

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

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
(i) ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑ (ii) ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη της επίδρασης του προανθικού ξεφυλλίσματος
στα χαρακτηριστικά των σταφυλιών και στους παραγόμενους οίνους
της ερυθρής ποικιλίας Μανδηλαριά



Παντελής Ι. Ζωγράφος

Επιβλέπων Καθηγητής:

Γεώργιος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2023

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη της επίδρασης του προανθικού ξεφυλλίσματος
στα χαρακτηριστικά των σταφυλιών και στους παραγόμενους οίνους
της ερυθρής ποικιλίας Μανδηλαριά

“Study of the effect of preblossom defoliation on the characteristics of the
grapes and the produced wines of the red variety Mandilaria”

Παντελής Ι. Ζωγράφος

Εξεταστική Επιτροπή:

Κοτσερίδης Γεώργιος, Καθηγητής ΓΠΑ

Κουνδουράς Στέφανος, Καθηγητής ΑΠΘ

Γαρδέλη Χρυσσαυγή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

Μελέτη της επίδρασης του προανθικού ξεφυλλίσματος στα χαρακτηριστικά των σταφυλιών και στους παραγόμενους οίνους της ερυθρής ποικιλίας Μανδηλαριά

ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων (i) Γαλακτοκομία (ii) Οινολογία
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Οινολογίας & Αλκοολούχων Ποτών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, στο εργαστήριο Οινολογίας την χρονική περίοδο 2021 – 2022. Μελετήθηκε η επίδραση του εντατικού ξεφυλλίσματος πριν την έναρξη της άνθισης, στην ποικιλία Μανδηλαριά, τόσο ως προς κάποιους χαρακτήρες των σταφυλιών κατά την περίοδο του τρύγου όσο και από τον παραγόμενο από αυτά οίνο. Το πείραμα στον αγρό πραγματοποιήθηκε σε δύο αγροτεμάχια(AM,G), τα οποία βρίσκονται στην παραδοσιακή αμπελουργική περιοχή της Χίου, την Αμανή. Στο κάθε αγροτεμάχιο οριοθετήθηκε μια περιοχή, από την οποία στα μισά φυτά εφαρμόστηκε εντατικό ξεφύλλισμα οριακά πριν την έναρξη της άνθισης(AMX. GX) και στα υπόλοιπα φυτά εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα ένα μήνα περίπου μετά την καρπόδεση(AMM, GM).

Κατά την περίοδο του τρύγου, μετρήθηκε το μέσο βάρος σταφυλής και το μέσο βάρος ράγας, καθώς επίσης αναλύθηκε και η φαινολική ωρίμανση των σταφυλιών με τη μέθοδο Glories. Μετά τον τρύγο, ακολούθησαν μικροοινοποιήσεις με τα παραγόμενα σταφύλια και παράχθηκαν 2 οίνοι, για κάθε πειραματική μονάδα σε 2 επαναλήψεις. Αρχικά, στους οίνους έγιναν οι βασικές αναλύσεις (ολική οξύτητα, ενεργός οξύτητα, αλκοολικός τίτλος, πτητική οξύτητα) και μελετήθηκαν τα χρωματικά χαρακτηριστικά τους (ένταση, απόχρωση). Ακολούθησαν μετρήσεις σχετικά με τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών ουσιών, των ανθοκυανών και των ταννινών. Συγκεκριμένα έγιναν μετρήσεις του Δείκτη Φαινολικών Ουσιών, αναλύσεις των ολικών ανθοκυανών, των ολικών φαινολικών, των μονομερών ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία (HPLC) και τέλος μέτρηση της συγκέντρωσης των ταννινών μετά από συμπλοκοποίηση τους με αλβουμίνη (BSA) και με μεθυλοκυτταρίνη (MCP). Όσον αφορά τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας φαίνεται ότι το προανθικό ξεφύλλισμα στις περιπτώσεις των AMM και GM οδηγεί στην παραγωγή μικρότερων και αραιόρραγων βοτρυών καθώς και στην αύξηση του φαινολικού δυναμικού της συγκεκριμένης ποικιλίας.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: Ξεφύλλισμα, Ποικιλία Μανδηλαριά, φαινολικά συστατικά, ταννίνες, ανθοκυάνες, ράγες, Χίος

Study of the effect of preblossom defoliation on the characteristics of the grapes and the produced wines of the red variety Mandilaria

MSc Current Food Technology (i) Dairy Science & Technology (ii) Oenology
Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Oenology & Alcoholic Drinks

ABSTRACT

The following thesis was completed at the Agriculture University of Athens, in the laboratory of Oenology. The effect of intense defoliation before the bloom beginning was studied in the Mandilaria variety. It was analyzed the grapes and the produced wines. The experimental vineyard was in two different plots (AM, G) in the northern part of Chios. Half of the plants from every plot were used as controls and a few leaves were removed after veraison (AMX, GX), while the rest were intensively defoliated before the beginning of the bloom (AMM, GM).

On the grapes was measured the final weight and the total anthocyanins (Glories method). After the harvest, micro-vinification followed and 2 wines were produced for each plot. 2 wines for the controls and 2 other wines from grapes produced from the defoliated parts of plots. The produced wines were checked in the basic analyzes (total acidity, pH, alcoholic strength, volatile acidity, residual sugars) and their color characteristics (intensity, hue). Measurements of total phenolics, anthocyanins and tannins were performed. Specifically, measurements of the Total Phenolic Index, analyzes of total anthocyanins, total phenolics, monomeric anthocyanins by liquid chromatography (HPLC) and finally measurement of the concentration of tannins after their complexation with albumin (BSA) and methyl-cellulose (MCP). The results in this research showed that early defoliation give smaller and sparser grapes (AMM, GM) than the grapes had become from the control plants (AMX, GX). Also, there is a remarkable increase of total phenolics.

Scientific area: Oenology

Key words: Defoliation, cv Mandilaria, phenolic content, tannins, anthocyanins, berries, Chios

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1.	ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	1
1.2.	ΣΤΑΦΥΛΙ – ΡΑΓΑ	2
1.3.	ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΙΣ – ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ ΣΤΟ ΑΜΠΕΛΙ.....	4
1.3.1.	ΣΑΚΧΑΡΑ.....	4
1.3.2.	ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	5
1.3.3.	ΑΖΩΤΟΥΧΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	6
1.3.4.	ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ.....	6
1.4.	ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ.....	7
1.4.1.	ΚΛΑΔΕΜΑ	7
1.4.2.	ΒΛΑΣΤΟΛΟΓΗΜΑ.....	8
1.4.3.	ΚΟΡΥΦΟΛΟΓΗΜΑ.....	8
1.4.4.	ΞΕΦΥΛΛΙΣΜΑ.....	9
1.5.	ΜΑΝΔΗΛΑΡΙΑ.....	12
1.5.1.	ΑΜΠΕΛΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	12
1.5.2.	ΣΤΑΦΥΛΗ	13
1.5.3.	ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ.....	14
1.5.4.	ΟΙΝΟΙ	15
1.6.	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	15
2.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	16
2.1.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΑΜΠΕΛΩΝΑΣ	16
2.2.	ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	17
2.2.1	Μέτρηση βάρους ραγών.....	17
2.2.2	Μέτρηση βάρους βοτρύων	17
2.2.3	Προσδιορισμός σακχάρων με διαθλασιμετρία	17
2.2.4	Προσδιορισμός σακχάρων με αραιομετρία.....	18
2.2.5	Προσδιορισμός ογκομετρούμενης/ολικής οξύτητας.....	18
2.2.6	Ενεργή Οξύτητα – pH	18
2.2.1.	Προσδιορισμός φαινολικής ωρίμανσης σταφυλιών (Μέθοδος GLORIES)	19
2.2.2	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ	21
2.3.	ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΟΙΝΩΝ	21

2.3.1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΟΥ ΤΙΤΛΟΥ.....	22
2.3.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΤΗΤΙΚΗΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ.....	22
2.3.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ.....	23
2.3.4. ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ ΚΑΙ ΟΛΙΚΟΥ ΘΕΙΩΔΗ ΑΝΥΔΡΙΤΗ.....	23
2.4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ.....	24
2.4.1. ΧΡΩΜΑΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ (ΕΝΤΑΣΗ – ΑΠΟΧΡΩΣΗ).....	24
2.4.2. ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (ΔΦΟ).....	24
2.4.3. ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ (ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN-CIOCALTEAU).....	25
2.4.4. ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ.....	26
2.4.5. ΤΑΝΝΙΝΕΣ ΒSA (ΔΕΙΚΤΗΣ ΣΤΥΠΤΙΚΟΤΗΤΑΣ).....	27
2.4.6. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΑΝΝΙΝΩΝ MCP (Methyl Cellulose Precipitable).....	29
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	34
3.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΞΕΦΥΛΛΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ.....	34
3.1.1 ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ.....	36
3.2. ΦΑΙΝΟΛΙΚΗ ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ (GLORIES).....	37
3.2. ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΖΥΜΩΣΕΩΝ.....	41
3.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΞΕΦΥΛΛΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥΣ ΟΙΝΟΥΣ.....	42
3.3.1. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΟΙΝΩΝ.....	42
3.3.2. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ – ΧΡΩΜΑΤΟΣ.....	45
3.3.4. ΤΑΝΝΙΝΕΣ ΟΙΝΩΝ.....	52
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	54
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	57
5.1. ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	57
5.2. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	60

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Το είδος *Vitis vinifera* της οικογένειας Vitaceae αποτελεί το σημαντικότερο είδος της παραγωγικής αμπελουργίας ανά τον κόσμο. Από την ελληνική αρχαιότητα υπήρχαν αναφορές για την ταξινόμηση και τον διαχωρισμό των ελληνικών ποικιλιών από φιλόσοφους και συγγραφείς (Σταυρακάκης, 2010). Σύμφωνα με κάποιους ερευνητές υπάρχουν στοιχεία για παραγωγή οίνων εδώ και 6000 χρόνια. Είναι προφανές, λοιπόν, ότι ο οίνος και η παραγωγική του διαδικασία είναι μέρος της κουλτούρας, της θρησκείας και της καθημερινότητας των ανθρώπων ανά τον κόσμο με αρκετές διαφοροποιήσεις στην τεχνική παραγωγής του από περιοχή σε περιοχή (Soleas et al. 1997).

Σύμφωνα με τον Τσακίρη, η οινοποίηση φαίνεται να ξεκίνησε μεταξύ 7000 και 5000 π.Χ. σε μια περιοχή νότια του Καυκάσου εκεί όπου υφίσταται σήμερα το κράτος της Γεωργίας. Από εκεί, η καλλιέργεια της αμπέλου και η οινοποίηση διαδόθηκε προς τη Μεσοποταμία το 5000 π.Χ. και συνεχίστηκε στην περιοχή της Αιγύπτου. Στην Ελλάδα πιθανολογείται ότι η καλλιέργεια εισχώρησε γύρω στο 4000 π.Χ., χωρίς να υπάρχουν δεδομένα για το πότε ξεκίνησε η οινοποίηση. Η Ελλάδα ήταν η πρώτη χώρα που συναντάται η έννοια των τοπικών οίνων. Περίφημοι ήταν οι οίνοι της Χίου με ανώτερο όλων τον Αριούσιο Οίνο. Ακόμα, ξακουστοί ήταν οι οίνοι της Θάσου, της Θήρας, της Σκιώνης κ.α.

Η σημαντικότητα του οίνου στην αρχαία Ελλάδα φαίνεται από την πληθώρα των μύθων που υπήρχαν με πρωταγωνιστή τον θεό Διόνυσο. Οι αρχαίοι Έλληνες έπιναν «οίνο κεκαρμένο», δηλαδή αραιωμένο με αναλογία δύο μέρη οίνου και ένα μέρος νερού. Για την παραγωγή των γλυκών οίνων χρησιμοποιούσαν μια τεχνική, που είναι και σήμερα ευρέως χρησιμοποιούμενη, το λιάσιμο των σταφυλιών. Όσον αφορά τη διαδικασία της οινοποίησης αλλά και για τη συντήρηση των οίνων χρησιμοποιούσαν πήλινα δοχεία τα οποία ήταν καλυμμένα εσωτερικά με μονωτικά υλικά, όπως πίσσα. Τα πήλινα δοχεία συνήθιζαν να τα τοποθετούν μέσα στη γη έτσι ώστε να επιτυγχάνουν όσο το δυνατόν πιο σταθερές συνθήκες οινοποίησης και συντήρησης του οίνου. Έχει γίνει ακόμα γνωστό ότι πριν τη μεταφορά και κατανάλωση του οίνου γινόταν μια διήθηση με χρήση πανιών.

Η διάδοση των τεχνικών οινοποίησης και συντήρησης συνεχίστηκε μέσω της Ιταλίας και των Ρωμαίων όπου εντάχθηκε για πρώτη φορά ο όρος της παλαίωσης του οίνου, καθώς και η διαφοροποίησή του όχι μόνο με βάση την ποικιλία αλλά και με βάση την περιοχή καλλιέργειας. Οι Ρωμαίοι άρχισαν να χρησιμοποιούν ευρέως τα πιεστήρια δοκού(κοχλίας με βίδα) και εισήγαγαν για πρώτη φορά τα ξύλινα βαρέλια για την μεταφορά και αποθήκευση του οίνου. Κατά τον 17^ο αιώνα, ο οίνος άρχισε να αποκτά εμπορική αξία για τους Ολλανδούς, οι οποίοι για να διατηρήσουν την ποιότητα ξεκίνησαν να χρησιμοποιούν τον θειώδη ανυδρίτη ως συντηρητικό, πρακτική που εφαρμόζεται μέχρι και σήμερα. Στις αρχές του 18^{ου} αιώνα έγιναν δύο μικρές επαναστάσεις στο χώρο της οινοποίησης, όταν στην πόλη Bordeaux της Γαλλίας χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά η ζάχαρη για την αύξηση του αλκοολικού τίτλου των μέχρι τότε χαμηλόβαθμων οίνων και άρχισαν να εφαρμόζονται συστηματικά οι μακροχρόνιες εκχυλίσσεις. Τον 19^ο αιώνα εφαρμόστηκε για πρώτη φορά η χρήση φίλτρων γης διατόμων. Στα μέσα του 19^{ου} αιώνα ξεκίνησε η ιστορία της επιστημονικής έρευνας στην οιнологία, αφού ο Pasteur ανακάλυψε τη σημασία των μικροοργανισμών στον οίνο, καθώς και την επίδραση του οξυγόνου σε αυτόν. Τέλος, κατά τον 20^ο αιώνα γίνεται η βιομηχανική παραγωγή γυάλινων φιαλών που προστατεύουν και συντηρούν καλύτερα τον οίνο, η κατασκευή ηλεκτροκίνητων αντλιών και η αλλαγή υλικού στις δεξαμενές συντήρησης, αφού αντί ξύλο, σπλισμένο μπετόν και σίδηρο ξεκίνησε η χρήση ανοξείδωτου χάλυβα (Τσακίρης 2005).

1.2. ΣΤΑΦΥΛΙ – ΡΑΓΑ

Η ράγα, δηλαδή ο καρπός της αμπέλου, αποτελείται από τρία κύρια μέρη, τη σάρκα, τον φλοιό και τα γίγαρτα. Ο φλοιός αποτελείται από την εφυμενίδα, την επιδερμίδα και την υποδερμίδα απαρτίζοντας το ελαστικό περικάρπιο της ράγας. Ο φλοιός αποτελεί το 6 – 20 % του βάρους του σταφυλιού. Η χημική του σύσταση είναι πλούσια σε κυτταρίνη, πηκτίνες και πρωτεΐνες. Ο ρόλος του φλοιού στην οινοποίηση είναι σημαντικός λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες, σε ανθοκυάνες και σε αρωματικές ενώσεις. Η σάρκα, που κατά την ωρίμανση καλύπτει το 75 – 80 % της ράγας, αποτελείται από μεγάλα ανεπτυγμένα φυτικά κύτταρα που στο εσωτερικό τους καλύπτονται κατά βάση από ένα μεγάλο χυμοτόπιο. Τα στερεά μέρη της σάρκας αποτελούνται από τα κυτταρικά τοιχώματα και τις αγγειώδεις δεσμίδες με τις οποίες επικοινωνεί η ράγα με το υπόλοιπο φυτό. Η σάρκα

κατά την ωρίμανση είναι πλούσια σε σάκχαρα (κυρίως γλυκόζη και φρουκτόζη) με 150 – 250 g/L. Τέλος, υπάρχουν τα γίγαρτα που αποτελούν το 3-6% του συνολικού βάρους της ράγας και αποτελούνται από νερό, πολυσακχαρίτες, έλαια, τανίνες, λιπαρά οξέα, αζωτούχα και ανόργανα συστατικά.

Τα στάδια ανάπτυξης της ράγας είναι τρία, ενώ η διαγραμματική απεικόνιση της πορείας από την άνθηση στην ωρίμανση ακολουθεί μια διπλή σιγμοειδή καμπύλη. Το πρώτο στάδιο ανάπτυξης της ράγας τοποθετείται από την καρπόδεση και μετά, στο δεύτερο στάδιο η ράγα βρίσκεται σε μια στατική φάση ανάπτυξης έως ότου εισέλθει στο τρίτο στάδιο ανάπτυξης που ξεκινά από την έναρξη της ωρίμανσης έως την ολοκλήρωση της. Ο Coombe περιγράφοντας τα στάδια ανάπτυξης υποστηρίζει ότι υπάρχουν δυο φάσεις έντονης ανάπτυξης με επιτάχυνση και επιβράδυνση (στάδια 1 και 3) που ενδιάμεσα τους τοποθετείται μια φάση καθυστέρησης (στάδιο 2) (Coombe, 1980).

Το πρώτο στάδιο ανάπτυξης διαρκεί περίπου 60 ημέρες που κατά τη διάρκεια του σχηματίζονται τα γίγαρτα ενώ ταυτόχρονα γίνονται έντονες κυτταροδιαιρέσεις εντός της ράγας. Όταν τελειώνει η πρώτη περίοδος ανάπτυξης τα οξέα (τρυγικό και μηλικό) βρίσκονται στο μέγιστο της συγκέντρωσης τους. Το τρυγικό οξύ συγκεντρώνεται κυρίως στα εξωτερικά στρώματα της αναπτυσσόμενης ράγας, με το μηλικό οξύ να συγκεντρώνεται στη σάρκα. Το τρυγικό οξύ συσσωρεύεται από τα πρώτα στάδια ανάπτυξης της ράγας ενώ το μηλικό οξύ εμφανίζεται λίγο πριν την έναρξη της ωρίμανσης. Κατά το πρώτο στάδιο ανάπτυξης συσσωρεύονται υδροξυκιναμμωμικά οξέα και ταννίνες στους φλοιούς και μέταλλα, αμινοξέα και πτητικές ενώσεις, όπως οι μεθοξυπυραζίνες, στα γίγαρτα. Αυτοί οι παράγοντες έχουν πολύ σημαντική επίδραση στο χρώμα (υδροξυκιναμμωμικά οξέα), στο άρωμα (πτητικές ενώσεις) και στην σταθερότητα (ταννίνες) των οίνων.

Το δεύτερο στάδιο ανάπτυξης της ράγας, που ονομάζεται έναρξη της ωρίμανσης ή περκασμός και διαρκεί 50 με 60 ημέρες, χαρακτηρίζεται από την αλλαγή χρώματος, το σταδιακό μαλάκωμα της σάρκας και τον διπλασιασμό του μεγέθους της. Κάποιες από τις χημικές ενώσεις που απαντώνται στο πρώτο στάδιο παραμένουν και στο δεύτερο με εμφανή όμως τη μείωση της συγκέντρωσης τους λόγω της αύξησης του μεγέθους των ραγών (Kennedy, 2002). Η μείωση της συγκέντρωσης του μηλικού οξέος συσχετίζεται

άμεσα με τις κλιματικές συνθήκες. Είναι σύνηθες, λοιπόν, σε θερμές περιοχές να περιέχεται λιγότερο μηλικό οξύ σε σχέση με περιοχές που έχουν ηπιότερα και ψυχρότερα κλίματα. Ακόμα, οι ταννίνες των γιγάρτων μειώνονται αισθητά σε σχέση με το πρώτο στάδιο ανάπτυξης λόγω της οξειδωσης που συμβαίνει καθώς συντίθεται το περίβλημα του γιγάρτου. Οι ταννίνες των φλοιών συνήθως μεταβάλλονται κατά τη δεύτερη φάση ανάπτυξης σε μεγαλύτερα μόρια καθώς ενώνονται με ανθοκυάνες και με αυτό τον τρόπο επηρεάζεται η εκχύλιση τους και κατ' επέκταση το σώμα του κρασιού και η σταθερότητα του χρώματος. Οι πυραζίνες είναι σημαντικές αρωματικές ενώσεις που εμφανίζονται στο πρώτο στάδιο ανάπτυξης αλλά μειώνονται προς το τέλος της ωρίμανσης και επηρεάζονται από την ηλιακή ακτινοβολία. Η μεγάλη αλλαγή που συμβαίνει σε αυτό το στάδιο είναι η συσσώρευση των σακχάρων. Η σακχαρόζη που παράγεται μέσω της φωτοσύνθεσης υδρολύεται σε γλυκόζη και φρουκτόζη και η συγκέντρωσή τους εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως την ποικιλία, το βάρος της σοδειάς, το φύλλωμα. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου ανάπτυξης εμφανίζονται οι δευτερογενείς μεταβολίτες που είναι αναπόσπαστο κομμάτι της ποιότητας ενός οίνου. Παράδειγμα δευτερογενών μεταβολιτών είναι οι ανθοκυάνες που βρίσκονται μόνο στον φλοιό των ερυθρών ποικιλιών (σπανίως στη σάρκα), αλλά και τα τερπενοειδή και άλλοι πρόδρομοι αρωματικών ενώσεων που αφορούν κυρίως τις λευκές ποικιλίες. Οι αρωματικές ενώσεις βρίσκονται κυρίως στη σάρκα και τους φλοιούς της ράγας (Koytroymanidis, Winetitles).

1.3. ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΙΣ – ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ ΣΤΟ ΑΜΠΕΛΙ

1.3.1. ΣΑΚΧΑΡΑ

Τα σημαντικότερα σάκχαρα που βρίσκονται στη σάρκα είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη όπου κατά την ωρίμανση έχουν συγκέντρωση 150 – 250 g/L. Τα υπόλοιπα σάκχαρα βρίσκονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, για παράδειγμα η σακχαρόζη κατά την ωρίμανση υπάρχει από 1 έως 3 g/L. Τα σάκχαρα συσσωρεύονται στα χυμοτόπια των κυττάρων της σάρκας που καλύπτουν το 65 -91% του συνολικού βάρους της ράγας (Agasse et al., 2009). Σύμφωνα με τον Coombe (Coombe, 1987) από την έναρξη της ωρίμανσης έως και την ολοκλήρωσή της, συγκεντρώνονται στη ράγα ένα εκατομμύριο εξόζες γλυκόζης και άλλες τόσες φρουκτόζης. Η πορεία που ακολουθούν για να καταλήξουν στη ράγα είναι μέσω

του δικτύου μεταφοράς θρεπτικών στοιχείων του φλοιού αφού γίνει πρώτα η βιοσύνθεση της σακχαρόζης στην φυλλική επιφάνεια. Είναι αξιοσημείωτο ότι σε εργαστηριακές μετρήσεις φαίνεται να εμφανίζονται οι δυο εξόζες την ίδια ημέρα εντός της ράγας. Ακόμα, ο Coombe και ο Τσακίρης συμφωνούν ότι, κατά την ωρίμανση, εντός της ράγας και κοντά στην περιοχή του φλοιού, υπάρχει μεγαλύτερη συγκέντρωση σακχάρων σε σχέση με την εσωτερική περιοχή των γιγάρτων. Οινολογικά, αυτό που προαναφέρθηκε ταιριάζει με τη διαπίστωση του Τσακίρη ότι ο πρόρωγος είναι πλουσιότερος σε συγκέντρωση σακχάρων, σε αντίθεση με τις πιέσεις που όσο αυξάνονται, τόσο οδηγούν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σακχάρων (Τσακίρης, 2008). Τα σάκχαρα είναι υπεύθυνα για την ωρίμανση των ραγών, επηρεάζουν τον λόγο σάκχαρα / οξέα και επιδρούν σημαντικά στις αρωματικές ενώσεις του οίνου (Conde et al., 2007) και ίσως αποτελούν τον σημαντικότερο παράγοντα για την έκφραση των οινολογικών χαρακτηριστικών καθώς και την αξία ενός οίνου (Ren et al., 2020).

1.3.2. ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ

Το κυριότερο οργανικό οξύ που απαντάται στο σταφύλι είναι το τρυγικό οξύ, το οποίο είναι το επικρατέστερο και το ισχυρότερο από τα υπόλοιπα οργανικά οξέα. Είναι επίσης υπεύθυνο για το όξινο pH που προσδίδει στον οίνο, περίπου 3 – 3.5. Σε άγουρα σταφύλια, κατά το τέλος του πρώτου σταδίου ανάπτυξης, η συγκέντρωση τρυγικού οξέος φτάνει στα 15 g/L. Στο τέλος της ωρίμανσης, η συγκέντρωσή του κυμαίνεται μεταξύ 2 και 6 g/L και ποικίλει ανάλογα με τη γεωγραφική θέση του αμπελώνα σε θερμά ή ψυχρά κλίματα. Το μηλικό οξύ βρίσκεται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς, ενώ βρίσκεται σε αφθονία στα πράσινα μήλα και για αυτόν τον λόγο πήρε την συγκεκριμένη ονομασία. Πριν την έναρξη της ωρίμανσης βρίσκεται στο μέγιστο της συγκέντρωσής του (25 g/L). Μετά από 15 ημέρες και λόγω της αύξησης του μεγέθους της ράγας αλλά και της καύσης, η συγκέντρωση πέφτει στο μισό, φτάνοντας κατά το τέλος της ωρίμανσης κατά μέσο όρο στα 4 – 6.5 g/L. Εξαιρέση αποτελούν οι νοτιότερες περιοχές, όπως η Ελλάδα, όπου εξαιτίας της ζέστης η συγκέντρωση πέφτει στα 1 – 2 g/L.

