



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΤΟΜΕΙΣ ΑΙΧΜΗΣ ΚΑΙ ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ  
& ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΟΠΩΡΟΚΗΠΕΥΤΙΚΩΝ & ΑΝΘΟΚΟΜΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Επίδραση διαφυλλικών επεμβάσεων καολίνη στα ποιοτικά & ποσοτικά  
χαρακτηριστικά ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) σε αμπελώνες  
της Σαντορίνης κατά το έτος 2021

**Ελένη Θ. Ριζοπούλου**

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Αικατερίνη Μπινιάρη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

**ΑΘΗΝΑ  
2024**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΛΟΓΙΑΣ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Επίδραση διαφυλλικών επεμβάσεων καολίνη στα ποιοτικά & ποσοτικά χαρακτηριστικά ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) σε αμπελώνες της Σαντορίνης κατά το έτος 2021

“Effect of folliar applications of kaolin on the qualitative & quantitative characteristics of grape varieties (*Vitis vinifera* L.) in the vineyards of Santorini during the year 2021”

**Ελένη Θ. Ριζοπούλου**

Εξεταστική Επιτροπή:

Αικατερίνη Μπινιάρη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α. (επιβλέπουσα)

Μαριτίνα Σταυρακάκη, Επίκουρη Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Ιωάννης Παπαδάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α.

## **Επίδραση διαφυλλικών επεμβάσεων καολίνη στα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) σε αμπελώνες της Σαντορίνης κατά το έτος 2021**

*ΠΜΣ Τομείς Αιχμής & Καινοτόμες Εφαρμογές στην Παραγωγή & Συντήρηση*

*Οπωροκηπευτικών & Ανθοκομικών Ειδών*

*Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής*

*Εργαστήριο Αμπελολογίας*

### **Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Η**

Στα αμπελοτόπια της Σαντορίνης, η καλλιέργεια των τοπικών ποικιλιών αμπέλου υπό τις επικρατούσες κλιματικές συνθήκες της νήσου, αποτελεί μια πρόκληση για τους αμπελουργούς. Δυνατοί άνεμοι, υψηλές θερμοκρασίες και καύσωνες, ξηρασία είναι κάποιες δυσμενείς συνθήκες που καλούνται να αντιμετωπίσουν, πόσο μάλλον υπό την εξέλιξη της κλιματικής αλλαγής, φαινόμενο το οποίο εντείνει αυτές τις αντιξοότητες. Έτσι, η ανάγκη των καλλιεργητών και της γεωπονικής επιστήμης να προσαρμοστούν στα νέα αυτά δεδομένα αλλά και να παρέχουν ολοκληρωμένη φυτοπροστασία κατά την πορεία της ανάπτυξης των πρέμνων και των σταφυλιών, οδήγησε σε καινοτόμες πρακτικές. Μια τέτοια πρακτική είναι οι διαφυλλικές εφαρμογές με καολίνη, ένα φυσικό αργιλοπυριτικό ορυκτό. Οι διαφυλλικές εφαρμογές με καολίνη έχει φανεί να παρέχουν αποτελεσματική προστασία από το εκτεταμένο ηλιακό φως και κατ' επέκταση, μείωση του στρες και της υδατικής καταπόνησης και άλλα πλεονεκτήματα. Η παρούσα μελέτη διερεύνησε την επίδραση του διαφυλλικού ψεκασμού με καολίνη ως προς το αν εξασφαλίζει την παραγωγή σταφυλιών με ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά καθώς και πώς επηρεάζονται τα συστατικά της ράγας. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε την περίοδο του τρύγου 2021, στην Οία της Σαντορίνης στο κτήμα Σιγάλα, σε πρέμνα της ποικιλίας Ασύρτικο σε δύο συστήματα μόρφωσης (μονόπλευρο Guyot και το παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης 'κουλούρα') και της ποικιλίας Μαυροτράγανο μορφωμένο σε αμφίπλευρο Guyot. Για κάθε μεταχείριση υπήρχαν και οι αντίστοιχοι μάρτυρες, δείγματα δηλαδή από μη ψεκασμένα πρέμνα. Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν εξέτασαν τα εξής: χαρακτηριστικά σταφυλής και ράγας (βάρος, μήκος, πλάτος, υγρασία, αναλογία φλοιού-γιγάρτων-σάρκας κλπ), το γλυκογραφικό προφίλ του γλεύκους των δειγμάτων και το φαινολικό προφίλ των σταφυλιών. Η γενική εικόνα είναι ότι ο καολίνης ευνόησε την ανάπτυξη της ράγας σε μέγεθος και βάρος για τα δύο Ασύρτικα και για το Μαυροτράγανο και προώθησε περισσότερο την ανάπτυξη για τα δυο Ασύρτικα. Σημαντικά υψηλότερες περιεκτικότητες σε οξέα και σάκχαρα επέφερε η χρήση καολίνη, στο παραδοσιακό Ασύρτικο και βοήθησε στην ανάπτυξη ανθοκυανών στους φλοιούς του Μαυροτράγανου. Ανεβασμένη ήταν και η αντιοξειδωτική ικανότητα των φλοιών Μαυροτράγανου. Οι ταννίνες ήταν επίσης

περισσότερες στα γίγαρτα Μαυροτράγανου και γραμμικού Ασύρτικου. Κατά τα άλλα, οι τιμές των υπόλοιπων φαινολικών ενώσεων (φλαβόνες, φλαβανόνες, φλαβονόλες, ταννίνες φλοιών κλπ) είναι υψηλότερες στους μάρτυρες ή οι διαφορές είναι μη στατιστικά σημαντικές.

**Επιστημονική περιοχή:** Αμπελουργία

**Λέξεις κλειδιά:** καολίνης, Σαντορίνη, Μαυροτράγανο, Ασύρτικο, φαινολικές ενώσεις, ωρίμανση ράγας

## **Effect of foliar applications of kaolin on the qualitative and quantitative characteristics of grape varieties (*Vitis vinifera* L.) in the vineyards of Santorini during the year 2021**

*MSc Top Sectors & Innovative Applications in Production & Maintenance of Fruit, Vegetables & Floriculture Species*  
*Faculty of Crop Science*  
*Laboratory of Viticulture*

### **A B S T R A C T**

In the vineyards of Santorini, the cultivation of the local grape varieties under the prevailing climatic conditions of the island, is a challenge for the winegrowers. Strong winds, high temperatures and heatwaves, drought are some of the adverse conditions they have to face, let alone under the evolution of climate change, a phenomenon which intensifies these adversities. Thus, the need for growers and agronomic science to adapt to these new data but also to provide integrated plant protection during the development of the vines and grapes, led to innovative practices. One such practice is the foliar applications with kaolin, a natural aluminosilicate mineral. Kaolin foliar applications have been shown to provide effective protection from extended sunlight and by extension, stress and water stress reduction and other benefits. The present study investigated the effect of kaolin foliar application on whether it ensures the production of grapes with qualitative and quantitative characteristics, and how it affects berry composition. The experiment was carried out during the 2021 harvest, in Oia, Santorini, at the Sigalas estate, on vines of grape cultivar Assyrtiko in two training systems (one-sided Guyot and the traditional “kouloura”) and vines of grape cultivar Mavrotragano trained in bilateral Guyot. For each treatment there were also the corresponding controls, i.e. samples from unsprayed vines. The measurements that were carried out examined the following: grape yield and grape characteristics (weight, length, width, moisture, skin-seeds-flesh ratio, etc.), the must profile of the samples and the phenolic profile of the grapes. In general, kaolin favored the growth of the grape in size and weight for the two Assyrtiko and for Mavrotragano and promoted the growth more for both training systems of Assyrtiko. The use of kaolin, in the traditional Assyrtiko, resulted in significantly higher contents of acids and sugars and helped the development of anthocyanins in the berry skins of Mavrotragano. The antioxidant capacity of Mavrotragano skins was also elevated. Tannins concentration was also higher in Mavrotragano and the one-sided Guyot Assyrtiko seeds. The values of the rest phenolic compounds (flavones, flavanones, flavonols, skin tannins, etc.) are higher in the controls or the differences are not statistically significant.

**Scientific area:** Viticulture

**Keywords:** kaolin, Santorini, Mavrotragano, Assyrtiko, phenolic compounds, grape growth

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η διεξαγωγή του συγκεκριμένου πειράματος, υπήρξε για εμένα ίσως η πιο ενδιαφέρουσα διαδικασία σε όλη την ακαδημαϊκή μου διαδρομή. Αυτό γιατί 1<sup>ο</sup> το αντικείμενο είναι συναρπαστικό και 2<sup>ο</sup> οι άνθρωποι που στελεχώνουν το Εργαστήριο Αμπελολογίας είναι εξαιρετικοί για να δουλεύεις μαζί μας, να σου μεταδίδουν μας γνώσεις μας και να σε καθοδηγούν κατά τη διάρκεια μας πορείας σου. Επιπλέον είναι εξαιρετικοί επιστήμονες. Έτσι θα ήθελα να ευχαριστήσω προσωπικά τον καθένα, την κα Κατερίνα Μπινιάρη που με δέχθηκε στο Εργαστήριο για να πραγματοποιήσω αυτή τη μελέτη. Την ίδια και την κα Δέσποινα Μπούζα που υπήρξαν φοβερές καθηγήτριες στα μαθήματα αμπελουργίας του μεταπτυχιακού (αλλά και του προπτυχιακού). Ακόμη, τεράστιο «ευχαριστώ» στην Μαριτίνα Σταυρακάκη για την καθοδήγηση κατά την συγγραφή μας εργασίας μου και τον θαυμασμό μου για την αγάπη μας για το αντικείμενο. Ευχαριστώ πολύ τον Γιάννη Δασκαλάκη για την ατελείωτη υπομονή του κατά τη διεξαγωγή του πειράματος και την βοήθειά του καθ' όλη τη διάρκεια αυτών των μηνών. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον καθηγητή μου κ. Ιωάννη Παπαδάκη από το Εργαστήριο Δενδροκομίας, για μας γνώσεις που μας προσέφερε στο μάθημά μας στο μεταπτυχιακό και να απευθύνω το σεβασμό μου για το ζήλο που επεδείκνυε στη διδασκαλία του μαθήματος.

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	7
1.1 Η Σαντορίνη και τα αμπελοτόπια της .....	8
1.2 Τα παραδοσιακά Συστήματα Μόρφωσης της Σαντορίνης .....	9
1.3 Αμπελουργία στη Σαντορίνη εν μέσω Κλιματικής Αλλαγής .....	11
1.4 Καολίνης .....	12
<b>2. Η ΡΑΓΑ ΤΟΥ ΣΤΑΦΥΛΙΟΥ</b> .....	15
2.1 Ανάπτυξη και ωρίμανση.....	15
2.2 Μορφολογία της ράγας.....	16
2.3 Τα συστατικά της ράγας.....	18
2.3.1 Φαινολικές Ενώσεις: .....	19
2.3.2 Σάκχαρα.....	29
2.3.3 Οξέα.....	29
<b>3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b> .....	33
3.1 Σχεδιασμός Πειράματος.....	33
3.1.1 Πειραματικός Αμπελώνας .....	33
3.1.2 Γνωρίζοντας τις ποικιλίες.....	33
3.2 Σκοπός Πειράματος.....	35
3.3 Αμπελοκαλλιέργεια και Τρύγος, κλιματολογικές συνθήκες στη Σαντορίνη την περίοδο 2021.....	36
3.4 Μεταχειρίσεις-Δειγματοληψία .....	37
3.5 Συλλογή δειγμάτων .....	37
3.6 Μετρήσεις σταφυλών .....	38
3.7 Μετρήσεις ραγών.....	38
<b>4. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΩΝ ΓΛΕΥΚΟΥΣ</b> .....	39
4.1 Ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα.....	39
4.2 Ενεργός οξύτητα.....	40
4.3 Προσδιορισμός σακχάρων .....	40
4.4 HPLC: Μεμονομένα Οξέα - Μεμονομένα Σάκχαρα του γλεύκους.....	41
<b>5. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ-ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΦΛΟΙΩΝ ΚΑΙ ΓΙΓΑΡΤΩΝ</b> .....	44
5.1 Προσδιορισμός μεμονωμένων ανθοκυανών με HPLC.....	45
5.2 Μέτρηση ολικών φλαβονοειδών ενώσεων με τη μέθοδο του χλωριούχου αργιλίου (AlCl <sub>3</sub> ) .....	47

5.3 Μέτρηση ολικών флаβονών και флаβονολών με τη μέθοδο του χλωριούχου αργιλίου (AlCl <sub>3</sub> ) .....	48
5.4 Μέτρηση των ολικών флаβανολών με τη μέθοδο της 4- διμεθυλ-αμμινοκινναμωμική αλδεΐδη (4- DMACA) .....	49
5.5 Μέτρηση ολικών ορθοδιφαινολών με τη μέθοδο Roussos και Pontikis .....	50
5.6 Προσδιορισμός ολικών ανθοκυανών (των φλοιών Μαυροτράγανου) και ολικών φαινολικών ενώσεων (Μαυροτράγανο-Ασύρτικο) με τη μέθοδο ILAND.....	52
5.7 Μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών με τη μέθοδο μεθυλικής κυτταρίνης (methyl cellulose).....	53
5.8 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο αντιοξειδωτική ισχύς αναγωγής τρισθενούς σιδήρου (FRAP).....	55
5.9 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH.....	57
<b>6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ</b> .....	59
<b>7.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b> .....	60
7.1 Μηχανικές αναλύσεις σταφυλής και ράγας .....	60
7.3 Μετρήσεις HPLC .....	64
7.4 Φασματοφωτομετρικές Αναλύσεις.....	67
<b>8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	77
<b>9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	82



## 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Είναι παραπάνω από βέβαιο πως η οиноφόρος άμπελος (*Vitis vinifera* L.) καλλιεργήθηκε εντατικά για πρώτη φορά στις ακτές της Αν. Μεσογείου και κυρίως στην Ελλάδα. Κατά μία εκδοχή ήρθε από τον Καύκασο μαζί με τα πρώτα φύλα των Αχαιών. Κατά τον ιστορικό Θεόπομπο, η άμπελος βρέθηκε στην Ολυμπία κοντά στον Αλφειό ποταμό. Κατά τον λογογράφο Εκαταίο τον Μιλήσιο (515-475 π.Χ.) η άμπελος βρέθηκε στην Αιτωλία. Σε κάθε περίπτωση το αμπέλι και το προϊόν του λατρεύτηκε και θεοποιήθηκε στην Αρχαία Ελλάδα και από τις μαρτυρίες που υπάρχουν βρισκόταν μέσα σε κάθε έκφανση της δημόσιας ή ιδιωτικής ζωής. Υπάρχει μια διαφωνία διεθνώς για το ποιος συνέλαβε πρώτος την έννοια του επίλεκτου κρασιού, με τα ειδικά χαρακτηριστικά του τοπικού μικροκλίματος. Οι Γάλλοι προβάλλουν υπερήφανοι τα Chateaux του Μπορντό και τα Clos της Βουργουνδίας. Με το τέλος του αρχαίου κόσμου αρχίζει και η οινοποιία στην Ελλάδα να παρακμάζει. Οφείλεται οπωσδήποτε στις κοινωνικές συνθήκες αλλά και στο γεγονός πως η Ελλάδα είναι ένα στρατηγικό σταυροδρόμι που δέχεται άπειρες επιδρομές και εισβολές. Μετά τον μεσαίωνα έρχεται η τουρκική κατοχή και η οινοποιία πέφτει γενικά σε χειμερία νάρκη, ενώ είναι κάτι που γίνεται αποκλειστικά σε οικιακό επίπεδο. Από την απελευθέρωση και μετά τα πράγματα αρχίζουν κάπως και «κουνιούνται».

Φτάνοντας στο «σήμερα», όσον αφορά την αμπελοκαλλιέργεια, η Ελλάδα είναι μια μικρή οινική χώρα, με συνολικά περίπου 64.000 στρέμματα αμπελώνων που προορίζονται για την παραγωγή κρασιού. Υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ελαφριάς αύξησης στο εγγύτερο μέλλον, αλλά ο αριθμός αυτός είναι σχετικά σταθερός τα τελευταία χρόνια. Αυτό, παράλληλα με το γεγονός ότι το μεγαλύτερο μέρος του κρασιού καταναλώνεται εντός της χώρας, είτε από τους ντόπιους είτε από το πλήθος των τουριστών που επισκέπτονται κάθε χρόνο τους τουριστικούς προορισμούς, σημαίνει ότι μόνο ένα μικρό μέρος της συνολικής παραγωγής βρίσκει το δρόμο της προς τις εξαγωγικές αγορές. Η μέση ετήσια παραγωγή το 2020 και το 2021 ήταν 2,3 και 1,7 εκατομμύρια εκατόλιτρα αντίστοιχα, γεγονός που κατατάσσει την Ελλάδα ως τη 17η μεγαλύτερη οινοπαραγωγική χώρα (για το 2020) στον κόσμο. Το 2021 οι οίνοι ΠΟΠ αντιπροσώπευαν το 9,5% της συνολικής οινοπαραγωγής, ενώ οι οίνοι ΠΓΕ το 23,5%. Η Ελλάδα παράγει περισσότερο λευκό από κόκκινο κρασί, με το τελευταίο να αντιπροσωπεύει μόλις το ένα τρίτο της συνολικής παραγωγής. Ένα εντυπωσιακό 90% των φυτεύσεων αποτελείται από το πλούσιο απόθεμα της χώρας σε αυτόχθονες ποικιλίες σταφυλιού. Στην κορυφή της λίστας βρίσκεται το λευκό σταφύλι Σαββατιανό και ακολουθεί ο ερυθρωπός Ροδίτης. Το Αγιωργίτικο είναι η πιο πολυφυτεμένη ερυθρή ποικιλία οινοποιίας και τρίτη συνολικά και ακολουθούν το Λιάτικο, το Ξινόμαυρο, το Μοσχάτο Αμβούργου και το Ασύρτικο. Το Cabernet

Sauvignon και το Merlot είναι οι δύο πιο δημοφιλείς διεθνείς ποικιλίες αμπέλου στον ελληνικό αμπελώνα.

### **1.1 Η Σαντορίνη και τα αμπελοτόπια της**

Η Σαντορίνη (36.3932° Β, 25.4615° Α) είναι ένα νησί που ανήκει στο ενεργό ηφαιστειακό σύμπλεγμα στις Κυκλάδες (Ελλάδα), με έκταση 79,16 km<sup>2</sup>, εκ των οποίων σήμερα τα 942 στρέμματα καλύπτονται από καλλιεργούμενους αμπελώνες. Το έδαφος στο οποίο καλλιεργούνται τα αμπέλια σχηματίστηκε από την ηφαιστειακή έκρηξη που σημειώθηκε γύρω στο 1630 π.Χ. Αν και ο ασβεστόλιθος είναι εξέχων στο νοτιοανατολικό τμήμα του νησιού, το έδαφος στους αμπελώνες είναι κυρίως αμμώδες και βραχώδες και αποτελείται από ελαφρόπετρα, λάβα και πυροκλαστικά υλικά.

Η Σαντορίνη έχει μεσογειακό κλίμα, με ήπιους χειμώνες, χαμηλές βροχοπτώσεις και δροσερές ανοιξιάτικες εποχές που χαρακτηρίζονται από θαλάσσια αύρα από τις αρχές Μαΐου έως τα τέλη του καλοκαιριού. Η θαλάσσια αύρα εμφανίζεται τις ζεστές μέρες, αποτρέποντας την εξάπλωση μυκητολογικών ασθενειών στα αμπέλια. Ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης των αμπελιών, οι ισχυροί άνεμοι μπορεί επίσης να είναι καταστροφικοί, ειδικά όταν τα αμπέλια βρίσκονται στα πρώτα τους στάδια ανάπτυξης, με αποτέλεσμα την πτώση της απόδοσης σε καρπούς. Το καλοκαίρι και τις περιόδους της συγκομιδής, οι καιρικές συνθήκες είναι ακραίες: υψηλές θερμοκρασίες (κατά μέσο όρο 3 ημέρες κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, θερμοκρασίες > 35 °C παρατηρήθηκαν για την περίοδο 2009–2019), καύσωνες (που εμφανίστηκαν συχνά κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού) και μεγάλες περιόδους ξηρασίας. Πρόκειται για κλιματικά φαινόμενα που επηρεάζουν την απόδοση, την ανάπτυξη και τη σύνθεση των καρπών όσο και τα αρωματικά προφίλ που διαμορφώνονται στους παραγόμενους οίνους. Ωστόσο, το φαινόμενο της «Ανέδοσσας», ενός τύπου θαλάσσιας ομίχλης που εμφανίζεται τη νύχτα και διαρκεί μέχρι νωρίς το πρωί, προσφέρει κάποια ανακούφιση στα αμπέλια, καθώς αποτελεί τη μόνη διαθέσιμη μορφή υγρασίας κατά την ξηρή καλοκαιρινή περίοδο. Η μέση ετήσια βροχόπτωση και η μέση θερμοκρασία του αέρα κατά τη διάρκεια του Μαρτίου έως του Αυγούστου από το 2009 έως το 2019 ήταν 326 mm και 22,01 °C αντίστοιχα (μέγιστη: 24,96 °C, ελάχιστη: 18,55 °C). Επιπλέον, η περίοδος των βροχών διήρκεσε από τον Οκτώβριο έως τον Απρίλιο.

Τα καλλιεργούμενα πρέμνα δεν είναι εμβολιασμένα, γεγονός που οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στο ηφαιστειακό έδαφος του νησιού που εμποδίζει την προσβολή των ριζών από τη φυλλοξήρα. Ως εκ τούτου, οι αμπελώνες της Σαντορίνης είναι από τους

λίγους προφυλλοξηρικούς αμπελώνες στην Ευρώπη, όπου η ηλικία των αμπελιών υπερβαίνει γενικά τα 70 έτη και σε ορισμένες περιπτώσεις τα 100 έτη.

Επιπλέον, οι πετρόχτιστες κατασκευές, οι λεγόμενες «βεράντες» (όπου διαμορφώνονται οι αμπελώνες στη Σαντορίνη) παρέχουν προστασία από τη διάβρωση του εδάφους, διατηρώντας το περιορισμένο νερό της βροχής και μειώνοντας την επίδραση της υψηλής ταχύτητας ανέμου. Δύο μοναδικά συστήματα μόρφωσης που ονομάζονται «Κουλούρα» (σε σχήμα καλάθιού) και «Κλαδεύτικο» (όπως ένας θάμνος), έχουν εφαρμοστεί εδώ και αιώνες βοηθώντας τα αμπέλια να αντέξουν τις ακραίες μακροχρόνιες κλιματικές συνθήκες και τις διακυμάνσεις ανά έτος.

Οι κύριες καλλιεργούμενες ποικιλίες αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) στο νησί είναι το Ασύρτικο, το Αηδάνι και το Αθήρι (λευκές ποικιλίες) και η Μανδηλαριά και το Μαυροτράγανο (ερυθρές). Επιπλέον, υπάρχουν άλλες σαράντα εννέα ποικιλίες, που οι ντόπιοι ονομάζονται γενικά «Ξενόλοα», οι οποίες καλλιεργούνται αραιά, διάσπαρτες ανάμεσα στις κύριες ποικιλίες της Σαντορίνης σε όλο το νησί. Το μακρό κλάδεμα με αμολυτή χρησιμοποιείται για το Ασύρτικο που καλλιεργείται στα συστήματα «Κουλούρα» ή «Κλαδεύτικο», επειδή οι οφθαλμοί της βάσης των κληματίδων της ποικιλίας δεν είναι συνήθως γόνιμοι.

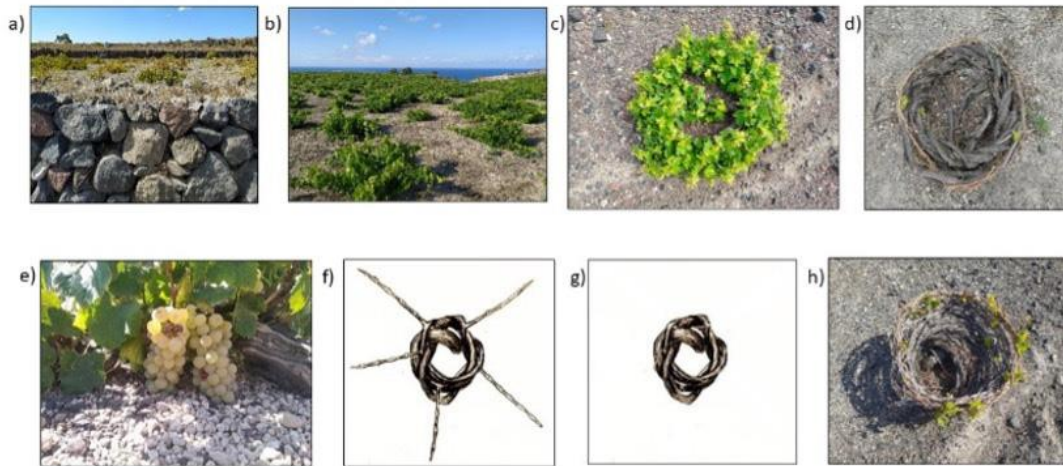
## 1.2 Τα παραδοσιακά Συστήματα Μόρφωσης της Σαντορίνης

### «Κουλούρα»

Καθώς θυμίζει καλάθι, οι ντόπιοι το αποκαλούν και «Καλάθι». Αποτελείται από περίπου 4-6 κληματίδες (κύριους βλαστούς της αμπέλου) που η κάθε μια φέρει 8-12 οφθαλμούς. Οι κλάδοι αυτοί υφαίνονται γύρω από το κυρίως σώμα του αμπελιού, σχηματίζοντας ένα μικρό καλάθι (Εικόνα 1). Το καλάθι δένεται κοντά στο χώμα σε ύψος 10–20 cm.

Αντίθετα, το «Νιάμπελο» ή το «Κουλούμπα» (τα καλάθια παλαιού τύπου) δημιουργούνται τυλίγοντας κληματίδες τρέχοντος ή έτους η σε καλάμια έτους η-1 (Εικόνα 1) και χρειάζονται αρκετά χρόνια για να κατασκευαστεί η δομή που μοιάζει με καλάθι. Αυτά τα παλαιού τύπου καλάθια υπάρχουν πλέον μόνο σε μικρούς αριθμούς διάσπαρτα στους αμπελώνες.

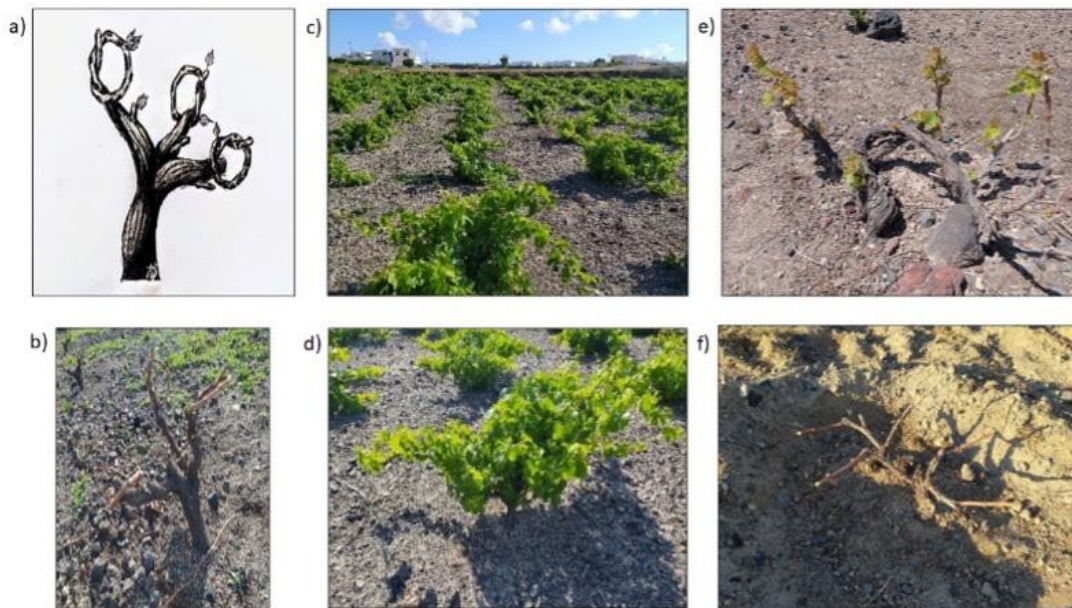
Κάτω από βέλτιστες συνθήκες, το σχήμα της «Κουλούρας» επιτρέπει στα σταφύλια να τοποθετηθούν μέσα στη δομή που μοιάζει με καλάθι (Εικόνα 1), ώστε τα σταφύλια να ωριμάζουν σταδιακά προστατευμένα από το φως του ήλιου και τους περιστασιακούς δυνατούς ανέμους και τις περιστασιακές αμμοβολές.



Εικόνα 1: Πέτρινες θεράντες Σαντορίνης (α) Σύστημα μόρφωσης «Κουλούρα» (b,c,d,f και g). σκιασμένο σταφύλι Ασύρτικου, σταφύλια τοποθετημένα κάτω από τα φύλλα (e). Σύστημα μόρφωσης «Κουλούμπα» (το παλιό καλάθι) (h). (Χυραφίς et al., 2021)

#### «Κλαδευτικό»

Το «Κλαδευτικό» είναι ένα σύστημα μόρφωσης όπου το αμπέλι μοιάζει με θάμνο. Επιτυγχάνεται με μικτές μεθόδους κλαδέματος. Τα ύψη των κορμών της αμπέλου κυμαίνονται από 20 έως 30 εκατοστά και τα κλαδευτήρια αφήνουν 3-5 παραγωγικές μονάδες ανά κλήμα με 8-10 οφθαλμούς η κάθε μία (αμολυτή) και ίσο αριθμό κεφαλών με δύο οφθαλμούς. Αυτές στη συνέχεια υφαίνονται γύρω από τους βραχίονες, σχηματίζοντας μικρά σχήματα που μοιάζουν με βραχιόλι που κρέμονται κάθετα πάνω από το έδαφος και ονομάζονται «κουλούρια» (Εικόνα 2). Το Κλαδευτικό δεν χρησιμοποιείται για όλες τις ποικιλίες που καλλιεργούνται στο νησί, καθώς οι βλαστοί των πρέμνων ορισμένων ποικιλιών είναι εύθραυστοι και δεν μπορούν να στριφτούν, κάτι που θα μπορούσε να εξηγήσει την επιτυχία στην εφαρμογή σε ποικιλίες όπως το Ασύρτικο που μπορεί να στριφτεί (Χυραφίς et al., 2021).



Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση (a) και γενική όψη (b, c και d) του συστήματος μόρφωσης «Κλαδεύτικο». Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα του συστήματος μόρφωσης (e και f) (Χυραφίς et al. 2021).

