικόνα 16. Δομή trans-ρεσβερατρόλης (3,4,5, τριυδροξυστιλβένιο)

Πηγή: Ribéreau- Gayon P. *et al.*, 2006

Μια άλλη οικογένεια μη φλαβονοειδών είναι τα στιλβένια και εντοπίζονται επίσης στα σταφύλια, τον οίνο και το ξύλο δρυός. Αποτελούνται από δύο βενζολικούς δακτυλίους ενωμένους μεταξύ τους με ομάδα αιθανίου. Μεταξύ αυτών η trans-ρεσβερατρόλη (3,4,5,

τριυδροξυστιλβένιο) παράγεται από το φυτό ως απόκριση σε μυκητιακή μόλυνση. Η ρεσβερατρόλη, βρίσκεται στο φλοιό της ράγας και εκχυλίζεται κυρίως κατά τη ζύμωση των ερυθρών οίνων (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006).

Η ρεσβερατρόλη εντοπίζεται στο φλοιό αλλά περιέχεται σε σημαντικά υψηλότερες ποσότητες σε ερυθρά κρασιά από ό, τι στα λευκά κρασιά γιατί τα δεύτερα παράγονται συνήθως χωρίς ή με περιορισμένη επαφή με τα στέμφυλα. Τα επίπεδα στους ιστούς επηρεάζονται από την ποικιλία, τις μετεωρολογικές συνθήκες, τον τύπο και τις καλλιεργητικές πρακτικές του εδάφους. Τόσο trans όσο και cis γλυκοζίτες ρεσβερατρόλης υπάρχουν στα σταφύλια και η υδρόλυση τους, που συμβαίνει κατά τη ζύμωση, απελευθερώνει cis- και trans-ρεσβερατρόλη. Η trans μπορεί να παραμείνει για αρκετό καιρό σε έναν οίνο υπό κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης. Αποφεύγοντας δηλαδή την έκθεση σε υπερβολική θερμότητα και διατηρώντας τις συγκεντρώσεις εξωγενών αντιοξειδωτικών όπως ο θειώδης ανυδρίτης σε φυσιολογικά επίπεδα. Και πάλι όμως εξαρτάται από τις οινοποιητικές τεχνικές. Η trans-ρεσβερατρόλη και τα ολιγομερή της (π.χ. διμερή που ονομάζονται βινιφερίνες), παράγονται με σκοπό να ενεργοποιήσουν τυχόν μηχανισμούς άμυνας έναντι ασθενειών (Bavaresco *et al.*, 2016).

#### **1.5.8 Πτητικά συστατικά**

Ένας από τους κύριους παράγοντες που καθορίζουν την ποιότητα του κρασιού είναι το άρωμα. Μεγάλες συγκεντρώσεις πτητικών ενώσεων βρίσκονται στους οίνους και ανήκουν σε διάφορες χημικές ομάδες όπως ανώτερες αλκοόλες, C6 ενώσεις, αιθυλεστέρες, οξικούς εστέρες και τερπένια που συμβάλλουν στο επιθυμητό άρωμα κρασιού (Gutierrez-Gamboa *et al.*, 2018). Το πρωτογενές -ή ποικιλιακό- άρωμα προέρχεται από τα γενετικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών, τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τον βαθμό ωρίμανσης αλλά και από τις διαδικασίες επεξεργασίας των σταφυλιών. Το δευτερογενές άρωμα αναπτύσσεται κατά την αλκοολική και μηλογαλακτική ζύμωση. Το τριτογενές άρωμα προκύπτει από μετασχηματισμούς που συμβαίνουν κατά τη συντήρηση και την παλαίωση του οίνου. Οι σημαντικότερες πτητικές ενώσεις όλων είναι οι εστέρες επειδή αντιπροσωπεύουν ένα μεγάλο μέρος του αρώματος και χαρακτηρίζονται από έντονες φρουτώδεις και γλυκές οσμές (Vitalini *et al.*, 2014).

Τα τερπένια είναι υπεύθυνα για το χαρακτηριστικό άρωμα λουλουδιών της ποικιλίας Μοσχάτο. Η β-δαμασκηνόνη και η β-ιονόνη έχουν χαμηλό κατώφλι αντίληψης και παρέχουν αρώματα βιολέτας και τριαντάφυλλου. Τα τερπένια, τα C13 νορισοπρενοειδή

και τα βενζολοειδή είναι μια μεγάλη κατηγορία οργανικών ενώσεων που παράγονται από τον δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών (Gutierrez *et al.*, 2019).

Οι ενώσεις C6 σε υψηλά επίπεδα μπορούν να παρέχουν ανεπιθύμητες γεύσεις στους οίνους. Τα τερπένια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο ποικιλιακό άρωμα του κρασιού συμβάλλοντας στον ανθικό και τον κιτρικό του χαρακτήρα. Οι ανώτερες αλκοόλες όπως η ισοαμυλική και η 2-φαινυλαιθανόλη ευθύνονται για οσμές τυριού τριαντάφυλλου και μελιού (Gutierrez-Gamboa *et al.*, 2018). Μεταξύ αυτών, η λιναλοόλη, η γερανιόλη, η νερόλη και η α-τερπινεόλη, που είναι μερικά μονοτερπένια με χαρακτηριστικές οσμές λουλουδιών (D'onoftio *et al.*, 2018). Οι λακτόνες δρυός, η ευγενόλη, η βανιλίνη και η γουαϊακόλη είναι μερικές από τις πτητικές ενώσεις που εκχυλίζονται στον οίνο όταν αυτός έρθει σε επαφή με ξύλο δρυός. Αποδίδουν αρώματα ξύλου, καρύδας, μπαχαρικών και καπνού (Martinez-Gil *et al.*, 2011). Η ακετοΐνη και το διακετύλιο ανήκουν στην οικογένεια των κετονών και προσδίδουν στους οίνους οσμές φρούτων, βουτύρου και μούχλας (Martins V. *et al.*, 2015). Οι αλδεΐδες με 6 άτομα άνθρακα δίνουν περισσότερο χορτώδη αρώματα ενώ εκείνες με 9 άτομα, περισσότερο φρουτώδη (Yan-Lun Ju *et al.*, 2016).

Οι ενώσεις που περιέχουν άζωτο συμβάλλουν στο σχηματισμό ανώτερων αλκοολών και αιθυλεστέρων κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και ρυθμίζουν το σχηματισμό άλλων, όπως υδρόθειο ή θειόλες. Η σύνθεση αζωτούχων ενώσεων στο γλεύκος επηρεάζει την ανάπτυξη του ζυμομύκητα και τις διαδικασίες ζύμωσης και εμπλέκεται στην τελική ποιότητα του κρασιού, ειδικά στο άρωμα. Ωστόσο, η υπέρμετρη λίπανση με άζωτο μπορεί να οδηγήσει στη συσσώρευση βιογενών αμινών και καρβαμικού αιθυλεστέρα με αρνητικές επιπτώσεις στο άρωμα (Gutierrez-Gamboa *et al.*, 2018). Οι παρακάτω εφαρμογές ουσιών, μέσα από μελέτες, επηρέασαν τα πτητικά συστατικά ως εξής:

- Ο ψεκασμός φυλλώματος με άζωτο ενισχύει το άρωμα ενός οίνου Cabernet Sauvignon εστιάζοντας κυρίως στις ανώτερες αλκοόλες και στους εστέρες και δίνοντας νότες λουλουδιών και φρούτων (Gutierrez-Gamboa *et al.*, 2018).
- Με εφαρμογή γιασμονικού μεθυλεστέρα (methyl jasmonate) αυξάνεται η συγκέντρωση των γλυκοζυλιωμένων και μη μονοτερπενίων. Ο εστέρας αυτός παίζει σημαντικό ρόλο στις διεργασίες μεταγωγής σήματος που ρυθμίζουν τα γονίδια άμυνας στα φυτά. Έτσι τα φυτά ενεργοποιούν τη σύνθεση δευτερογενών

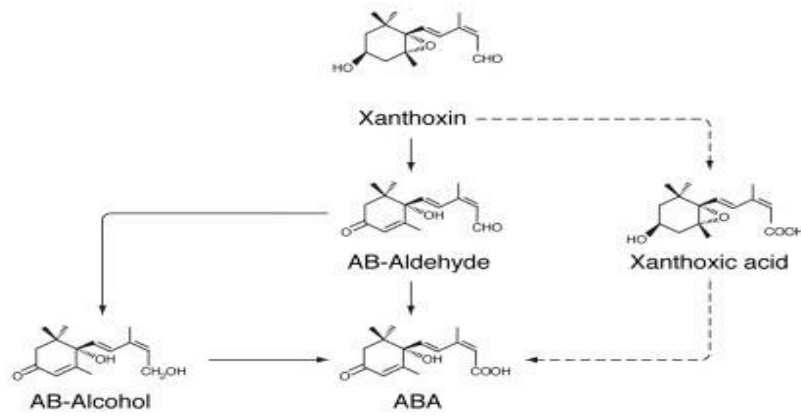
μεταβολιτών αφού αντιληφθούν την ύπαρξή του με σκοπό την αντοχή τους σε βιοτικά και αβιοτικά στρες όπως ο περονόσπορος (D'Onofrio *et al.*, 2018).

- Η χρήση σκευασμάτων που περιέχουν εκχυλίσματα δρυός διαμορφώνει το άρωμα του οίνου ειδικά μερικούς μήνες μετά τη ζύμωση. Τα σταφύλια αποθηκεύουν τα πτητικά συστατικά των εκχυλισμάτων και τα απελευθερώνουν κατά τη διάρκεια της οινοποίησης. Στο τέλος της ζύμωσης διατηρείται το ποικιλιακό άρωμα αλλά αργότερα ο οίνος αποκτά νότες ξύλου σαν να έχει παλαιωθεί σε δρύινο βαρέλι (Martinez-Gil *et al.*, 2011).
- Η χρήση μίγματος Bordeaux που περιέχει θειικό χαλκό και υδροξείδιο του ασβεστίου έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης χαλκού στο γλεύκος και στον οίνο. Ο χαλκός έχει την ικανότητα να σχηματίζει σταθερά σύμπλοκα με αμινοξέα και φαινολικές ενώσεις, επομένως συμβάλλει σε αργές ή κολλημένες ζυμώσεις, στην οξείδωση του γλεύκους και στην τροποποίηση της γεύσης, του χρώματος και του αρώματος του οίνου προσδίδοντας νότες λουλουδιών λόγω των ανώτερων αλκοολών και εστέρων. Αυξάνονται επίσης οι συγκεντρώσεις ακετοΐνης και διακετυλίου (Martins V. *et al.*, 2015).

## **1.6 Ορμόνες και φυτοδιεγέρτες**

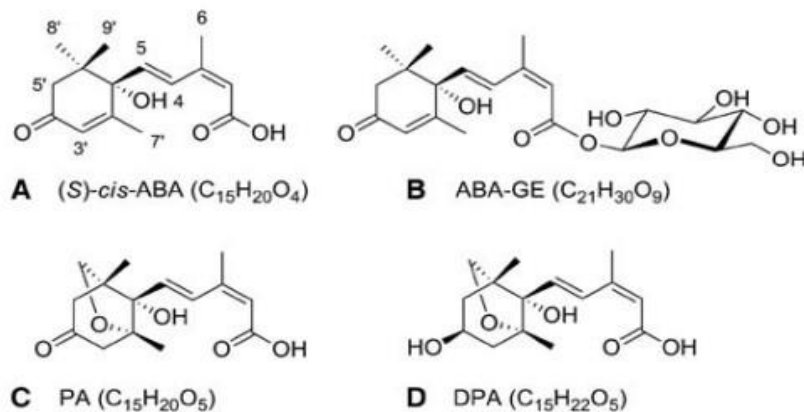
### **1.6.1 Αμπισικό οξύ (ABA)**

Το αμπισικό οξύ είναι μια φυτοορμόνη και συναντάται σε όλους τους οργανισμούς που φωτοσυνθέτουν. Επομένως η ποσότητά του επηρεάζεται από ρυθμιστές αύξησης ανάμεσά τους και από την παρουσία φωτός ή νερού. Η τελευταία πολλές φορές δύναται να δημιουργεί στρες στα φυτά. Στα ανώτερα φυτά, όπως το αμπέλι, η σύνθεση του ABA ξεκινάει από μία πρόδρομη ένωση που ανήκει στα καρτενοειδή και αποτελείται από 40 άτομα άνθρακα. Ο διαχωρισμός της λαμβάνει χώρα στο πλαστίδιο των κυττάρων και ένα από αυτά τα παράγωγα, η ξανθοξίνη, περνάει στο κυτταρόπλασμα και οξειδώνεται πρώτα σε αμπισική αλδεύδη, έπειτα σε αμπισική αλκοόλη και μετά σε αμπισικό οξύ. Διαφορετικά οξειδώνεται πρώτα σε ξανθοξικό οξύ (Cutler *et al.*, 1999).



**Εικόνα 17.** Σχηματισμός αμπισσικού οξέος.  
Πηγή: Cutler et al., 1999

Το ABA είναι φωτοευαίσθητο και εκφράζεται ως μίγμα *trans*-ABA και *cis*-ABA. Το *trans* ισομερές είναι βιολογικά ανενεργό όμως όταν υπάρχει φως δημιουργεί ABA μέσω ισομερίωσης. Πιο συγκεκριμένα το ισομερές (*S*)-*cis*-αμπισσικό οξύ συμβάλλει στην ανάπτυξη των ανθοκυανών του φλοιού. Παράγεται στις ρίζες και στα φύλλα του φυτού, ρυθμίζοντας το άνοιγμα στομάτων και την κυτταρική αναπνοή. Μέσω οξείδωσης μετατρέπεται σε φασεϊκό οξύ (PA) το οποίο είτε θα παραμείνει ως έχον είτε θα αναχθεί σε διυδροφασεϊκό οξύ (DPA). Μέσω σύζευξης μετατρέπεται σε εστεροποιημένη μορφή γλυκόζης και ABA (ABA-GE) η οποία λειτουργεί και σαν εφεδρεία του ABA στις ράγες (Owen *et al.*, 2009).



**Εικόνα 18.** Δομές παραγώγων αμπισσικού οξέος,  
Πηγή: Owen et al., 2009

Ανήκει στους ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών μερικοί από τους οποίους είναι το αιθυλένιο και το γιβεριλινικό οξύ. Μετά την άνθιση τα ποσοστά ABA στις ράγες μειώνονται αλλά αυξάνονται στον περκασμό. Βιοσύνθεση ABA παρατηρείται κυρίως



στη δεύτερη και στη τρίτη φάση ανάπτυξης της ράγας (Deluc *et al.*, 2007; Hattori *et al.*, 2019). Παίζει σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση του φρούτου και ανταποκρίνεται χημικά στο περιβαλλοντικό στρες, οπότε η εξωγενής προσθήκη του βελτιώνει ποιοτικά το σταφύλι και ελέγχει το αβιοτικό στρες (Gonzalez *et al.*, 2018). Μικρή ποσότητα ABA υπάρχει στα φύλλα ή στα γιγάρτα που έχουν ωριμάσει. Έτσι συσσωρεύεται ταχέως στα κύτταρα, προκαλώντας έναν κύκλο ανατροφοδότησης (Pilati *et al.*, 2017).

Χωρίς την εφαρμογή ABA, οι ανθοκυάνες συσσωρεύονται καθώς η ράγα αναπτύσσεται. Υπό την παρουσία όμως ABA, το γεγονός αυτό συμβαίνει νωρίτερα (Ban, T. *et al.*, 2003). Αν προστεθεί ABA εξωγενώς σε ερυθρές ποικιλίες είτε οينوποιήσιμες είτε επιτραπέζιες, επιταχύνεται η ανάπτυξη ραγών καθώς και η ωρίμανση και η συσσώρευση ανθοκυανών της ράγας (Hattori *et al.*, 2019) ακόμα και όταν το ABA στην επιφάνεια της σάρκας και του φλοιού μειώνεται λόγω της μετατροπής του στην ανενεργή μορφή (Owen *et al.*, 2009). Όσο πιο αργά προστεθεί κατά την ανάπτυξη και ωρίμανση του φυτού, και ιδίως αφού η ράγα έχει μαλακώσει πλήρως και έχει αποκτήσει το 80% του χρώματός της, τόσο πιο αποτελεσματικό θα είναι (Perpi *et al.*, 2006; Gu *et al.*, 2011). Η εφαρμογή θα πρέπει να γίνεται απευθείας επάνω στις ράγες και όχι στις γειτονικές κληματίδες ή στα φύλλα (Gu *et al.*, 2011).

Επίσης οι ράγες είναι περισσότερο σκουρόχρωμες αλλά με μικρότερη απόχρωση προσωρινά καθώς όλο και περισσότερες ανθοκυάνες γεννιούνται στα κύτταρα των ραγών. Η δε επίδραση του ABA στο βάρος της ράγας ή στη σύνθεση του γλεύκους συμπεριλαμβανομένης της οξύτητας, είναι αμελητέα. Πρέπει όμως να ληφθεί υπόψιν το γεγονός ότι προκαλεί μαλάκωμα του φλοιού κάτι το οποίο υποβαθμίζει την ποιότητά του (Perpi *et al.*, 2006).

Με την εξωγενή προσθήκη του ABA βελτιώνεται το χρώμα και ενισχύεται η μεταγραφή των γονιδίων που σχετίζονται με τις ανθοκυάνες. Με την κατάλληλη συγκέντρωση ABA αυξάνονται τα επίπεδα των σακχάρων και των φαινολικών ενώσεων, δηλαδή των ανθοκυανών εφόσον πρόκειται για ερυθρή ποικιλία (Sun *et al.*, 2019).

Επηρεάζει την έκφραση γονιδίων κατά τη βιοσύνθεση των ανθοκυανών (Ban, T. *et al.*, 2003), τη δραστηριότητα της ιμπερτάσης και κάποιες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των σακχάρων. Επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και την έλλειψη νερού (Owen *et al.*, 2009). Παίζει σημαντικό ρόλο στην εκβλάστιση των γιγάρτων, στο

κλείσιμο των στομάτων του φυτού και στην ανάπτυξη των βλαστών (Peppi *et al.*, 2006).

Εξωγενής προσθήκη ABA αυξάνει την ενεργότητα της λιποξυγενάσης, ενός ενζύμου το οποίο καταλύει τη διάσπαση του λινολεϊκού ή του λινολενικού οξέος σε μικρότερα μόρια, σχηματίζοντας περαιτέρω πτητικές ενώσεις, όπως αλδεΐδες και αλκοόλες με 6 και 9 άτομα άνθρακα (Ju *et al.*, 2016).

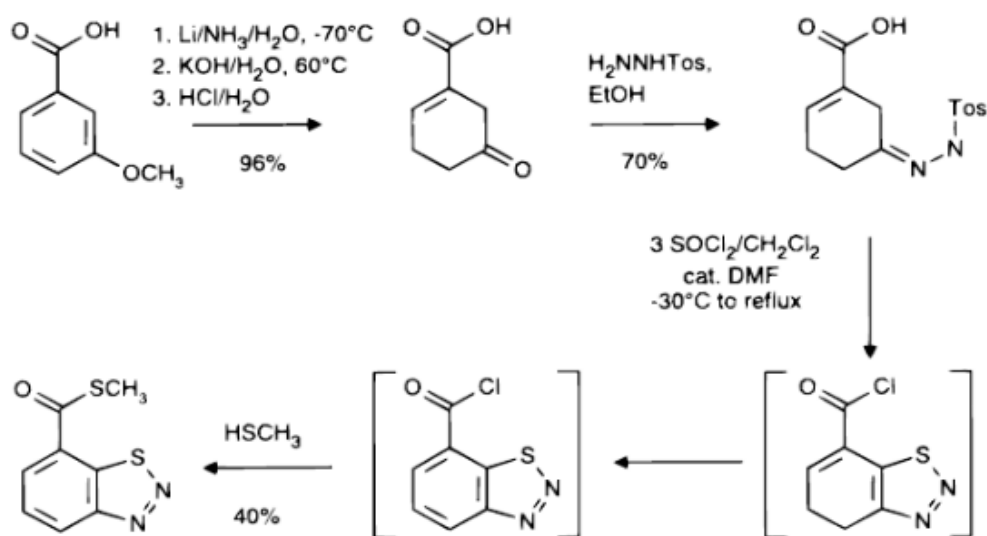
Καθώς ο πλανήτης υπερθερμαίνεται, επηρεάζονται τόσο η ποιότητα όσο και η παραγωγή των σταφυλιών και του οίνου, διότι οι υψηλές θερμοκρασίες ελαττώνουν τη συσσώρευση των ανθοκυανών ενός σταφυλιού και άρα μειώνουν την ένταση του χρώματος της ράγας. Επίσης χαμηλές είναι και οι συγκεντρώσεις του ABA (Hattori *et al.*, 2019; Mori *et al.*, 2005). Γι' αυτό και είναι αναγκαίο να βρεθούν τρόποι έτσι ώστε να αποφευχθεί κάτι τέτοιο. Ένας από αυτούς είναι να χρησιμοποιηθούν αμινοξέα όπως ισολευκίνη ή φαινυλαλανίνη σε συνδυασμό με χαμηλή συγκέντρωση ABA, καθώς έχει βρεθεί πειραματικά πως συνεισφέρει στο χρώμα του παραγόμενου οίνου Cabernet Sauvignon της Ιαπωνίας (Hattori *et al.*, 2019). Με εφαρμογή ABA σε σταφύλια Pinot noir, δείχνει να αυξάνεται το περιεχόμενο των ανθοκυανών τόσο των ραγών που εκτέθηκαν σε υψηλές θερμοκρασίες της νύχτας όσο και σε πιο χαμηλές. Ωστόσο τα μεθυλιωμένα, γλυκοζιωμένα και ακυλιωμένα παράγωγα των ανθοκυανών εμφανίζουν μεγαλύτερη θερμική σταθερότητα και γι' αυτό δεν επηρεάζεται η σύνθεσή τους με την αλλαγή της θερμοκρασίας (Mori *et al.*, 2005).

Ενώ η εφαρμογή ABA σε ερυθρές ποικιλίες συμβάλλει στη συσσώρευση των ανθοκυανών και την ενίσχυση του χρώματος, στις λευκές ποικιλίες δεν έχει άμεσο αντίκτυπο στην ένταση του χρώματος. Αντιθέτως αυξάνεται ο αλκοολικός βαθμός και οι παραγόμενοι οίνοι είναι οργανοληπτικά ασθενέστεροι (Gonzalez *et al.*, 2018).

### **1.6.2 Βενζοθειαδιαζόλη (BTH)**

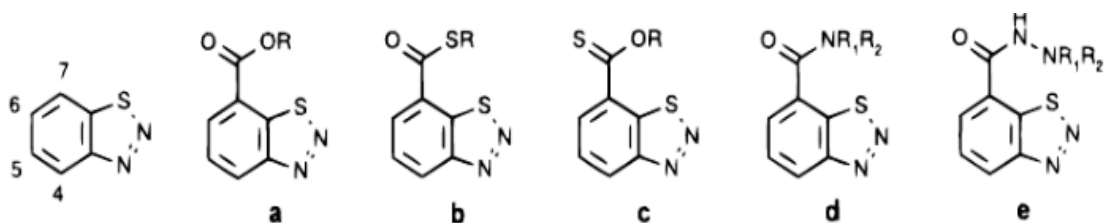
Τα φυτά έχουν αρκετούς μηχανισμούς άμυνας, ανάμεσά τους και επαγόμενους, όπως η συστημική επίκτητη αντίσταση (SAR). Η SAR παρέχει μακροχρόνιο και ευρέος φάσματος έλεγχο των ασθενειών και ενεργοποιείται από ουσίες που δεν έχουν άμεση αντιμικροβιακή δράση και δεν επιτίθενται απευθείας στο παθογόνο (Kunz *et al.*, 1997). Αντίθετα ωθούν τα φυτά να θέσουν σε λειτουργία τους μηχανισμούς άμυνάς τους (Iriti *et al.*, 2004). Η βενζοθειαδιαζόλη και συγκεκριμένα ο θειο-μεθυλεστέρας του 7-καρβοθειϊκού οξέος της βένζο-(1,2,3)-θειαδιαζόλης, είναι ένας ενεργοποιητής αντίστασης και δημιουργεί ανοσία του συστήματος σε παθογόνους οργανισμούς

πολλών φυτών όπως το κριθάρι, ο καπνός και το φασόλι (Iriti *et al.*, 2004). Η εμπορική του ονομασία είναι CGA 245704. Παράγεται με τη μέθοδο κυκλοποίησης Hurd-Mori και η πρόδρομη ένωση είναι το μετα-μεθοξυ-βενζοϊκό οξύ.



**Εικόνα 19.** Παραγωγή S-μεθυλεστέρα του 7-καρβοθειικού οξέος της βένζο-(1,2,3)-θειαδιαζόλης,  
Πηγή: Kunz *et al.*, 1997

Ανάλογα με το είδος και τη θέση υποκαταστατών της βένζο-1,2,3-θειαδιαζόλης διακρίνονται ποικίλες μορφές μεταξύ των οποίων μόνο τα παράγωγα καρβοξυλικού οξέος στην θέση 7 είναι δραστικά στο να προσφέρουν υψηλή αντίσταση και κυρίως οι εστέρες (a), οι θειοεστέρες (b) και τα υδραζίδια (e) (Εικόνα 20). Γενικά η δραστηριότητα μειώνεται καθώς αυξάνεται το μοριακό βάρος του καρβοξυλικού οξέος (Kunz *et al.*, 1997).



**Εικόνα 20.** Δομή βένζο-1,2,3-θειαδιαζόλης και παραγώγων της,  
Πηγή: Kunz *et al.*, 1997

Η βένζοθειαδιαζόλη έχει παρόμοιες φυσικές και χημικές ιδιότητες με το σαλικυλικό οξύ, φυτοορμόνη απαραίτητη για τη μετάφραση γονιδίων ώστε να επιτευχθεί αντίσταση του φυτού. Τα γονίδια αυτά από τη μεριά τους κωδικοποιούν πρωτεΐνες και ένζυμα-κλειδιά πολλών δευτερογενών μεταβολιτών. Επιπλέον η ΒΤΗ και το παράγωγο καρβοξυλικού οξέος μετατοπίζονται στους ιστούς των φυτών και αποικοδομούνται

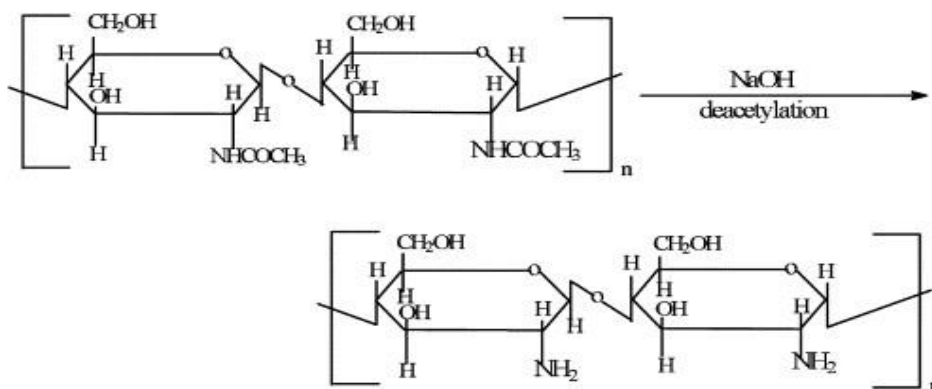
χωρίς να αφήνουν κάποιο υπόλειμμα (Iriti *et al.*, 2004). Η χρήση BTH αποτελεί καινοτόμα ιδέα για την προστασία των φυτών διότι δεν είναι τοξικό, διασπάται εύκολα και στερείται αντιβιοτικής δραστηριότητας. Δύναται έτσι να μειώσει το αρνητικό αντίκτυπο που έχουν στο περιβάλλον οι διάφορες καλλιεργητικές τεχνικές (Iriti *et al.*, 2005).