Το κιτρικό οξύ είναι ένα ευρέως διαδεδομένο οξύ στη φύση με πολύ σημαντικό βιοχημικό και μεταβολικό ρόλο. Το κιτρικό οξύ μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ταχύτητα στην κινητική της ζύμωσης χωρίς όμως να μπορεί να την σταματήσει (Kalathenos et al., 1995).

Οι συγκεντρώσεις του κιτρικού οξέος στο γλεύκος και τον οίνο είναι 0.5 – 1 g/L πριν την έναρξη της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Αυτά τα τρία οξέα είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνα για το σύνολο της οξύτητας των σταφυλιών. Υπάρχουν και κάποια άλλα οξέα όπως τα κινναμωμικά οξέα, το ασκορβικό οξύ, γλυκονικά οξέα και άλλα τα οποία όμως δεν έχουν κάποιο σημαίνοντα ρόλο στην οξύτητα.

1.3.3. ΑΖΩΤΟΥΧΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Το άζωτο βρίσκεται στην πράσινη ράγα με μορφή κατιόντος αμμωνίου σε ποσοστό 80% ενώ κατά την ωρίμανση της ράγας το ποσοστό αυτό πέφτει σε 10%. Η σύνθεση των πρωτεϊνών, των πεπτιδίων και των αμινοξέων λαμβάνει χώρα περίπου 2 μήνες πριν την ολοκλήρωση της ωρίμανσης (Wermelinger, 1999). Κατά την αλκοολική ζύμωση, οι μύκητες προτιμούν να χρησιμοποιούν το ανόργανο άζωτο, ενώ αντίθετα τα βακτήρια προτιμούν το άζωτο των αμινοξέων. Οι ερυθροί οίνοι έχουν διπλάσια συγκέντρωση αζωτούχων ενώσεων σε σχέση με τους λευκούς λόγω της εκχύλισης στερεών συστατικών (Τσακίρης, 2008). Τα κυριότερα αμινοξέα που απαντώνται στα σταφύλια είναι η προλίνη και η αργινίνη, ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις εντοπίζονται η αλανίνη, το γλουταμικό και το ασπαρτικό οξύ.

1.3.4. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Ως φαινόλη ορίζεται το υδροξυλιωμένο παράγωγο του αρωματικού υδρογονάνθρακα που περιέχει ένα ή περισσότερα υδροξύλια, σε αντικατάσταση ισάριθμων υδρογόνων, και είναι σε σύνδεση με τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου (Κουράκου, 1998). Οι φαινόλες βρίσκονται ως επί το πλείστον στον φλοιό και τα γίγαρτα της ράγας (Handbook of Oenology, 2006). Οι φαινολικές ενώσεις επηρεάζουν το χρώμα, τη λιπαρότητα της γεύσης και γενικώς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός οίνου. Όπως είναι κατανοητό, οι φαινολικές ενώσεις είναι υπεύθυνες για τις διαφορές μεταξύ των ερυθρών και των λευκών οίνων, ιδιαίτερα για το χρώμα και τη γεύση (Τσακίρης, 2008).

Μια από τις μεγαλύτερες ομάδες φαινολικών συστατικών είναι οι ανθοκυάνες οι οποίες επηρεάζουν το χρώμα των οίνων. Ανθοκυάνες είναι οι χημικές ενώσεις που βρίσκονται στο υπόδερμα του φλοιού της ράγας, και πολύ σπάνια στη σάρκα της, και είναι υπεύθυνες για το χρώμα του οίνου. Χαρακτηριστικό τους είναι ότι περιέχουν ένα κατιόν του φλαβυλίου που είναι υπεύθυνο για το χρώμα που προσδίδεται στον οίνο. Το χρώμα τους αλλάζει

ανάλογα με το pH του διαλύματος που βρίσκονται. Σε έναν οίνο, το μέγιστο του χρώματος παρατηρείται όταν το pH βρίσκεται από 3.2 – 3.5 και, όσο αυξάνεται το pH, το χρώμα σταδιακά μειώνεται.

Μετά τις ανθοκυάνες, μια άλλη μεγάλη ομάδα φαινολικών συστατικών είναι οι τανίνες. Οι ταννίνες είναι μόρια που έχουν αρωματικούς δακτυλίους (υδρόφοβο μέρος) και ομάδες υδροξυλίων (υδρόφιλο μέρος) που τους επιτρέπουν να συνδέονται με διάφορους τρόπους με άλλα μόρια (Haslam, 1998b). Οι ταννίνες αποτελούν μια πολύ σημαντική παράμετρο ποιότητας και είναι υπεύθυνες για τη στυπτικότητα των οίνων αλλά και για τη διατήρηση του ερυθρού χρώματος σε αυτά. Βέβαια, είναι αποδεκτό ότι η συγκέντρωση ταννινών στο σταφύλι δεν είναι συσχετισμένη με την εκχύλιση τους στον οίνο (Harbertson et al. 2002, Adams et al. 2008). Κάποιοι ερευνητές σημειώνουν ότι η μειωμένη εκχύλιση ταννινών στον οίνο οφείλεται στην μείωση ταννινών που υφίσταται η ράγα στην πορεία της από την έναρξη της ωρίμανσης προς τον τρύγο (Cheynier et al. 1997, Kennedy et al. 2000a, Downey et al. 2003, Hanlin and Downey 2009). Η εκχύλιση των ταννινών στους οίνους εξαρτάται και από άλλες χημικές ενώσεις που περιέχονται στις ράγες όπως πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες (Amrani Joutei et al. 1994, Cheynier et al. 1997, Kennedy et al. 2000a, Downey et al. 2003, Hazak et al. 2005, Fournand et al. 2006, Cerpa-Calderon and Kennedy 2008).

1.4. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Οι καλλιεργητικές τεχνικές που εφαρμόζονταν ιστορικά στο αμπέλι ως στόχο είχαν την ποιοτική παραγωγή του αμπελώνα και τον έλεγχο του σχήματος του πρέμνου. Σήμερα, εξακολουθούν να ισχύουν οι συγκεκριμένοι στόχοι, όμως θα πρέπει να συνεκτιμηθούν και κάποιοι ανασταλτικοί παράγοντες, όπως η αύξηση της θερμοκρασίας του πλανήτη, η έλλειψη βροχοπτώσεων και νερού γενικότερα. Συνεκτιμώντας όλες αυτές τις συνισταμένες η αμπελουργία καλείται να δώσει βιώσιμες λύσεις.

1.4.1. ΚΛΑΔΕΜΑ

Το κλάδεμα είναι η σημαντικότερη καλλιεργητική εργασία στο αμπέλι, καθώς με αυτήν διατηρείται το σχήμα των πρέμνων στον αμπελώνα μας και ανανεώνονται οι καρποφόρες μονάδες. Το κλάδεμα είναι η εργασία που ρυθμίζει το δυναμικό βλάστησης – παραγωγής και

τη διάταξη βλαστών – σταφυλών στον χώρο. Στην Ελλάδα, το κλάδεμα διεξάγεται κατά τη χειμερινή περίοδο και πριν την έκπτυξη των οφθαλμών, δηλαδή από τον Ιανουάριο έως και τα τέλη του Μαρτίου (Senthilkumar, 2015).

Σύμφωνα με τους Weaver και Celik et al. το κλάδεμα διατηρεί την παραγωγικότητα του πρέμνου και βοηθάει στην ισόρροπη ανάπτυξη βλαστών και φρούτων. Ακόμα, το κλάδεμα μπορεί να βοηθήσει στην παραγωγή ποιοτικών σταφυλιών ενώ υπάρχουν διαφορετικά προτεινόμενα είδη κλαδέματος (π.χ. με κεφαλές, με αμολητές ή μικτό) ανάλογα με την ποικιλία που καλλιεργείται (Weaver, 1976, Celik et al., 1998).

1.4.2. ΒΛΑΣΤΟΛΟΓΗΜΑ

Το βλαστολόγημα διεξάγεται μετά την έκπτυξη των οφθαλμών και σε αυτό γίνεται αφαίρεση των νεαρών βλαστών οι οποίοι δεν έχουν υπολογιστεί κατά το χειμερινό κλάδεμα. Αν παραμείνουν οι λαίμαργοι, διπλοί βλαστοί ή βλαστοί σε ακατάλληλες θέσεις μπορεί να προκληθεί πρόβλημα στο ισοζύγιο φορτίου – βλάστησης που είχε υπολογιστεί στο χειμερινό κλάδεμα. Το βλαστολόγημα γίνεται όταν οι βλαστοί έχουν μήκος από 15 cm έως 30 cm και έχει στόχο την βελτίωση της ζωηρότητας των βλαστών που θα απομείνουν και την βελτίωση του μικροκλίματος. Το βλαστολόγημα είναι ίσως η σημαντικότερη εργασία στα πρώτα χρόνια ζωής ενός αμπελώνα αφού βοηθάει ουσιαστικά στη διαμόρφωση του.

1.4.3. ΚΟΡΥΦΟΛΟΓΗΜΑ

Το κορυφολόγημα είναι αφαίρεση του ακραίου μεριστώματος του βλαστού (apex) μαζί με κάποιο αριθμό φύλλων. Το κορυφολόγημα γίνεται είτε με το χέρι είτε με μηχανικά μέσα και μπορούν αφαιρεθούν από 2 έως 5 cm ή και μεγαλύτερο τμήμα βλαστού. Σε ακραίες περιπτώσεις μπορεί να αφαιρεθεί όλος ο βλαστός έως τον οφθαλμό που φύεται η ανώτερη σταφυλή. Ο χρόνος εφαρμογής της συγκεκριμένης εργασίας γίνεται πριν, κατά την διάρκεια ή μετά την άνθηση. Το κορυφολόγημα ανάλογα με το χρόνο πραγματοποίησής του και την έντασή του μπορεί να ευνοήσει τις συνθήκες καρπόδεσης, ιδιαίτερα σε ποικιλίες που έχουν το πρόβλημα της ανθόρροιας. Ακόμα, το κορυφολόγημα επηρεάζει θετικά αρκετούς παράγοντες όπως την αύξηση του μεγέθους της ράγας, την προστασία των βλαστών από μηχανικές βλάβες που προέρχονται από πνοές ισχυρών ανέμων ή τη χρήση γεωργικών ελκυστήρων. Το κορυφολόγημα επηρεάζει θετικά την ποσοτική και ποιοτική βελτίωση της

παραγωγής και βοηθάει την οικονομία νερού, μειώνοντας την επιφάνεια διαπνοής στα ξηρά εδάφη. Αυτό είναι πολύ σημαντικό για περιοχές χωρίς επαρκείς βροχοπτώσεις και όπου δεν υπάρχει δυνατότητα άρδευσης (Χατζάκος, 2004).

1.4.4. ΞΕΦΥΛΛΙΣΜΑ

Το ξεφύλλισμα είναι η διαδικασία κατά την οποία αφαιρείται μέρος φυλλώματος από τον ετήσιο βλαστό και διεξάγεται μετά την έκπτυξη των οφθαλμών μέχρι και λίγο πριν την ωρίμανση των σταφυλιών (Moreno et al., 2016; Vanderweide et al., 2021; Savvas et al., 2019). Αυτή η καλλιεργητική εργασία έχει ως στόχο τη βελτίωση του μικροκλίματος των σταφυλιών, την καθοδήγηση των προϊόντων της φωτοσύνθεσης προς τα σταφύλια καθώς και τη διευκόλυνση των εργασιών στον αμπελώνα, όπως οι ψεκασμοί και ο τρύγος. Η αφαίρεση φυλλώματος δε φαίνεται να επηρεάζει το βάρος της σοδειάς, ανεξαρτήτως της εξεταζόμενης ποικιλίας και των κλιματολογικών συνθηκών (Bavaresco et al., 2008). Οι Feng et al., Poni et al. και Douglas et al. συμφωνούν ότι το ξεφύλλισμα χρησιμοποιείται ευρέως όχι μόνο για τη βελτίωση του μικροκλίματος και της υγιεινής των σταφυλιών αλλά και για τη βελτίωση της χημικής σύστασης του οίνου (Feng et al., 2017, Poni et al., 2008 και Douglas et al., 2017). Σύμφωνα με αρκετούς ερευνητές, το ξεφύλλισμα στην περιοχή των σταφυλιών μπορεί να χρησιμοποιηθεί με εξαιρετικά αποτελέσματα στην πρόληψη προσβολής από βοτρυτή (*Botrytis cinerea*) σε ποικίλα κλιματικά περιβάλλοντα (Intrieri et al., 2008; Ollat and Gaudillère, 1998; Percival et al., 1994; Poni and Intrieri, 2001; Tardaguila et al., 2008 and 2010; Zoecklein et al., 1992).



Εικόνα 1: Ξεφυλλισμένο πρέμνο στο στάδιο της καρπόδεσης.

Το ξεφύλλισμα μπορεί να επιδράσει στο μικροκλίμα ωρίμανσης των σταφυλιών και συνεπώς στην ποιότητα του οίνου. Όταν εφαρμόζεται σε περιοχές με μεγάλο υψόμετρο μπορεί να βελτιώσει τη χημική σύσταση του οίνου. Ακόμα, βοηθάει στην πρόληψη από τον βοτρυτή και στον μη σχηματισμό φαινολικών ενώσεων που ευθύνονται για τον καφέ χρωματισμό των οίνων (Douglas et al. 2017).

Το ξεφύλλισμα είναι μια συνήθης αμπελουργική πρακτική που χρησιμοποιείται ευρέως για τη βελτίωση του μικροκλίματος σε καιρικούς παράγοντες, όπως ο αερισμός, η ηλιακή έκθεση των σταφυλών, η αλλαγή της θερμοκρασίας των ραγών καθώς και η βελτίωση των συνθηκών υγιεινής ιδιαίτερα σε κρύες και υγρές περιοχές. Τέλος, θεωρείται ότι το ξεφύλλισμα ενισχύει την ποιότητα των ραγών (Feng et al., 2017).

1.4.4.1. Επίδραση του ξεφυλλίσματος στα φυσικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών

Πολλοί ερευνητές σημειώνουν τις επιδράσεις που μπορεί να επιφέρει το ξεφύλλισμα στα φυσικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών. Σε αντίθεση με τους Bavaresco et al. που αναφέρουν ότι εφαρμόζοντας το ξεφύλλισμα δεν υπάρχει μείωση της σοδειάς, κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι σε αμπελουργικές ζώνες με ήπιο κλίμα φαίνεται ότι η εφαρμογή του ξεφυλλίσματος λίγο πριν ή λίγο μετά την άνθιση επιφέρει μείωση στο μέγεθος της σταφυλής και συνολική μείωση της σοδειάς (Acimovic et al., 2016; Frioni et al., 2018). Σύμφωνα με τους Chorti et al., 2010, αφαιρώντας φύλλα μετά την καρπόδεση δεν επηρεάζεται το βάρος της σοδειάς, όπως και το μέγεθος της σταφυλής και συγχρόνως αυξάνεται η ποιότητα της ράγας.

Αν κατά την έναρξη της άνθησης υπάρξει μείωση των θρεπτικών μέσω της αποφύλλωσης προκύπτει ένας βότρυς με λιγότερες δεμένες ράγες κατά 19%. Αντιθέτως, για τον ίδιο λόγο φαίνεται ότι το μέγεθος της ράγας δεν επηρεάζεται (Poni et al., 2008).

1.4.4.2. Επίδραση του ξεφυλλίσματος στα χημικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών

Άλλος ένας λόγος για τον οποίο εφαρμόζεται το ξεφύλλισμα είναι επειδή μπορεί να βελτιώσει τη χημική σύσταση του οίνου και να συμβάλλει στον μη σχηματισμό φαινολικών ενώσεων που ευθύνονται για το καφέτιασμα των λευκών οίνων (Douglas et al. 2017). Με την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος είναι προφανές ότι τα σταφύλια εκθέτονται περισσότερο στην ηλιακή ακτινοβολία. Ένα μέρος της ηλιακής ακτινοβολίας αποτελείται από την

υπεριώδη (UV), η οποία είναι πολύ σημαντική για την χημική σύσταση της ράγας και η έκθεση σε αυτήν μπορεί να την επηρεάσει. Επίσης, υπάρχουν ορισμένες φαινολικές ενώσεις που έχουν μηχανισμούς απορρόφησης της UVB ακτινοβολίας και με αυτόν τον τρόπο προστατεύουν το φυτό από διάφορες αρνητικές συνέπειες (Berli 2010). Η έκθεση των σταφυλών στην ηλιακή ακτινοβολία επιδρά θετικά στην αύξηση των σακχάρων και του pH στο γλεύκος, ενώ αυξάνει την φαινολική συγκέντρωση σε σταφύλια και οίνο (Gregan et al. 2012, Song et al. 2015). Υπάρχει, βέβαια, ένα όριο θερμοκρασίας (35°C) που η έκθεση σε αυτό μπορεί να επιφέρει αναστολή της διαδικασίας ωρίμανσης, μείωση της οξύτητας και μείωση της σύνθεσης μεταβολιτών και φαινολικών ενώσεων (Sprayd et al. 2002). Είναι προφανές, λοιπόν, ότι οι περισσότερες περιοχές της Ελλάδας ανήκουν σε αυτό το όριο θερμοκρασίας, οπότε το έντονο ξεφύλλισμα θα πρέπει να γίνεται πειραματικά και να αξιολογούνται τα αποτελέσματα του.

Στην ποικιλία Mando, στην περίπτωση που εφαρμοστεί ένα αυστηρό ξεφύλλισμα, δηλαδή αφαιρεθούν τα οκτώ πρώτα φύλλα από τη βάση του βλαστού, παρατηρείται αύξηση των ολικών διαλυτών στερεών, των ολικών φαινολικών, των ανθοκυανών και της συγκέντρωση ταννινών. Παράλληλα, δεν φαίνεται να επηρεάζονται το τρυγικό οξύ και το pH (Diego et al., 2014). Επιπλέον, στην ποικιλία Istrian Malvasia βρέθηκε ότι εάν αφαιρεθούν τα πρώτα 4-5 φύλλα προκαλείται αύξηση των ολικών διαλυτών στερεών καθώς και των ανθοκυανών. Αντίθετα, στην ποικιλία Sauvignon blanc με την αφαίρεση 2-3 φύλλων βάσης δεν αλλάζει σημαντικά κανένας από τους σημαντικούς πρωτογενείς ή δευτερογενείς μεταβολίτες της ράγας (Sivilotti et al., 2017). Στην ποικιλία Pinot noir, αν αφαιρεθούν όλα τα φύλλα από την βάση έως το υψηλότερο σταφύλι του βλαστού, το σταφύλι επηρεάζεται θετικά μέσα από την αύξηση κάποιων φαινολικών ενώσεων (ανθοκυάνες και γλυκοζίδια κερσετίνης) καθώς και των πτητικών ενώσεων του σταφυλιού και των πρόδρομων ενώσεων τους. Παρόλα αυτά δεν φαίνεται να υπάρχει επίδραση στη συγκέντρωση των ολικών διαλυτών στερεών, στο pH και στη συγκέντρωση τρυγικού οξέος (Feng et al., 2015). Στην ποικιλία Cabernet Sauvignon η εφαρμογή του ξεφυλλίσματος οδηγεί σε αύξηση των σακχάρων στο γλεύκος και του αλκοολικού τίτλου στον οίνο ανεξάρτητα από τον χρόνο εφαρμογής του. Αν η εφαρμογή της ενέργειας γίνει νωρίς οδηγεί

σε μείωση του βάρους σταφυλής, μείωση του μεγέθους της ράγας και αύξηση του στερεού υπολείμματος (Douglas et al. 2017).

1.5. ΜΑΝΔΗΛΑΡΙΑ

Η ποικιλία Μανδηλαριά θεωρείται ως μια από τις πιο βαθύχρωμες ποικιλίες του ελληνικού αμπελώνα. Ορισμένες φορές αναφέρεται βιβλιογραφικά ως Κουντούρα μαύρη, Αμοργιανό ή Δούμπραινα. Η συγκεκριμένη ποικιλία συνιστάται για τα αμπελουργικά διαμερίσματα των Δωδεκανήσων, των Κυκλάδων, της Κρήτης, της Αττικής, της Εύβοιας, της Λέσβου, της Μαγνησίας και της Λακωνίας. Ακόμα, βρίσκεται στις επιτρεπόμενες για τους νομούς Χίου, Σάμου και Μεσσηνίας.



Εικόνα 2: Τυπικός βότρυς Μανδηλαριάς από τα πειραματικά αγροτεμάχια

1.5.1. ΑΜΠΕΛΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η κορυφή της νεαρής βλάστησης είναι πράσινη με ρόδινη παρυφή ενώ χαρακτηρίζεται και χνοώδης. Τα νεαρά φύλλα έχουν ανοιχτό πράσινο χρώμα με ρόδινη παρυφή ενώ υπάρχει χνώωση είτε σε όλο το έλασμα είτε μόνο στις νευρώσεις. Ο νεαρός βλαστός έχει πράσινο

χρώμα με κάποιες ερυθρές ραβδώσεις, αντίστοιχα, οι κόμβοι και οι οφθαλμοί ακολουθούν το ίδιο μοτίβο με κύριο χρώμα το πράσινο αλλά και με ερυθρές περιοχές. Το αναπτυγμένο φύλλο της Μανδηλαριάς είναι ένα μεγάλο φύλλο, ασύμμετρο, με πέντε ή επτά κόλπους με βαθύ πράσινο χρώμα. Η άνω επιφάνεια είναι λεία ενώ η κάτω επιφάνεια έχει έντονη χνόωση και παρουσιάζει μια διαφορετική καφέ – πράσινη απόχρωση. Ο μισχικός κόλπος είναι κλειστός με επικαλυπτόμενες πλευρές, οι υπόλοιποι κόλποι είναι και εκείνοι κλειστοί ενώ κάποιες φορές εμφανίζεται εντός τους και οδόντας. Οι περιφερειακοί οδόντες είναι κατά βάση σε δυο σειρές. Οι νευρώσεις είναι παχιές, ανάγλυφες, με χνόωση και ρόδινη βάση και στις δυο πλευρές του ελάσματος. Οι έλικες που έχουν πράσινο χρώμα είναι δισχιδείς ή τρισχιδείς με μέτριο μήκος και χνόωση.



Εικόνα 3: Ξεφυλλισμένο πρέμνο στο στάδιο της έντονης κυτταροδιαίρεσης της ράγας

1.5.2. ΣΤΑΦΥΛΗ

Το χαρακτηριστικό της σταφυλής της Μανδηλαριάς είναι το μεγάλο μέγεθος, ιδιαίτερα σε κάποιους κλώνους. Πρόκειται, λοιπόν, για μια κωνική σταφυλή με ισομεγέθεις ράγες με

πυκνή έως πολύ πυκνή κατανομή τόσο ώστε οι ράγες να συμπιέζονται μεταξύ τους. Ο ποδίσκος είναι πολύ βραχύς και ισχυρός και αποκολλάται δύσκολα.

Η ράγα είναι μεγάλη, σφαιρική ή δισκοειδής με φλοιό πολύ παχύ, ανθεκτικό και ερυθρής – μπλε απόχρωσης, ο οποίος είναι πλούσιος σε ταννίνες και ανθοκυάνες, με έντονη στυπτικότητα. Η σάρκα είναι μαλακή, γλυκιά και χυμώδης. Ο ποδίσκος της ράγας είναι βραχύς και ισχυρής πρόσφυσης.

1.5.3. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ

Η Μανδηλαριά είναι μια ποικιλία η οποία ξεκινά να βλαστάνει στα τέλη του Μάρτη. Μέχρι τα μέσα του Απρίλη έχει ολοκληρωθεί η πλήρης βλάστηση και από τα μέσα έως τα τέλη του Μάη έχει ξεκινήσει και έχει ολοκληρωθεί η άνθηση. Η φάση του περκασμού αρχίζει στο τέλος του Ιουλίου ενώ η ωρίμανση έρχεται στο τέλος του Σεπτεμβρίου.

Η συγκεκριμένη ποικιλία είναι μια από τις περισσότερο ζωηρές και εύρωστες ελληνικές ποικιλίες, συνδυάζοντας υψηλή παραγωγικότητα με μεσο-όψιμη ωρίμανση. Οι οφθαλμοί της βάσης της κληματίδας καθώς και οι ταχυφυείς οφθαλμοί χαρακτηρίζονται από μικρή γονιμότητα. Ένας καρποφόρος βλαστός φέρει κατά κανόνα δύο σταφυλές στον τρίτο και στον τέταρτο κόμβο. Τα πιο συνηθισμένα σχήματα μόρφωσης είναι το χαμηλό κύπελλο και το μονόπλευρο ή αμφίπλευρο Royat. Συνήθως, το ύψος κορμού δεν ξεπερνάει τα 50 cm. Το κλάδεμα καρποφορίας είναι βραχύ, αλλά απαιτεί προσοχή καθώς ο συνδυασμός ζωηρότητας και χαμηλής γονιμότητας στους λανθάνοντες οφθαλμούς της βάσης μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλή παραγωγή.

Η Μανδηλαριά συμβιώνει αρμονικά με τα κυριότερα φυλλοξηρικά υποκείμενα (110R, 1103P κ.α.) χωρίς να παρουσιάζει κάποια προβλήματα.