### 1.3 Αμπελουργία στη Σαντορίνη εν μέσω Κλιματικής Αλλαγής

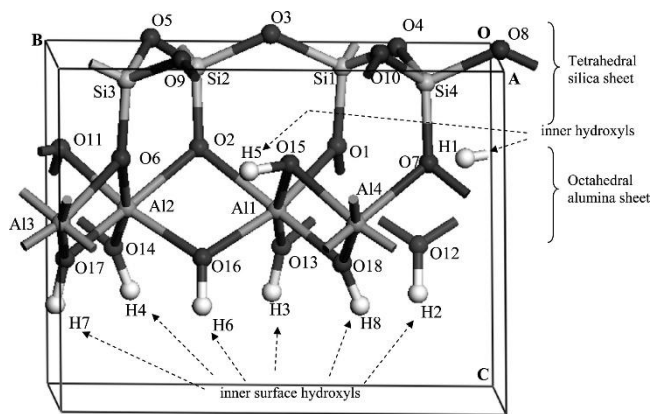
Η λεκάνη της Μεσογείου θεωρείται ως μια από τις πιο πληγείσες περιοχές του κόσμου από τις κλιματικές αλλαγές. Παραδοσιακά, η αμπελοκαλλιέργεια σε αυτή την περιοχή αντιμετωπίζει υψηλές θερμοκρασίες, κύματα καύσωνα και ξηρασία. Τέτοιες ιδιαίτερα ακραίες συνθήκες, που προκαλούν σοβαρό αβιοτικό στρες στα φυτά, αναμένεται να ενταθούν λόγω των προβλεπόμενων κλιματικών αλλαγών στο μέλλον. Η Σαντορίνη φαίνεται να μην αποτελεί εξαίρεση. Η αύξηση της θερμοκρασίας και της ηλιακής ακτινοβολίας, σε συνδυασμό με τη χαμηλή διαθεσιμότητα νερού, κατέστησαν απαραίτητη την ανάπτυξη και την εφαρμογή μεθόδων για την αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων της αμπέλου (Biniari et al., 2023). Η κλιματική αλλαγή μπορεί επηρεάζει δυνητικά τη σημαντική αμπελουργική περιοχή της Θήρας. Η άνοδος της θερμοκρασίας τις τελευταίες δεκαετίες, σε συνδυασμό με μείωση των βροχοπτώσεων και η διαθεσιμότητα νερού, οδηγούν σε αλλοιώσεις στο αμπέλι και τις φυσιολογικές του λειτουργίες, το οποίο με τη σειρά του επηρεάζει τους τα φαινολογικά στάδια, τις αποδόσεις και την ποιότητα του. Κατά μέσο όρο, η ετήσια θερμοκρασία αυξήθηκε κατά 3,8 °C τα τελευταία 45 έτη (μέση ετήσια αύξηση περίπου 0,06 °C) (Χυραφίς et al., 2022). Το νερό είναι ένας από τους κρίσιμους, μη ανανεώσιμους πόρους του κόσμου και η μεγαλύτερη παγκόσμια κατανάλωση γλυκού νερού καταναλώνεται στη γεωργία, με 48% στην Ευρώπη. Περίπου το 60% των αμπελιών καλλιεργείται σε ημίξηρες συνθήκες και επομένως σε πολλές αμπελουργικές περιοχές η κατανάλωση νερού ανά κλήμα (300–700 mm) είναι συχνά

υψηλότερη από τη μέση ετήσια βροχόπτωση. Η Σαντορίνη χαρακτηρίζεται από περιόδους ζέστης και ξηρασίας. Κατά τους καλοκαιρινούς μήνες, συνθήκες θερμικής καταπόνησης έχουν παρατηρηθεί σε υψηλές συχνότητες, μεταξύ Ιουνίου και Σεπτεμβρίου, φτάνοντας στο μέγιστο τον μήνα Ιούλιο, ακολουθούμενο από τον μήνα Αύγουστο, Ιούνιο και τέλος Σεπτέμβριο. Οι συχνότητες ισχυρής και πολύ ισχυρής θερμικής καταπόνησης (θερμοκρασίες υψηλότερες από 32°C) ξεπερνούν το 4,4% κατά τους καλοκαιρινούς μήνες, παρουσιάζοντας μέγιστο 7,6% τον Ιούλιο. Η Σαντορίνη παρουσιάζει στατιστικά σημαντική αυξητική τάση με ρυθμό 28,2 ώρες/δεκαετία κατά την περίοδο 1982-2019, η οποία συνάδει με τη συνεχιζόμενη υπερθέρμανση του πλανήτη, καθώς η περιοχή της Μεσογείου έχει αναγνωριστεί ως μία από τις πιο ευαίσθητες περιοχές στην κλιματική αλλαγή παγκοσμίως σε σχέση σε αυξημένο θερμικό κίνδυνο (Biniari et al., 2023).

#### 1.4 Καολίνης

Το όνομα του καολίνης προέρχεται από τον κινεζικό όρο "Kauling" που σημαίνει υψηλή κορυφογραμμή, το όνομα ενός λόφου κοντά στο Jauchau Fu της Κίνας, όπου εξορύχθηκε αυτό το υλικό πριν από αιώνες για κεραμικά. Το κύριο συστατικό, ο καολινίτης, είναι ένας ένυδρο πυριτικό αλουμίνιο της κατά προσέγγιση σύνθεσης  $2\text{H}_2\text{O}-\text{Al}_2\text{O}_3-2\text{SiO}_2$ . Δομικά, ο καολινίτης αποτελείται από οκταεδρικά φύλλα αλουμινίου και τετραεδρικά φύλλα πυριτίου τα οποία στοιβάζονται εναλλάξ σχηματίζοντας έναν τέλεια διατεταγμένο κρύσταλλο. Το σχήμα ενός τέλεια διατεταγμένου κρυστάλλου καολινίτη είναι ψευδοεξαγωνικό, αλλά το σχήμα μπορεί να κυμαίνεται από υψηλότερο βαθμό διάταξης (πχ διοκταεδρικό ) έως και την περίπτωση της ακαθόριστης μορφής κρυστάλλου όταν η διάταξη είναι ελλειπής (Prasad et al., 1990).

Κάθε στρώμα του καολινίτη  $[\text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8]$  περιέχει ένα φύλλο τετραέδρων  $\text{SiO}_4$  που σχηματίζει εξαμελείς πυριτικούς δακτυλίου που συνδέονται με το φύλλο οκτάεδρων  $\text{AlO}_6$  μέσω των κορυφαίων οξυγόνων. Δύο από τα υδρογόνα συνδέονται με τα μη κορυφαία ανώτερα οξυγόνα στα οκτάεδρα  $\text{AlO}_6$ . Τα άλλα έξι υδρογόνα συνδέονται με τα κατώτερα οξυγόνα στα οκτάεδρα  $\text{AlO}_6$ , σχηματίζοντας επίσης δεσμούς υδρογόνου με τα βασικά οξυγόνα στο πυριτικό φύλλο του επόμενου στρώματος (Εικόνα 3) (White et al., 2009).



Εικόνα 3 : Μόριο καολίνιτη 34 ατόμων που δείχνει το πυριτικό τετραεδρικό φύλλο, το οκταεδρικό φύλλο αλουμινίου και τις θέσεις υδροξυλίου (White et al. 2009).

### 1.4.1 Η χρήση του καολίνιτη στην αμπελοργία

Η εξωγενής εφαρμογή καολίνιτη στα αμπέλια έχει δείξει μεγάλη δυναμική ως στρατηγική μετριασμού του καλοκαιρινού στρες καθώς επηρεάζει θετικά την ποιότητα των καρπών ως αποτέλεσμα πολλών μοριακών και βιοχημικών αλλαγών. Τα αποτελέσματα της μελέτης των Bernardo et al. (2017) έδειξαν ότι η δραστηριότητα των βασικών ενζύμων του κύκλου ασκορβικού-γλουταθειόνης ενισχύθηκε σε φυτά που έχουν υποστεί επεξεργασία με καολίνιτη, το οποίο μεταφράζεται σε λιγότερο οξειδωτική βλάβη στους ιστούς των φύλλων και των σταφυλιών (χαμηλότερα επίπεδα  $H_2O_2$  και υπεροξειδωση λιπιδίων). Τα αποτελέσματα έδειξαν επίσης ότι η μεθυλίωση του DNA, η οποία φαίνεται να διεγείρεται από τις σκληρές περιβαλλοντικές συνθήκες, μειώθηκε στα φύλλα των φυτών που είχαν υποστεί επεξεργασία με καολίνιτη (Bernardo et al., 2017). Ακόμη η μεταβολομική ανάλυση με ανάστροφης φάσης LC-QTOF-MS επιβεβαίωσε αρκετές μεταβολές που προκαλούνται από τη χρήση καολίνιτη στον αμπελώνα, συμπεριλαμβανομένης μιας σημαντικής αύξησης των ποσοτήτων αρκετών δευτερογενών μεταβολιτών, συμπεριλαμβανομένων των φλαβονοειδών και των ανθοκυανινών στα τελευταία στάδια ωρίμανσης των ραγών, πιθανώς ως αποτέλεσμα όπως γενικής διέγερσης των οδών φαινυλοπροπανοειδών και φλαβονοειδών (Conde et al. 2016). Γενικά η καολίνιτη επιδρά στα χαρακτηριστικά του γλεύκους και της σταφυλής (ολικά σάκχαρα, ογκομετρούμενη οξύτητα και pH) και αυτή η επιρροή σχετίζεται με τη ποικιλία. Πιο συγκεκριμένα η επέμβαση με καολίνιτη δείχνει να καθυστερεί την ωρίμανση σε ποικιλίες όπως το Cabernet Sauvignon, ενώ σε άλλες όπως το Merlot και το Viognier να μην έχει καμία επίδραση (Glenn et al., 2010).

Επίσης η χρήση καολίνιτη δείχνει θετική συνεισφορά στην αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών της αμπέλου. Στη μελέτη των Tacoli et al. (2017), φάνηκε ότι τόσο οι προληπτικές όσο και οι θεραπευτικές εφαρμογές καολίνιτη προκάλεσαν

σημαντική μείωση της πληθυσμούς των νυμφών *Empoasca vitis* και *Zygina rhamni* σε τέσσερις αμπελώνες της βορειοανατολικής Ιταλίας. Εργαστηριακά πειράματα έδειξαν ότι η αναστολή της σίτισης ήταν ο κύριος τρόπος δράσης μέσω του οποίου ο καολίνιτης επηρέασε τους πληθυσμούς των νυμφών.

Στην αντιμετώπιση ενός ακόμη σημαντικού εχθρού της αμπέλου, του λεπιδόπτερου *Lobesia botrana*, ο καολίνης έδειξε αποτελεσματικότητα σε μια ακόμη μελέτη των Tacoli et al. (2019). της εργαστηριακές δοκιμές, η κάλυψη σταφυλιών με καολίνη μείωσε την προτίμηση ωτοκίας του *L. botrana* κατά 53% και την επιβίωση και τη γονιμότητα θηλυκών ατόμων κατά 22 και 82%, αντίστοιχα. Η κάλυψη αυγών με καολίνη μείωσε το ποσοστό εκκόλαψης κατά 14%. Η προτίμηση εγκατάστασης προνυμφών σε σταφύλια καλυμμένα με καολίνη μειώθηκε κατά 72%, αλλά η επιβίωση και η ανάπτυξη των προνυμφών δεν επηρεάστηκαν. Στο πείραμα στον αγρό, ο καολίνης μείωσε την προτίμηση ωτοκίας κατά 84% και μείωσε σημαντικά τη μόλυνση από *L. Botrana*. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, ο καολίνης θα μπορούσε να είναι μια πολύτιμη εναλλακτική λύση στα συνθετικά εντομοκτόνα στον έλεγχο των εντομολογικών εχθρών της της αμπέλου (Tacoli et al., 2017).



## 2. Η ΡΑΓΑ ΤΟΥ ΣΤΑΦΥΛΙΟΥ

### 2.1 Ανάπτυξη και ωρίμανση

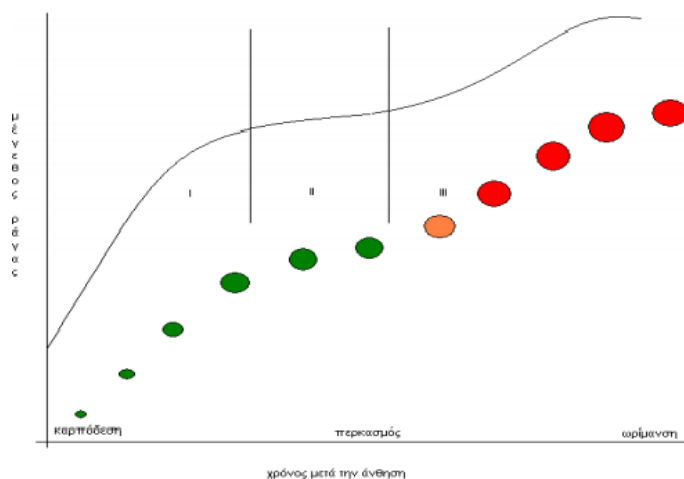
Η ανάπτυξη της ράγας, στις εγγίγαρτες ποικιλίες αμπέλου παρουσιάζει δύο διακριτές φάσεις (I και III ) ταχύτατης ανάπτυξης της ράγας που διακόπτονται από μια φάση (II) επίσχεσης του ρυθμού αύξησης, ώστε τελικά η καμπύλη του αριθμού αύξησης των ραγών να είναι διπλή σιγμοειδής. (Σταυρακάκης, 1991). Οι τρεις φάσεις που παρατηρούνται είναι οι εξής:

Στάδιο I : Αρχική φάση της ανάπτυξης της ράγας (περίπου 60 ημέρες) κατά την οποία παρατηρείται ταχύτατη αύξηση σε μέγεθος, έντονη κυτταροδιαίρεση, η οποία σταματάει 5-6 εβδομάδες μετά την άνθιση. Η κυτταρική μεγέθυνση αρχίζει 2 εβδομάδες μετά την άνθιση και συνεχίζεται μέχρι το τέλος της φάσης. Παρατηρείται υψηλή συγκέντρωση ορμονών αύξησης, αρχικά αυξίνης, κι ακολούθως γιββερελλινών και κυτοκινινών, που εξαρτάται από τον αριθμό των γιγάρτων. Στο στάδιο 1 αρχίζει η συσσώρευση του τρυγικού και του μηλικού, ενώ οι συγκεντρώσεις των σακχάρων είναι ακόμα χαμηλές (Keller, 2010). Το τρυγικό εμφανίζει μέγιστη συγκέντρωση στους φλοιούς, ενώ το μηλικό στη σάρκα. Παράλληλα παρατηρείται και βιοσύνθεση των υδροξυκιναμωμικών οξέων και των ταννινών . Η τροφοδοσία της ράγας σ' αυτό το στάδιο διεξάγεται τόσο από το φλοιό όσο και από το ξύλο, ενώ διαπιστώνεται έντονη μεταβολική δραστηριότητα

Στάδιο II : Περίοδος επίσχεσης του ρυθμού ανάπτυξης (lag phase) κατά την οποία μειώνεται ο ρυθμός αύξησης και ανάπτυξης των ραγών και αυξάνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των γιγάρτων, τα οποία αποκτούν το τελικό τους μέγεθος πριν τον περκασμό. Στην αρχή αυτού του στάδιο οι ράγες έχουν το μισό από το τελικό τους μέγεθος. Η κυτταροδιαίρεση συνεχίζεται, όπως και η βιοσύνθεση των οξέων και των ταννινών, με μέγιστη συσσώρευση λίγο πριν τον περκασμό (Kennedy, 2002). Προς το τέλος της περιόδου αυτής μειώνεται η σύνθεση ρυθμιστών της αύξησης και αυξάνεται το αμψισικό οξύ.

Στάδιο III : περίοδος ταχύτατης ανάπτυξης όπου ο ρυθμός αύξησης των ραγών ακολουθεί ανοδική πορεία μέχρι την ωρίμανση αυτών. Η Τρίτη φάση αρχίζει με τον περκασμό, όπου γυαλίζει» ο φλοιός (στις έγχρωμες ποικιλίες εμφανίζεται το χρώμα). Αυξάνεται η ελαστικότητα του φλοιού, οι ράγες γίνονται πιο μαλακές, αποκτούν το τελικό τους μέγεθος. Η ένταση της αναπνοής μειώνεται στη σάρκα και στα γίγαρτα και παρατηρείται συσσώρευση και αποθήκευση των σακχάρων στις ράγες και αντίστοιχη μείωση των οξέων, ιδιαίτερα του μηλικού σε περιοχές με θερμό κλίμα. Η τροφοδοσία της ράγας διεξάγεται μόνο από το φλοιώμα , ενώ διακόπτεται η σύνδεση

από το ξύλο. Η βιοσύνθεση των ταννινών στους φλοιούς και στα γίγαρτα μειώνεται καθώς αρχίζει η βιοσύνθεση των ανθοκυανών στις έγχρωμες ποικιλίες, και των πτητικών συστατικών όπως τα τερπενοειδή στις λευκές. Μετά τον περκασμό αυξάνεται η συγκέντρωση στα ανάγοντα σάκχαρα φρουκτόζη και γλυκόζη και μειώνεται το ποσοστό της σακχαρόζης. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες συσσωρεύονται στις ράγες, αυτό το στάδιο, και τα πτητικά συστατικά των λευκών ποικιλιών.



Εικόνα 4 :Η πορεία ανάπτυξης των ραγών (Σταυρακάκης,1991)

## 2.2 Μορφολογία της ράγας

Οι μορφολογικοί χαρακτήρες της ράγας καθορίζονται από την ποικιλία και το βιότυπο της ποικιλίας αμπέλου, επηρεάζονται όμως έντονα και από το περιβάλλον και την καλλιεργητική τεχνική. Επομένως, εμφανίζουν μεγάλη παραλλακτικότητα τόσο μεταξύ όσο και εντός των καλλιεργούμενων ποικιλιών, συχνά και μεταξύ των σταφυλών του ίδιου πρέμνου (Σταυρακάκης, 2019).

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

- Το φλοιό
- Τη σάρκα
- Τα γίγαρτα

**Ο φλοιός** αποτελεί το 10-20% του συνολικού βάρους της ράγας και είναι πλούσιος σε πολυφαινόλες, αρωματικές και πρόδρομες αρωματικές ουσίες, κυτταρίνη, πηκτίνες και ανόργανες ουσίες. Το σύνολο των ανθοκυανών

περιέχεται στον φλοιό εκτός από ορισμένες ποικιλίες των οποίων οι ράγες έχουν έγχρωμη σάρκα (Σταυρακάκης, 2019). Απαρτίζεται από τρία στρώματα την *εφυμενίδα*, την *επιδερμίδα* και το *υπόδερμα*, καθένα από τα οποία αποτελείται από μία ή περισσότερες στοιβάδες κυττάρων. Η *εφυμενίδα* αποτελεί το εξωτερικό τοίχωμα των κυττάρων της επιδερμίδας και επικαλύπτεται από κηρώδεις ουσίες που αποτελούν την κέρινη ανθρότητα. Η κέρινη ανθρότητα δρα παρεμποδιστικά στην υπερβολική εξάτμιση του χυμού της ράγας, συντελεί στην ταχεία απομάκρυνση της βροχής και συγκρατεί τους διάφορους μικροοργανισμούς, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τις ζυμώσεις του γλεύκους και του οίνου (Σουφλερός, 2015). Η *επιδερμίδα* αποτελείται από πεπλατυσμένα δισκοειδή κύτταρα που διατάσσονται σε μία έως δύο στιβάδες και είναι μη φωτοσυνθετικά. Το *υπόδερμα* αποτελείται από 6-10 στιβάδες κυττάρων, από τις οποίες οι 2-3 πρώτες περιέχουν τις ανθοκυάνες ή τις φλαβόνες, χρωστικές ουσίες στις οποίες οφείλεται το χρώμα των ερυθρών ή των λευκών σταφυλιών αντιστοίχως. Εξάιρεση αποτελούν ορισμένες βαφικές ποικιλίες, στις οποίες οι χρωστικές ουσίες βρίσκονται επίσης και σε όλη τη σάρκα της ράγας (Σουφλερός, 2015). Τα φαινολικά συστατικά του φλοιού αποτελούν το 30% του συνόλου των φαινολικών ενώσεων της ράγας (Watson B., 2003).

**Η σάρκα** (74-87% του βάρους της ράγας) αποτελείται από μεγάλα κύτταρα με πολύ λεπτά και εύθραυστα κυτταρικά τοιχώματα. Υπάρχουν εικοσιπέντε με τριάντα στοιβάδες κυττάρων που χωρίζονται σε ζώνες:

Το *μεσοκάρπιο* αποτελείται από 25-30 στιβάδες κυττάρων. Τα κύτταρα της σάρκας έχουν μεγάλα χυμοτόπια και περιέχουν τον κυτταρικό χυμό που αναλογεί στο 65-90% του βάρους των ώριμων ραγών - ανάλογα με την ποικιλία- και αποτελείται από νερό, σάκχαρα και οξέα (Σταυρακάκης, 2019).

Το *ενδοκάρπιο* αποτελείται από την εσωτερική στιβάδα των κυττάρων της ζώνης του μεσοκαρπίου και διαχωρίζει τη σάρκα από τα γίγαρτα. Τα κύτταρα του ενδοκαρπίου είναι επιμήκη και διατάσσονται κάθετα προς την έννοια της ακτίνας της ράγας. Στην ώριμη ράγα, η διάκριση του ενδοκαρπίου είναι δυσχερής (Σταυρακάκης, 2019).

**Τα γίγαρτα** είναι τα όργανα αναπαραγωγής της αμπέλου. Βρίσκονται στο ενδοκάρπιο, το οποίο δεν διακρίνεται κατά σαφή τρόπο από τη ράγα. Θεωρητικά η κάθε ράγα θα έπρεπε να φέρει τέσσερα γίγαρτα κάτι το οποίο είναι πολύ σπάνιο, καθώς απαιτεί την γονιμοποίηση όλων των ωαρίων, επομένως ο αριθμός των γιγάρτων που φέρει κάθε ράγα είναι συνήθως μικρότερος των τεσσάρων και καμμιά φορά μηδενικός. Στις μεμονωμένες αυτές περιπτώσεις που δεν υπάρχουν καθόλου γίγαρτα, οι ράγες αδυνατούν να αναπτυχθούν και παραμένουν πολύ μικρές καθώς τα γίγαρτα συνδέονται με το τελικό μέγεθος της ράγας αλλά και την χημική της σύσταση. Το γίγαρτο της αμπέλου περιλαμβάνει το

ράμφος και το σώμα. Το ράμφος αποτελεί τη μορφολογική κορυφή του γιγάρτου στην οποία καταλήγουν οι αγγειώδεις δέσμες της ράγας, και το άκρο του αντιστοιχεί στη μικροπύλη της σπερματικής βλάστης. Το σώμα χαρακτηρίζεται από τη νωτιαία και την κοιλιακή πλευρά. Στη νωτιαία πλευρά βρίσκεται η χάλαζα και στην κοιλιακή απαντούν η ραφή, οι κοιλότητες και η τροπία (Σταυρακάκης, 2019). Η χημική σύσταση των γιγάρτων κατά κύριο λόγο περιλαμβάνει νερό, υδατάνθρακες, ελαιώδεις ουσίες, ταννίνες, αζωτούχες ουσίες, ανόργανες ουσίες και λιπαρά οξέα (Σουφλερός, 2015).

### 2.3 Τα συστατικά της ράγας

Τα σταφύλια, και τα παραγόμενα από αυτά προϊόντα, αποτελούν πηγές φαινολικών ενώσεων όπως φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, και ανθοκυάνες, έτσι εξαιτίας της διαθεσιμότητάς τους σε συγκεκριμένες χρονικές περιόδους, ο οίνος αποτελεί μία πηγή φαινολικών ενώσεων (Toscano et al., 2017). Ο οίνος, και ιδιαίτερα ο ερυθρός, αποτελεί μία πλούσια πηγή πολυφαινόλων, όπως για παράδειγμα οι φλαβανόλες (όπως η κατεχίνη, και η επικατεχίνη), οι φλαβονόλες (όπως η κερκετίνη, η ρουτίνη, η μυρικετίνη), οι ανθοκυανίνες (η πιο άφθονη είναι η μαλβιδίνη-3-Ο-γλυκοσίδη), οι ολιγομερείς και πολυμερείς προανθοκυανιδίνες, τα φαινολικά οξέα (όπως το γαλλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ), τα στυλβένια (trans-ρεσβερατρόλη) και πολλές άλλες πολυφαινόλες. Αρκετές από τις ενώσεις (όπως η ρεσβερατρόλη, η κερκετίνη, η ρουτίνη, η κατεχίνη, τα ολιγομερή και τα πολυμερή τους προανθοκυανιδίνες) έχουν αναφερθεί για τις πολλαπλές βιολογικές δραστηριότητες, όπως καρδιοπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινογόνες, αντιιικές, αντιβακτηριακές ιδιότητες οι οποίες αποδίδονται κυρίως στην ισχυρή αντιοξειδωτική τους δράση (Šeruga et al., 2011). Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στη μέτρηση και των προσδιορισμό των ανθοκυανών. Οι ανθοκυάνες είναι η μεγαλύτερη ομάδα φυσικών, υδατοδιαλυτών, χρωστικών ουσιών των φυτών και υπεύθυνες για τα χρώματα των λουλουδιών, των φρούτων (ιδίως μούρων) και των λαχανικών (Hernández- Herrero and Frutos, 2014).

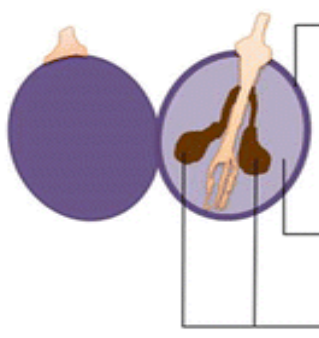
Το γλεύκος αποτελείται κυρίως από νερό και αρκετούς μεταβολίτες με ιδιαίτερη έμφαση στα σάκχαρα, τα οργανικά οξέα, μεταλλικά στοιχεία, τις φαινολικές και αρωματικές ενώσεις (Dutra et al., 2021). Η χημική σύσταση του γλεύκους μπορεί να επηρεαστεί από αρκετούς παράγοντες μεταξύ των οποίων ανήκει και η τεχνική επεξεργασία των σταφυλιών (Granato et al., 2016). Η χημική σύσταση του σταφυλιού και του γλεύκους εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες, όπως η χημική σύσταση του εδάφους, ο βαθμός ωριμότητας του σταφυλιού, η υδατική καταπόνηση, η ηλιακή

έκθεση, οι προσβολές από ασθένειες, οι καλλιεργητικές επεμβάσεις και τεχνικές (Granato et al., 2016).

### 2.3.1 Φαινολικές Ενώσεις:

#### Η σημασία τους και παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητά τους στο σταφύλι, το γλεύκος και τον οίνο

Οι φαινολικές ενώσεις ανήκουν στους δευτερογενείς μεταβολίτες του φυτού, είναι δηλαδή φυσικά προϊόντα που το προστατεύουν από τα φυτοφάγα ζώα, τους μικροοργανισμούς καθώς και από διάφορους παράγοντες αβιοτικής καταπόνησης. Οι φαινολικές ενώσεις είναι αρωματικοί μεταβολίτες και αποτελούν μια ποικιλία από χημικά ετερογενή δευτερογενή προϊόντα που περιέχουν τουλάχιστον μια φαινολική ομάδα. Οι περισσότερες φαινολικές ενώσεις στη ράγα προέρχονται κυρίως από φαινυλοπροπυνοειδή ή οξικά φαινυλοπροπυνοειδή. Οι φαινυλοπροπυνοειδείς ενώσεις, παίζουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση, ανάπτυξη αναπαραγωγή και φυσιολογία του πρέμνου. Τα φαινολικά συστατικά του σταφυλιού εντοπίζονται κυρίως στα γίγαρτα και στον φλοιό (Εικόνα 5) και συνεισφέρουν στη ποιότητα και στον οργανοληπτικό χαρακτήρα του παραγόμενου οίνου. Διακρίνουμε δύο μεγάλες ομάδες φαινολικών στον οίνο, τις μη φλαβονοειδείς φαινόλες (υδροξυβενζοϊκά και υδροξυκιναμμωμικά οξέα και τα παράγωγά τους στυλβένια και φαινολικές αλκοόλες. (Monagas et al., 2006) και τις φλαβονοειδείς φαινόλες (ανθοκυάνες, φλαβαν-3-όλες, φλαβονόλες).



Grape anatomical structure	Distribution of total phenolics†	Phenolic composition	
		Non-Flavonoids	Flavonoids
Skin	30%	Stilbenes (resveratrol, viniferins), hydroxycinnamic acids (p-coumaric, caffeic, ferulic), hydroxybenzoic acids (salicylic acid, gallic, gentistic).	Flavan-3-ols [Anthocyanidins (anthocyanins: malvidin, cyanidin, delphinidin, peonidin and petunidin); Proanthocyanidins (catechin; epicatechin, epigallocatechin)] Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin), Flavone (apigenin).
Flesh	1%	Hydroxycinnamic acids (p-coumaric, caffeic, ferulic).	Flavan-3-ols (catechin; epicatechin, epigallocatechin), anthocyanins (in teinturier varieties with red flesh).
Seeds	64%	Stilbenes (resveratrol, viniferins), hydroxycinnamic acids (p-coumaric, caffeic, ferulic).	Flavan-3-ols (catechin; epicatechin, epigallocatechin, gallicocatechin, catechin-3-O-gallate), Proanthocyanidins (mainly epicatechin subunits).

Εικόνα 5 : Σχηματική απεικόνιση των φαινολικών συστατικών της ράγας και η κατανομή τους σε φλοιό-γίγαρτα-σάρκα (Fernandez και Barona 2016)

Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν τις πιο κοινές υδατοδιαλυτές αντιοξειδωτικές ενώσεις στα φυτά και στα τρόφιμα. Αυτοί οι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών χαρακτηρίζονται έναν αρωματικό δακτύλιο που διαθέτει έναν ή περισσότερους υποκαταστάτες υδροξόλης. Οι φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν δομική και λειτουργική ποικιλομορφία και μπορούν να υδροξυλιωθούν και να μεθοξυλιωθούν σε διάφορες θέσεις (Beer et al., 2002).

Οι πολυφαινόλες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες, οι οποίες αποτελούν φυσικά συστατικά των σταφυλών ή / και παράγονται κατά τη διάρκεια της οινοποίησης. Είναι υπεύθυνες για το χρώμα, τη γεύση και τη «σκληρότητα» των οίνων καθώς και για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες (Šeruga et al., 2011). Επιπλέον, οι φαινολικές ενώσεις χρησιμεύουν ως σημαντικές αποθήκες οξυγόνου και ως υποστρώματα για οξειδωτικές αντιδράσεις. Οι φαινολικές ενώσεις έχουν σημαντική παρουσία και στους λευκούς οίνους, όπου βρίσκονται όμως σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Μεταξύ των συστατικών του οίνου, οι διάφορες κατηγορίες των φαινολικών ενώσεων που εμπεριέχονται, έχουν σημαντική τεχνολογική και διατροφική αξία. Ο τύπος και τα επίπεδα τους στο τελικό προϊόν, που μπορεί να επηρεάζονται από την ποικιλία της αμπέλου και από διάφορους αβιοτικούς παράγοντες (όπως το κλίμα, ο τύπος του εδάφους, η τεχνική οινοποίησης). Έτσι συμβάλλουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου και έχουν καίριο ρόλο στην οξειδωτική σταθερότητα και στη διαδικασία παλαίωσης του οίνου (Tourtoglou et al., 2014). Ένα ακόμη παράδειγμα είναι η επίδραση τους στο χρώμα του οίνου η οποία σχετίζεται με την παραγωγή φυσικών χρωστικών ουσιών, των ανθοκυανών, οι οποίες ποικίλλουν σε περιεχόμενο και χημικές ιδιότητες ανάλογα με γενετικούς, περιβαλλοντικούς και αγρονομικούς παράγοντες (Brouillard et al., 2003).

Ακόμη, η ηλιακή ακτινοβολία επιδρά εξίσου στη βιοσύνθεση ολικών φαινολικών και των ταννινών, αφού όπως έδειξαν οι Downey et al. (2004), η πειραματική σκίαση κατά την ανάπτυξη των σταφυλών παρουσίασε χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ταννίνες κατά την ανάπτυξη των ραγών και χαμηλότερα ποσοστά ολικών φαινολικών στο παραγόμενο οίνο (Ristic et al., 2007). Η συσσώρευση των γλυκοζυλιωμένων φλαβονολών παρατηρήθηκε αυξημένη από τους (Sprayd et al., 2002) σε ράγες εκτεθειμένες σε ηλιακό φως σε σύγκριση με αυτές υπό σκίαση, ενώ φαίνεται ότι εκφράζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό το γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο συνθάση των φλαβονολών (FLS) (Downey et al., 2006).