Η εφαρμογή BTH κατά τον περκασμό αυξάνει σημαντικά τις συγκεντρώσεις trans-ρεσβερατρόλης που, όπως έχει προαναφερθεί, ανήκει στα στυλβένια και παίζει σημαντικό ρόλο στην άμυνα του φυτού κατά την προσβολή από μύκητες. Προκαλεί αντίσταση στη μόλυνση από τον μύκητα *Botrytis cinerea* (Iriti *et al.*, 2004) αλλά και μείωση της συχνότητας και της έντασης της ασθένειας. Η ανθεκτικότητα προκαλείται μέσω της ενεργοποίησης αμυντικών μηχανισμών και έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση περισσότερων στυλβενίων και προανθοκυανιδίων. Αυξάνεται ο βαθμός πολυμερισμού των δευτέρων, οι πολυμερείς καταστέλλουν πιο αποτελεσματικά το ένζυμο της οξειδάσης του *Botrytis cinerea*. Επίσης επηρεάζονται πολλά αμινοξέα με μηχανισμούς αντοχής σε βιοτικό και αβιοτικό στρες (Iriti *et al.*, 2005). Η αλλοίωση που προκαλείται από τον μύκητα αυτόν -συχνά αναφέρεται και ως γκρι μούχλα- είναι επιζήμια τόσο για το αμπέλι όσο και τον παραγόμενο οίνο καθώς τα σάκχαρα του οίνου μετατρέπονται σε γλυκερόλη και γλυκονικό οξύ (Iriti *et al.*, 2004). Επηρεάζεται από τις κλιματικές συνθήκες, καθώς η βροχή πριν την άνθιση και μετά την ανθιταξία ευνοεί την προσβολή όπως επίσης και η ωρίμανση των ραγών κατά τον περκασμό. Συνήθως χρησιμοποιούνται μυκητοκτόνα (Iriti *et al.*, 2005). Συχνά τα ένζυμα CHS και STS της μεταβολικής οδού των φαινυλοπροπανοειδών ανταγωνίζονται μεταξύ τους κατά τον μεταβολισμό των φαινολικών ενώσεων, οπότε μειώνεται η σύνθεση των στυλβενίων ενώ αυξάνεται εκείνη των ανθοκυανών. Η BTH τείνει να εξαλείφει τον ανταγωνισμό αυτόν, με ταυτόχρονη σύνθεση και των δύο (Iriti *et al.*, 2004).

Επίσης με χρήση BTH αυξάνεται και η ενεργότητα του ενζύμου PAL από την οδό των φαινυλοπροπανοειδών (Εικόνα 12), με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι ανθοκυάνες του φλοιού –και ιδιαίτερα ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης και οι φλαβονόλες (Ruiz-Garcia *et al.*, 2012; Iriti *et al.*, 2004). Παρατηρείται επίσης αύξηση των προανθοκυανιδίων του φλοιού και των γιγάρτων και ιδιαίτερα εκείνων με μεγαλύτερο βαθμό πολυμερισμού (Iriti *et al.*, 2005). Ακόμα, επηρεάζεται το αρωματικό προφίλ ενός ερυθρού οίνου, καθώς μεταβάλλεται η ποσότητα των πτητικών ενώσεων και κυρίως των εστέρων (Vitalini *et al.*, 2014).

### 1.6.3 Χιτοζάνη (CHT)

Η χιτοζάνη είναι ένα N-αποακετυλιωμένο παράγωγο της χιτίνης, μιας β-(1→4)-N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνης. Η κύρια πηγή χιτίνης και χιτοζάνης είναι τα κέλυφη καρκινοειδών αρθρόποδων ζώων, όπως τα καβούρια και οι γαρίδες, τα οποία είναι απόβλητα κατά την επεξεργασία τροφίμων. Η χιτίνη και η χιτοζάνη παρουσιάζουν εμπορικό ενδιαφέρον λόγω του υψηλού ποσοστού αζώτου (6,89%) (Kumar, M. N. R., 2000).



Εικόνα 21. Παραγωγή χιτοζάνης με αποακετυλίωση χιτίνης,  
Πηγή: Kumar, M. N. R. (2000).

Οι κατιονικές αμινομάδες της χιτοζάνης συνδέονται πιθανώς με ανιονικές ομάδες παθογόνων μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξής τους. Η χιτίνη και η χιτοζάνη είναι βιολογικά ανανεώσιμες, μη τοξικές και φιλικές προς το περιβάλλον (Hirano S., 1999). Η δραστηριότητα της χιτοζάνης αποδείχθηκε ότι εξαρτάται από το μοριακό βάρος (MW) και τον βαθμό ακετυλίωσης (DA) του μορίου (Trotel-Aziz *et al.*, 2006).

Ανήκει στους φυτοδιεγέρτες, ουσίες ικανές να προκαλέσουν έμφυτη ανοσοαπόκριση στο φυτό. Το πολυκατιονικό αυτό πολυμερές σχηματίζει μία ημιπερατή μεμβράνη γύρω από φυτικούς ιστούς εμποδίζοντας τη ροή θρεπτικών συστατικών, απαραίτητων για την ανάπτυξη του παθογόνου. Η σήψη κατά την αποθήκευση των επιτραπέζιων σταφυλιών ελέγχεται με την εφαρμογή χιτοζάνης πριν τη συγκομιδή λόγω των αντιμυκητιακών ιδιοτήτων της και της ικανότητάς της να διεγείρει την άμυνα κατά του ξενιστή. Η ίδια ουσία φαίνεται να ελέγχει τη σήψη και άλλων φυτών όπως οι φράουλες, το λίτσι, τα μήλα και τα κεράσια. Δεν αφήνει χημικά υπολείμματα όπως τα μυκητοκτόνα. Επίσης δεν αποχρωματίζει τις ράγες ούτε συμβάλλει στο καφέτιασμα όπως το διοξείδιο του θείου παρόλο που το τελευταίο είναι αποτελεσματικό στη μείωση της ανάπτυξης γκρι μούχλας. Χρησιμοποιείται ακόμα σε δίαιτες αδυνατίσματος (Romanazzi *et al.*, 2002).

Οι διεγέρτες εφαρμόζονται στον αμπελώνα προκειμένου να ενεργοποιήσουν αμυντικούς μηχανισμούς για την αποφυγή μόλυνσης από παθογόνα (Delaunoy *et al.*, 2014). Έπειτα συμβάλλουν στη συσσώρευση φαινολικών ενώσεων οι οποίες είναι υπεύθυνες για το χρώμα και τη σταθερότητα του οίνου κατά την παλαίωση (Portu *et al.*, 2016). Οι διεγέρτες επηρεάζουν τη σύνθεση τερπενίων, C13 νορισοπρενοειδών και βενζολοειδών, ενώσεις που ενεργοποιούν έμμεσα τους δευτερογενείς μεταβολίτες στα αμπέλια και που αποδίδουν επιθυμητά αρώματα στους οίνους (Gutiérrez-Gamboa *et al.*, 2019). Επομένως καλό θα είναι να χρησιμοποιούνται στην προστασία των καλλιεργειών μιας και από το 2014 είναι υποχρεωτική η ορθολογική χρήση γεωργικών φαρμάκων σύμφωνα με την απόφαση 2009/128/EK.

Ωστόσο η εφαρμογή CHT δεν επηρέασε σημαντικά το περιεχόμενο των ανθοκυανών, της κατεχίνης και των φλαβονολών (Portu *et al.*, 2016). Με φυλλώδη ψεκάσμο CHT σε αμπέλια της ποικιλίας Tempranillo μειώνονται οι συγκεντρώσεις τους ενώ αυξάνονται εκείνες των ενώσεων C6 που παρέχουν ανεπιθύμητες νότες βοτανικότητας στους οίνους (Gutiérrez-Gamboa *et al.*, 2019). Επίσης μειώνεται η συγκέντρωση πολλών αμινοξέων του γλεύκους, χωρίς να επηρεάζεται η συγκέντρωση YAN. Μια ανεπαρκής συγκέντρωση αζώτου στο γλεύκος μπορεί να προκαλέσει κολλημένες ή αργές ζυμώσεις, κάτι που αποτελεί επίμονο πρόβλημα στην παραγωγή κρασιού (Gutiérrez-Gamboa *et al.*, 2017).

Η χιτοζάνη παρεμποδίζει την ανάπτυξη του *Botrytis cinerea*. Σε συνδυασμό με το θειικό χαλκό προστατεύει επίσης τα φύλλα της αμπέλου από τον περονόσπορο (Aziz *et al.*, 2006). Ενισχύει την ενεργότητα της λιποξυγενάσης (LOX), της PAL και της χιτινάσης. Η πρώτη απαιτείται για τη σύνθεση ενώσεων, μορίων σηματοδότησης άμυνας των φυτών. Η δεύτερη είναι βασικό ένζυμο κατά τη σύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών. Η χιτινάση είναι μία από τις πρωτεΐνες PR με αντιμικροβιακές δράσεις έναντι παθογόνων. Ενισχύει την άμυνα μέσω της απελευθέρωσης χιτίνης από τα παθογόνα κυτταρικά τοιχώματα (Trotel-aziz *et al.*, 2006).

Ο συνδυασμός CHT και θειικού χαλκού αύξησε την παραγωγή φυτοαλεξίνων δηλαδή trans-ρεσβερατρόλης και βινιφερίνης δείχνοντας ότι ο τελευταίος ενίσχυσε τη διεγερτική ικανότητα της CHT. Τα ολιγομερή CHT με χαμηλότερο βαθμό ακετυλίωσης έχουν μεγαλύτερη δραστηριότητα, υποδηλώνοντας ότι το τμήμα χιτίνης που υπάρχει στη CHT θα μπορούσε να είναι υπεύθυνο για επαγόμενες αντιδράσεις άμυνας των φυτών, μέσω δέσμευσης σε έναν υποδοχέα της πλασματικής μεμβράνης. Η CHT, σε αντίθεση

με το θειικό χαλκο, δεν σχετίζεται με τον κυτταρικό θάνατο σε φύλλα αμπέλου και είναι δυνατόν να τον αποτρέψει. Το πιο δραστικό ολιγομερές CHT ενεργοποιεί επίσης PR πρωτεΐνες στα φύλλα αμπέλου (Aziz *et al.*, 2006).

### **Σκοπός πειράματος**

Μέχρι τώρα δεν έχει γίνει κάποια έρευνα όσον αφορά την επίδραση της ορμόνης του αμπισισικού οξέος (ABA) και των φυτοδιεγερτών χιτοζάνη (CHT) και βενζοθειαδιαζόλη (BTH) σε παραγόμενους οίνους ελληνικών ποικιλιών. Σκοπός της μεταπτυχιακής εργασίας είναι η μελέτη αυτής της επίδρασης στα χαρακτηριστικά φαινολικής ωρίμανσης σταφυλιών, στη χημική σύνθεση των παραγόμενων οίνων και στην οργανοληπτική αξιολόγηση των οίνων από την ποικιλία Μούχταρο.

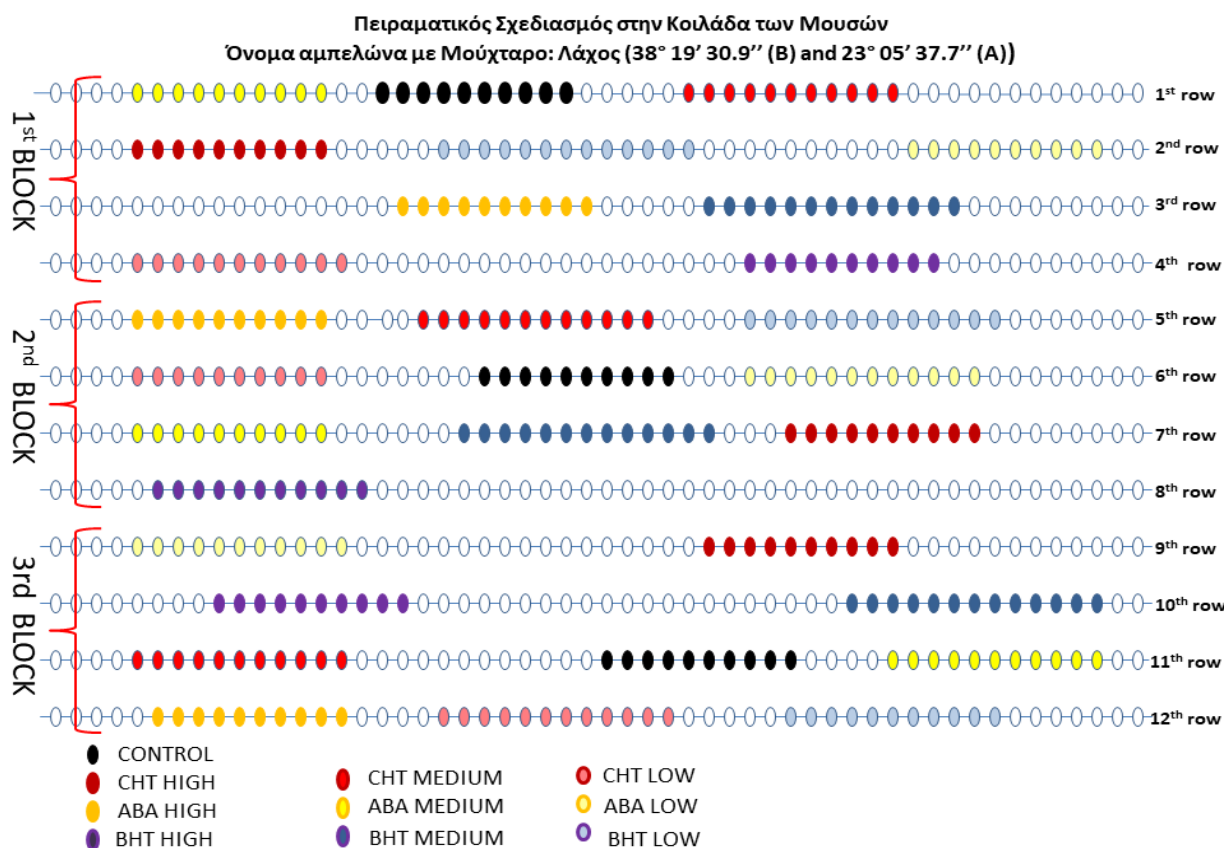
## 2. Πειραματικός Σχεδιασμός

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε μη αρδευόμενους αμπελώνες του κτήματος Μουσών στην κοιλάδα Μουσών (ΠΓΕ Θήβα, Ελλάδα, 38°19'30.9''(B) και 23°05'37.7''(A)) που περιείχαν την ποικιλία *Vitis vinifera* Μούχταρο. Τα αμπέλια φυτεύτηκαν το 2007 σε υποκείμενα R110 (πυκνότητα φύτευσης 2,5 × 1,2 m) και με γραμμικό σύστημα διαμόρφωσης (double cordon). Η διαχείριση του αμπελώνα ήταν ομοιόμορφη σε όλο το πειραματικό οικόπεδο και σε συμμόρφωση με τις συνιστώμενες γεωργικές πρακτικές για τη δεδομένη αμπελουργική τοποθεσία. Εφαρμόστηκαν τρεις διαφορετικές θεραπείες. Τα αμπέλια ψεκάστηκαν με υδατικά διαλύματα (i) αμπισικού οξέος (s-abscisic acid 10,4% w/v, Protone SL, Hellafarm, Ελλάδα), (ii) βενζοθειαδιαζόλη (S-μεθυλεστερας του 7 καρβοθειικού οξέος της βενζο-1,2,3-θειαδιαζόλης BTH, εμπορική ονομασία Bion, Syngenta, Basilea, CH) και (iii) χιτοζάνη (υδροχλωρική χιτοζάνη 3% w/w, CHT, Project One, Phytorgan S.A., Ελλάδα) σε διαφορετική συγκέντρωση κάθε φορά. Ως διαβρεκτικοί παράγοντες για τις θεραπείες BTH και CHT χρησιμοποιήθηκε το Tween 80 (Sigma–Aldrich), και για τη θεραπεία ABA το Aquascope (Hellafarm, Ελλάδα). Τα μη ψεκασμένα αμπέλια αποτέλεσαν τον μάρτυρα (CONTROL). Όλες οι θεραπείες εφαρμόστηκαν εις τριπλούν, σε σετ των 10 κλημάτων στη σειρά για το καθένα ένα, σε τρία πλήρως τυχαιοποιημένα μπλοκ (Σχήμα 1). Για την περίπτωση του ABA, έγινε ψεκασμός στη ζώνη του σταφυλιού στο στάδιο του περκασμού και στη συνέχεια 3 και 6 ημέρες μετά την πρώτη εφαρμογή. Στην περίπτωση BTH και CHT πραγματοποιήθηκαν εφαρμογές σε ολόκληρο το αμπέλι κατά τη διάρκεια του περκασμού και μετά 7 και 14 ημέρες αργότερα (Πίνακας 1).



Εικόνα 22. Επιλογή και σήμανση υγιών, εύρωστων και ζωηρών ποικιλιών της ποικιλίας Μούχταρο κατά το στάδιο του περκασμού. Πηγή: Προσωπικές φωτογραφίες (Μηλιόρδος Δημήτριος)





**Σχήμα 1.** Γραφική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης. Οι κύκλοι αντιπροσωπεύουν αμπέλια και διαφορετικά χρώματα αντιστοιχούν στις εφαρμοζόμενες θεραπείες.

Αριθμός εφαρμογής	Ημερομηνία εφαρμογής	Θεραπεία
1 <sup>η</sup>	26/07/2019	ABA, CHT, BTH
2 <sup>η</sup>	29/07/2019	ABA
2 <sup>η</sup>	1/08/2019	CHT, BTH
3 <sup>η</sup>	1/08/2019	ABA
3 <sup>η</sup>	8/08/2019	CHT, BTH

**Πίνακας 1.** Πρόγραμμα εφαρμογών

Ο τρύγος πραγματοποιήθηκε το Σεπτέμβρη του 2019 όταν τα σταφύλια απέκτησαν την επιθυμητή ωρίμανση και στη συνέχεια συλλέχθηκαν και οινοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Οινολογίας και Αλκοολούχων Ποτών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις ραγών με τη μέθοδο Glories όσον αφορά την εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών, την περιεκτικότητά τους σε ταννίνες και του φαινολικού δυναμικού τους. Συνολικά έγιναν 29 οινοποιήσεις, συμπεριλαμβανομένων των τριών επαναλήψεων της κάθε συγκέντρωσης της κάθε ουσίας και των τριών επαναλήψεων του μάρτυρα. Η κωδικοποίηση τους φαίνεται στον πίνακα 2. Μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης, οι οίνοι μεταφέρθηκαν σε πλαστικά δοχεία των 10L σε

ψύξη στους 4°C και παρέμειναν μέχρι να σταθεροποιηθούν. Έλαβαν χώρα αναλύσεις της ολικής και πτητικής οξύτητας, του pH και της αλκοολοπεριεκτικότητας σύμφωνα με τους κανονισμούς του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (OIV). Εξετάστηκαν οι παράμετροι του χρώματος των οίνων (ένταση, απόχρωση, δείκτης φαινολικών ουσιών). Έγιναν περαιτέρω μετρήσεις των φαινολικών συστατικών, μεταξύ αυτών ο προσδιορισμός των ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης και των τανινών με μέθοδο MCP και BSA.

<b>Δείγματα</b>	<b>Κωδικοί</b>	
<b>Μάρτυρας</b>	CON	
Ορμόνη/φυτοδιεγέρτης	Συγκέντρωση	
	Χαμηλή (Low)	ABA LOW
	Μεσαία (Medium)	ABA MEDIUM
Αμπισικό οξύ	Υψηλή (High)	ABA HIGH
	Low	BTH LOW
Βενζοθειαδαζόλη	Medium	BTH MEDIUM
	High	BTH HIGH
Χιτοζάνη	Low	CHT LOW
	Medium	CHT MEDIUM
	High	CHT HIGH

*Πίνακας 2. Κωδικοποίηση των παραγόμενων ερυθρών οίνων από την ποικιλία Μούχταρο.*

### **Στατιστική Ανάλυση**

Όλες οι μετρήσεις επεξεργάστηκαν στατιστικά με το πρόγραμμα Statgraphics με εφαρμογή ANOVA ( $p < 0.05$ ). Τέλος εμφανίστηκαν και πραγματοποιήθηκε οργανοληπτικός έλεγχος αυτών ώστε να συγκριθούν μεταξύ τους και με το μάρτυρα σε σχέση με τα οπτικά και αρωματικά τους χαρακτηριστικά.

#### **2.1 Αναλύσεις στα δείγματα των ραγών**

##### **2.1.1 Μέθοδος προσδιορισμού της εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών, της περιεκτικότητας ταννινών και του φαινολικού δυναμικού των ραγών**

Για τον προσδιορισμό της εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών και των ταννινών και τον προσδιορισμό του φαινολικού δυναμικού των ραγών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Glories (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006). Η «Glories» θεωρείται η πιο ακριβής μέθοδος

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

Σύμφωνα με την διαδικασία εφαρμογής της μεθόδου, δείγμα 50 ραγών ζυγίζεται και ομογενοποιείται με τη χρήση UltraTurrax στις 24.000 στροφές για 30 δευτερόλεπτα. Σε μια κωνική φιάλη προστίθενται 20 g ομογενοποιημένου πολτού ραγών και 20 ml διαλύματος HCl 0,1N με pH 1, ενώ σε μια άλλη 20 g ομογενοποιημένου πολτού και 20 ml διαλύματος τρυγικού οξέος 5g/L με pH 3,6. Οι δυο φιάλες παραμένουν σε σκοτεινό μέρος για 4 ώρες. Έπειτα τα διαλύματα μεταφέρονται σε πλαστικό σωλήνα φυγοκέντρου και φυγοκεντρούνται για 10 λεπτά στις 4000 στροφές και προσδιορίζεται η συγκέντρωση των ανθοκυανών με τη μέθοδο αποχρωματισμού με SO<sub>2</sub> (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006) στα εκχυλίσματα pH 1 και pH 3,6. Στη συνέχεια το εκχύλισμα από το pH 3,6 αραιώνεται 1:100 με απιονισμένο H<sub>2</sub>O και γίνεται μέτρηση της απορρόφησης του διαλύματος σε μήκος κύματος 280nm. Για τη μέτρηση του Δείκτη Φαινολικών Ουσιών χρησιμοποιείται η απορρόφηση του εκχυλίσματος με pH 3,6 σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$\Delta.Φ.Ο.=A_{280}*100$$

Η ποσότητα των ανθοκυανών και των ταννινών δίνεται από τις σχέσεις:

- i) Ολικές ανθοκυάνες (TA) σε g/L=  $(A_{pH1/H_2O} - A_{pH1/SO_2}) * \frac{885,3}{1000}$
- ii) Εκχυλίσιμες Ανθοκυάνες (EA) σε g/L=  $(A_{pH3,6/H_2O} - A_{pH3,6/SO_2}) * \frac{885,3}{1000}$
- iii) Εκχυλισιμότητα Ανθοκυανών στον οίνο (AE%) =  $100 * \frac{TA-EA}{TA}$
- iv) Ταννίνες φλοιών (Tskins) σε g/L = EA\* 40
- v) Ταννίνες φλοιών ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο (MTskins%) =  $\frac{Tskins}{A_{280,pH3,6}*100} * 100$

- vi) Ταννίνες γιγάρτων (Tseeds) σε g/L=  $A_{280/pH_{3,6}} * 100 - T_{skins}$
- vii) Ταννίνες γιγάρτων ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο (MTseeds%) =  $\frac{Tseeds}{A_{280,pH_{3,6}} * 100} * 100$

## 2.2 Αναλύσεις Οίνων

### Βασικές αναλύσεις με κλασσικές μεθόδους

Στους παραχθέντες οίνους πραγματοποιήθηκαν οι βασικές αναλύσεις βασισμένες στις επίσημες μεθόδους OIV. Συγκεκριμένα προσδιορίστηκαν η ενεργός και ολική οξύτητα, ο αλκοολικός τίτλος και η πτητική οξύτητα.

#### 2.2.1 Προσδιορισμός ολικής-ενεργούς οξύτητας

Σύμφωνα με τον OIV-MA-AS313-01, ολική οξύτητα είναι το σύνολο των όξινων ομάδων που τιτλοδοτούνται όταν το pH του οίνου φέρεται στην τιμή 7 με προσθήκη πρότυπου διαλύματος αλκάλεως. Η ενεργός οξύτητα εκφράζει το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που δίστανται και δίνουν κατιόντα υδρογόνου  $H^+$ . Συγκεκριμένα το pH είναι ο αρνητικός λογάριθμος της συγκέντρωσης των  $H^+$  στο διάλυμα. Εξαρτάται από τη συγκέντρωση και το είδος των οργανικών οξέων αφού το καθένα παρουσιάζει διαφορετικό βαθμό διάστασης. Διαμορφώνεται από τις συγκεντρώσεις του τρυγικού οξέος και του καλίου και επομένως από την ισορροπία του τρυγικού οξέος -όξινου τρυγικού καλίου.

Θερμαίνονται 5 ml δείγματος -ώστε να απομακρυνθεί το  $CO_2$ - μέχρι να εμφανιστούν οι πρώτες φυσαλίδες και έπειτα προστίθενται 30 ml απιονισμένο  $H_2O$  και δείκτης κυανού της βρωμοθυμόλης. Το διάλυμα τιτλοδοτείται με πρότυπο διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 0,1M μέχρι την αλλαγή του χρώματος προς μία κυανοπράσινη χροιά (τελικό σημείο της αντίδρασης). Τα ml NaOH που καταναλώθηκαν εισάγονται στον τύπο  $A=0,75 * n$  και η οξύτητα εκφράζεται σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο.

Για τον προσδιορισμό ενεργούς οξύτητας χρησιμοποιήθηκε pHμετρο ψηφιακό HANNA HI 112. Για τη μέτρηση του pH αρκεί η βαθμονόμηση του pHμετρου με ρυθμιστικά διαλύματα pH 4 και 7. Εμβαπτίζεται το ηλεκτρόδιο και το θερμομέτρο στο δείγμα μέχρι η τιμή να σταθεροποιηθεί.

#### 2.2.2 Μέτρηση πτητικής οξύτητας

Η πτητική οξύτητα αποτελείται από τα οξέα της σειράς του οξικού οξέος τα οποία απαντώνται στο κρασί είτε ελεύθερα είτε με μορφή αλάτων. Προσδιορίζεται με

τιτλοδότηση των οξέων αυτών που διαχωρίζονται από τον οίνο με απόσταξη μεθ' υδρατμών και ανακαθαρισμό των ατμών. Επειδή όμως συναποστάζεται το ελεύθερο και δεσμευμένο SO<sub>2</sub>, θα πρέπει να μη ληφθεί υπόψιν στο τελικό αποτέλεσμα.

Συγκεκριμένα, σε 20 mL οίνου από τα οποία έχει απομακρυνθεί το CO<sub>2</sub> προστίθεται 0,5g τρυγικό οξύ και παραλαμβάνεται απόσταγμα όγκου 250 mL το οποίο τιτλοδοτείται με πρότυπο διάλυμα NaOH 0,1M και με δείκτη φαινολοφθαλεΐνης έως την αλλαγή χρώματος προς μια ροζ χροιά. Έστω n τα mL του NaOH που χρησιμοποιήθηκαν. Στο τελευταίο διάλυμα τιτλοδοτείται το ελεύθερο SO<sub>2</sub> με πρότυπο διάλυμα ιωδίου 0,005M, δείκτη αμύλου και αραιωμένο HCl ¼ έως την αλλαγή χρώματος προς μία γκριζωπή απόχρωση. Έστω n' τα mL του ιωδίου που καταναλώθηκαν. Σύμφωνα με τον τύπο  $A = 0,300 * (n - 0,1n')$  υπολογίζεται η πτητική οξύτητα εκφραζόμενη σε g οξικού οξέος ανά λίτρο (OIV-MA-AS313-02).

### 2.2.3 Αλκοολικός τίτλος

Αλκοολικός τίτλος κατ' όγκο ονομάζεται ο αριθμός των λίτρων αιθανόλης που περιέχεται σε 100 λίτρα οίνου σε θερμοκρασία 20°C (% vol). Ο προσδιορισμός βασίζεται στην απόσταξη της αλκοόλης του οίνου και την συνέχεια την μέτρησή της στο απόσταγμα με αραιόμετρο Gay-Lussac.

Συγκεκριμένα, οίνος όγκου 200 mL και θερμοκρασίας 20°C τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη. Συλλέγεται απόσταγμα όγκου ίσου με τα ¾ του αρχικού και θερμοκρασίας ±2°C της αρχικής· περιέχει ομόλογα τόσο αιθανόλης όσο και εστεροποιημένης αιθανόλης οπότε αυτά συνυπολογίζονται στον αλκοολικό τίτλο. Ο όγκος συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με απιονισμένο νερό και μεταφέρεται σε ογκομετρικό κύλινδρο. Εμβαπτίζεται το αλκοολόμετρο και λαμβάνεται ο φαινομενικός τίτλος βάσει της θερμοκρασίας. Σύμφωνα με πίνακες, διορθώνεται ως προς τη θερμοκρασία. Εκφράζεται σε επί τοις εκατό αιθανόλη κατ' όγκο (OIV-MA-AS312-01A).