Όσον αφορά στις καιρικές συνθήκες παρουσιάζει ανθεκτικότητα στην ξηρασία, ενώ στις ασθένειες είναι ανθεκτική στο ωίδιο και ευαίσθητη στον περονόσπορο και τον βοτρυτή. Η Μανδηλαριά φαίνεται να παράγει ικανοποιητικά αποτελέσματα σε θερμές περιοχές με εδάφη ελαφρά, μέσης σύστασης και ξηρικά. Όταν καλλιεργείται σε γόνιμα εδάφη και σε υψόμετρο θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στις καλλιεργητικές επεμβάσεις της άρδευσης και της λίπανσης έτσι ώστε να μην προκύψει υψηλή παραγωγή με όψιμη

ωρίμανση, αφού η δεδομένη ευαισθησία στον βοτρώτη θα επιφέρει προβλήματα στην υγιεινή της παραγωγής.

1.5.4. ΟΙΝΟΙ

Το γλεύκος της Μανδηλαριάς είναι υψηλής περιεκτικότητας σε ανθοκυάνες και φαινολικά συστατικά, 900 – 1100 mg/kg ραγών και 1900 – 2100 mg/kg ραγών αντίστοιχα. Η περιεκτικότητα σε σάκχαρα είναι 180 – 200 g/L, η οξύτητα σε τρυγικό οξύ είναι 5.2 – 7.8 g/L και το pH κυμαίνεται συνήθως στο 3.2 – 3.3.

Στην Ελλάδα παράγονται οι οίνοι ΟΠΑΠ Ρόδος, Πάρος (με την ποικιλία Μονεμβασιά), Αρχάνες και Πεζά (με την ποικιλία Κοτσιφάλι). Ακόμα, συμμετέχει στην παραγωγή πολλών τοπικών οίνων, όπως ο ερυθρός Δωδεκανησιακός (με Syrah και Grenache), ο λευκός Αιγαιοπελαγίτικος (με Ασύρτικο και Αθήρι) και πολλούς άλλους.

1.6. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το ξεφύλλισμα είναι μια καλλιεργητική τεχνική που χρησιμοποιείται ευρέως για τα θετικά αποτελέσματα που επιφέρει στα σταφύλια και κατ' επέκταση στο κρασί που παράγεται από αυτά. Η εφαρμογή της συγκεκριμένης τεχνικής σε πολύ πρώιμο στάδιο σε μια ποικιλία όπως η Μανδηλαριά πιθανόν να επιφέρει μια μικρή χρονικά στέρηση των θρεπτικών ουσιών της φωτοσύνθεσης και αναμένεται κατά την ωρίμανση να υπάρξουν αραιόραγα και μικρότερα τσαμπιά.

Πιο συγκεκριμένα, στην έρευνα αυτή θα μελετηθούν οι επιδράσεις στα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών αλλά και στους παραγόμενους οίνους με την εφαρμογή εντατικού προανθικού ξεφυλλίσματος, σε σύγκριση με τα φυτά που υπέστησαν ελαφρύ ξεφύλλισμα κατά την έναρξη της ωρίμανσης. Σκοπός είναι η μελέτη των επιδράσεων στην συγκεκριμένη ποικιλία με στόχο τις βέλτιστες καλλιεργητικές τεχνικές για την παραγωγή οίνων υψηλής ποιότητας.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΑΜΠΕΛΩΝΑΣ

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε 2 διαφορετικά αγροτεμάχια που βρίσκονται στην ευρύτερη περιοχή της βορειοδυτικής Χίου (Αμανή) και είναι φυτεμένα με φυτά της ποικιλίας Μανδηλαριά με υποκείμενο το Rickter 110. Τα πρέμνα έχουν σχήμα μόρφωσης αμφίπλευρο κορδόνι Royat.

Το πρώτο αγροτεμάχιο (Αγία Μαρκέλλα) βρίσκεται σε μια σχετικά γόνιμη παραποτάμια περιοχή με βαθύ έδαφος. Το δεύτερο αγροτεμάχιο (Γιαλιάς) βρίσκεται πολύ κοντά στη θάλασσα, σε μια πλαγιά με αναβαθμίδες και πολύ ρηχό έδαφος, το οποίο στραγγίζει πολύ νωρίς το καλοκαίρι. Η επιλογή των δυο κτημάτων έγινε επειδή έχουν φυτά της ίδιας ποικιλίας, της ίδιας ηλικίας, ακολουθούνται κοινές καλλιεργητικές εργασίες και με αυτό τον τρόπο μπορεί να ελεγχθεί και η επίδραση όλων αυτών των παραγόντων στην υπό εξέταση ποικιλία. Οι ονομασίες των δειγμάτων προέρχονται από τη θέση των δύο αγροτεμαχίων που σχεδιάστηκε ο πειραματικός αμπελώνας, δηλαδή η Αγία Μαρκέλλα (ΑΜ) και ο Γιαλιάς (Γ), ενώ το τελευταίο γράμμα αφορά την επέμβαση του ξεφυλλίσματος που έγινε (ΑΜΜ, ΓΜ) ή δεν έγινε (ΑΜΧ, ΓΧ). Τα σταφύλια συλλέχθηκαν την ίδια ημερομηνία και στα ξεφυλλισμένα πρέμνα και στους μάρτυρες.

Πίνακας 1. Τα αγροτεμάχια και ο εν συντομία συμβολισμός της κάθε επέμβασης.

ΑΓΡΟΤΕΜΑΧΙΟ	ΜΕ ΕΠΕΜΒΑΣΗ	ΧΩΡΙΣ ΕΠΕΜΒΑΣΗ
ΑΓΙΑ ΜΑΡΚΕΛΛΑ	ΑΜΜ	ΑΜΧ
ΓΙΑΛΙΑΣ	ΓΜ	ΓΧ

Στις 25/5/2021 έγινε το προανθικό ξεφύλλισμα σε 15 πρέμνα στο κάθε αγροτεμάχιο. Το ξεφύλλισμα έγινε με τα χέρια και αφαιρέθηκαν όλα τα φύλλα από τη βάση του βλαστού έως την επάνω σταφυλή. Στα πρέμνα που έγινε το ξεφύλλισμα δεν έγινε καμία άλλη διαφοροποίηση στην καλλιέργεια τους σε σχέση με τον υπόλοιπο αμπελώνα όσον αφορά σε ψεκασμούς, ποτίσματα, λιπάνσεις και άλλα χλωρά κλαδέματα.

Κατά την περίοδο του τρύγου έγινε ζύγιση των σταφυλιών που συλλέχθηκαν από τα πρέμνα όπου έγινε η επέμβαση του προανθικού ξεφυλλίσματος και από αυτά χωρίς επέμβαση. Επίσης, μετρήθηκε το μέσο βάρος 50 ραγών ανά περίπτωση και ακολουθήθηκαν διάφορες μετρήσεις που αφορούσαν το φαινολικό δυναμικό των σταφυλιών.

2.2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

2.2.1 Μέτρηση βάρους ραγών

Η μέτρηση του βάρους των ραγών έγινε μετά τον τρύγο και ξεχωριστά για κάθε επέμβαση. Αφού μετρήθηκαν 50 ράγες από την κάθε επέμβαση, ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων και υπολογίστηκε το μέσο βάρος ράγας ανά επέμβαση.

2.2.2 Μέτρηση βάρους βοτρυών

Η μέτρηση του βάρους βοτρυών έγινε με ζυγό για όλους τους βότρεις που συλλέχθηκαν την ημέρα του τρύγου. Από αυτές τις μετρήσεις προέκυψε το μέσο βάρος βότρου ανά επέμβαση.

2.2.3 Προσδιορισμός σακχάρων με διαθλασιμετρία

Με τη βοήθεια ενός διαθλασίμετρου προκύπτει ο δείκτης διάθλασης του χυμού των σταφυλιών, ο οποίος είναι χαρακτηριστική σταθερά της διαλυμένης ουσίας και αφορά τα ολικά διαλυτά στερεά που περιέχει. Είναι μέγεθος που επηρεάζεται από τη θερμοκρασία γι' αυτό θα πρέπει οι μετρήσεις να ανάγονται στη θερμοκρασία αναφοράς (20 °C). Το σύνολο των διαλυτών στερεών που περιέχει ο χυμός των σταφυλιών αποτελείται σχεδόν από σάκχαρα, έτσι η μέτρηση του δείκτη διάθλασης αποδίδεται σε αυτά κι εκφράζεται σε βαθμούς Brix (Κοτσερίδης, 2015).

Το διαθλασίμετρο χειρός που χρησιμοποιήθηκε κατά την παρακολούθηση της ωρίμανσης, αλλά και της αλκοολικής ζύμωσης, ήταν βαθμονομημένο σε βαθμούς Brix με αυτόματα διόρθωση της θερμοκρασίας στους 20°C. Δείγμα σταφυλιών πιέζονταν σε μικρό σουρωτήρι και στο γλεύκος που εξέρχονταν γινόταν μέτρηση σακχαροπεριεκτικότητας. Αντίστοιχα, κατά την αλκοολική ζύμωση, γίνονταν μέτρηση σε μικρό όγκο του γλεύκους.

2.2.4 Προσδιορισμός σακχάρων με αραιομετρία

Για τον προσδιορισμό των σακχάρων μετά την έκθλιψη των σταφυλιών χρησιμοποιήθηκε αραιόμετρο Baume το οποίο είναι βαθμονομημένο στους 20^o C και για κάθε 1 βαθμό Baume αντιστοιχούν 1,8 g σακχάρων στα 100 g γλεύκους. Για τη χρήση της μεθόδου χρειάστηκε ένας ογκομετρικός κύλινδρος των 250 ml, ένα θερμομέτρο καθώς και οι πίνακες διόρθωσης των βαθμών Baume ανάλογα με την θερμοκρασία.

2.2.5 Προσδιορισμός ογκομετρούμενης/ολικής οξύτητας

Ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα είναι το σύνολο των ογκομετρούμενων οξέων όταν το pH του γλεύκους ή του οίνου ρυθμίζεται στην τιμή 7 μετά την προσθήκη τιτλοδοτημένου αλκαλικού διαλύματος. Ο δείκτης που χρησιμοποιήθηκε είναι το κυανό της βρωμοθυμόλης στο οποίο η αλλαγής χρώματος γίνεται όταν το pH προσεγγίζει το 7.

Όσον αφορά τη μέτρηση της ολικής οξύτητας χρησιμοποιήθηκε κωνική φιάλη όπου τοποθετήθηκαν 10 mL γλεύκους ή οίνου, λίγες σταγόνες από το κυανό της βρωμοθυμόλης και 30 mL αποσταγμένο νερό. Η προχοΐδα γεμίστηκε με πρότυπο διάλυμα NaOH 0.1M και το διάλυμα τιτλοδοτήθηκε με συνεχή ανάδευση της κωνικής φιάλης έως ότου η απόχρωση να είναι σταθερά κυανοπράσινη. Τότε, σημειώθηκε η τιμή της προχοΐδας και η διαφορά της αρχικής με την τελική της τιμή (n) καταγράφηκε.

Η μετατροπή της ολικής οξύτητας σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο (g/L) έγινε πολλαπλασιάζοντας, την διαφορά της αρχικής από την τελική τιμή της προχοΐδας (n) με 0,75 (Κοτσερίδης, 2015).

$$\text{Ολική οξύτητα (g/L)} = 0,75 * n$$

2.2.6 Ενεργή Οξύτητα - pH

Το pH εκφράζει το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων των οξέων που βρίσκονται σε διάσταση και δίνουν ιόντα H⁺.

Η μέτρηση του pH του γλεύκους ή του οίνου έγινε με την χρήση του οργάνου HI5221 (Hanna Instruments) του εργαστηρίου Οινολογίας. Για την διαδικασία της μέτρησης μεταφέρθηκε επαρκής ποσότητα δείγματος σε θερμοκρασία 20-25 °C σε ένα ποτήρι ζέσεως μαζί με έναν

μαγνήτη και τοποθετήθηκε πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα. Το ηλεκτρόδιο του μηχανήματος πρέπει να μην ακουμπάει στα τοιχώματα του ποτηριού και όταν η ένδειξη σταθεροποιήθηκε καταγράφηκε η μέτρηση (Κοτσερίδης, 2015).

2.2.1. Προσδιορισμός φαινολικής ωρίμανσης σταφυλιών (Μέθοδος GLORIES)

Η μέθοδος Glories χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της φαινολικής ωρίμανσης των ραγών (Glories, 1993). Μπορεί να δώσει μια εικόνα για την ποιότητα (εκχυλισματικότητα φλοιών και ραγών κ.α.) και την ποσότητα (ανθοκυάνες, ταννίνες) των πολυφαινολών ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί στον διαχωρισμό των ποικιλιών ανάλογα με το φαινολικό τους δυναμικό αλλά και στις διαφορές της εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών που η κάθε μια διαθέτει.

Βασικό σημείο της μεθόδου είναι η έκθεση του εκχυλίσματος των ραγών σε pH 1 και pH 3.6 και η μεταβολή της απορρόφησης στα 520 nm παρουσία θειώδους νατρίου. Έτσι, για την εφαρμογή της μεθόδου χρησιμοποιήθηκε διάλυμα με pH ίσο με 1, διάλυμα με pH 3.6, υδατικό διάλυμα HCL 2%, αλκοολικό διάλυμα 0,1 % HCL και διάλυμα NaHSO₃.

Για την προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιούνται εις διπλούν πλαστικοί σωλήνες όπου τοποθετούνται 5 g πολτός σταφυλιού, που έχει πολτοποιηθεί με μπλέντερ σε χαμηλή θερμοκρασία (5 °C) και 5 ml από το διάλυμα με pH 1. Σε ένα άλλο ζευγάρι πλαστικών σωλήνων τοποθετούνται πάλι 5 g πολτού σταφυλιών και άλλα 5 ml από το διάλυμα με pH 3,6. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες κλείστηκαν με parafilm και αφέθηκαν σε ηρεμία σε σκοτεινό μέρος. Ακολούθως, αναδευτήκαν ελαφρά με vortex και έγινε φυγοκέντρηση στις 4000 στροφές για 10 λεπτά. Τα υπερκείμενα συλλέχθηκαν για τον προσδιορισμό των ανθοκυανών.

Σε δύο φιαλίδια δημιουργήθηκαν δυο διαλύματα στα οποία προστέθηκαν 0,5 ml από το υπερκείμενο (Ph 1), 0,5 ml διαλύματος HCL 0,1%, 10 ml διαλύματος HCL 2% και προστέθηκαν 0,5 ml από το υπερκείμενο (pH 3,6), 0,5 ml διαλύματος HCL 0,1% και 10 ml διαλύματος HCL 2% αντίστοιχα. Με βάση αυτά τα διαλύματα ετοιμάστηκαν σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες εις διπλούν τα διαλύματα με μόνη διαφορά την προσθήκη στο ένα ζευγάρι την προσθήκη 1 ml NaHSO₃ και 1 ml H₂O στο άλλο ζευγάρι. Μετά από την ολοκλήρωση της διαδικασίας μετρήθηκαν οι απορροφήσεις στα 520 και 280 nm και με την

βοήθεια των τύπων προέκυψαν οι τιμές για τις ολικές ανθοκυάνες (TA), τις εκχυλίσιμες ανθοκυάνες(EA) και την εκχυλισιμότητα των ανθοκυανών (AE%), τις ταννίνες φλοιών, τις ταννίνες φλοιών ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο (MT_{skins} %), τις ταννίνες γιγάρτων (g/L) και τις ταννίνες γιγάρτων ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο (MT_{seeds} %).

Υπολογισμοί

Ολικές Ανθοκυάνες (g/L): $TA = (A_{pH1-H2O} - A_{pH1-SO2}) * 885.3 / 1000$

Εκχυλίσιμες Ανθοκυάνες (g/L): $EA = (A_{pH3.6-H2O} - A_{pH3.6-SO2}) * 885.3 / 1000$

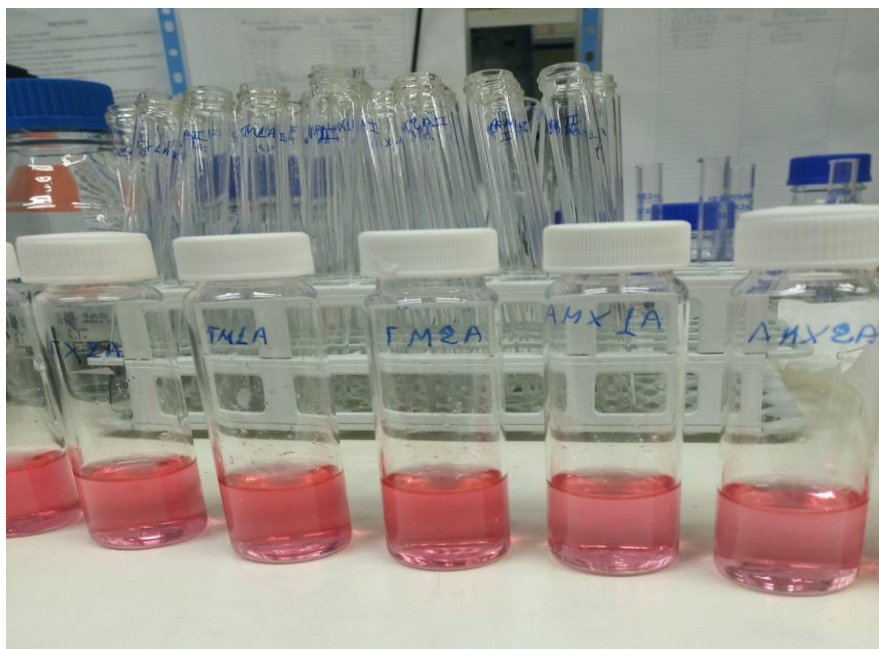
Εκχυλισιμότητα ανθοκυανών: $AE (\%) = (TA-EA)/TA*100$

Ταννίνες φλοιών (g/L): $T_{skins} = EA*40$

Ταννίνες φλοιών ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο: $MT_{skins}(\%) = \frac{T_{skins}}{A_{280-E3.6}*100} * 100$

Ταννίνες γιγάρτων (g/L): $T_{seeds} = A_{280-E3.6} * 100 - T_{skins}$

Ταννίνες γιγάρτων ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο: $MT_{seeds}(\%) = \frac{T_{seeds}}{A_{280-E3.6}*100} * 100$



Εικόνα 4: Η πειραματική διαδικασία σε εξέλιξη.

2.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Η πειραματική οινοποίηση πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Τα σταφύλια συλλέχθηκαν σε ξεχωριστά τελάρα ανά επέμβαση και ανά αμπελοτεμάχιο στη Χίο και μεταφέρθηκαν με ψυγείο στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Η κάθε πειραματική μονάδα αποτελούνταν από 15 φυτά, τα οποία τρυγήθηκαν όλα ώστε οι ποσότητες να επαρκούν για 2 μικροοινοποιήσεις ανά επέμβαση.

Η κάθε μικροοινοποίηση πραγματοποιήθηκε σε ξεχωριστά πλαστικά δοχεία όπου προστέθηκαν 5 g/hl Metabisulphite, 10 g/hl ταννίνη για ερυθρή οινοποίηση και 4 g/hl εκχυλιστικά ένζυμα (Safizym colour). Ακόμη, πριν την προσθήκη ζυμομυκήτων έγινε διόρθωση οξύτητας με προσθήκη 2 g/L τρυγικού οξέος και σακχάρων με αύξηση 3 Brix για τους πειραματικούς οίνους από το αγροτεμάχιο AM και 1 Brix για εκείνους του αγροτεμαχίου G. Μετά ακολούθησε η προσθήκη ζύμης όπου επιλέχθηκε η Safoeno HDS 135 (Fermentis) σε ποσότητα 25 g/hl αφού ενεργοποιήθηκε με προσθήκη νερού σε δεκαπλάσια ποσότητα του βάρους της ζύμης και αναμονή 15 λεπτών σε πρώτο στάδιο, και αντίστοιχη ποσότητα γλεύκος και άλλη μια δεκαπεντάλεπτη αναμονή σε δεύτερο στάδιο, μέχρι την τελική προσθήκη στο δοχείο.

Οι μικροοινοποιήσεις παρακολουθούνταν καθημερινά με μέτρηση των σακχάρων με διαθλασιμετρία και εις τριπλούν σπάσιμο του καπέλου. Το τέλος των ζυμώσεων, μέχρι ξηρού οίνου, πιστοποιήθηκε με προσδιορισμό των υπολειπόμενων σακχάρων με ενζυμική μέθοδο.

2.3. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΟΙΝΩΝ

Μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης έγιναν φυσικοχημικές αναλύσεις στους οίνους για να αξιολογηθεί η επίδραση του ξεφυλλίσματος στις βασικές τους παραμέτρους. Οι βασικές αναλύσεις στους οίνους πραγματοποιήθηκαν με βάση τις επίσημες μεθόδους όπως καθορίζονται από την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία και εφαρμόζονται στα οινολογικά εργαστήρια (OIV, 2006). Οι μέθοδοι προσδιορισμού της ολικής οξύτητας και του pH περιγράφηκαν παραπάνω.

2.3.1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΟΥ ΤΙΤΛΟΥ

Αλκοολικός τίτλος κατ' όγκο ενός οίνου είναι τα λίτρα άνυδρης αιθανόλης που περιέχεται σε 100 λίτρα προϊόντος, όταν η θερμοκρασία είναι στους 20 °C. Για τον προσδιορισμό του αλκοολικού τίτλου μετρήθηκε η αλκοόλη που έχει παραληφθεί από την απόσταξη του οίνου μεθ' υδρατμών με αλκοολόμετρο Gay-Lussac, και εκφράζεται σε επί τοις εκατό συγκέντρωση της αλκοόλης κατ' όγκο οινικού προϊόντος (OIV-MA-AS312-01A). Το απόσταγμα του οίνου συλλέχθηκε με την βοήθεια της αυτόματης συσκευής απόσταξης DE-1626 (JP Selecta).

2.3.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΤΗΤΙΚΗΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ

Η πτητική οξύτητα αποτελείται από τα οξέα της σειράς του οξικού οξέος που υπάρχουν στο κρασί σε ελεύθερη κατάσταση είτε σε μορφή αλάτων. Τα οξέα της αλειφατικής σειράς με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα (μυρμηκικό, οξικό, βουτυρικό, προπιονικό) έχουν δυσμενή επίδραση στην ποιότητα του οίνου και επηρεάζουν αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων.

Ο προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας έγινε με τιτλοδότηση των πτητικών οξέων που διαχωρίζονται από τον οίνο με απόσταξη με υδρατμούς και συμπύκνωση ατμών. Για την διαδικασία, απομακρύνθηκε από το δείγμα το CO₂ με αντλία κενού και έγινε απόσταξη με υδρατμούς στην αυτόματη αποστακτική συσκευή του εργαστηρίου Οινολογίας DE-1626 (JP Selecta).

Στην φιάλη της απόσταξης μεταφέρθηκαν 20 mL οίνου με ταυτόχρονη προσθήκη 0.5 g τρυγικού οξέος και ξεκίνησε η απόσταξη. Συλλέχθηκαν 250 mL αποστάγματος και το απόσταγμα ογκομετρήθηκε με διάλυμα NaOH 0.1 M παρουσία δείκτη φαινολοφθαλεΐνης. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 4 σταγόνες αραιωμένου HCl 1:4, 2 mL διαλύματος αμύλου και μερικοί κρύσταλλοι KI, και ακολούθησε δεύτερη τιτλοδότηση του ελεύθερου SO₂ με διάλυμα I₂ 0.005 M.

Η πτητική οξύτητα εκφρασμένη σε g/L οξικού οξέος δίνεται από τον τύπο:

$$A = 0.3 \cdot (n - 0.1n')$$

όπου n τα mL NaOH 0.1 M που καταναλώθηκαν από την πρώτη τιτλοδότηση και n' τα mL I_2 0.005 M που καταναλώθηκαν κατά την δεύτερη (Κοτσερίδης, 2015).

2.3.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΩΝ ΣΑΚΧΑΡΩΝ

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ζυμώσιμων σακχάρων (γλυκόζη και φρουκτόζη) βασίστηκε στη μέθοδο OIV-OENO 600-2018 κι έγινε με την χρήση του ενζυμικού αναλυτή του εργαστηρίου Y15 (Biosystem) ενώ τα αντιδραστήρια της ανάλυσης ήταν από κιτ της ίδιας εταιρείας.

2.3.4. ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ ΚΑΙ ΟΛΙΚΟΥ ΘΕΙΩΔΗ ΑΝΥΔΡΙΤΗ

Ο ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης (μοριακός και εξουδετερωμένος) είναι η μορφή που είναι υπεύθυνη για την αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση του στον οίνο και η ανάλυσή του αποτελεί σημαντική παράμετρο ασφάλειας και προστασίας. Ο προσδιορισμός του πρέπει να γίνεται αμέσως μετά το άνοιγμα της φιάλης για να αποφευχθούν απώλειες.

Για τον προσδιορισμό του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη χρησιμοποιήθηκε η αυτόματη τιτλοδοτική συσκευή TDI ENO20 (Technologia Difusión Ibérica, S.L., Spain) με την οποία μετρήθηκε το οξειδοαναγωγικό δυναμικό κατά την διάρκεια της αντίδρασης του θειώδη ανυδρίτη με πρότυπο διάλυμα ιωδίου σε όξινο περιβάλλον. Η συγκέντρωση διαβάζεται κατευθείαν σε mg/L στην προχοΐδα της συσκευής.