Σημαντικό ρόλο στο φαινολικό προφίλ του οίνου έχει επίσης η παλαίωση του σε ξύλινα βαρέλια η οποία έχει ως αποτέλεσμα την προσωρινή αύξηση του φαινολικού περιεχομένου καθώς το ξύλινο βαρέλι λειτουργεί συνεργιστικά στη διαδικασία εκχύλισης για διάφορες φαινολικές ενώσεις (Proestos et al., 2012). Κατά την οξειδωτική παλαίωση, οι ερυθροί οίνοι εμπλουτίζονται σε φαινολικά οξέα σε

ποσότητες που εξαρτώνται από την προέλευση και το βαθμό καψίματος του ξύλου (Κουράκου, 1998).

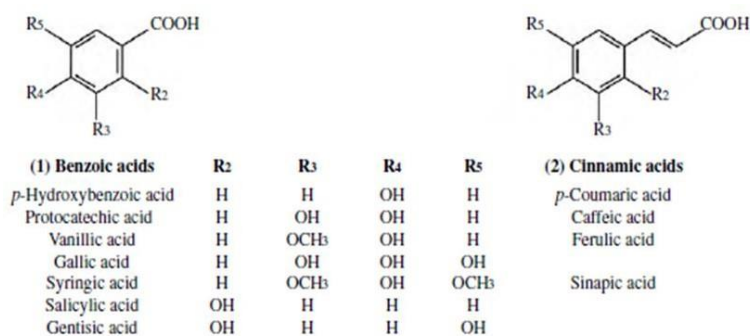
Τέλος, επειδή όπως προαναφέρθηκε οι φαινολικές ενώσεις συμβάλλουν στην προστασία από το αβιοτικό στρές, έχει ενδιαφέρον να δούμε πως σχετίζεται το φαινολικό προφίλ με την αντιοξειδωτική ικανότητα των σταφυλιών. Η αντιοξειδωτική ικανότητα έχει άμεση συσχέτιση με το πολυφαινολικό προφίλ όπως επιβεβαιώνεται από ανάλυση με τη μέθοδο PCA η οποία έδειξε ότι οι ανθοκυανίνες, τα ολικά φλαβονοειδή και οι ολικές φλαβανόλες συσχετίζονται θετικά ( $P < .0001$ ) με την αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP, DPPH). Από την άλλη πλευρά, τα ολικά διαλυτά στερεά συσχετίστηκαν αρνητικά ( $P < -.0005$ ) με την αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH). Επιπλέον, όπως ήταν αναμενόμενο επιβεβαιώθηκε ότι το βάρος των σταφυλιών των βιοτύπων που μελετήθηκαν, συσχετίζεται αρνητικά με τις ολικές φλαβανόλες, τα ολικά διαλυτά στερεά, και pH, αφού αυτές οι μετρήσεις επηρεάζονται από την αναλογία φλοιός : σάρκα (Stavrakaki et al., 2018).

#### *2.3.1.1 Μη Φλαβονοειδείς Φαινολικές ενώσεις*

Η παρουσία τους στους οίνους οφείλεται είτε στο σταφύλι, όπου βρίσκονται στους φλοιούς και τη σάρκα, είτε στο ξύλο των βαρελιών, όπου πραγματοποιείται η οξειδωτική παλαίωση των οίνων. Οι ερυθρές ποικιλίες και κατ' επέκταση οι ερυθροί οίνοι περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες σε σχέση με τις λευκές ποικιλίες και οίνους (Ribereau- Gayon et al., 2021).

Κύριοι εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι τα φαινολικά οξέα, και ειδικότερα τα παράγωγα του βενζοϊκού (δομή C6-C1) και κινναμωμικού οξέος (δομή C6-C3) (Jackson, 2008) και από στιλβένια (Obreque-Slier et al., 2010), των οποίων ένα ή περισσότερα υδρογόνα των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου τους έχουν αντικατασταθεί με υδροξυλομάδες (-OH) και μεθόξυ (-OCH<sub>3</sub>) ομάδες (Εικόνα 6). Τα φαινολικά οξέα απαντούν στα χυμοτόπια των κυττάρων του φλοιού και της σάρκας των ραγών ως ετεροζίτες ή ως εστέρες. Αποτελούν το κυριότερο φαινολικό συστατικό της σάρκας των ραγών (Κουράκου, 1998, Ribereau- Gayon et al., 2006). Τα σταφύλια και ο οίνος περιέχουν επτά βενζοϊκά και πέντε κινναμωμικά οξέα. Τα φαινολικά οξέα είναι άχρωμα στο αλκοολικό διάλυμα αλλά μπορούν να γίνουν έγχρωμα (κίτρινα) λόγω οξειδωσης. Αυτό παρατηρείται κυρίως στο γαλλικό και καφεϊκό οξύ λόγω των δύο υδροξυλίων τους σε όρθο θέση στο μόριο τους. Η οξειδωση τους οδηγεί στο σχηματισμό ουσιών καστανόμαυρου χρώματος με δομή κιννόνης που είναι υπεύθυνες για το «καφέτιασμα των οίνων» (Cheynier et al., 1990). Από οργανοληπτική σκοπιά, δεν προσδίδουν στους παραγόμενους οίνους χαρακτηριστική γεύση ή άρωμα. Αποτελούν ωστόσο πρόδρομα πτητικών φαινολών

που παράγονται από τη δράση ορισμένων μικροοργανισμών (ζυμομύκητες του γένους *Brettanomyces* και κάποια βακτήρια). Τα φαινολικά οξέα παρότι δεν επηρεάζουν άμεσα την οινοποιητική πρακτική εμφανίζουν ενδιαφέρουσα αντιβακτηριδιακή δράση καθώς θεωρούνται παρεμποδιστές της ανάπτυξης βακτηρίων. Αυτό εξηγεί μερικώς και την δυσκολία ορισμένες φορές εκδήλωσης μηλογαλακτικής διεργασίας στους οίνους. Τα βακτήρια έχοντας ατελέστερο ενζυματικό μηχανισμό συγκριτικά με τις ζύμες παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία ακόμη και σε μικρές δόσεις αντισηπτικών και αντιβιοτικών (Κουράκου, 1998). Τα άνωθεν φαινολικά οξέα απαντούν είτε εστεροποιημένα, κυρίως με τρυγικό οξύ, είτε σε ελεύθερη μορφή (Ribereau-Gayon and Stonestreet, 1965). Κατά την οξειδωτική παλαίωση, οι ερυθροί οίνοι εμπλουτίζονται σε φαινολικά οξέα σε ποσότητες που εξαρτώνται από την προέλευση και το βαθμό καψίματος του ξύλου (Κουράκου, 1998). Όπως προαναφέρθηκε, στις μη φλαβονοειδείς ενώσεις υπάγονται και τα στυλβένια. Τα στυλβένια αποτελούνται από δύο βενζοϊκούς δακτυλίους που συνδέονται με ένα αιθάνιο ή με αλυσίδα αιθυλενίου. Από αυτές τις trans ισομερές ενώσεις η σημαντικότερη είναι η ρεσβερατρόλη ή αλλιώς το 3,5,4'-τρι-υδρόξυ-στυλβένιο. Η ρεσβερατρόλη θεωρείται ότι παράγεται ως άμυνα της αμπέλου σε κρυπτογαμικές ασθένειες (Langcake, 1981). Εντοπίζεται μόνο στους φλοιούς των ραγών και εκχυλίζεται στους ερυθρούς οίνους κατά την διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης παρουσία των στεμφύλων σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται 1-3 mg L<sup>-1</sup>. Ιατρικές μελέτες αποδίδουν αντικαρκινικό και αντιθρομβωτικό ρόλο στη ρεσβερατρόλη (Ribereau-Gayon et al., 2006).



Εικόνα 6. Τα φαινολικά οξέα των σταφυλιών και των οίνων. Πηγή: *Handbook of enology, Volume 2*, p.142

### 2.3.1.2 Φλαβονοειδείς Φαινολικές Ενώσεις

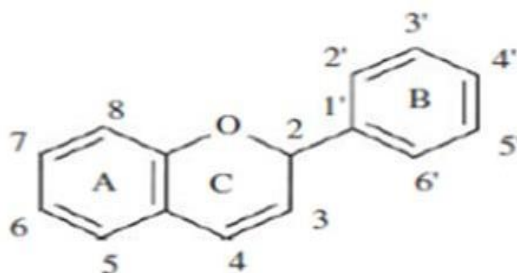
Στις φλαβονοειδείς ενώσεις ανήκουν οι πολυμοριακές φαινόλες που προέρχονται από την ίδια μητρική ένωση που είναι η φλαβόνη και διακρίνονται σε δύο μεγάλες ομάδες: στα παράγωγα της φλαβόνης (κυρίως φλαβονοειδή) και στα παράγωγα του



κατιόντος φλαβυλίου (ανθοκυάνες ή ανθοκυανίνες). Τα φλαβονοειδή χαρακτηρίζονται από ένα βασικό σκελετό με 15 άτομα άνθρακα του τύπου της φλαβόνης (εικόνα 7). Στην κατηγορία αυτή υπάγονται οι φλαβονόλες, οι φλαβανόνες, οι φλαβανονόλες, οι κατεχίνες, οι προκυανιδίνες, οι ανθοκυάνες και οι ταννίνες, που είναι τα πολυμερισμένα τους παράγωγα (Κοτσερίδης, 2014).

### Φλαβονόλες

Οι φλαβονόλες ή 3-υδρόξυ-φλαβόνες συναντώνται μόνο στους φλοιούς των ραγών και συγκεκριμένα στο υπόδερμα ερυθρών και λευκών σταφυλών σε παρόμοιες συγκεντρώσεις. Είναι χρωστικές κίτρινου χρώματος και στα σταφύλια απαντούν κυρίως σε γλυκοζιδιομένη μορφή. Σχηματίζονται με την προσκόλληση στη θέση -3 του κεντρικού δακτυλίου (βενζοπυρόνη) ενός μορίου μονοσακχαρίτη (κυρίως γλυκόζης) ή ενός μορίου γλυκουρονικού οξέος (Κουράκου, 1998). Στη σταφυλή έχουν βρεθεί οχτώ μονογλυκοζίτες και τρεις διγλυκοζίτες των φλαβονολών. Στους παραχθέντες οίνους συναντούμε την άγλυκη μορφή τους λόγω υδρόλυσης του γλυκοζιτικού δεσμού κατά την αλκοολική ζύμωση. Παρότι η περιεκτικότητά τους στις ερυθρές και τις λευκές σταφυλές είναι σχεδόν ίδιες, παρατηρείται διαφοροποίηση ως προς την σύσταση τους. Τα παράγωγα της κερκετίνης είναι κυρίαρχα και στις λευκές και στις ερυθρές ποικιλίες αλλά φαίνεται ότι τα παράγωγα της μυρικετίνης και του γλυκοζίτη-3 της ισοραμνετόλης απαντούν μόνο στις ερυθρές. Οι ερυθροί οίνοι λόγω της παρουσίας των στεμφύλων κατά την αλκοολική ζύμωση παρουσιάζουν αυξημένες συγκεντρώσεις φλαβονολών ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) σε σχέση με τους λευκούς ( $1-3 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Ribereau-Gayon et al., 2006).



Εικόνα 7: Βασική δομή φλαβονοειδών .Πηγή: [www.researchgate.com](http://www.researchgate.com)

### Φλαβανόνες

Οι φλαβανόνες διαφέρουν από τις φλαβονόλες ως προς τη δομή: στη θέση -3 του μορίου της φλαβονόλης υπάρχει ένα δραστικό -OH. Οι φλαβανόνες είναι ελάχιστα διαδεδομένες στη φύση και τα παράγωγά τους δεν είναι συστατικά των σταφυλιών. Ανήκουν στα φαινολικά συστατικά του ξύλου της δρυός και, ως εκ τούτου, η

παρουσία τους έχει διαπιστωθεί μόνο σε οίνους που παλαιώσαν σε βαρέλια (Κουράκου, 1998). Οι 2 κύριες φλαβανόνες είναι η εσπεριδίνη που βρίσκεται στα πορτοκάλια και η ναρριγετίνη που βρίσκεται στα γκρέιπ φρουτ (Τσακίρης, 1994).

### Φλαβανόλες

Οι ενώσεις που ανήκουν στην οικογένεια των φλαβανολών είναι γλυκοζίτες και ταυτοποιήθηκαν σε φλοιούς λευκών ποικιλιών και έχουν πολύ ανοιχτό κίτρινο χρώμα. Οι φλαβανόλες απαντούν επίσης και στους βόστρυχες (Κοτσερίδης, 2014)

### Κατεχίνες

Οι κατεχίνες (φλαβάν-3-όλη) αποτελούνται από δύο βενζοϊκούς δακτυλίους συνδεδεμένους με έναν κορεσμένο ετεροκυκλικό δακτύλιο οξυγόνου. Η δομή αυτή παρουσιάζει δύο ασύμμετρα άτομα άνθρακα (C2 και C3), με αποτέλεσμα να απαντούν δύο trans ισομερή (κατεχίνες) και δύο cis ισομερή (επικατεχίνες). Στη φύση συναντώνται και οι τέσσερις μορφές, όμως οι πιο σταθερές αυτών των ισομερών είναι η (+)-κατεχίνη και η (-)-επικατεχίνη (Ribereau-Gayon et al., 2021). Οι βόστρυχες και οι φλοιοί, περιέχουν σχεδόν αποκλειστικά (+)-κατεχίνη ενώ στα γίγαρτα η περιεκτικότητα της (+)-κατεχίνης είναι σχεδόν ίδια με αυτή της (-)-επικατεχίνης. Τα γίγαρτα περιέχουν περίπου το 65% της ολικής συγκέντρωσης των κατεχινών ενώ το ποσοστό σε φλοιούς και βόστρυχες κυμαίνεται στο 20% (Zoecklein et al., 1995). Στους λευκούς οίνους η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται μεταξύ 10-50 mg L<sup>-1</sup>, ενώ στους ερυθρούς μπορεί να φθάσει 200 mg L<sup>-1</sup> (Zoecklein et al., 1995). Εξαιτίας των δύο -OH σε όρθο θέση που βρίσκονται στον πλευρικό βενζοϊκό δακτύλιο του μορίου της, η κατεχίνη είναι ιδιαίτερως ευοξειδωτή. Όταν θερμανθεί σε όξινο περιβάλλον πολυμερίζεται προς ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους με αποτέλεσμα αρχικά να προκύπτει ένα κίτρινο διάλυμα, που εν συνεχεία σκουραίνει ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού της παραχθείσας ένωσης και μπορεί να φτάσει έως καστανόμαυρο. Τέτοιας φύσεως οξειδώσεις μπορούν να προκαλέσουν «καφέτιασμα» των οίνων. Συνεπώς, η παρουσία κατεχινών στους λευκούς οίνους καθίσταται ανεπιθύμητη (Cheynier et al., 1990, Κουράκου, 1998).

### Προκυανιδίνες

Οι προκυανιδίνες ή αλλιώς συμπυκνωμένες ταννίνες είναι οι ολιγομερείς και οι πολυμερείς μονάδες της πολύ-υδρόξυ φλαβάν-3-όλης που απαντούν στα φυτά και αποτελούν τη δεύτερη πιο άφθονη ομάδα φυσικών φαινολικά μετά την λιγνίνη (Porter, 1994). Το 1910, ο Laborde επισήμανε την παρουσία άχρωμων ουσιών στις

σταφυλές και στους οίνους, οι οποίες μετατρέπονταν σε ανθοκυάνες με θέρμανση σε όξινο περιβάλλον, για αυτό και τις ονόμασε λευκοκυανιδίνες. Αργότερα, καθορίστηκε η δομή τους και αποδείχθηκε ότι πρόκειται για τις 3,4-φλαβανοδιόλες, οι οποίες είναι αφυδρογονωμένες κατεχίνες (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982). Ωστόσο επικράτησε ο όρος προκυανιδίνη λόγω του σχηματισμού μορίου κυανιδίνης. Οι αφυδρογονώσεις μπορούν να συνεχιστούν με συνενώσεις περισσότερων μορίων με αποτέλεσμα των σχηματισμό περισσότερο συμπυκνωμένων προκυανιδινών. Τα μόρια κατεχίνης έχουν την τάση να ενώνονται μεταξύ τους ή με μόρια επικατεχίνης προς διμερείς προκυανιδίνες, οι οποίες με τη σειρά τους ενώνονται προς μεγαλύτερα μόρια. Στις ράγες έχουν ανιχνευτεί μέχρι και τετραμερείς προκυανιδίνες. Οι προκυανιδίνες απαντούν στους φλοιούς αλλά κυρίως στα γίγαρτα. Σε έρευνες για την παρουσία κατεχινών και προκυανιδινών σε σταφύλια οχτώ ποικιλιών *vinifera* διαπιστώθηκε πως από όλα τα μέρη της σταφυλής, το μεγαλύτερο ποσοστό κατεχινών και προκυανιδινών βρίσκεται στα γίγαρτα με μέσους όρους 65% και 56% αντίστοιχα. Στους βόστρυχες και τους φλοιούς τα ποσοστά είναι περίπου στο 20% ενώ ο χυμός της σταφυλής χαρακτηρίζεται από πλήρη απουσία αυτών των ουσιών. Δεν έχουν γλυκοζιδιομένη μορφή, ενώ έχουν τη δυνατότητα να ενωθούν με πολυσακχαρίτες της σταφυλής και να εκχυλιστούν με τη μορφή συμπλόκων κατά την οινοποίηση (Ribéreau-Gayon et al., 2021). Στους νέους οίνους το μοριακό βάρος τους είναι γύρω στο 600 (σπάνια 900), ενώ κατά την ωρίμανση και παλαίωση του οίνου οι προκυανιδίνες ενώνονται μεταξύ τους αλλά και με άλλα μόρια, ώστε να σχηματίζονται πολυμερή μεγαλύτερου μοριακού βάρους (2000-3000), που αντιστοιχούν στις συμπυκνωμένες ταννίνες καθώς οι προκυανιδίνες αποτελούν πρόδρομα μόρια ταννινών (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982). Από τα αποτελέσματα της εν λόγω έρευνας συμπεραίνεται πως ο χυμός των σταφυλών δεν περιέχει ευοξειδωτά υποστρώματα και κατά συνέπεια το γλεύκος τα αποκτά κατά την επεξεργασία του (θλιπτήρια, πιεστήρια). Επιπλέον, προκύπτει ότι, οι ουσίες που διαμορφώνουν την δομή, το «σώμα» και την αντοχή στον χρόνο των ερυθρών οίνων, βρίσκονται στα γίγαρτα (Κουράκου, 1998).

### Ταννίνες

Οι ταννίνες είναι πολυφαινολικοί δευτερογενής μεταβολίτες οι οποίοι απαντούν σε πολλά είδη ανώτερων φυτών (Khanbabaee and Van Ree , 2001). Η βιοσύνθεση αυτών των δευτερογενών μεταβολιτών έχει συνδεθεί άμεσα με παράγοντες όπως η φωτοσυνθετική ικανότητα του φυτού, η υγρασία και η θερμοκρασία . Οι ταννίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην βιολογία της αμπέλου καθώς ενισχύουν την άμυνα του φυτού σε παθογόνα και παράσιτα και συμβάλουν στο χρώμα προστατεύοντας το φυτό από την υπεριώδη ακτινοβολία (Hassanpour et al., 2011). Πρόκειται για

φαινολικές ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους που κυμαίνεται από 600 έως άνω των 3500 Da (Ribéreau-Gayon et al., 2021)., και απαντούν στα φύλλα, τον φλοιό, τους καρπούς, τον κορμό και τις ρίζες του φυτού (Hassanpour, Maheri- Sis et al., 2011). Στις ταννίνες συναντώνται σε ποσοστό έως 65%, στους βόστρυχες έως 22%, στους φλοιούς έως 12% ενώ στη σάρκα μόλις σε ποσοστό 1%. Με εξαίρεση κάποιες μεγάλου μοριακού βάρους οι ταννίνες είναι διαλυτές στο νερό (σε θερμοκρασίες 20-35ο C). Τα ολιγομερή των ταννινών έχουν την ιδιότητα να δημιουργούν σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες και άλλους πολυσακχαρίτες. Στην ιδιότητα δημιουργίας συμπλόκων με τις πρωτεΐνες οφείλεται η μείωση της στυπτικότητας που προκαλούν στο στόμα οι ταννίνες των οίνων (Gawel, 1997).

Ανάλογα με τη δομή τους, οι ταννίνες μπορούν να διαιρεθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες μακρομορίων, που ονομάζονται υδρολυόμενες ταννίνες και συμπυκνωμένες ταννίνες. Οι υδρολυόμενες ταννίνες, αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου, κυρίως γλυκόζη, του οποίου πολλά από τα -OH είναι εστεροποιημένα με διάφορα φαινολικά οξέα, εκ των οποίων σημαντικότερα είναι το γαλλικό και το ελλαγικό (Khanbabaee and Van Ree, 2001). Για τον λόγο αυτό, πολλές φορές αναφέρονται ως γαλλοταννίνες ή ελλαγικές ταννίνες. Τα μόρια αυτά είναι υδατοδιαλυτά και καθιζάνουν γρήγορα σε μέσα τα οποία περιέχουν αλκοόλη, όπως οι οίνοι. Οι υδρολυόμενες ταννίνες δεν απαντούν στη σταφυλή. Η παρουσία τους στο κρασί οφείλεται στην εκχύλιση τους από το ξύλο της δρυός ή στην εξωγενή προσθήκη τους κατά την οινοποίηση, με στόχο κυρίως την καταβύθιση ανεπιθύμητων πρωτεϊνών (Herderich and Smith, 2005). Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες που έχουν οι πολυφαινολικές ενώσεις (Becker et al., 2004), η εξωγενής προσθήκη οινολογικών ταννινών ενισχύει την προστασία των οίνων σε οξειδωτικές διεργασίες. Εξίσου σημαντική, είναι η ιδιότητα των υδρολυόμενων οινολογικών ταννινών (όπως και των φυσικών ταννινών της σταφυλής) να συμπλοκοποιούνται με τις πρωτεΐνες του σάλιου, συμβάλλοντας στη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των οίνων (Herderich and Smith, 2005).). Οι σημαντικότερες υδρολυόμενες ταννίνες που υπάρχουν στο ξύλο της δρυός, που χρησιμοποιείται για την κατασκευή βαρελιών, είναι η βεσκαλαγίνη και η κασταλαγίνη (Κοτσερίδης, 2014). Η σύνθεση γενικά των ελλαγικών ταννινών εξαρτάται από το βοτανικό είδος της βελανιδιάς. Στα είδη της ευρωπαϊκής βελανιδιάς (*Quercus sessilis*, *Q. pedunculata*) υπάρχουν τέσσερα μονομερή και τέσσερα διμερή ελλαγικών ταννινών, ενώ στο αμερικάνικο είδος (*Q. alba*) δεν ανιχνεύονται διμερή (Ribéreau-Gayon et al., 2006)

## Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι υπεύθυνες για όλες τις διαφορές χρώματος μεταξύ των ποικιλιών, των σταφυλιών και των οίνων που προκύπτουν. Η ποσότητα και η σύνθεση των ανθοκυανών που υπάρχουν στα κόκκινα σταφύλια ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με το είδος, την ποικιλία, τον βαθμό ωρίμανσης, τις κλιματικές και εδαφικές συνθήκες, την περιοχή παραγωγής καθώς και την απόδοση της παραγωγής σε σταφυλές (Mazza, 1995). Οι ανθοκυάνες βρίσκονται στους φλοιούς των ερυθρών ποικιλιών *vinifera*. Σε ελάχιστες ποικιλίες, που ονομάζονται βαφικές, ανθοκυάνες απαντούν και στα πρώτα κύτταρα της σάρκας. Στη σάρκα μπορεί επίσης να παρατηρηθεί η ύπαρξη χρωστικών σε στάδια υπερωρίμανσης λόγω του γήρατος των κυττάρων που οδηγεί σε διάχυση των χρωστικών. Ανθοκυάνες σε μεγάλες ποσότητες συναντώνται επίσης στα φύλλα, ειδικά κατά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου όπου παίρνουν ερυθρό χρωματισμό (Ribéreau-Gayon et al., 2021). Οι ελεύθερες ανθοκυάνες των σταφυλών συντίθενται μέσω του φλαβονοειδούς μονοπατιού, το οποίο είναι το ίδιο με αυτό των προανθοκυανιδινών, μέχρι το στάδιο του σχηματισμού ανθοκυανιδινών (Winkel, 2001). Η σύνθεση και η αποθήκευση των ανθοκυανών γίνεται κυρίως στα χυμοτόπια των κυττάρων της πρώτης υποδερμικής στοιβάδας των φλοιών της ράγας των ερυθρών σταφυλών. Οι επόμενες δυο υποδερμικές στοιβάδες μπορεί να περιέχουν μικρές ποσότητες ανθοκυανών και τείνουν στο ελάχιστο έως την έκτη υποδερμική στοιβάδα όπου σπανίως εμφανίζεται χρωματισμός (Mazza, 1995). Οι κλιματικοί παράγοντες επηρεάζουν σημαντικά το μεταβολικό μονοπάτι βιοσύνθεσης των ανθοκυανών. Σημαντικότερος κλιματικός παράγοντας φαίνεται ότι είναι η θερμοκρασία. Σε θερμές περιοχές, η συσσώρευση των ανθοκυανών στους φλοιούς των ερυθρών ποικιλιών αναστέλλεται. Τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για τη βιοσύνθεση των ανθοκυανών της σταφυλής παρατηρήθηκε ότι καταστέλλονται από τις υψηλές θερμοκρασίες (Mori et al., 2005 ; Yamane et al., 2006). Αποτελέσματα έρευνας υπέδειξαν επίσης, την πιθανότητα οι αυξημένες θερμοκρασίες να οδηγούν σε μείωση της συσσώρευσης των ανθοκυανών όχι μόνο λόγω της καταστολής του μεταβολικού τους μονοπατιού αλλά και λόγω μείωσης της σταθερότητας των μορίων και καταβολισμού τους (Shaked-Sachray et al., 2002).

Δομικά, οι ανθοκυάνες είναι ετεροζίτες, των οποίων το άγλυκο μέρος είναι υδροξυλιωμένο και μεθυλιωμένο παράγωγο του φαινυλ-2-βενζοπυριλίου και το σάκχαρο είναι πάντα αλδόζη, κυρίως γλυκόζη. Το κατιόν φλαβυλίου αποτελείται από δύο βενζοϊκούς δακτυλίους συνδεδεμένους με έναν ακόρεστο κατιοντικό ετεροκυκλικό δακτύλιο οξυγόνου. Το άγλυκο μέρος διαφοροποιείται ανάλογα με τις υποκαταστάσεις -OH και -CH<sub>3</sub> στη βασική δομή. Το φλαβύλιο αποτελεί τον πυρήνα της ανθοκυανιδίνης και έχει C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> φλαβονοειδή σκελετό, ο οποίος περιέχει έναν

δακτύλιο ετεροκυκλικού βενζοπυρανίου (ως δακτύλιο C), ένα συντηγμένο αρωματικό δακτύλιο (ως δακτύλιο A) και ένα συστατικό φαινυλίου (ως B δακτύλιος). Στη μορφή κατιόντων, οι ανθοκυανιδίνες έχουν δύο διπλούς δεσμούς στον δακτύλιο C και συνεπώς φέρουν θετικό φορτίο. Πέντε μόρια έχουν εντοπιστεί στα σταφύλια και τους οίνους, με δύο ή τρεις υποκαταστάτες (-OH και -CH<sub>3</sub>). Αυτά τα μόρια είναι πολύ πιο σταθερά ως γλυκοζίτες (ανθοκυάνες) από ότι στην άγλυκη (ανθοκυανιδίνη) μορφή. Μόνο μονογλυκοζίτες ανθοκυανών και ακυλιωμένοι μονογλυκοζίτες ανθοκυανών έχουν ταυτοποιηθεί σε σταφύλια ποικιλιών *vinifera* (Ribéreau-Gayon et al., 2021). Αντίθετα, σε είδη και ποικιλίες των διαφόρων γενών της βορείου Αμερικής, όπως τα είδη *Vitis rupestris* και *Vitis vulpina*, οι ανθοκυάνες απαντούν και ως διγλυκοζίτες. Ο γλυκοζιτικός δεσμός σχηματίζεται στον 3ο άνθρακα της ανθοκυανιδίνης για την περίπτωση των μονογλυκοζιτών ενώ στην περίπτωση των διγλυκοζιτών σχηματίζεται ένας ακόμη δεσμός μεταξύ του άνθρακα της θέσης 5 της ανθοκυανιδίνης και ενός ακόμη μορίου σακχάρου (Σουφλερός, 2015). Η παρουσία διγλυκοζιτών σε οίνους αποκαλύπτει και την προέλευση τους (ευρωπαϊκές ποικιλίες ή υβρίδια). Από τις ελληνικές ποικιλίες αμπέλου έχει αναφερθεί η παρουσία διγλυκοζιτών μόνο στην ποικιλία Κολλινιατικό (Σταυρακάκης, 2019).

Οι ανθοκυάνες που απαντούν στις σταφυλές είναι η κυανιδίνη, η δελφινιδίνη, η πεονιδίνη, η πετουινιδίνη και η μαλβιδίνη, η οποία είναι συνήθως η κυρίαρχη ανθοκυάνη στα περισσότερα κόκκινα σταφύλια (Holton, 1995). Η ποσότητα και η αναλογία της κάθε ανθοκυάνης επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την ποικιλία και τις αμπελοκομικές τεχνικές. Η αναλογία κ η ποσότητα των ανθοκυανών επηρεάζει τόσο την απόχρωση όσο και την σταθερότητα του χρώματος, τα οποία επηρεάζονται άμεσα από την υδροξυλίωση και την μεθυλίωση του δακτυλίου B των ανθοκυανιδινών. Οι μπλε αποχρώσεις ενισχύονται με την αύξηση ύπαρξης ελεύθερων υδροξυλομάδων, ενώ η ερυθρότητα εντείνεται με την αύξηση της μεθυλίωσης των υδροξυλομάδων (Jackson, 2008). Η ύπαρξη υδροξυλίων σε όρθο-θέση καθιστά μια ανθοκυάνη πιο ασταθή συγκριτικά με μια άλλη με μεθύλια ως υποκαταστάτες. Για το λόγω αυτό η δελφινιδίνη και η κυανιδίνη είναι η πιο ασταθής (Ribéreau-Gayon et al., 2021).

Η ένταση του χρώματος δεν εξαρτάται μόνο από την αναλογία και την ποσότητα των ανθοκυανών της σταφυλής και του παραγόμενου οίνου. Οι ανθοκυάνες έχουν την ιδιότητα να αποχρωματίζονται ανάλογα με το περιβάλλον στο οποίο βρίσκονται. Η ύπαρξη ή μη οξυγόνου, το pH, ο θειώδης ανυδρίτης, το ασκορβικό οξύ καθώς και η ύπαρξη άλλων στοιχείων (λόγου χάρη μέταλλα) επηρεάζουν την δράση των ανθοκυανών, μετατρέποντάς έτσι σε άχρωμα μόρια ή σε μεγαλύτερης έντασης και διαφορετικής απόχρωσης, ως μια αντιστρεπτή ή μη αντίδραση (Ribéreau-Gayon et al., 2021).

Μετά την εκχύλιση από το σταφύλι, οι ανθοκυανίνες υφίστανται πολλές αντιδράσεις κατά την οινοποίηση και την παλαίωση. Οι ποσότητες ανθοκυανινών και ταννινών, το διαλυμένο οξυγόνο, το pH και η παρουσία μεταβολιτών του ζυμομύκητα (π.χ. ακεταλδεΐδη, πυροσταφυλικό οξύ) επηρεάζουν αυτές τις αντιδράσεις. Πχ, σε χαμηλό pH το ηλεκτροφιλικό ιόν φλαβυλίου είναι η πιο άφθονη μορφή ανθοκυανίνης ενώ σε υψηλότερο pH η ένυδρη μορφή της πυρηνόφιλης είναι η πιο άφθονη μορφή. Η αναλογία ταννίνης προς ανθοκυανίνη καθορίζει τις αναλογίες των παραγώγων ταννίνης και των πολυμερών ανθοκυανίνης (Fulcrand et al., 2004).