### 2.2.4 Προσδιορισμός χρωματικών χαρακτηριστικών

Το φάσμα των ερυθρών οίνων παρουσιάζει μέγιστο στα 520 nm -λόγω των ανθοκυανών και του κατιόντος φλαβυλίου- και ελάχιστο στα 420 nm. Η ένταση του χρώματος αναφέρεται στη συνεισφορά του κόκκινου και κίτρινου στο συνολικό χρώμα. Έτσι μετρούνται στο φασματοφωτόμετρο απορροφήσεις στα 420 και 520 nm καθώς και στα 620 nm έτσι ώστε να συμπεριληφθεί το μπλε ως συνιστώσα στο χρώμα των νέων ερυθρών οίνων. Η ένταση παρουσιάζει την ποσότητα του χρώματος ενός οίνου ενώ η απόχρωση την εξέλιξη του χρώματος προς το πορτοκαλί. Η τελευταία αποτελεί ένδειξη

παραίωσης (Ribéreau-Gayon P. *et al.*, 2006). Ο ερυθρός οίνος αραιώνεται 10 φορές, μεταφέρεται σε κυψελίδα και μετράται η απορρόφηση (OD) στα παραπάνω μήκη κύματος με μάρτυρα το απιονισμένο νερό. Η ένταση και η απόχρωση δίνονται από τις παρακάτω σχέσεις:

$$\text{Ένταση} = (\text{OD}_{420} + \text{OD}_{520} + \text{OD}_{620}) * 10$$

$$\text{Απόχρωση} = \text{OD}_{420} / \text{OD}_{520}$$

### **2.2.5 Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών**

Οι φαινολικές ενώσεις είναι υπεύθυνες για όλες τις διαφορές μεταξύ λευκών και ερυθρών οίνων, κυρίως όμως για το χρώμα και τη γεύση των ερυθρών. Προέρχονται από διαφορετικά μέρη του σταφυλιού και εκχυλίζονται κατά την οινοποίηση.

#### **2.2.5.1 Δείκτης φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ)**

Οι βενζολικοί δακτύλιοι των φαινολικών ενώσεων παρουσιάζουν ισχυρή απορρόφηση στο υπεριώδες φως και συγκεκριμένα στα 280 nm. Μετράται η περιεκτικότητα των φλαβονοειδών και μη φαινολών και κάποιων μη φαινολικών ουσιών που απορροφούν στα 280nm. Μερικά μόρια όπως τα κινναμωμικά οξέα και οι χαλκόνες δεν παρουσιάζουν μέγιστο απορρόφησης στα 280nm. Ωστόσο η παρουσία αυτών στον οίνο δημιουργεί μικρό σφάλμα. Ο ερυθρός οίνος αραιώνεται 100 φορές και τοποθετείται σε κυψελίδα χαλαζία. Μετράται η OD στα 280 nm με μάρτυρα απιονισμένο νερό και ο ΔΦΟ είναι η OD πολλαπλασιασμένη με 100.

#### **2.2.5.2 Μέθοδος Folin-Ciocalteu**

Στη μέθοδο αυτή του OIV-MA-AS2-10, όλες οι φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στον οίνο οξειδώνονται από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το τελευταίο είναι ένα μείγμα φωσφοβολφραμικών ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) και φωσφομολυβδαινικών οξέων ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ) το οποίο μετά την οξείδωση των φαινολών ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίων βολφραμίου  $\text{W}_8\text{O}_{23}$  και μολυβδαινίου  $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ . Το σχηματιζόμενο μπλε χρώμα παρουσιάζει μέγιστο απορρόφησης γύρω στα 750nm και είναι ανάλογο της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα ανθρακικού νατρίου  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες μεταφέρονται κατά σειρά: 50  $\mu\text{L}$  αραιωμένου οίνου κατά 1/5, 2 mL απιονισμένο νερό, 250  $\mu\text{L}$  αντιδραστήριο Folin, 750  $\mu\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20% και 1950  $\mu\text{L}$  απιονισμένο νερό. Μετά από κάθε προσθήκη γίνεται ανάδευση και το διάλυμα μένει σε ηρεμία σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μετά το πέρας της μισής ώρας φωτομετρείται στα 765nm με μάρτυρα που δεν περιέχει τον οίνο του παραπάνω

διαλύματος αλλά απιονισμένο νερό. Οι φαινολικές ουσίες εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος και υπολογίζονται από την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς του γαλλικού οξέος.

### 2.2.5.3 Προσδιορισμός ολικών ανθοκυανών

Οι ανθοκυάνες (At) είναι παρούσες στον οίνο σε διαφορετικές μορφές: τις ελεύθερες (Al) και τις ενωμένες με ταννίνες (Ac), μερικές από τις οποίες αποχρωματίζονται με θειώδη ανυδρίτη SO<sub>2</sub> (TA) ενώ οι υπόλοιπες δεν επηρεάζονται (TAT):

$$At = Al + Ac = Al + TA + TAT$$

Οι χημικές μέθοδοι βασίζονται σε συγκεκριμένες ιδιότητες των ανθοκυανών: αλλαγή χρώματος σύμφωνα με το pH και αποχρωματισμός με θειώδη ανυδρίτη. Εδώ χρησιμοποιείται η δεύτερη.

Σε κωνική φιάλη τοποθετούνται: 0,5 mL αραιωμένου οίνου, 0,5 mL υδατικού διαλύματος υδροχλωρίου HCl 2% και 10 mL αλκοολικού διαλύματος HCl 0,1%. Ετοιμάζονται 2 δοκιμαστικοί σωλήνες οι οποίοι περιέχουν 2,5 mL ο καθένας από το παραπάνω διάλυμα. Στο πρώτο σωλήνα προστίθεται 1 mL απιονισμένο νερό ενώ στο δεύτερο 1 mL διαλύματος όξινου θειώδους νατρίου NaHSO<sub>3</sub>. Και οι δύο σωλήνες αφήνονται σε ηρεμία. Μετά το πέρας των είκοσι λεπτών μετράται η απορρόφηση στα 520 nm με μάρτυρα απιονισμένο H<sub>2</sub>O. Η συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών υπολογίζεται με βάση τη σχέση:

$$\text{Ανθοκυάνες (mg/L)} = (\text{OD}_{\text{H}_2\text{O}} - \text{OD}_{\text{NaHSO}_3}) * 875$$

### 2.2.5.4 Προσδιορισμός ταννινών

Η εκχύλιση ταννινών κατά την οινοποίηση συμβάλλει στη στυπτικότητα και στο χρώμα των ερυθρών οίνων. Οι ταννίνες είναι φαινολικές ενώσεις που σχηματίζουν αδιάλυτα σύμπλοκα με πρωτεΐνες. Οι ταννίνες στα ερυθρά κρασιά αποτελούνται από αλυσίδες πολυμερισμένων φλαβονολών, τις προκυανιδίνες. Όταν οξειδώνονται μετατρέπονται σε κυανιδίνες.

#### 2.2.5.4.1 Ταννίνες BSA (Bovine Serum Albumin)

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των ταννινών στο σταφύλι και στους οίνους (Harbertson *et al.*, 2002). Η πρωτεΐνη αλβουμίνη από τον ορό αίματος βοοειδών σχηματίζει σύμπλοκα με τις ταννίνες τα οποία καθιζάνουν όταν το pH γίνει 4,9, καθώς αυτό αποτελεί το ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης. Η τριαιθανολαμίνη (TEA) είναι απαραίτητη για τη διατήρηση του pH ενώ το SDS για τη διαλυτοποίηση

των συμπλόκων ταννίνης-αλβουμίνης. Ο χλωριούχος σίδηρος(III), αντιδρά με τις φαινολικές ενώσεις και σχηματίζει σύμπλοκα  $Fe(OR)_6^{3-}$  (OR: ιονισμένα φαινολικά μόρια) τα οποία σε αλκαλικό διάλυμα έχουν ιώδες χρώμα και προσδιορίζονται ποσοτικά μετρώντας την απορρόφηση στα 510nm. Για περισσότερη σταθερότητα του αντιδραστηρίου ο χλωριούχος σίδηρος διαλύεται σε υδροχλωρικό οξύ ούτως ώστε να μη σχηματιστεί υδροξείδιο του σιδήρου. Για την ποσοτική παραλαβή των ταννινών είναι απαραίτητο το πρωτεϊνικό διάλυμα να περιέχει διπλάσια ποσότητα αλβουμίνης σε σχέση με τη συγκέντρωση των ταννινών. Οι ταννίνες εκφράζονται σε mg/L ισοδύναμα κατεχίνης. Ο λόγος είναι ότι η κατεχίνη σχηματίζει ιώδη σύμπλοκα με το χλωρίδιο του σιδήρου αλλά όχι με τις πρωτεΐνες (Hagerman and Butler, 1978).

Παρασκευάζονται τα διαλύματα: (1) Model wine (12% αιθανόλη, 5g/L τρυγικό, pH 3,3 με υδροξείδιο του νατρίου 1N), (2) Διάλυμα A (200 mM οξικό οξύ, 170 mM χλωρίδιο του νατρίου, pH 4,9 με υδροξείδιο του νατρίου), (3) Πρωτεϊνικό διάλυμα BSA 1g/L, (4) Διάλυμα TEA-SDS [5% v/v τριαιθανολαμίνη (TEA)-10% w/v δωδέκυλο-θεικό νάτριο SDS], (5) Διάλυμα χλωριούχου σιδήρου(III) ( $FeCl_3$ ) [10 mM  $FeCl_3$  σε 0,01N υδροχλωρικού οξέος]. Ο ερυθρός οίνος αραιώνεται με model wine, δηλαδή με διάλυμα το οποίο έχει τον αλκοολικό βαθμό, την οξύτητα και το pH όπως ένα τυπικό κρασί με τη μόνη διαφορά ότι δεν έχει χρώμα, άρα φαινολικά συστατικά (εδώ δεν έγινε αραιώση λόγω χαμηλής συγκέντρωσης ταννινών στο Μούχταρο).

Σε 500  $\mu$ L οίνου προστίθεται 1 mL πρωτεϊνικό διάλυμα BSA που περιέχει την αλβουμίνη από ορό αίματος βοοειδών, ούτως ώστε να γίνει συμπλοκοποίηση με τις ταννίνες και τα σύμπλοκα να καθιζάνουν. Ακολουθεί ήπια ανάδευση και φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στις 12500 στροφές. Έπειτα στο ίζημα προστίθενται 250  $\mu$ L διαλύματος A - ρυθμιστικό διάλυμα με pH 4,9- χωρίς να διαταραχθεί και ξανά φυγοκεντρείται στον ίδιο χρόνο και στροφές. Στη συνέχεια απομακρύνεται το υπερκείμενο και το ίζημα διαλύεται σε διάλυμα TEA-SDS. Μετράται η απορρόφηση στα 510 nm ( $OD_1$ ). Τέλος προστίθεται 125 $\mu$ L  $FeCl_3$  και μετράται ξανά η απορρόφηση στα 510nm ( $OD_2$ ). Το όργανο μηδενίζεται με TEA-SDS. Τέλος από τη διαφορά  $A=OD_2 - OD_1$  και από την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς κατεχίνης υπολογίζεται η συγκέντρωση ταννινών του δείγματος σε ισοδύναμα κατεχίνης σε mg/L.

#### **2.2.5.4.2 Ταννίνες MCP (Methyl Cellulose Precipitable)**

Ο προσδιορισμός ταννινών με τη μέθοδο MCP αντιστοιχεί σε μεγάλο βαθμό στη μέτρηση των συνολικών ταννινών ενός ερυθρού οίνου. Βασίζεται στην αλληλεπίδραση πολυμερούς-ταννινών σχηματίζοντας σύμπλοκα τα οποία καθιζάνουν. Το πολυμερές



που χρησιμοποιείται είναι η μεθυλοκυτταρίνη, ένας πολυσακχαρίτης. Το θειϊκό αμμώνιο ελαχιστοποιεί τη επαναδιαλυτοποίηση του ιζήματος αλλά δεν κατακρημνίζει τις ταννίνες (Sarneckis *et al.*, 2006).

Παρασκευάζεται διάλυμα μεθυλοκυτταρίνης 0,04% και 600  $\mu\text{L}$  αυτού αναμειγνύεται με 50  $\mu\text{L}$  αραιωμένου οίνου κατά 1:1. Έπειτα από είκοσι λεπτά προστίθενται 400  $\mu\text{L}$  κορεσμένου διαλύματος θειικού αμμωνίου και 950 $\mu\text{L}$  απιονισμένου νερού. Το διάλυμα παραμένει σε ηρεμία δέκα λεπτά και φυγοκεντρείται. Το υπερκείμενο μεταφέρεται σε κυψελίδα χαλαζία και μετράται η απορρόφηση στα 280 nm ( $A_{280-s}$ ). Χρειάζεται όμως να παρασκευαστούν διαλύματα (μάρτυρες) όπου οι ταννίνες να μην καθιζάνουν. Αυτά περιέχουν τις ίδιες ουσίες με μόνη διαφορά ότι αντί για μεθυλοκυτταρίνη έχουν απιονισμένο νερό. Μετράται η απορρόφηση του υπερκειμένου στα 280nm ( $A_{280-bl}$ ). Η  $A_{280-bl}$  αποτελεί ένδειξη όλων των φαινολικών ενώσεων ενώ η  $A_{280-s}$  αποτελεί ένδειξη των φαινολικών ενώσεων που παραμένουν διαλυτές μετά την κατακρήμιση (Awri, 2009). Το όργανο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό. Η απορρόφηση που οφείλεται στις ταννίνες είναι ίση με  $A_{280-bl} - OD_{280-s}$ . Κατασκευάζοντας πρότυπη καμπύλη αναφοράς κατεχίνης, υπολογίζεται η συγκέντρωση των τανινών του δείγματος σε ισοδύναμα κατεχίνης σε mg/L (C1). Η τελική συγκέντρωση τανινών C2 σε mg/L είναι ίση με  $C1 * 40 *$  (αραίωση).

#### **2.2.5.5 Προσδιορισμός ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC**

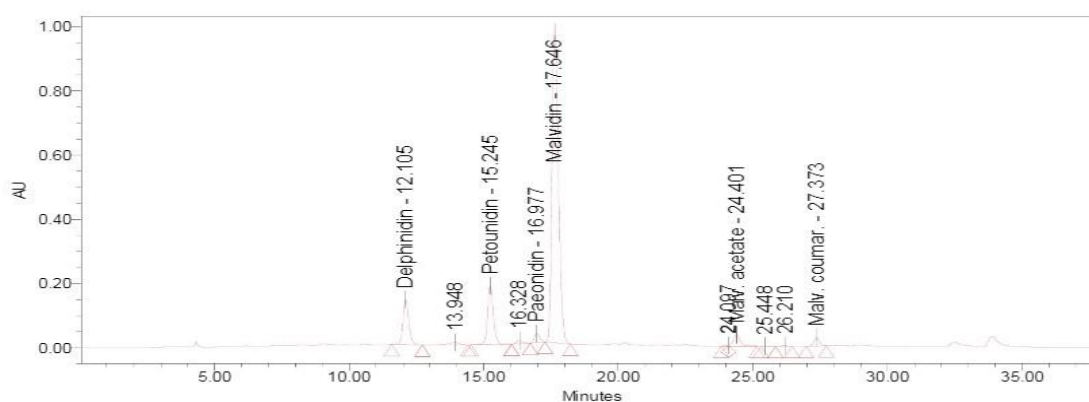
Για τον προσδιορισμό των ανθοκυανών με HPLC χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος όπως περιγράφεται και σε προηγούμενες μελέτες (Kallithraka *et al.*, 2005). Πριν τη χρωματογραφία, τα δείγματα φιλτραρίστηκαν με ειδική σύριγγα πορότητας 0,2  $\mu\text{m}$  και τοποθετήθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια του αυτόματου δειγματολήπτη. Χρησιμοποιήθηκε εξοπλισμός που αποτελείται από συσκευή χρωματογραφίας HP 1050 συζευγμένη με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων Jasco MD-910. Οι αναλύσεις διεξήχθησαν σε στήλη Restek Pinnacle II C18, 250 x 4.0 mm x 5  $\mu\text{m}$ .

<b>Μέθοδος</b>	<b>Προδιορισμός ανθοκυανών</b>
<b>Στήλη</b>	Restek Pinnacle II C18 (250 x 4.0 mm x 5 $\mu\text{m}$ )
<b>Ρυθμός ροής διαλυτών</b>	1 mL/min

Ανιχνευτής	Diode array (DAD; Jasco MD-910)				
Μήκος κύματος ανίχνευσης	520 nm				
Όγκος εγχύσεως (injection)	10μL				
Διαλύτες	Διαλύτης A: 10% φορμικό οξύ σε νερό καθαρότητας HPLC Διαλύτης B: MeOH καθαρότητας HPLC				
Πρόγραμμα HPLC	Χρόνος σε min	0	22	30	35
	% διαλύτη A	95	50	5	95
	% διαλύτη B	5	50	95	5
Καμπύλη αναφοράς	Μαλβιδίνη (Mlv) mg/L $y = 2,554x - 0,0202$				
Έκφραση αποτελεσμάτων	Ισοδύναμα Mlv σε mg/L				

*Πίνακας 3.* Μέθοδος προσδιορισμού ανθοκυανών HPLC

Ένα τυπικό χρωματογράφημα έκλουσης των ανθοκυανών της ποικιλίας Μούχταρο φαίνεται στην παρακάτω εικόνα.



*Εικόνα 23.* Χρωματογράφημα που απεικονίζει τις ανθοκυάνες του Μούχταρου. 3-O μονογλυκοζίτες της δελφινιδίνης (Delphinidin), πετουνιδίνης (Petounidin), παιονιδίνης (Peonidin), μαλβιδίνης (Malvidin), τους οξικούς (Malv. Acetate) και κουμαρικούς εστέρες της μαλβιδίνης (Malv. Coumar)

### 2.3. Οργανοληπτική αξιολόγηση

Ο οργανοληπτική αξιολόγηση που διεξήχθη είχε ως στόχο την αξιολόγηση των παραγόμενων οίνων της ποικιλίας Μούχταρο ως προς την όψη και την όσφρηση. Πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών σε κατάλληλα διαμορφωμένο χώρο, εξοπλισμένο με ξεχωριστούς λευκούς πάγκους και ποτήρια δοκιμής οίνου. Η εκπαίδευση των δοκιμαστών έγινε με χρήση πρότυπων ουσιών οι οποίες προστέθηκαν σε έναν τυχαίο ερυθρό οίνο ούτως ώστε να αναγνωριστούν οι αντίστοιχες οσμές τους στους εξεταζόμενους οίνους. Οι δοκιμαστές συμπλήρωσαν για τα εξεταζόμενα δείγματα την παρακάτω φόρμα αξιολόγησης (Εικόνα 24):



Εικόνα 25. Οργανοληπτικός έλεγχος

Κλίμακα: 1-9	Ημερομηνία:			
Δοκιμαστής				
Δείγμα				
<b>Όψη</b>				
Ένταση Χρώματος				
<b>Μύτη</b>				
Ένταση αρώματος				
Φράουλα				
Βύσσινο				
Φρούτα του δάσους				
Μπαχαρικά(Πιπέρι, Γαρύφαλλο)				
Βοτανικά/Χορτώδη αρώματα				
Βανίλια				
Άνθη				
Καραμέλα				

Εικόνα 24. Φόρμα αξιολόγησης των παραχθέντων οίνων

Στο πάνελ γευσιγνωσίας συμμετείχαν 10 δοκιμαστές, φοιτητές και διδάσκοντες του μεταπτυχιακού οινολογίας. Η κλίμακα αξιολόγησης ήταν 1-9, με το 1 να αντιπροσωπεύει την ελάχιστη αντίληψη για κάθε παράμετρο και το 9 τη μέγιστη. Οι δοκιμαστές χρησιμοποίησαν την κλίμακα για να χαρακτηρίσουν τους οίνους ως προς την ένταση χρώματος και αρώματος και για το πόσο μυρίζουν φράουλα, βύσσινο, φρούτα του δάσους, μπαχαρικά, βοτανικά, άνθη, βανίλια και καραμέλα. Ο

οργανοληπτικός έλεγχος έγινε 2 μέρες και στην κάθε ημέρα οι δοκιμαστές κρίθηκαν να αξιολογήσουν τέσσερα σετ δειγμάτων. Το κάθε δείγμα αντιστοιχούσε σε έναν τυχαίο τριψήφιο αριθμό. Τα τρία πρώτα σετ περιείχαν τον αφέκαστο οίνο και τους τρεις οίνους της κάθε ουσίας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Το τελευταίο σετ περιείχε ξανά τον αφέκαστο οίνο και τους οίνους της κάθε ουσίας στις μεσαίες τους συγκεντρώσεις.

### **Στατιστική ανάλυση**

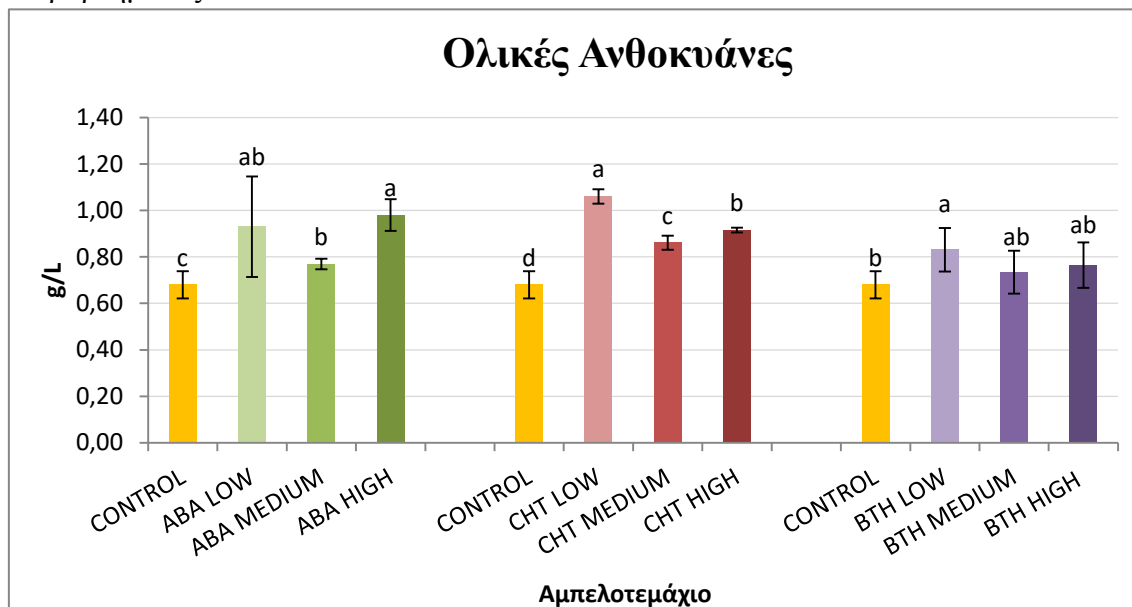
Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης Statgraphics. Το Tukey's HSD (honest significant difference) test χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση των δειγμάτων όταν παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές μετά την εφαρμογή ANOVA ( $p < 0.05$ ) στα αποτελέσματα των αναλύσεων. Στα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στη συνέχεια αναγράφεται το μέσο σφάλμα των επαναλήψεων ως  $\pm$  του μέσου όρου αυτών ή ως μπάρες όταν τα αποτελέσματα απεικονίζονται σε γράφημα. Με a, b, c κ.ο.κ χαρακτηρίζεται η στατιστική διαφορά των δειγμάτων (σε επίπεδο 0.05%), ενώ δείγματα με ίδιο γράμμα δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους.

### 3. Αποτελέσματα

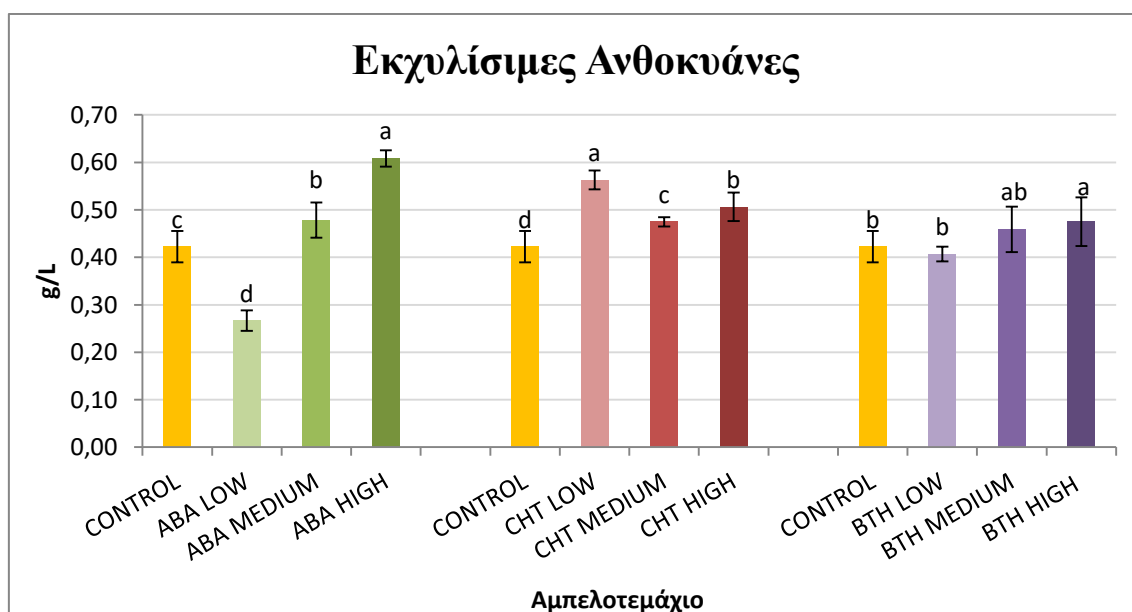
#### 3.1 Αποτελέσματα αναλύσεων στις ράγες

##### 3.1.1 Συγκέντρωση ανθοκυανών και ταννινών (μέθοδος Glories)

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα I του Παραρτήματος.

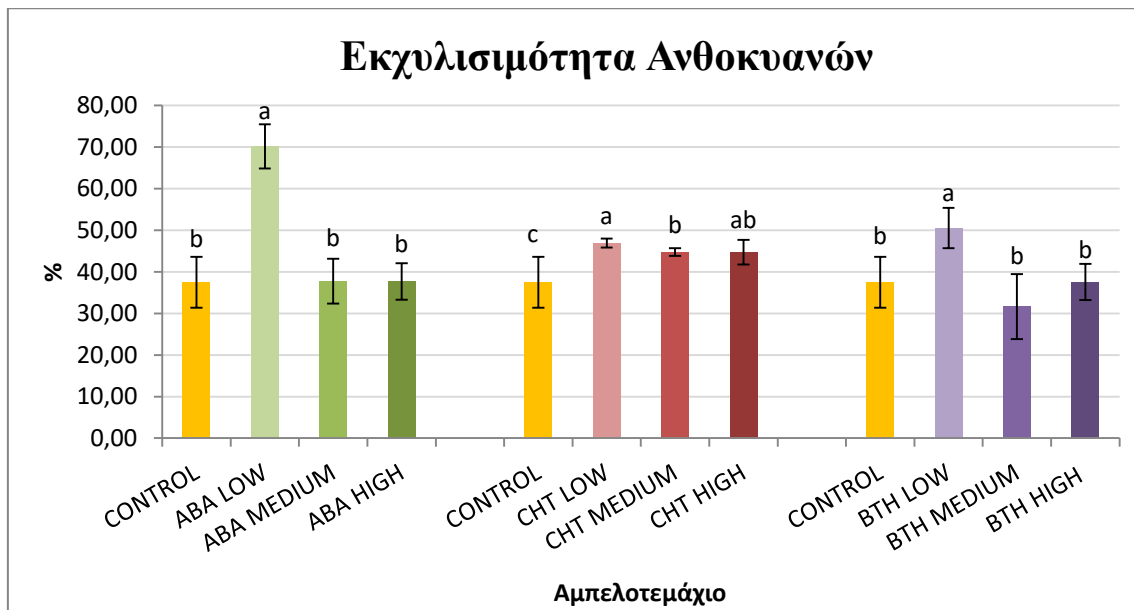


*Διάγραμμα 1.* Ολικές ανθοκυάνες των ραγών σε γραμμάρια ανά λίτρο γλεύκος έπειτα από εφαρμογή ABA, CHT και BTH (Μέθοδος Glories). Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).