Με γυάλινο σιφώνιο μεταφέρονται με ακρίβεια 20 ml δείγματος στο κατάλληλο ποτήρι ζέσεως της συσκευής, προστίθενται 2 ml H_2SO_4 1/3, και το μίγμα τιτλοδοτείται στη συσκευή με ιώδιο μέχρις ότου ακουστεί ο χαρακτηριστικός ήχος που σηματοδοτεί το τέλος της αντίδρασης. Η συγκέντρωση του ελευθέρου θειώδη ανυδρίτη διαβάζεται στην προχοΐδα της συσκευής απευθείας σε mg SO_2/L .

Ο ολικός θειώδης ανυδρίτης είναι το άθροισμα του ελεύθερου και δεσμευμένου θειώδη ανυδρίτη (η μορφή αυτή διαθέτει την ιδιότητα να ενώνεται με ουσίες που διαθέτουν καρβονυλομάδες, αλδεϋδομάδες ή κετονομάδες, προς σχηματισμό σταθερών ή ασταθών ενώσεων). Ο προσδιορισμός στα δείγματα έγινε όπως παραπάνω με τη διαφορά ότι πριν την δημιουργία όξινου περιβάλλοντος προστέθηκαν 2 ml NaOH 5N, έγινε ήπια ανάδευση και αφέθηκε σε ηρεμία για 10 min. Στο τέλος του χρόνου, προστέθηκαν 4 ml H_2SO_4 1/3 και

ακολούθησε τιτλοδότηση στη συσκευή TDI ENO20. Η συγκέντρωση του ολικού θειώδη ανυδρίτη διαβάζεται στην προχοΐδα της συσκευής απευθείας σε mg SO₂/L.

2.4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ

2.4.1. ΧΡΩΜΑΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ (ΕΝΤΑΣΗ - ΑΠΟΧΡΩΣΗ)

Το χρώμα των οίνων είναι το αποτέλεσμα της εκλεκτικής απορρόφησης ορισμένων ακτινοβολιών του ηλιακού φάσματος και οφείλεται στις φαινολικές ενώσεις. Στους ερυθρούς οίνους το μέγιστο απορρόφησης παρουσιάζεται στα 520 nm (ερυθρό). Με την πάροδο του χρόνου η απορρόφηση στα 520 nm μειώνεται και αυξάνεται η απορρόφηση στα 420 nm (κίτρινο). Οι τιμές αυτές δεν καλύπτουν πλήρως νέους οίνους όπως στην περίπτωση μας. Η μέτρηση της απορρόφησης στα 620 nm (κυανό) χρησιμοποιείται για την καλύτερη αξιολόγηση των νέων οίνων και η απορρόφηση αυτή αποδίδεται στις μορφές της βάσης της κίνησης των ελεύθερων και ενωμένων ανθοκυανών.

Η μέτρηση των χρωματικών χαρακτηριστικών των οίνων έγινε σύμφωνα με την μέθοδο του OIV (2009). Για την λήψη των τιμών των απορροφήσεων χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο UV- 1900 UV-Vis Shimadzu και έγινε μέτρηση της οπτικής πυκνότητας στα τρία μήκη κύματος, 420, 520 και 620 nm. Οι μετρήσεις έγιναν με κυψελίδες των 10 mm και το φωτόμετρο μηδενίστηκε με απιονισμένο νερό. Οι οίνοι χρειάστηκε να αραιωθούν 10 φορές κι η αραιώση συνυπολογίστηκε στα αποτελέσματα. Η ένταση του χρώματος των οίνων εκφράζεται με το άθροισμα των απορροφήσεων A₄₂₀, A₅₂₀, A₆₂₀:

$$E = A_{420} + A_{520} + A_{620},$$

ενώ η απόχρωση των οίνων λαμβάνεται από τον λόγο της A₄₂₀ και A₅₂₀ (Glories 1984):

$$A = \frac{A_{420}}{A_{520}}.$$

2.4.2. ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (ΔΦΟ)

Ο δείκτης των φαινολικών ουσιών μετρά την περιεκτικότητα των φλαβανοειδών φαινολών, των φαινολικών οξέων και κάποιων μη φαινολικών ουσιών που απορροφούν στα 280 nm. Ο ΔΦΟ έχει επικρατήσει στην οινολογία λόγω της ευκολίας και της ταχύτητας της μεθόδου σε σχέση με τον δείκτη Folin – Ciocalteu. Για την μέτρηση του ΔΦΟ

χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο με δυνατότητα μέτρησης στο υπεριώδες (UV) και κυψελίδες χαλαζία και λαμβανόταν απορρόφηση στα 280nm. Τα δείγματα αραιώθηκαν 100 φορές. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων δίνονται από την ακόλουθη σχέση:

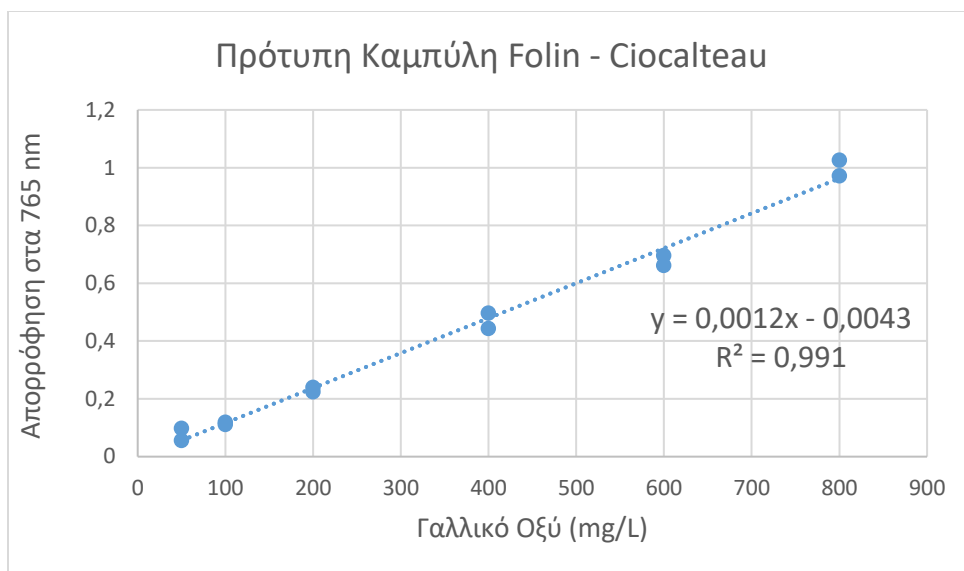
$$\Delta\Phi O = OD_{280} * 100$$

όπου OD_{280} είναι η ένδειξη του οργάνου.

2.4.3. ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ (ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN-CIICALTEAU)

Η μέθοδος Folin – Ciocalteu (Waterman και Mole, 1994) είναι μια φωτομετρική μέθοδος που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων του οίνου από το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu. Το συγκεκριμένο αντιδραστήριο είναι ένα διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων όπου κατά την οξείδωση των φαινολών ανάγεται σε μείγμα κυανών οξειδίων. Χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του ολικού φαινολικού δυναμικού χωρίς να διακρίνονται σε μονομερή, διμερή ή πολυμερή φαινολικά συστατικά. Το κυανό προϊόν της αντίδρασης παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 765 nm και είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα Na_2CO_3 και οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται, εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος με την χρήση πρότυπης καμπύλης.

Για την διαδικασία, μεταφέρονται σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες κατά σειρά, 2 mL απιονισμένο νερό, 50 μ L δείγμα, 250 μ L διάλυμα Folin 750 μ L Na_2CO_3 20% και 1950 μ L απιονισμένο νερό. Μετά από κάθε προσθήκη στους γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες γίνεται ανάδευση στο vortex. Αφού τελειώσουν οι προσθήκες οι σωλήνες παραμένουν για 30 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για την ανάπτυξη του χρωμοφόρου και ακολουθεί η μέτρηση στα 765 nm. Το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιήθηκε για τη μέθοδο ήταν το UV- 1900 UV-Vis Shimadzu, το οποίο μηδενίζεται με τον μάρτυρα της μεθόδου. Στο τέλος, με πρότυπη καμπύλη που έχει τη μορφή $y=ax+b$, και που προέκυψε από πρότυπες συγκεντρώσεις διαλυμάτων γαλλικού οξέος, υπολογίζεται η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών του δείγματος σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mgGAE/L) αφού υπολογιστεί η αραιώση που έγινε.



Σχήμα 1. Πρότυπη καμπύλη της μεθόδου Folin – Ciocalteau

2.4.4. ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ

Οι ολικές ανθοκυάνες έχουν την ιδιότητα να δίνουν άχρωμες ενώσεις όταν αντιδρούν με το HSO_3^- . Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιεί αυτή την ιδιότητα και αφού προστεθεί μια ποσότητα όξινου θειώδους άλατος, η αλλαγή του χρώματος που γίνεται στους οίνους είναι ανάλογη της περιεκτικότητας τους σε ανθοκυάνες (Ribereau-Gayon et al, 1965).

Για την διαδικασία χρειάζεται η δημιουργία ενός κύριου διαλύματος με 1 mL οίνου, 1 mL αλκοολικό διάλυμα HCl 0.1% και 20 mL υδατικό διάλυμα HCl 2%. Από το κύριο διάλυμα παρασκευάστηκαν δύο δείγματα, και στα δύο χρησιμοποιήθηκαν 5 mL κύριου διαλύματος και στο πρώτο 2 mL απεσταγμένου νερού και στο δεύτερο 2 mL διαλύματος όξινου θειώδους νατρίου (NaHSO_3) 15% αντίστοιχα. Τα δείγματα σφραγίστηκαν με parafilm και παρέμειναν σε ηρεμία για 20 λεπτά. Στο τέλος του χρόνου μετρήθηκαν οι απορροφήσεις των δειγμάτων στα 520nm και η συγκέντρωση ανθοκυανών υπολογίστηκε από την σχέση:

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

$\text{OD}_{\text{H}_2\text{O}}$: Η απορρόφηση του δείγματος που προστέθηκε νερό

$\text{OD}_{\text{NaSO}_3}$: Η απορρόφηση του αποχρωματισμένου δείγματος

2.4.5. TANNINES BSA (ΔΕΙΚΤΗΣ ΣΤΥΠΤΙΚΟΤΗΤΑΣ)

Η μέθοδος μπορεί να μετρήσει τις ταννίνες που υπάρχουν στο δείγμα είτε αυτό πρόκειται για οίνο, είτε για ράγα. Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή ότι οι ταννίνες δημιουργούν σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες (αλβουμίνη) τα οποία είναι αδιάλυτα και τελικά καθιζάνουν. Τα σύμπλοκα αφού συλλεχθούν διαλύονται με αλκαλικό διάλυμα και τελικώς με την προσθήκη χλωριούχου σιδήρου προσδιορίζεται η τελική συγκέντρωση ταννινών. Ο χλωριούχος σίδηρος έχει την τάση να αντιδρά με τις πολυφαινόλες και σχηματίζει σύμπλοκα $Fe-(OR)_6$ ιώδους χρώματος. Μετά, με μέτρηση της απορρόφησης στα 510 nm ποσοτικοποιείται το προϊόν της αντίδρασης. Για την ποσοτική παραλαβή του συνόλου των ταννινών του δείγματος είναι απαραίτητο το πρωτεϊνικό διάλυμα να περιέχει διπλάσια ποσότητα αλβουμίνης σε σχέση με την συγκέντρωση των ταννινών. Η περίσσεια πρωτεΐνης δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα.

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στη συγκεκριμένη μέθοδο είναι τα εξής :

Model wine (12 % αιθανόλη, 5g/L τρυγικό, pH 3.3 με NaOH 1N),

Διάλυμα A (200 mM acetic acid, 170 mM NaCl και NaOH (pH 4.9)),

Πρωτεϊνικό διάλυμα BSA 1g/L,

Διάλυμα TEA-SDS [5% v/v triethanolamine (TEA) - 10% w/v SDS],

Διάλυμα $FeCl_3$ (10mM $FeCl_3$ σε 0.01N HCl),

Πρότυπο διάλυμα κατεχίνης 1 g/L.

Για την προετοιμασία του δείγματος το δείγμα αραιώνεται με model wine ανάλογα με τη συγκέντρωση των ταννινών του.

Για την μέτρηση, σε erpendorfs τοποθετήθηκαν 500 μ L αραιωμένου δείγματος και 1 mL πρωτεϊνικού διαλύματος BSA. Ακολουθεί ήπια ανάδευση για 15 min και το δείγμα μπαίνει στη φυγόκεντρο για 5 min στις 12500 rpm. Το υπερκείμενο απομακρύνθηκε και στο ίζημα προστέθηκαν 250 μ L του διαλύματος A προσεκτικά χωρίς διατάραξη του ιζήματος. Ακολούθησε άλλη μια φυγοκέντρηση για 5 min στις 12500 rpm. Το υπερκείμενο απομακρύνθηκε και πάλι.

Στο ίζημα προστέθηκαν 875 μ L διαλύματος TEA-SDS και αφέθηκε σε ηρεμία για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια αναδεύεται σε vortex για να διαλυθεί το ίζημα.

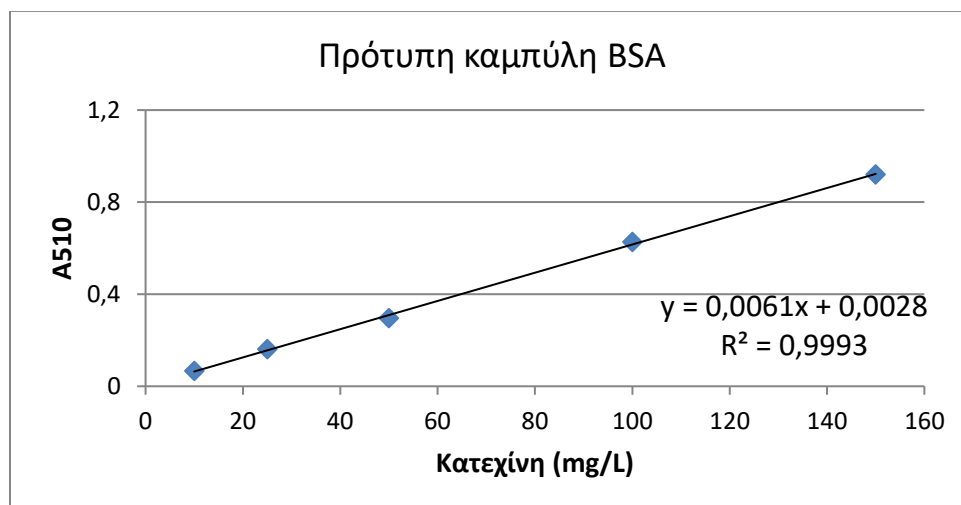
Μετά την ανάδευση μετρείται η απορρόφηση στα 510 nm (A1) με κυψελίδα στένωσης. Το δείγμα δεν πετιέται γιατί στη συνέχεια προστέθηκαν 125 μL διαλύματος FeCl_3 και μετά από 15 min μετρήθηκε ξανά η απορρόφηση στα 510 nm (A2). Για τον μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιείται διάλυμα TEA-SDS.

Για την καμπύλη αναφοράς παρασκευάζονται πρότυπες συγκεντρώσεις από 50 έως 300 mg/L κατεχίνης και ακολουθεί η μέθοδος προσδιορισμού σύμφωνα με τον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Πρότυπες συγκεντρώσεις διαλύματος κατεχίνης

Συγκέντρωση κατεχίνης (mg/L)	Διάλυμα κατεχίνης (μL)	Διάλυμα TEA-SDS (μL)	Διάλυμα FeCl_3 (μL)
10	10	865	125
25	25	850	125
50	50	825	125
100	100	775	125
150	150	725	125

Τα μίγματα που δημιουργήθηκαν αναδεύτηκαν (vortex) και παρέμειναν κλειστά, σε θερμοκρασία δωματίου για 10 min. Τέλος, μετρήθηκαν οι απορροφήσεις στα 510 nm. Αντιστοιχίζοντας τις συγκεντρώσεις της κατεχίνης με τις απορροφήσεις τους σε ένα σύστημα αξόνων λαμβάνεται η καμπύλη αναφοράς και η ευθεία που την περιγράφει είναι της μορφής $y=ax+\beta$.



Σχήμα 2 Πρότυπη καμπύλη κατεχίνης για τη μέθοδο BSA.

Για τους υπολογισμούς, αρχικά μετρείται η διαφορά $A_{510} = (A2) - (A1)$. Από την καμπύλη αναφοράς που φαίνεται στο σχήμα 2 υπολογίζεται η συγκέντρωση C1 των ταννινών του αραιωμένου δείγματος, σε ισοδύναμα κατεχίνης. Όσον αφορά στην τελική συγκέντρωση των ταννινών στο δείγμα οίνου είναι $C=C1*(\Sigma A)$ mg/L οίνου (όπου ΣΑ: συντελεστής αραιώσης).

2.4.6. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ TANNINΩΝ MCP (Methyl Cellulose Precipitable)

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη συγκεκριμένη μέθοδο είναι τα εξής :

Κορεσμένο διάλυμα θειικού αμμωνίου (ammonium sulfate),

διάλυμα 0.04 % μεθυλ-κυτταρίνης (methyl cellulose),

πρότυπο διάλυμα κατεχίνης 1 g/L.

Όλη η διαδικασία στη μέθοδο γίνεται σε erpendorf των 2 mL. Για κάθε δείγμα οίνου ετοιμάζονται δύο erpendorf:

Το πρώτο Erpendorf είναι ο μάρτυρας και τοποθετήθηκαν 50 μL δείγματος οίνου (αραίωση με νερό 1:4), 400 μL κορεσμένου θειικού αμμωνίου και 1550 μL απιονισμένου νερού και αναδεύονται σε vortex. Το διάλυμα παρέμεινε σε ηρεμία, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, για 10 min. Μετά ακολούθησε η φυγοκέντρωση των δειγμάτων για 5 min στις 10000 rpm. Το υπερκείμενο μεταφέρεται σε κυψελίδα χαλαζία και μετρείται η απορρόφηση στα 280 nm (A_{280-b1}).

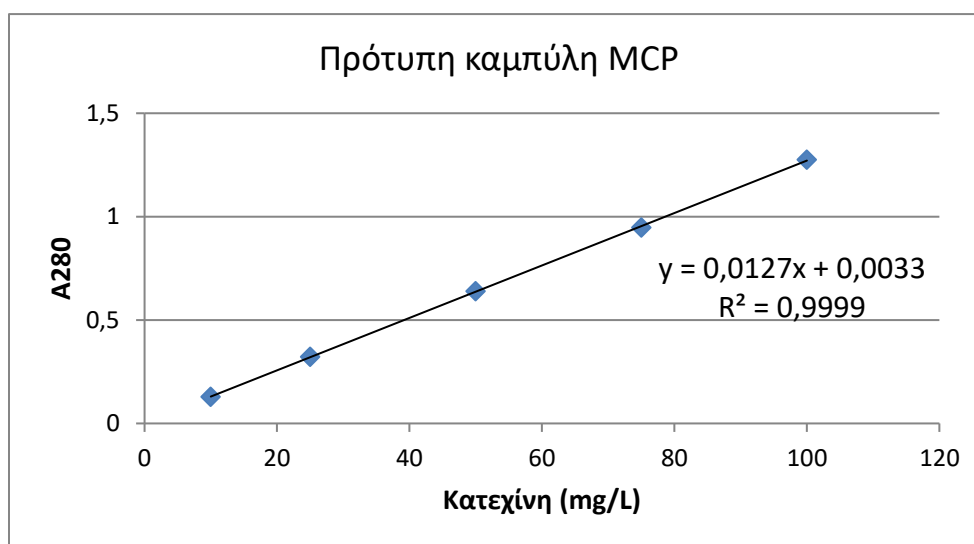
Στο δεύτερο erpendorf τοποθετούνται 50 μL δείγματος οίνου και 600 μL διάλυμα μεθυλ-κυτταρίνης. Ακολουθεί ήπια ανάδευση και αφήνεται σε ηρεμία για 2-3 min. Μετά προστέθηκαν 400 μL κορεσμένου θειικού αμμωνίου και 950 μL απιονισμένου νερού και αναδεύτηκαν σε vortex. Το διάλυμα παρέμεινε σε ηρεμία, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, για 10 min. Ακολούθησε φυγοκέντρωση για 5 min στις 10000 rpm. Το υπερκείμενο μεταφέρθηκε σε κυψελίδα χαλαζία και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 280 nm (A_{280-s}). Για τον μηδενισμό του φωτόμετρου χρησιμοποιείται H₂O. Οι υπολογισμοί της μεθόδου προκύπτουν από τη διαφορά $A_{280,tan} = (A_{280,b1}) - (A_{280,s})$. Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζεται η απορρόφηση που οφείλεται στις ταννίνες.

Για την καμπύλη αναφοράς παρασκευάζονται οι παρακάτω συγκεντρώσεις κατεχίνης όπως φαίνονται στον Πίνακα 3, από 10 έως 100 mg/L, σε τελικό όγκο 2 mL.

Γίνεται άμεση λήψη των απορροφήσεων των συγκεντρώσεων στα 280 nm. Αντιστοιχίζοντας τις συγκεντρώσεις της κατεχίνης με τις απορροφήσεις τους σε ένα σύστημα αξόνων λαμβάνεται η καμπύλη αναφοράς (Σχήμα 3) και η ευθεία που την περιγράφει της μορφής $y=ax+\beta$.

Πίνακας 3: Πρότυπες συγκεντρώσεις διαλύματος κατεχίνης

[Κατεχίνη] (mg/L)	Πρότυπο διάλυμα κατεχίνης 1 g/L (μL)	H ₂ O (μL)
10	20	1980
25	50	1950
50	100	1900
75	150	1850
100	200	1800



Σχήμα 3. Πρότυπη καμπύλη κατεχίνης για τη μέθοδο ταννινών MCP.

Από την καμπύλη αναφοράς υπολογίζεται η συγκέντρωση των ταννινών, σε ισοδύναμα κατεχίνης, στο διάλυμα μέτρησης (C_{ds}).

Η τελική συγκέντρωση των ταννινών στο δείγμα οίνου, σε (mg/L), είναι:

$$C_{wine} = C_{ds} * 40 * (\text{αραίωση}),$$

Όπου 40: ο συντελεστής αραίωσης του δείγματος στο διάλυμα μέτρησης.

2.4.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΩΝ ΜΕ HPLC

Οι ανθοκυάνες προσδιορίστηκαν με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης σύμφωνα με την μέθοδο των Kallithraka et al (2005).

Τα δείγματα οίνου αφού φιλτραρίστηκαν με φίλτρο σύριγγας (0.2 μm), τοποθετήθηκαν στα φιαλίδια του αυτόματου δειγματολήπτη για HPLC. Η ανάλυση των ανθοκυανών έγινε σε σύστημα HPLC Waters 2695 LC System που χρησιμοποιεί τον ανιχνευτή 2996 DAD Detector. Η στήλη ήταν SVEA C18, 5 μm , 110 \AA (4.6x250mm) (Nanologica). Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την έκλουση, η οποία έγινε βαθμιδωτά ήταν 10 % φορμικό οξύ σε δις-απεσταγμένο νερό και MeOH επιπέδου καθαρότητας HPLC σύμφωνα με τον πίνακα 4.

Πίνακας 4. Χρόνοι και συγκέντρωση διαλυτών κατά την έκλουση

Χρόνος (min)	Διαλύτης A (10 % φορμικό οξύ σε dH ₂ O)	Διαλύτης B (MeOH)
αρχικές συνθήκες	90	10
22	50	50
32	5	95
34	5	95
35	90	10
38	90	10

Η ροή ήταν 1 mL/min και ο όγκος έγχυσης 50 μL . Η ανίχνευση, καθώς και η βαθμονόμηση έγινε στα 520 nm. Η επεξεργασία και η ολοκλήρωση των χρωματογραφημάτων έγινε με το λογισμικό Empower.