### 2.3.2 Σάκχαρα

Τα σάκχαρα κατατάσσονται στους πρωτογενούς μεταβολίτες, βρίσκονται στα σταφύλια και ανήκουν στους παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα των γλεύκων και των οίνων, ενώ τα κυριότερα σάκχαρα θεωρούνται η γλυκόζη και η φρουκτόζη (Eyduvan et al., 2015). Στους οίνους εξαιτίας της διαδικασίας της ζύμωσης, αυτές οι ενώσεις εμφανίζονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ υπάρχει και η παρουσία μη ζυμώσιμων σακχάρων όπως ξυλόζη και αραβινόζη (Coelho et al., 2018). Το προφίλ και η συγκέντρωση των σακχάρων και των οργανικών οξέων στα σταφύλια και στα παραγόμενα από αυτά προϊόντα, γλεύκος και οίνοι, εξαρτώνται από αρκετούς παράγοντες όπως το στάδιο ωρίμανσης του σταφυλιού, η περιοχή προέλευσης, το κλίμα, την ποικιλία και τις καλλιεργητικές συνθήκες (Lima et al., 2014). Για τον προσδιορισμό των σακχάρων στα γλεύκη και στους οίνους ο Διεθνής Οργανισμός Αμπέλου και Οίνου (OIV), προτείνει τη μέθοδο HPLC σε συνδυασμό με τη μέθοδο ανίχνευσης διαθλαστικού δείκτη (RID) (OIV, 2011).

Ακόμη μπορεί να αναφερθεί ότι κατά τη διάρκεια της ζύμωσης του γλεύκους, η γλυκόζη και η φρουκτόζη καταναλώνονται (αλκοολική ζύμωση), με παραγόμενα προϊόντα κυρίως την αιθανόλη και άλλες ουσίες, όπως οξικό οξύ, σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Η δεύτερη ζύμωση στην οποία μπορούν να υποβληθούν οι ερυθροί οίνοι (μηλογαλακτική ζύμωση) είναι υπεύθυνη για τον μετασχηματισμό του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ (Garde- Cerdà et al., 2011).

### 2.3.3 Οξέα

Το γλεύκος αποτελεί ένα τρόφιμο πλούσιο σε νερό και σάκχαρα, το οποίο περιέχει διαφορετικές κατηγορίες μεταβολιτών με συγκεντρώσεις να κυμαίνονται από mg L<sup>-1</sup> (μεθειονίνη, λυσίνη και trans-ρεσβερατρόλη) έως g L<sup>-1</sup> (σάκχαρα και οργανικά οξέα) (Granato et al., 2016). Ο προσδιορισμός των οργανικών οξέων χαμηλού μοριακού βάρους στο γλεύκος και στον οίνο είναι σημαντικός εξαιτίας της επίδρασης τους στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (γεύση, χρώμα, άρωμα) αλλά και στη μικροβιολογική

σταθερότητα. Η ανάλυση αυτών των οξέων επιτρέπει τον έλεγχο κατά τη διαδικασία ωρίμανσης του σταφυλιού και τον έλεγχο της εξέλιξης της οξύτητας του οίνου κατά τη διάρκεια διαφόρων σταδίων της διαδικασίας επεξεργασίας του (Mato et al., 2005). Αυτά τα οξέα προέρχονται απευθείας από το σταφύλι ή / και από τις διεργασίες οι οποίες υπόκεινται όπως είναι η αλκοολική ζύμωση, η μηλογαλακτική ζύμωση, η οξείδωση της αιθανόλης. Στο χυμό σταφυλιών, το τρυγικό και το μηλικό οξύ είναι τα κυρίαρχα οργανικά οξέα ενώ το ηλεκτρικό και το κιτρικό αποτελούν οξέα που υπάρχουν σε μικρό ποσοστό (Mato et al., 2005).

Το φυσικό τρυγικό οξύ ή διαφορετικά το D- τρυγικό αναφέρεται και ως ειδικό οξύ επειδή με εξαίρεση το σταφύλι είναι ελάχιστα διαδεδομένο στη φύση. Αποτελεί το σπουδαιότερο από τα σταθερά οξέα του οίνου, επηρεάζει την ενεργό οξύτητα αυτού, είναι το πιο ανθεκτικό στις βακτηριακές προσβολές του σταφυλιού, η προσθήκη του όμως σε υψηλά σχετικές δόσεις προσδίδει στον οίνο τραχύτητα και τον καθιστά στυφό (Σουφλερός, 2015). Στην περίπτωση του οίνου, γίνεται κοινή διαφοροποίηση μεταξύ οξέων τα οποία προέρχονται απευθείας από το σταφύλι (τρυγικό, μηλικό και κιτρικό οξύ) και σε εκείνα που προέρχονται, κατά βάση, κατά τη διαδικασία της ζύμωσης (ηλεκτρικό, γαλακτικό και οξικό οξύ). Επίσης, υπάρχουν μικρές ποσότητες άλλων οξέων όπως το γαλακτουρονικό, το γλυκουρονικό, το κιτρομηλικό, το διμεθυλογλυκερικό, το πυρουβικό και το ακετογλουταρικό οξύ (Mato et al., 2005). Η παρακολούθηση της εξέλιξης και της πορείας ειδικά του τρυγικού και του μηλικού οξέος αποτελούν δείκτες για την πορεία και τον έλεγχο του οίνου κατά τη διαδικασία οινοποίησης (αλκοολική ζύμωση, μηλογαλακτική ζύμωση) αλλά και την παλαίωσή του. Αυτά τα οργανικά οξέα μπορούν να αποτελέσουν δείκτες στην ανίχνευση αλλοιώσεων του οίνου, αλλά και ασθενειών λόγω της αλλαγής που εμφανίζουν. Για παράδειγμα, ορισμένες αλλοιώσεις οίνου σχετίζονται με την αύξηση των επιπέδων οξικού και γαλακτικού οξέος (Mato et al., 2005). Το τρυγικό και το μηλικό οξύ αποτελούν δείκτες χημικής και βιολογικής σταθερότητας του οίνου, με το τρυγικό οξύ να έχει ανακτηθεί από τα παραπροϊόντα της οινοποίησης, κυρίως από εκείνα που περιέχουν σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις τρυγικού οξέος όπως τα γίγαρτα και τους φλοιούς των ερυθρών σταφυλιών (Palma and Barroso, 2001). Κατά την επεξεργασία και ανάλυση των δειγμάτων τόσο του γλεύκους όσο και του οίνου ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην ποικιλία, τις εδαφοκλιματικές συνθήκες και τις καλλιεργητικές τεχνικές που εφαρμόζονται στον αμπελώνα για την ορθή αξιολόγηση και μελέτη των αποτελεσμάτων των χημικών αναλύσεων. Τα επίπεδα των οξέων στις σταφυλές είναι δεδομένα που χρησιμοποιούνται συχνά για τον προσδιορισμό της ημερομηνίας συγκομιδής, ιδιαίτερα από τη στιγμή που κάθε οξύ παρουσιάζει μια διαφορετική συμπεριφορά κατά τη διάρκεια του διαδικασίας ωρίμανσης σταφυλιών. Για παράδειγμα, το μηλικό οξύ παρουσιάζει συνεχή μείωση κατά την ωρίμανση ενώ το τρυγικό παραμένει σχεδόν αμετάβλητο (Palma and Barroso, 2001). Για τον



προσδιορισμό των οξέων, μια μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως και χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα μελέτη είναι η υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Η μέθοδος παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία, ταχύτητα, ακρίβεια και αποτελεσματικότητα. Εξαιτίας της μεγάλης σημασίας των σακχάρων και των οργανικών οξέων στην ποιότητα των σταφυλιών, των γλεύκων και των οίνων έχουν περιγραφεί αρκετές διαδικασίες και μεθοδολογίες για τον προσδιορισμό τους, με κυριότερη τη μέθοδο της HPLC (Coelho et al., 2018). Παράδειγμα, αποτελεσματικότητας της, μπορεί να αποτελέσει πείραμα που πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας (με τη μέθοδο αλλαγής στήλης) για το διαδοχικό προσδιορισμό του μηλικού και του γαλακτικού οξέος στον οίνο. Η μέθοδος έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα, με ταυτόχρονη σύγκριση με άλλες μεθόδους ενώ ο συνολικός χρόνος ανάλυσης για ένα πείραμα ήταν περίπου δέκα λεπτά (Buglass and Lee, 2001).

Η ανάλυση των οργανικών οξέων κατέχει θεμελιώδη ρόλο στη δοκιμή της αυθεντικότητας των χυμών φρούτων. Ορισμένες από τις αναλυτικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται συνήθως για τον προσδιορισμό των οργανικών οξέων εμφανίζουν πολύ μικρή αναπαραγωγικότητα, συχνά δίνουν ψευδώς θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα για το τρυγικό οξύ και δεν προσφέρουν τη δυνατότητα επιβεβαίωσης από τον αναλυτή (Ehling and Cole, 2011). Για αυτό το λόγο η αυθεντικότητα, η ποιότητα των τροφίμων και ειδικότερα των χυμών φρούτων απαιτεί τη συνεχόμενη ανάπτυξη αξιόλογων αναλυτικών μεθόδων που θα εγγυούνται αξιοπιστία, αποτελεσματικότητα και ευαισθησία (Dasenaki and Thomaidis, 2019). Ως παράδειγμα μπορούν να δοθούν οι αντικρουόμενες αναφορές που υπάρχουν στη βιβλιογραφία σχετικά με την παρουσία ή την απουσία τρυγικού οξέος στο χυμό ροδιού ως μία πιθανή ένδειξη νοθείας με χυμό σταφυλιού (Ehling and Cole, 2011). Τα οργανικά οξέα και τα σάκχαρα έχουν συσχετιστεί με τη χημική ισορροπία των οίνων και των γλεύκων, ενώ ταυτόχρονα επιδρούν και στη γεύση (Coelho et al., 2018). Ανήκουν στους πρωτογενείς μεταβολίτες που υπάρχουν στα σταφύλια με το προφίλ και τη συγκέντρωση αυτών των ενώσεων να αποτελούν σημαντικές παραμέτρους σε σχέση με την επεξεργασία των γλεύκων και των οίνων καθώς και της τελικής τους χημικής σύνθεσης (Ali et al., 2010). Τα οργανικά οξέα όπως το τρυγικό, το μηλικό και το γαλακτικό οξύ, επηρεάζουν τη γευστική ισορροπία, τη χημική σταθερότητα και το pH (Silva et al., 2015). Μπορεί ακόμα να επισημανθεί ότι η παρουσία του οξικού οξέος αποτελεί δείκτη μικροβιολογικών αλλαγών (Lima et al., 2014). Η ανάλυση των οργανικών οξέων στους οίνους είναι απαραίτητη διαδικασία για τον ποιοτικό έλεγχο και την πορεία της οξύτητας κατά τα στάδια της οινοποίησης, λόγω του εντοπισμού σημαντικών αλλαγών μέσω των περιεχόμενων οξέων (Silva et al., 2015).

Το προφίλ και η συγκέντρωση των οργανικών οξέων είναι σημαντικές παράμετροι για την αξιολόγηση της επεξεργασίας και της χημικής σύνθεσης του γλεύκους και του οίνου, γιατί η παρουσία αυτών των ενώσεων μπορεί να προκαλέσει τη μείωση του pH του προϊόντος. Ως συνέπεια, αυξάνεται η σταθερότητα του χρώματος, καθώς οι ανθοκυάνες διατηρούν το ερυθρό χρώμα τους σε χαμηλό pH και ενδυναμώνεται η ισορροπία μεταξύ όξινων και γλυκών γεύσεων (Silva et al., 2015). Επιπλέον, πραγματοποιείται μέτρηση της ολικής οξύτητας. Ως ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα ορίζεται το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλοομάδων που βρίσκονται στο γλεύκος και, μετά την αλκοολική ζύμωση, στον οίνο είτε σε μοριακή αδιάστατη μορφή είτε σε μορφή ανιόντων ενώ συνήθως εκφράζεται σε ισοδύναμα  $\text{g L}^{-1}$  τρυγικού οξέος, εξαρτάται από την περιεκτικότητα του γλεύκους σε ελεύθερα οργανικά οξέα και δεν επηρεάζεται από το είδος των οργανικών οξέων (Σταυρακάκης, 2019).

Ένας ακόμη παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την περιεκτικότητα των οξέων είναι οι καλλιεργητικές τεχνικές όπως η λίπανση και η άρδευση. Πιο συγκεκριμένα η αζωτούχος λίπανση ενισχύει τη σύνθεση του μηλικού οξέος, αλλά μπορεί να μειώσει την περιεκτικότητα των ραγών σε τρυγικό οξύ. Ταυτόχρονα, η καλιούχος λίπανση φαίνεται να προκαλεί αύξηση της περιεκτικότητας τόσο του τρυγικού όσο και του μηλικού οξέος. Η άρδευση προκαλεί αύξηση της οξύτητας των ραγών μέσω της μείωσης της θερμοκρασίας στους ιστούς της ράγας από την αυξημένη διαπνοή, που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της καύσης του μηλικού οξέος (Σταυρακάκης, 2021).

## 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 3.1 Σχεδιασμός Πειράματος

#### 3.1.1 Πειραματικός Αμπελώνας

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε την καλλιεργητική περίοδο 2020-2021 σε πρέμνα των ποικιλιών οινοποιίας Ασύρτικο και Μαυροτράγανο (*Vitis vinifera* L.), σε αμπελώνες που βρίσκονται στην Οία, Σαντορίνη, Ελλάδα (36°28'22,5" Β, 25°23'14,7 "Ε). Όλα τα πρέμνα ήταν αυτόρριζα. Όσον αφορά την λευκή ποικιλία Ασύρτικο, υπήρχαν δύο αμπελώνες: ο ένας με το παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης της Σαντορίνης «κουλούρα» όπου τα αμπέλια κλαδεύονται με μακρό κλάδεμα αφήνοντας 4-6 κληματίδες των 8-10 οφθαλμών σε διαστήματα 2 m × 2 m, με αποτέλεσμα η πυκνότητα φύτευσης να είναι 2000 πρέμνα/στρέμμα και ένας αμπελώνας με προσανατολισμό Βορρά προς Νότο όπου τα πρέμνα είναι μορφωμένα σε μονόπλευρο γραμμικό (απλό Guyot) και κλαδεύονται με μακρό κλάδεμα σε κληματίδες των 8-10 οφθαλμών σε διαστήματα 2 m × 0,9 m × 0,9 m, με αποτέλεσμα η πυκνότητα φύτευσης να είναι των πρέμνων 6200 πρέμνα/ στρέμμα. Και οι δύο αμπελώνες ήταν μη αρδευόμενοι. Το έδαφος χαρακτηρίζεται από αργιλοαμμώδη υφή και πραγματοποιήθηκε πλήρης άροση. Όσον αφορά την ερυθρή ποικιλία Μαυροτράγανο, τα πρέμνα είναι μορφωμένα σε αμφίπλευρο γραμμικό (διπλό Guyot) και κλαδεύονται με μακρό κλάδεμα σε κληματίδες των 8-10 οφθαλμών σε διαστήματα 2 m x 0,9 m, με αποτέλεσμα η πυκνότητα φύτευσης να είναι 5500 πρέμνα/στρέμμα.

#### 3.1.2 Γνωρίζοντας τις ποικιλίες

##### **Ασύρτικο**

Θεωρείται η πλέον ευγενής λευκή ποικιλία του ελληνικού αμπελώνα. Κέντρο καλλιέργειας εδώ και πολλά χρόνια η θηραϊκή γη στην οποία σήμερα συγκεντρώνεται το 70% των καλλιεργούμενων εκτάσεων στην Ελλάδα. Ποικιλία , ζωνή, παραγωγική. Τα πρέμνα της στους αμπελώνες της Σαντορίνης καλλιεργούνται αυτόρριζα και μορφώνονται στο ιδιότυπο κύπελλο (κουλούρα) με πολύ χαμηλό κορμό (Σταυρακάκης, 2021). Στη Σαντορίνη, η εκτιμώμενη πυκνότητα φύτευσης των πρέμνων Ασύρτικου με σύστημα μόρφωσης την κουλούρα, κυμαίνεται από 1800 έως 2200 πρέμνα ανά στρέμμα, με μέση απόδοση περίπου  $2.080 \pm 1.180$  kg/στρέμμα σταφυλιών (2017–2020). (Χυράφης et al., 2021). Παρουσιάζει μεγάλη προσαρμοστικότητα στα διάφορα εδαφοκλιματικά περιβάλλοντα της χώρας φαίνεται όμως ότι το βέλτιστο της ποιότητας των οινών επιτυγχάνεται στο

συγκεκριμένο ιδιόμορφο εδαφοκλιματικό περιβάλλον του νησιού (Σταυρακάκης, 2021). Οι οίνοι που προκύπτουν από αυτή την ποικιλία χαρακτηρίζονται από γήινες μυρωδιές, μανιταριού και ξηρών καρπών, καθώς και λεμόνι και μέλι (Nanou et al., 2020). Πρόκειται για πολυδυναμική λευκή ποικιλία, με άριστα γλευκογραφικά χαρακτηριστικά και δυνατότητα οινοποίησης σε διάφορους βαθμούς τεχνολογικής ωριμότητας. Η ράγα του Ασύρτικου είναι μέτρια ως μεγάλη, σφαιρική έως ελλειψοειδής, ο φλοιός είναι κίτρινος με χρυσές αποχρώσεις, διαφανής καλυπτόμενος από λεπτό στρώμα κέρινης ανθηρότητας. Η σάρκα είναι μαλακή, μετρίως χυμώδης με χαρακτηριστική υπόξινη γεύση κατά την πλήρη ωρίμανση. Η περιεκτικότητα του γλεύκους της ποικιλίας σε σάκχαρα είναι 250 -260 g L<sup>-1</sup>, η ολική οξύτητα 7 -9,5 g L<sup>-1</sup> σε τρυγικό οξύ, το pH 3,10 έως 3,30 ενώ υπάρχει δε υψηλή περιεκτικότητα σε ταννίνες αλλά και σημαντική ποσότητα ευοξειδωτων ουσιών (Σταυρακάκης, 2010).

### **Μαυροτράγανο**

Η καλλιέργεια της ποικιλίας Μαυροτράγανο συνιστάται για τα νησιά Θήρα και Θηρασιά και επιτρέπεται στο αμπελουργικό διαμέρισμα των Κυκλάδων. Η σταφυλή είναι μεγάλη και σε ορισμένους κλώνους πολύ μεγάλη, κυλινδρική έως κυλινδροκωνική, κανονικής πυκνότητας έως πυκνή, συχνά με ανισορραγία και τις μικρές ράγες να παραμένουν πράσινες κατά την πλήρη ωρίμανση. Η ράγα είναι μέτρια σφαιρική, ο φλοιός ερυθροειδής μετρίου ως μεγάλου πάχους, σάρκα συνεκτική τραγανή μετρίως χυμώδης, γλυκιά, άχρωμη με λεπτό άρωμα. Πρόκειται για ποικιλία κανονικής ζωηρότητας και ευρωστίας, μετρίως παραγωγική, πρώιμη έως πολύ πρώιμη. Στους νέους αμπελώνες μορφώνεται σε χαμηλού ύψους γραμμικά (μονόπλευρα ή αμφίπλευρα Royat). Το γλεύκος της ποικιλίας χαρακτηρίζεται από την υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα 220-230 g L<sup>-1</sup>, την υψηλή οξύτητα 6,2-6,3 g L<sup>-1</sup> τρυγικό οξύ, το pH κυμαίνεται στο 3,3-3,4. Συμμετέχει στους πολυποικιλιακούς αμπελώνες της Σαντορίνης, ενώ τα τελευταία χρόνια καλλιεργείται και σε αμιγείς αμπελώνες, είτε ως αυτόρριζη είτε ως εμβολιασμένη, για την παραγωγή ποικιλιακών οινών. Ποικιλία από τις πλέον εκλεκτές του αιγαιοπελαγίτικου αμπελώνα. Το βέλτιστο των χαρακτήρων του χρώματος και του αρώματος επιτυγχάνεται από σταφυλές που τρυγούνται λίγο μετά το στάδιο της πλήρους ωρίμανσης (Σταυρακάκης, 2021). Το όνομά του μπορεί να αποδοθεί στην σφιχτή και μαυροκόκκινη σάρκα των σταφυλιών. Χαρακτηριστικό του φυτού της ποικιλίας είναι ο χαμηλής πυκνότητας χνοασμός στα φύλλα και το βλαστό. Βάση μοριακών αναλύσεων φαίνεται να παρουσιάζει γενετική συγγένεια με άλλες ποικιλίες της κατηγορίας «Μαυρούδια» που καλλιεργούνται ανά την Ελλάδα, όπως με το Μαύρο Αραχώβης και το Μαυρούδι Βουλγαρίας (Stavrakaki and Biniari 2017). Η γεμάτη χαρακτήρα, γεύση και αρώματα ερυθρή ποικιλία του Μαυροτράγανου φαίνεται να

προσφέρεται για παραγωγή οίνων παλαίωσης καθώς στην έρευνα των Kallithraka et al. (2014), ορισμένες από τις όχι τόσο γνωστές ποικιλίες αμπέλου, μετά από 8 χρόνια αποθήκευσης σε μπουκάλια, βρέθηκαν άξιες περαιτέρω μελέτης και χρήσης για την παραγωγή ποιοτικών κρασιών. Τα κρασιά με τα καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ήταν αυτά που προέρχονταν από τις ποικιλίες Λημνιώνα, Μπακούρι, Θράψα, Μαυραθήρικο και Μαυροτράγανο. Μεταξύ τεσσάρων ελληνικών μονοποικιλιακών ερυθρών κρασιών, το Αγιωργίτικο Νεμέας, το Ξινόμαυρο Νάουσας και το Φωκιανό Ικαρίας, το Μαυροτράγανο Σαντορίνης βρέθηκε να έχει από τις υψηλότερες περιεκτικότητες πτητικών ενώσεων και την υψηλότερη (μαζί με το Ξινόμαυρο) σε φαινολικές ενώσεις (Karimali et al., 2019).

### 3.2 Σκοπός Πειράματος

Η παραγωγικότητα ενός αμπελώνα είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με το κλίμα, επομένως η αύξηση της ατμοσφαιρικής θερμοκρασίας λόγω της κλιματικής αλλαγής επηρεάζει τόσο την απόδοση και τη σύνθεση του σταφυλιού όσο και τις οργανοληπτικές ιδιότητες του παραγόμενου οίνου. Μεταξύ όλων των κλιματικών παραμέτρων, η θερμοκρασία του αέρα θεωρείται η πιο σημαντική για την ανάπτυξη και την ωρίμανση των αμπελιών και των σταφυλιών τους, όταν ικανοποιούνται οι απαιτήσεις του φυτού σε νερό, ακτινοβολία και θρεπτικά συστατικά. Μια μέτρια υδατική καταπόνηση έχει βρεθεί ευεργετική για την ποιότητα των σταφυλιών σε αρκετές μελέτες, αλλά η έντονη υδατική καταπόνηση μπορεί να προκαλέσει καθυστερήσεις ωρίμανσης, χαμηλές αποδόσεις και μειωμένο χρώμα σταφυλιού. Οι θερμότερες συνθήκες λόγω της κλιματικής αλλαγής συνδέονται με μικρότερα διαστήματα ανάπτυξης των φαινολογικών σταδίων και πρόωμη συγκομιδή. Επιπλέον, όταν οι θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου υπερβαίνουν τους 22-24 °C, συχνά οδηγούν σε υπερβολική θερμική καταπόνηση των αμπελιών, η οποία συχνά συνδέεται με σοβαρή υδατική καταπόνηση στα ξηρά κλίματα. Τα υψηλά κύματα θερμότητας κατά την ωρίμανση μπορεί επίσης να προκαλέσουν αύξηση της συσσώρευσης διαλυτών στερεών σε συνδυασμό με ταχύτερη μείωση του οργανικού οξέος, αύξηση του pH και σχηματισμό άτυπων αρωματικών ενώσεων. Επομένως, τα κρασιά που προκύπτουν δεν έχουν καλή δυνατότητα παλαίωσης, έχουν κακό χρώμα και αλλοιωμένα αρωματικά προφίλ. Ακόμη, η ανάπτυξη και η ωρίμανση των σταφυλιών σε θερμότερες περιόδους μπορεί να προκαλέσει τη συρρίκνωσή τους, ένα φαινόμενο απώλειας βάρους των σταφυλιών από αφυδάτωση, που μπορεί να συμβεί σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια, είτε πριν την ανθοφορία είτε μετά την ανθοφορία. Στα φύλλα, το άνοιγμα των στοματίων μειώνεται και από την αυξημένη διαπνοή τα φύλλα μπορούν να απορροφήσουν νερό από τα σταφύλια και να οδηγήσουν σε συρρίκνωση των καρπών. Τα κρασιά από συρρικνωμένες ράγες παρατηρείται ότι

έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ, πιο στυπτικά και με χαρακτηριστικά προχωρημένης οξειδωτικής διαδικασίας. Η απώλεια νερού στα σταφύλια επιφέρει επίσης νέκρωση του στελέχους των τσαμπιών, η διαταραχή συσσώρευσης σακχάρου καθώς και ηλιακό έγκαυμα σε διάφορες ποικιλίες. Τα προαναφερθέντα προβλήματα μπορούν να περιοριστούν με τη χρήση ορισμένων φυτικών ουσιών (πινολίνη) και μετάλλων (καολίνη, ανθρακικό ασβέστιο) για την προστασία από βιοτικές συνθήκες (παράσιτα και ασθένειες) και αβιοτικές (έλλειψη νερού και υψηλές θερμοκρασίες) που μπορεί τελικά οδηγούν σε βιώσιμη διαχείριση του αμπελώνα, βελτιώνοντας την αποδοτικότητα χρήσης νερού των αμπελιών, διατηρώντας ή βελτιώνοντας τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των πρέμνων και των καρπών (Biniari et al., 2023). Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των επιδράσεων των διαφυλλικών εφαρμογών καολίνη στη σύνθεση των ραγών των ποικιλιών αμπέλου Ασύρτικο και Μαυροτράγανο, σε συνθήκες ξηρασίας στη Σαντορίνη με δύο διαφορετικά συστήματα μόρφωσης για την ποικιλία Ασύρτικο και ένα για το Μαυροτράγανο

### **3.3 Αμπελοκαλλιέργεια και Τρύγος, κλιματολογικές συνθήκες στη Σαντορίνη την περίοδο 2021**

Ο χειμώνας ήταν ήπιος με ελάχιστες βροχοπτώσεις. Το συνολικό ύψος βροχής από τον Σεπτέμβριο 2020 έως τον Ιούλιο 2021 ήταν 190 mm (329,8 mm κατά την αντίστοιχη προηγούμενη περίοδο). Η άνοιξη ήπια, χωρίς καταστροφικούς ανέμους, με εξαίρεση έναν ισχυρό Βοριά στις 31 Μαρτίου, μαζί με χαλαζόπτωση, που δεν επηρέασε όμως την παραγωγή καθώς τα πρέμνα δεν βρίσκονταν σε προχωρημένο στάδιο εκβλάστησης των λανθανόντων οφθαλμών. Η βροχή ήταν σχεδόν απύσχα. Το καλοκαίρι επικράτησαν έντονοι καύσωνες τον Ιούνιο και τον Ιούλιο. Γενικά ήταν μια ιδιαίτερα ξηρή χρονιά. Μέχρι το γυάλισμα των σταφυλιών οι αρχικές προβλέψειςμίλαγαν για όγκο παραγωγής πάνω από τον μέσο όρο της Σαντορίνης. Όμως ο συνδυασμός ανομβρίας και καύσωνα στρεσάρισε τα αμπέλια και σε πολλές περιπτώσεις στέγνωσε τα σταφύλια, ενώ οι υψηλές θερμοκρασίες πρωίμισαν την παραγωγή. Κατά συνέπεια τα αμπέλια δεν απέδωσαν το 100% των δυνατοτήτων τους. Ένα ακόμα πρόβλημα που παρατηρήθηκε ήταν η ανισσοραγία και η ανομοιομορφία στον βαθμό ωρίμανσης των σταφυλιών όχι μόνο στο ίδιο αμπέλι και στο πρέμνο, αλλά ακόμα και στο ίδιο το τσαμπί. Για το Ασύρτικο και το Μαυροτράγανο ο τρύγος στη Σαντορίνη πραγματοποιήθηκε τη χρονιά αυτή 7 Αυγούστου (Δελτίου Τρύγου 2021).

### **3.4 Μεταχειρίσεις - Δειγματοληψία**

Σε όλους τους αμπελώνες υπήρχαν πρέμνα που υποβλήθηκαν σε εφαρμογή καολίνη και πρέμνα μάρτυρες. Η δειγματοληψία διεξήχθη χρησιμοποιώντας ένα τυχαιοποιημένο σχέδιο, με δύο μπλοκ που αποτελούνταν από 20 πρέμνα το καθένα. Δύο μεταχειρίσεις αξιολογήθηκαν ως: α) μη επεξεργασμένα-μάρτυρας β) εφαρμογή καολίνη (Surround® WP, 95% καολίνη, 5% αδρανή συστατικά, AgNova Technologies Pty Ltd., Αυστραλία) . Οι εφαρμογές καολίνη έγιναν το πρωί και απουσία ανέμου. Οι εφαρμογές-ψεκασμοί με καολίνη έγιναν στο στάδιο της καρπόδεσης και του περκασμού. Συνολικά έγιναν 6 δειγματοληψίες, 2 για το Μαυροτράγανο (μάρτυρας και καολίνης) για το αμπελοτεμάχιο με γραμμικό σύστημα μόρφωσης και 4 για την ποικιλία Ασύρτικο (μάρτυρας και καολίνης για το αμπελοτεμάχιο με το γραμμικό σύστημα μόρφωσης και μάρτυρας-καολίνης για το αμπελοτεμάχιο με το παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης). Σε κάθε δειγματοληψία ληφθήκαν 5 σταφυλές από κύριους βλαστούς που βρίσκονταν σε διαφορετικές θέσεις (σκιασμένες ή μη σκιασμένες)..

Ακολούθησαν οι μηχανικές αναλύσεις των σταφυλών και των ραγών όπως περιγράφεται παρακάτω και μετρήθηκε η ολική, η ενεργή οξύτητα των γλευκών και η σακχαροπεριεκτικότητά τους. Ακολούθησε διαχωρισμός των ραγών σε φλοιούς, γίγαρτα και σάρκα, για κάθε επανάληψη. Οι φλοιοί και τα γίγαρτα αποξηράθηκαν με την διαδικασία της λυοφυλίωσης και στη συνέχεια κονιορτοποιήθηκαν σε μύλο. Η σάρκα κάθε επανάληψης πολτοποιήθηκε ξεχωριστά. Στη συνέχεια όλα τα δείγματα (φλοιοί, γίγαρτα, γλεύκος) διατηρήθηκαν υπό βαθιά κατάψυξη στους -80°C.

### **3.5 Συλλογή δειγμάτων**

Οι αναλύσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Αμπελογιαίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε από το κτήμα Σιγάλα που βρίσκεται στο βόρειο τμήμα της Σαντορίνης, στον αμπελώνα της Οίας. Για την ανάλυση και την αξιολόγηση των καλλιεργητικών επεμβάσεων και τη μελέτη των ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτήρων των σταφυλών στο Ασύρτικο και Μαυροτράγανο, συλλέχθηκε αντιπροσωπευτικό υλικό κατά την τεχνολογική ωρίμανση της κάθε ποικιλίας. Εν συνεχεία, πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις και οι αναλύσεις, όπως αυτές περιγράφονται παρακάτω, στις σταφυλές αλλά και στους φλοιούς, τα γίγαρτα, τη σάρκα και το γλεύκος που προέκυψαν από αυτές.