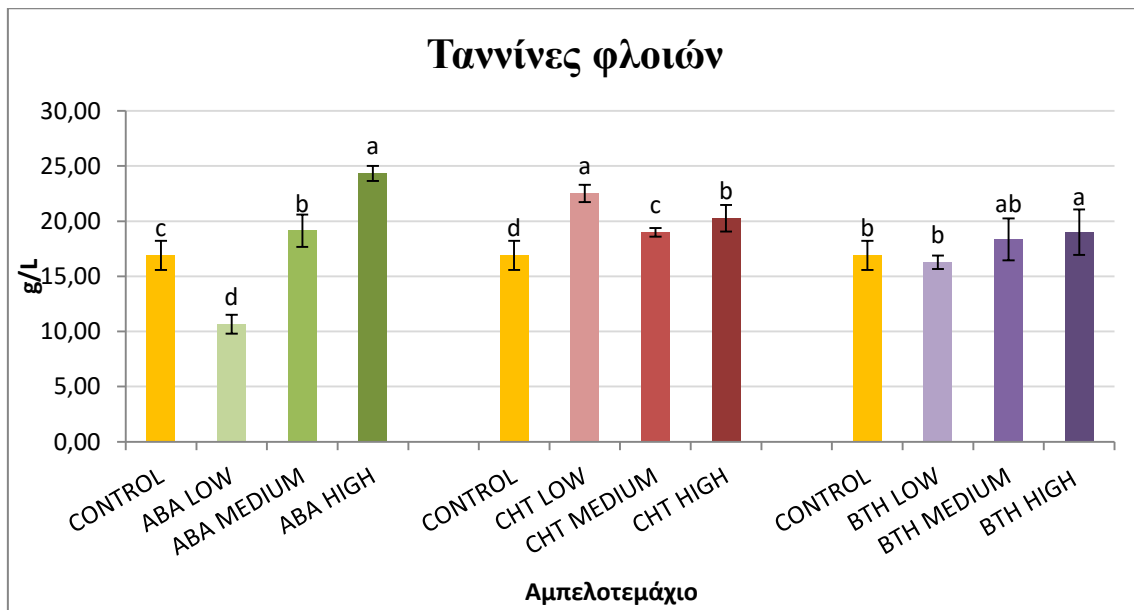
*Διάγραμμα 2.* Εκχυλίσιμες ανθοκυάνες των ραγών σε γραμμάρια ανά λίτρο γλεύκος έπειτα από εφαρμογή ABA, CHT και BTH (Μέθοδος Glories). Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Οι ολικές ανθοκυάνες των ραγών λαμβάνουν τιμές από 0,68-1,06 g/L ενώ οι εκχυλίσιμες 0,27-0,61 g/L. Η ορμόνη και οι φυτοδιεγέρτες αύξησαν το περιεχόμενο των ανθοκυανών σε σχέση με το μάρτυρα, με τη χιτοζάνη να λαμβάνει συνολικά τις μεγαλύτερες τιμές. Στο Διάγραμμα 1 διακρίνεται καθαρά η αύξηση των ολικών ανθοκυανών έπειτα από εφαρμογή της οποιασδήποτε δόσης της κάθε ουσίας. Πιο συγκεκριμένα το αμπελοτεμάχιο που περιείχε την υψηλή δόση του αμπισιτικού οξέος εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή (διαφορά 0,3 g/L από το μάρτυρα) συγκριτικά με τα υπόλοιπα ABA και όλα διέφεραν στατιστικά σημαντικά από το CONTROL. Στο Διάγραμμα 2, παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης εκχυλίσιμων ανθοκυανών ανάλογη με την αύξηση της δόσης της ουσίας ABA (διαφορά 0,21 g/L από το μάρτυρα). Το αμπελοτεμάχιο ABA LOW κατείχε τη μικρότερη τιμή και το ABA HIGH τη μεγαλύτερη σε σχέση με το μάρτυρα και διέφεραν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους και με το control. Έπειτα, μεταξύ των αμπελοτεμαχίων CHT, εκείνο με τη χαμηλή δόση παρουσίασε την υψηλότερη συγκέντρωση ολικών και εκχυλίσιμων ανθοκυανών (διαφορά 0,38 και 0,14 g/L από το μάρτυρα), ενώ η χαμηλότερη ανήκε σε εκείνο της μεσαίας δόσης, με στατιστικώς σημαντικές διαφορές με το control. Όσον αφορά την εφαρμογή BTH, η μικρή δόση εμφάνισε την υψηλότερη συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών και διέφερε στατιστικά από τον μάρτυρα. Η μεσαία δόση BTH παρουσίασε την μικρότερη τιμή ενώ δεν διέφερε στατιστικά από το control (Διάγραμμα 1). Εντούτοις με αύξηση της δόσης BTH αυξήθηκε η συγκέντρωση των εκχυλίσιμων ανθοκυανών, με το αμπελοτεμάχιο της υψηλής δόσης να είναι το μοναδικό που διαφέρει στατιστικά από το μάρτυρα (Διάγραμμα 2). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι οι εφαρμογές στο αμπέλι επιτάχυναν την ωρίμανση των φλοιών σε σχέση με τη σύνθεση των ανθοκυανών.

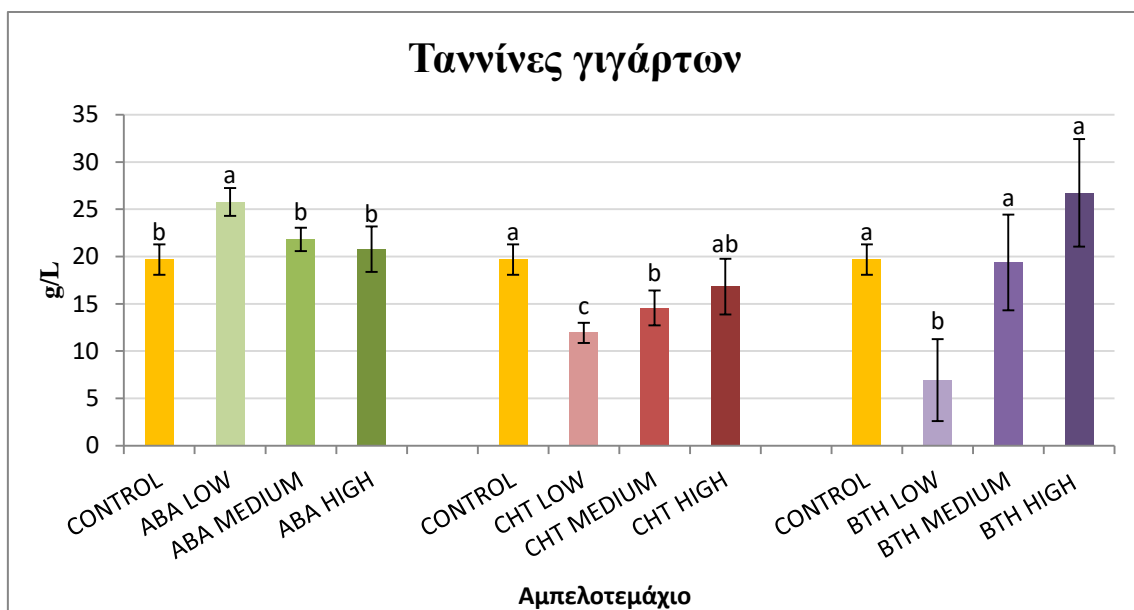


*Διάγραμμα 3.* Ποσοστό εκχυλισιμότητας των ανθοκυανών των ραγών έπειτα από εφαρμογή ABA, CHT και BTH (Μέθοδος Glories). Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Στο Διάγραμμα 3 παρουσιάζονται τα ποσοστά εκχυλισιμότητας ανθοκυανών των ραγών. Οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ 31,64 και 70,17%. Η εφαρμογή ABA σημείωσε τις μεγαλύτερες τιμές εκχυλισιμότητας ανθοκυανών στο σύνολό της. Ακολούθησε η εφαρμογή της CHT και της BTH. Οι χαμηλές δόσεις των ουσιών εμφανίζουν τα υψηλότερα ποσοστά. Μεταξύ των αμπελοτεμαχίων ABA δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με το CONTROL εκτός από το ABA LOW του οποίου η εκχυλισιμότητα απέκτησε τη μεγαλύτερη τιμή καθώς αυξήθηκε κατά 32,57%. Με εφαρμογή CHT αυξήθηκε το ποσοστό (κατά 9,42% για το CHT LOW) με την υψηλή δόση να παρουσιάζει τη μικρότερη τιμή και να διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με το CONTROL. Το αμπελοτεμάχιο της μεσαίας δόσης εκτός του ότι διέφερε στατιστικά με το μάρτυρα, είχε και τη μικρότερη τιμή ανάμεσα στα αμπελοτεμάχια όπου εφαρμόστηκε η ουσία. Όσον αφορά τα αμπελοτεμάχια BTH, εκείνο με τη μεσαία δόση είχε το χαμηλότερο ποσοστό, ενώ εκείνο με τη χαμηλή δόση το μεγαλύτερο καθώς διέφερε στατιστικώς σημαντικά και κατά 13,02% σε σχέση με το μάρτυρα.



**Διάγραμμα 4.** Ταννίνες των φλοιών σε γραμμάρια ανά λίτρο γλεύκους έπειτα από εφαρμογή ABA, CHT και BTH (Μέθοδος Glories). Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

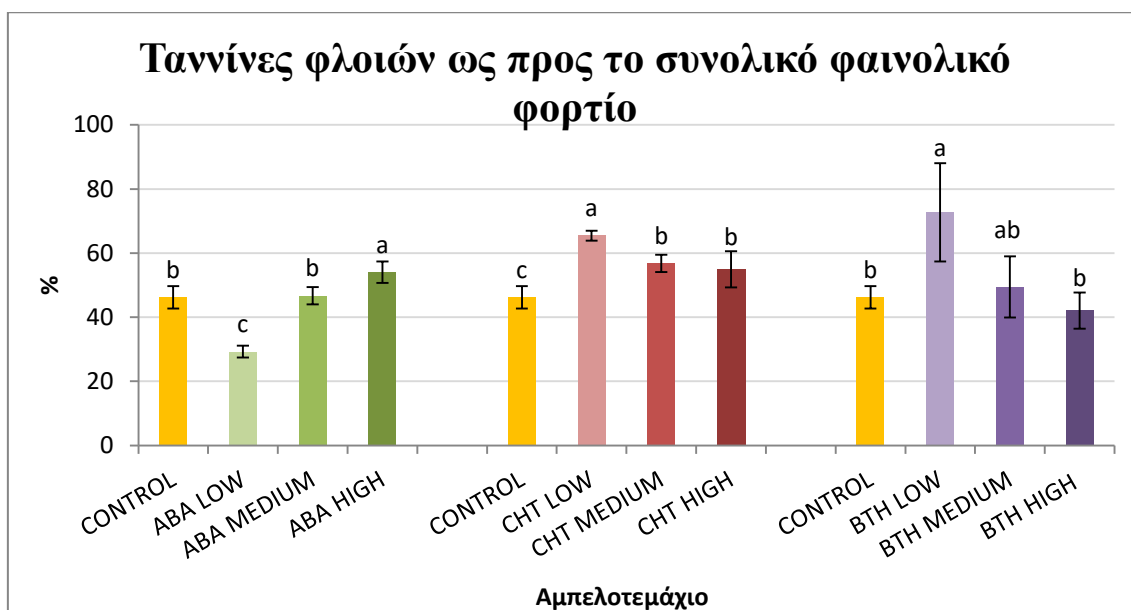


**Διάγραμμα 5.** Ταννίνες γιγάρτων σε γραμμάρια ανά λίτρο γλεύκους έπειτα από εφαρμογή ABA, CHT και BTH (Μέθοδος Glories). Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Οι ταννίνες των φλοιών λαμβάνουν τιμές από 10,67 έως 24,32 g/L, ενώ οι ταννίνες των γιγάρτων τιμές μεταξύ 6,92 και 26,75 g/L. Τα αμπελοτεμάχια χιτοζάνης είχαν τις μεγαλύτερες τιμές ταννινών των φλοιών. Ακολούθησαν τα αμπελοτεμάχια της βενζοθειαδιαζόλης και του αμπισσικού οξέος. Με εφαρμογή ABA, παρατηρήθηκε βαθμιαία αύξηση της συγκέντρωσης ταννινών του φλοιού -έως 7,43 g/L από το CONTROL- από τη μικρή προς την υψηλή δόση και με στατιστικά σημαντική διαφορά

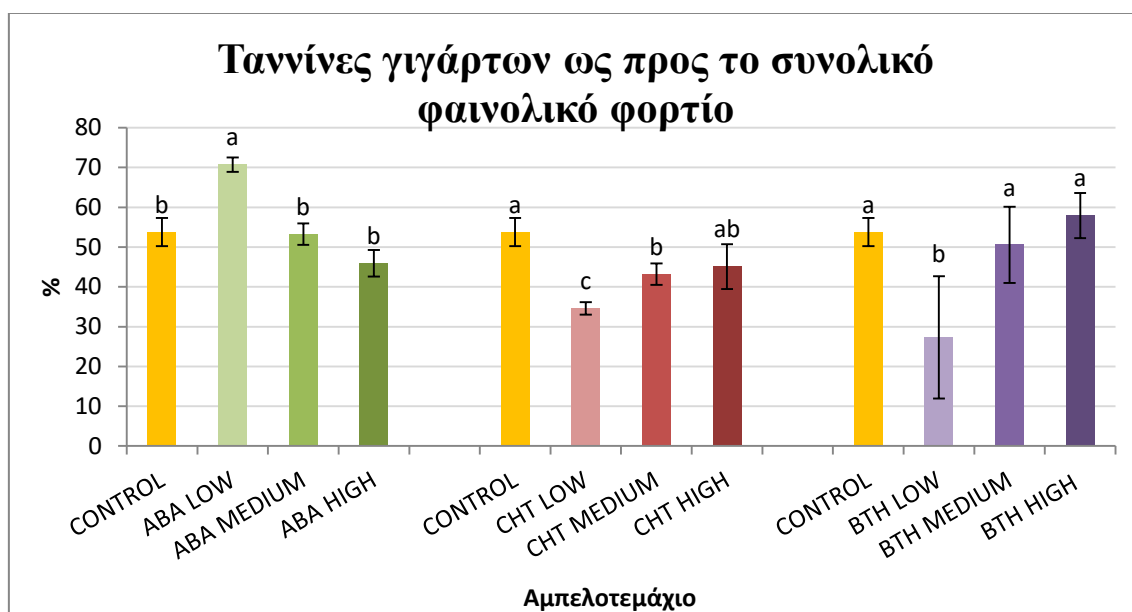


από το μάρτυρα. Μεταξύ των αμπελοτεμαχίων CHT, εκείνο με την μικρή δόση εμφάνισε την μεγαλύτερη τιμή συγκέντρωσης ταννινών του φλοιού (στατιστικά σημαντική διαφορά κατά 1,46 g/L από το μάρτυρα), ενώ εκείνο με την μεσαία-το οποίο διέφερε στατιστικά από το control-, τη μικρότερη τιμή. Με εφαρμογή BTH παρατηρήθηκε επίσης μία αύξηση στη συγκέντρωση ταννινών του φλοιού ανάλογη με την αύξηση της δόσης, με το αμπελοτεμάχιο BTH HIGH να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή και να διαφέρει στατιστικά και κατά 2,10 g/L από το μάρτυρα (Διάγραμμα 4). Οι ταννίνες των γιγάρτων έλαβαν τις μεγαλύτερες τιμές έπειτα από εφαρμογή αμπισσικού οξέος. Ακολούθησαν οι τιμές των αμπελοτεμαχίων BTH και έπειτα CHT. Οι ταννίνες των γιγάρτων αυξήθηκαν αντιστρόφως ανάλογα με τη δόση ABA, με το αμπελοτεμάχιο ABA LOW να έχει την υψηλότερη τιμή και να διαφέρει στατιστικά από το CONTROL και κατά 6,08 g/L. Η μεγάλη δόση ABA παρουσίασε τη μικρότερη τιμή και δεν διέφερε στατιστικά από το μάρτυρα. Με εφαρμογή CHT, μειώθηκε η συγκέντρωση ταννινών των γιγάρτων κατά 7,77 g/L συγκριτικά με το μάρτυρα, ωστόσο το αμπελοτεμάχιο CHT HIGH εμφάνισε την υψηλότερη τιμή και το CHT LOW τη χαμηλότερη, με στατιστικώς σημαντική διαφορά από τον μάρτυρα αλλά όχι μεταξύ τους. Η μοναδική δόση BTH που επέφερε αύξηση στις ταννίνες των γιγάρτων συγκριτικά με το CONTROL ήταν η υψηλή (διαφορά κατά 7,05 g/L), αλλά δεν διέφερε στατιστικώς σημαντικά. Όμως, η χαμηλή δόση είχε τη μικρότερη τιμή και διέφερε σημαντικά από το μάρτυρα (Διάγραμμα 5).



**Διάγραμμα 6.** Ταννίνες φλοιών ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο σε % έπειτα από εφαρμογή ABA, CHT και BTH (Μέθοδος Glories). Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Οι ταννίνες των φλοιών αποτελούν το ελάχιστο 29,28% και το μέγιστο 72,70% του συνολικού φαινολικού φορτίου. Γενικά, η εφαρμογή CHT είχε ως αποτέλεσμα την μεγαλύτερη συνεισφορά ταννινών του φλοιού. Ακολούθησε η BTH και τέλος το ABA. Μεταξύ των αμπελοτεμαχίων ABA, παρατηρείται μία αναλογία δόσης-ταννινών φλοιού, με το ABA HIGH να έχει τη μεγαλύτερη τιμή και να διαφέρει στατιστικά σημαντικά και κατά 7,85% από το CONTROL, ενώ το ABA LOW παρουσίασε τη μικρότερη τιμή και επιπλέον διέφερε στατιστικά από τον μάρτυρα. Με εφαρμογή CHT αυξήθηκε το ποσοστό έως 19,22%, με την υψηλότερη τιμή να ανήκει στο αμπελοτεμάχιο CHT LOW και με μία στατιστική διαφορά από το μάρτυρα. Η χαμηλότερη τιμή μεταξύ των εφαρμοσθέντων αμπελοτεμαχίων ανήκε στο CHT HIGH το οποίο διέφερε επίσης από το μάρτυρα. Η χαμηλή δόση BTH φαίνεται να λαμβάνει το μεγαλύτερο ποσοστό μεταξύ των υπολοίπων δόσεων και να διαφέρει στατιστικώς και κατά 26,49% από το CONTROL. Η υψηλή δόση δεν διέφερε στατιστικά από το μάρτυρα αλλά είχε τη μικρότερη τιμή (Διάγραμμα 6).



**Διάγραμμα 7.** Ταννίνες γιγάρτων ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο σε % αναλογία έπειτα από εφαρμογή ABA, CHT και BTH (Μέθοδος Glories). Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

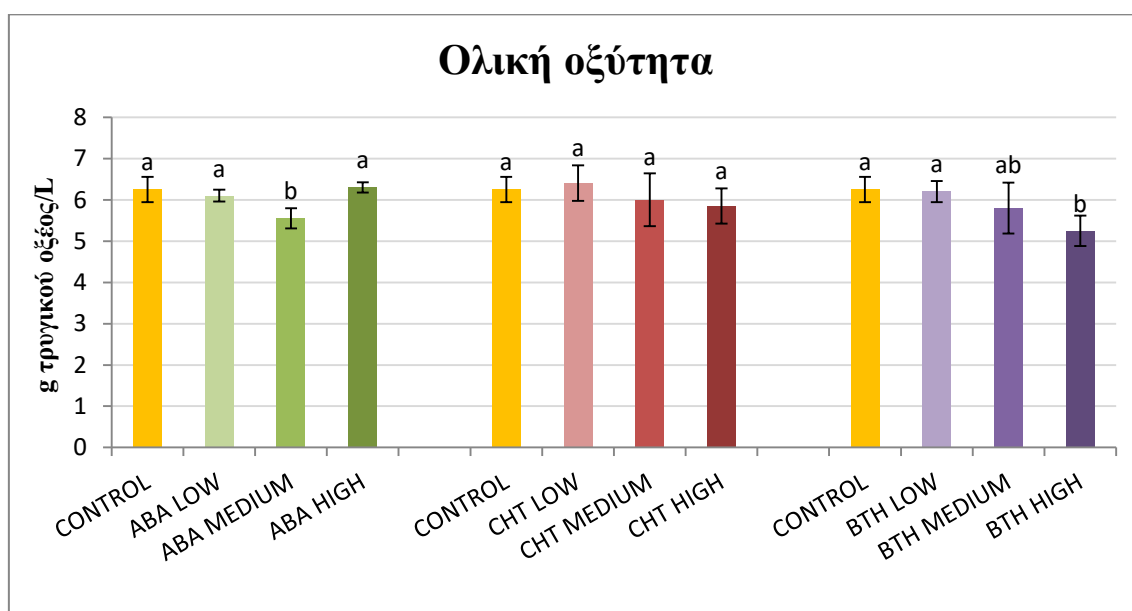
Οι ταννίνες των γιγάρτων αποτελούν το ελάχιστο 27,30% και το μέγιστο 70,72% του συνολικού φαινολικού φορτίου. Συνολικά, μέσω εφαρμογής ABA, σημειώθηκαν οι μεγαλύτερες τιμές συνεισφοράς ταννινών των γιγάρτων. Ακολούθησε η εφαρμογή CHT και τέλος εκείνη της BTH. Παρατηρείται αύξηση της τιμής αντιστρόφως ανάλογη της δόσης ABA, με το αμπελοτεμάχιο ABA LOW να έχει τη μεγαλύτερη και να διαφέρει στατιστικά και κατά 16,93% από το CONTROL. Με εφαρμογή οποιασδήποτε δόσης

CHT, διακρίνεται μείωση έως 19,22%. Μεταξύ λοιπόν των αμπελοτεμαχίων CHT, το CHT HIGH είχε την μεγαλύτερη τιμή αλλά δεν διέφερε στατιστικά από το μάρτυρα ενώ το CHT LOW είχε τη μικρότερη όμως σε διέφερε στατιστικά από το CONTROL. Η εφαρμογή BTH είχε ως αποτέλεσμα τη μερική αύξηση του ποσοστού, εκτός από τη χαμηλή δόση η οποία όχι μόνο μείωσε την τιμή κατά 26,49% (άρα είχε και τη χαμηλότερη τιμή) αλλά και ήταν η μόνη που διέφερε στατιστικά από το μάρτυρα. Η υψηλή δόση από την άλλη παρουσίασε την μεγαλύτερη τιμή και δεν διέφερε στατιστικά από το CONTROL (Διάγραμμα 7).

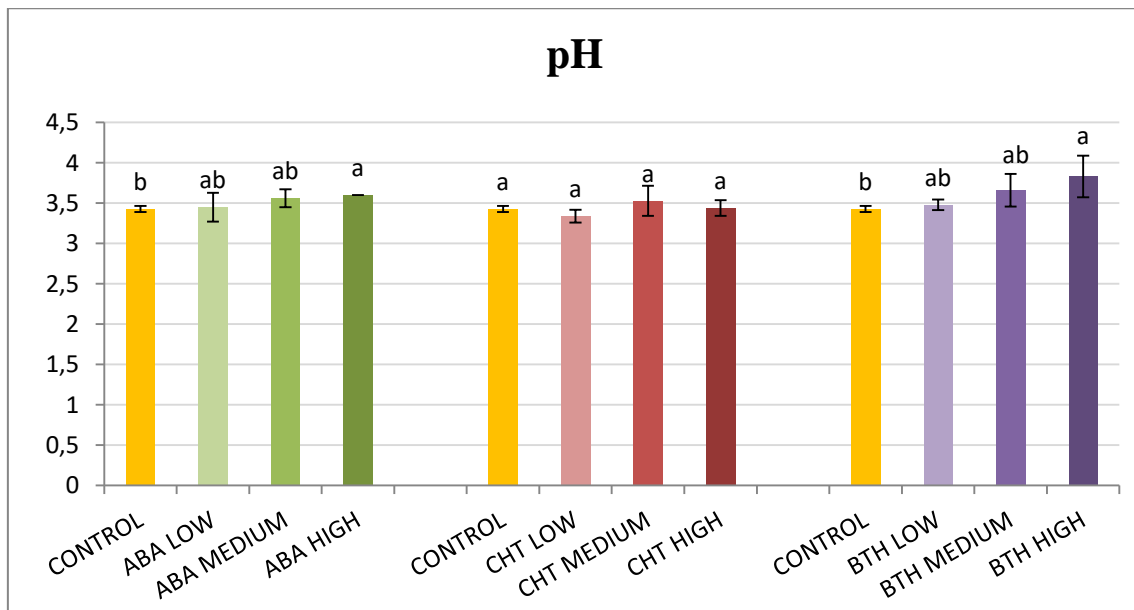
### 3.2 Αποτελέσματα αναλύσεων των παραγόμενων οίνων

#### 3.2.1 Ολική οξύτητα-pH

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα II του Παραρτήματος.



*Διάγραμμα 8.* Ολική οξύτητα σε g τρυγικού οξέος ανά λίτρο των οίνων μετά από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

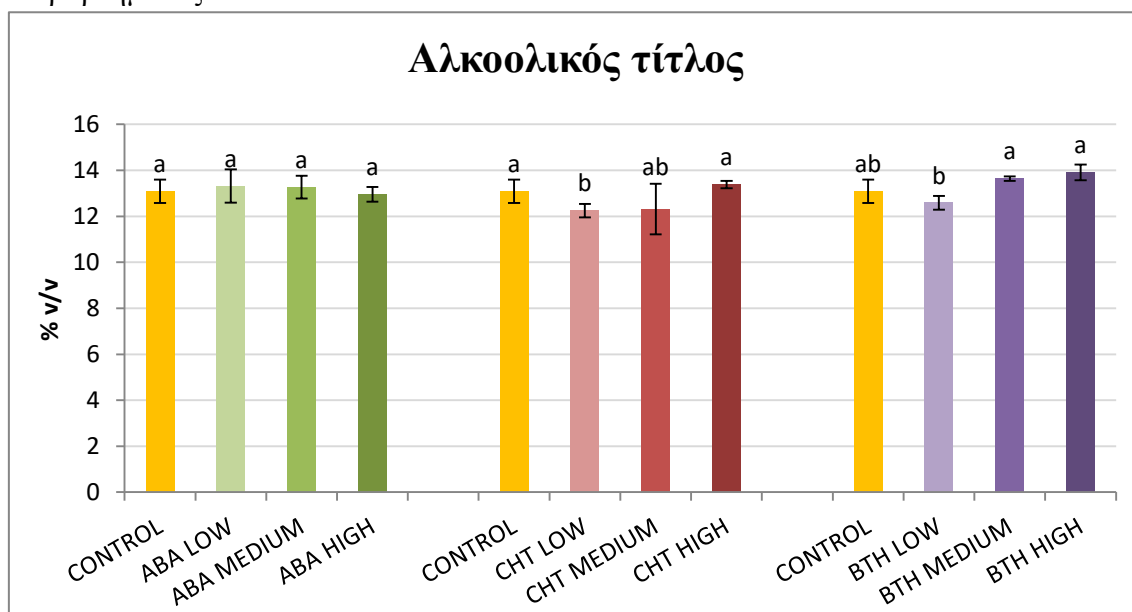


**Διάγραμμα 9.** pH των οίνων μετά από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Γενικά οι τιμές κυμαίνονται σε φυσιολογικά επίπεδα (5,25-6,4 g τρυγικού οξέος/L για την ολική οξύτητα και 3,34-3,83 για το pH) (Διάγραμμα 8 και 9). Οι τιμές ολικής οξύτητας της κάθε ουσίας έχουν μικρή διαφορά σε σχέση με το μάρτυρα ενώ οι τιμές pH παρουσίασαν μεγαλύτερη μεταβλητότητα. Οι οίνοι CHT σημείωσαν τις υψηλότερες τιμές ολικής οξύτητας μετά τους οίνους ABA και BTH. Αντίθετα οι οίνοι BTH είχαν το μεγαλύτερο pH μετά τους οίνους ABA και CHT. Με εφαρμογή ABA, μόνο του οίνου ABA HIGH η τιμή ολικής οξύτητας αυξήθηκε αλλά δεν διέφερε στατιστικά από το μάρτυρα, ενώ η χαμηλότερη ήταν εκείνη του ABA MEDIUM, ο οποίος διέφερε στατιστικά και κατά 0,7 g/L από το CONTROL. Το pH αυξήθηκε ανάλογα προς τη δόση ABA, με τον ABA HIGH να αποκτά την υψηλότερη τιμή και να διαφέρει στατιστικά και κατά 0,2 μονάδες περισσότερο από το μάρτυρα. Υπό την επίδραση CHT, οι τιμές δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά. Η ολική οξύτητα μειώθηκε έως 0,4 g/L αυξανόμενης της δόσης, εκτός από την τιμή του CHT LOW που ήταν υψηλότερη κατά 0,15 από το CONTROL. Τη μικρότερη τιμή ολικής οξύτητας παρουσίασε ο οίνος CHT HIGH. Το pH αυξήθηκε κατ'αναλογία με την συγκέντρωση της ουσίας μόνο που ο CHT MEDIUM παρουσίασε την υψηλότερη τιμή και δεν διέφερε στατιστικώς σημαντικά από το μάρτυρα. Ωστόσο με εφαρμογή BTH παρατηρήθηκε μείωση της ολικής οξύτητας έως 1 g/L και αύξηση του pH έως 0,4 μονάδες από τη χαμηλή προς την υψηλή συγκέντρωση φυτοδιεγέρτη με τον οίνο BTH HIGH να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με το μάρτυρα.

### 3.2.2 Αλκοολικός τίτλος

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα ΙΙΙ του Παραρτήματος.