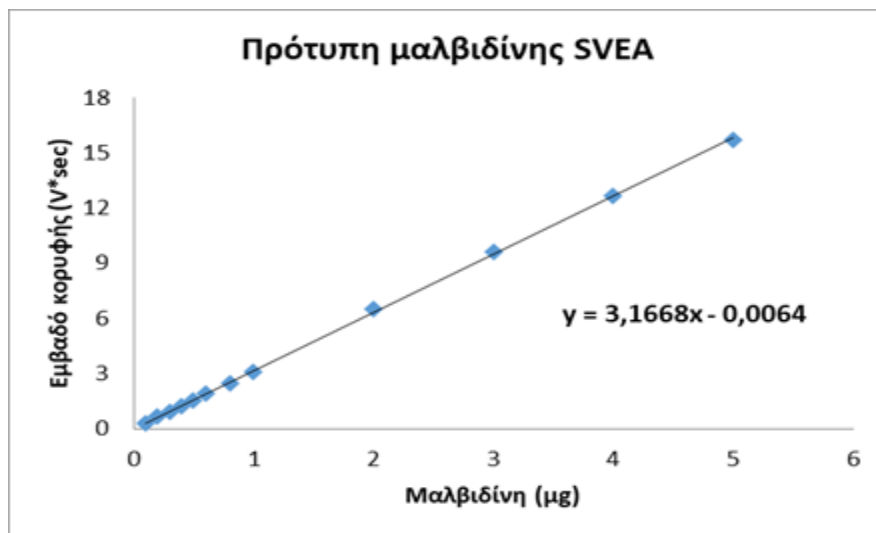
Για την βαθμονόμηση της μεθόδου παρασκευάστηκε πρότυπο διάλυμα μαλβιδίνης 0.1 mg/mL. Η ταυτοποίηση της μαλβιδίνης βασίστηκε στην σύγκριση της τιμής κατακράτησης της κορυφής από τα πρότυπα διαλύματα. Με ενέσεις διαφορετικού όγκου ανάλογα με την ποσότητα της μαλβιδίνης που θέλουμε και αντιστοιχίζοντας την μάζα της μαλβιδίνης με το εμβαδό των κορυφών που προκύπτουν από την HPLC κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη. Από την ευθεία που την περιγράφει υπολογίστηκε η ποσότητα των ανθοκυανών σε ισοδύναμα μαλβιδίνης στα δείγματα των οίνων όπως φαίνεται στον επόμενο πίνακα 5 και σχήμα 3:

Πίνακας 5 Διαδικασία υπολογισμού ανθοκυανών με HPLC

Πρότυπη μαλβιδίνης		
Μαλβιδίνη (μg)	Area (μV*sec)	Area (V*sec)
0,1	311757	0,312
0,2	640844	0,641
0,3	924649	0,925
0,4	1246932	1,247
0,5	1529953	1,530
0,6	1874350	1,874
0,8	2490618	2,491
1	3102811	3,103
2	6487320	6,487
3	9637376	9,637
4	12648143	12,648
5	15713116	15,713

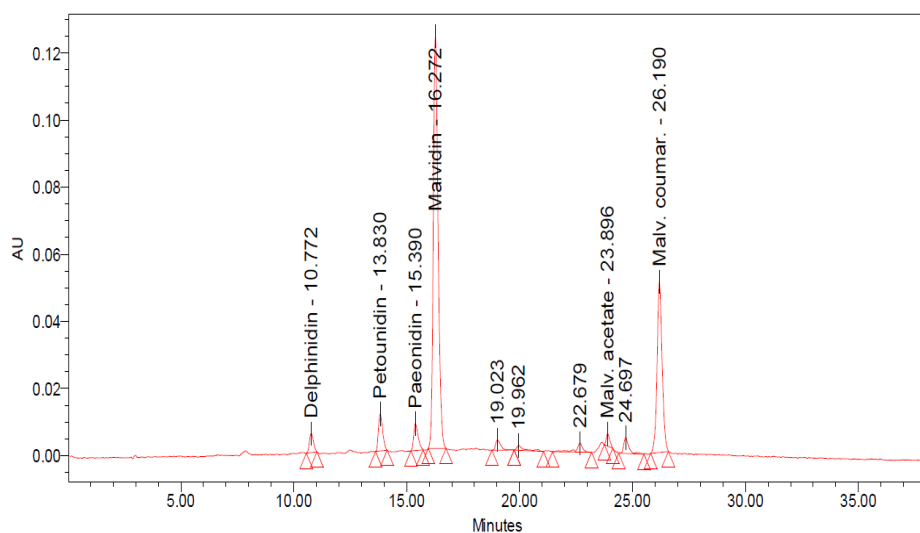
Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης στα δείγματα:

1. Λαμβάνονται τα εμβαδά των κορυφών από την HPLC (είναι σε μV*sec)
2. Μετατρέπονται σε V*sec διαιρώντας με 1.000.000
3. Εφαρμόζεται η πρότυπη ευθεία και υπολογίζεται η κάθε κορυφή σε ισοδύναμο μαλβιδίνης (ME) (σε μg)
4. Από τον όγκο της ένεσης υπολογίζεται η κάθε κορυφή σε ισοδύναμο μαλβιδίνης (ME) σε mg/L → $ME(mg/L) = [ME(\mu g)/\acute{o}γκος \acute{\epsilon}νεσης(mL)]$



Εικόνα 5: Πρότυπη καμπύλη μαλβιδίνης

Οι υπόλοιπες ανθοκυάνες, αφού προσδιορίστηκε ο χρόνος κατακράτησης-εμφάνισης στο χρωματογράφημα με πρότυπες ουσίες, η βαθμονόμησή τους έγινε σε ισοδύναμα μαλβιδίνης (ME). Από την ανάλυση προσδιορίστηκαν, κατά σειρά εμφάνισης στο χρωματογράφημα οι μονογλυκοζίτες Δελφινιδίνη (Dp), Πετουνιδίνη (Pt), Παιονιδίνη (Pn), Μαλβιδίνη (Mv) και οι ακυλιωμένες ανθοκυάνες, οξικός εστέρας (Mv-ac) και κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης (Mv- coum) (Εικόνα 6).



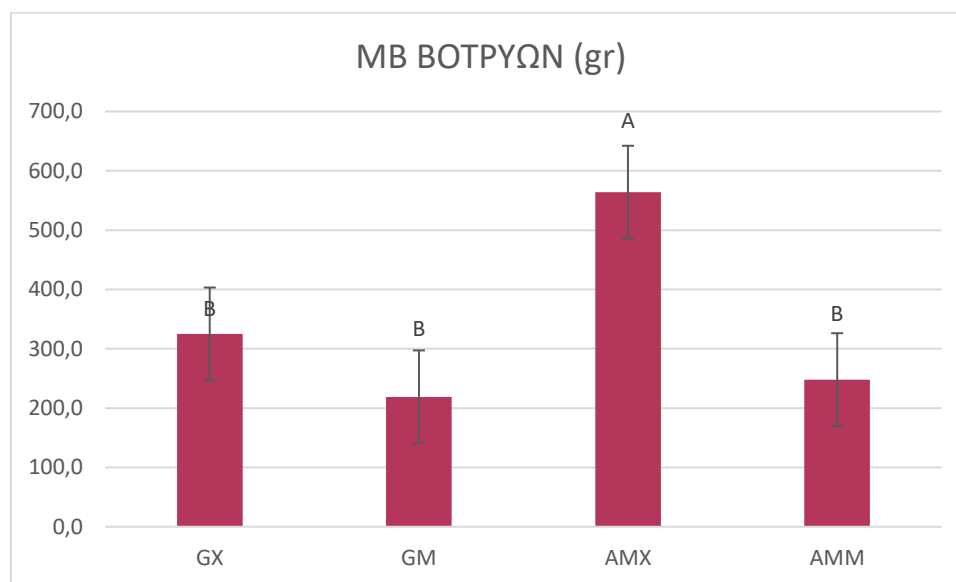
Εικόνα 6: Χρωματογράφημα που απεικονίζει της ανθοκυάνες, 3-Ο- μονογλυκοζίτες της δελφινιδίνης (Delphinidin), της πετουνιδίνης (Petounidin), της παιονιδίνης (Paeonidin), της μαλβιδίνης (Malvidin), ο οξικός εστέρας της μαλβιδίνης (Malv. Acetate) και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης (Malv. Coumar.).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων που περιγράφηκαν στο κεφάλαιο Μέθοδοι-Υλικά για τα δείγματα των σταφυλιών και οίνων σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό παρουσιάζονται παρακάτω.

3.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΞΕΦΥΛΛΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ

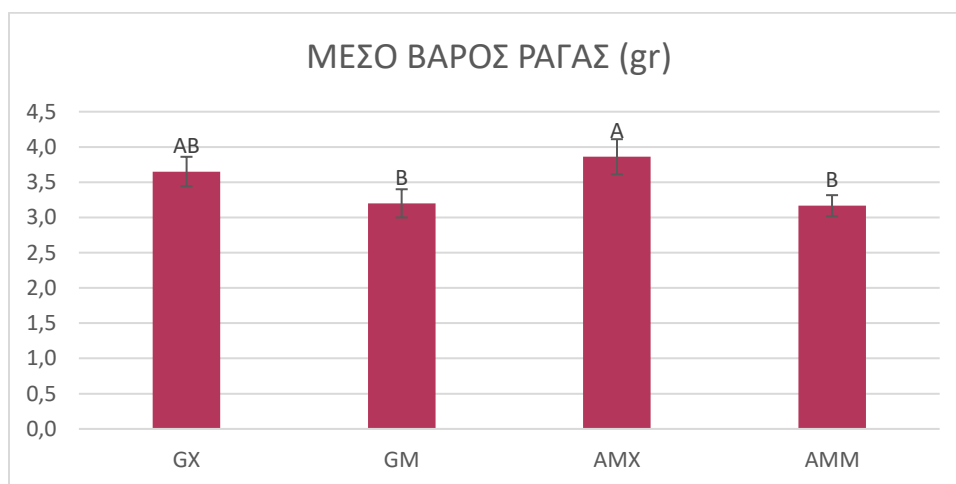
Παρακάτω ακολουθεί η αναλυτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν μέσω της πειραματικής διαδικασίας από τα σταφύλια της εξεταζόμενης ποικιλίας (Μανδηλαριά). Τα σταφύλια εξετάστηκαν ως προς το Μ.Β. ράγας, τη συγκέντρωση σακχάρων, την ολική οξύτητα, το pH και το φαινολικό δυναμικό.



ΓΡΑΦΗΜΑ 1: Μέσο βάρους σταφυλής κατά την περίοδο του τρύγου

Αρχικά, μελετήθηκε η επίδραση του ξεφυλλίσματος στο τελικό βάρους σταφυλής στην περίοδο της τεχνολογικής ωρίμανσης, δηλαδή στον τρύγο. Όπως φαίνεται από το *Γράφημα 1* και στα δυο αγροτεμάχια έχει επιτευχθεί μείωση μεγέθους σταφυλής στα σταφύλια που προέκυψαν από τα πρέμνα που δέχθηκαν την επέμβαση. Στην περίπτωση AMX το μέσο βάρους σταφυλής είναι 564 g, ενώ αντιθέτως η AMM έχει αισθητή μείωση με το μέσο βάρους να είναι 248 g. Η διαφορά αυτή επιβεβαιώνεται και στατιστικά. Στο δεύτερο αγροτεμάχιο, υπάρχει μείωση του μεγέθους σταφυλής όταν γίνεται η επέμβαση, χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντική. Παρόλα αυτά το μέσο βάρους σταφυλής μειώνεται αρκετά, από 325 g στη GX σε 219 g στη GM.

Αφού ζυγίστηκαν οι βότρυες που τρυγήθηκαν από τα πρέμνα μελέτης, έγινε δειγματοληψία 50 ραγών και από το συνολικό τους βάρος υπολογίστηκε το μέσο βάρος ανά ράγα (MB). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο *Γράφημα 2*. Στόχος είναι να διευκρινιστεί αν η μείωση του συνολικού βάρους σταφυλής που έχει επιτευχθεί με το ξεφύλλισμα συνεπάγεται και μείωση βάρους ανά ράγα. Στο AMX το MB ράγας ήταν 4.04 g, ενώ στο AMM ήταν 3.24 g. Αντίστοιχα, το GX ήταν 3.66 g και με την επέμβαση υπάρχει μείωση στο GM στα 3.5 g. Τελικώς, φαίνεται ότι και στα δυο αγροτεμάχια υπάρχει μείωση βάρους ράγας όταν εφαρμόζεται το προανθικό ξεφύλλισμα. Η στατιστική ανάλυση που ακολούθησε έδειξε ότι και στις δυο περιπτώσεις η διαφορά αυτή κρίνεται σημαντική.



ΓΡΑΦΗΜΑ 2: Μέσο βάρος ράγας κατά την περίοδο του τρύγου ανά περίπτωση. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι στατιστικά διαφορετικές.



(α)



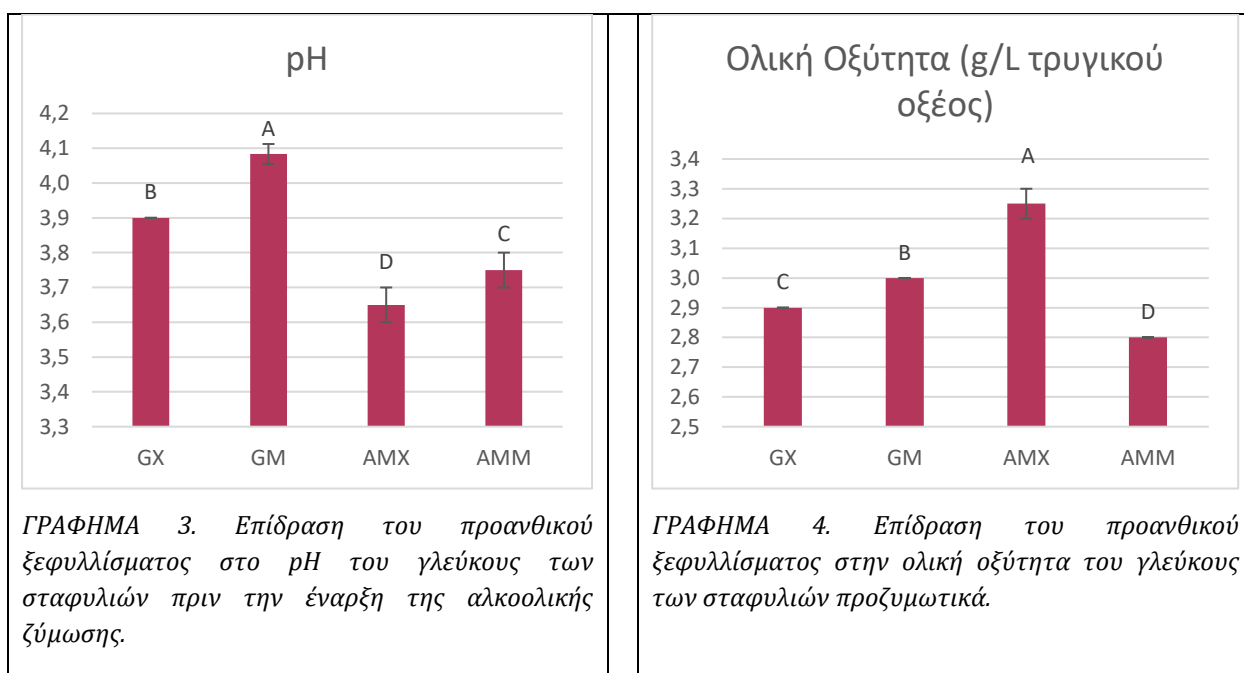
(β)

Εικόνα 7: Διαφορά πυκνότητας στους βοστρύχους στα ξεφυλλισμένα (α) και μη ξεφυλλισμένα (β) πρέμνα την περίοδο λίγο πριν την έναρξη της ωρίμανσης.

Στην εικόνα 7 (α, β) φαίνεται και οπτικά ότι, η μείωση του μέσου βάρους σταφυλής και η μείωση του μέσου βάρους ράγας που επιτυγχάνεται με την εφαρμογή του προανθικού ξεφυλλίσματος, οδηγεί στη δημιουργία αραιών (ή αραιόραγων) βοστρύχων που είναι επιθυμητή στη συγκεκριμένη ποικιλία για την καλύτερη φυτοπροστασία.

3.1.1 ΠΡΟΖΥΜΩΤΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

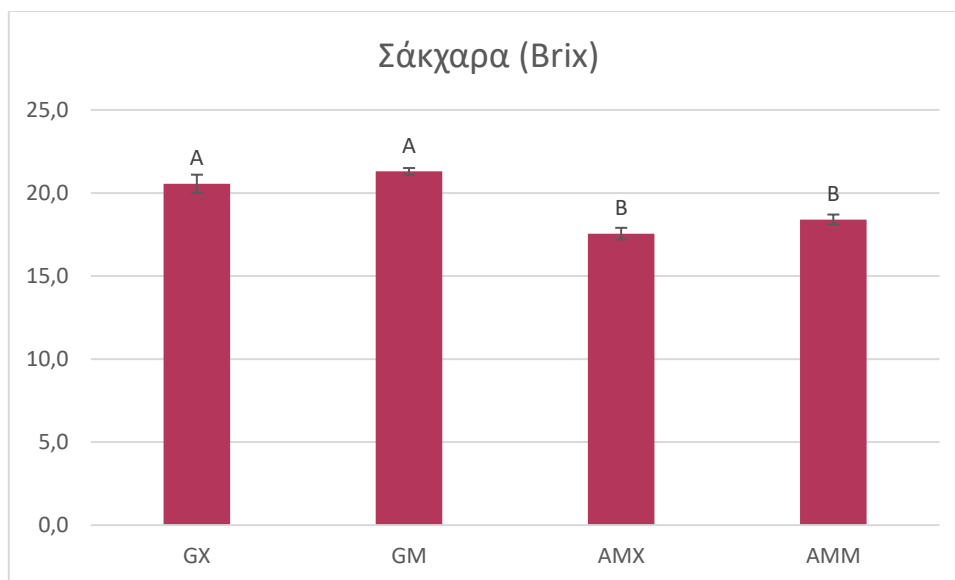
Μετά την έκθλιψη των σταφυλιών και λίγο πριν την εκκίνηση της αλκοολικής ζύμωσης έγιναν οι προζυμωτικές μετρήσεις του γλεύκους και τα αποτελέσματά τους παρουσιάζονται παρακάτω στα αντίστοιχα γραφήματα 3 – 5.



ΓΡΑΦΗΜΑ 3. Επίδραση του προανθικού ξεφυλλίσματος στο pH του γλεύκους των σταφυλιών πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης.

ΓΡΑΦΗΜΑ 4. Επίδραση του προανθικού ξεφυλλίσματος στην ολική οξύτητα του γλεύκους των σταφυλιών προζυμωτικά.

Στο Γράφημα 3, όπου παρουσιάζεται η επίδραση του ξεφυλλίσματος στο pH, κατ' αρχήν διαφοροποιούνται τα δύο αμπελοτεμάχια, με την Αγία Μαρκέλλα να έχει μεγαλύτερες τιμές (3,9 και 4) σε σχέση με το Γιαλιά (3,65 και 3,75). Ως προς το ξεφύλλισμα, φαίνεται ότι και στα δύο αγροτεμάχια υπάρχει μια αύξηση στην τιμή του pH στα σταφύλια που έχουν προέλθει από την επέμβαση του προανθικού ξεφυλλίσματος. Στο Γράφημα 4 παρουσιάζεται η ολική οξύτητα στο γλεύκος με κύριο χαρακτηριστικό τις χαμηλές τιμές, περίπου 2,5 – 3 g τρυγικού οξέος ανά λίτρο γλεύκους. Για την επέμβαση του προανθικού ξεφυλλίσματος δεν προκύπτει κάποια σαφής επίδραση αφού στο πρώτο αγροτεμάχιο (G) υπάρχει αύξηση της οξύτητας (GM) και στο δεύτερο (AM) παρατηρείται μείωση (AMM).



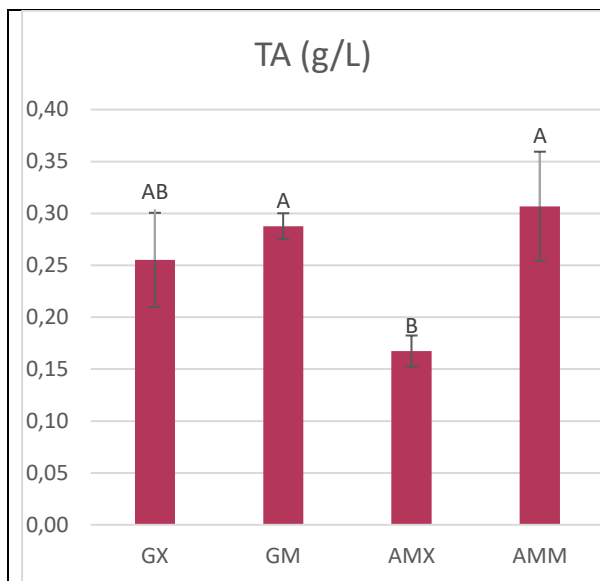
ΓΡΑΦΗΜΑ 5 Προζυμωτικές μετρήσεις σακχάρων στα υπό εξέταση γλεύκη

Στο Γράφημα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα μέτρησης της σακχαροπεριεκτικότητας με διαθλασιμετρία σε βαθμούς Brix. Παρατηρείται ότι τα γλεύκη που προέκυψαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα παρουσιάζουν αυξημένη συγκέντρωση σακχάρων σε σχέση με τον μάρτυρα τους. Συνολικά, φαίνεται ότι στην ημερομηνία συλλογής των σταφυλιών, τα σταφύλια από το αγροτεμάχιο G είχαν φτάσει την τεχνολογική ωριμότητα ενώ αντίθετα εκείνα από το αγροτεμάχιο AM δεν είχαν φτάσει σε αντίστοιχη συγκέντρωση σακχάρων. Γενικά, είναι πολύ σύνηθες σταφύλια από τη συγκεκριμένη ποικιλία να παρουσιάζουν προβλήματα στην αύξηση της συγκέντρωσης σακχάρων στο τελικό στάδιο ωρίμανσης, πριν τον τρύγο. Στο συγκεκριμένο αγροτεμάχιο (AM), η αδυναμία ωρίμανσης ως προς την συγκέντρωση σακχάρων, συμβαίνει στους τελευταίους πέντε τρύγους και για το λόγο αυτό τα σταφύλια λιάζονται και χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γλυκού οίνου.

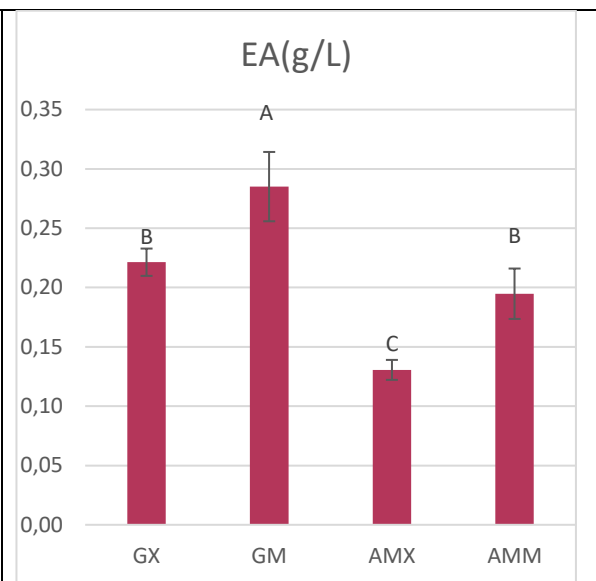
3.2. ΦΑΙΝΟΛΙΚΗ ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ (GLORIES)

Για την μελέτη της επίδρασης του ξεφυλλίσματος όσον αφορά στο σύνολο των ολικών ανθοκυανών, το σύνολο των εκχυλίσμων ανθοκυανών και την εκχυλισιμότητα τους αλλά και την παρουσία και την συμμετοχή των ταννινών των φλοιών και των γιγάρτων στο σύνολο των φαινολικών συστατικών εφαρμόστηκε η μέθοδος Glories σε ολόκληρες ράγες από τεχνολογικά ώριμα σταφύλια.

Η μέθοδος Glories δίνει μια μετρήσιμη εικόνα για την φαινολική ωρίμανση των ραγών. Με τη συγκεκριμένη μέθοδο μετριοούνται ποσοτικά τόσο το ολικό δυναμικό των ανθοκυανών και των ταννινών όσο και ποιοτικά στοιχεία, όπως η εκχυλισσιμότητα των ανθοκυανών. Η διαδικασία αφορά την ρύθμιση του pH του εκχυλίσματος της ράγας στην τιμή 1 όπου γίνεται εκχύλιση όλων των ανθοκυανών του δείγματος και σε pH ίσο με 3.6 όπου μιμείται πραγματικές συνθήκες εκχύλισης στη δεξαμενή κατά την οινοποίηση. Η απελευθέρωση των ανθοκυανών είναι συνάρτηση της ωριμότητας των ραγών και του πορώδους των κυτταρικών μεμβρανών του φλοιού. Όσον αφορά την εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών, ο αριθμός που προκύπτει από τον τύπο όσο χαμηλότερος είναι τόσο ευκολότερη είναι η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών ενώ αντίθετα όσο αυξάνεται η τιμή ΑΕ τόσο δυσχεραίνεται η εκχύλιση των ανθοκυανών στον οίνο.



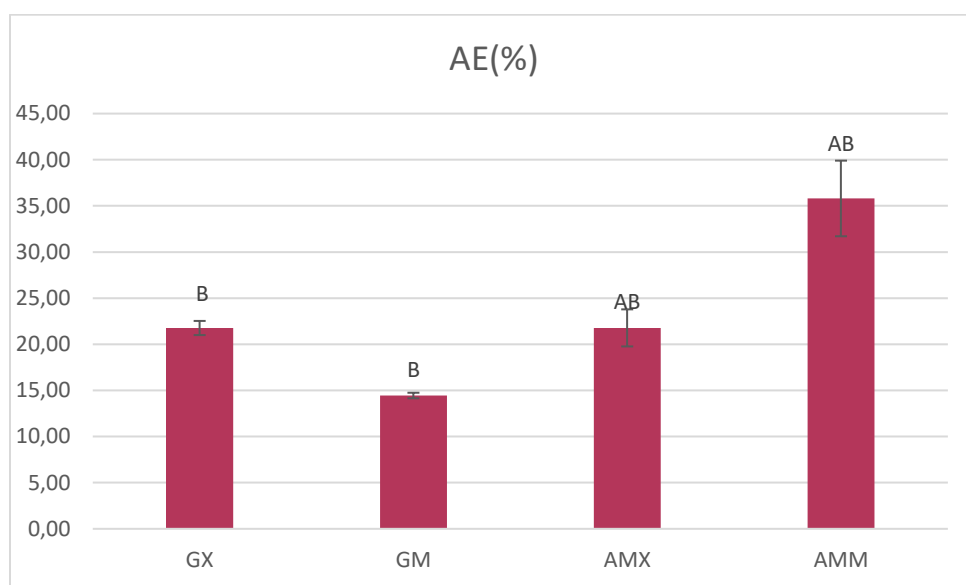
ΓΡΑΦΗΜΑ 6. Ολικές ανθοκυάνες (TA) σύμφωνα με την μέθοδο Glories σε ράγες από τις επεμβάσεις ξεφυλλίσματος και τους μάρτυρες στην τεχνολογική ωριμότητα. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι στατιστικά διαφορετικές.