### **3.6 Μετρήσεις σταφυλών**

Κατά την αποκοπή των σταφυλών από τα πρέμνα πραγματοποιήθηκε η μέτρηση του βάρους τριών εκ των σταφυλών με τη μέθοδο της τυχαίας δειγματοληψίας σε γραμμάρια με τη χρήση ζυγού ακριβείας, ενώ υπολογίστηκε το μέσο βάρος σταφυλής διαιρώντας το βάρος κάθε ομάδας με τον αριθμό σταφυλών της ομάδας. Στην ίδια ομάδα σταφυλών μετρήθηκε το μήκος και το πλάτος με ακρίβεια χιλιοστού του μέτρου ενώ υπολογίστηκε το μέσο μήκος και πλάτος σταφυλής προσθέτοντας τις τιμές των σταφυλών της ομάδας και διαιρώντας το σύνολο με τον αριθμό σταφυλών της ομάδας.

### **3.7 Μετρήσεις ραγών**

Μετά τη συγκομιδή των σταφυλών τα δείγματα μεταφέρθηκαν (σε περιέκτες) στο εργαστήριο όπου με τη μέθοδο της τυχαίας δειγματοληψίας λήφθηκαν από όλες τις σταφυλές τρεις ομάδες των πενήντα ραγών από κάθε επέμβαση. Με τη χρήση ζυγού ακριβείας, δύο δεκαδικών ψηφίων, μετρήθηκε το βάρος της κάθε ομάδας και στη συνέχεια το βάρος διαιρέθηκε με τον αριθμό των ραγών για να υπολογιστεί το μέσο βάρος ράγας σε γραμμάρια, για την κάθε ομάδα. Εν συνεχεία μετρήθηκε με τη χρήση ψηφιακού παχύμετρου (βερνιέρου, 150 mm) το μήκος και το πλάτος, με ακρίβεια δύο δεκαδικών ψηφίων σε τριάντα ράγες επιλεγμένες τυχαία από όλες τις σταφυλές για κάθε ένα από τα δείγματα.

Δημιουργήθηκαν τρεις επαναλήψεις των δέκα ραγών για κάθε δείγμα των οποίων μετρήθηκε το νωπό βάρος με τη χρήση ζυγού ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων. Μετά τη μέτρηση, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε αλουμινόχαρτο και τοποθετήθηκαν στο ξηραντήριο με θερμοκρασία 70°C ( $\pm 1-2^\circ\text{C}$ ), όπου και παρέμειναν για τέσσερις με πέντε ημέρες, ενώ ακολουθήθηκε η μέτρηση του ξηρού τους βάρους με ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων. Επαναλαμβάνοντας τη μέθοδο της τυχαίας δειγματοληψίας συλλέχθηκαν τρεις ομάδες των δεκαπέντε ραγών για την κάθε επέμβαση όπου μετρήθηκε με ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων το βάρος τους. Μετά τη μέτρηση οι ράγες διαχωρίστηκαν σε φλοιούς, γίγαρτα και σάρκα ενώ μετρήθηκε ξεχωριστά και με ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων, το βάρος των φλοιών και των γιγάρτων, ενώ από τα παραπάνω μετρήθηκε και το βάρος της σάρκας. Από τις παραπάνω μετρήσεις υπολογίστηκε το ποσοστό βάρους υγρασίας, φλοιών, γιγάρτων και σάρκας.

Αφού ολοκληρώθηκαν οι ξεχωριστές μετρήσεις τα δείγματα των φλοιών και γιγάρτων των τριών επαναλήψεων για το κάθε δείγμα, ενώθηκαν σε ένα δείγμα, αποξηράνθηκαν με τη διαδικασία της λυοφυλίωσης, κονιορτοποιήθηκαν σε μύλο και διατηρήθηκαν υπό βαθιά κατάψυξη στους  $-18^\circ\text{C}$  για να ακολουθήσουν οι επόμενες αναλύσεις.



## 4. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΩΝ ΓΛΕΥΚΟΥΣ

Για την ανάλυση των γλεukoγραφικών χαρακτηριστικών πολτοποιήθηκε και διηθήθηκε με σουρωτήρι ποσότητα σταφυλών για την κάθε ποικιλία και επανάληψη. Στα παραγόμενα γλεύκη προσδιορίσθηκε η ολική ή ογκομετρούμενη και ενεργός οξύτητα, αλλά και η σακχαροπεριεκτικότητα τους, τα μεμονωμένα οξέα και τα σάκχαρα, με μία και τρεις επαναλήψεις για το κάθε δείγμα ακολουθώντας τη διαδικασία όπως περιγράφεται στη συνέχεια.

### 4.1 Ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα

Για τον προσδιορισμό της ολικής οξύτητας έγινε μηχανική κατεργασία των δειγμάτων από την οποία προέκυψε το προς ανάλυση γλεύκος στο οποίο έγινε η μέτρηση με τρεις επαναλήψεις για την κάθε επέμβαση. Το σύνολο των καρβοξυλοομάδων του γλεύκους καθορίζει την ολική οξύτητα η οποία εξαρτάται από την περιεκτικότητα και όχι από το είδος των οργανικών οξέων αλλά και την περιεκτικότητα σε ανόργανα ανιόντα και κατιόντα.

Για τον προσδιορισμό της οξύτητας στα γλεύκη χρησιμοποιήθηκε δείκτης φαινολοφθαλεΐνης και έγινε ογκομέτρηση των οξέων του γλεύκους με προσθήκη τιτλοδοτημένου αλκαλικού διαλύματος. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) κανονικότητας 0,1 N και αλκοολικό διάλυμα φαινολοφθαλεΐνης 1% ( $10 \text{ g L}^{-1}$ ) για την παρασκευή του οποίου διαλύονται 10 g φαινολοφθαλεΐνης σε 1000 mL αλκοόλη 95% vol. Κατά την πειραματική διαδικασία προστίθενται σε μία κωνική φιάλη (των 250 mL) 10 mL απεσταγμένο νερό, 10 mL γλεύκος και 3-4 σταγόνες διαλύματος φαινολοφθαλεΐνης. Με τη χρήση προχοΐδας (των 50 mL και ακρίβειας 0,1) προστίθεται το διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου, με ελαφριά ανάδευση, μέχρι να παρατηρηθεί η χρωματική αλλαγή η οποία σηματοδοτεί το τέλος της εξουδετέρωσης, ενώ σημειώνονται τα mL του NaOH που καταναλώθηκαν. Η φαινολοφθαλεΐνη αποτελεί το δείκτη που σηματοδοτεί το τέλος της αντίδρασης, δηλαδή την πλήρη εξουδετέρωση των οξέων του διαλύματος από το NaOH, αλλάζοντας χρώμα σε pH 8,3-10,5. Η αλλαγή του χρώματος που παρατηρείται στις έγχρωμες ποικιλίες είναι από ερυθρό σε ιώδες, ενώ στις λευκές είναι από λευκό σε ανοιχτό ερυθρό. Ο υπολογισμός της ολικής οξύτητας δίνεται από τη σχέση  $A=10 \cdot \chi$  ( $\text{meq L}^{-1}$ ), όπου  $\chi$  τα mL NaOH που καταναλώθηκαν, και εκφράζεται σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο γλεύκους από τη σχέση  $A=0,75 \cdot \chi$  ( $\text{g L}^{-1}$  τρυγικού οξέος).

## 4.2 Ενεργός οξύτητα

Ο προσδιορισμός της ενεργού οξύτητας έγινε όπως και στην ολική μετά τη μηχανική κατεργασία των δειγμάτων από την οποία προέκυψε το προς ανάλυση γλεύκος στο οποίο έγινε η μέτρηση με τρεις επαναλήψεις για την κάθε επέμβαση.

Το pH ορίζεται ως το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και δίδουν  $H^+$  και επηρεάζεται από τη συγκέντρωση και από το είδος των οργανικών οξέων.

Για τη μέτρηση της ενεργού οξύτητας χρησιμοποιείται ως όργανο το πεχάμετρο το οποίο βαθμονομείται με διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης (buffer). Πριν εμβαπτιστεί το ηλεκτρόδιο του οργάνου στο ποτήρι ζέσης όπου περιέχεται το δείγμα, ξεπλένεται με απεσταγμένο νερό και καθαρίζεται με καθαρό χαρτί. Το δείγμα πρέπει να βρίσκεται στους  $20^{\circ}C$  και σημειώνεται η ένδειξη του οργάνου με ακρίβεια δύο δεκαδικών ψηφίων.

## 4.3 Προσδιορισμός σακχάρων

Η μέτρηση της σακχαροπεριεκτικότητας ( $^{\circ}Brix$ ) γίνεται με τη χρήση διαθλασίμετρου χειρός μετά την πολτοποίηση των ραγών σε μίξερ από την οποία προέκυψε το προς ανάλυση γλεύκος στο οποίο έγινε η μέτρηση με τρεις επαναλήψεις για την κάθε επέμβαση.

Η θερμοκρασία του προς μέτρηση δείγματος πρέπει να είναι  $20^{\circ}C$ , διαφορετικά η τιμή διορθώνεται μέσω πίνακα. Πριν τη μέτρηση το όργανο ρυθμίζεται και μηδενίζεται με τη χρήση απεσταγμένου νερού με το όριο του διαχωρισμού των δύο ζωνών διαφορετικής φωτεινότητας να τοποθετείται στο μηδέν της κλίμακας. Η ρύθμιση του οργάνου πραγματοποιείται πριν και μετά από κάθε μέτρηση με τις επιφάνειες του πρίσματος να καθαρίζονται με χαρτί μίας χρήσης. Με τη βοήθεια πιπέτας μίας χρήσης (1 mL) τοποθετούνται δύο με τρεις σταγόνες του γλεύκους κάθε επέμβασης στην επιφάνεια του σταθερού πρίσματος ενώ κατεβαίνει το κινητό πρίσμα και κατευθύνεται το όργανο προς μία πηγή φωτός. Σε αυτή την κλίμακα διακρίνεται μία διαχωριστική γραμμή ανάμεσα σε μία φωτεινή και μία σκοτεινή ζώνη. Κατόπιν γίνεται ανάγνωση της ένδειξης στο σημείο της διαχωριστικής γραμμής και καταγράφεται η μέτρηση με ακρίβεια ενός δεκαδικού ψηφίου.

#### 4.4 HPLC: Μεμονομένα Οξέα - Μεμονομένα Σάκχαρα του γλεύκους

Αρχή μεθόδου της ανάλυσης Ο καθορισμός της δομής και η μελέτη των ιδιοτήτων μιας ουσίας προϋποθέτουν την απομόνωσή της σε καθαρή κατάσταση. Για τον καθαρισμό των οργανικών ενώσεων υπάρχουν διάφορες μέθοδοι, όπως η ανακρυστάλλωση, η απόσταξη, η εξάχνωση κ.α. Για το διαχωρισμό όμως ουσιών με παραπλήσια δομή χρησιμοποιείται κυρίως η μέθοδος της χρωματογραφίας η οποία είναι όχι μόνο αποτελεσματική αλλά και εύκολη και γρήγορη. Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ δύο φάσεων, μιας ακίνητης (stationary phase) και μιας κινητής (mobile phase). Η κινητή φάση μετακινεί τα συστατικά του μίγματος επί της ακίνητης με διαφορετική ταχύτητα. Μια ουσία, η οποία συγκρατείται ισχυρότερα από την ακίνητη φάση, μετακινείται με μικρότερη ταχύτητα από κάποια άλλη, η οποία συγκρατείται λιγότερο ισχυρά. Επειδή τα μόρια του μίγματος κατανέμονται συγχρόνως και στις δύο φάσεις αποκαθίσταται μια δυναμική ισορροπία για κάθε κατηγορία μορίων. Η κατανομή των μορίων ενός δείγματος μεταξύ των δύο φάσεων εξαρτάται από μια σταθερά ισορροπίας, η οποία ονομάζεται συντελεστής κατανομής  $k$ . Οι συγκεντρώσεις της ουσίας στις δύο φάσεις και ο συντελεστής κατανομής συνδέονται μεταξύ τους με τη σχέση  $k=CA/CB$ , όπου  $CA$  η συγκέντρωση της ουσίας στην ακίνητη φάση και  $CB$  η συγκέντρωση της ουσίας στην κινητή φάση. Η τεχνική HPLC μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διαχωρισμούς βασισμένους σε προσρόφηση, κατανομή, ιονανταλλαγή και μοριακό αποκλεισμό, ενώ για κάθε μία εφαρμογή διατίθενται από διάφορες παρασκευάστριες εταιρείες οι κατάλληλες στήλες. Οι χρησιμοποιούμενες στήλες είναι ευθύγραμμοι σωλήνες από χάλυβα, οι οποίες αγοράζονται έτοιμες από τις διάφορες παρασκευάστριες εταιρείες. Εξαιτίας των υψηλών πιέσεων που ασκούνται (μέχρι 5000 p.s.i) τα κλασσικά υλικά πληρώσεως των στηλών, όπως Sephadex και Sepharose, δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Έτσι στην HPLC χρησιμοποιούνται συνήθως πολυμερή διοξειδίου του πυριτίου (silica) ή αλουμίνας (alumina). Στην περίπτωση εκείνη, όπου η στατική φάση είναι πολικότερη από την κινητή φάση και τα πολικότερα συστατικά του δείγματος προσκολλώνται ισχυρότερα στην στατική φάση και επομένως εκλούνται αργότερα από τα λιγότερο πολικά συστατικά, η τεχνική ονομάζεται υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης κανονικής φάσεως (Normal Phase High Performance Liquid Chromatography). Κατά την τεχνική αυτή ο χρόνος έκλουσης ( $t_R$ ) των συστατικών μπορεί να μεταβληθεί μεταβάλλοντας την πολικότητα του διαλύτη έκλουσης. Στην περίπτωση εκείνη, όπου η στατική φάση είναι λιγότερο πολική από την κινητή φάση και τα πολικότερα συστατικά του δείγματος προσκολλώνται ασθενέστερα στην στατική φάση και επομένως εκλούνται γρηγορότερα από τα λιγότερο πολικά συστατικά, η τεχνική ονομάζεται υγρή χρωματογραφία υψηλής

απόδοσης ανάστροφης φάσεως (Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography, RP-HPLC). Κατά την RP-HPLC χρησιμοποιούνται υλικά πληρώσεως (κυρίως μικροπορώδη σωματίδια πηκτής διοξειδίου του πυριτίου) με χημικά συνδεδεμένες στατικές φάσεις (chemically bonded stationary phases). Στατικές φάσεις αλκυλομάδων με αλυσίδες C<sub>8</sub>H<sub>17</sub> (octyl) και C<sub>18</sub>H<sub>37</sub> (octadecyl) δεσμευμένες στη silica είναι ευρέως διαδεδομένες και βρίσκουν εφαρμογές σε διαχωρισμούς αμινοξέων, πεπτιδίων, πρωτεϊνών, βιταμινών, λιπών, στεροειδών, αντιβιοτικών, νουκλεοτιδίων, σακχάρων κ.ά. Κατά την RP-HPLC η ισχύς έκλυσης αυξάνει με την παράλληλη μείωση της πολικότητας του διαλύτη, διότι έτσι ελαττώνεται η συγκράτηση μιας ουσίας στη στατική φάση. Στην περίπτωση ουσιών που μπορούν να υποστούν ιονισμό, μια αλλαγή στο pH μπορεί να επηρεάσει την συγκράτηση και την εκλεκτικότητά τους. Γενικά, ο διαχωρισμός μιας συγκεκριμένης ουσίας εξαρτάται από το μοριακό βάρος, τη διαλυτότητα και τη χημική της δομή. Τα κριτήρια για την επιλογή διαλύτη κατάλληλου για έκλυση εξαρτώνται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος και της εκλουστικής ικανότητας του διαλύτη (Ταραντίλης κ.ά.).

### **Προσδιορισμός μεμονωμένων οξέων με HPLC αντίστροφης φάσης**

Για τον προσδιορισμό των μεμονωμένων οξέων του γλεύκους και συγκεκριμένα του τρυγικού, του μηλικού, του ασκορβικού, του ηλεκτρικού και του φουμαρικού χρησιμοποιήθηκε το γλέυκος των συλλεγμένων σταφυλών, ενώ για το κάθε δείγμα έγιναν τρεις επαναλήψεις.

Κατά την πειραματική διαδικασία έγινε προσθήκη 0,3 mL δείγματος σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε 1,2 mL μεταφωσφορικό οξύ ( με περιεκτικότητα 5% w/v). Ακολουθεί ανάδευση και φυγοκέντρηση στις 6.000 rpm για 10 min. Γίνεται παραλαβή του υπερκείμενου το οποίο φιλτράρεται με φίλτρο 0,45 μm και μεταφέρεται σε κατάλληλους περιέκτες (erpendorf), ενώ με τη χρήση σύριγγας- ένεσης τοποθετείται στην HPLC για την απαιτούμενη ανάλυση. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν μεθανόλη καθαρότητας HPLC και νερό καθαρότητας HPLC.

Με τη χρήση πρότυπων καμπύλων αναφοράς με δεδομένες και συγκεκριμένες συγκεντρώσεις βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων για κάθε οξύ. Η ταυτοποίηση των οξέων στα δείγματα έγινε με γνώμονα τις πρότυπες ουσίες των οξέων, συγκρίνοντας τους χρόνους συγκράτησης (tR) και του φάσματος απορρόφησης.

## Προσδιορισμός σακχάρων του γλεύκους με HPLC

Για τον προσδιορισμό των σακχάρων του γλεύκους και συγκεκριμένα της φρουκτόζης και της γλυκόζης χρησιμοποιήθηκε το γλεύκος των συλλεγμένων σταφυλών, ενώ για το κάθε δείγμα έγιναν τρεις επαναλήψεις.

Κατά την πειραματική διαδικασία έγινε προσθήκη 0,4 mL δείγματος σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε 0,6 mL νερό καθαρότητας HPLC. Ακολουθεί ανάδευση και φυγοκέντρηση στις 6.000 rpm για 6 min. Γίνεται παραλαβή του υπερκείμενου το οποίο φιλτράρεται με φίλτρο 0,45 μm και μεταφέρεται σε κατάλληλους περιέκτες (erpendorf), ενώ με τη χρήση σύριγγας- ένεσης τοποθετείται στην HPLC για την απαιτούμενη ανάλυση.

Με τη χρήση πρότυπων καμπύλων αναφοράς με δεδομένες και συγκεκριμένες συγκεντρώσεις βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των σακχάρων για κάθε τριάδα δειγμάτων. Η ταυτοποίηση των σακχάρων στα δείγματα έγινε με γνώμονα τις πρότυπες ουσίες των σακχάρων, συγκρίνοντας τους χρόνους συγκράτησης (tR) και του φάσματος απορρόφησης.

## 5. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ-ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΦΛΟΙΩΝ ΚΑΙ ΓΙΓΑΡΤΩΝ

Όπως έχει αναφερθεί οι φλοιοί και τα γίγαρτα της κάθε επέμβασης, αποξηράνθηκαν με τη διαδικασία της λυοφυλίωσης, κονιορτοποιήθηκαν σε γουδί (με προσθήκη υγρού αζώτου) για τους φλοιούς και σε μύλο για τα γίγαρτα και διατηρήθηκαν στους  $-18^{\circ}\text{C}$ . Για την ανάλυση και τον προσδιορισμό των ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτήρων των δειγμάτων ακολουθώντας τις μετρήσεις όπως παρουσιάζονται στη συνέχεια έγινε προετοιμασία δειγμάτων ακολουθώντας τη μέθοδο της εκχύλισης τόσο για τους φλοιούς όσο και για τα γίγαρτα.

### Εκχύλιση φλοιών

Με τη χρήση ζυγού ακριβείας (0,001 g) μετρήθηκαν 0,400 g δείγματος φλοιού με τρεις επαναλήψεις για το κάθε δείγμα ξεχωριστά στα οποία, τοποθετημένα στον κατάλληλο περιέκτη (falcon), προστέθηκαν 4 mL από παρασκευασμένο διάλυμα με σύσταση 40% ακετόνη, 40% μεθανόλη, 20% νερό, οξινισμένο με πυκνό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 12M, κατά 1% επί του τελικού όγκου του διαλύματος εκχύλισης, ενώ όλα τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καθαρότητας HPLC. Ακολουθήθηκε ανάδευση του διαλύματος σε συσκευή vortex και το ομογενοποιημένο διάλυμα παρέμεινε σε υδατόλουτρο (θερμοκρασία  $\sim 70^{\circ}\text{C}$ ) ώστε να πραγματοποιηθεί η εκχύλιση για 15 min. Ακολούθησε ανάδευση σε vortex και παραμονή στο υδατόλουτρο για άλλα 15 min και η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε άλλες 2 φορές (συνολικός χρόνος εκχύλισης 1h). Έπειτα το διάλυμα φυγοκεντρήθηκε για 10 min στις 5000 στροφές. Στη συνέχεια έγινε λήψη του υπερκείμενου (4 mL). Η διαδικασία επαναλήφθηκε άλλες δύο φορές (τρεις συνολικά) για το ίζημα από την αρχή με τη λήψη του υπερκείμενου κάθε φορά (4 mL + 4 mL + 4 mL = 12 mL τελικός όγκος, αναλογία ξηρού βάρους- εκχυλίσματος 1:30). Το υπολειπόμενο ίζημα απορρίπτεται.

Η διαδικασία της εκχύλισης επαναλαμβάνεται τρεις φορές συνολικά προκειμένου να διασφαλιστεί ότι στο τελικό διάλυμα θα έχει εκχυλιστεί όλη η ποσότητα των φαινολικών ενώσεων. Για το κάθε δείγμα γίνεται ξεχωριστή εκχύλιση και στο τέλος της διαδικασίας υπήρχαν τρεις επαναλήψεις για το κάθε δείγμα/ επέμβαση.

### Εκχύλιση γιγάρτων

Με τη χρήση ζυγού ακριβείας (0,001 g) μετρήθηκαν 0,400 g δείγματος γιγάρτων με τρεις επαναλήψεις για το κάθε δείγμα ξεχωριστά στα οποία, τοποθετημένα στον κατάλληλο περιέκτη (falcon) προστέθηκε 4 mL εξανίου. Ακολουθήθηκε ανάδευση, φυγοκέντρηση και απόρριψη του υπερκείμενου. Ο λόγος που προστίθεται το εξάνιο πριν τη διαδικασία της εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων είναι γιατί τα γίγαρτα

περιέχουν γιγαρτέλαιο το οποίο απορροφά σε μήκος κύματος 280 nm. Στο ίδιο μήκος κύματος απορροφούν και οι μεμονωμένες φαινολικές ενώσεις με συνέπεια να μην μπορούν να διαχωριστούν ικανοποιητικά οι ενώσεις στο όργανο της υψηλής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Μετά την αφαίρεση του γιγαρτέλαιου προστίθεται σε κάθε δείγμα 4 mL από παρασκευασμένο διάλυμα με σύσταση 80% μεθανόλη, 20% νερό, οξινισμένο με πυκνό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 12M, κατά 1% επί του τελικού όγκου του διαλύματος εκχύλισης, ενώ όλα τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καθαρότητας HPLC.

Για την παραλαβή του εκχυλίσματος των γιγάρτων, μετά την απομάκρυνση του γιγαρτέλαιου, ακολουθείται η ίδια διαδικασία όπως αυτή περιγράφεται για τους φλοιούς.

Η διαδικασία της εκχύλισης επαναλαμβάνεται τρεις φορές συνολικά προκειμένου να διασφαλιστεί ότι στο τελικό διάλυμα θα έχει εκχυλιστεί όλη η ποσότητα των φαινολικών ενώσεων. Για κάθε δείγμα γίνεται ξεχωριστή εκχύλιση και στο τέλος της διαδικασίας υπήρχαν τρεις επαναλήψεις για το κάθε δείγμα-επέμβαση.

Μετά την παρατήρηση της υψηλής συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων στους φλοιούς και στα γίγαρτα πραγματοποιήθηκε αραίωση των αρχικών εκχυλισμάτων, προσαρμοσμένη για την κάθε ανάλυση κατά τρόπο που θα δούμε παρακάτω στην περιγραφή της πειραματικής διαδικασίας για κάθε μία από τις αναλύσεις. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη καθαρότητας HPLC.

#### ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ:

*Σημείωση: Σε όλες τις αναλύσεις που ακολουθούν χρησιμοποιήθηκαν τα εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων ή αραιώσεις αυτών (ανάλογα την ευαισθησία της μεθόδου). Όπως αναφέραμε παραπάνω, έχουν ληφθεί τρεις επαναλήψεις εκχυλίσματος για το κάθε δείγμα. Στις παρακάτω αναλύσεις, πάντα λαμβάναμε τρεις μετρήσεις για την κάθε μία από τις τρεις επαναλήψεις εκχυλίσματος του κάθε δείγματος-επέμβασης.*

#### **5.1 Προσδιορισμός μεμονωμένων ανθοκυανών με HPLC**

Η αρχή λειτουργίας του οργάνου έχει περιγραφεί παραπάνω στον προσδιορισμό μεμονωμένων οξέων.

Τα αντιδραστήρια και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη για την HPLC ήταν:

- αντλία Gradient, Shimadzu Nexera x 2

- στήλη X- select της Waters C18, διαστάσεων 250x4,6mm και διαμέτρου 4,6 μm
- ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδιόδων UV- Vis (PDA)

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

- 95% διαλύτης Α αρχικά 0 min
- 50% διαλύτης Α στα 25 min
- 5% διαλύτης Α στα 30 min
- 95% διαλύτη Α στα 35 min όπου διατηρήθηκε ισοκρατικά για επιπλέον 5 min

#### Πειραματική Διαδικασία

Για τη μέτρηση χρησιμοποιήθηκαν τα αραιωμένα εκχυλίσματα 1:20 (0,2 ml αρχικό εκχύλισμα+ 3,8 ml μεθανόλη) των φλοιών της ερυθρής ποικιλίας μαυροτράγανο και μεθανόλη καθαρότητας HPLC.

Σε δοκιμαστικό σωλήνα

0,95 mL μεθανόλη → προσθήκη

0,05 mL αραιωμένου εκχυλίσματος → ανάδευση σε vortex,

Γίνεται φιλτράρισμα του τελικού διαλύματος με φίλτρο 0,45 μm προσαρμοσμένο σε σύριγγα ώστε να γίνει ταυτόχρονη μεταφορά του δείγματος σε κατάλληλους περιέκτες για αυτόματο δειγματολήπτη και τέλος η τοποθέτηση του περιέκτη στο όργανο της HPLC.

Για κάθε επανάληψη (από τις 3 κάθε μεταχείρισης) έγινε μία μέτρηση στην HPLC, καθώς το όργανο παρουσιάζει μεγάλη ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Χρησιμοποιώντας τις πρότυπες καμπύλες, βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων σε κάθε ανθοκυάνη ξεχωριστά. Για την κατασκευή των πρότυπων καμπυλών, της κάθε ανθοκυάνης, παρασκευάστηκαν διαλύματα με νερό, όπως και για τα δείγματα, στα οποία προστέθηκαν κλιμακούμενες συγκεντρώσεις των μονογλυκοζιτών-3 της κάθε ανθοκυάνης. Στη συνέχεια, ακολούθησε ταυτοποίηση των ανθοκυανών στα δείγματα βάση των πρότυπων συγκεντρώσεων των ανθοκυανών, συγκρίνοντας τους χρόνους συγκράτησης (tR) και το φάσμα απορρόφησης. Οι ανθοκυάνες που ταυτοποιήθηκαν είναι η κυανιδίνη, η δελφινιδίνη, η πετουινιδίνη, η μαλβιδίνη, ο οξικός εστέρας της μαλβιδίνης και ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης.



## 5.2 Μέτρηση ολικών φλαβονοειδών ενώσεων με τη μέθοδο χλωριούχου αργιλίου ( $\text{AlCl}_3$ )

### Αρχή της μεθόδου

Η αρχή της μεθόδου προσδιορισμού βασίζεται στο ότι το  $\text{AlCl}_3$  σχηματίζει σταθερά όξινα σύμπλοκα με την κετονοομάδα στη θέση  $\text{C}_4$  και την υδροξυλική ομάδα είτε της θέσης  $\text{C}_3$  είτε της θέσης  $\text{C}_5$  των φλαβονών και των φλαβονολών. Ακόμα, σχηματίζει όξινα και ασταθή σύμπλοκα με τις όρθο-υδροξυλομάδες των δακτυλίων Α και Β των φλαβονοειδών.

### Αντιδραστήρια

Υδατικό διάλυμα  $\text{NaNO}_2$  5% w/v. Για την παρασκευή του διαλύματος ζυγίζονται 5 g  $\text{NaNO}_2$  και διαλύονται σε τελικό όγκο 100 mL απιονισμένου νερού.

Υδατικό διάλυμα  $\text{AlCl}_3$  10% w/v. Για την παρασκευή του διαλύματος ζυγίζονται 10 g  $\text{AlCl}_3$  και διαλύονται σε τελικό όγκο 100 mL απιονισμένου νερού, κάτω από απαγωγό.

Διάλυμα  $\text{NaOH}$  1N

### Πειραματική διαδικασία

Για τους φλοιούς και τα γίγαρτα χρησιμοποιήθηκαν αραιωμένα εκχυλίσματα 1:20 (0,2 mL αρχικό εκχύλισμα+ 3,8 mL μεθανόλη). Η διαδικασία αυτή είναι κοινή και για τους φλοιούς και για τα γίγαρτα.

Σε έναν περιέκτη φυγόκεντρου εισάγονται με πιπέτα :

1mL απεσταγμένο  $\text{H}_2\text{O}$ , προστίθεται

0,250 mL αραιωμένο εκχύλισμα → ανάδευση σε vortex, προσθήκη

0,075 mL  $\text{NaNO}_2$  5%w/v →

Ανάδευση σε vortex, αναμονή 5 min, προσθήκη

0,075 mL  $\text{AlCl}_3$  10% w/v → ανάδευση σε vortex, αναμονή 6 min ,προσθήκη

0,5 mL  $\text{NaOH}$  1N → ανάδευση σε vortex, προσθήκη

0,6 mL απεσταγμένο  $\text{H}_2\text{O}$  → vortex και μέτρηση των δειγμάτων στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 510 nm (πλαστική κυψελίδα, λάμπα αλογόνου).

Για τον μηδενισμό του φωτόμετρου, παρασκευάστηκε σε έναν ακόμη πλαστικό δοκιμαστικό σωλήνα το ίδιο διάλυμα με μόνη διαφορά τη χρήση 0,250 mL μεθανόλης καθαρότητας HPLC αντί του αραιωμένου εκχυλίσματος.

Από κάθε επανάληψη προέκυψαν 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο από τις οποίες υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των ολικών φλαβονοειδών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση η κατεχίνη. Η περιεκτικότητα φλαβονοειδών ενώσεων σε φλοιούς και γιγάρτα των ποικιλιών, εκφράζεται σε

mg κατεχίνης / g νωπού ιστού ή

mg κατεχίνης / g ξηρού ιστού

### **5.3 Μέτρηση ολικών φλαβονών και φλαβονολών με τη μέθοδο του χλωριούχου αργιλίου ( $\text{AlCl}_3$ )**

Η αρχή της μεθόδου ανάλυσης για τη μέτρηση ολικών φλαβονών και φλαβονολών με τη μέθοδο του χλωριούχου αργιλίου ( $\text{AlCl}_3$ ) είναι κοινή με αυτή της μεθόδου ανάλυσης για τη μέτρηση ολικών φλαβονοειδών ενώσεων.