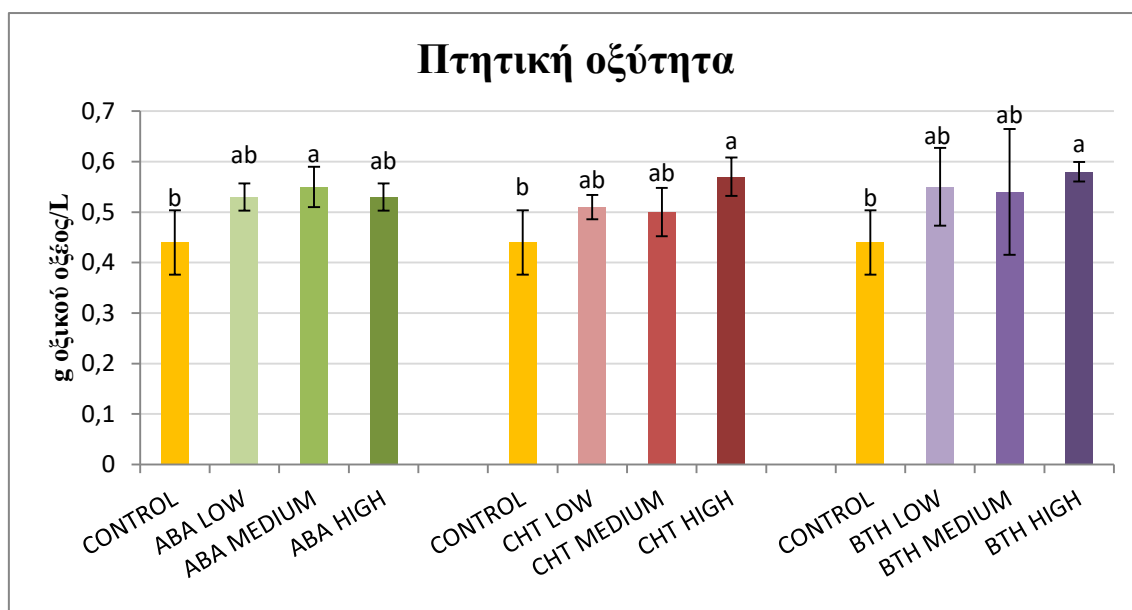


*Διάγραμμα 10.* Αλκοολικός τίτλος % κατ'όγκο των οίνων έπειτα από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Υπήρξε μεγάλη διακύμανση των αλκοολικών τίτλων των οίνων έπειτα από εφαρμογή των ουσιών (12,25-13,91 % v/v) (Διάγραμμα 10). Τις μεγαλύτερες τιμές παρουσίασαν οι οίνοι BTH και ακολούθησαν οι οίνοι ABA και CHT. Υπό την επίδραση ABA δε σημειώθηκε ιδιαίτερη μεταβολή της τιμής ούτε στατιστικές σημαντικές διαφορές. Ωστόσο ο οίνος ABA LOW είχε μεγαλύτερο αλκοολικό τίτλο (κατά 0,23 μονάδες) και ο ABA HIGH τον μικρότερο σε σχέση με το μάρτυρα. Η τιμή αλκοολοπεριεκτικότητας του CHT HIGH ήταν η μεγαλύτερη (κατά 0,29 μονάδες) και δεν είχε στατιστική σημαντική διαφορά σε σχέση με το μάρτυρα ενώ του CHT LOW η μικρότερη, καθώς ο τελευταίος διέφερε στατιστικά σημαντικά και κατά 0,84 μονάδες συγκριτικά με το CONTROL. Με εφαρμογή BTH αυξήθηκε σημαντικά ο αλκοολικός τίτλος σε σχέση με το μάρτυρα έως 0,82 % v/v κατ'αναλογία προς τη δόση. Ο οίνος BTH HIGH παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές από το CONTROL. Ωστόσο ο οίνος με τη χαμηλή συγκέντρωση της ουσίας είχε τη χαμηλότερη τιμή, δηλαδή 0,5 μονάδες λιγότερο από τον μάρτυρα και δεν διέφερε στατιστικά από εκείνον.

### 3.2.3 Πτητική οξύτητα

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα III του Παραρτήματος.

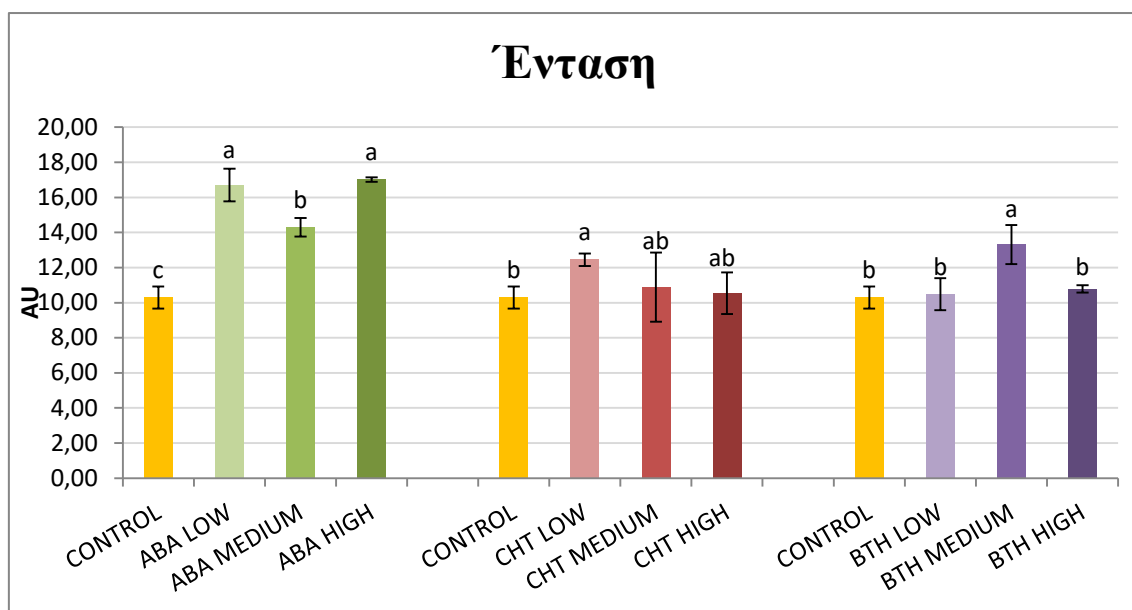


*Διάγραμμα 11.* Πτητική οξύτητα σε g οξικού οξέος ανά λίτρο των οίνων έπειτα από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

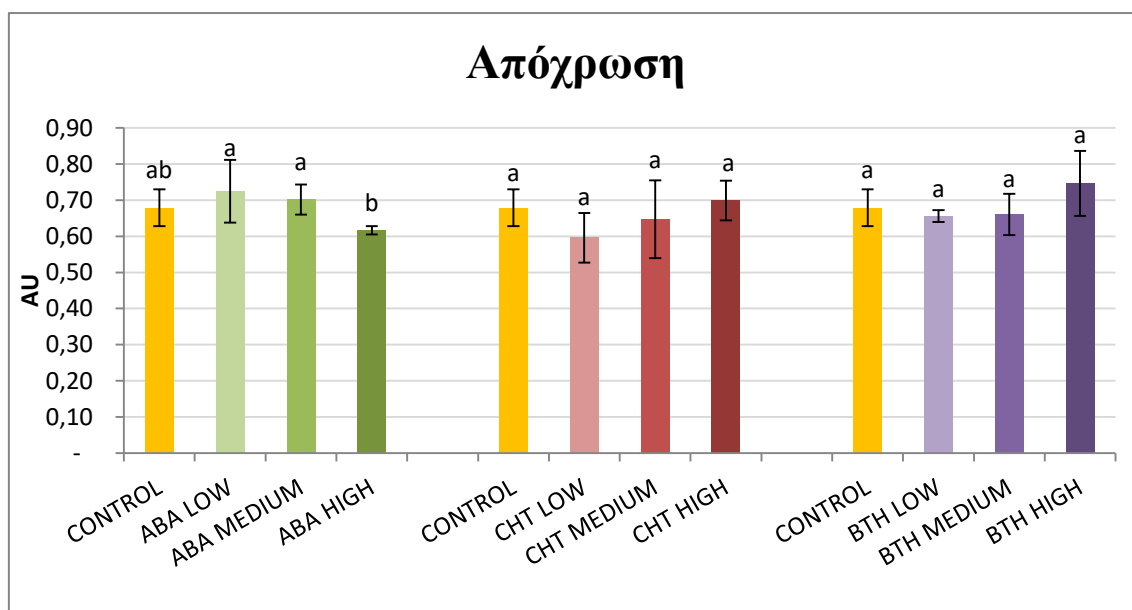
Απ' ότι φαίνεται στο Διάγραμμα 11, οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ 0,44 και 0,58 g οξικού οξέος/L. Γενικά η πτητική οξύτητα αυξήθηκε σε σχέση με το μάρτυρα, μετά από την εφαρμογή της κάθε ουσίας, με τους οίνους BTH να λαμβάνουν τις μεγαλύτερες τιμές και τους οίνους CHT τις μικρότερες. Αναφορικά με την ορμόνη του αμπισικού οξέος, την υψηλότερη τιμή την είχε ο οίνος ABA MEDIUM και διέφερε στατιστικά σημαντικά και κατά 0,11 μονάδες από το CONTROL, ενώ την μικρότερη την είχαν οι οίνοι της μικρής και μεγάλης δόσης οι οποίοι δεν διέφεραν από το μάρτυρα στατιστικά. Η πτητική οξύτητα αυξήθηκε έως 0,13 μονάδες μετά από εφαρμογή CHT. Συγκεκριμένα ο οίνος CHT HIGH παρουσίασε την υψηλότερη πτητική οξύτητα και με στατιστική διαφορά σε σχέση με το CONTROL, ενώ ο οίνος CHT MEDIUM τη μικρότερη και χωρίς να διαφέρει από το μάρτυρα στατιστικά. Με εφαρμογή BTH, ο οίνος BTH HIGH εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή πτητικής οξύτητας (στατιστικά σημαντική διαφορά κατά 0,14 μονάδες πάνω από το μάρτυρα), ενώ ο BTH MEDIUM τη μικρότερη και δεν διέφερε στατιστικά από το μάρτυρα. Όλες οι τιμές είναι εντός των ορίων της νομοθεσίας.

### 3.2.4 Χρωματικά χαρακτηριστικά

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα IV του Παραρτήματος.



*Διάγραμμα 12.* Ένταση των οίνων μετά από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).



*Διάγραμμα 13.* Απόχρωση των οίνων μετά από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

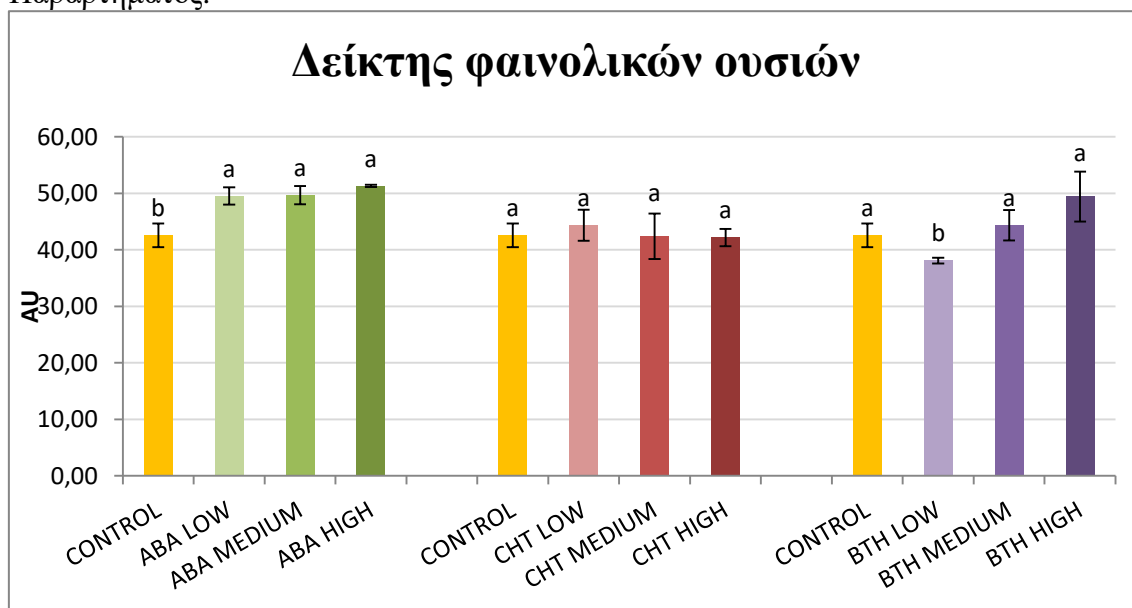
Η ένταση χρώματος λαμβάνει τιμές από 10,3 έως 17,02 AU (Διάγραμμα 12) και η απόχρωση από 0,6 έως 0,75 AU (Διάγραμμα 13). Τη μεγαλύτερη τιμή έντασης την είχαν οι οίνοι ABA και τη μικρότερη τιμή έντασης και απόχρωσης οι οίνοι CHT. Έπειτα από εφαρμογή ABA παρατηρήθηκε αύξηση της έντασης χρώματος των οίνων

έως 6,72 μονάδες γεγονός που επιβεβαιώνεται και από άλλες έρευνες. Τη μεγαλύτερη τιμή έντασης παρουσίασε ο οίνος ABA HIGH και διέφερε στατιστικά σημαντικά από το μάρτυρα, ενώ την μικρότερη ο ABA MEDIUM με επίσης σημαντικές στατιστικές διαφορές από το CONTROL. Οι τιμές απόχρωσης των οίνων ABA γενικά αυξήθηκαν εκτός από τον ABA HIGH που εμφάνισε μικρότερη τιμή από το μάρτυρα κατά 0,06 μονάδες αλλά χωρίς στατιστική διαφορά. Ο οίνος ABA LOW εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή απόχρωσης και δεν διέφερε στατιστικά με το CONTROL. Υπό την επίδραση CHT, η ένταση χρώματος αυξήθηκε και ο οίνος CHT LOW παρουσίασε τη μεγαλύτερη τιμή, ενώ είχε στατιστικά σημαντική διαφορά κατά 2,15 μονάδες με το μάρτυρα. Ο οίνος CHT HIGH παρουσίασε τη μικρότερη τιμή έντασης και δεν διέφερε σημαντικά από το μάρτυρα. Οι τιμές απόχρωσης αυξήθηκαν ανάλογα προς τη δόση CHT. Μολονότι οι οίνοι CHT LOW και MEDIUM εμφάνισαν μικρότερη τιμή έως 0,08 μονάδες από το CONTROL (και μάλιστα ο οίνος της μικρής δόσης είχε τη χαμηλότερη τιμή απόχρωσης), η τιμή του CHT HIGH ήταν υψηλότερη του μάρτυρα ενώ δεν διέφεραν στατιστικά. Οι παραγόμενοι οίνοι BTH είχαν μεγαλύτερη ένταση χρώματος από το μάρτυρα με τον BTH MEDIUM να λαμβάνει την υψηλότερη τιμή αλλά να μη διαφέρει στατιστικά σημαντικά από εκείνον. Η τιμή έντασης του οίνου BTH LOW ήταν η χαμηλότερη και διέφερε σημαντικά από το μάρτυρα. Οι οίνοι BTH δεν διέφεραν σημαντικά από το μάρτυρα, όσον αφορά την απόχρωση αλλά εκείνος με τη χαμηλή δόση της ουσίας είχε τη μικρότερη τιμή και ο BTH HIGH τη μεγαλύτερη.

### 3.2.5 Φαινολικά συστατικά

#### 3.2.5.1 Δείκτης φαινολικών ουσιών

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα V του Παραρτήματος.



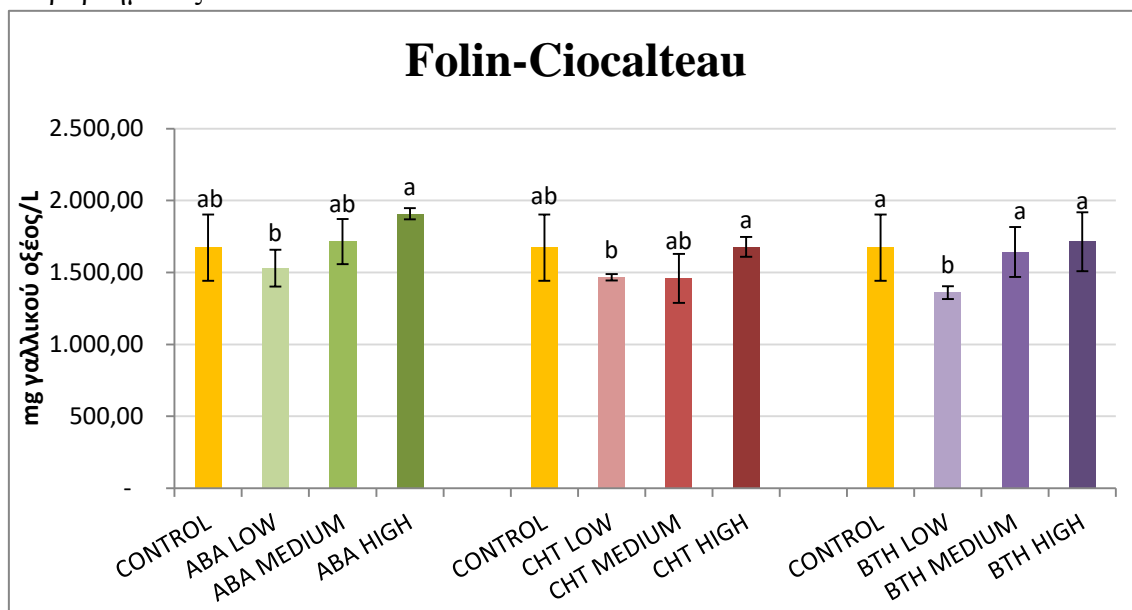


**Διάγραμμα 14.** Δείκτης φαινολικών ουσιών των οίνων μετά από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Στο Διάγραμμα 14, οι τιμές Δ.Φ.Ο. παίρνουν τιμές από 38,1 έως 51,3 AU. Τις μεγαλύτερες τιμές έλαβαν οι οίνοι ABA και τις μικρότερες οι οίνοι CHT. Με εφαρμογή ABA, ο δείκτης φαινολικών ουσιών αυξήθηκε έως 8,75 μονάδες κατ'αναλογία με τη δόση της ουσίας με τον οίνο ABA HIGH να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή και με να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το μάρτυρα. Μεγαλύτερη τιμή Δ.Φ.Ο. κατά 1,80 σε σχέση με το control παρουσίασε ο οίνος CHT LOW και χαμηλότερη ο οίνος με την υψηλή συγκέντρωση CHT, ενώ δεν είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Η δόση της ουσίας BTH είναι ανάλογη της αύξησης του δείκτη. Ο οίνος BTH LOW εμφάνισε τη μικρότερη τιμή και με στατιστικώς σημαντική διαφορά κατά 4,45 μονάδες από το CONTROL, ενώ η τιμή του BTH HIGH, η οποία ήταν και η υψηλότερη, διέφερε κατά 6,88 μονάδες πάνω από τον μάρτυρα.

### 3.2.5.2 Folin ciocalteu

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα V του Παραρτήματος.



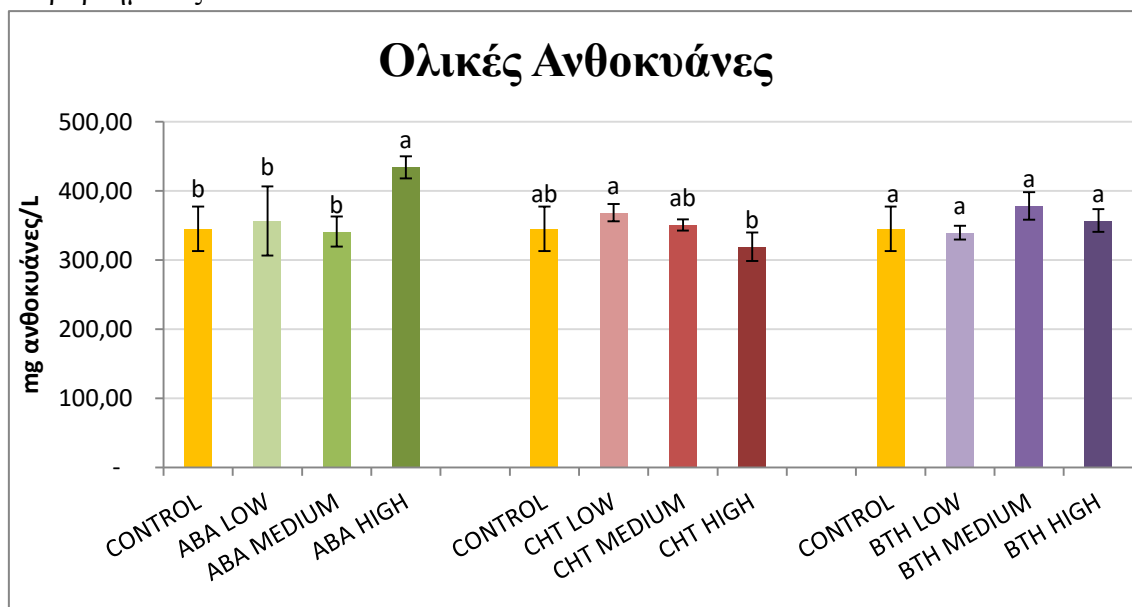
**Διάγραμμα 15.** Ολικά φαινολικά σε mg γαλλικού οξέος ανά λίτρο (μέθοδος Folin-Ciocalteu) των οίνων μετά από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε mg γαλλικού οξέος ανά λίτρο οίνου χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση  $y = 0,0011x + 0,0414$  της πρότυπης ευθείας που κατασκευάστηκε βάσει γνωστών συγκεντρώσεων γαλλικού οξέος. Οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ 1359,55 και 1907,27 mg γαλλικού οξέος/L (Διάγραμμα 15). Τις μεγαλύτερες τιμές

έλαβαν οι οίνοι ABA και τις μικρότερες οι οίνοι CHT. Και με αυτή τη μέθοδο υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών σε σχέση με το CONTROL παρουσίασε ο οίνος ABA HIGH χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά. Μικρότερη από όλες ήταν η τιμή του ABA LOW αλλά και πάλι δεν διέφερε από το μάρτυρα. Σε αντίθεση με το ΔΦΟ, με τη μέθοδο αυτή ο οίνος CHT HIGH παρουσίασε την υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών και ο οίνος CHT MEDIUM τη μικρότερη, χωρίς να έχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με το μάρτυρα. Με εφαρμογή BTH, η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών μεταβλήθηκε. Και σε αυτή τη μέθοδο όπως και με τη ΔΦΟ, τη χαμηλότερη τιμή σε σχέση με το CONTROL την παρουσίασε ο οίνος BTH LOW που διέφερε στατιστικά σημαντικά από εκείνον.

### 3.2.6 Ολικές ανθοκυάνες

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα VI του Παραρτήματος.



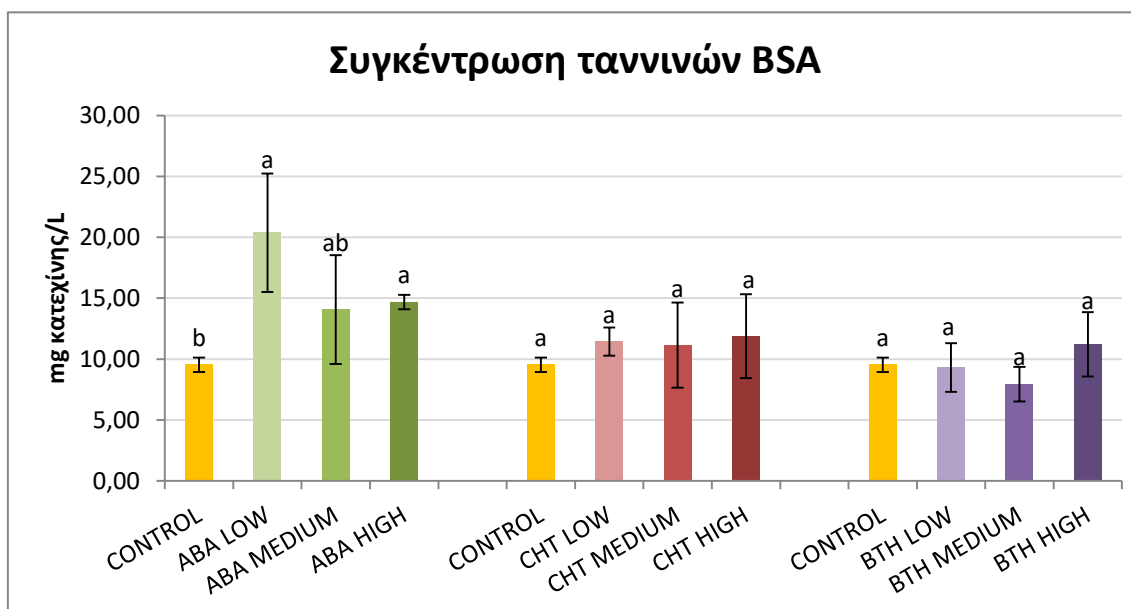
**Διάγραμμα 16.** Ολικές ανθοκυάνες σε mg ανθοκυανών ανά λίτρο των οίνων μετά από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Στο Διάγραμμα 16, οι τιμές των συγκεντρώσεων λαμβάνουν τιμές μεταξύ 319,38 και 434,22 mg ανθοκυανών/L. Γενικά, παρατηρήθηκε αύξηση στη συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών μετά από την εφαρμογή της κάθε ουσίας, με τους οίνους ABA να λαμβάνουν τις μεγαλύτερες τιμές και τους οίνους CHT τις μικρότερες. Ο οίνος ABA HIGH έχει τη μεγαλύτερη τιμή και διαφέρει στατιστικά σημαντικά με το CONTROL. Ο οίνος ABA MEDIUM έχει τη μικρότερη τιμή και καμία στατιστική διαφορά από το μάρτυρα. Έπειτα από εφαρμογή CHT, ο οίνος CHT LOW παρουσίασε τη μεγαλύτερη τιμή και ο οίνος CHT HIGH τη μικρότερη σε σχέση με το CONTROL ενώ δεν διέφερε

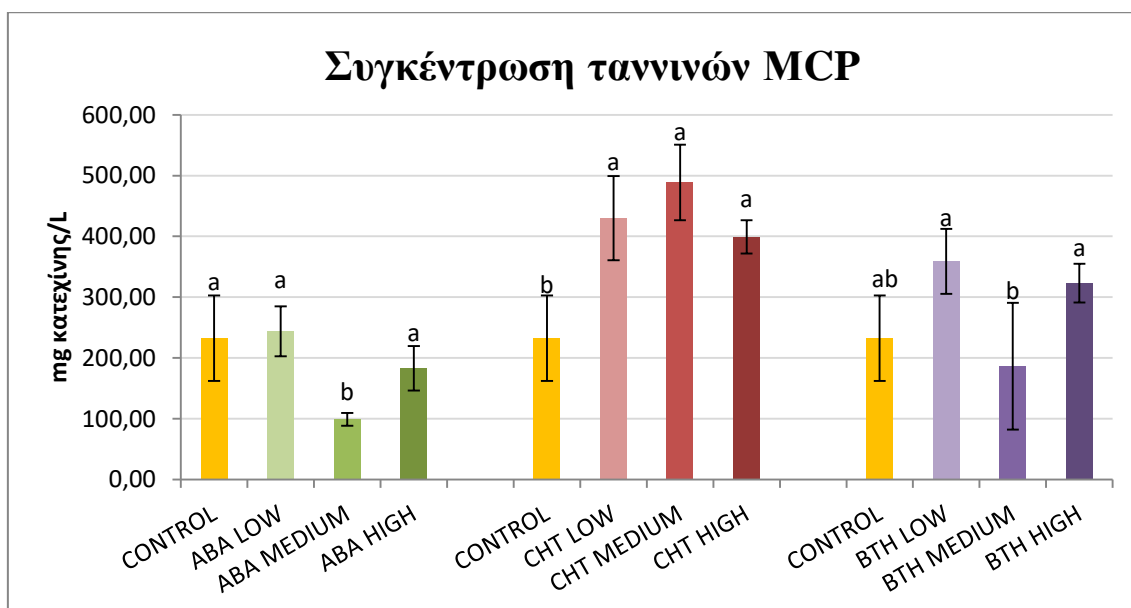
στατιστικά σημαντικά με τον μάρτυρα κανέναν από αυτούς τους δύο οίνους. Οι οίνοι BTH δε διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους και με το μάρτυρα. Μεγαλύτερη τιμή παρουσίασε ο οίνος BTH MEDIUM και μικρότερη ο οίνος BTH LOW.

### 3.2.7 Συγκέντρωση ταννινών

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα VII του Παραρτήματος.



*Διάγραμμα 17.* Συγκέντρωση ταννινών BSA σε mg κατεχίνης ανά λίτρο (κατακρήμιση των ταννινών με δέσμευση από πρωτεΐνη των βοοειδών και επεξεργασία του ιζήματος) των οίνων μετά από εφαρμογή ABA, CHT και BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).