ΓΡΑΦΗΜΑ 7. Εκχυλίσιμες ανθοκυάνες (EA) σύμφωνα με την μέθοδο Glories σε ράγες από τις επεμβάσεις ξεφυλλίσματος και τους μάρτυρες στην τεχνολογική ωριμότητα. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι στατιστικά διαφορετικές.

Στα επόμενα γραφήματα φαίνονται τα μεγέθη που υπολογίζονται με την μέθοδο Glories από τα εκχυλίσματα των ραγών που τρυγήθηκαν από τα αμπελοτεμάχια μελέτης στην τεχνολογική ωριμότητα. Στο Γράφημα 6 παρουσιάζονται οι Ολικές Ανθοκυάνες (TA) όπου στην περίπτωση του πρώτου αγροτεμαχίου φαίνεται ότι αυξάνονται αρκετά με την επέμβαση (AMM) κάτι που πιστοποιείται και μετά την στατιστική ανάλυση. Στο δεύτερο

αγροτεμάχιο, στην περίπτωση με την επέμβαση (GM), υπάρχει μεν μικρή αύξηση αλλά στατιστικά μη σημαντική. Στο *Γράφημα 7*, που αφορά τις εκχυλίσιμες ανθοκυάνες (EA), και στις δυο περιπτώσεις του προανθικού ξεφυλλίσματος, AMM και GM, παρατηρείται σημαντική αύξηση των εκχυλίσιμων ανθοκυανών σε σχέση με τους μάρτυρες τους (AMX,GX), κάτι που επιβεβαιώνεται και μετά τη στατιστική ανάλυση.

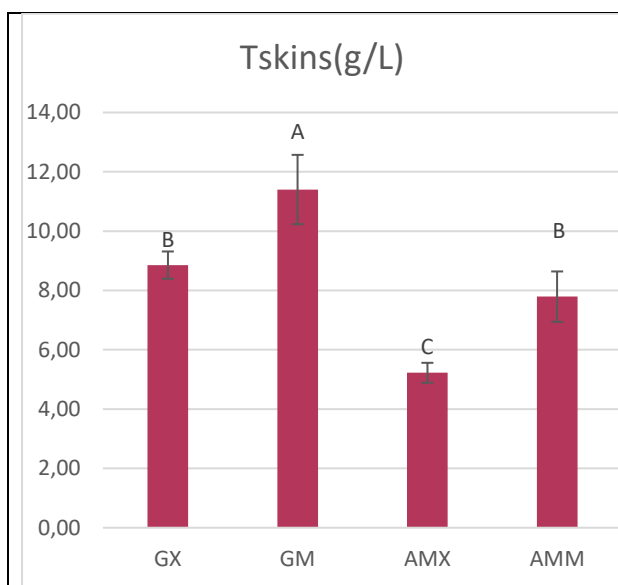


ΓΡΑΦΗΜΑ 8. Η επί τοις εκατό (%) εκχυλισιμότητα των ανθοκυανών (AE). Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι σημαντικά διαφορετικές.

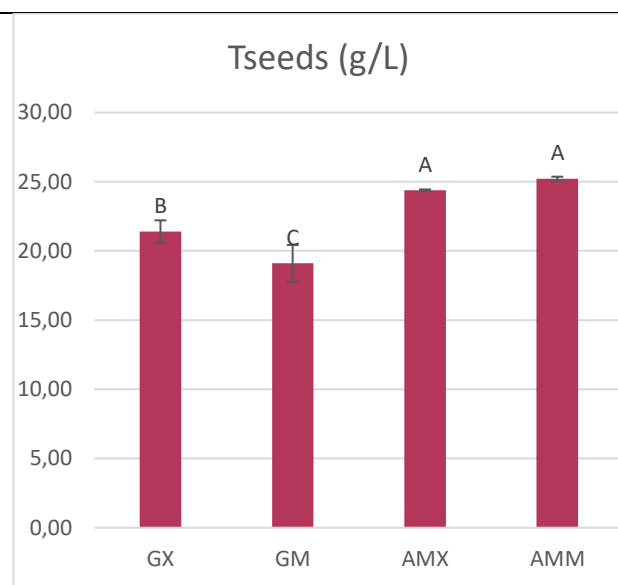
Στο *Γράφημα 8* απεικονίζεται η εκχυλισιμότητα των ανθοκυανών (AE%). Όσον αφορά στην πρώτη περίπτωση, η AMM έχει μεγαλύτερη εκχυλισιμότητα ανθοκυανών σε σχέση με την AMX που συνεπάγεται μεγαλύτερη δυσκολία εκχύλισής τους στον οίνο ενώ αντίθετα στο δεύτερο αγροτεμάχιο φαίνεται να υπάρχει μια μικρή μείωση όταν εφαρμόζεται το προανθικό ξεφύλλισμα, αν και στατιστικά μη σημαντική. Οι μικρότερες τιμές του Γιαλιά, και στις δύο επεμβάσεις, συμφωνούν με την υψηλότερη συγκέντρωση σακχάρων και αποτελεί ένδειξη σακχαρικής και φαινολικής ωρίμανσης.

Στα επόμενα *Γραφήματα* απεικονίζεται η περιεκτικότητα των ραγών σε ταννίνες στους φλοιούς και στα γίγαρτα. Όσον αφορά τις ταννίνες των φλοιών (*Γράφημα 9*), είναι εμφανές ότι και στα δυο αγροτεμάχια υπάρχει αυξημένη περιεκτικότητα στα σταφύλια που προέκυψαν από την επέμβαση σε σχέση με τους μάρτυρες τους. Στο *Γράφημα 10* απεικονίζεται η περιεκτικότητα των ταννινών στα γίγαρτα η οποία δε φαίνεται να

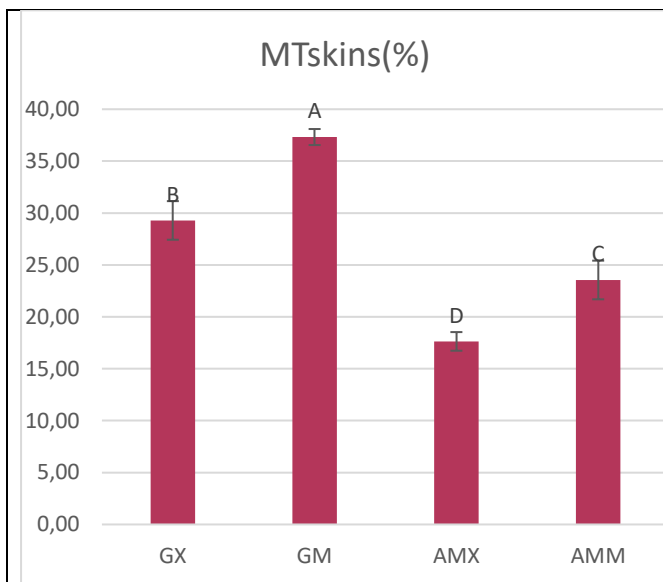
επηρεάζεται από την επέμβαση του προανθικού ξεφυλλίσματος. Στα Γραφήματα 11 και 12 απεικονίζεται το ποσοστό (%) των ταννινών σε φλοιούς και γιγάρτα ως προς τα ολικά φαινολικά των ραγών. Γενικά, τα επί τοις εκατό (%) ποσοστά στην περιεκτικότητα των φλοιών σε ταννίνες κυμαίνονται από 25 - 35 % και η περιεκτικότητα των γιγάρτων σε ταννίνες κυμαίνονται από 60 - 80 %. Εδώ, αξίζει να σημειωθεί ότι στα σταφύλια που προέκυψαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα παρατηρήθηκε μειωμένο ποσοστό κατά περίπου 10% στις ταννίνες γιγάρτων σε σχέση με τους μάρτυρες τους.



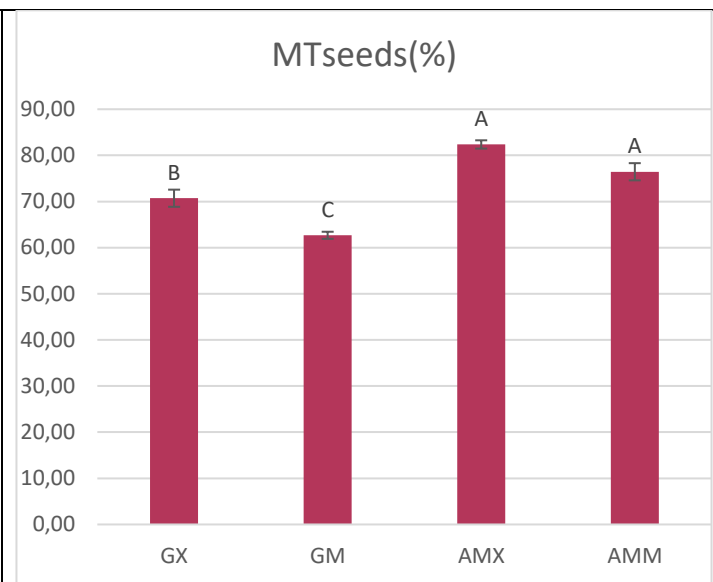
ΓΡΑΦΗΜΑ 9. Ταννίνες φλοιών, σύμφωνα με την μέθοδο Glories, σε ράγες στην τεχνολογική ωριμότητα από τις επεμβάσεις ξεφυλλίσματος και τους μάρτυρες. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι στατιστικά διαφορετικές.



ΓΡΑΦΗΜΑ 10. Ταννίνες γιγάρτων, σύμφωνα με την μέθοδο Glories, σε ράγες στην τεχνολογική ωριμότητα από τις επεμβάσεις ξεφυλλίσματος και τους μάρτυρες. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι στατιστικά διαφορετικές.



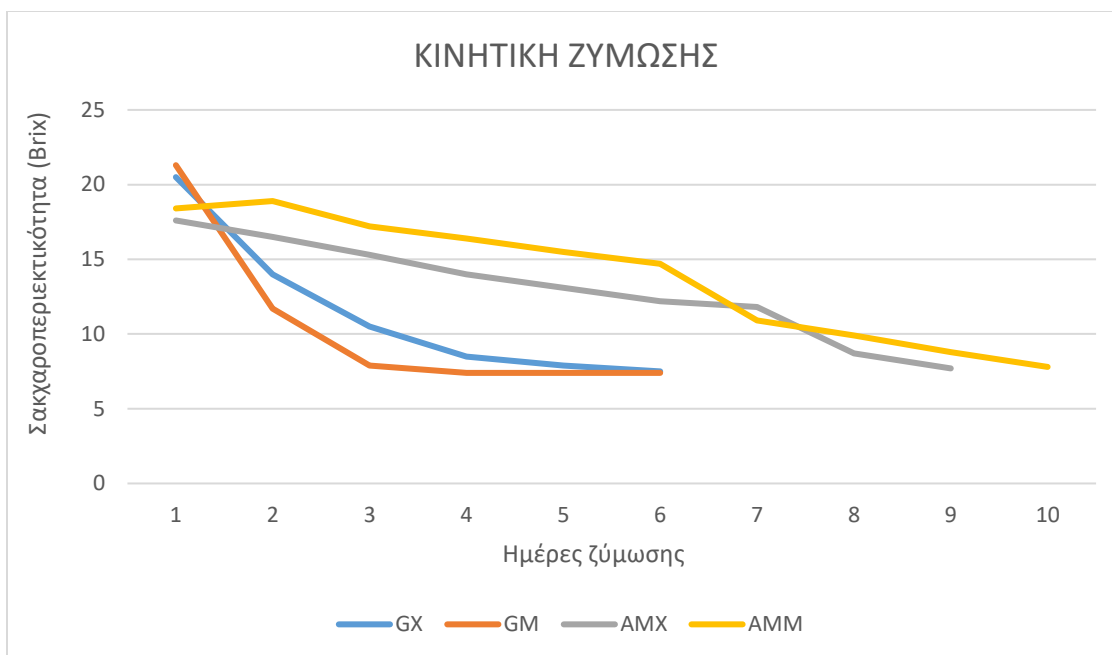
ΓΡΑΦΗΜΑ 11. Ποσοστό ταννινών φλοιών ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο, σύμφωνα με την μέθοδο Glories, σε ράγες στην τεχνολογική ωριμότητα από τις επεμβάσεις ξεφυλλίσματος και τους μάρτυρες. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι στατιστικά διαφορετικές.



ΓΡΑΦΗΜΑ 12. Ποσοστό ταννινών γιγάρτων ως προς το συνολικό φαινολικό φορτίο, σύμφωνα με την μέθοδο Glories, σε ράγες στην τεχνολογική ωριμότητα από τις επεμβάσεις ξεφυλλίσματος και τους μάρτυρες. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι στατιστικά διαφορετικές.

3.2. ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΖΥΜΩΣΕΩΝ

Μετά τον τρύγο, τα σταφύλια μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Οινολογίας και Αλκοολούχων Ποτών, όπου έγινε η αλκοολική ζύμωση ακολουθώντας το πρωτόκολλο οινοποίησης που αναφέρεται στο Μέθοδοι-Υλικά και που αναφέρει ενίσχυση των σακχάρων αλλά και των οξέων του γλεύκους. Η παρακολούθηση ήταν καθημερινή με καταγραφή της μεταβολής της σακχαροπεριεκτικότητας και σπάσιμο του καπέλου. Η εξέλιξη των ζυμώσεων φαίνεται στο γράφημα 13 με κύρια παράμετρο διαφοροποίησης το αγροτεμάχιο από το οποίο προήλθαν τα σταφύλια. Φαίνεται λοιπόν ότι οι ζυμώσεις με κωδικούς GX και GM που ξεκίνησαν την αλκοολική ζύμωση με αφετηρία τα 21 Brix παρουσίασαν μια σταθερή πορεία ζύωσης η οποία ολοκληρώθηκε σύντομα (6 ημέρες). Αντίθετα οι οίνοι από το αγροτεμάχιο Αγία Μαρκέλλα (AMX, AMM) παρουσίασαν μια πιο αργή αλκοολική ζύμωση (9 – 10 ημέρες). Σε γενικές γραμμές, οι αλκοολικές ζυμώσεις εξελίχθηκαν ομαλά και η μόνη διαφοροποίηση των 2 αγροτεμαχίων, πέρα από την διαφορά στα Brix, ήταν ότι οι ζυμώσεις του AM αγροτεμαχίου ολοκληρώθηκαν αργότερα από εκείνες του G.



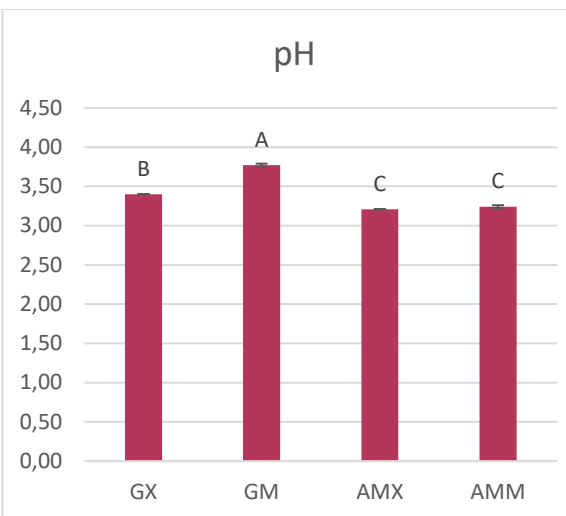
ΓΡΑΦΗΜΑ 13. Κινητικές ζύμωσης όλων των πειραματικών οίνων.

3.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΞΕΦΥΛΛΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥΣ ΟΙΝΟΥΣ

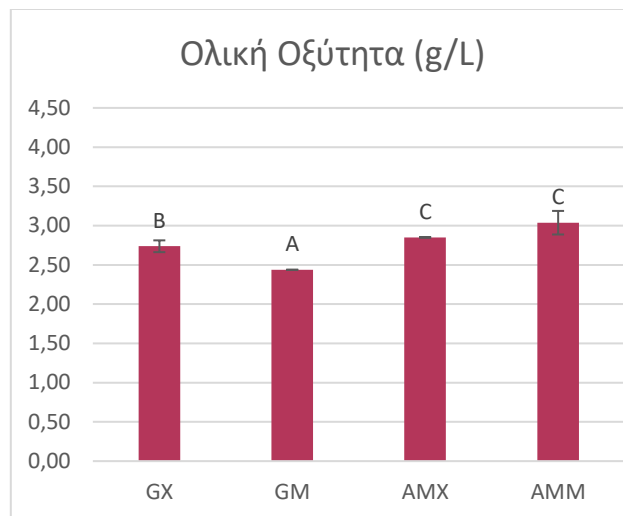
Για την παραγωγή των οίνων από τα σταφύλια που τρυγήθηκαν από τα συγκεκριμένα αγροτεμάχια ακολουθήθηκε κοινό πρωτόκολλο οινοποίησης στοχεύοντας στο γεγονός τυχόν διαφορές να αποδοθούν στις διαφορές της πρώτης ύλης και κατ' επέκταση στην επίδραση του ξεφυλλίσματος. Οι οίνοι εξετάστηκαν αρχικά ως προς τις βασικές οινολογικές αναλύσεις και εκ των υστέρων αναλύθηκε το φαινολικό τους δυναμικό.

3.3.1. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΟΙΝΩΝ

Στις βασικές αναλύσεις οίνων περιλαμβάνεται η ενεργός και η ολική οξύτητα, η πτητική οξύτητα και ο αλκοολικός τίτλος. Οι μέσοι όροι των επαναλήψεων, η τυπική τους απόκλιση και οι χαρακτηριστικές στατιστικές διαφοροποίησης φαίνονται στα παρακάτω γραφήματα όπου παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των αναλύσεων.



ΓΡΑΦΗΜΑ 14. Ενεργή οξύτητα (pH) σε οίνους που προέκυψαν από τα σταφύλια των αγροτεμαχίων ανά περίπτωση. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι σημαντικά διαφορετικές.

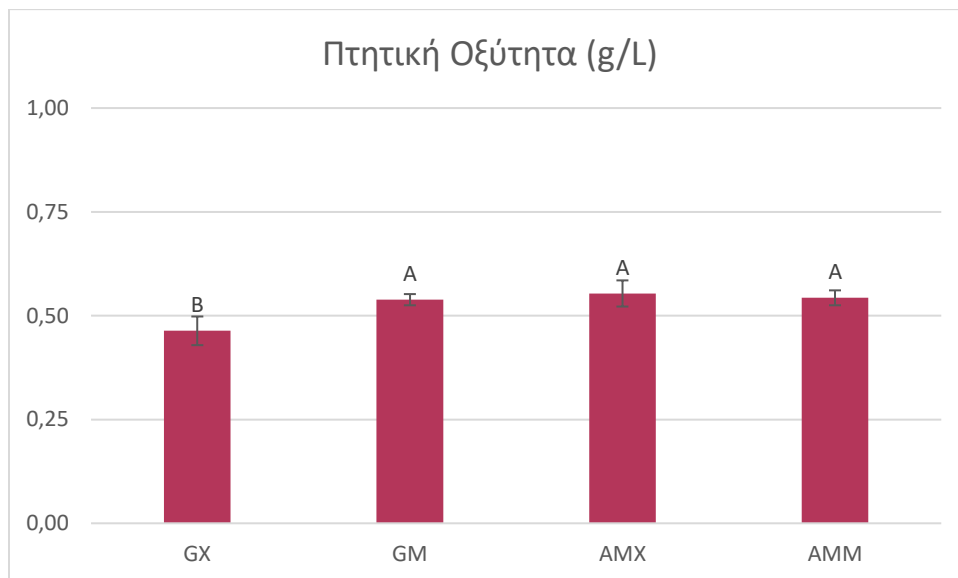


ΓΡΑΦΗΜΑ 15. Ολική οξύτητα (g/L) σε οίνους που προέκυψαν από τα σταφύλια των αγροτεμαχίων ανά περίπτωση. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι σημαντικά διαφορετικές.

Στο Γράφημα 14 φαίνεται η διαφοροποίηση των παραγόμενων οίνων ως προς την ενεργή οξύτητα (pH). Οι τιμές κυμαίνονται από 3,2 μέχρι 3,8, ένα μεγάλο εύρος τιμών, με τους οίνους των επεμβάσεων να δείχνουν τάσεις αύξησης του pH. Στο αγροτεμάχιο Αγία Μαρκέλλα, δεν υπάρχει στατιστική διαφορά ανάμεσα στις δυο περιπτώσεις (AMX, AMM), ενώ στο αγροτεμάχιο Γιαλιάς υπάρχει μια αύξηση από 3.4 σε 3.77 στην περίπτωση που έχει εφαρμοστεί προανθικό ξεφύλλισμα (GM), η οποία είναι σημαντική και επιβεβαιώνεται και μετά τη στατιστική ανάλυση. Η διαφορά στα pH των δύο αμπελοτεμαχίων πιθανόν να σχετίζεται με το διαφορετικό επίπεδο ωριμότητας των σταφυλιών τους.

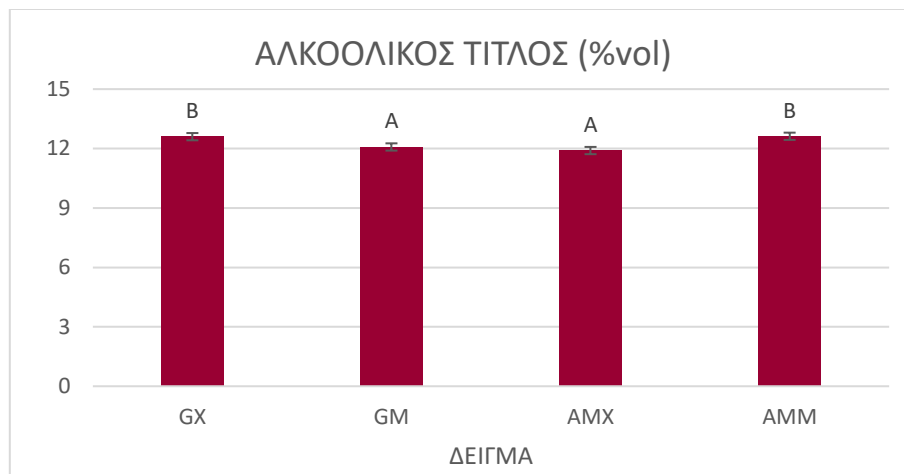
Το Γράφημα 15 δείχνει τα αποτελέσματα για την ολική οξύτητα σε g/L τρυγικού οξέος των παραγόμενων οίνων. Πρέπει να σημειωθεί ότι, η ολική οξύτητα σε όλους τους οίνους, έδωσε πολύ χαμηλές τιμές, ανεξαρτήτου επέμβασης σε αυτό το στάδιο ωρίμανσης των σταφυλιών, με την μικρότερη να είναι 2,4 και την μεγαλύτερη 3,0 g/L. Σε ότι αφορά την επέμβαση του ξεφύλλισματος, στην περίπτωση AMM με 3.04 g/L τρυγικού οξέος υπάρχει μια αύξηση σε σχέση με την AMX όπου έχει 2.85 g/L τρυγικού οξέος. Η διαφορά αυτή επιβεβαιώνεται ως σημαντική και μετά την στατιστική ανάλυση. Στο δεύτερο αγροτεμάχιο υπάρχουν αντίστροφα αποτελέσματα, με την ολική οξύτητα να είναι αυξημένη στην

περίπτωση GX (2.73 g/L τρυγικού οξέος) σε σχέση με τη GM όπου ήταν 2.44 g/L τρυγικού οξέος. Επομένως, παρατηρείται αντίστροφη πορεία στα δυο αγροτεμάχια με τις διαφορές να επιβεβαιώνονται ως σημαντικές και μετά τη στατιστική ανάλυση.



ΓΡΑΦΗΜΑ 16. Πτητική οξύτητα στους οίνους που προέκυψαν. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι σημαντικά διαφορετικές.

Τυχόν επίδραση των επεμβάσεων στο αμπέλι στην πτητική οξύτητα των οίνων (σε g/L οξικού οξέος) φαίνεται στο *Γράφημα 16*. Γενικά, σημειώνεται ότι σε όλους τους υπό εξέταση οίνους οι πτητικές οξύτητες είναι σε φυσιολογικά επίπεδα. Στο πρώτο αγροτεμάχιο φαίνεται η πτητική οξύτητα να μη μεταβάλλεται στα σταφύλια που προέρχονται από ξεφυλλισμένα ή μη πρέμνα (AMX, AMM) ενώ στο GX η πτητική οξύτητα είναι 0.46 g/L οξικού οξέος και στην περίπτωση GM να είναι 0.53 g/L οξικού οξέος. Με την επέμβαση η πτητική οξύτητα αυξάνεται και η διαφορά αυτή θεωρείται στατιστικά σημαντική αλλά πάντα σε επίπεδο οίνου που προέρχεται από μια υγιή πρώτη ύλη και σωστά εξελισσόμενη αλκοολική ζύμωση.



Γράφημα 17. Αλκοολικός τίτλος των οίνων από τα διαφορετικά αμπελοτεμάχια με ή χωρίς επέμβαση προανθικού ξεφυλλίσματος.