#### Αντιδραστήρια

Μεθανόλη Καθαρότητας HPLC

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

#### Πειραματική Διαδικασία

Στη μέτρηση αυτή δεν χρησιμοποιήθηκε το αραιωμένο εκχύλισμα, καθώς η συγκέντρωση των φλαβονολών θα ήταν δύσκολα ανιχνεύσιμη. Για αυτό χρησιμοποιήθηκε κατευθείαν το πυκνό εκχύλισμα. Η διαδικασία που ακολουθεί είναι κοινή σε δείγματα φλοιών και γιγάρτων.

Σε πλαστικό σωλήνα φυγόκεντρου εισάγονται

0,1 mL πυκνού εκχυλίσματος → προσθήκη

1 mL μεθανόλης κι ακολουθεί → ανάδευση σε vortex, προσθήκη

0,05 mL διάλυμα  $\text{AlCl}_3$  → ανάδευση σε vortex, προσθήκη

1,35 mL μεθανόλη → ανάδευση σε vortex,

Παραμονή του δείγματος για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου, σκοτάδι και ηρεμία

Μέτρηση των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 425 nm

Για τον μηδενισμό του φωτόμετρου, παρασκευάστηκε σε έναν ακόμη πλαστικό δοκιμαστικό σωλήνα το ίδιο διάλυμα με μόνη διαφορά τη χρήση 0,1 mL μεθανόλης καθαρότητας HPLC αντί του αραιωμένου εκχυλίσματος.

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

Η περιεκτικότητα ολικών φλαβονών και φλαβονολών σε φλοιούς και γίγαρτα των ποικιλιών, εκφράζεται σε

mg ρουτίνης / g νωπού ιστού ή mg ρουτίνης / g ξηρού ιστού

#### **5.4 Μέτρηση των ολικών φλαβονολών με τη μέθοδο της 4- διμεθυλ-αμμινοκινναμωμική αλδεΐδη (4- DMACA)**

##### Αρχή της Μεθόδου

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

##### Αντιδραστήρια

Διάλυμα 4-DMACA 0,1% w/v: Για την παρασκευή του χρησιμοποιήθηκαν σκόνη 4-DMACA 100 mg, διάλυμα 25% v/v HCl 1N, μεθανόλη καθαρότητας HPLC. Αρχικά αναμίχθηκαν 8,5 mL HCl με 91.65 mL μεθανόλης και στη συνέχεια διαλύθηκαν τα 100 mg 4-DMACA υπό συνεχή ανάδευση.

### Πειραματική διαδικασία

Για τη διαδικασία της μέτρησης είναι απαραίτητη η περαιτέρω αρραίωση των εκχυλισμάτων. Έτσι λαμβάνονται 0,3 mL από το αραιωμένο εκχύλισμα των φλοιών 1:20, συμπληρώνονται 1,2 mL μεθανόλης και προκύπτει μία αρραίωση 1:100 εκχυλίσματος φλοιών. Για τα γίγαρτα λαμβάνονται 0,2 mL από το αραιωμένο εκχύλισμα των γιγάρτων 1:20, προστίθενται 1,3 mL μεθανόλης και προκύπτει ακόμα μία αρραίωση 1:150. Οι όγκοι που χρησιμοποιήσαμε, προκύπτουν από την αρραίωση που θέλουμε να επιτύχουμε και από τον τελικό όγκο του περαιτέρω αραιωμένου εκχυλίσματος που θέλουμε να είναι 1,5 mL.

Η διαδικασία της μέτρησης είναι κοινή για τους φλοιούς και για τα γίγαρτα.

Σε δοκιμαστικό σωλήνα φυγοκέντρου

1 mL DMACA → προσθήκη

0,1 mL αραιωμένο εκχύλισμα → ανάδευση με vortex

Το δείγμα παρέμεινε σε ηρεμία και σε θερμοκρασία δωματίου για 10'. Ακολούθησε μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 640 nm.

Σε δύο ακόμα δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθεται μεθανόλη καθαρότητας HPLC αντί για δείγμα και ακολουθείται η ίδια διαδικασία, για το μηδενισμό του οργάνου.

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

Η περιεκτικότητα ολικών φλαβανολών σε φλοιούς και γίγαρτα των ποικιλιών, εκφράζεται σε

mg κατεχίνης / g νωπού ιστού ή

mg κατεχίνης / g ξηρού ιστού

## **5.5 Μέτρηση ολικών ορθοδιφαινολών με τη μέθοδο Roussos και Pontikis**

### Αρχή της μεθόδου

Ο προσδιορισμός των ολικών ο-διφαινολών έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται από τους Roussos και Pontikis (2001). Η μέθοδος βασίζεται στη

ξεχωριστή μέτρηση απορροφήσεων στα 370nm των διαλυμάτων με προσθήκη  $\text{NaMoO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

### Αντιδραστήρια

Φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα 0,1 M και pH=5,8

5% w/v  $\text{NaMoO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

### Πειραματική Διαδικασία

Στη μέτρηση αυτή δεν χρησιμοποιήθηκε αραιωμένο εκχύλισμα καθώς η συγκέντρωση των ο-διφαινολών θα ήταν δύσκολα ανιχνεύσιμη. Για αυτό χρησιμοποιήθηκε κατευθείαν το πυκνό εκχύλισμα. Η διαδικασία που ακολουθεί είναι κοινή και για τους φλοιούς και για τα γίγαρτα.

Σε πλαστικό σωλήνα φυγόκεντρου εισάγονται

0, 45mL απεσταγμένο  $\text{H}_2\text{O}$  → προσθήκη

0,05 mL εκχυλίσματος του δείγματος → ανάδευση σε vortex, προσθήκη

0,5 mL φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα με συγκέντρωση 0,1 M και pH=5,8 → ανάδευση σε vortex, προσθήκη

1 mL  $\text{NaMoO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  περιεκτικότητας 5% w/v → vortex ,

Παραμονή των δειγμάτων σε ηρεμία και σκοτάδι για 15 min πριν τη μέτρηση →

Μέτρηση των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο. Η μέτρηση γίνεται στα 370 nm με γυάλινη κυψελίδα χαλαζία με λάμπα ορατού και λάμπα δευτερίου.

Για τον μηδενισμό του οργάνου προστίθεται αντί για δείγμα, εκχυλιστικό φλοιών και γιγάρτων αντίστοιχα και ακολουθείται η ίδια διαδικασία όπως και για τα υπόλοιπα δείγματα. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των ολικών ο-διφαινολών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση το καφεϊκό οξύ σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

Η περιεκτικότητα ορθο-διφαινολών σε φλοιούς και γίγαρτα των ποικιλιών, εκφράζεται σε

mg καφεϊκού οξέος/ g νωπού ιστού ή

mg καφεϊκού οξέος / g ξηρού ιστού

## 5.6 Προσδιορισμός ολικών ανθοκυανών (των φλοιών Μαυροτράγανου) και ολικών φαινολικών ενώσεων (Μαυροτράγανο-Ασύρτικο) με τη μέθοδο ILAND

### Αρχή της μεθόδου

Για να προσδιοριστεί η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων σε φλοιούς και γίγαρτα των ραγών αρχικά πρέπει να γίνει εκχύλιση και στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση στα 280 nm. Η μέτρηση των ολικών ανθοκυανών γίνεται στο έκχυλισμα φλοιών με μέγιστη απορρόφηση στα 520 nm. Όταν η μέτρηση στα 700 nm δίνει τιμή μεγαλύτερη από 0,01 (700 nm >0,01), τότε το αποτέλεσμα δεν είναι έγκυρο. Έτσι η πειραματική διαδικασία είναι κοινή για προσδιορισμό ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς της ερυθρής ποικιλίας και τον προσδιορισμό ολικών φαινολικών ενώσεων σε φλοιούς και γίγαρτα της λευκής και της ερυθρής ποικιλίας. Η μέτρηση αυτή μπορεί να μην συσχετίζεται άμεσα με τις τιμές που προκύπτουν κατά την οينوποίηση αλλά δίνει πληροφορίες για το σύνολο των ολικών φαινολικών στη ράγα (φλοιός, σάρκα και γίγαρτα).

### Αντιδραστήρια

Διάλυμα HCl 1 M, όπου για την Παρασκευή του αραιώθηκε 1:12 πυκνό HCl 12 M σε απιονισμένο νερό

### Πειραματική διαδικασία

Για τους φλοιούς και τα γίγαρτα χρησιμοποιήθηκαν αραιωμένα εκχυλίσματα 1:20 (0,2 mL αρχικό εκχύλισμα+ 3,8 mL μεθανόλη). Η διαδικασία που ακολουθεί είναι κοινή για τον προσδιορισμό ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς και για τον προσδιορισμό ολικών φαινολικών στους φλοιούς και στα γίγαρτα. Μόνη διαφορά είναι ότι η φασματοφωτομετρική μέτρηση για ανθοκυάνες πραγματοποιείται στα 520nm ενώ για ολικά φαινολικά στα 280 nm όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

0,125 mL αραιωμένο εκχύλισμα δείγματος → προσθήκη

2,5 mL διάλυμα HCl 1 M → vortex

Παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου και σκοτάδι για 3h →

Μέτρηση των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 520 nm για ολικές ανθοκυάνες και στα 280 nm για ολικά φαινολικά.

Για τον μηδενισμό του φωτόμετρου και στις δύο μετρήσεις, παρασκευάστηκε σε έναν ακόμη πλαστικό δοκιμαστικό σωλήνα το ίδιο διάλυμα με μόνη διαφορά τη χρήση 0,125 mL μεθανόλης καθαρότητας HPLC αντί του αραιωμένου εκχυλίσματος.

Η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά σε φλοιούς και γίγαρτα των ποικιλιών, εκφράζεται σε

mg γαλλικού οξέος/ g νωπού ιστού ή

mg γαλλικού οξέος / g ξηρού ιστού, ενώ

Η περιεκτικότητα σε ολικές ανθοκυάνες στους φλοιούς της ερυθρής ποικιλίας, εκφράζεται σε

mg μαλβιδίνης / g νωπού ιστού ή

mg μαλβιδίνης / g ξηρού ιστού.

## **5.7 Μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών με τη μέθοδο μεθυλικής κυτταρίνης (methyl cellulose)**

### Αρχή της μεθόδου

Η μέτρηση συγκέντρωσης συμπυκνωμένων ταννινών με μεθυλική κυτταρίνη είναι ένα μέσο μέτρησης της συγκέντρωσης ταννινών, μετά από ομογενοποίηση και εκχύλιση, στον οίνο και στα σταφύλια αλλά και σε άλλα υδατικά διαλύματα. Η συγκεκριμένη μέθοδος μετράει το σύνολο των ταννινών του δείγματος οίνου ή ράγας. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις αλληλεπιδράσεις των ταννινών με άλλα μόρια, όπως η μεθυλική κυτταρίνη (methyl cellulose) και στη δημιουργία αδιάλυτων συμπλόκων, τα οποία καθιζάνουν. Το πολυμερές που χρησιμοποιείται είναι η μεθυλική κυτταρίνη και ως εκ τούτου, η δοκιμασία μετρά τις ταννίνες που καθιζάνουν με τη μεθυλική κυτταρίνη, δηλαδή, μετρά την MCP - ταννίνη. Η δοκιμασία βασίζεται στην αφαίρεση των τιμών απορρόφησης- στα 280 nm με χρήση φασματοφωτόμετρου -των διαλυμάτων χωρίς προσθήκη μεθυλικής κυτταρίνης όπου δεν υπάρχει καθίζηση (control), μείον των αντίστοιχων, παρουσία αυτής και άρα με καθίζηση (treatment). Η μεθυλική κυτταρίνη δεν απορροφά στα 280 nm, και συνεπώς δεν επηρεάζει τις μετρήσεις.

### Αντιδραστήρια

Κορεσμένο διάλυμα θειικού αμμωνίου (ammonium sulfate): Η παρασκευή του διαλύματος έγινε με προσθήκη 300 mL απιονισμένου νερού σε ποτήρι ζέσεως των

500 mL και προστίθενται κρύσταλλοι θειικού αμμωνίου, υπό συνεχή ανάδευση, μέχρι να μην μπορεί να διαλυθεί άλλο. Συνεχίζεται η προσθήκη των κρυστάλλων μέχρι να υπάρχουν στον πάτο κρύσταλλοι θειικού αμμωνίου πάχους 1,5 cm περίπου.

Διάλυμα μεθυλικής κυτταρίνης 0,04%: Η παρασκευή του διαλύματος γίνεται με θέρμανση περίπου 300 mL απιονισμένου νερού στους 80 °C και ψύξη περίπου 700 mL απιονισμένου νερού στους 0-5 °C. Σε ποτήρι ζέσεως προστίθενται τα 300 mL απιονισμένου νερού στους 80 °C και προστίθενται 0,4 g μεθυλικής κυτταρίνης μέχρι να διαλυθεί τελείως με συνεχή ανάδευση. Το διάλυμα τοποθετείται σε υδατόλουτρο 0-5 °C και προστίθεται σταδιακά το κρύο νερό, αναδεύοντας το για 20-40 λεπτά. Βγαίνει από το υδατόλουτρο κι αφήνεται υπό ανάδευση για 12 ώρες.

### Πειραματική Διαδικασία

Για τους φλοιούς και τα γίγαρτα χρησιμοποιήθηκαν αραιωμένα εκχυλίσματα 1:20 (0,2 ml αρχικό εκχύλισμα+ 3,8 ml μεθανόλη). Η διαδικασία που ακολουθεί είναι κοινή για τη μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών σε φλοιούς και γίγαρτα.

*Για το control:*

Σε δοκιμαστικό σωλήνα

0,250 mL αραιωμένου εκχυλίσματος → προσθήκη

0,50 mL θειικού αμμωνίου →

και 1,75 mL απεσταγμένο H<sub>2</sub>O → ανάδευση με vortex και παραμονή του δείγματος σε ηρεμία και σε θερμοκρασία δωματίου για 10'.

Σε ακόμη ένα δοκιμαστικό σωλήνα προστίθεται αντί για δείγμα μεθανόλη και ακολουθείται η ίδια διαδικασία όπως και για το δείγμα. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιήθηκε για το μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου.

*Για το treatment:*

Σε δοκιμαστικό σωλήνα

0,250 mL αραιωμένου εκχυλίσματος → προσθήκη

0,750 mL μεθυλικής κυτταρίνης → ανάδευση με vortex και παραμονή του διαλύματος για 2-3' σε ηρεμία → προσθήκη

0,5 mL θειικού αμμωνίου → προσθήκη

1 mL απεσταγμένο H<sub>2</sub>O → ανάδευση με vortex και παραμονή του δείγματος σε ηρεμία και θερμοκρασία δωματίου για 10' →



Φυγοκέντρηση του δείγματος για 10' σε 6.000 στροφές.

Σε ακόμη ένα δοκιμαστικό σωλήνα προστίθεται αντί για δείγμα μεθανόλη και ακολουθείται η ίδια διαδικασία όπως και για το δείγμα με εξαίρεση τη φυγοκέντρηση του δείγματος όπου το δείγμα φιλτράρεται με φίλτρο 0,45 μm. Το διάλυμα χρησιμοποιήθηκε για το μηδενισμό του φωτομέτρου.

Ακολούθησε φωτομέτρηση των control και treatment στα 280 nm με κυψελίδα χαλαζία και λάμπα δευτερίου. Υπολογίστηκε η διαφορά των μετρήσεων για κάθε επανάληψη (A280=ACS-ATS) και χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των συμπυκνωμένων ταννινών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση η κατεχίνη σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

Η περιεκτικότητα συμπυκνωμένων ταννινών σε φλοιούς και γίγαρτα των ποικιλιών, εκφράζεται σε

mg κατεχίνης / g νωπού ιστού ή

mg κατεχίνης / g ξηρού ιστού.

## **5.8 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο αντιοξειδωτική ισχύς αναγωγής τρισθενούς σιδήρου (FRAP)**

### Αρχή της Μεθόδου

Η αρχή της μεθόδου FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power/ Αντιοξειδωτική Ισχύς Αναγωγής Τρισθενούς Σιδήρου) αναπτύχθηκε από τους Benzie και Strain το 1996. Στηρίζεται στην αναγωγή ενός συμπλόκου του τρισθενούς σιδήρου, από τα αντιοξειδωτικά του διαλύματος, προς ένα προϊόν με έντονο κυανό χρώμα. Μετράται φασματοφωτομετρικά η μεταβολή της απορρόφησης στα 593 nm. Η αλλαγή στην απορρόφηση σχετίζεται με την αναγωγική ισχύ των αντιοξειδωτικών ενώσεων που υπάρχουν στο μίγμα αντίδρασης και δίνουν ηλεκτρόνια.

### Αντιδραστήρια

Το διάλυμα FRAP: Όπου για τη διαδικασία παρασκευής του χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα αντιδραστήρια:

2,5 mL Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος συγκέντρωσης 0,3 M και pH= 3,6

2,5 mL Διάλυμα TPTZ 10 mM L<sup>-1</sup> σε διάλυμα HCl 40 mM L<sup>-1</sup>

2,5 mL Διάλυμα  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM  $\text{L}^{-1}$  και HCl 40 mM.

Το διάλυμα εργασίας FRAP παρασκευάζεται ημερησίως με ανάμιξη των παραπάνω..

### Πειραματική Διαδικασία

Για τη διαδικασία της μέτρησης είναι απαραίτητη η περαιτέρω αραίωση των εκχυλισμάτων. Έτσι λαμβάνονται 0,3 mL από το αραιωμένο εκχύλισμα των φλοιών 1:20, συμπληρώνονται 1,2 mL μεθανόλης και προκύπτει μία αραίωση 1:100 εκχυλίσματος φλοιών. Για τα γίγαρτα λαμβάνονται 0,2 mL από το αραιωμένο εκχύλισμα των γιγάρτων 1:20, προστίθενται 1,3 mL μεθανόλης και προκύπτει ακόμα μία αραίωση 1:150. Οι όγκοι που χρησιμοποιήσαμε, προκύπτουν από την αραίωση που θέλουμε να επιτύχουμε και από τον τελικό όγκο του περαιτέρω αραιωμένου εκχυλίσματος που θέλουμε να είναι 1,5 mL.

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι κοινή για τους φλοιούς και για τα γίγαρτα.

Σε δοκιμαστικό σωλήνα φυγοκέντρου:

0,1 mL αραιωμένο δείγμα → προσθήκη

1,1 mL FRAP → ανάδευση με vortex →

Το διάλυμα θερμαίνεται σε υδατόλουτρο 37 °C για 10' →

Μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 593 nm.

Σε δύο ακόμα δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθεται μεθανόλη καθαρότητας HPLC αντί για δείγμα και ακολουθείται η ίδια διαδικασία, για το μηδενισμό του οργάνου.

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης των αντιοξειδωτικών χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση το αντιοξειδωτικό διάλυμα trolox σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων. Χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη βρέθηκαν οι περιεκτικότητες των δειγμάτων.

Η περιεκτικότητα αντιοξειδωτικών σε φλοιούς και γίγαρτα των ποικιλιών, εκφράζεται σε

mg trolox /g νωπού ιστού ή

mg trolox /g ξηρού ιστού.

## 5.9 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH

### Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος προσδιορίζει την αντιοξειδωτική δράση μίας ουσίας. Το DPPH αποτελεί μία σταθερή ρίζα η οποία αλληλοεπιδρά με τα αντιοξειδωτικά μόρια και αδρανοποιείται, ενώ εμφανίζει ένα έντονο ιώδες χρώμα. Η μέθοδος στηρίζεται στην ικανότητα των αντιοξειδωτικών ενώσεων των εκχυλισμάτων να αποχρωματίζουν το διάλυμα DPPH. Η σταθερή ρίζα αντιδρά με τις φαινολικές ενώσεις (ArOH) είτε με απόσταση ενός φαινολικού υδρογόνου από την ρίζα του DPPH (HAT-αντίδραση) είτε με μεταφορά ηλεκτρονίου από την φαινολική ένωση ή από το ιόν προς την ελεύθερη ρίζα (ET -αντίδραση) (Foti et al., 2004).

### Αντιδραστήρια

Διάλυμα DPPH (1,1- διφαινυλο- 2- πικρυλο- υδροξύδιο): Για την παρασκευή του διαλύματος DPPH ζυγίζονται 10 mg DPPH και διαλύονται σε 20 mL μεθανόλης. Αυτό είναι το πρότυπο διάλυμα, ενώ με αραιώση παρασκευάζεται το διάλυμα μέτρησης με τη διατήρηση του να γίνεται υπό κατάψυξη.

### Πειραματική Διαδικασία

Για τη διαδικασία και αυτής της μέτρησης είναι απαραίτητη η περαιτέρω αραιώση των εκχυλισμάτων. Έτσι λαμβάνονται 0,375 mL από το αραιωμένο εκχύλισμα των φλοιών 1:20, συμπληρώνονται 1,125 mL μεθανόλης και προκύπτει μία αραιώση 1:80 εκχυλίσματος φλοιών. Για τα γίγαρτα λαμβάνονται 0,3 mL από το αραιωμένο εκχύλισμα των γιγάρτων 1:20, προστίθενται 1,2 mL μεθανόλης και προκύπτει ακόμα μία αραιώση 1:100. Οι όγκοι που χρησιμοποιήσαμε, προκύπτουν από την αραιώση που θέλουμε να επιτύχουμε και από τον τελικό όγκο του περαιτέρω αραιωμένου εκχυλίσματος που θέλουμε να είναι 1,5 mL.

Η διαδικασία της μέτρησης είναι κοινή για φλοιούς και γίγαρτα.

Σε δοκιμαστικό σωλήνα:

50 μL αραιωμένο εκχύλισμα → προσθήκη

1,95 mL DPPH → ανάδευση με vortex

Τα δείγματα παραμένουν για 30', σε θερμοκρασία δωματίου και σε ηρεμία στο σκοτάδι.

Σε δύο ακόμα δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθεται μεθανόλη καθαρότητας HPLC αντί για δείγμα και ακολουθείται η ίδια διαδικασία. Αυτοί οι δοκιμαστικοί σωλήνες αποτελούν τον μάρτυρα.

Στη συνέχεια μεταφέρονται στο φασματοφωτόμετρο και γίνεται μέτρηση απορρόφησης στα 515 nm σε πλαστική κυψελίδα και λάμπα ορατού. Η διαδικασία εκεί έχει ως εξής:

Αρχικά τοποθετείται στις δύο κυψελίδες του οργάνου, μεθανόλη καθαρότητας HPLC και πραγματοποιείται ο αρχικός μηδενισμός του οργάνου (auto zero). Έπειτα, αφήνοντας πάντα στην πίσω κυψελίδα την καθαρή μεθανόλη, προσθέτω στην μπροστινή τον μάρτυρα και παίρνω μέτρηση. Αντικαθιστώ το μάρτυρα με την πρώτη επανάληψη του πρώτου δείγματος και παίρνω μέτρηση. Ακολουθούν ομοίως οι υπόλοιπες επαναλήψεις. Κάθε φορά που αλλάζω δείγμα-μεταχείριση (δηλαδή μετά από τις 9 επαναλήψεις της κάθε μεταχείρισης), επαναλαμβάνω μια μέτρηση με τον μάρτυρα και συνεχίζω καθ' αυτόν τον τρόπο μέχρι το τέλος της διαδικασίας. Αυτό το πράττουμε καθώς με το πέρασμα του χρόνου το DPPH οξειδώνεται. Έτσι προσπαθούμε πάντα ο μάρτυρας και το δείγμα να βρίσκονται περίπου στο ίδιο στάδιο οξείδωσης κατά τη στιγμή της μέτρησης, αφού η περιεκτικότητα DPPH στον μάρτυρα σε σχέση με αυτή του δείγματος είναι αυτή που υποδεικνύει την ποσότητα DPPH στο δείγμα.

Η τελική ποσοτικοποίηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας στα δείγματα γίνεται βάση πρότυπης καμπύλης για την κατασκευή της οποίας χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ένωση το αντιοξειδωτικό διάλυμα trolox σε διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των φλοιών και γιγάρτων των ποικιλιών, εκφράζεται σε

mg trolox /g νωπού ιστού ή

mg trolox /g ξηρού ιστού.

## 6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

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

## 7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 7.1 Μηχανικές αναλύσεις σταφυλής και ράγας

Πίνακας 1: Μηχανικές αναλύσεις σταφυλής και ράγας

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Μήκος ράγας mm	Πλάτος ράγας mm	Βάρος 50 ραγών gr	Μήκος Σταφυλής cm	Πλάτος Σταφυλή cm	Βάρος Σταφυλής g
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>							
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	15,58±0,44 a	14,31±0,38 a	96,26±3,78 a	15,50±0,32 b	7,80±0,50 b	223,67±3,28 b
	Καολίνης	15,89±0,12 a	14,05±0,09 a	119,75±3,54a	16,83±0,12 b	8,87±0,19 ab	242,33±4,67 a
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	16,55±0,27 a	15,20±0,11 a	113,55±11,5 a	18,50±0,53 a	10,90±0,74 a	214,33±2,60 b
	Καολίνης	15,18±0,58 a	14,79±0,52 a	119,91±2,23 a	18,57±0,23 a	10,50±0,25 a	221,67±4,98 b
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>							
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	11,63±0,18 b	11,29±0,35 b	66,60±2,21 b	17,73±0,15 a	8,13±0,15 a	296,00±8,62 a
	Καολίνης	14,47±0,34 a	13,78±0,23 a	100,66±3,43 a	18,53±0,66 a	8,9±0,32 a	314,33±9,02 a

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

#### Ασύρτικο

Στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις μετρήσεις της ράγας ανάμεσα στο μάρτυρα και την επέμβαση με καολίνη όσον αφορά στο μήκος, πλάτος και μέσο βάρος 50 ραγών. Το ίδιο συμβαίνει και με το μήκος σταφυλής στις δύο επεμβάσεις. Τα πράγματα διαφοροποιούνται λίγο στο πλάτος και βάρος σταφυλής τα οποία ήταν μεγαλύτερα για τα σταφύλια που προήλθαν από τα πρέμνα που είχαν ψεκαστεί με καολίνη.

Στο γραμμικό σύστημα μόρφωσης δεν υπάρχει καμία στατιστικά σημαντική διαφορά για καμία από τις παραμέτρους του παραπάνω πίνακα.

Μεταξύ των δύο συστημάτων μόρφωσης, στο μήκος, πλάτος και βάρος σταφυλής παρουσιάζονται κάποιες στατιστικά σημαντικές διαφορές. Το γραμμικό σύστημα «έδωσε» σταφύλια με μεγαλύτερο μήκος και πλάτος σταφυλής για το μάρτυρα αλλά και για τα μεταχειρισμένα με καολίνη. Το αντίθετο συμβαίνει με το βάρος σταφυλής

όπου το παραδοσιακό σύστημα υπερέχει σε βάρος σταφυλών και μεταξύ μαρτύρων αλλά και επεμβάσεων με καολίνη.

#### Μαυροτράγανο

Στο Μαυροτράγανο, όπου έχουμε μόνο γραμμικό σύστημα μόρφωσης σε αυτό το πείραμα, οι στατιστικά σημαντικές διαφορές που παρουσιάστηκαν αφορούν τη ράγα και όχι τη γενική εικόνα σταφυλής (μήκος-πλάτος-βάρος). Πιο συγκεκριμένα, και στις τρεις παραμέτρους που εξετάσαμε για τη ράγα (μήκος-πλάτος-βάρος 50 ραγών), ο καολίνης επέφερε μεγαλύτερες τιμές.

Πίνακας 2: Μηχανικές αναλύσεις σταφυλής και ράγας

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Ποσοστό υγρασίας (%)	Ποσοστό βάρους φλοιών (%)	Ποσοστό βάρους γιγάρτων (%)	Ποσοστό βάρους σάρκας (%)
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>					
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	75,53±0,75 ab	16,88±2,85 ab	5,14±0,08 a	77,98±2,93 ab
	Καολίνης	68,08±0,67 c	25,04±2,07 a	4,07±0,04 b	70,89±2,03 b
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	77,82±0,33 a	13,75±1,60 b	3,37±0,34 b	82,88±1,38 a
	Καολίνης	73,89±0,49 b	14,71±0,76 b	2,43±0,16 c	82,86±0,63 a
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>					
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	66,61±1,02 a	18,00±1,14 a	4,50±0,43 a	77,5±1,48a
	Καολίνης	69,49±1,01 a	24,42±3,67 a	4,89±0,50 a	70,69±4,15a

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

#### Ασύρτικο

Στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης είχαμε στατιστικά σημαντικές διαφορές σε υγρασία, βάρος φλοιών-γιγάρτων-σάρκας μεταξύ μάρτυρα και μεταχείρισης με καολίνη. Οι παράγοντες αυτοί επηρεάζονται από την έκθεση του καρπού στο φως κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης της ράγας, ειδικά στα αρχικά στάδια. Μεγαλύτερης διάρκειας έκθεση στο φως, δείχνει να αυξάνει το μέγεθος της ράγας (Dokoozlian and Kliewer, 1996). Έτσι οι ράγες-μάρτυρες έχουν σαφώς μεγαλύτερες τιμές με εξαίρεση το ποσοστό βάρους φλοιών που είναι υψηλότερο σε αυτές με καολίνη.

Στο γραμμικό σύστημα μόρφωσης, όπου η έκθεση στο ηλιακό φως είναι μεγαλύτερη λόγω σχήματος πρέμνων, είχαμε λιγότερες διαφορές μεταξύ μεταχειρίσεων. Αυτές ήταν στο ποσοστό υγρασίας και στο ποσοστό βάρους γιγάρτων όπου και εδώ υπερिशύει ο μάρτυρας.

Οι μάρτυρες των δύο συστημάτων μόρφωσης είχαν διαφορές μεταξύ τους. Μεγαλύτερο ποσοστό σάρκας και ποσοστό υγρασίας παρατηρήθηκε στο μάρτυρα των γραμμικών πρέμνων, ενώ μεγαλύτερο ποσοστό βάρους φλοιών και γιγάρτων είχαν τα σταφύλια που προήλθαν από την κουλούρα. Όσον αφορά την επέμβαση με καολίνη στα δύο συστήματα μόρφωσης, παρατηρείται ακριβώς η ίδια εικόνα τιμών με αυτή της κουλούρας.

### Μαυροτράγανο

Στην ποικιλία αυτή, της οποίας τα δείγματα προέρχονται μόνο από γραμμικά πρεμνα, δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά στους υπό εξέταση παράγοντες μεταξύ των μεταχειρίσεων.

## 7.2 Μετρήσεις γλεukoγραφικών χαρακτηριστικών

Πίνακας 3: Μετρήσεις γλεukoγραφικών χαρακτηριστικών

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	°Brix	Βαθμός ωρίμανσης	pH	Ογκομετρούμενη οξύτητα g τρυγικού οξέος/ L γλεύκους
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>					
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	20,01±0 d	3,64±0,01 c	3,21±0,01 d	5,50±0,02 b
	Καολίνης	25,05±0 a	4,28±0,03 b	3,32±0 c	5,85±0,05 a
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	24,03±0 c	4,05±0,06 b	3,48±0 b	5,93±0,09 a
	Καολίνης	25,01±0 b	4,79±0,08 a	3,52±0 a	5,23±0,09 b
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>					
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	28,5±0a	5,33±0,07 a	3,41±0 a	5,35±0,07 b
	Καολίνης	28,5±0 a	4,54±0,10 b	3,32±0 a	6,28±0,13 a

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



### *Ασύρτικο*

Στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης καθώς και στο γραμμικό είχαμε στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλες τις παραπάνω παραμέτρους με τους καρπούς των πρέμνων μεταχειρισμένων με καολίνη να προηγούνται σε pH, °Brix και ογκομετρούμενη οξύτητα άρα και βαθμό ωρίμανσης. Μόνη εξαίρεση αποτελεί η ογκομετρούμενη οξύτητα στο γραμμικό σύστημα μόρφωσης που είναι υψηλότερη στον μάρτυρα.