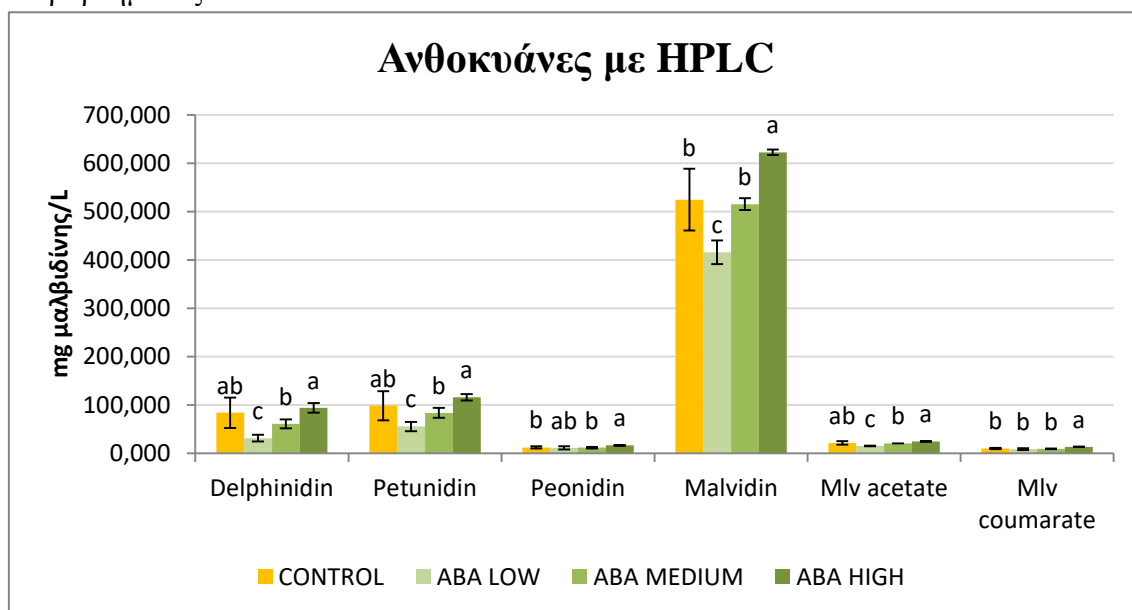
*Διάγραμμα 18.* Συγκέντρωση ταννινών MCP σε mg κατεχίνης ανά λίτρο (αντίδραση των ταννινών με μεθυλοκυτταρίνη και επεξεργασία του υπερκείμενου) των οίνων μετά από εφαρμογή ABA, CHT και

BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Για την έκφραση των αποτελεσμάτων για τις ταννίνες BSA σε mg κατεχίνης ανά λίτρο οίνου χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση  $y = 0,0052x - 0,0146$  πρότυπης ευθείας που κατασκευάστηκε με βάση γνωστές συγκεντρώσεις κατεχίνης ενώ για τις ταννίνες MCP η εξίσωση  $y = 0,0116x - 0,00002$ . Με τη BSA οι ταννίνες κυμαίνονται μεταξύ 7,94-20,37 mg κατεχίνης/L με τους οίνους ABA να λαμβάνουν τις μεγαλύτερες τιμές και τους οίνους BTH τις χαμηλότερες (Διάγραμμα 17). Με τη μέθοδο MCP οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ 98,99-488,64 mg κατεχίνης/L με τους οίνους CHT να σημειώνουν τις μεγαλύτερες και τους οίνους ABA τις μικρότερες (Διάγραμμα 18). Με τη μέθοδο BSA παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης τανινών έπειτα από εφαρμογή ABA με τον οίνο ABA LOW να παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή και τον ABA MEDIUM τη μικρότερη, χωρίς να διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους αλλά να διαφέρουν με το μάρτυρα. Ωστόσο, με τη μέθοδο MCP σημειώθηκε γενική μείωση της συγκέντρωσης τανινών και ιδιαίτερα του οίνου της μεσαίας δόσης ABA ο οποίος διέφερε στατιστικά σημαντικά από τον μάρτυρα. Και οι δύο μέθοδοι έδειξαν ότι η συγκέντρωση τανινών των παραγόμενων οίνων της ουσίας CHT αυξήθηκαν. Εντούτοις, βάσει της MCP, ο οίνος CHT MEDIUM παρουσίασε τη μεγαλύτερη τιμή και διέφερε στατιστικά σημαντικά με το CONTROL. Η μέθοδος BSA έδειξε ότι ο οίνος CHT HIGH είχε μεγαλύτερη τιμή και δεν διέφερε στατιστικά με το μάρτυρα. Με τη μέθοδο BSA, μειώθηκε η συγκέντρωση έπειτα από εφαρμογή BTH εκτός από τον οίνο της υψηλής δόσης ο οποίος εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή και δε διέφερε στατιστικά από τον CONTROL. Με τη μέθοδο MCP αυξήθηκε η συγκέντρωση τανινών υπό την επίδραση BTH εκτός από τον οίνο BTH MEDIUM η τιμή του οποίου ήταν η χαμηλότερη και διέφερε σε σχέση με τους οίνους των άλλων δόσεων.

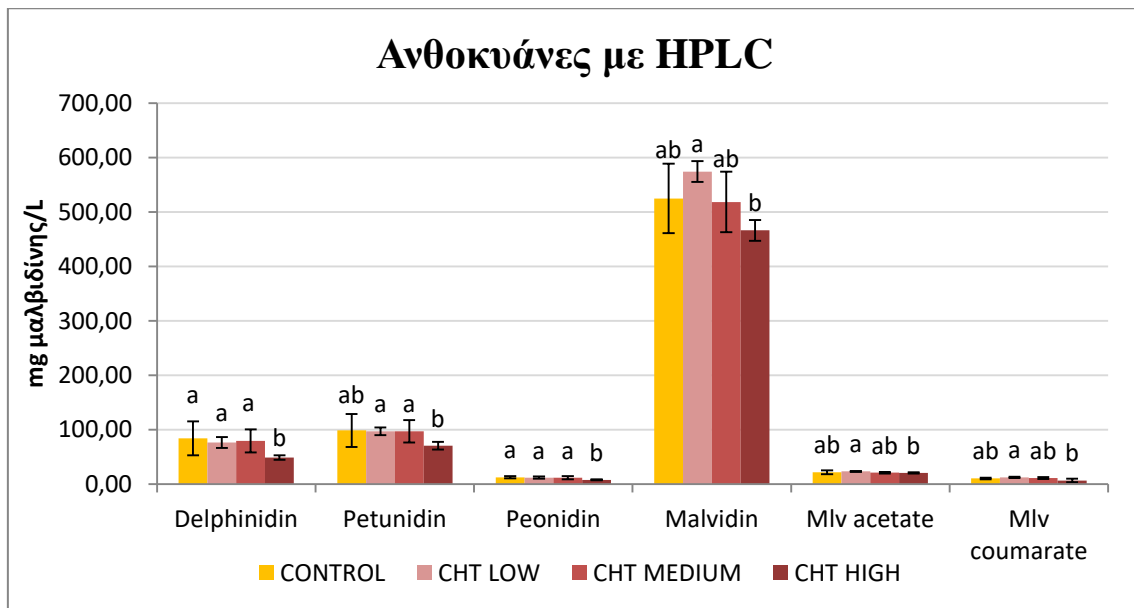
### 3.2.8 Ανθοκυάνες με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC

Τα αναλυτικά αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον πίνακα VIII του Παραρτήματος.



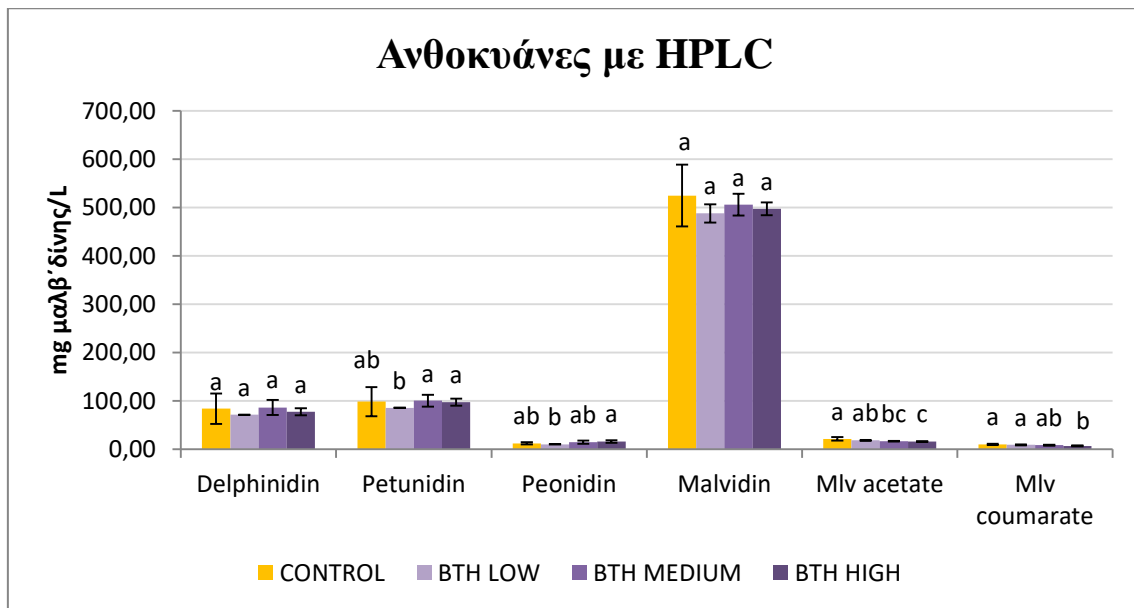
*Διάγραμμα 19.* Ανθοκυάνες σε mg μαλβιδίνης ανά λίτρο με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC των οίνων μετά από εφαρμογή ABA. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Στο Διάγραμμα 19, εμφανίζεται μία αναλογία μεταξύ της δόσης του αμπισσικού οξέος και της συγκέντρωσης. Διακρίνεται επίσης πως εφαρμόζοντας υψηλή δόση της ουσίας, τότε και μόνο τότε επιτυγχάνεται αύξηση της τιμής σε σχέση με το μάρτυρα. Η κυρίαρχη ανθοκυάνη είναι ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης (Malvidin) και η υψηλότερη συγκέντρωσή της σημειώθηκε στον οίνο ABA HIGH, ενώ διαφέρει στατιστικά σημαντικά από το CONTROL και τους υπόλοιπους οίνους ABA. Η αμέσως επόμενη ανθοκυάνη είναι ο μονογλυκοζίτης της πετουινιδίνης (Petunidin) και έπειτα ο μονογλυκοζίτης της δελφινιδίνης (Delphinidin). Ο οίνος ABA HIGH παρουσίασε τις μέγιστες τιμές και των δύο αυτών ανθοκυανών και διέφερε στατιστικά από τους υπόλοιπους οίνους, όχι όμως από το μάρτυρα. Οι ανθοκυάνες με τις μικρότερες συγκεντρώσεις ήταν ο μονογλυκοζίτης της παιονιδίνης (Peonidin), ο οξικός και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης (Mlv acetate, Mlv coumarate).



**Διάγραμμα 20.** Ανθοκυάνες σε mg μαλβιδίνης ανά λίτρο με γρήγη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC των οίνων μετά από εφαρμογή CHT. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Η εφαρμογή χιτοζάνης και μάλιστα η υψηλή δόση αυτής φαίνεται πως μείωσε τη συγκέντρωση των ανθοκυανών (Διάγραμμα 20). Υπό την επίδραση αυτής της ουσίας, κυρίαρχη ανθοκυάνη και πάλι ήταν ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης, με τον οίνο CHT LOW να έχει μεγαλύτερη τιμή από το CONTROL (χωρίς όμως να διαφέρει στατιστικά) και τους υπόλοιπους οίνους. Η δεύτερη και τρίτη κυρίαρχη ανθοκυάνη ήταν ο μονογλυκοζίτης της πετουνιδίνης και της δελφινιδίνης, αντίστοιχα, χωρίς ιδιαίτερη αύξηση σε σχέση με το μάρτυρα. Ωστόσο, μεγαλύτερη τιμή μεταξύ των οίνων CHT παρουσίασε ο CHT MEDIUM ο οποίος δεν διέφερε στατιστικώς από το CONTROL. Οι συγκεντρώσεις των υπόλοιπων ανθοκυανών παρουσίασαν ξανά τις μικρότερες τιμές. Ο οίνος CHT LOW εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή τους και δεν διέφερε στατιστικά από το μάρτυρα.

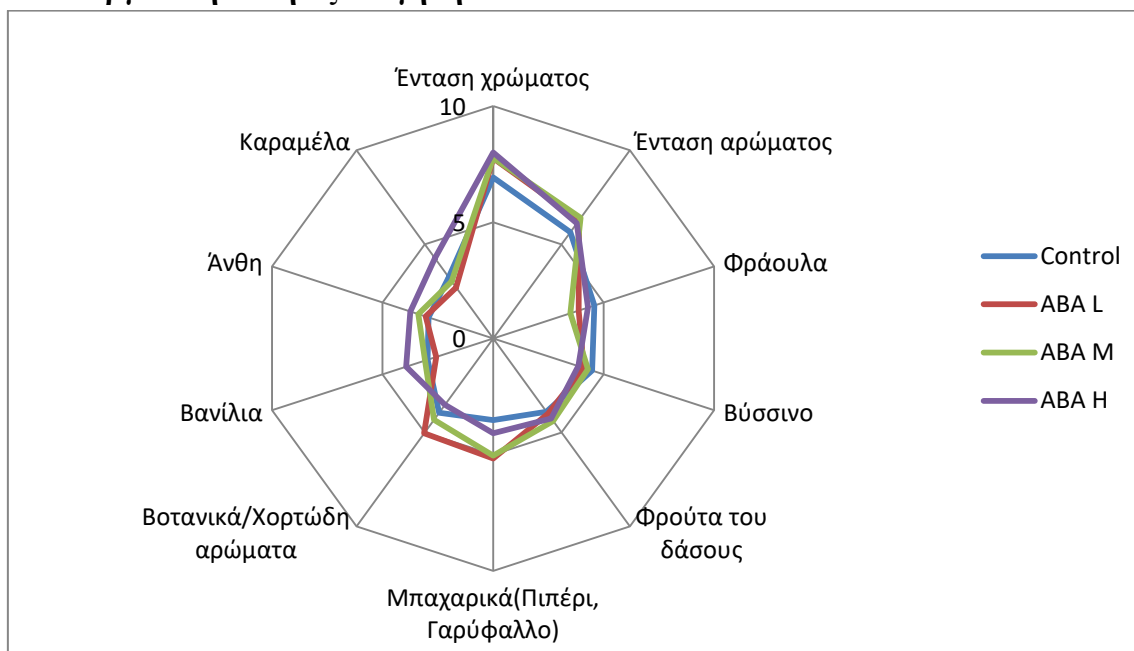


**Διάγραμμα 21.** Ανθοκυάνες σε mg μαλβιδίνης ανά λίτρο με γρήγη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC των οίνων μετά από εφαρμογή BTH. Οι μπάρες δείχνουν τη  $\pm$  τυπική απόκλιση του μέσου όρου των τιμών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα ανάμεσα στις συγκεντρώσεις διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

Στο Διάγραμμα 21, οι τιμές των συγκεντρώσεων παρουσιάζουν μία μεταβλητότητα. Για τον οξικό και κουμαρικό εστέρα της μαλβιδίνης, μειώνονται αυξανόμενης της δόσης της βενζοθειαδιαζόλης και ο οίνος BTH LOW δε διαφέρει στατιστικώς σημαντικά από το μάρτυρα. Οι μονογλυκοζίτες της δελφινιδίνης και πετουνιδίνης εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές στον οίνο BTH MEDIUM και τις μικρότερες στον BTH LOW, ενώ δεν παρουσίασαν στατιστική διαφορά από το CONTROL. Η κυρίαρχη ανθοκυάνη για μία ακόμη φορά είναι ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης. Με εφαρμογή BTH μειώνεται η συγκέντρωσή της σε σχέση με το CONTROL, όμως μεταξύ των οίνων μεγαλύτερη τιμή είχε ο BTH MEDIUM και μικρότερη ο LOW ενώ δεν υπήρχε στατιστική διαφορά. Όσον αφορά το μονογλυκοζίτη της παιονιδίνης, υπήρξε μεν μια αναλογία δόσης-συγκέντρωσης ανθοκυανών αλλά όχι δε στατιστική σημαντική διαφορά μεταξύ των οίνων BTH.

Γενικά, με βάση τη μέθοδο HPLC, οι οίνοι CHT είχαν συνολικά τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανθοκυανών και οι οίνοι BTH τις μικρότερες αλλά απείχαν ελάχιστα από τις τιμές των οίνων ABA. Η κυρίαρχη ανθοκυάνη, δηλαδή ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης έλαβε, αντίστοιχα, τις μεγαλύτερες τιμές στους οίνους μετά από εφαρμογή χιτοζάνης.

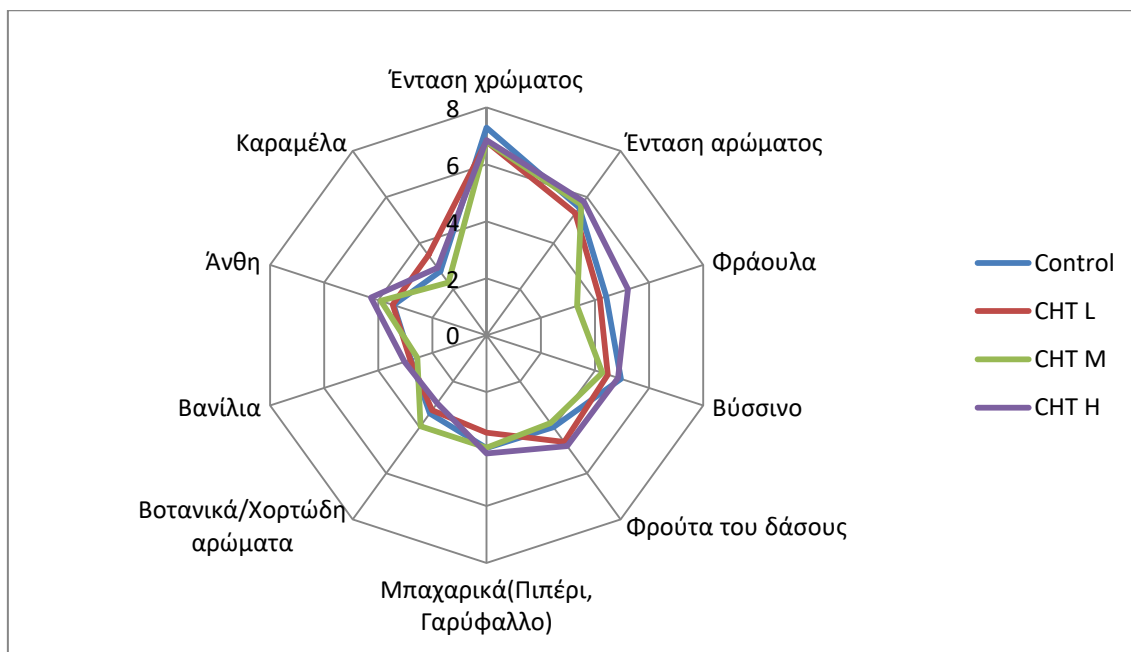
### 3.2.9 Οργανοληπτική αξιολόγηση



*Διάγραμμα 22.* Αποτελέσματα οργανοληπτικής αξιολόγησης των παραγόμενων οίνων από τη ποικιλία Μούχταρο μετά από εφαρμογή ABA.

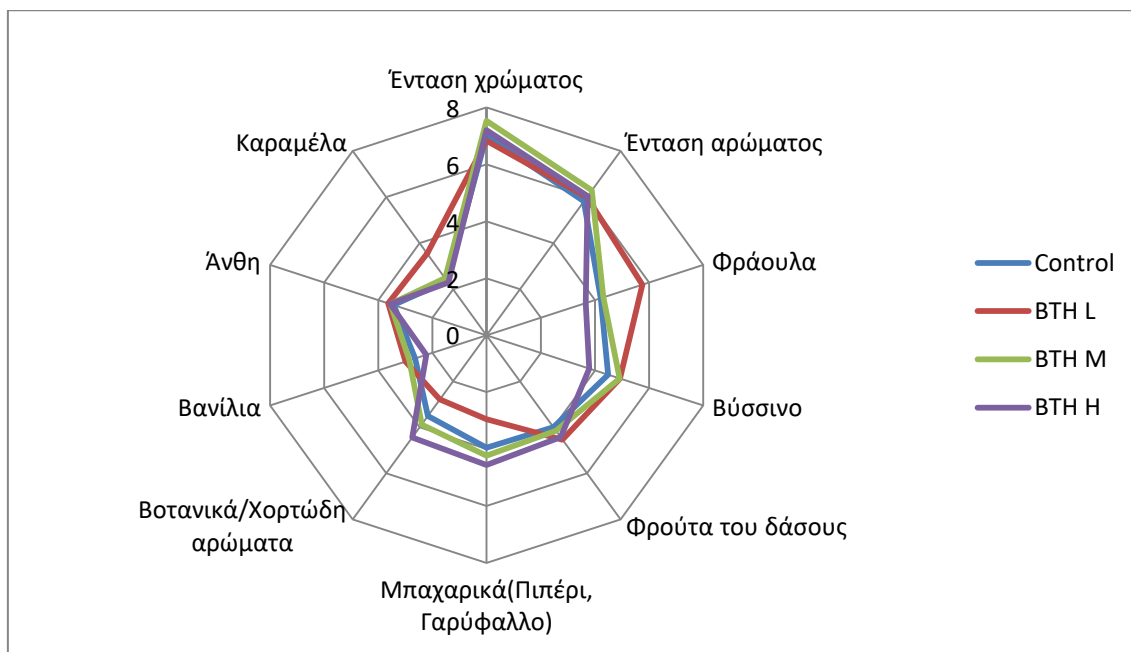
Σύμφωνα με τους δοκιμαστές, η εφαρμογή αμπισιτικού οξέος συνέβαλλε στην υψηλότερη ένταση χρώματος των οίνων σε σχέση με το μάρτυρα και μάλιστα σε αναλογία προς τη δόση της ορμόνης, κάτι που επιβεβαιώνεται και από το Διάγραμμα 12. Παράλληλα, φαίνεται πως οι οίνοι ABA έχουν μεγαλύτερη αρωματική ένταση -ο ABA MEDIUM λαμβάνει τη μέγιστη βαθμολογία- καθώς και περισσότερα αρωματικά χαρακτηριστικά με εξαίρεση το βύσσινο και τη φράουλα. Το μικρότερο βαθμό για τα κριτήρια «καραμέλα» και «βανίλια» είχε ο ABA LOW και το μεγαλύτερο ο HIGH. Τα αρώματα ανθέων αυξήθηκαν ανάλογα προς τη δόση της ουσίας με τον μάρτυρα να εμφανίζει την ελάχιστη τιμή. Αναφορικά με τα αρώματα των φρούτων του δάσους, ο ABA MEDIUM έλαβε το μεγαλύτερο βαθμό και ο μάρτυρας τον μικρότερο. Όσο μικρότερη ήταν η δόση της ουσίας τόσο υψηλότερη βαθμολογία απέσπασαν οι οίνοι ως προς τα κριτήρια «Βοτανικά/ Χορτώδη» και «Μπαχαρικά (Πιπέρι, Γαρύφαλλο)». Ο μάρτυρας εμφάνισε περισσότερα αρώματα φράουλας και βύσσινου. Χαμηλά βαθμολογήθηκε ο ABA MEDIUM για το κριτήριο «φράουλα» και ο ABA HIGH για το κριτήριο «βύσσινο» (Διάγραμμα 22).





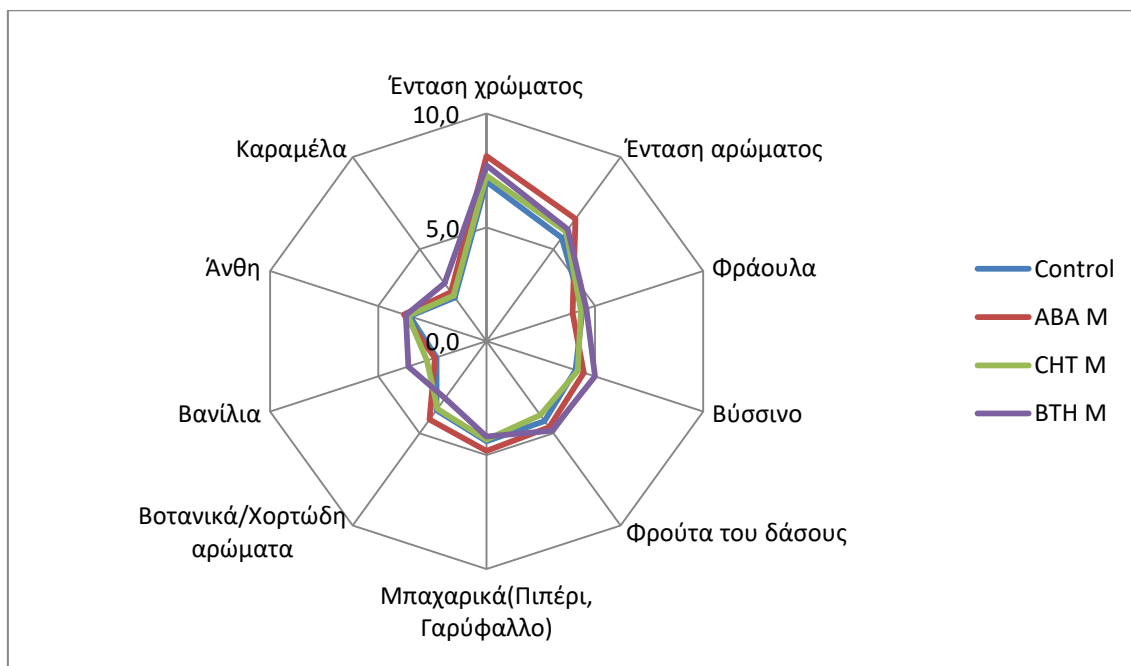
*Διάγραμμα 23.* Αποτελέσματα οργανοληπτικής αξιολόγησης των παραγόμενων οίνων από τη ποικιλία Μούχταρο μετά από εφαρμογή CHT.

Σύμφωνα με τους δοκιμαστές, η ένταση χρώματος των οίνων δεν αυξήθηκε μετά από εφαρμογή CHT, με τον CHT MEDIUM να έχει τη μικρότερη βαθμολογία και με τον μάρτυρα να έχει τη μέγιστη. Το γεγονός αυτό έρχεται σε αντιπαράθεση με το Διάγραμμα 12 όπου βάσει των φωτομετρικών αναλύσεων παρατηρήθηκε αύξηση της έντασης των οίνων. Ωστόσο, φαίνεται πως υπό την παρουσία της ουσίας αυξήθηκε η αρωματική ένταση των οίνων -ανάλογα προς τη δόση της ουσίας- και όλων των αρωματικών χαρακτηριστικών εκτός του βύσσινου. Ο CHT HIGH απέσπασε τον υψηλότερο βαθμό όσον αφορά τα αρώματα ανθέων, μπαχαρικών, φρούτων του δάσους και φράουλας και το χαμηλότερο για τα βοτανικά και χορτώδη αρώματα. Γενικώς ο οίνος CHT MEDIUM βαθμολογήθηκε χαμηλότερα σε σχέση με το μάρτυρα για τα περισσότερα αρωματικά χαρακτηριστικά, με εξαίρεση το κριτήριο «Βοτανικά/Χορτώδη Αρώματα», όπου και έλαβε την υψηλότερη τιμή. Ο οίνος με τη χαμηλή δόση της ουσίας παρουσίασε μεγαλύτερο βαθμό ως προς το άρωμα καραμέλας και μικρότερο ως προς τα μπαχαρικά αρώματα συγκριτικά με το μάρτυρα. Το μοναδικό χαρακτηριστικό το οποίο φαίνεται πως δεν επηρέασε η εφαρμογή χιτοζάνης είναι εκείνο του βύσσινου καθώς ο μάρτυρας έλαβε την υψηλότερη βαθμολογία (Διάγραμμα 23).



*Διάγραμμα 24.* Αποτελέσματα οργανοληπτικής αξιολόγησης των παραγόμενων οίνων από τη ποικιλία Μούχταρο μετά από εφαρμογή BTH.