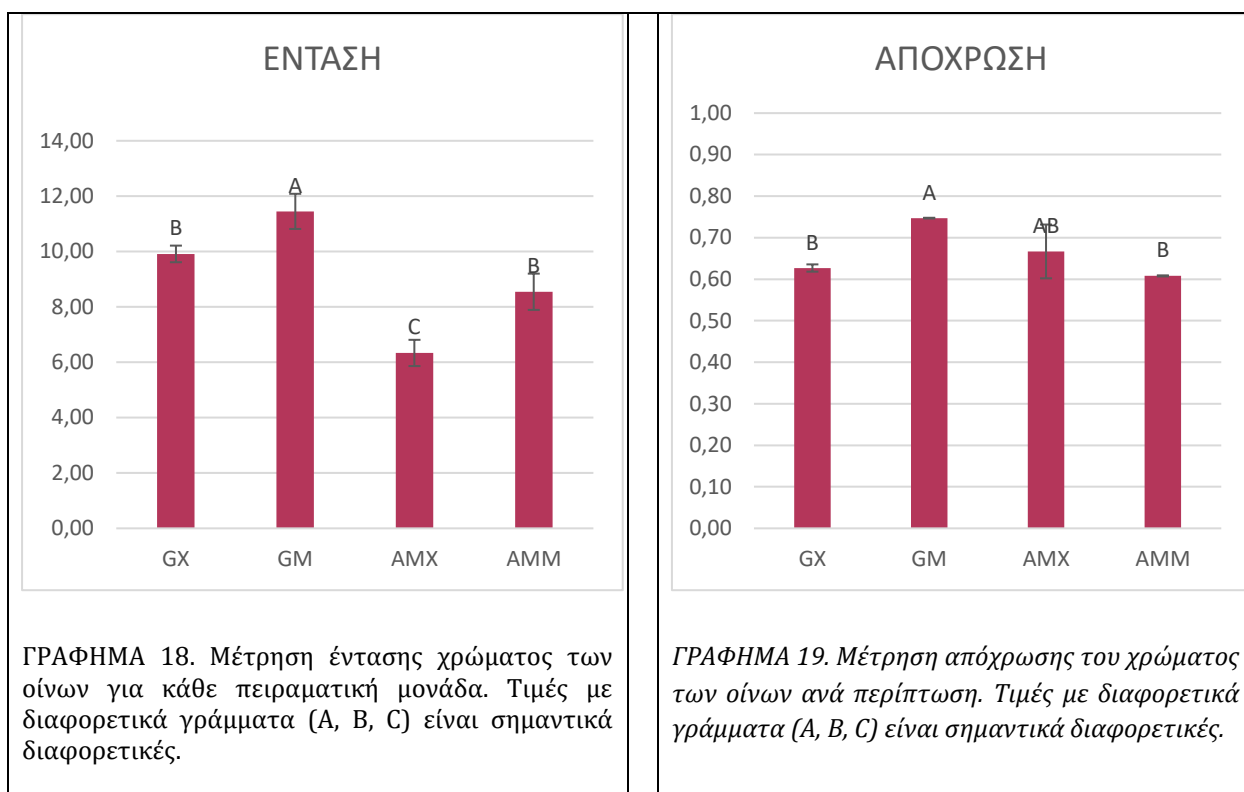
Στο Γράφημα 17 παρουσιάζεται ο αλκοολικός τίτλος ανά επέμβαση διορθωμένος στους 20 °C. Αν και τα δύο αγροτεμάχια παρουσιάζουν αντίστροφη τάση διαφοροποίησης όσο αφορά τον μάρτυρα (GX, AMX) και την επέμβαση (GM, AMM), εντούτοις πρέπει να αναφερθεί ότι οι τιμές είναι συνήθεις για ερυθρούς οίνους, με ένα εύρος από 12 ως 12,6 % vol, διαφορά που δεν κρίνεται επαρκής για ασφαλή συμπεράσματα.

3.3.2. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ - ΧΡΩΜΑΤΟΣ

Τα φαινολικά συστατικά αποτελούν μια από τις κυριότερες παραμέτρους των οίνων, κυρίως των ερυθρών καθώς από αυτά καθορίζεται το χρώμα αλλά και ο γευστικός χαρακτήρας τους. Κατά την εξέλιξη των οίνων στον χρόνο, τα φαινολικά συστατικά μεταβάλλονται και για αυτό τον λόγο επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός οίνου κατά την συντήρηση ή και την παλαίωση του.

Σε πρώτο στάδιο έγιναν οι φωτομετρικές αναλύσεις χρώματος και υπολογίστηκαν τα χρωματομετρικά χαρακτηριστικά των οίνων (ένταση και απόχρωση) που παρουσιάζονται στα Γραφήματα 18 και 19. Στο Γράφημα 18 φαίνεται η μέτρηση της έντασης του χρώματος στους οίνους που προέρχονται από τις επεμβάσεις στα αμπελοτεμάχια και δείχνει να έχει αξιόλογα αποτελέσματα καθώς στην AMM και στην GM εντοπίζεται αυξημένη ένταση με στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τους μάρτυρες. Σε ότι αφορά τα δύο αμπελοτεμάχια, οι εντάσεις των οίνων από την Αγία Μαρκέλλα είναι μέτριας έντασης (6,3

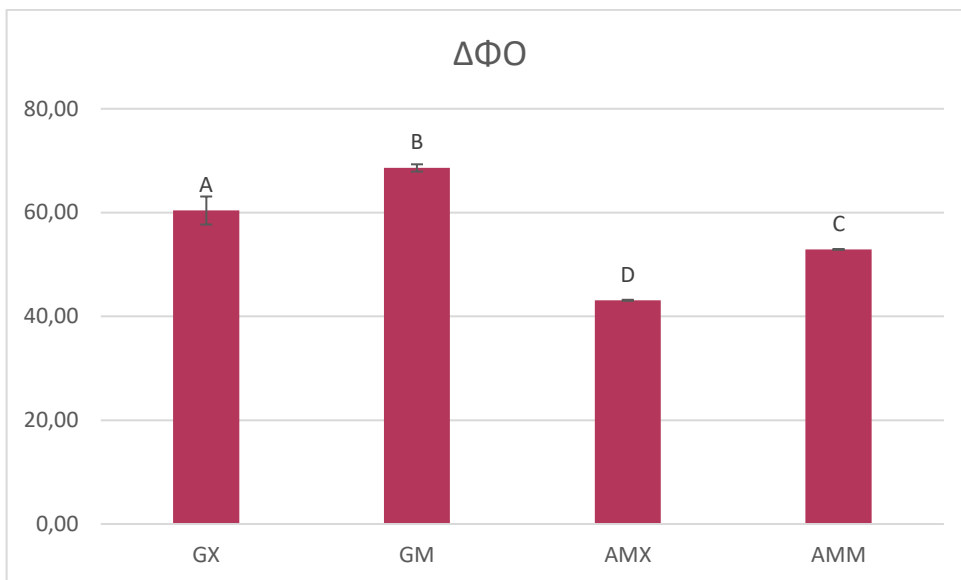
και 8,5) ενώ οι οίνοι από τη θέση Γιαλιάς χαρακτηρίζονται από υψηλότερη ένταση χρώματος (9,9 και 11,5) κατατάσσοντας τους οίνους στους υψηλής έντασης.



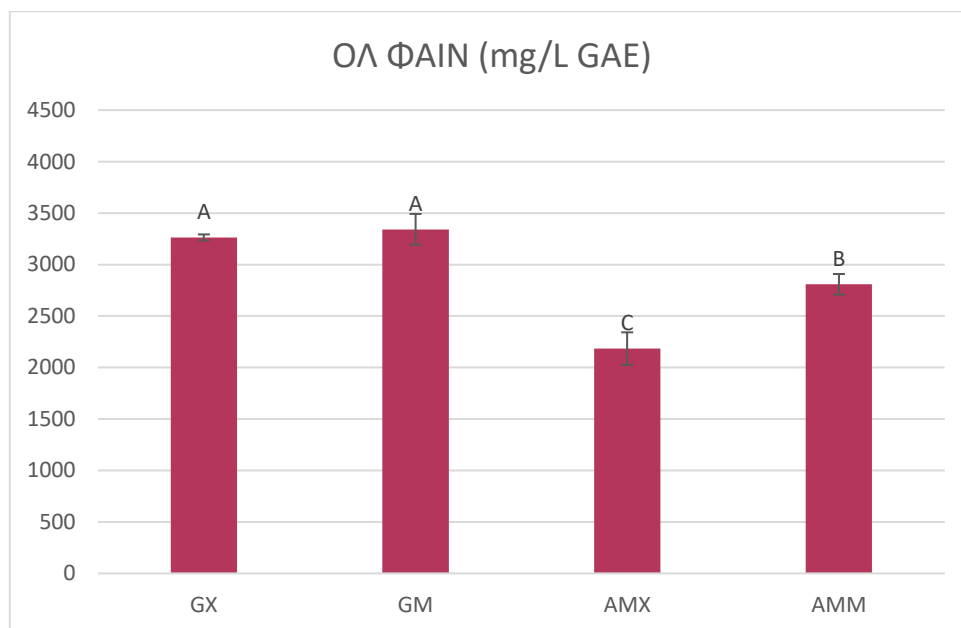
Στο *Γράφημα 19* αποτυπώνονται οι αποχρώσεις των υπό εξέταση οίνων. Αξίζει να αναφερθεί ότι το σύνολο των μετρήσεων είναι από 0.6 έως 0.75, οι οποίες είναι φυσιολογικές τιμές απόχρωσης για φρέσκους ερυθρούς οίνους. Σε επίπεδο επεμβάσεων, στα δύο αγροτεμάχια ακολουθείται αντίστροφη διαφοροποίηση για την αύξηση ή τη μείωση της απόχρωσης στους οίνους που προήλθαν από τα σταφύλια των ξεφυλλισμένων πρέμνων. Στο αγροτεμάχιο Γιαλιάς η απόχρωση αυξάνεται στους οίνους που προήλθαν από τα σταφύλια των ξεφυλλισμένων πρέμνων ενώ αντίθετα στο αγροτεμάχιο Αγία Μαρκέλλα μειώνεται, με αποτέλεσμα η τάση διαφοροποίησης, αν και με στατιστική διαφορά, να μην συσχετίζεται με ασφάλεια με την επέμβαση στο αμπέλι.

Για τον προσδιορισμό του συνολικού φαινολικού δυναμικού των υπό εξέταση οίνων έγινε χρήση δύο μεθόδων, του Δείκτη Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ) και του προσδιορισμού των ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin. Ο προσδιορισμός του ΔΦΟ, έχει ως βάση ότι το μέγιστο της απορρόφησης των βενζολικών δακτυλίων των φαινολικών ενώσεων του οίνου βρίσκεται στα 280 nm ενώ ο προσδιορισμός με την μέθοδο Folin βασίζεται στην αντίδραση

των φαινολικών συστατικών με τα ετεροπολυμερή ιόντα του ομώνυμου αντιδραστηρίου σε αλκαλικό περιβάλλον.



ΓΡΑΦΗΜΑ 20. Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ) στους οίνους που προήλθαν από τα αμπελοτεμάχια Αγία Μαρκέλλα και Γιαλιάς, με ή χωρίς επέμβαση με προανθικό ξεφύλλισμα. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C, D) είναι σημαντικά διαφορετικές.



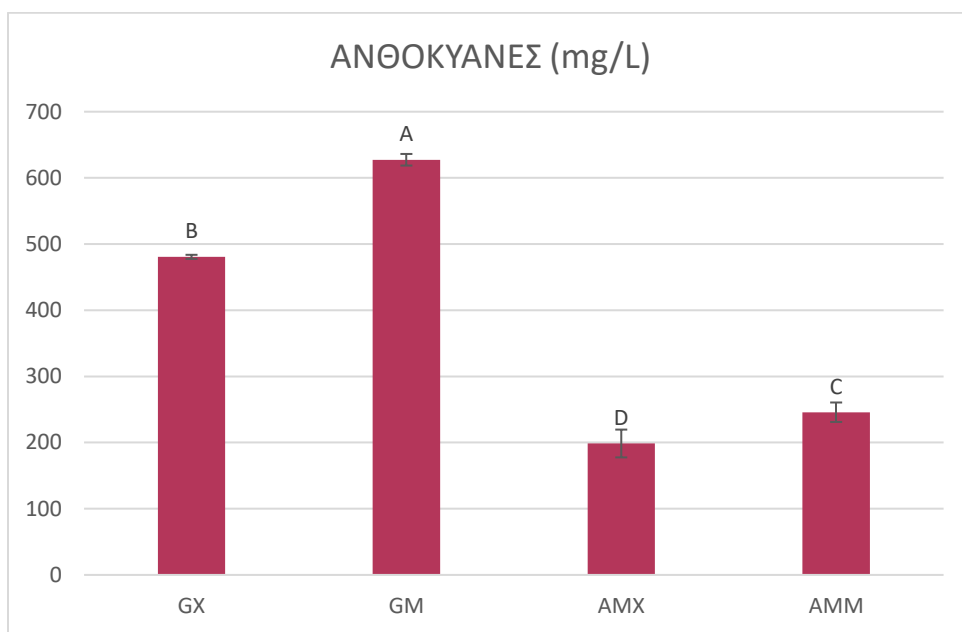
ΓΡΑΦΗΜΑ 21. Απεικόνιση της συγκέντρωσης των οίνων σε ολικά φαινολικά, τα οποία εκφράζονται σε mg/L σε οίνους που προήλθαν από τα αμπελοτεμάχια Αγία Μαρκέλλα και Γιαλιάς, με ή χωρίς επέμβαση με προανθικό ξεφύλλισμα. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι σημαντικά διαφορετικές.

Στο *Γράφημα 20* απεικονίζονται οι μετρήσεις, συμπεριλαμβανομένης της αραίωσης των δειγμάτων, με τα αποτελέσματα να δείχνουν ξεκάθαρα ότι και στα δυο αγροτεμάχια υπάρχει αύξηση των φαινολικών ουσιών όταν διενεργείται προανθικό ξεφύλλισμα. Αρχικά, στην περίπτωση AMX το φαινολικό δυναμικό είναι 43.1 ενώ οι μετρήσεις στον οίνο που προέρχεται από τα σταφύλια των ξεφυλλισμένων πρέμων (AMM) αυξάνονται σε 52.9. Το ίδιο μοτίβο ακολουθείται και στο δεύτερο αγροτεμάχιο όπου στην GX το αποτέλεσμα των μετρήσεων είναι 60.4 και στη GM υπάρχει άνοδος στο φαινολικό δυναμικό σε 68.6. Η διαφορά επιβεβαιώνεται από την στατιστική επεξεργασία και στις δυο περιπτώσεις κάνοντας σαφές ότι οι οίνοι που προέρχονται από ξεφυλλισμένα πρέμνα (AMM, GM) έχουν μεγαλύτερες τιμές ΔΦΟ από τους αντίστοιχους μάρτυρες (AMX και GX).

Οι συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών των οίνων προέκυψαν με τη χρήση της μεθόδου Folin – Ciocalteu και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος και ποσοτικά ως mg/L (*Γράφημα 21*). Παρατηρείται ότι τα επίπεδα φαινολικών συστατικών στους οίνους από την στην Αγία Μαρκέλλα υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά, με το ξεφυλλισμένο δείγμα να παρουσιάζει αυξημένη συγκέντρωση έναντι του μη ξεφυλλισμένου, ενώ από τον Γιαλιά ήταν παρόμοια χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά. Αριθμητικά, στο πρώτο αγροτεμάχιο, η περίπτωση AMX έχει συγκέντρωση 2183.33 mg/L GAE, ενώ στην AMM η συγκέντρωση ήταν 2808.33 mg/L GAE. Στο δεύτερο αγροτεμάχιο, στον Γιαλιά, γενικά οι συγκεντρώσεις είναι αυξημένες ως προς το προηγούμενο κι επιπλέον ο μάρτυρας GX, με συγκέντρωση ολικών φαινολικών 3263.89 mg/L GAE έναντι 3341.67 mg/L GAE στην περίπτωση GM. Βέβαια, παρόλο που η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική, η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών αυξάνεται στους οίνους που προέρχονται από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα.

Στη συνέχεια μελετήθηκε η παρουσία των ανθοκυανών στους οίνους με δύο επίσης μεθόδους. Σε πρώτο στάδιο προσδιορίστηκαν οι ελεύθερες ανθοκυάνες με την μέθοδο των Ribereau–Gayon et al (1965) που βασίζεται στον αποχρωματισμό τους παρουσία θειώδη ανυδρίτη και ακολούθως με HPLC όπου οι ανθοκυάνες αναλύονται και στα επιμέρους είδη τους.

Στο Γράφημα 22 παρουσιάζονται οι μετρήσεις των ολικών ανθοκυανών των οίνων σε mg/L με σημαντική διαφοροποίηση ανάμεσα στα αμπελοτεμάχια. Στην περίπτωση AMX οι ολικές ανθοκυάνες είναι 198.63 mg/L ενώ στην περίπτωση AMM είναι 245.87 mg/L. Στο δεύτερο αμπελοτεμάχιο η GX έχει ολικές ανθοκυάνες 480.67 mg/L ενώ η GM παρουσιάζει μεγάλη αύξηση με συγκέντρωση 627.38 mg/L. Παρατηρείται ότι και στα δυο αγροτεμάχια υπάρχει μια μεγάλη αύξηση των ολικών ανθοκυανών των οίνων που προέρχονται από σταφύλια ξεφυλλισμένων πρέμνων. Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική και στις δυο περιπτώσεις μιας και η στατιστική συσχέτιση με το Tukey HSD test έδωσε διαφορετικούς χαρακτήρες διαφοροποίησης.

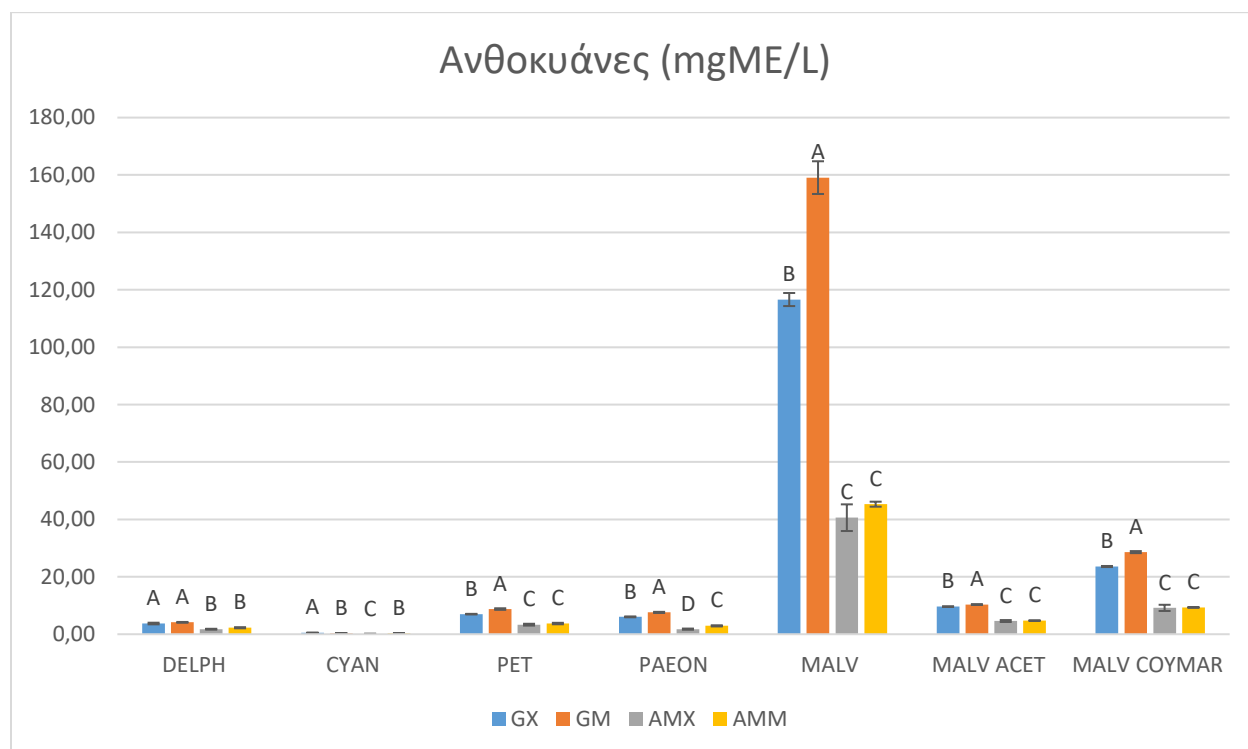


ΓΡΑΦΗΜΑ 22. Προσδιορισμός των ολικών ανθοκυανών (mg/L) στους οίνους. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C, D) είναι στατιστικά σημαντικά διαφορετικές.

Για την περαιτέρω ανάλυση των ανθοκυανών χρησιμοποιήθηκε η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC). Με αυτή τη μέθοδο επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός και η ποσοτικοποίηση των κύριων μονομερών των ανθοκυανών. Προσδιορίστηκαν οι μονογλυκοζίτες της Μαλβιδίνης, της Δελφινιδίνης, της Πετουνιδίνης, της Παιονιδίνης, του Κουμαρικού και του Οξικού εστέρα της Μαλβιδίνης και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω στο Γράφημα 23.

Στο Γράφημα 23 φαίνεται ότι, και για τους φρέσκους οίνους της ποικιλίας Μανδηλαριά, η μαλβιδίνη είναι το κυριότερο μονομερές, όσον αφορά τη συγκέντρωση. Στο πρώτο

αγροτεμάχιο υπάρχει μια μικρή αύξηση στους οίνους που προέκυψαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα, όμως η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση AMX έχουμε συγκέντρωση μαλβιδίνης 40.60 mg/L ενώ στην AMM έχουμε συγκέντρωση 45.30 mg/L. Στο δεύτερο αγροτεμάχιο (G) υπάρχει μεγάλη αύξηση στη συγκέντρωση της Μαλβιδίνης στους οίνους των ξεφυλλισμένων φυτών (159.07 mg/L) σε σχέση με την συγκέντρωση των οίνων στα φυτά μάρτυρες (116.6 mg/L) και μάλιστα με στατιστικά σημαντική διαφορά. Στο *Γράφημα 23* παρουσιάζονται δυο διαφορετικά μοτίβα για κάθε αγροτεμάχιο όσον αφορά στη συγκέντρωση του οξικού εστέρα της μαλβιδίνης. Στο πρώτο αγροτεμάχιο η συγκέντρωση στους οίνους δεν επηρεάζεται είτε έχει γίνει η επέμβαση είτε δεν έχει γίνει. Στο δεύτερο αγροτεμάχιο, όμως, παρουσιάζεται αύξηση της συγκέντρωσης στους οίνους που παράχθηκαν από τα σταφύλια των ξεφυλλισμένων πρέμνων. Η GX έχει συγκέντρωση 9.62 mg/L ενώ η GM έχει 10.33 mg/L. Η διαφορά μεταξύ των δυο περιπτώσεων αποδείχθηκε σημαντική μετά τη στατιστική ανάλυση που ακολούθησε.



ΓΡΑΦΗΜΑ 23. συγκέντρωσης ανθοκυανών με HPLC σε ισοδύναμα μαλβιδίνης (mgME/L) στους οίνους από τα δύο αμπελοτεμάχια με την επέμβαση του προανθικού ξεφυλλίσματος. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι σημαντικά διαφορετικές.

Στο ίδιο γράφημα παρουσιάζεται επίσης η συγκέντρωση του κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης με τα αποτελέσματα να προσομοιάζουν με εκείνα του οξικού εστέρα. Στο πρώτο αγροτεμάχιο οι περιπτώσεις AMX και AMM δεν έχουν κάποια ιδιαίτερη διαφορά στη συγκέντρωση του κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης. Αντιθέτως, στο δεύτερο αγροτεμάχιο η συγκέντρωση του κουμαρικού εστέρα στην GX είναι 23.59 mg/L και παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την συγκέντρωση του κουμαρικού εστέρα στην περίπτωση GM (28.60 mg/L).

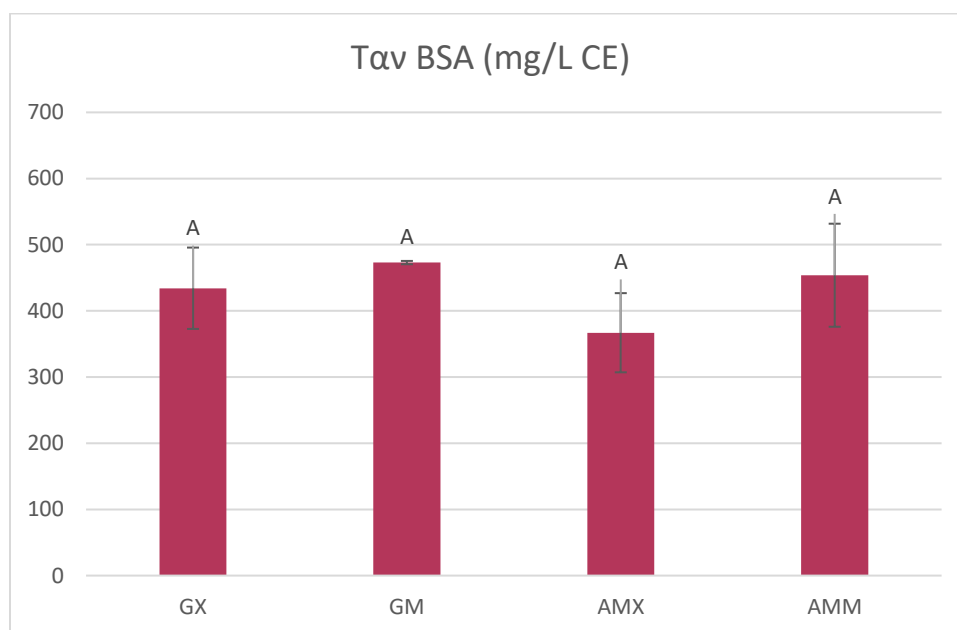
Όσον αφορά τα υπόλοιπα μονομερή, η δελφινιδίνη στην περίπτωση της AMX έχει συγκέντρωση 1.74 mg/L ME και στην AMM εμφανίζει αύξηση στην τιμή στα 2.25 mg/L ME. Στο δεύτερο αγροτεμάχιο ακολουθείται το ίδιο μοτίβο, με την πρώτη περίπτωση (GX) να έχει συγκέντρωση 3.72 mg/L ME και την δεύτερη περίπτωση GM να έχει αυξημένη συγκέντρωση σε 4.13 mg/L ME. Παρόλο που και στα δυο αγροτεμάχια παρουσιάζεται μια αυξημένη συγκέντρωση στους οίνους που προήλθαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα, οι διαφορές που προέκυψαν δεν αποδείχθηκαν σημαντικά διαφορετικές μετά τη στατιστική ανάλυση.

Η συγκέντρωση της κυανιδίνης στο πρώτο αγροτεμάχιο εμφανίζεται με σημαντική αύξηση, από 0.11 mg/L ME στην AMX σε 0.34 mg/L ME στην AMM. Η διαφορά ανάμεσα στις δυο τιμές αποδεικνύεται σημαντική μετά τη στατιστική επεξεργασία. Συνεχίζοντας την ανάλυση των μονομερών αναφέρεται και η παιονιδίνη, όπου τα αποτελέσματα είναι στατιστικά διαφορετικά. Οι τιμές της συγκέντρωσης της παιονιδίνης είναι σημαντικά υψηλότερες και στα δυο αγροτεμάχια στους οίνους που προέκυψαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα σε σχέση με τους μάρτυρες. Στο πρώτο αγροτεμάχιο η συγκέντρωση της παιονιδίνης στην AMX είναι 1.76 mg/L, ενώ η συγκέντρωση της στους οίνους που έχει γίνει το προανθικό ξεφύλλισμα (AMM) είναι σχεδόν διπλάσια, δηλαδή 2.91 mg/L. Στο δεύτερο αγροτεμάχιο η συγκέντρωση της παιονιδίνης στον μάρτυρα GX είναι 6.00 mg/L, ενώ αρκετά αυξημένη είναι στους οίνους που προέκυψαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα (GM) 7.60 mg/L. Οι διαφορές στις τιμές που προκύπτουν και για τα δυο αγροτεμάχια είναι στατιστικά σημαντικές.

Το επόμενο μονομερές των ανθοκυανών που απεικονίζεται στο Γράφημα 23 είναι η πετουινιδίνη. Εκεί φαίνεται ότι, παρόλο που εμφανίζονται μικρότερες τιμές, συνεχίζεται το μοτίβο οι μάρτυρες (AMX, GX) να έχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με τους οίνους που προέκυψαν από τα πρέμνα που έγινε η επέμβαση (AMM, GM). Πιο συγκεκριμένα, στο πρώτο αγροτεμάχιο η συγκέντρωση της πετουινιδίνης στην AMX μετρήθηκε 6.99 mg/L και 8.76 mg/L στην AMM. Η διαφορά στις τιμές δεν είναι στατιστικά σημαντική. Αντίστοιχα, στο δεύτερο αγροτεμάχιο ο μάρτυρας GX είχε συγκέντρωση 3.33 mg/L, ενώ η συγκέντρωση της πετουινιδίνης στην περίπτωση GM ήταν 3.72 mg/L. Η διαφορά μεταξύ των τιμών είναι στατιστικά σημαντική.

3.3.4. TANNINES ΟΙΝΩΝ

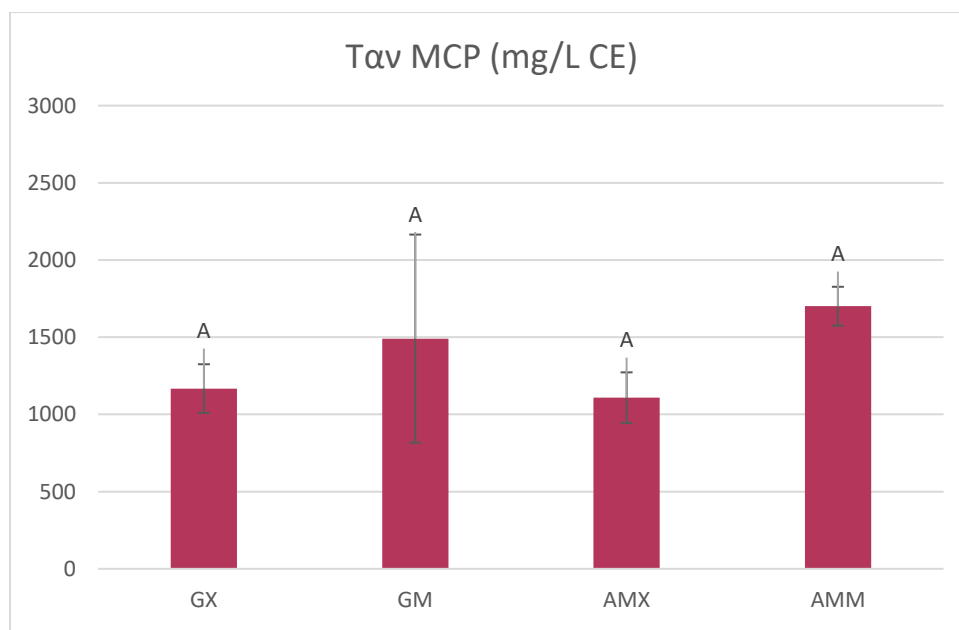
Οι ταννίνες είναι τα φαινολικά συστατικά των οίνων τα οποία κυρίως ευθύνονται για την αίσθηση της στυπτικότητας αλλά και για την εξέλιξη του οργανοληπτικού χαρακτήρα των οίνων κατά την παλαίωση μέσα από διαδικασίες πολυμερισμού και οξειδωσης. Οι μέθοδοι προσδιορισμού τους βασίζονται στην συμπλοκοποίηση τους με διάφορα πολυμερή.



ΓΡΑΦΗΜΑ 24. Αποτελέσματα μέτρησης συγκέντρωσης ταννινών που προέκυψαν με τη μέθοδο BSA, τα οποία μετρούνται σε mg/L οίνου. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι σημαντικά διαφορετικές.

Οι ταννίνες που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο BSA έδειξαν ότι τα κρασιά που προέρχονται από τις επεμβάσεις έχουν αυξημένη συγκέντρωση ταννινών σε σχέση με τους μάρτυρες τους (Γράφημα 24). Πιο συγκεκριμένα, η περίπτωση AMX έχει συγκέντρωση 366.99 mg/L ενώ η AMM έχει συγκέντρωση 453.88 mg/L. Αντίστοιχα, η περίπτωση GX έχει συγκέντρωση 434.20mg/L, ενώ η GM έχει 473.00 mg/L. Παρόλη την ύπαρξη αυτής της αύξησης στη συγκέντρωση των ταννινών στους οίνους που προέκυψαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα, η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Στο Γράφημα 25 απεικονίζονται οι μετρήσεις των ταννινών με τη μέθοδο MCP, όπου φαίνεται για άλλη μια φορά ότι οι ταννίνες στα AMM και GM είναι αντίστοιχα αυξημένες σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες. Ειδικότερα, η περίπτωση AMX έχει συγκέντρωση ταννινών 1108.66mg/L και η AMM έχει 1700.78 mg/L. Όσον αφορά στο δεύτερο αγροτεμάχιο, η περίπτωση GX έχει συγκέντρωση ταννινών 1167.45 mg/L και η περίπτωση GM έχει 1490.81mg/L. Παρόλο που οι διαφορές μεταξύ των μαρτύρων και των περιπτώσεων με την επέμβαση φαίνονται μεγάλες αριθμητικά, μετά τη στατιστική επεξεργασία δεν φαίνεται να είναι σημαντικές, προφανώς λόγω της μεγάλης τυπικής απόκλισης των μετρήσεων. Κάτι ανάλογο συνέβη και με τη μέθοδο BSA.



ΓΡΑΦΗΜΑ 25. Απεικόνιση της συγκέντρωσης των ταννινών σε οίνους (σε mg/L) με τη μέθοδο MCP. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (A, B, C) είναι σημαντικά διαφορετικές.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το αντικείμενο διερεύνησης της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η επίδραση του προανθικού ξεφυλλίσματος στην ποικιλία Μανδηλαριά σε δυο περιβάλλοντα με διαφορετικές εδαφοκλιματικές συνιστώσες. Το προανθικό ξεφύλλισμα φαίνεται ότι επηρέασε σημαντικά κάποιους από τους χαρακτήρες στα σταφύλια και τους οίνους που εξετάστηκαν.

Αρχικά, όσο αφορά στο μέσο βάρος σταφυλής επιτεύχθηκε σημαντική μείωση στα πρέμνα που ξεφυλλίστηκαν πριν την έναρξη της άνθησης (*Γράφημα 1*), σε σχέση με εκείνα που ξεφυλλίστηκαν περίπου ένα μήνα μετά την καρπόδεση, εφαρμογή που συνηθίζεται να γίνεται σε κάθε καλλιεργητική περίοδο στους συγκεκριμένους αμπελώνες. Αυτό το αποτέλεσμα είναι ένα πολύ σημαντικό εύρημα καθώς μπορεί να βοηθήσει σημαντικά στη βελτίωση της φυτοπροστασίας της Μανδηλαριάς. Η συγκεκριμένη ποικιλία παρουσιάζει μεγάλα και πυκνόραγα τσαμπιά τα οποία κάνουν σχεδόν αδύνατη τη φυτοπροστασία στο εσωτερικό τους, από την έναρξη της ωρίμανσης και μετά. Η επίδραση του ξεφυλλίσματος επιβεβαιώνεται και από την μέτρηση του μέσου βάρους ράγας όπου υπάρχει αξιοσημείωτη μείωση στις περιπτώσεις που έγινε η επέμβαση (AMM, GM), σε σχέση με τους μάρτυρες τους (AMX, GX) ενώ και στα δύο αγροτεμάχια η διαφορά που προέκυψε αποδείχθηκε ως σημαντική μετά τη στατιστική επεξεργασία (*Γράφημα 2*). Αυτές, λοιπόν, οι δυο μετρήσεις μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι προκύπτουν μικρότερα τσαμπιά, με όλα τα θετικά που αυτό συνεπάγεται, όπως η αύξηση του στερεού υπολείμματος και η καλύτερη υγιεινή του σταφυλιού κατά τον τρύγο. Αναγνωρίζεται ότι στο συγκεκριμένο ερευνητικό κομμάτι υπάρχουν κάποια δεδομένα που λείπουν και αφορούν την πορεία εξέλιξης των σταφυλιών από την έναρξη της καρπόδεσης έως και το στάδιο του τρύγου, καθώς και τον έλεγχο της υδατικής καταπόνησης που πιθανόν να είχαν τα πρέμνα στο ίδιο χρονικό διάστημα. Καλό θα είναι οι ελλείψεις να εξεταστούν σε μεταγενέστερες μελέτες, έτσι ώστε να εξαχθεί μια πιο σαφής εικόνα της ανάπτυξης των σταφυλιών.

Με τη χρήση της μεθόδου Glories προέκυψαν χρήσιμα αποτελέσματα για τις ολικές και εκχυλίσιμες ανθοκυάνες καθώς και για την εκχυλισματικότητα τους. Στις ολικές ανθοκυάνες παρουσιάζεται μια σημαντική αύξηση στην συγκέντρωσή τους στο

αγροτεμάχιο AM, στην περίπτωση που έχει γίνει η επέμβαση (AMM). Στο δεύτερο αγροτεμάχιο υπάρχει σταθερή συγκέντρωση και στις δύο περιπτώσεις (GX, GM) (Γράφημα 6). Τα αποτελέσματα που αφορούν τις εκχυλίσιμες ανθοκυάνες (Γράφημα 7) είναι ξεκάθαρα και οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ανεξάρτητα από το ύψος της συγκέντρωσης των ολικών ανθοκυανών υπάρχει αύξησή τους όταν εφαρμόζεται το προανθικό ξεφύλλισμα. Όσο αφορά τη συγκέντρωση ταννινών στις ράγες (Γραφήματα 9-12) φαίνεται ότι και στα δύο αγροτεμάχια υπάρχει μεγάλη μείωση στο ποσοστό (%) των ταννινών των γιγάρτων στα σταφύλια που προέκυψαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα (GM, AMM). Συνυπολογίζοντας ότι η Μανδηλαριά είναι μια ποικιλία η οποία είναι γνωστή για την έντονη στυπτικότητα της, η οποία προκύπτει κατά κύριο λόγο από τις ταννίνες των γιγάρτων, είναι πολύ πιθανό το προανθικό ξεφύλλισμα να οδηγεί σε μείωση της στυπτικότητας των οίνων που δίνει η συγκεκριμένη ποικιλία.

Τα σταφύλια των επεμβάσεων οινοποιήθηκαν με ίδιο πρωτόκολλο οινοποίησης αποβλέποντας τυχόν διαφορές στους οίνους να αποδοθούν στις διαφορές της πρώτης ύλης. Στις βασικές αναλύσεις των οίνων (pH, ολική οξύτητα, πτητική οξύτητα) φαίνεται ότι δεν μπορεί να διεξαχθεί κάποιο ασφαλές συμπέρασμα, καθώς σε κάθε αγροτεμάχιο είτε ακολουθούνται αντίστροφα μοτίβα είτε οι τιμές παραμένουν σταθερές ανάμεσα σε μάρτυρες και επεμβάσεις (Γραφήματα 14-17). Ίσως θα έπρεπε να γίνουν περαιτέρω έρευνες στο μέλλον στις βασικές αναλύσεις οίνων.

Για τα χρωματικά χαρακτηριστικά των οίνων φαίνεται ότι μπορούν να εξαχθούν κάποια συμπεράσματα. Ως προς την ένταση, φαίνεται ότι και στα δύο αγροτεμάχια υπάρχει αύξηση της έντασης του χρώματος στους οίνους που προήλθαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα (AMM, GM) σε σχέση με τους μάρτυρες (AMX, GX) των αντίστοιχων αγροτεμαχίων (Γράφημα 18). Η διαφορά μπορεί να μην αποτυπώνεται ως σημαντική μετά τη στατιστική επεξεργασία όμως παρατηρείται μια τάση αύξησης της έντασης του χρώματος εφαρμόζοντας προανθικό ξεφύλλισμα. Στο δεύτερο χρωματικό χαρακτηριστικό, την απόχρωση (Γράφημα 19), τα αποτελέσματα είναι αντίστροφα στα δύο αγροτεμάχια και για αυτό τον λόγο δεν μπορεί να προκύψει κάποιο ασφαλές συμπέρασμα.

Όσον αφορά τον δείκτη φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ), τα αποτελέσματα είναι προς την ίδια κατεύθυνση και στα δύο αγροτεμάχια με τις τιμές να είναι αυξημένες στους οίνους που προήλθαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα σε σχέση με τους οίνους – μάρτυρες (Γράφημα 20). Παρόμοια είναι τα αποτελέσματα που προέκυψαν στην ανάλυση των ολικών ανθοκυανών (Γράφημα 22) όπου υπήρξαν αυξημένες τιμές στους οίνους που προήλθαν από την επέμβαση του προανθικού ξεφυλλίσματος (AMM, GM) σε σχέση με τις τιμές που είχαν οι οίνοι – μάρτυρες (AMX, GX). Συνεκτιμώντας τον ΔΦΟ και τις ολικές ανθοκυάνες μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η επέμβαση του προανθικού ξεφυλλίσματος είναι δυνατό να οδηγήσει σε αύξηση του φαινολικού δυναμικού αλλά και των ολικών ανθοκυανών στους οίνους. Αυτό ως συμπέρασμα μπορεί να θεωρείται αρνητικό για μια ποικιλία όπως η Μανδηλαριά, με υψηλό φαινολικό δυναμικό η οποία παράγει ισχυρά στυπτικούς οίνους, δεν παύει όμως να είναι θετική η αύξηση του φαινολικού δυναμικού για την πλειονότητα των ελληνικών ερυθρών ποικιλιών όπου παρουσιάζουν σχετικά χαμηλό φαινολικό δυναμικό. Σε μελλοντικό επίπεδο θα μπορούσαν να εξεταστούν μια σειρά από τέτοιες ποικιλίες έτσι ώστε να φανεί αν το προανθικό ξεφύλλισμα μπορεί να παγιωθεί ως μια καλλιεργητική τεχνική αύξησης του φαινολικού δυναμικού.

Αναλύοντας εις βάθος τα μονομερή των ανθοκυανών (μαλβιδίνη, δελφινιδίνη, κυανιδίνη, παιονιδίνη, πετουνιδίνη) παρατηρείται μια αυξητική τάση στα περισσότερα μονομερή στους οίνους από τις επεμβάσεις σε σχέση με τους αντίστοιχους οίνους-μάρτυρες. Στα υπόλοιπα δεν παρουσιάζονται διαφοροποιήσεις ανάμεσα σε AMX – AMM και GX – GM.

Ανακεφαλαιώνοντας, τα πιο σημαντικά σημεία στα οποία επιδρά το προανθικό ξεφύλλισμα στα σταφύλια αποδεικνύεται ότι είναι το μέσο βάρος της σταφυλής (μικρότερα και αραιόραγα τσαμπιά) και η μείωση στο ποσοστό (%) της συνεισφοράς των ταννινών των γιγάρτων στο σύνολο των φαινολικών συστατικών. Στους οίνους που προκύπτουν από την ζύμωση των σταφυλιών, φαίνεται να επιδρά στη συγκέντρωση των ανθοκυανών αλλά και σε όλα τα μεγέθη που αφορούν φαινολικά συστατικά (ΔΦΟ, ταννίνες BSA, ταννίνες MCP).

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1. ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Adams, D. O., & Scholz, R. C. (2007, July). Tannins—the problem of extraction. In Proceedings of the 13th Australian wine industry technical conference (pp. 160-164). Urrbrae, SA, Australia: Australian Wine Industry Technical Conference.

Amrani Joutei K, Glories Y, Mercier M (1994) Localization of tannins in grape berry skins. *Vitis* 33(3):133–138

Bavaresco, L., Gatti, M., Pezzutto, S., Fregoni, M., Mattivi, F. (2008). Effect of leaf removal on grape yield, berry composition, and stilbene concentration. *American Journal Of Enology And Viticulture*, 59 (3): 292-298.

Berli, F. J., Moreno, D., Piccoli, P., Hespanhol-Viana, L., Silva, M. F., Bressan-Smith, R., ... Bottini, R. (2009). Abscisic acid is involved in the response of grape (*Vitis vinifera*L.) cv. Malbec leaf tissues to ultraviolet-B radiation by enhancing ultraviolet-absorbing compounds, antioxidant enzymes and membrane sterols. *Plant, Cell & Environment*.

Chen, C., Yuan, Y., Zhang, C., Li, H., Ma, F., & Li, M. (2017). Sucrose phloem unloading follows an apoplastic pathway with high sucrose synthase in *Actinidia* fruit. *Plant Science*, 255, 40–50.

Celik, H., Agaoglu, Y.S., Fidan, Y., Marasali, B. and Soylemezoglu, C. (1998). *General Viticulture*. Professional Books Series, Ankara, 1: 1-253.

Cerpa-Calderón, F. K., & Kennedy, J. A. (2008). Berry Integrity and Extraction of Skin and Seed Proanthocyanidins during Red Wine Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 9006–9014.

Cheynier, V., Prieur, C., Guyot, S., Rigaud, J. & Moutounet, M. (1997). The structures of tannins in grapes and wines and their interactions with proteins. In: *Wine: Nutritional and Therapeutic Benefits*, Vol. 661. (Eds. T.R. Watkins) Washington, DC: American Chemical Society, 81–93.

Constantinou, S., Gómez-Caravaca, A. M., Goulas, V., Fernandez-Gutierrez, A., Koundouras, S., & Manganaris, G. A. (2018). Leaf removal at veraison stage differentially affects qualitative attributes and bioactive composition of fresh and dehydrated grapes of two indigenous cultivars of Cyprus. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

Coombe, BG, & Bishop, GR. (1980). Development of the grape berry. II. Changes in diameter and deformability during veraison. *Australian Journal of Agricultural Research*, 31(3), 499-509.

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

- Eynard, I. & Gay, G. (1992). Yield and quality. In: Proceedings of the 8th Australian Industry and Technical Conference, Melbourne, Australia, 54-63.
- Feng, H., Skinkis, P. A., & Qian, M. C. (2017). Pinot noir wine volatile and anthocyanin composition under different levels of vine fruit zone leaf removal. *Food Chemistry*, 214, 736–744.
- Feng, H., Yuan, F., Skinkis, P. A., & Qian, M. C. (2015). Influence of cluster zone leaf removal on Pinot noir grape chemical and volatile composition. *Food Chemistry*, 173, 414–423.
- Fournand, D., Vicens, A., Sidhoum, L., Souquet, J.M., Moutounet, M. & Cheynier, V. (2006). Accumulation and extractability of grape skin tannins and anthocyanins at different advanced physiological stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7331–7338.
- Gregan, S. M., Wargent, J. J., Liu, L., Shinkle, J., Hofmann, R., Winefield, C., ... Jordan, B. (2012). Effects of solar ultraviolet radiation and canopy manipulation on the biochemical composition of Sauvignon Blanc grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(2), 227–238.
- 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.
- Hanlin, R.L. and Downey, M.O. (2009) Condensed tannin accumulation and composition in skin and Cabernet Sauvignon grapes during berry development. *American Journal of Enology and Viticulture* 60 (1), 13–23.
- 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.
- Hazak, J. C., Harbertson, J. F., Lin, C. H., Ro, B. H., & Adams, D. O. (2005). The Phenolic Components of Grape Berries in Relation to Wine Composition. *Acta Horticulturae*, (689), 189–196.
- Hemingway, R. W. (1998). *Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action* By Edwin Haslam (University of Sheffield). Cambridge University Press, New York, NY. 1998. *Journal of Natural Products*, 61(11), 1454–1455.
- Intrieri, C., Filippetti, I., Allegro, G., Centinari, M., & Poni, S. (2008). Early defoliation (hand vs mechanical) for improved crop control and grape composition in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(1), 25–32.
- Intrigliolo, D. S., Llacer, E., Revert, J., Esteve, M. D., Climent, M. D., Palau, D., & Gómez, I. (2014). Early defoliation reduces cluster compactness and improves grape composition in Mandó, an autochthonous cultivar of *Vitis vinifera* from southeastern Spain. *Scientia Horticulturae*, 167, 71–75.

- Kallithraka S., Adel Abdel Azeem M., Makris D.P., Kefalas P. (2005) Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 18:375-386
- Kennedy, J. A., Matthews, M. A., & Waterhouse, A. L. (2000). Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochemistry*, 55(1), 77–85.
- Ollat N., Gaudillere J.P. (1998). The effect of limiting leaf area during stage I of berry growth on development and composition of berries of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture* 49, 251-258.
- Percival D.C., Fisher K.H., Sullivan J.A. (1994). Use of fruit zone leaf removal with *Vitis vinifera* L. cv. Riesling grapevines. II. Effect on fruit composition, yield, and occurrence of bunch rot (*Botrytis cinerea* Pers.:Fr.). *Am. J. Enol. Vitic.*, 45, 133-140.
- Poni, S., Bernizzoni, F., Civardi, S. (2008). The effect of early leaf removal on whole-canopy gas exchange and vine performance of *Vitis vinifera* L. 'Sangiovese'. *Vitis*, 47 (1), 1-6.
- Poni, S., & Intrieri, C. (2001). Grapevine photosynthesis: effects linked to light radiation and leaf age. *Advances in Horticultural Science*, 15(1/4), 5–15.
- Ribereau-Gayon P., Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, (2006), *Handbook of Enology*. 2nd Edition. Wiley publications
- Sivilotti, P., Falchi, R., Herrera, J. C., Škvarč, B., Butinar, L., Sternad Lemut, M., ... Vanzo, A. (2017). Combined Effects of Early Season Leaf Removal and Climatic Conditions on Aroma Precursors in Sauvignon Blanc Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(38), 8426–8434.
- 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.
- Smith, P. (2009). Measuring tannins in grapes and red wine using the MCP (methyl cellulose precipitable) tannin assay.
- Song, J., Smart, R., Wang, H., Damberg, B., Sparrow, A., & Qian, M. C. (2015). Effect of grape bunch sunlight exposure and UV radiation on phenolics and volatile composition of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir wine. *Food Chemistry*, 173, 424–431.
- Spayd, S., Tarara, J., Mee, D., & Ferguson, J. (2002). Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *American journal of enology and viticulture*, 53, 171-182.

Tardáguila, J., Diago, M. P., Martínez de Toda, F., Poni, S., & Vilanova, M. (2008). Effects of timing of leaf removal on yield, berry maturity, wine composition and sensory properties of cv. Grenache grown under non irrigated conditions. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 42(4): 221-229

Waterman PG., Mole S. (1994). *Analysis of phenolic plant metabolites*. Oxford : Blackwell Scientific Publ, 83-91

Weaver, R. J. (1976). *Grape growing*. John Wiley & Sons.

Wermelinger B: Nitrogen Dynamics in Grapevine. *Physiology and Modeling. Proc. Int. Symp. Nitrogen in grape and wines, Seattle WA, USA (Ed J. M. Rantz) 1999 pp23-31*

Zoecklein P.W., Wolf T.K., Duncan N.W., Judge J.M., Cooke M.K. (1992). Effects of fruit zone leaf removal on yield, fruit composition and fruit rot incidence of Chardonnay and White Riesling (*Vitis vinifera* L.) grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*: 43, 139-148

5.2. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Σταυρακάκης, Μανόλης (2010). *Αμπελογραφία Εκδόσεις Τροπή*

Τσακίρης, Αργύρης (1998). *Οινολογία: από το σταφύλι στο κρασί*

Χατζάκος, Δημήτριος (2004) *Επιδράσεις και διαφορές του κορφολογήματος σε ορισμένες ποικιλίες σταφυλιών*. BSc thesis, TEI Δυτικής Μακεδονίας.