Μεταξύ των δύο συστημάτων μόρφωσης, σε όλες τις παραπάνω μετρήσεις οι τιμές είναι υψηλότερες για τον μάρτυρα των γραμμικών πρέμνων. Στις μεταχειρίσεις με καολίνη, ελαφρώς πιο ανεβασμένα είναι τα σάκχαρα και η ογκομετρούμενη οξύτητα στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης. Το pH στο παραδοσιακό σύστημα είναι χαμηλότερο από το γραμμικό σύστημα μόρφωσης. Έτσι, βάση των παραπάνω, ο βαθμός ωρίμανσης μεταξύ των επεμβάσεων με καολίνη στα δύο συστήματα, παρουσιάζει πιο μειωμένες τιμές στο παραδοσιακό.

### *Μαυροτράγανο*

Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσιάζει η ογκομετρούμενη οξύτητα. Ούσα υψηλότερη στη μεταχείριση με καολίνη, προκαλεί πτώση στο βαθμό ωρίμανσης σε σχέση με τον μάρτυρα καθώς οι βαθμοί Brix είναι ίδιοι στις δύο μεταχειρίσεις.

## 7.3 Μετρήσεις HPLC

### Μέτρηση Μεμονωμένων Οξέων Γλεύκους

Πίνακας 4: Μετρήσεις μεμονωμένων οξέων με HPLC

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Τρυγικό οξύ mg/mL γλεύκους	Μηλικό οξύ mg/mL γλεύκους	Ασκορβικό οξύ μg/mL γλεύκους	Ηλεκτρικό οξύ μg/mL γλεύκους	Φουμαρικό οξύ μg/mL γλεύκους
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>						
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	6,83±0,29 ab	0,84±0,05 b	41,84±0,21c	0,56±0,02 d	19,76±0,76 d
	Καολίνης	7,46±0,25 a	1,48±0,12 a	82,72±1,00 a	1,42±0,01 b	31,04±0,49 b
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	5,76±0,43 bc	1,10±0,08 b	55,86±0,55 b	1,56±0,02 a	24,81±0,46 c
	Καολίνης	5,00±0,19 c	1,06±0,03 b	57,28±0,51 b	1,01±0,01 c	56,44±0,64 a
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>						
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	5,46±0,41 a	1,31±0,07 b	79,70±1,11 a	0,42±0,01 a	28,56±0,94 b
	Καολίνης	4,44±0,24 a	1,88±0,10 a	31,51±0,59 b	0,30±0,01 b	39,09±0,55 a

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

#### Ασύρτικο

Με στατιστικά σημαντικές διαφορές, η περιεκτικότητα του γλεύκους σε όλα τα οξέα είναι σαφώς μεγαλύτερη στις μεταχειρίσεις με καολίνη στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης των πρέμνων.

Το γραμμικό σύστημα μόρφωσης από την άλλη, παρουσιάζει την αντίστροφη εικόνα στο τρυγικό και ηλεκτρικό οξύ, με τον μάρτυρα να έχει τις υψηλότερες τιμές σε περιεκτικότητα αυτών των οξέων. Για το μηλικό και το ασκορβικό οξύ η διαφορά των τιμών των δύο μεταχειρίσεων δε διαφέρει σημαντικά ενώ το φουμαρικό είναι περισσότερο στη μεταχείριση με καολίνη.

Μεταξύ των δύο συστημάτων μόρφωσης, ο μάρτυρας του παραδοσιακού συστήματος υπερिशύει σε περιεκτικότητα τρυγικού, ασκορβικού, φουμαρικού και

ηλεκτρικού οξέος. Στις μεταχειρίσεις με καολίνη οι τιμές του παραδοσιακού είναι υψηλότερες μόνο για το φουμαρικό οξύ.

#### Μαυροτράγανο

Στην ποικιλία αυτή παρατηρούμε μια ανομοιομορφία των αποτελεσμάτων που έχει ως εξής : Ο μάρτυρας έδωσε υψηλότερες τιμές σε τρυγικό (χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά), ασκορβικό και ηλεκτρικό οξύ, ενώ η χρήση καολίνη επέφερε υψηλότερες περιεκτικότητες σε μηλικό και φουμαρικό οξύ.

#### Μέτρηση Μεμονωμένων Σακχάρων Γλεύκου

Πίνακας 5: Μετρήσεις Μεμονωμένων Σακχάρων με HPLC

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Φρουκτόζη g/L γλεύκου	Γλυκόζη g/L γλεύκου
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>			
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	85,17± 8,58 b	131,60±2,72 c
	Καολίνης	170,50±1,60 a	185,43±1,82 ab
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	173,27±2,77 a	178,10±1,72 b
	Καολίνης	174,63±5,78 a	190,77±3,40 a
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>			
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	227,17±6,03 a	267,63±1,60 b
	Καολίνης	233,97±0,64 a	273,97±1,28 a

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

#### Ασύρτικο

Στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης του Ασύρτικου, ο μάρτυρας παρουσίασε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σακχάρων στο γλεύκος των σταφυλιών από την επέμβαση με καολίνη.

Στο γραμμικό σύστημα παρατηρείται η ίδια εικόνα με τον μάρτυρα να δίνει τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σάκχαρα με τη διαφορά στη φρουκτόζη να μην είναι στατιστικώς σημαντική.

Ανάμεσα στα δύο συστήματα μόρφωσης και σχετικά με τους μάρτυρες, αρκετά υψηλότερες τιμές σε φρουκτόζη και γλυκόζη έχει αυτός του γραμμικού συστήματος. Μεταξύ των σταφυλιών που προέρχονται από μεταχείριση πρέμνων με καολίνη, υψηλότερη περιεκτικότητα σε σάκχαρα παρουσιάζουν και πάλι αυτά του γραμμικού.

## Μαυροτράγανο

Στο γραμμικό σύστημα μόρφωσης αυτής της ποικιλίας, η μεταχείριση με καολίνη επέφερε υψηλότερες συγκεντρώσεις σακχάρων από το μάρτυρα, στο γλεύκος των σταφυλιών χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά στην περιεκτικότητα φρουκτόζης.

### Μεμονωμένες Ανθοκυάνες των Φλοιών της Ποικιλίας Μαυροτράγανο

Πίνακας 6: Μετρήσεις Μεμονωμένων Ανθοκυανών με HPLC

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Μαλβιδίνη mg/ g νωπού ιστού	Οξικός εστέρας μαλβιδίνης mg/ g νωπού ιστού	Κουμαρικός εστέρας μαλβιδίνης mg / g νωπού ιστού	Δελφινιδίνη mg / g νωπού ιστού	Κυανιδίνη mg / g νωπού ιστού	Πετουνιδίνη mg / g νωπού ιστού
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>							
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	0,26±0,02 a	0,24±0,02 a	0,41±0 b	0,15±0 b	0,06±0 a	0,16±0 b
	Καολίνης	0,24±0,01 a	0,26±10,4 a	0,52±0 a	0,18±0 a	0,05±0 b	0,19±0 a

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

## Μαυροτράγανο

Μεταξύ των μεμονωμένων ανθοκυανών των φλοιών της ερυθρής αυτής ποικιλίας, στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων παρουσίασαν ο κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης, η δελφινιδίνη με τιμές υψηλότερες για τη μεταχείριση με καολίνη και η κυανιδίνη με υψηλότερες τιμές για το μάρτυρα. Η μαλβιδίνη και ο οξικός εστέρας της μαλβιδίνης δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.

## 7.4 Φασματοφωτομετρικές Αναλύσεις

### Ολικά Φλαβονοειδή

Πίνακας 7: Μετρήσεις ολικών φλαβονοειδών

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Ολικά φλαβονοειδή ΦΛΟΙΟΙ mg κατεχίνης /g νωπού ιστού	Ολικά φλαβονοειδή ΓΙΓΑΡΤΑ mg κατεχίνης/g νωπού ιστού
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>			
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	7,53 ±0,19 a	50,40 ±1,46 a
	Καολίνης	5,54 ±0,19 c	50,97 ±3,12 a
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	7,23 ±0,06 ab	54,68 ±1,53 a
	Καολίνης	6,65 ±0,23 b	50,58 ±1,39 a
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>			
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	16,16±0,58 b	120,57±2,60 b
	Καολίνης	24,16±1,50 a	197,47±7,98 a

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

#### Ασύρτικο

Οι μετρήσεις ολικών φλαβονοειδών στα δείγματα του παραδοσιακού συστήματος έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσων αφορά τους φλοιούς των σταφυλιών με το μάρτυρα να παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις ενώσεις αυτές. Στα γίγαρτα δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά των τιμών.

Στο γραμμικό σύστημα παρατηρείται η ίδια αναλογία. Μεγαλύτερες τιμές για τον μάρτυρα στις μετρήσεις των φλοιών και μη σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων για τα γίγαρτα.

Μεταξύ των δύο συστημάτων μόρφωσης, στους φλοιούς, είχαμε μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών φλαβονοειδών στο μάρτυρα του παραδοσιακού συστήματος και στην εφαρμογή καολίνη του γραμμικού συστήματος. Στα γίγαρτα δεν παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές σε καμία μεταχείριση μεταξύ των συστημάτων μόρφωσης.

## Μαυροτράγανο

Και στους φλοιούς και στα γίγαρτα αυτής της ποικιλίας, μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή έχουν σαφώς τα σταφύλια των πρέμνων όπου εφαρμόστηκε καολίνη.

## Ολικές Φλαβόνες-Φλαβονόλες

Πίνακας 8: Μετρήσεις Ολικών Φλαβονών-Φλαβονολών

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Ολικές Φλαβόνες-Φλαβονόλες <b>ΦΛΟΙΟΙ</b> mg ρουτίνης/ g νωπού ιστού	Ολικές Φλαβόνες-Φλαβονόλες <b>ΠΙΓΑΡΤΑ</b> mg ρουτίνης/ g νωπού ιστού
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>			
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	0,69±0,01 a	0,73±0,03 a
	Καολίνης	0,54±0,04 b	0,65±0,04 a
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	0,68± 0,01 a	0,73±0,03 a
	Καολίνης	0,78± 0,04 a	0,72±0,01 a
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>			
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	1,98±0,06 a	0,59±0,01 a
	Καολίνης	1,52±0,03 b	0,64±0,01 a

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

### Ασύρτικο

Στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης και όσον αφορά τους φλοιούς των σταφυλιών, υπάρχει μια στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης με καολίνη. Ο μάρτυρας φαίνεται να έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση φλαβονών-φλαβονολών από την επέμβαση καολίνη. Στα γίγαρτα που συλλέχθηκαν από τις δύο επεμβάσεις στο παραδοσιακό σύστημα καθώς και στους φλοιούς και τα γίγαρτα του γραμμικού συστήματος μόρφωσης, δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης με καολίνη συγκρίνοντας την κάθε περίπτωση μεμονωμένα.

Μεταξύ των δύο συστημάτων μόρφωσης, δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές συγκρίνοντας τους δύο μάρτυρες στις μετρήσεις φλοιών και γιγάρτων και τις επεμβάσεις με καολίνη στις μετρήσεις των γιγάρτων. Μοναδική εξαίρεση αποτελεί η επέμβαση με καολίνη στους φλοιούς της ποικιλίας με αυτούς που προέρχονται από σταφύλια γραμμικού συστήματος να υπερέχουν σε συγκέντρωση ολικών φλαβονών-φλαβονολών.

#### Μαυροτράγανο

Από την ανάλυση των γιγάρτων, δεν παρατηρείται διαφορά μεταξύ μάρτυρα και μεταχείρισης με καολίνη σε περιεκτικότητα αυτών σε φλαβόνες-φλαβονόλες. Στους φλοιούς όμως, ο μάρτυρας «έδωσε» υψηλότερες τιμές από την μεταχείριση με καολίνη.

### Ολικές Φλαβανόλες

Πίνακας 9: Μετρήσεις Ολικών Φλαβανολών

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Ολικές Φλαβανόλες ΦΛΟΙΟΙ mg κατεχίνης/g νωπού ιστού	Ολικές Φλαβανόλες ΓΙΓΑΡΤΑ mg κατεχίνης/g νωπού ιστού
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>			
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	92,93±7,22a	664,42±9,81 c
	Καολίνης	92,50±0,14 a	738,07±4,29 a
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	69,38±1,37 b	703,07±6,82 b
	Καολίνης	86,38±0,65 a	607,26±5,56 d
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>			
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	94,38±4,98 a	512,32±10,86 a
	Καολίνης	98,00±1,59 a	455,00±14,15 b

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

#### Ασύρτικο

Στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε ολικές φλαβανόλες μεταξύ μάρτυρα και καολίνη στις αναλύσεις των φλοιών του Ασύρτικου. Τα νέα δεν είναι τα ίδια για τα γιγάρτα καθώς εκεί η μεταχείριση με καολίνη επέφερε υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές φλαβανόλες.

Στο γραμμικό σύστημα, στους φλοιούς της ποικιλίας μετρήσαμε περισσότερες ολικές φλαβανόλες στην μεταχείριση με καολίνη ενώ στα γίγαρτα υψηλότερες τιμές είχε ο μάρτυρας.

Μεταξύ των δύο συστημάτων μόρφωσης, ο μάρτυρας του παραδοσιακού στις αναλύσεις των φλοιών, έχει σαφώς υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές φλαβανόλες από αυτόν του γραμμικού. Το ίδιο συμβαίνει και για τις δύο μεταχειρίσεις με καολίνη όπου μεταξύ των συστημάτων μόρφωσης υπερέχει σε περιεκτικότητα φλαβανολών αυτή του παραδοσιακού. Στις αναλύσεις γιαγάρτων, μεταξύ μαρτύρων υψηλότερες τιμές «δίνει» αυτός του γραμμικού ενώ μεταξύ μεταχειρίσεων με καολίνη, αυτή του παραδοσιακού συστήματος μόρφωσης.

#### Μαυροτράγανο

Από τις αναλύσεις γιαγάρτων της ποικιλίας προκύπτει μια στατιστικώς σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα να συγκεντρώνει υψηλότερες τιμές ολικών φλαβανολών. Στις αναλύσεις φλοιών δεν παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ μεταχειρίσεων.

#### Ορθο-διφαινόλες

Πίνακας 10: Μετρήσεις ο-διφαινολών

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Ο-διφαινόλες <b>ΦΛΟΙΟΙ</b> mg καφεϊκού οξέος/g νωπού ιστού	Ο-διφαινόλες <b>ΓΙΓΑΡΤΑ</b> mg καφεϊκού οξέος/g νωπού ιστού
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>			
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	0,45±0,02 a	1,83± 0,02 a
	Καολίνης	0,30±0 c	1,90±0,02 a
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	0,43±0,01 a	1,90±0,01 a
	Καολίνης	0,37±0,01 b	1,91±0,05 a
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>			
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	0,55±0,01 a	1,72±0,03 a
	Καολίνης	0,47±0 b	1,76±0,01 a

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



### Ασύρτικο

Στη μέτρηση όρθο-διφαινολών στους φλοιούς των σταφυλιών του παραδοσιακού συστήματος μόρφωσης ο μάρτυρας παρουσίασε υψηλότερες συγκεντρώσεις από την μεταχείριση με καολίνη. Στα γίγαρτα δεν σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.

Ούτε στα γίγαρτα από το γραμμικό σύστημα μόρφωσης βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Στους φλοιούς όμως και πάλι ο μάρτυρας βρέθηκε να έχει υψηλότερες συγκεντρώσεις ο-διφαινολών από τους φλοιούς των σταφυλιών όπου εφαρμόστηκε καολίνη.

Μεταξύ των δυο συστημάτων μόρφωσης των πρέμνων, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις ο-διαφαινολών μεταξύ μαρτύρων και μεταξύ μεταχειρίσεων καολίνη. Στους φλοιούς, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ μαρτύρων. Στις μεταχειρίσεις με καολίνη όμως, αυτή του γραμμικού συστήματος μόρφωσης υπερέχει σε συγκέντρωση ο-διφαινολών.

### Μαυροτράγανο

Και σε αυτή την ποικιλία τα γίγαρτα δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε ο-διφαινόλες μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων. Στους φλοιούς η συγκέντρωση είναι μεγαλύτερη για τον μάρτυρα.

## Ολικά Φαινολικά

Πίνακας 11: Μετρήσεις ολικών φαινολικών

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Ολικά Φαινολικά <b>ΦΛΟΙΟΙ</b> mg γαλλικού οξέος/ g νωπού ιστού	Ολικά Φαινολικά <b>ΓΙΓΑΡΤΑ</b> mg γαλλικού οξέος/ g νωπού ιστού
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>			
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	5,60±0,10 ab	7,19±0,51 a
	Καολίνης	5,11±0,17 b	5,99±0,25 a
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	6,06±0,21 a	6,90±0,33 a
	Καολίνης	5,68±0,29 ab	7,09±0,23 a
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>			
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	7,73±0,11 a	5,95±0,15 a
	Καολίνης	6,68±0,07 b	5,78±0,27 a

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

### Ασύρτικο

Στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης αυτής της ποικιλίας, δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές σε ολικά φαινολικά στα γίγαρτα μεταξύ μάρτυρα και μεταχείρισης με καολίνη. Οι φλοιοί του μάρτυρα από την άλλη, υπερισχύουν σε ολικά φαινολικά έναντι αυτών της μεταχείρισης με καολίνη.

Τα γραμμικά πρέμνα έδωσαν την ίδια εικόνα για τα γίγαρτα των σταφυλιών: καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά σε ολικά φαινολικά μεταξύ μάρτυρα και μεταχείρισης με καολίνη. Στους φλοιούς είναι που παρατηρείται κι εδώ διαφορά στις τιμές, με τον μάρτυρα και πάλι να προηγείται.

Μεταξύ των δύο μαρτύρων και των δύο μεταχειρίσεων με καολίνη, όσων αφορά τα γίγαρτα, δεν παρατηρείται καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο συστήματα μόρφωσης. Στους φλοιούς από την άλλη, υψηλότερες συγκεντρώσεις ολικών φαινολικών ενώσεων «έδωσε» ο μάρτυρας του γραμμικού και η μεταχείριση με καολίνη του γραμμικού έναντι αυτών της παραδοσιακής κουλούρας.

### Μαυροτράγανο

Και για αυτή την ποικιλία, τα γίγαρτα των δύο επεμβάσεων (μάρτυρας-καολίνης) δεν είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε περιεκτικότητα ολικών φαινολικών ενώσεων. Οι φλοιοί του μάρτυρα είχαν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις ολικών φαινολικών έναντι της επέμβασης με τον καολίνη.

## Ολικές Ανθοκυάνες στους φλοιούς της ποικιλίας Μαυροτράγανο

Πίνακας 12 : Μετρήσεις ολικών ανθοκυανών

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	ΟΛΙΚΕΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΕΣ ΦΛΟΙΩΝ mg μαλβιδίνης/g νωπού ιστού
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>		
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	0,59±0,02 a
	Καολίνης	0,45±0,01 b

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

### Μαυροτράγανο

Η μέτρηση ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς αυτής της ερυθρής ποικιλίας έδειξε πως οι φλοιοί των σταφυλιών που προήλθαν από τα πρέμνα που είχαμε μεταχειριστεί με καολίνη, συγκέντρωσαν μικρότερες ποσότητες σε ανθοκυάνες από τον μάρτυρα.

### Συμπυκνωμένες Ταννίνες

Πίνακας 13 : Μετρήσεις συμπυκνωμένων Ταννινών

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	TANNINES ΦΛΟΙΩΝ mg κατεχίνης/g νωπού ιστού	TANNINES ΓΙΓΑΡΤΩΝ mg κατεχίνης/g νωπού ιστού
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>			
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	19,70±0,73 bc	87,37±2,73 a
	Καολίνης	17,29±0,54 c	83,68±1,24 ab
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	22,53±0,07 a	78,67±1,09 b
	Καολίνης	21,44±0,62 ab	91,22±1,43 a
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>			
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	21,80±0,11 a	64,30±1,18 b
	Καολίνης	21,40±0,69 a	82,98±1,71 a

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

### Ασύρτικο

Στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης του Ασύρτικου, μεγαλύτερη συγκέντρωση ταννινών μετρήθηκε στον μάρτυρα σε σχέση με την μεταχείριση με καολίνη. Η σχέση αυτή ισχύει για την μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών στους φλοιούς αλλά και στα γίγαρτα της ποικιλίας.

Στο γραμμικό σύστημα μόρφωσης, ενώ ο μάρτυρας στις μετρήσεις των φλοιών βρέθηκε να συγκεντρώνει περισσότερες ταννίνες, στις μετρήσεις των γιγάρτων η επέμβαση με καολίνη «έδωσε» πιο αυξημένες τιμές.

Μεταξύ των συστημάτων μόρφωσης και ανά ίδια μεταχείριση, ο μάρτυρας και η μεταχείριση με καολίνη των φλοιών στο γραμμικό υπερέρχουν σε συμπυκνωμένες ταννίνες έναντι του παραδοσιακού. Στις μετρήσεις των γιγάρτων, ο μάρτυρας του

παραδοσιακού έχει την υψηλότερη συγκέντρωση ταννινών ενώ από τις μεταχειρίσεις με καολίνη υπερσχύει σε ταννίνες αυτή του γραμμικού.

#### Μαυροτράγανο

Δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων στις μετρήσεις των φλοιών ενώ στα γίγαρτα μεγαλύτερη συγκέντρωση ταννινών φαίνεται να επιφέρει η μεταχείριση με καολίνη.

### Αντιοξειδωτική ικανότητα

Πίνακας 14 : Μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας (μέθοδος FRAP)

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Αντιοξειδωτική Ικανότητα σε <b>ΦΛΟΙΟΥΣ</b> mg trolox/g νωπού ιστού	Αντιοξειδωτική Ικανότητα σε <b>ΓΙΓΑΡΤΑ</b> mg trolox/g νωπού ιστού
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>			
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	15,49±0,09 ab	135,93±2,41 b
	Καολίνης	16,15±0,01 a	154,23±5,54 a
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	14,60±0,94 ab	157,77±2,51 a
	Καολίνης	13,41±0,30 b	144,97±2,54 ab
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>			
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	16,16±0,58 b	120,57±2,60 b
	Καολίνης	24,16±1,50 a	197,47±7,98 a

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

#### Ασύρτικο

Στις μετρήσεις των φλοιών του παραδοσιακού συστήματος μόρφωσης, ελαφρώς πιο ανεβασμένες τιμές σε αντιοξειδωτικά έχει η επέμβαση με καολίνη. Το ίδιο συμβαίνει και στα γίγαρτα.

Στο γραμμικό σύστημα μόρφωσης, στις μετρήσεις φλοιών αλλά και γιγάρτων, ο μάρτυρας συγκεντρώνει τις περισσότερες αντιοξειδωτικές ουσίες μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων.

Μεταξύ των δύο συστημάτων μόρφωσης τώρα, στις μετρήσεις φλοιών, ο μάρτυρας και η μεταχείριση με καολίνη του παραδοσιακού έχουν υψηλότερες τιμές

αντιοξειδωτικών σε σχέση με τις αντίστοιχες μεταχειρίσεις του γραμμικού. Στις μετρήσεις των γιγάρτων, οι υψηλότερες τιμές αφορούν το μάρτυρα του γραμμικού έναντι του παραδοσιακού συστήματος και τη μεταχείριση με καολίνη του παραδοσιακού έναντι του γραμμικού συστήματος μόρφωσης.

#### Μαυροτράγανο

Στις μετρήσεις των φλοιών, υψηλότερη περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικές ουσίες παρουσίασε η επέμβαση με καολίνη ενώ στις μετρήσεις των γιγάρτων ελαφρώς πιο ανεβασμένες ήταν οι τιμές για τον μάρτυρα.

### Αντιοξειδωτική ικανότητα

Πίνακας 15 : Μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας (μέθοδος DPPH)

Σύστημα Μόρφωσης	Επέμβαση	Αντιοξειδωτική Ικανότητα σε ΦΛΟΙΟΥΣ mg trolox/g νωπού ιστού	Αντιοξειδωτική Ικανότητα σε ΓΙΓΑΡΤΑ mg trolox/g νωπού ιστού
<b>ΑΣΥΡΤΙΚΟ</b>			
Παραδοσιακό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	20,52±0,62 a	214,12±9,94 ab
	Καολίνης	13,98±0,73 b	193,25±1,12 b
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	14,59±0,76 b	236,77±10,94 a
	Καολίνης	21,25±0,85 a	225,23±6,30 ab
<b>ΜΑΥΡΟΤΡΑΓΑΝΟ</b>			
Γραμμικό Σύστημα Μόρφωσης	Μάρτυρας	24,42±0,41b	199,98±5,90 a
	Καολίνης	27,82±0,25a	189,41±3,04 a

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

#### Ασύρτικο

Στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης, στις μετρήσεις φλοιών αλλά και γιγάρτων μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε ο μάρτυρας σε σύγκριση με τη μεταχείριση με καολίνη.

Στο γραμμικό σύστημα, οι φλοιοί της μεταχείρισης με καολίνη παρουσίασαν τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα ενώ στις μετρήσεις γιγάρτων αυτά του μάρτυρα είχαν τις υψηλότερες τιμές.

Ανά όμοια μεταχείριση, μεταξύ των δύο συστημάτων μόρφωσης, οι φλοιοί του μάρτυρα του παραδοσιακού έδωσαν τις υψηλότερες τιμές σε αυτή τη μέτρηση ενώ η μεταχείριση με καολίνη του γραμμικού υπερίσχυσε έναντι του καολίνη του παραδοσιακού για τους φλοιούς. Στα γίγαρτα, ο μάρτυρας του γραμμικού παρουσίασε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με αυτόν του παραδοσιακού. Μεταξύ των επεμβάσεων με καολίνη στις μετρήσεις γιγάρτων, μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα είχαν αυτά του γραμμικού.

#### *Μαυροτράγανο*

Για τους φλοιούς, μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασαν εκείνοι που προήλθαν από την μεταχείριση πρέμνων με καολίνη ενώ για τα γίγαρτα υψηλότερες τιμές είχε ο μάρτυρας.

## 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η καλλιεργητική περίοδος 2020-2021 στον ήδη γεμάτο προκλήσεις τόπο της Σαντορίνης, από άποψη υψηλών θερμοκρασιών, δυνατών ανέμων, έλλειψης νερού, ιδιαιτερότητες καλλιεργητικών πρακτικών, είναι μια χρονιά επηρεασμένη από την έντονη κλιματική αλλαγή. Έτσι δημιουργείται η ανάγκη εφαρμογής νέων ευρηματικών τεχνικών στην αμπελοκαλλιέργεια, με σκοπό την προστασία των πρέμνων και των σταφυλών απέναντι σε αυτές τις δυσκολίες, ώστε να μπορούμε ακόμη και κάτω από αυτές τις αντιξοότητες να συγκομίζουμε ποιοτικά σταφύλια και κατ' επέκταση να συνεχίσουμε να παράγουμε ποιοτικούς οίνους που να αναδεικνύουν τα ιδιαίτερα και μοναδικά χαρακτηριστικά που έχει να προσδώσει σε αυτούς το terroir της Σαντορίνης. Στο πλαίσιο αυτό λοιπόν εκπονήθηκε αυτή η μελέτη, στην οποία διερευνήθηκε η επίδραση του διαφυλλικού ψεκασμού με καολίνη στα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών των ποικιλιών Ασύρτικου και Μαυροτράγανου (φαινολικά συστατικά, μορφολογία, βαθμό ωρίμανσης, ανάπτυξη οξύτητας κλπ) ως προς το αν βοηθάει στην καλύτερη ανάπτυξη των σταφυλιών, αν προσφέρει αντοχή απέναντι στην υδατική καταπόνηση και αν με τη χρήση του, επιτυγχάνεται η ποιοτική σύσταση των σταφυλών και των καρπών που επιθυμούμε ως προς τα φαινολικά και την αντιοξειδωτική ικανότητα.

Στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των σταφυλών και των ραγών, έχουμε υπεροχή της μεταχείρισης με καολίνη στο παραδοσιακό σύστημα του Ασύρτικου στο **βάρος και το πλάτος της σταφυλής**, ενώ για τις μεταχειρίσεις στο γραμμικό σύστημα μόρφωσης Ασύρτικου αλλά και στο Μαυροτράγανο, δεν είχαμε στατιστικά σημαντικές διαφορές όσων αφορά πλάτος και βάρος. Το μήκος σταφυλής δεν έχει σημαντικές διαφορές σε καμία από τις μεταχειρίσεις. Μεταξύ των συστημάτων μόρφωσης, ο καολίνης του γραμμικού στο Ασύρτικο «έδωσε» μεγαλύτερα μήκη και πλάτη σταφυλών από αυτόν του παραδοσιακού. **Μήκος, πλάτος και βάρος ραγών** επέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μόνο για το Μαυροτράγανο όπου ανώτερες τιμές είχε η μεταχείριση με τον καολίνη. Στα χαρακτηριστικά του γλεύκους τώρα, μεγαλύτερο **βαθμό ωρίμανσης** των ραγών πέτυχε ο καολίνης και στα δύο συστήματα μόρφωσης για το Ασύρτικο με το γραμμικό να έχει μεταξύ των δύο την ανώτερη τιμή. Δε συνέβη το ίδιο και στο Μαυροτράγανο όπου μεγαλύτερο βαθμό ωρίμανσης των σταφυλιών είχε ο μάρτυρας. Για το Ασύρτικο, παραδόξως, η **περιεκτικότητα της ράγας σε υγρασία** ήταν μεγαλύτερη στους μάρτυρες και των δύο συστημάτων μόρφωσης σε σχέση με τη μεταχείριση καολίνη, με πρώτο αυτόν του γραμμικού (στο Μαυροτράγανο δεν υπήρχε στ. σημαντική διαφορά). Το **pH και τα σάκχαρα** ήταν πιο ανεβασμένα στις μεταχειρίσεις με καολίνη και στα δύο συστήματα μόρφωσης του Ασύρτικου, με αυτή του παραδοσιακού να υπερτερεί στα Βrix ενώ του γραμμικού στο pH. Στο Μαυροτράγανο οι τιμές αυτών των μετρήσεων δε διέφεραν σημαντικά. Συμπερασματικά, για το Ασύρτικο η συσσώρευση σακχάρων ήταν αρκετά

μεγαλύτερη στα σταφύλια από τα πρέμνα που εφαρμόστηκε καολίνης. Στο Μαυροτράγανο, επειδή δεν είχαμε σημαντική διαφορά στα σάκχαρα αλλά η οξύτητα ήταν αρκετά πιο ανεβασμένη για την μεταχείριση καολίνη, ο βαθμός ωρίμανσης δεν επηρεάστηκε θετικά από τον καολίνη.