Σύμφωνα με τους δοκιμαστές, η ένταση χρώματος των οίνων αυξήθηκε μετά από την εφαρμογή βενζοθειαδιαζόλης, με τον οίνο BTH MEDIUM να λαμβάνει την υψηλότερη βαθμολογία και τον LOW την ελάχιστη. Το γεγονός αυτό επαληθεύεται και από το Διάγραμμα 12, με εξαίρεση τον οίνο της μικρής δόσης της ουσίας. Επίσης αύξηση παρατηρήθηκε και στην αρωματική ένταση των οίνων -ο BTH MEDIUM έλαβε τον υψηλότερο βαθμό και ο LOW το μικρότερο- και στα επιμέρους αρωματικά χαρακτηριστικά με τον οίνο της μικρής δόσης να παίρνει τα πρωτεία. Αναφορικά με τα αρώματα καραμέλας, βανίλιας, βύσσινου και φράουλας, ο BTH LOW απέσπασε τη μεγαλύτερη βαθμολογία και ο HIGH τη μικρότερη σε σχέση με το μάρτυρα. Δεν διακρίνεται ουσιαστική διαφορά μεταξύ των οίνων ως προς τα αρώματα άνθεων, ωστόσο ο μάρτυρας βαθμολογήθηκε χαμηλότερα και ο BTH LOW υψηλότερα. Για τα κριτήρια «Βοτανικά/ Χορτώδη» και «Μπαχαρικά (Πιπέρι, Γαρύφαλλο)» παρατηρείται πως ο BTH LOW απέσπασε χαμηλότερο βαθμό ενώ ο HIGH υψηλότερο σε σχέση με το μάρτυρα. Περισσότερα αρώματα φρούτων του δάσους περιείχε ξανά ο BTH LOW και λιγότερα ο μάρτυρας (Διάγραμμα 24).



*Διάγραμμα 25. Αποτελέσματα οργανοληπτικής αξιολόγησης των παραγόμενων οίνων από τη ποικιλία Μούχταρο μετά από εφαρμογή μέτριας δόσης ABA, CHT και BTH.*

Κατά τη γνώμη των δοκιμαστών, η εφαρμογή μέτριας δόσης αμπισσικού οξέος, χιτοζάνης και βενζοθειαδιαζόλης επηρέασε θετικά την ένταση του χρώματος των οίνων. Ο ABA MEDIUM βαθμολογήθηκε υψηλότερα και ο μάρτυρας χαμηλότερα, όπως επιβεβαιώνεται και από το Διάγραμμα 12. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρήθηκε και για την αρωματική ένταση. Ωστόσο η παρουσία μέτριας δόσης βενζοθειαδιαζόλης συνέβαλλε στην αύξηση των περισσότερων αρωματικών χαρακτηριστικών. Αναφορικά με τα αρώματα καραμέλας, βανίλιας και βύσσινου ο οίνος BTH έλαβε τη μεγαλύτερη βαθμολογία ενώ ο μάρτυρας τη μικρότερη. Οι οίνοι δε διέφεραν ουσιαστικά μεταξύ τους ως προς το κριτήριο «Άνθη», όμως ο ABA είχε το μέγιστο βαθμό και ο μάρτυρας τον ελάχιστο. Περισσότερα χαρακτηριστικά μπαχαρικών και βοτανικών/χορτωδών αρωμάτων περιείχε ο οίνος ABA και λιγότερα ο BTH. Μόνο η εφαρμογή χιτοζάνης ελάττωσε τα αρώματα φρούτων του δάσους των οίνων συγκριτικά με το μάρτυρα, με τον BTH να λάμβάνει τη μεγαλύτερη βαθμολογία. Για μια ακόμα φορά ο οίνος BTH υπερείχε ως προς τα αρώματα φράουλας, ενώ ο ABA εμφάνισε το μικρότερο βαθμό.

#### **4.Συμπεράσματα**

Η εξωγενής εφαρμογή μορίων τα οποία διεγείρουν τους μηχανισμούς άμυνας των φυτών έχει μελετηθεί ως εναλλακτική κατά των παθογόνων μικροοργανισμών (DeLaunoy *et al.*, 2014). Οι φυτοδιεγέρτες και οι φυτοορμόνες αποτελούν έναν βιώσιμο τρόπο μείωσης των λιπασμάτων, έχοντας χαμηλές περιβαλλοντικές επιπτώσεις χωρίς να αφήνουν υπολείμματα. Αξίζουν ιδιαίτερη προσοχή λόγω των επιπτώσεών τους στη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών. Οι θεραπείες αυτές δύνανται να χρησιμοποιηθούν στον τομέα της αμπελουργίας με στόχο την βελτίωση των χαρακτηριστικών των σταφυλιών αλλά και των παραγόμενων οίνων.

Στην παρούσα μελέτη, δύο φυτοδιεγέρτες και μία φυτοορμόνη ψεκάστηκαν σε αμπελώνες Μούχταρου, μία ελληνική ερυθρή ποικιλία η οποία καλλιεργείται στην Κοιλάδα Μουσών της Βοιωτίας. Σκοπός των εφαρμογών αυτών ήταν να προσδιοριστεί η επίδραση αυτών των ουσιών πρώτον στα χαρακτηριστικά φαινολικής ωρίμανσης σταφυλιών, δεύτερον στη χημική σύνθεση των παραγόμενων οίνων και τρίτον στην οργανοληπτική αξιολόγηση των οίνων.

##### **4.1 Συμπεράσματα ραγών**

Το ABA η CHT και η BTH έχουν τη δυνατότητα να προκαλούν βιοσύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών από το μονοπάτι των φαινυλοπροπανοειδών κατά τη διάρκεια του περκασμού, όπως οι ανθοκυάνες.

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε αυξημένη σύνθεση ανθοκυανών και άλλων φαινολικών στα σταφύλια έπειτα από εφαρμογή αυτών των ουσιών σε σύγκριση με τα μη ψεκασμένα σταφύλια. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες (Singh *et al.*, 2020; Palladines *et al.*, 2019; Villalobos *et al.*, 2016) που έδειξαν αυξημένες τιμές ανθοκυανών και φαινολικών ενώσεων στις ράγες.

Οι φλοιοί των ερυθρών σταφυλιών περιέχουν αρκετά φαινολικά συστατικά, ανάμεσα τους και τις ανθοκυάνες. Το χρώμα των ραγών αναπτύσσεται κατά τον περκασμό όπου ο φλοιός σκουραίνει. Παρατηρήθηκε γρηγορότερη επίτευξη φαινολικής ωρίμανσης ραγών έπειτα από εφαρμογή των ABA, CHT και BTH. Η χιτοζάνη απέδωσε στα σταφύλια τις μεγαλύτερες τιμές ολικών και εκχυλίσμων ανθοκυανών. Γενικά, η εφαρμογή ABA είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση των ανθοκυανών των ραγών, γεγονός που έρχεται σε αντιστοιχία με τους Ititi *et al.*, 2004. Συγκεκριμένα η υψηλή δόση εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή των ολικών και εκχυλίσμων ανθοκυανών των ραγών.

Η εφαρμογή CHT επέφερε αύξηση των ολικών και εκχυλίσμων ανθοκυανών των ραγών και η μεγαλύτερη τιμή λαμβάνεται από το αμπελοτεμάχιο της χαμηλής δόσης. Η BTH φαίνεται να αύξησε τις ανθοκυάνες. Τα σταφύλια της χαμηλής δόσης έλαβαν τη μεγαλύτερη τιμή ολικών και εκείνα της υψηλής τη μεγαλύτερη τιμή εκχυλίσμων ανθοκυανών. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι οι εφαρμογές στο αμπέλι επιτάχυναν την ωρίμανση των φλοιών σε σχέση με τη σύνθεση των ανθοκυανών.

Όσο μικρότερο το ποσοστό εκχυλισσιμότητας, τόσο πιο εύκολα εκχυλίζονται οι ανθοκυάνες (στον μαθηματικό τύπο πραγματοποιείται αφαίρεση) (Ribereau-Gayon P. *et al.*, 2006). Οπότε, εφόσον το μεγαλύτερο ποσοστό το είχαν τα αμπελοτεμάχια ABA, σημαίνει πως η δυνατότητα εκχύλισης ανθοκυανών είναι μικρή και ιδίως εκείνο της χαμηλής δόσης. Με ψεκάσμό CHT, παρατηρείται πως αυξάνεται το ποσοστό και το αμπελοτεμάχιο της χαμηλής δόσης φαίνεται να έχει χαμηλή δυνατότητα εκχύλισης. Στα σταφύλια της ουσίας BTH σημειώθηκε αύξηση του ποσοστού, όμως τη διαφορά την κάνει η μεσαία δόση BTH η οποία φαίνεται να διευκολύνει αρκετά την εκχύλιση των ανθοκυανών καθώς έλαβε το μικρότερο ποσοστό από όλα τα σταφύλια.

Οι ταννίνες των φλοιών και των γιγάρτων συνδέονται με την αίσθηση της στυπτικότητας των παραγόμενων οίνων. Τα αμπελοτεμάχια χιτοζάνης είχαν τις μεγαλύτερες τιμές ταννινών των φλοιών ενώ εκείνα του αμπισσικού οξέος της μεγαλύτερες τιμές ταννινών των γιγάρτων. Με εφαρμογή ABA, παρατηρήθηκε βαθμιαία αύξηση της συγκέντρωσης ταννινών του φλοιού και βαθμιαία μείωση των ταννινών των γιγάρτων από τη μικρή προς την υψηλή δόση. Υπό την παρουσία CHT, τα σταφύλια απέκτησαν περισσότερες ταννίνες φλοιών και κυρίως εκείνα της χαμηλής δόσης. Παρατηρείται ισχυρή μείωση των ταννινών των γιγάρτων στα σταφύλια CHT κάτι που θα μπορούσε να εκμεταλλευτεί ο οινοπαραγωγός σε περίπτωση που θα επιθυμούσε χαμηλότερη αίσθηση στυπτικότητας. Μόνο μέσω της εφαρμογής υψηλής δόσης BTH αυξήθηκαν οι ταννίνες των γιγάρτων. Τα υπόλοιπα σταφύλια BTH είχαν μικρότερες τιμές σε σχέση με το μάρτυρα. Παρατηρείται ότι τα σταφύλια της χαμηλής δόσης παρουσίασαν τις μικρότερες ταννίνες γιγάρτων.

Όσον αφορά τις ταννίνες των φλοιών στο συνολικό φαινολικό φορτίο, η χιτοζάνη είχε τη μεγαλύτερη τιμή. Μεταξύ των αμπελοτεμαχίων ABA, παρατηρείται μία αύξηση της τιμής ανάλογης της δόσης. Μόνο τα σταφύλια της χαμηλής δόσης είχαν λιγότερες ταννίνες φλοιού από το μάρτυρα. Με εφαρμογή CHT αυξήθηκε το ποσοστό, με την υψηλότερη τιμή να ανήκει στο αμπελοτεμάχιο CHT LOW. Η BTH παρατηρήθηκε πως

αύξησε το ποσοστό των τανινών των φλοιών εκτός από τη μικρή της δόση. Τα σταφύλια της μικρότερης δόσης εμφάνισαν τη μεγαλύτερη συνεισφορά ταννινών των φλοιών.

Όσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό των ταννινών των γιγάρτων ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο, τόσο περισσότερες είναι οι συγκεκριμένες ταννίνες και τόσο μεγαλύτερο ρίσκο έχουν στο να δημιουργήσουν αρνητικές συνέπειες στη γεύση του οίνου (Ribereau-Gayon P. *et al.*, 2006). Συνολικά, μέσω εφαρμογής ABA, σημειώθηκαν οι μεγαλύτερες τιμές συνεισφοράς ταννινών γιγάρτων. Παρατηρείται αύξηση της τιμής αντιστρόφως ανάλογη της δόσης ABA, με τα σταφύλια της υψηλής δόσης να έχουν μικρότερη τιμή από τον μάρτυρα. Υπό την παρουσία CHT, μειώθηκε η συνεισφορά ταννινών των γιγάρτων από τη μεγαλύτερη προς τη μικρότερη δόση. Η εφαρμογή BTH είχε ως αποτέλεσμα τη μερική αύξηση του ποσοστού, εκτός από τη χαμηλή δόση. Άρα τα σταφύλια που θα προσδώσουν λιγότερη αίσθηση στυπτικότητας από τα σταφύλια που δεν ψεκάστηκαν, είναι αυτά στα οποία εφαρμόστηκε η υψηλή δόση ABA, η χαμηλή CHT και η χαμηλή BTH.

#### **4.2 Συμπεράσματα οίνων**

Η ενεργός οξύτητα και το pH ενός ερυθρού οίνου δεν διαμορφώνουν μόνο την όξινη γεύση του, αλλά εμπλέκονται και στο χρώμα του, σε τυχόν βακτηριακές προσβολές και στην επιτυχία ολοκλήρωσης της αλκοολικής και μηλογαλακτικής ζύμωσης. Η αρχική ολική οξύτητα του οίνου από την ποικιλία Μούχταρο ήταν 6,25 g τρυγικού οξέος/L και το αρχικό pH 3,43. Η μεγαλύτερη αύξηση οξύτητας σημειώθηκε από τους οίνους CHT ενώ η μεγαλύτερη αύξηση pH από τους οίνους BTH. Γενικά, με χρήση ABA δεν παρατηρήθηκε κάποια αλλαγή της ολικής οξύτητας των οίνων, εκτός από τη χαμηλή δόση της ουσίας που επέφερε μείωση κατά 0,7 g/L. Το pH από την άλλη αυξήθηκε ανάλογα με την αύξηση της συγκέντρωσης της ουσίας. Η ολική οξύτητα μειώθηκε έως 0,4 g/L αυξανόμενης της δόσης της CHT και ο οίνος της υψηλής συγκέντρωσης της ουσίας παρουσίασε τη μικρότερη ολική οξύτητα. Το αντίθετο συνέβη στο pH, μόνο που ο οίνος CHT MEDIUM παρουσίασε το μεγαλύτερο. Σημαντική μείωση της ολικής οξύτητας κατά 1 g/L και αύξησης του pH κατά 0,4 μονάδες σημειώθηκε με εφαρμογή BTH και κυρίως υπό την υψηλή συγκέντρωση της ουσίας. Άρα έπειτα από εφαρμογή μεσαίας δόσης ABA, υψηλής και χαμηλής δόσης CHT και χαμηλής δόσης BTH παρατηρείται αισθητή μείωση της οξύτητας.

Η πτητική οξύτητα ενός οίνου όταν είναι σε μικρές συγκεντρώσεις και σαν προϊόν υγιούς αλκοολικής ζύμωσης δίνει μια πολυπλοκότητα ενώ όταν είναι μεγαλύτερη από

0,7-0,8 g οξικού οξέος/L προσδίδει μία οσμή και γεύση ξιδιού στον οίνο. Οι παραγόμενοι οίνοι από την ποικιλία Μούχταρο ήταν εντός των ορίων της νομοθεσίας. Η πτητική οξύτητα του μάρτυρα ήταν 0,44 g/L, ενώ με εφαρμογή των ουσιών παρατηρείται ότι αυξήθηκε με τη σειρά CHT<ABA<BTH. Μεταξύ των οίνων ABA, εκείνος της μεσαίας δόσης εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή. Με εφαρμογή υψηλής δόσης CHT η πτητική οξύτητα απέκτησε τη μεγαλύτερη τιμή, ενώ τη μικρότερη τιμή έλαβε ο οίνος της μέτριας δόσης CHT. Το ίδιο παρατηρήθηκε και για τους οίνους BTH. Άρα, η χαμηλή και η υψηλή δόση ABA, η μέτρια δόση CHT και BTH αν εφαρμοστούν στα σταφύλια, θα παραχθούν οίνοι με πτητική οξύτητα χαμηλότερη σε σχέση με τις υπόλοιπες δόσεις.

Η αλκοόλη που εμπεριέχεται στον οίνο δημιουργεί τη γλυκιά γεύση του και την αίσθηση καψίματος στον ουρανίσκο. Όσο πιο πολλά σάκχαρα έχει ένα σταφύλι, τόσο μεγαλύτερο αλκοολικό τίτλο θα αποκτήσει ο παραγόμενος οίνος. Ο μάρτυρας είχε 13,09 %v/v ενώ τις μεγαλύτερες τιμές παρουσίασαν οι οίνοι BTH και ακολούθησαν οι οίνοι ABA και CHT. Με εφαρμογή ABA δεν παρατηρήθηκε ιδιαίτερη μεταβολή της αλκοολοπεριεκτικότητας, αν και η μικρή δόση παρουσίασε αύξηση και η μεγάλη δόση μείωση της τιμής. Αντίθετα, υπό την επίδραση CHT, σημειώθηκε μία γενική μείωση της τιμής (12,25 %v/v) εκτός από εκείνης της υψηλής δόσης που αυξήθηκε κατά 0,26 μονάδες. Με εφαρμογή μεσαίας και υψηλής δόσης BTH αυξήθηκε ο αλκοολικός τίτλος έως 0,82 μονάδες ενώ η χαμηλή δόση φάνηκε να επιφέρει μείωση της τιμής. Άρα, η χαμηλή και η μεσαία δόση CHT καθώς και η χαμηλή δόση BTH μείωσαν αισθητά τον αλκοολικό τίτλο.

Η ένταση του χρώματος αναφέρεται στη συνεισφορά του κόκκινου, του κίτρινου και του ιώδους-μπλε στο συνολικό χρώμα. Αντιστοιχεί στην ποσότητα του χρώματος ενός οίνου ενώ η απόχρωση δείχνει την εξέλιξη του χρώματος προς το πορτοκαλί. Η απόχρωση ενός ερυθρού οίνου αποτελεί ένδειξη παλαίωσης ή οξείδωσης. Θα πρέπει η απόχρωση ενός φρέσκου οίνου να είναι σχετικά χαμηλή. Η ένταση του χρώματος είναι σημαντικός παράμετρος για την ποιότητα ενός οίνου και αποτελεί πρωταρχικό χαρακτηριστικό αντίληψης των καταναλωτών. Γενικά, υπό την επίδραση και των τριών ουσιών παρατηρείται αύξηση της έντασης και μεταβλητότητα της απόχρωσης σε σχέση με το μάρτυρα, γεγονός που έρχεται σύμφωνο με τους Paladines *et al.*, 2021. Η ένταση αυξήθηκε με τη σειρά CHT<BTH<ABA ενώ οι οίνοι CHT φαίνεται να παρουσιάζουν επίσης χαμηλές τιμές απόχρωσης. Η υψηλή και η χαμηλή δόση ABA, η χαμηλή δόση CHT και η μεσαία δόση BTH εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές έντασης. Γενικά η

εφαρμογή ABA επέφερε αύξηση της απόχρωσης αντιστρόφως ανάλογη της δόσης, οπότε η υψηλή δόση παρουσίασε τη μικρότερη τιμή. Υπό την επίδραση CHT και BTH παρατηρείται μείωση της τιμής εκτός από τις υψηλές δόσεις αυτών οι οποίες είχαν σαν αποτέλεσμα την αύξηση της απόχρωσης. Άρα, οι οίνοι των υψηλής δόσης ABA, όπως επίσης και εκείνοι της μικρής και μεσαίας δόσης CHT και BTH, ενδείκνυνται για παλαίωση.

Τόσο ο δείκτης φαινολικών ουσιών όσο και η μέθοδος του OIV Folin-Ciocalteu έδειξαν ότι οι οίνοι ABA έλαβαν τις μεγαλύτερες τιμές ενώ οι οίνοι CHT τις μικρότερες τιμές φαινολικών συστατικών. Ο ΔΦΟ εμπλέκεται επίσης με την παλαίωση. Πιο συγκεκριμένα, με τη πρώτη μέθοδο, η εφαρμογή ABA φαίνεται να αύξησε τη τιμή του δείκτη κατ'αναλογία με τη δόση. Υπό την παρουσία CHT, μόνο ο οίνος της μικρής συγκέντρωσης παρουσίασε μεγαλύτερη τιμή από τον μάρτυρα. Οι οίνοι BTH εμφάνισαν μια βαθμιαία αύξηση της τιμής ανάλογη της δόσης του φυτοδιεγέρτη. Μόνο ο οίνος BTH LOW είχε μικρότερη τιμή από τον μάρτυρα. Άρα, μέσω αυτής της μεθόδου, οι οίνοι ABA και ο οίνος BTH HIGH αύξησαν αισθητά την τιμή του δείκτη. Με τη μέθοδο του OIV, παρατηρούνται παρόμοια αποτελέσματα για τους οίνους ABA και BTH. Ωστόσο, η εφαρμογή CHT μείωσε γενικά την τιμή, εκτός από την υψηλή δόση της η οποία εμφάνισε υψηλότερη τιμή φαινολικών ουσιών από τον μάρτυρα.

Γενικά, παρατηρήθηκε αύξηση στη συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών των οίνων μετά από την εφαρμογή της κάθε ουσίας, με τους οίνους ABA να λαμβάνουν τις μεγαλύτερες τιμές και τους οίνους CHT τις μικρότερες. Με εφαρμογή ABA οι ολικές ανθοκυάνες αυξήθηκαν κυρίως υπό την παρουσία της υψηλής δόσης. Αντίθετα, παρατηρήθηκε μείωση αυτών με εφαρμογή υψηλής δόσης CHT. Οι ολικές ανθοκυάνες των οίνων BTH ήταν περισσότερες του μάρτυρα. Άρα, αισθητή αύξηση παρουσιάζεται από τον οίνο της υψηλής δόσης ABA, της χαμηλής δόσης CHT, και της μεσαίας δόσης BTH. Δεν παρατηρείται αναλογία σχετικά με την αύξηση των ανθοκυανών στις ράγες και στους παραγόμενους οίνους έπειτα από κάθε θεραπεία. Μελέτες έδειξαν ότι δεν επαρκεί η γνώση των ανθοκυανών των φλοιών για τον υπολογισμό των ανθοκυανών στους οίνους. Μερικές από αυτές τις ανθοκυάνες, έπειτα από εφαρμογή των φυτοδιεγερτών παρακρατούνται και δεν εξέρχονται από τα κύτταρα των φλοιών διότι οι κυτταρικές μεμβράνες τα εμποδίζουν, με αποτέλεσμα να μην εκχυλίζονται κατά τη διάρκεια της οινοποίησης (Paladines *et al.*, 2021).



Οι ταννίνες ενός οίνου συνδέονται με τις γλυκοπρωτεΐνες του σάλιου και αντιλαμβάνονται ως «στυφές» ή «πικρές». Ωστόσο, ανάλογα με την ποικιλία και το είδος του οίνου πολλές φορές είναι επιθυμητές, ειδικά αν εξισορροπούνται με την αρωματικότητά του ή την οξύτητά του. Οι οίνοι Μούχταρο από μόνοι τους δεν είναι ιδιαίτερα ταννικοί σύμφωνα με τις χημικές αναλύσεις. Με τη μέθοδο BSA, έπειτα από εφαρμογή των ουσιών, η συγκέντρωση των ταννινών αυξάνεται με τη σειρά BTH<CHT<ABA. Οι οίνοι ABA είχαν γενικά μεγαλύτερη συγκέντρωση από το μάρτυρα και ιδιαίτερα εκείνος της χαμηλής δόσης. Με εφαρμογή CHT, αυξήθηκε η συγκέντρωση των ταννινών αλλά χωρίς ιδιαίτερη διαφορά, με τον οίνο της υψηλής δόσης να λαμβάνει τη μεγαλύτερη τιμή. Υπό την παρουσία BTH, οι οίνοι είχαν μικρότερη συγκέντρωση ταννινών εκτός από εκείνον της υψηλής δόσης. Βάσει της μεθόδου MCP, οι οίνοι της CHT είχαν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ταννινών, μετά οι οίνοι BTH και τέλος οι οίνοι ABA. Οι τελευταίοι και κυρίως εκείνοι της μέτριας και χαμηλής δόσης ABA έλαβαν μικρότερη τιμή από τον μάρτυρα. Η εφαρμογή CHT είχε ως αντίκτυπο την αύξηση της συγκέντρωσης ταννινών με τον οίνο της μέτριας δόσης να παίρνει τη μέγιστη τιμή και τον οίνο της υψηλής δόσης την ελάχιστη. Με εφαρμογή BTH αυξήθηκε επίσης η συγκέντρωση των ταννινών, εκτός του οίνου της μεσαίας δόσης. Ανάμεσα στους υπόλοιπους δύο οίνους BTH, εκείνος της χαμηλής δόσης έλαβε τη μεγαλύτερη τιμή. Άρα, με γνώμονα τη μέθοδο BSA, η εφαρμογή ABA (αλλά κυρίως της χαμηλής δόσης), υψηλής δόσης CHT και BTH θα προσδώσει υψηλή ταννικότητα στους οίνους. Ενώ, σύμφωνα με τη μέθοδο MCP, ταννικοί θα χαρακτηριστούν οι οίνοι που προέκυψαν υπό την παρουσία χαμηλής δόσης ABA, CHT (ειδικά έπειτα από χρήση μεσαίας δόσης) και χαμηλής δόσης BTH.

Τα χρωματογραφήματα που συλλέχθηκαν με την HPLC έδειξαν ότι οι ερυθροί οίνοι Μούχταρο χωρίς την εφαρμογή κάποιας ουσίας είχαν ικανοποιητικά μεγάλες συγκεντρώσεις ανθοκυανών. Όντας παρούσα η φυτοορμόνη ABA, παρατηρείται αρχικά μία μείωση και έπειτα αύξηση των ανθοκυανών συγκριτικά με το μάρτυρα ανάλογα με τη δόση ABA (η υψηλή δόση επέφερε αύξηση). Παρατηρείται επίσης ότι κυριαρχεί η μαλβιδίνη η οποία μαζί με την παιονιδίνη και τον κουμαρικό εστέρα της μαλβιδίνης, διαφέρει στατιστικά από το μάρτυρα. Με εφαρμογή CHT, οι οίνοι της μεσαίας και υψηλής δόσης εμφάνισαν μικρότερες συγκεντρώσεις ανθοκυανών από το μάρτυρα. Ωστόσο οι οίνοι της χαμηλής δόσης αύξησαν τις τιμές της μαλβιδίνης και των εστέρων της. Με προσθήκη BTH, παρουσιάστηκαν μειωμένες οι συγκεντρώσεις των ανθοκυανών στο σύνολο τους σε σχέση με το μάρτυρα. Από τις τρεις δόσεις της ουσίας,

η μεσαία φαίνεται να προσπαθεί να προσεγγίσει το μάρτυρα, καθώς εμφανίζει τη μεγαλύτερη τιμή από τις άλλες δύο. Τη μικρότερη τιμή εμφάνισαν οι οίνοι της χαμηλής δόσης ΒΤΗ. Γενικά, βάσει της HPLC, κυρίαρχη ανθοκυάνη σε όλους τους οίνους ήταν η μαλβιδίνη, ακολούθησαν η δελφινιδίνη με την πετουνιδίνη οι οποίες φάνηκαν να είχαν περίπου τις ίδιες συγκεντρώσεις και τέλος η παιονιδίνη και οι εστέρες της μαλβιδίνης βρέθηκαν να έχουν τις μικρότερες συγκεντρώσεις. Μεταξύ των οίνων, οι οίνοι CHT είχαν συνολικά τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ανθοκυανών και οι οίνοι ΒΤΗ τις μικρότερες αλλά απείχαν ελάχιστα από τις τιμές των οίνων ΑΒΑ. Ειδικότερα, η υψηλή δόση ΑΒΑ και η χαμηλή δόση CHT αύξησαν αισθητά τις συγκεντρώσεις των ανθοκυανών, ενώ η μεσαία δόση ΒΤΗ φαίνεται να έχει καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τις άλλες δύο.

Μετά τη χημική αξιολόγηση των οίνων, σημαντική είναι και η οργανοληπτική. Το να έχει ένας ερυθρός οίνος πλούσιο χρώμα και ισχυρό αρωματικό μπουκέτο είναι προτέρημα. Δυστυχώς δεν επετεύχθη γευστική δοκιμή των οίνων λόγω των μέτρων κατά της πανδημίας του κορωνοϊού.

Οι 10 δοκιμαστές χαρακτήρισαν τους οίνους ΑΒΑ ιδιαίτερα αρωματικούς και με μεγάλη ένταση χρώματος συγκριτικά με το μάρτυρα. Οι οίνοι με την υψηλή δόση της ουσίας απέσπασαν την μεγαλύτερη βαθμολογία για τα χαρακτηριστικά καραμέλας, βανίλιας και ανθέων και τη μικρότερη για τα χορτώδη αρώματα. Στους οίνους της μεσαίας δόσης ανιχνεύτηκαν κυρίως αρώματα μπαχαρικών και φρούτων του δάσους ενώ ελάχιστα ήταν τα αρώματα φράουλας. Οι οίνοι με τη χαμηλή δόση βαθμολογήθηκαν υψηλά για τα χαρακτηριστικά βοτανικών αρωμάτων και μπαχαρικών και χαμηλά για τα αρώματα βανίλιας, καραμέλας και ανθέων.

Οι οίνοι CHT βαθμολογήθηκαν χαμηλότερα ως προς την ένταση χρώματος και αρώματος σε σχέση με το μάρτυρα. Οι οίνοι χαμηλής δόσης χαρακτηρίστηκαν υψηλά για τα αρώματα καραμέλας και φρούτων του δάσους και χαμηλά για τα μπαχαρικά και τα αρώματα ανθέων. Οι εξεταστές βαθμολόγησαν υψηλά για τα αρώματα βοτανικών και ανθέων και χαμηλά για τα υπόλοιπα αρώματα τους οίνους της χαμηλής δόσης CHT. Στους οίνους της υψηλής δόσης δεν ανιχνεύθηκαν ισχυρά τα βοτανικά αρώματα και τα αρώματα καραμέλας.

Βαθμολογήθηκαν επίσης υψηλά ως προς την ένταση χρώματος και αρώματος οι οίνοι ΒΤΗ. Νότες από φρούτα του δάσους, βύσσινο, φράουλα και καραμέλα χαρακτήρισαν τους οίνους της χαμηλής δόσης ενώ φάνηκε να ανιχνεύονται σε ίχνη τα αρώματα

μπαχαρικών και βοτανικών. Οι οίνοι της μεσαίας δόσης βαθμολογήθηκαν υψηλά για τα περισσότερα αρώματα εκτός από τα αρώματα καραμέλας και φρούτων του δάσους. Η μεγάλη βαθμολογία των οίνων της υψηλής δόσης ΒΤΗ οφείλεται στα αρώματα βοτανικών και μπαχαρικών.

Τέλος οι δοκιμαστές συνέκριναν τους οίνους με τη μεσαία δόση των ουσιών μεταξύ τους και σε σχέση με το μάρτυρα. Οι οίνοι ΑΒΑ είχαν τη μεγαλύτερη ένταση αρώματος και χρώματος και την υψηλότερη βαθμολογία για τα αρώματα μπαχαρικών, φρούτων του δάσους και χορτωδών αρωμάτων. Τα πρωτεία για τα αρώματα φράουλας, βύσσινου, βανίλιας και καραμέλας ανήκουν στους οίνους ΒΤΗ. Τέλος μικρή ήταν η βαθμολογία που απέσπασαν οι οίνοι CHT για τα αρώματα ανθέων, βύσσινου και φρούτων του δάσους.

## Βιβλιογραφία

### 1)Ξένη βιβλιογραφία

Bahena-Garrido, S. M., Ohama, T., Suehiro, Y., Hata, Y., Isogai, A., Iwashita, K., Goto-Yamamoto N. & Koyama, K. (2019). The potential aroma and flavor compounds in *Vitis* sp. cv. Koshu and *V. vinifera* L. cv. Chardonnay under different environmental conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4), 1926-1937.

Ban, T., Ishimaru, M., Kobayashi, S., Goto-Yamamoto, N., & Horiuchi, S. (2003). Abscisic acid and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid affect the expression of anthocyanin biosynthetic pathway genes in 'Kyoho' grape berries. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78(4), 586-589.

Bavaresco, L., Lucini, L., Busconi, M., Flamini, R., & De Rosso, M. (2016). Wine resveratrol: from the ground up. *Nutrients*, 8(4), 222.

Cutler, A. J., & Krochko, J. E. (1999). Formation and breakdown of ABA. *Trends in plant science*, 4(12), 472-478.

Delaunoy, B., Farace, G., Jeandet, P., Clément, C., Baillieu, F., Dorey, S., & Cordelier, S. (2014). Elicitors as alternative strategy to pesticides in grapevine? Current knowledge on their mode of action from CONTROLLED conditions to vineyard. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(7), 4837-4846.

Deluc, L.G., Grimplet, J., Wheatley, M.D. *et al.* Transcriptomic and metabolite analyses of Cabernet Sauvignon grape berry development. *BMC Genomics* 8, 429 (2007)

D'Onofrio, C., Matarese, F., & Cuzzola, A. (2018). Effect of methyl jasmonate on the aroma of Sangiovese grapes and wines. *Food chemistry*, 242, 352-361.

González, R., González, M. R., & Martín, P. (2018). Abscisic acid and ethephon treatments applied to 'Verdejo' white grapes affect the quality of wine in different ways. *Scientia Agricola*, 75(5), 381-386.

Gu, S., Jacobs, S., & Du, G. (2011). Efficacy, rate and timing of applications of abscisic acid to enhance fruit anthocyanin contents in 'Cabernet Sauvignon' grapes. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 86(5), 505-510.

Gutiérrez-Gamboa, G., Garde-Cerdán, T., Carrasco-Quiroz, M., Martínez-Gil, A. M., & Moreno-Simunovic, Y. (2018). Improvement of wine volatile composition through

foliar nitrogen applications to Cabernet Sauvignon grapevines in a warm climate. *Chilean journal of agricultural research*, 78(2), 216-227.

Gutiérrez-Gamboa, G., Pérez-Álvarez, E. P., Rubio-Bretón, P., & Garde-Cerdán, T. (2019). Changes on grape volatile composition through elicitation with methyl jasmonate, chitosan, and a yeast extract in Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grapevines. *Scientia Horticulturae*, 244, 257-262.

Gutiérrez-Gamboa, G., Portu, J., Santamaría, P., López, R., & Garde-Cerdán, T. (2017). Effects on grape amino acid concentration through foliar application of three different elicitors. *Food Research International*, 99, 688-692.

Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 26(4), 809-812.

Harbertson, J. F., Kennedy, J. A., & Adams, D. O. (2002). Tannin in skins and seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah, and Pinot noir berries during ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(1), 54-59.

Hattori, T., Chen, Y., Enoki, S., Igarashi, D., & Suzuki, S. (2019). Exogenous isoleucine and phenylalanine interact with abscisic acid-mediated anthocyanin accumulation in grape. *Folia Horticulturae*, 31(1), 147-157.

Hirano, S. (1999). Chitin and chitosan as novel biotechnological materials. *Polymer international*, 48(8), 732-734.

Iriti, M., Rossoni, M., Borgo, M., & Faoro, F. (2004). Benzothiadiazole enhances resveratrol and anthocyanin biosynthesis in grapevine, meanwhile improving resistance to *Botrytis cinerea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(14), 4406-4413.

Iriti, M., Rossoni, M., Borgo, M., Ferrara, L., & Faoro, F. (2005). Induction of resistance to gray mold with benzothiadiazole modifies amino acid profile and increases proanthocyanidins in grape: primary versus secondary metabolism. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 53(23), 9133-9139.

Jackson, R. S. (2008). *Wine science: principles and applications*. Academic press.

Ju, Y. L., Liu, M., Zhao, H., Meng, J. F., & Fang, Y. L. (2016). Effect of exogenous abscisic acid and methyl jasmonate on anthocyanin composition, fatty acids, and

volatile compounds of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grape berries. *Molecules*, 21(10), 1354.

Kallithraka, S., Mohdaly, A. A. A., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2005). Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(5), 375-386.

Kumar, M. N. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and functional polymers*, 46(1), 1-27.

Kunz, W., Schurter, R., & Maetzke, T. (1997). The chemistry of benzothiadiazole plant activators. *Pesticide Science*, 50(4), 275-282.

Martinez-Gil, A. M., Garde-Cerdan, T., Martinez, L., Alonso, G. L., & Salinas, M. R. (2011). Effect of oak extract application to Verdejo grapevines on grape and wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3253-3263.

Martins, V., Teixeira, A., & Gerós, H. (2015). Changes in the volatile composition of wine from grapes treated with B ordeaux mixture: a laboratory-scale study. *Australian journal of grape and wine research*, 21(3), 425-429.

Measuring tannins in grapes and red wine using the MCP (methyl cellulose precipitable tannin) assay (2009) AWRI, [www.awri.com.au](http://www.awri.com.au)

Mori, K., Saito, H., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M., Kobayashi, S., Sugaya, S., Gemma, H. & Hashizume, K. (2005). Effects of abscisic acid treatment and night temperatures on anthocyanin composition in Pinot noir grapes. *VITIS-GEILWEILERHOF*-, 44(4), 161.

OIV-MA-AS2-10 , Folin-Ciocalteu Index

OIV-MA-AS312-01A, Alcoholic strength by volume (Resolution Oeno 566/2016)

OIV-MA-AS313-01, Total acidity (Oeno 551/2015)

OIV-MA-AS313-02, Volatile acidity (A 11, revised by 377/2009),

Owen, S. J, Lafond, M. D, Bowen, P., Bogdanoff, C., Usher, K., & Abrams, S. R. (2009). Profiles of abscisic acid and its catabolites in developing Merlot grape (*Vitis vinifera*) berries. *American journal of enology and viticulture*, 60, 277-284.

Paladines-Quezada, D. F., Fernández-Fernández, J. I., Moreno-Olivares, J. D., Bleda-Sánchez, J. A., Gómez-Martínez, J. C., Martínez-Jiménez, J. A., & Gil-Muñoz, R. (2021). Application of Elicitors in Two Ripening Periods of *Vitis vinifera* L. cv Monastrell: Influence on Anthocyanin Concentration of Grapes and Wines. *Molecules*, *26*(6), 1689.

Paladines-Quezada, D. F., Moreno-Olivares, J. D., Fernández-Fernández, J. I., Bautista-Ortín, A. B., & Gil-Muñoz, R. (2019). Influence of methyl jasmonate and benzothiadiazole on the composition of grape skin cell walls and wines. *Food chemistry*, *277*, 691-697.

Peppi, M. C., Fidelibus, M. W., & Dokoozlian, N. (2006). Abscisic Acid Application Timing and Concentration Affect Firmness, Pigmentation, and Color of Flame Seedless' Grapes. *HortScience*, *41*(6), 1440-1445.

Pilati, S., Bagagli, G., Sonego, P., Moretto, M., Brazzale, D., Castorina, G., Galbiati, M. et al. (2017). Abscisic acid is a major regulator of grape berry ripening onset: new insights into ABA signaling network. *Frontiers in plant science*, *8*, 1093.

Portu, J., López, R., Baroja, E., Santamaría, P., & Garde-Cerdán, T. (2016). Improvement of grape and wine phenolic content by foliar application to grapevine of three different elicitors: Methyl jasmonate, chitosan, and yeast extract. *Food Chemistry*, *201*, 213-221.

Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (Eds.). (2006). *Handbook of enology, volume 2: the chemistry of wine-stabilization and treatments* (Vol. 2). John Wiley & Sons.

Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Divenere, D., & Salerno, M. (2002). Effects of pre-and postharvest chitosan treatments to CONTROL storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science*, *67*(5), 1862-1867.

Ruiz-Garcia, Y., Romero-Cascales, I., Gil-Munoz, R., Fernandez-Fernandez, J. I., Lopez-Roca, J. M., & Gomez-Plaza, E. (2012). Improving grape phenolic content and wine chromatic characteristics through the use of two different elicitors: Methyl jasmonate versus benzothiadiazole. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(5), 1283-1290.

Sarneckis, C. J., Damberg, R. G., Jones, P., Mercurio, M., Herderich, M. J., & Smith, P. A. (2006). Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimised tool for grape and wine analysis. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12(1), 39-49.

Singh, R. K., Martins, V., Soares, B., Castro, I., & Falco, V. (2020). Chitosan application in vineyards (*Vitis vinifera* L. cv. Tinto Cão) induces accumulation of anthocyanins and other phenolics in berries, mediated by modifications in the transcription of secondary metabolism genes. *International journal of molecular sciences*, 21(1), 306.

Sun, Y., Liu, Q., Xi, B., & Dai, H. (2019). Study on the regulation of anthocyanin biosynthesis by exogenous abscisic acid in grapevine. *Scientia Horticulturae*, 250, 294-301.

Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Vernet, G., & Aziz, A. (2006). Chitosan stimulates defense reactions in grapevine leaves and inhibits development of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 114(4), 405-413.

Villalobos-González, L., Peña-Neira, A., Ibáñez, F., & Pastenes, C. (2016). Long-term effects of abscisic acid (ABA) on the grape berry phenylpropanoid pathway: gene expression and metabolite content. *Plant Physiology and Biochemistry*, 105, 213-223.

Vitalini, S., Ruggiero, A., Rapparini, F., Neri, L., Tonni, M., & Iriti, M. (2014). The application of chitosan and benzothiadiazole in vineyard (*Vitis vinifera* L. cv Gropello Gentile) changes the aromatic profile and sensory attributes of wine. *Food chemistry*, 162, 192-205.

## 2)Ελληνική Βιβλιογραφία

Καλλίθρακα Σταματίνα (2019). Σημειώσεις μαθήματος

Κοτσερίδης Γιώργος (2019). Σημειώσεις μαθήματος

Κουνδουράς Στέφανος (2019). Σημειώσεις μαθήματος

Σουφλερός Ευ.(2012). Οινολογία, Δεύτερη έκδοση, Θεσσαλονίκη

Τσακίρης Α. (2014). Οινολογία, από το σταφύλι στο κρασί, 4η Έκδοση. Αθήνα: Εκδόσεις Ψύχαλου

## 3)Ιστότοποι



[https://www.heteroclito.gr/wp-down/ampelonas\\_el/17/](https://www.heteroclito.gr/wp-down/ampelonas_el/17/)

<https://www.oinoxos.net/oinos/4409/Pontarontas-sto>

[Moucharo?query=%CE%BC%CE%BF%CF%8D%CF%87%CF%84%CE%B1%CF%81%CE%BF&p=2](https://www.moucharo.gr/?query=%CE%BC%CE%BF%CF%8D%CF%87%CF%84%CE%B1%CF%81%CE%BF&p=2)

[www.musestate.com](http://www.musestate.com), <https://c48962f5-cd61-41f0-950d->

[33e6bea8d746.filesusr.com/ugd/55add3\\_85e072bbb9544412b22ce13d6874cb6f.pdf](https://33e6bea8d746.filesusr.com/ugd/55add3_85e072bbb9544412b22ce13d6874cb6f.pdf)

## Παράρτημα

Πίνακας Ι. Ανθοκυάνες και ταννίνες στις ράγες

	Ολικές ανθοκυάνες (g/L)			Εκχυλισσιμότητα ανθοκυανών (%)			Εκχυλίσιμες ανθοκυάνες (g/L)		
<b>CONTROL</b>	0,68	±0,06	c	37,50	±6,12	b	0,42	±0,03	c
<b>ABA LOW</b>	0,93	±0,22	ab	70,17	±5,31	a	0,27	±0,02	d
<b>ABA MEDIUM</b>	0,77	±0,02	b	37,74	±5,39	b	0,48	±0,04	b
<b>ABA HIGH</b>	0,98	±0,07	a	37,69	±4,36	b	0,61	±0,02	a
<b>CONTROL</b>			d			c			d
<b>CHT LOW</b>	1,06	±0,03	a	46,92	±1,08	a	0,56	±0,02	a
<b>CHT MEDIUM</b>	0,86	±0,03	c	44,78	±0,92	b	0,47	±0,01	c
<b>CHT HIGH</b>	0,92	±0,01	b	44,72	±2,98	ab	0,51	±0,03	b
<b>CONTROL</b>			b			b			b
<b>BTH LOW</b>	0,83	±0,09	a	50,52	±4,86	a	0,41	±0,02	b
<b>BTH MEDIUM</b>	0,73	±0,09	ab	31,64	±7,83	b	0,46	±0,05	ab
<b>BTH HIGH</b>	0,76	±0,10	ab	37,56	±4,37	b	0,48	±0,05	a

	Ταννίνες Φλοιών (g/L)			Ταννίνες Γιγάρτων (g/L)			Ταννίνες φλοιών ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο (%)			Ταννίνες γιγάρτων ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο (%)		
<b>CONTROL</b>	16,90	±1,32	c	19,70	±1,61	a	46,21	±3,53	b	53,79	±3,53	a
<b>ABA LOW</b>	10,67	±0,85	d	25,78	±1,48	b	29,28	±1,84	c	70,72	±1,84	b
<b>ABA MEDIUM</b>	19,14	±1,47	b	21,81	±1,25	a	46,71	±2,70	b	53,29	±2,70	a
<b>ABA HIGH</b>	24,33	±0,68	a	20,79	±2,40	a	54,06	±3,34	a	45,94	±3,34	a
<b>CONTROL</b>			d			a			c			a
<b>CHT LOW</b>	22,52	±0,78	a	11,93	±1,08	c	65,43	±1,59	a	34,57	±1,59	c
<b>CHT MEDIUM</b>	19,00	±0,39	c	14,57	±1,83	b	56,77	±2,69	b	43,23	±2,69	b
<b>CHT HIGH</b>	20,26	±1,20	b	16,81	±2,94	ab	54,92	±5,64	b	45,08	±5,64	ab
<b>CONTROL</b>			b			a			b			a
<b>BTH LOW</b>	16,28	±0,61	ab	6,92	±4,33	b	72,70	±15,34	a	27,30	±15,34	b
<b>BTH MEDIUM</b>	18,36	±1,90	ab	19,38	±5,05	a	49,45	±9,56	ab	50,55	±9,56	a
<b>BTH HIGH</b>	19,00	±2,06	a	26,75	±5,70	a	42,07	±5,64	b	57,93	±5,64	a

Πίνακας II. Ολική οξύτητα και pH

	Ολική οξύτητα (g τρυγικού οξέος/L)			pH		
<b>CONTROL</b>	6,25	±0,31	a	3,43	±0,04	b
<b>ABA LOW</b>	6,10	±0,14	a	3,45	±0,18	ab
<b>ABA MEDIUM</b>	5,55	±0,24	b	3,56	±0,11	ab
<b>ABA HIGH</b>	6,30	±0,12	a	3,60	±0,00	a
<b>CONTROL</b>			a			a
<b>CHT LOW</b>	6,40	±0,43	a	3,34	±0,08	a
<b>CHT MEDIUM</b>	6,00	±0,64	a	3,53	±0,19	a
<b>CHT HIGH</b>	5,85	±0,42	a	3,44	±0,10	a
<b>CONTROL</b>			a			a
<b>BTH LOW</b>	6,20	±0,25	a	3,48	±0,07	ab
<b>BTH MEDIUM</b>	5,80	±0,62	ab	3,66	±0,20	ab
<b>BTH HIGH</b>	5,25	±0,37	b	3,83	±0,26	b

Πίνακας III. Αλκοολικός τίτλος και Πτητική οξύτητα

	Αλκοολικός τίτλος (%v/v)			Πτητική οξύτητα (g οξικού οξέος/L)		
<b>CONTROL</b>	13,09	±0,51	a	0,44	±0,06	a
<b>ABA LOW</b>	13,32	±0,72	a	0,53	±0,03	ab
<b>ABA MEDIUM</b>	13,27	±0,50	a	0,55	±0,04	b
<b>ABA HIGH</b>	12,96	±0,32	a	0,53	±0,03	ab
<b>CONTROL</b>			a			b
<b>CHT LOW</b>	12,25	±0,29	b	0,51	±0,02	ab
<b>CHT MEDIUM</b>	12,32	±1,10	ab	0,50	±0,05	ab
<b>CHT HIGH</b>	13,38	±0,16	a	0,57	±0,04	a
<b>CONTROL</b>			ab			b
<b>BTH LOW</b>	12,59	±0,30	b	0,55	±0,08	ab
<b>BTH MEDIUM</b>	13,64	±0,10	a	0,54	±0,12	ab
<b>BTH HIGH</b>	13,91	±0,34	a	0,58	±0,02	a

Πίνακας IV. Ένταση Χρώματος και Απόχρωση

	Ένταση Χρώματος (AU)			Απόχρωση (AU)		
<b>CONTROL</b>	10,30	±0,63	c	0,68	±0,05	ab
<b>ABA LOW</b>	16,71	±0,93	a	0,72	±0,09	a
<b>ABA MEDIUM</b>	14,30	±0,53	b	0,70	±0,04	a
<b>ABA HIGH</b>	17,02	±0,12	a	0,62	±0,01	b
<b>CONTROL</b>			b			a
<b>CHT LOW</b>	12,45	±0,35	a	0,60	±0,07	a
<b>CHT MEDIUM</b>	10,88	±1,97	ab	0,65	±0,11	a
<b>CHT HIGH</b>	10,54	±1,19	ab	0,70	±0,06	a
<b>CONTROL</b>			b			a
<b>BTH LOW</b>	10,49	±0,91	b	0,66	±0,02	a
<b>BTH MEDIUM</b>	13,31	±1,11	a	0,66	±0,06	a
<b>BTH HIGH</b>	10,78	±0,21	b	0,75	±0,09	a

Πίνακας V. ΔΦΟ, Folin Ciocalteu

	Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (AU)			Folin-Ciocalteu (mg γαλλικού οξέος/L)		
<b>CONTROL</b>	42,55	±2,10	b	1.673,18	±230,50	ab
<b>ABA LOW</b>	49,55	±1,52	a	1.530,00	±127,21	b
<b>ABA MEDIUM</b>	49,68	±1,60	a	1.714,85	±156,76	ab
<b>ABA HIGH</b>	51,30	±0,20	a	1.907,27	±38,97	a
<b>CONTROL</b>			a			ab
<b>CHT LOW</b>	44,35	±2,74	a	1.466,36	±22,80	b
<b>CHT MEDIUM</b>	42,40	±4,01	a	1.458,03	±170,14	ab
<b>CHT HIGH</b>	42,18	±1,52	a	1.677,73	±68,66	a
<b>CONTROL</b>			a			a
<b>BTH LOW</b>	38,10	±0,51	b	1.359,55	±44,54	b
<b>BTH MEDIUM</b>	44,33	±2,69	a	1.642,12	±173,49	a
<b>BTH HIGH</b>	49,43	±4,43	a	1.714,09	±204,23	a

Πίνακας VI. Ολικές ανθοκυάνες

	Ολικές ανθοκυάνες (mg ανθοκυάνες/L)		
<b>CONTROL</b>	345,19	±32,07	b
<b>ABA LOW</b>	356,71	±49,92	b
<b>ABA MEDIUM</b>	341,40	±21,61	b
<b>ABA HIGH</b>	434,22	±15,90	a
<b>CONTROL</b>			ab
<b>CHT LOW</b>	368,52	±12,55	a
<b>CHT MEDIUM</b>	350,88	±8,22	ab
<b>CHT HIGH</b>	319,38	±20,72	b
<b>CONTROL</b>			a
<b>BTH LOW</b>	339,72	±10,18	a
<b>BTH MEDIUM</b>	378,44	±19,80	a
<b>BTH HIGH</b>	357,29	±16,33	a

Πίνακας VII. Ταννίνες με BSA και MCP

	Προσδιορισμός ταννινών με δέσμευση από πρωτεΐνες (BSA) (mg κατεχίνης/L)			Προσδιορισμός ταννινών με αντίδραση με μεθυλοκυτταρίνη (MCP) (mg κατεχίνης/L)		
<b>CONTROL</b>	9,54	±0,59	b	232,32	±70,24	a
<b>ABA LOW</b>	20,37	±4,87	a	243,82	±41,03	a
<b>ABA MEDIUM</b>	14,06	±4,48	ab	98,99	±10,66	b
<b>ABA HIGH</b>	14,68	±0,59	a	182,90	±36,60	a
<b>CONTROL</b>			a			b
<b>CHT LOW</b>	11,43	±1,15	a	430,02	±69,10	a
<b>CHT MEDIUM</b>	11,14	±3,49	a	488,64	±62,28	a
<b>CHT HIGH</b>	11,88	±3,44	a	398,99	±27,35	a
<b>CONTROL</b>			a			ab
<b>BTH LOW</b>	9,30	±2,00	a	358,76	±53,49	a
<b>BTH MEDIUM</b>	7,94	±1,43	a	186,34	±104,29	b
<b>BTH HIGH</b>	8,62	±0,68	a	323,13	±32,02	a

Πίνακας VIII. Ανθοκυάνες με HPLC

Σε ισοδύναμα μαλβιδίνης mg/L	CONTROL		ABA LOW		ABA MEDIUM		ABA HIGH	
	<b>Delphinidin</b>	84,07	±31,23ab	31,53	±7,06c	61,38	±9,15b	94,48
<b>Petunidin</b>	98,64	±30,36ab	55,70	±9,47c	83,95	±10,35b	116,06	±6,85a
<b>Peonidin</b>	12,46	±2,18b	11,47	±3,46ab	11,96	±1,57b	16,53	±0,53a
<b>Malvidin</b>	524,77	±63,83b	415,82	±24,34c	515,54	±11,96b	622,59	±5,50a
<b>Mlv acetale</b>	21,75	±3,47ab	15,75	±0,68c	20,84	±0,24b	24,65	±0,51a
<b>Mlv coumarate</b>	10,21	±1,52b	8,99	±1,89b	9,59	±0,52b	13,63	±0,33a
			CHT LOW		CHT MEDIUM		CHT HIGH	
<b>Delphinidin</b>	84,07	±31,23a	76,54	±10,09a	79,41	±21,09a	48,77	±4,23b
<b>Petunidin</b>	98,64	±30,36ab	96,93	±6,79a	97,06	±20,54a	70,51	±6,82b
<b>Peonidin</b>	12,46	±2,18a	11,91	±2,11a	11,71	±3,14a	7,63	±0,95b
<b>Malvidin</b>	524,77	±63,83ab	574,44	±18,87a	518,49	±55,39ab	466,40	±19,19b
<b>Mlv acetale</b>	21,75	±3,47ab	23,24	±0,77a	20,91	±1,59ab	20,27	±1,24b
<b>Mlv coumarate</b>	10,21	±1,52ab	12,12	±1,04a	11,04	±1,75ab	6,52	±3,40b
			BTH LOW		BTH MEDIUM		BTH HIGH	
<b>Delphinidin</b>	84,07	±31,23a	71,45	±0,16a	86,58	±15,66a	77,58	±7,46a
<b>Petunidin</b>	98,64	±30,36ab	85,96	±0,59b	100,61	±11,99a	97,37	±7,36a
<b>Peonidin</b>	12,46	±2,18ab	10,49	±0,13b	14,76	±3,15ab	16,41	±2,59a
<b>Malvidin</b>	524,77	±63,83a	487,79	±18,65a	506,02	±22,74a	497,57	±13,23a
<b>Mlv acetale</b>	21,75	±3,47a	18,52	±0,85c	16,97	±0,77ab	16,38	±0,63bc
<b>Mlv coumarate</b>	10,21	±1,52a	9,33	±0,78b	8,59	±1,02a	7,08	±0,81ab

Πίνακας IX. Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου

	Ένταση χρώμα- τος	Ένταση αρώμα- τος	Φράουλα	Βύσσινο	Φρούτα του δάσους	Μπαχαρικά (Πιπέρι, Γαρύφαλλο)	Βοτανικά/ Χορτώδη αρώματα	Βανίλια	Άνη	Καραμέλα
<b>CONTROL</b>	6,92	5,65	4,58	4,47	3,90	3,52	3,95	2,96	2,92	3,24
<b>ABA L</b>	7,75	6,29	3,87	4,10	4,01	5,17	5,05	2,57	3,05	2,71
<b>ABA M</b>	7,76	6,41	3,49	4,29	4,39	5,04	4,33	3,07	3,38	3,03
<b>ABA H</b>	7,99	6,13	4,30	3,85	4,25	4,08	3,52	3,93	3,74	4,26
<b>CONTROL</b>	7,29	5,54	4,41	4,96	4,00	3,96	3,40	2,80	3,43	2,77
<b>CHT L</b>	6,80	5,30	4,18	4,48	4,64	3,43	3,25	2,82	3,47	3,48
<b>CHT M</b>	6,80	5,66	3,35	4,28	3,81	3,95	3,95	2,56	3,90	2,29
<b>CHT H</b>	6,85	5,80	5,22	4,85	4,81	4,15	2,95	3,03	4,27	2,93
<b>CONTROL</b>	7,00	5,82	4,22	4,49	4,00	3,95	3,51	2,65	3,43	2,36
<b>BTH L</b>	6,83	6,00	5,75	4,93	4,54	2,95	2,79	3,00	3,63	3,55
<b>BTH M</b>	7,53	6,30	4,31	4,92	4,15	4,23	3,88	2,85	3,55	2,48
<b>BTH H</b>	7,20	6,04	3,66	3,79	4,43	4,55	4,44	2,22	3,56	2,29
<b>CONTROL</b>	7,01	5,62	4,43	4,10	4,33	4,40	3,75	2,31	3,56	2,37
<b>ABA M</b>	8,14	6,65	3,96	4,49	4,67	4,82	4,25	2,38	3,81	2,67
<b>CHT M</b>	7,28	5,95	4,35	4,21	4,01	4,32	3,67	2,75	3,62	2,48
<b>BTH M</b>	7,72	6,07	4,60	5,00	4,86	4,19	3,10	3,61	3,72	3,15

---

	<b>Συνολική βαθμολογία</b>
<b>CONTROL</b>	42,12
<b>ABA L</b>	44,56
<b>ABA M</b>	45,20
<b>ABA H</b>	46,06
<b>CONTROL</b>	42,55
<b>CHT L</b>	41,84
<b>CHT M</b>	40,55
<b>CHT H</b>	44,86
<b>CONTROL</b>	41,43
<b>BTH L</b>	43,97
<b>BTH M</b>	44,19
<b>BTH H</b>	42,18
<b>CONTROL</b>	41,9
<b>ABA M</b>	45,9
<b>CHT M</b>	42,6
<b>BTH M</b>	46,0

---