Για τις μετρήσεις που έγιναν με τη μέθοδο HPLC, δηλαδή τα μεμονωμένα σάκχαρα και τα μεμονωμένα οξέα του γλεύκους και των δύο υπό μελέτη ποικιλιών και τις μεμονωμένες ανθοκυάνες των φλοιών του Μαυροτράγανου, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης του Ασύρτικου, όλα τα **μεμονωμένα οξέα του γλεύκους**, βρέθηκαν περισσότερο στις μεταχειρίσεις με καολίνη. Αντίθετη εικόνα έχουμε όμως στο γραμμικό σύστημα με τους μάρτυρες να υπερσχύουν σε περιεκτικότητες τρυγικού, ηλεκτρικού, οξέος (μηλικό, ασκορβικό μη σημαντικές διαφορές) ενώ μόνο το φουμαρικό ήταν υψηλότερο στη μεταχείριση με καολίνη. Στο Μαυροτράγανο, που έχουμε μόνο γραμμικά πρέμνα, ο μάρτυρας παρουσιάζει πιο αυξημένες τιμές σε σχέση με τον καολίνη για το ασκορβικό οξύ ενώ ο καολίνης για μηλικό, φουμαρικό οξύ. Άρα η επέμβαση με καολίνη επέφερε αύξηση του βασικού οξέος (τρυγικό) μόνο στην περίπτωση των Ασύρτικων προερχόμενων από το παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης. Το παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης είχε υψηλότερες τιμές τρυγικού οξέος και μεταξύ μαρτύρων των δύο συστημάτων και μεταξύ μεταχειρίσεων καολίνη. Όσον αφορά τα σάκχαρα, οι μεταχειρίσεις με καολίνη επέφεραν υψηλότερες περιεκτικότητες **γλυκόζης και φρουκτόζης** για τα δύο Ασύρτικα (γραμμικό-παραδοσιακό) καθώς και για το Μαυροτράγανο. Για τις **ανθοκυάνες** στους φλοιούς των Μαυροτράγανων, η μαλβιδίνη δεν είχε σημαντικές διαφορές μεταξύ μεταχειρίσεων, σε γενικές γραμμές όμως ο καολίνης αύξησε τη συγκέντρωση ανθοκυανών στους φλοιούς της ποικιλίας.

Φασματοφωτομετρικές μετρήσεις: Στα **ολικά φαινολικά** των φλοιών, υπεροχή έδειξαν οι μάρτυρες του Ασύρτικου και των δύο συστημάτων μόρφωσης καθώς και του Μαυροτράγανου. Μεταξύ των δύο μαρτύρων, αυτός του γραμμικού είχε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Στα γίγαρτα δεν υπήρχε σε καμία μεταχείριση, καμία στατιστικά σημαντική διαφορά. Παρόμοια εικόνα παρουσιάζουν και τα **ολικά φλαβονοειδή** των φλοιών όπου και πάλι μάρτυρας γραμμικού Ασύρτικου-μάρτυρας παραδοσιακού Ασύρτικου- μάρτυρας Μαυροτράγανου έχουν τις υψηλότερες τιμές ενώ μεταξύ μαρτύρων Ασύρτικου αυτός του παραδοσιακού υπερσχύει. Στα γίγαρτα των Ασύρτικων δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές ενώ στο Μαυροτράγανο ο καολίνης αύξησε τις συγκεντρώσεις. **Οι ολικές ανθοκυάνες** που μετρήσαμε στους φλοιούς του Μαυροτράγανου παρουσιάζουν αύξηση στις μεταχειρίσεις με καολίνη, εικόνα που συνάδει και με τις μετρήσεις μεμονωμένων ανθοκυανών με HPLC. Οι **ολικές φλαβανόλες** ήταν περισσότερες στους μάρτυρες Μαυροτράγανου και γραμμικού Ασύρτικου ενώ ο καολίνης τις αύξησε περισσότερο από τον μάρτυρα στο



παραδοσιακό Ασύρτικο στις μετρήσεις γιγάρτων. Στους φλοιούς, μόνο ο μάρτυρας του γραμμικού Ασύρτικου ήταν στατιστικώς σημαντικά αυξημένος σε συγκεντρώσεις φλαβονολών σε σχέση με τον καολίνη του ίδιου συστήματος. Σε **ολικές φλαβόνες-φλαβονόλες** στα γίγαρτα δεν έχουμε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ μεταχειρίσεων σε καμία ποικιλία ενώ στους φλοιούς η γενικότερη εικόνα ευνοεί τους μάρτυρες (Ασύρτικο γραμμικό, καμία στατιστικά σημαντική διαφορά). Και στις **ταννίνες** των φλοιών υπερισχύουν οι μάρτυρες στα δύο συστήματα μόρφωσης του Ασύρτικου ενώ στο Μαυροτράγανο δεν έχουμε σημαντικές διαφορές. Μεταξύ των δύο μαρτύρων Ασύρτικου υπερισχύει αυτός του γραμμικού. Στα γίγαρτα η εικόνα αλλάζει λίγο καθώς καολίνης γραμμικού Ασύρτικου και Μαυροτράγανου έχουν πιο ανεβασμένες τιμές. Στο παραδοσιακό Ασύρτικο προηγείται σε ταννίνες γιγάρτων και πάλι ο μάρτυρας. Οι **ορθο-διφαινόλες** των γιγάρτων δεν έχουν διαφορές μεταξύ μεταχειρίσεων σε καμία ποικιλία στους φλοιούς όμως σε όλες τις μεταχειρίσεις και των δύο ποικιλιών υπερισχύουν οι μάρτυρες. Μεταξύ των συστημάτων μόρφωσης των Ασύρτικων δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο μαρτύρων σε συγκεντρώσεις ο-διφαινολών. Σχετικά με την αντιοξειδωτική ικανότητα των φλοιών, η μέθοδος DPPH έδειξε αυξημένες μετρήσεις για τον μάρτυρα του παραδοσιακού Ασύρτικου αλλά στο γραμμικό Ασύρτικο υπερίσχυσε η μεταχείριση με καολίνη. Αντίθετα η μέθοδος FRAP, παραδοσιακό με καολίνη και μάρτυρας γραμμικού είχαν τις υψηλότερες τιμές. Στους φλοιούς Μαυροτράγανου και οι δύο μέθοδοι συμφωνούν πως η μεταχειρίσεις καολίνη αύξησαν την αντιοξειδωτική ικανότητα. Η εικόνα είναι όμοια και στα γίγαρτα με μόνη διαφορά ότι ο μάρτυρας του γραμμικού Ασύρτικου προηγείται στη μέτρηση των γιγάρτων έναντι του μάρτυρα.

Στην παρούσα μελέτη, μια γενική εικόνα είναι ότι ο καολίνης, εφαρμοζόμενος σε πρέμνα της ποικιλίας Ασύρτικο, και στα δύο συστήματα μόρφωσης, ευνόησε την ανάπτυξη της ράγας προωθώντας την ωρίμανση, τη συγκέντρωση σακχάρων και την περαιτέρω ανάπτυξη των σταφυλών. Σε σχέση με το παραδοσιακό σύστημα, η εφαρμογή καολίνης στο γραμμικό σύστημα είχε καλύτερα αποτελέσματα στην ανάπτυξη της ράγας σε πλάτος-μήκος σταφυλής, βαθμό ωρίμανσης-υγρασία και βάρος σάρκας της ράγας. Στο παραδοσιακό σύστημα, είχαμε αυξημένη συγκέντρωση μεμονωμένων οξέων, κάτι που δεν είδαμε τόσο στο γραμμικό και στο Μαυροτράγανο όπου είχαμε ανάμικτα αποτελέσματα. Οι τιμές όμως μεμονωμένων σακχάρων ήταν αυξημένες με τη χρήση καολίνης και στα Ασύρτικα και στο Μαυροτράγανο. Αυτό είναι αναντίστοιχο με την έρευνα των Dinis et al. (2020), όπου τα γραμμικά «Cerceal» στην περιοχή «Alentejo» (νοτιοανατολική Πορτογαλία) που τα φυτά αντιμετωπίζουν ακραίες συνθήκες κατά τη θερινή περίοδο, ήταν αυτά στα οποία παρατηρήθηκε αύξηση του τρυγικού και μηλικού οξέος και κατά συνέπεια υψηλή ολική οξύτητα, ενώ η συγκέντρωση σακχάρου μειώθηκε κατά 8,9% στα σταφύλια, προκαλώντας χαμηλό επίπεδο αλκοόλης στο κρασί. Στο γραμμικό όμως το ποσοστό υγρασίας των ραγών

ήταν υψηλότερο με τις εφαρμογές καολίνη (παρ' όλα αυτά, χαμηλότερο από τους μάρτυρες). Στη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων και των δύο συστημάτων μόρφωσης οι υψηλότερες τιμές ανήκαν στους μάρτυρες (στις μετρήσεις φλοιών αλλά και γιγάρτων) με ελάχιστες εξαιρέσεις που αφορούν τις ολικές φλαβονόλες και τις ταννίνες γιγάρτων. Τα αποτελέσματα αυτά δεν συμφωνούν με αποτελέσματα άλλων μελετών στις οποίες ο καολίνης είχε ευνοϊκή επίδραση στα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά της ράγας αλλά και στη σύνθεση φαινολικών συστατικών σε σχέση με τους μάρτυρες (Conde et al., 2016, Luzio et al., 2021, Biniari et al., 2023). Σε άλλες μελέτες παρόλαυτα, έχει παρατηρηθεί ξανά αυτό το φαινόμενο μείωσης των φαινολικών μετά τη χρήση καολίνης ενώ την ίδια ώρα έχουμε αύξηση της αντοχής του φυτού και καλύτερη ανάπτυξη κάτω από συνθήκες ξηρασίας και υψηλών θερμοκρασιών. Σε αμπέλια που καλλιεργούνται στην περιοχή Douro (βόρεια Πορτογαλία), το 2012 και το 2013 που πραγματοποιήθηκε η έρευνα, η επεξεργασία με καολίνη αύξησε τη φωτοχημική ανάκλαση στις φωτοσυνθετικές χρωστικές, τις διαλυτές πρωτεΐνες, τα διαλυτά σάκχαρα και τις συγκεντρώσεις αμύλου, ενώ μείωσε τα συνολικά φαινολικά συστατικά (Dinis et al., 2018). Ο καολίνης αύξησε την αντιοξειδωτική ικανότητα κατά μια ανάγνωση αλλά υπάρχουν αντικρουόμενα συμπεράσματα μεταξύ των δύο μεθόδων ανάλυσης που χρησιμοποιήσαμε.

Για το Μαυροτράγανο, ο καολίνης ευνόησε την ανάπτυξη των ραγών σε μήκος-πλάτος-βάρος αλλά όχι τον βαθμό ωρίμανσης και αυτό φαίνεται και από την τιτλοδοτούμενη οξύτητα που αυξήθηκε με τον καολίνη. Πάραυτα, από τα μεμονωμένα οξέα μόνο το ασκορβικό υπερίσχυσε στον μάρτυρα, όχι όμως το τρυγικό, μηλικό, ηλεκτρικό και το φουμαρικό. Η γλυκόζη έδειξε επίσης μια αύξηση με τον καολίνη. Οι ολικές και οι μεμονωμένες ανθοκυάνες ήταν σαφώς υψηλότερες με την εφαρμογή καολίνης όπως και η αντιοξειδωτική ικανότητα, πράγμα που συμφωνεί με τη μελέτη των Biniari et al. (2023). Όσον αφορά τα υπόλοιπα φαινολικά συστατικά, είναι μειωμένα σε σχέση με τον μάρτυρα πλην ελαχίστων εξαιρέσεων (ταννίνες γιγάρτων, ολικά φλαβονοειδή γιγάρτων), όπως και στο Ασύρτικο.

Ο καολίνης βοήθησε και στις δύο ποικιλίες, στην μείωση του υδατικού στρες, στην ευνοϊκότερη ανάπτυξη της σταφυλής και ράγας σε μέγεθος και στη συσσώρευση σακχάρων κατά την ωρίμανση, μια εικόνα που συμφωνεί και με τις μελέτες που προαναφέρθηκαν, ίσως αυτό είχε σαν αποτέλεσμα τη μειωμένη ανάπτυξη φαινολικών ουσιών, φαινόμενο το οποίο είναι αποτέλεσμα άμυνας των φυτών έναντι στο αβιοτικό στρες και την καταπόνηση. Μια βαθύτερη μελέτη και κατανόηση της υδατικής κατάστασης των πρέμων επεξεργασμένων με καολίνη σε σχέση με τους μάρτυρες, ίσως έδινε μια καλύτερη εξήγηση για την παρατήρηση της παρούσας μελέτης. Από όλους τους τύπους αβιοτικού στρες στους οποίους εκτίθενται τα φυτά που καλλιεργούνται σε χωράφια, ο πιο επιδραστικός είναι το στρες από την έλλειψη

νερού (Chacón-Vozmediano, 2021). Κάτω από τέτοιες συνθήκες, πρέμνα της ποικιλίας Tempranillo που αναπτύσσονται σε μια ημίξηρη ζώνη της Extremadura (Ισπανία) αλλά και πρέμνα της ποικιλίας Merlot στη La Mancha, παρουσίασαν συγκεντρώσεις των φλαβονολών και των συνολικών πολυφαινολών πολύ υψηλότερες (Garrido 2016, Chacón-Vozmediano 2021,). Πάντως, σε σχέση με τα κλιματολογικά δεδομένα της χρονιάς 2020-2021 στη Σαντορίνη που όπως προαναφέρθηκε ήταν μια ιδιαίτερα στρεσογόνος χρονιά για τα πρέμνα από άποψη θερμοκρασιών και έλλειψης νερού, η χρήση καολίνη έδειξε να λειτουργεί ευνοϊκά στον «αγώνα» των σταφυλιών να αναπτυχθούν και να ωριμάσουν ομαλά. Όπως ανέφεραν στην έρευνα τους οι Biniari et al .(2023), η ανάπτυξη και η ωρίμανση των σταφυλιών σε θερμότερες περιόδους μπορεί να προκαλέσει τη συρρίκνωσή τους, ένα φαινόμενο απώλειας βάρους των σταφυλιών από αφυδάτωση, που μπορεί να συμβεί σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια, είτε πριν την ανθοφορία είτε μετά την ανθοφορία. Ειδικά στο παραδοσιακό σύστημα μόρφωσης του Ασύρτικου, ο καολίνης βοήθησε στην ανάπτυξη των σταφυλών σε πλάτος και βάρος, δηλαδή στο να αποτραπεί η συρρίκνωση και αφυδάτωση. Ακόμη είχαμε μεγαλύτερη συγκέντρωση σακχάρων και υψηλότερο pH στο γλεύκος.

## 9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### ΔΙΕΘΝΗΣ

Ali, K., Maltese, F., Choi, Y., H., Verpoorte, R. (2010) Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products *Phytochem Rev.* 9:357–378

Artur Conde, Diana Pimentel , Andreia Neves, Lia-Tânia Dinis , Sara Bernardo, Carlos M. Correia , Hernâni Gerós and José Moutinho-Pereira (2016). Kaolin Foliar Application Has a Stimulatory Effect on Phenylpropanoid and Flavonoid Pathways in Grape Berries. *Frontiers in Plant Science* Volume 7, Article1150. doi: 10.3389/fpls.2016.01150

Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W., C., A., Manley, M. (2002). Phenolic Compounds: A Review of Their Possible Role as In Vivo Antioxidants of Wine. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 23, No. 2

Benzie, F. and Strain, J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* 239, 70–76

Biniari, K., Athanasopoulou, E., Daskalakis, I., Xyrafis, E.G., Bouza, D. and Stavrakaki, M. (2023). Effect of foliar applications on the qualitative and quantitative characters of cv. Assyrtiko and cv. Mavrotragano in the island of Santorini, under vineyard conditions. *BIO Web of Conferences* 56, 01008 <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235601008>. 43rd World Congress of Vine and Wine

Brenda Winkel-Shirley (2001). Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiology*, Volume 126, Issue 2, June 2001, Pages 485–493, <https://doi.org/10.1104/pp.126.2.485>

Brouillard, R., Chassaing, S., Fougerousse, A. (2003) Why are grape/fresh wine anthocyanins so simple and why is it that red wine color lasts so long? *Phytochemistry* 64, 1179–118

Bruce W. Zoecklein, Kenneth C. Fugelsang, Barry H. Gump & Fred S. Nury (1995). *Wine Analysis and Production* chapter Phenolic Compounds and Wine Color pp 115-151.

Buglass, A., J., Lee, S., H. (2001) Sequential Analysis of Malic Acid and Both Enantiomers of Lactic Acid in Wine Using a High-Performance Liquid Chromatographic Column-Switching Procedure. *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 39

Cheynier V., Rigaud J., Souquet J., Duprat F., Moutounet M., (1990). Must Browning in Relation to the Behavior of Phenolic Compounds During Oxidation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41:346-349.

Claire E. White, John L. Provis, Daniel P. Riley, Gordon J. Kearley, and Jannie S. J. van Deventer (2009). What Is the Structure of Kaolinite? Reconciling Theory and Experiment, *J. Phys. Chem. B* 2009, 113, 19, 6756–6765. <https://doi.org/10.1021/jp810448t>

Coelho, E., M., Padilha, C., V., S., Miskinis, G., A., Sà, A., G., B., Pereira, G., E., Azevêdo, L., C., Lima, M., S. (2018) Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*. Volume 66, Pages 160-167

Dasenaki, M., E., Thomaidis, N., S. (2019) Quality and Authenticity Control of Fruit Juices-A Review *Molecules*, 24, 1014; doi:10.3390/molecules24061014

Dokoozlian, N.K. and Kliewer, W.M. (1996). Influence of Light on Grape Berry Growth and Composition Varies during Fruit Development. *J. AMER. SOC . H ORT. SCI* 121(5):869–874

Downey, M. O., Dokoozlian, N. K., & Krstic, M. P. (2006). Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 257-268.

Downey, M. O., Harvey, J. S., & Robinson, S. P. (2004). The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10(1), 55-73.

Dutra, M., C., P., Viana, A., C., Pereira, G., E., Nassur, R., C., M., R., Lima, M., S. (2021) Whole, concentrated and reconstituted grape juice: Impact of processes on phenolic composition, “foxy” aromas, organic acids, sugars and antioxidant capacity. *Food Chemistry* Volume 343, 128399

Efstratios Guillaume Xyrafis, Helder Fraga, Christos T Nakas and Stefanos Koundouras. (2022). A study on the effects of climate change on viticulture on Santorini Island. *International Viticulture and Enology Society* DOI:10.20870/oenone.2022.56.1.4843

Ehling, S., Cole, S. (2011) Analysis of Organic Acids in Fruit Juices by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry: An Enhanced Tool for Authenticity Testing *J. Agric. Food Chem.* 59, 6, 2229–2234

Eleonora Miquel Becker, Lise R. Nissen & Leif H. Skibsted (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology* volume 219, pages561–571 (2004)

Elías Obreque-Slier, Álvaro Peña-Neira, Remigio López-Solís, Fernando Zamora-Marín, Jorge M. Ricardo-da Silva, and Olga Laureano (2010). Comparative Study of the Phenolic Composition of Seeds and Skins from Carménère and Cabernet Sauvignon Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) during Ripening. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 6, 3591–3599. <https://doi.org/10.1021/jf904314u>.

Evangelia Nanou ,Emorfili Mavridou, Fotios S. Milienos, Georgios Papadopoulos, Sophie Tempère and Yorgos Kotseridis (2020). Odor Characterization of White Wines Produced from Indigenous Greek Grape Varieties Using the Frequency of Attribute Citation Method with Trained Assessors. *Foods* 2020, 9(10), 1396; <https://doi.org/10.3390/foods9101396>

Eyduran, S., P., Akin, M., Ercisli, S., Eyduran, E., Maghradze, D. (2015) Sugars, organic acids, and phenolic compounds of ancient grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) from Igdir province of Eastern Turkey. *Biological Research* volume 48, Article number: 2

Federico Tacoli, Elena Cargnus, Fatemeh Kiaeian Moosavi, Pietro Zandigiaco & Francesco Pavan. (2019). Efficacy and mode of action of kaolin and its interaction with bunch-zone leaf removal against *Lobesia botrana* on grapevines., *Journal of Pest Science* 92(19) pages465–475 . DOI:10.1007/s10340-018-1029-2

Federico Tacoli, Francesco Pavan, Elena Cargnus, Elisabetta Tilatti, Alberto Pozzebon, and Pietro Zandigiaco (2017). Efficacy and Mode of Action of Kaolin in the Control of *Empoasca vitis* and *Zygina rhamni* (Hemiptera:Cicadellidae) in Vineyards. *Journal of Economic Entomology*, 110(3), 2017, 1164–1178 . doi: 10.1093/jee/tox105

Garde- Cerdà, T., Martínez- Gil, A., Lorenzo, C., Lara, J., F., Pardo, F., Salinas, M., R. (2011) Implications of nitrogen compounds during alcoholic fermentation from some grape varieties at different maturation stages and cultivation systems. *Food Chemistry*, Volume 124, Issue 1, Pages 106-116

Gawel R., (1997). The use of language by trained and untrained experienced wine tasters. *Journal of sensory studies*, 12:267-284.

Glenn, D. M., Cooley, N., Walker, R., Clingeleffer, P., & Shellie, K. (2010). Impact of kaolin particle film and water deficit on wine grape water use efficiency and plant water relations. *HortScience*, 45(8), 1178-1187.

G. Mazza and Dr. F. J. Francis Dept (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* ,Volume 35, 1995 - Issue 4 Pages 341-371. <https://doi.org/10.1080/10408399509527704>

Granato, D., Carrapeiro, M., M., Fogliano, V., Ruth, S., M. (2016) Effects of geographical origin, varietal and farming system on the chemical composition and functional properties of purple grape juices: A review Trends in Food Science & Technology, Volume 52, Pages 31-48

Hélène Fulcrand, Vessela Atanasova, Erika Salas, and Véronique Cheynier (2004). The Fate of Anthocyanins in Wine: Are There Determining Factors?. Red Wine Color Chapter 6pp 68-88. DOI: 10.1021/bk-2004-0886.ch006

Hernández- Herrero, J., A., Frutos, M., J. (2014) Colour and antioxidant capacity stability in grape, strawberry and plum peel model juices at different pHs and temperatures. Food Chemistry. Volume 154, Pages 199-204

Herderich M. and Smith P. (2005). Analysis of grape and wine tannins: Methods, applications and challenges. Volume11, Issue2 July 2005 Pages 205-214. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00288.x>

Iland P., Bruer N., Wilkes E., Edward G., (2004). Anthocyanins (colour) and total phenolics of grape berries. Chemical Analysis of Grapes and Wine: Techniques and Concepts (1st edition). Winetitles: Broadview, Australia.

Inmaculada Garrido , David Uriarte , Marcos Hernández , José Luis Llerena , María Esperanza Valdés and Francisco Espinosa (2016). The Evolution of Total Phenolic Compounds and Antioxidant Activities during Ripening of Grapes (*Vitis vinifera* L., cv. Tempranillo) Grown in Semiarid Region: Effects of Cluster Thinning and Water Deficit. Int. J. Mol. Sci. 2016, 17, 1923; doi:10.3390/ijms17111923.

Jackson R., (2008). Wine Science: Principles, Practice, Perception (3rd edition). Academic Press, San Diego.

Juan L. Chacón-Vozmediano , Jesús Martínez-Gascueña , Esteban García-Romero, Sergio Gómez-Alonso , Francisco J. García-Navarro and Raimundo Jiménez-Ballesta (2021). Effects of Water Stress on the Phenolic Compounds of 'Merlot' Grapes in a Semi-Arid Mediterranean Climate. Horticulturae 2021, 7, 161. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7070161>

Kallithraka, S., Kotseridis, Y., Kyraleou, M., Proxenia, N., Tsakiris, A., Karapetrou, G.(2014). Analytical phenolic composition and sensory assessment of selected rare Greek cultivars after extended bottle ageing. Journal of the science of food and agriculture Volume 95, Issue 8, June 2015, Pages 1638-1647, <https://doi.org/10.1002/jsfa.6865>

Karimali, D., Kosma, I. and Badeka, A. (2019). Varietal classification of red wine samples from four native Greek grape varieties based on volatile compound analysis,

color parameters and phenolic composition. *European Food Research and Technology* volume 246, pages41–53 (2020)

Karamali, Khanbabaee and Teunis van Reeb (2011). Tannins. *Natural Product Reports* Issue 6, 2001

Keller, M. (2010). *The Science of Grapevines: Anatomy and Physiology*. Academic Press, Burlington, Massachusetts.

Kennedy, J. (2002). Understanding grape berry development. *Practical Winery and Vineyard* July/August

Kentaro Mori , Sumiko Sugaya , Hiroshi Gemma (2005). Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Scientia Horticulturae* Volume 105, Issue 3, 4 July 2005, Pages 319-330 .

Liat Shaked-Sachray, David Weiss, Moshe Reuveni, Ada Nissim-Levi, Michal Oren-Shamir 2002. Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperatures due to magnesium treatment. *Physiologia Plantarum*, Volume114, Issue4 April 2002 Pages 559-565. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1140408.x>

Lima, M., S., Silani, I., S., V., Toaldo, I., M., Corrêa, L., C., Biasoto, A., C., T., Pereira, G., E., Bordignon- Luiz, M., T., Ninow, J., L. (2014) Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. *Food Chemistry*, Volume 161, Pages 94-103

L.-T. Dinis, A. C. Malheiro, A. Luzio, H. Fraga, H. Ferreira, I. Gonçalves, G. Pinto, C. M. Correia & J. Moutinho-Pereira (2018). Improvement of grapevine physiology and yield under summer stress by kaolin-foliar application: water relations, photosynthesis and oxidative damage. *Photosynthetica* volume 56, pages641–651 (2018)

Lia-Tânia Dinis , Sara Bernardo, Carlos Matos , Aureliano Malheiro , Rui Flores ,Sandra Alves, Carina Costa , Sílvia Rocha , Carlos Correia , Ana Luzio and José Moutinho-Pereira (2020). Overview of Kaolin Outcomes from Vine to Wine: Cerceal White Variety Case Study. *Agronomy* 2020, 10, 1422; doi:10.3390/agronomy10091422

Luzio , S. Bernardo , C. Correia , J. Moutinho-Pereira , L.-T. Dinis (2021). Improvement of grapevine physiology and yield under summer stress by kaolin-foliar application: water relations, photosynthesis and oxidative damage. *Scientia Horticulturae* 281 (2021) 109962. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109962>

Maria Luz Fernandez Ph.D. & Jacqueline Barona Ph.D. : *Grapes and Health*, Chapter: Grapes and Atherosclerosis, pp 53–76, First Online: 26 May 2016



- Mato, I., Suarez-Luque, S., Huidobro, J., F. (2005) A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines. *Food Research International* 38, 1175–1188
- M.S. Prasad a, K.J. Reid and H.H. Murray (1990). Kaolin: processing, properties and applications. *Applied Clay Science*, 6 (1991) 87-119
- Monagas, M., Gómez-Cordovés, C., & Bartolomé, B. (2006). Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chemistry*, 95(3), 405-412.
- Palma, M., Barroso, C., G. (2001) Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products. *Analytica Chimica Acta* 458 119–130
- Langcake, P. (1981). Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol,  $\epsilon$ -viniferin,  $\alpha$ -viniferin and pterostilbene. Volume 18, Issue 2, March 1981, Pages 213-226.
- Proestos, C., Bakogiannis, A., Komaitis, M. (2012) Determination of Phenolic Compounds in wines. *International Journal of Food Studies IJFS*. Volume 1 pages 33–41
- Ribéreau-Gayon P., Denis Dubourdieu, B. Donèche, A. Lonvaud (2006). *Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications*. John Wiley and Sons Ltd.
- Ribereau- Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D., (2021). *Handbook of Enology 2 (2nd edition). The Chemistry of Wine. Stabilization and Treatments*, John Wiley and Sons Ltd.
- Ribereau- Gayon P. and Stonestreet E., (1965). Determination of Anthocyanins in Red Wine. *Bulletin de la Societe Chimique de France*, 9:2649-2652
- Ristic, R., Downey, M. O., Iland, P. G., Bindon, K., Francis, I. L., Herderich, M., & Robinson, S. P. (2007). Exclusion of sunlight from Shiraz grapes alters wine colour, tannin and sensory properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13(2), 53-65.
- Roussos P., A., Pontikis, C., A. (2001) Phenolic Compounds in Olive Explants and their Contribution to Browning During the Establishment Stage in vitro. *Gartenbauwissenschaft*, 66 (6). S. 298–303
- S. Bernardo, L.T. Dinisa, A. Luzio, Glória Pintob, Mónica Meijón, Luís Valledor, A. Condea, H. Gerósa, C.M. Correia, J. Moutinho-Pereira 2017. Kaolin particle film

application lowers oxidative damage and DNA methylation on grapevine (*Vitis vinifera* L.). Environmental and Experimental Botany 139(2017)39–47  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.04.002>

Šeruga, M., Novak, I., Jakobek, L. (2011) Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. Food Chemistry Volume 124, Issue 3, Pages 1208-1216

Shahin Hassanpour, Naser Maheri-Sis, Behrad Eshratkhah and Farhad Baghbani Mehmandar 2011. Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. Int. J. Forest, Soil and Erosion, 2011 1 (1):47-53

Silva, F., L., N., Schmidt, E., M., Messias, C., L., Eberlin, M., N., Sawaya, A., C., H., F. (2015) Quantification of organic acids in wine and grape by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry. Analytical Methods 7, 53-62

Spayd, S. E., Tarara, J. M., Mee, D. L., & Ferguson, J. C. (2002). Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. American Journal of Enology and Viticulture, 53(3), 171-182

Stavrakaki, M., Biniari, K. (2017). Ampelographic and Genetic Characterization of Grapevine Varieties (*Vitis vinifera* L.) of the 'Mavroudia' Group Cultivated in Greece. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2017,45(2):525-531. DOI:10.15835/nbha45210757

Stavrakaki, M., Biniari, K., Daskalakis, I., Bouza, D. (2018). Polyphenol content and antioxidant capacity of the skin extracts of berries from seven biotypes of the Greek grapevine cultivar Korinthiaki Staphis (*Vitis vinifera* L.). Australian journal of crop science AJCS 12(12):1927-1936 (2018) doi: 10.21475/ajcs.18.12.12.p1261

Takayoshi Yamane, Seok Tae Jeong, Nami Goto-Yamamoto, Yoshiko Koshita, Shozo Kobayash 2006. Effects of Temperature on Anthocyanin Biosynthesis in Grape Berry Skins. Am J Enol Vitic. 2006 57: 54-59 ; DOI: 10.5344/ajev.2006.57.1.54

Toscano, L., T., Silva, A. S., Toscano, L., T., Tavares, R., L., Biasoto, A., C., T., Camargo, A., C., Silva, C., S., O., Gonçalves, M., C., R., Shahidi, F. (2017) Phenolics from purple grape juice increase serum antioxidant status and improve lipid profile and blood pressure in healthy adults under intense physical training. Journal of Funcional Foods, 33, 419–424

Tourtoglou, C., Nenadis, N., Paraskevopoulou, A. (2014) Phenolic composition and radical scavenging activity of commercial Greek white wines from *Vitis vinifera* L. cv. Malagousia. Journal of Food Composition and Analysis. Volume 33, Issue 2, Pages 166-17

Xyrafis E.G., Deloire A., Petoumenou D., Paraskevoopoulos, I. and Biniari, K. (2021) .The unique and extreme vineyards of Santorini Island (Cyclades). Technical Reviews, vine and wine .<https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2021.4848>

## **ΕΛΛΗΝΙΚΗ**

Κοτσερίδης Γ., 2014. Σημειώσεις Οινολογίας Ι, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Αθήνα.

Κουράκου–Δραγώνα Σ., 1998. Θέματα Οινολογίας, Επιστήμη και Τεχνολογία στον τομέα της οινοποιητικής τεχνικής, Εκδόσεις Τροχαλία, Αθήνα.

Π. Α. Ταραντίλης, Μ. Πολυσίου, Χ. Παππάς. Ενόργανη Χημική Ανάλυση, Πανεπιστημιακές σημειώσεις. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σουφλερός Ε. 2015. Οινολογία : Επιστήμη και Τεχνολογία. Εκδόσεις Σταμούλη, Θεσσαλονίκη.

Σταυρακάκης Μ.Ν.1991. Σημειώσεις Ειδικής Αμπελουργίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

Σταυρακάκης Μ.Ν. 2019. Αμπελουργία. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα 118-121, 209, 211, 228-235,243.

Σταυρακάκης Μ.Ν. 2021. Αμπελογραφία. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.

Τσακίρης Α., 1994. Οινολογία. Εκδόσεις Ψυχάλου, Αθήνα.

Χαρβαλιά Α. και Μπενά-Τζούρου Ε., 1982. Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων, Ελληνικά Οινολογικά χρονικά, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα.